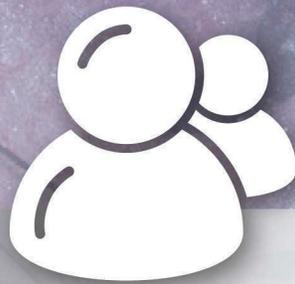


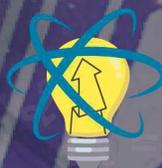
UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



Participación del estudiante en el desarrollo de la investigación científica de la DCNE



Campus Guanajuato | División de Ciencias Naturales y Exactas



DCNE Semana de Innovación, Emprendimiento e Investigación

PARTICIPACIÓN DEL
ESTUDIANTE EN EL
DESARROLLO DE
LA INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA DE LA DCNE

Participación del estudiante en el desarrollo de la investigación científica de la DCNE
2019

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: En trámite

Hecho en México

Made in Mexico

AUTORES

Fernando Israel Gómez Castro

Adriana Medina Ramírez

Juana López Godinez

Juan Pablo Torres Papaqui

Jesús Isaac Minchaca Mojica

Juana Elizabeth Reyes Martínez

Ignacio René Galindo Esquivel

David Cruz Cruz

Marco Antonio Revilla García

Martín Trinidad Martínez García

Gustavo Cruz Jiménez

Martha Alicia Deveze Álvarez

Claudia Leticia Mendoza Macías

César Rogelio Solorio Alvarado

COMITÉ EDITORIAL

Adriana Medina Ramírez

Beatriz Ruiz Camacho

Clarisa Villegas Gómez

Dennis Jack

Eduardo Sánchez Ramírez

Fernando López Caamal

Jesús Isaac Minchaca Mojica

José Antonio Guerra Contreras

Juan Pablo Torres Papaqui

Juana Elizabeth Reyes Martínez

Juana López Godinez

Nadia Romero Romero

Suria Gisela Vázquez Morales

Tabla de contenido

	Pag.
Licenciatura	
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE NANOCOMPUESTOS DE INTERÉS BIOMÉDICO.....	1
AISLADOS CLÍNICOS DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS FORMADORES DE BIOPELÍCULAS.....	6
CARACTERIZACIÓN DEL DESENQUISTAMIENTO EN ENTAMOEBA INVADENS.....	12
DEGRADACIÓN DE PET MEDIANTE CONSORCIOS FÚNGICOS.....	18
EFFECTO DE COMPUESTOS DE ORIGEN NATURAL SOBRE EL CRECIMIENTO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....	24
EFFECTO DEL EXTRACTO HEXANOICO DE LA SEMILLA DEL AGUACATE CRIOLLO MEXICANO SOBRE <i>Trichomonas vaginalis</i>	30
EFFECTO DEL QUITOSANO Y HEXANOATO SOBRE <i>Klebsiella pneumoniae</i>	36
ESTUDIO DE LA DEGRADACIÓN DE PET POR CONSORCIOS FÚNGICOS.....	48
ESTUDIO DE LA TRANSFERENCIA DE CALOR Y MASA EN CABINAS DE REFRIGERACIÓN	53
EVALUACIÓN DE MATERIALES POLISILOXANOS Y SÍLICES FUNCIONALIZADAS CON PROPIEDADES CONDUCTORAS DE IONES PARA SU APLICACIÓN EN SISTEMAS DE ALMACENAMIENTO DE ENERGÍA.....	59
EVALUACIÓN FITOTOXICOLÓGICA DE NANOZEOLITA LTA.....	65
OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE ACEITE DE SOYA.....	70
PROCESO INTEGRAL ELECTROQUÍMICO PARA TRATAMIENTO DE EFLUENTES CONTAMINADOS POR CROMO HEXAVALENTE	77
REMOCIÓN DEL ION CÚPRICO MEDIANTE EL USO DE <i>Lactuca sativa</i> y <i>Lycopersicon sp.</i>	83
SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS POLARES POR EL PROCESO DE EMULSION VIA RADICALES LIBRES (FRP).....	89
SÍNTESIS DE POLÍMEROS DE ESTIRENO CON MONÓMEROS POLARES POR EL PROCESO DE EMULSIÓN.....	95
SÍNTESIS HIDROTERMAL DE SULFURO DE MOLIBDENO UTILIZANDO DIVERSOS PRECURSORES DE AZUFRE Y MOLIBDENO.....	102
Maestría	
CARACTERIZACIÓN DE UNA MUTANTE DE LA ENZIMA TRANSIALIDASA DE <i>Trypanosoma cruzi</i> (TcTS) Y SU POTENCIAL PARA EL DESARROLLO DE UNA VACUNA CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.....	108
OPTIMIZACIÓN DE UN PROCESO DE FERMENTACIÓN FED-BATCH PARA LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO POR <i>casei rhamnosus</i>	114

	Pag.
PARTICIPACIÓN DE LOS GENES QUE CODIFICAN PARA PRODUCTOS DE LysM DE <i>Trichoderma atroviride</i> EN LA INTERACCIÓN CON PLANTAS.....	121
Doctorado	
DESEMPEÑO TERMO-HIDRÁULICO DE REDES DE ENFRIAMIENTO.....	128
EN BÚSQUEDA DE UNA RELACIÓN ENTRE LA VELOCIDAD DE ROTACIÓN DE LAS ESTRELLAS Y LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE SUS EXOPLANETAS CON EL TIGRE.....	135
ESTUDIO MOLECULAR DE LA SÍNTESIS DE L-RAMNOSA EN <i>sporothrix schenckii</i> Y SU ROL EN LA INTERACCIÓN CON EL SISTEMA INMUNE INNATO.....	142
MEDICIONES VISCOSIMÉTRICAS DE LA CARBOXIMETILDELULOSA A DIFERENTES TEMPERATURAS Y pH's.....	148
MODELO DE LA TRASFERENCIA DE MASA EN LOS PLATOS PERFORADOS EN UNA COLUMNA POR LOTES EN ESCALA PILOTO.....	153
OPERABILIDAD Y SINTONIZACIÓN SISTEMÁTICA PARA EL PROCESO DE PURIFICACIÓN DE BIOETANOL.....	158
OPTIMIZACIÓN DE UNA COLUMNA DE DESTILACIÓN POR LOTES POR EL MÉTODO DE COLOCACIÓN ORTOGONAL EN UN PROGRAMA LIBRE (JUMP).....	165
OPTIMIZACIÓN DE SEGURIDAD, ECONÓMICA Y AMBIENTAL APLICADA A TRES PROCESOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SILICIO DE GRADO SOLAR.....	171
OPTIMIZACIÓN MULTI-OBJETIVO DE ESQUEMAS INTENSIFICADOS PARA LA PURIFICACIÓN DE ÁCIDO LEVULÍNICO.....	176
PROPUESTA DE UNA CERVEZA CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES.....	183
PROPUESTA DE UN ESQUEMA DE BIOREFINACIÓN PARA EL APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE <i>Jatropha curcas</i>	189
SIMULACIÓN NUMÉRICA DEL ENSUCIAMIENTO POR COQUE DENTRO DE LOS TUBOS DE LOS CALENTADORES A FUEGO DIRECTO PARA EL REFINADO DEL PETRÓLEO.....	196
SIMULACIÓN NUMÉRICA DE UN REFLECTOR LINEAL FRESNEL UTILIZANDO VOLUMEN FINITO.....	203
SÍNTESIS DE UN MATERIAL POLISILOXANO SULFONADO PARA FABRICACIÓN DE MEMBRANAS DE INTERCAMBIO IÓNICO CON POSIBLES APLICACIONES EN SISTEMAS DE ALMACENAMIENTO DE ENERGÍA.....	210
USO DE ALUMINATOS DE NÍQUEL BIOINSPIRADOS EN DETECCIÓN ELECTROQUÍMICA DE METANOL.....	215

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE NANOCOMPUESTOS DE INTERÉS BIOMÉDICO

*Sánchez- López Citlali¹, Rangel-Serrano Ángeles², Paramo-Pérez Itzel², Anaya-Velázquez Fernando², Franco Bernardo², Padilla-Vaca Luis Felipe*².*

¹ Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Col. Noria Alta S/N, Noria Alta, Guanajuato, Guanajuato. 36050, MÉXICO.
[citla_.72@hotmail.com]

² Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Col. Noria Alta S/N, Noria Alta, Guanajuato, Guanajuato. 36050, MÉXICO.

*[padillaf@ugto.mx]

Resumen

Las infecciones intrahospitalarias (IIH) son un problema de salud pública que afecta a la población y que ocasiona la muerte del 5% de los pacientes. Las IIH son causadas principalmente por bacterias multirresistentes a los antibióticos convencionales. Las manos y los uniformes usados por el personal médico son unos de los vehículos más relevantes de transmisión. Las nanopartículas (NPs) metálicas con propiedades antimicrobianas son una alternativa para ayudar a disminuir las IIH. El uso de las NPs de Cu se ha incrementado por su alta actividad antibacteriana y su bajo costo. Se evaluó la actividad antibacteriana de dos NPs de Cu, las cuales presentaron alta actividad sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Hilos de PET y Nylon conteniendo NPs de Cu presentaron buena actividad, siendo ésta mayor en los hilos de Nylon. Las telas conteniendo NPs de Cu presentaron una actividad antibacteriana moderada, la cual se incrementó para *S. aureus* después de varios tratamientos. La concentración de NPs de Cu en las telas falta por ser determinada. Lo anterior sugiere que las NPs de Cu con propiedades antibacterianas son una buena alternativa para diseñar y crear materiales antimicrobianos con utilidad para el sector salud.

Palabras clave: *Infecciones intrahospitalarias; Resistencia bacteriana; Nanopartículas metálicas; Nanomateriales.*

Introducción

Infecciones intrahospitalarias. Las infecciones Intrahospitalarias (IIH) también conocidas como infecciones nosocomiales son aquellas infecciones contraídas en un hospital por un paciente que ha sido internado por una razón distinta a esa infección. Dentro de los factores que propician las infecciones nosocomiales, se encuentran, el estado inmunológico del paciente, las enfermedades subyacentes, la desnutrición, la variedad de procedimientos médicos y técnicas invasivas que crean vías de infección. Actualmente, entre un 5 y 10 % de los pacientes que ingresan al hospital adquieren una IIH, de los cuales el 5% fallecen por la misma [1].

Entre las infecciones nosocomiales más frecuentes, encontramos las de las heridas quirúrgicas, las vías urinarias, las vías respiratorias inferiores y las bacteriemias. Así pues, se debe tener en consideración que el vector más importante son las manos además de las batas de médicos y

enfermeras. Las infecciones nosocomiales son un problema de salud mundial ya que son un problema creciente en todo el mundo, y son ocasionadas principalmente por microorganismos multirresistentes [1].

Resistencia bacteriana. Los antibióticos son medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas. La resistencia a los antibióticos se produce cuando las bacterias mutan en respuesta al uso de estos fármacos. Estas bacterias farmacorresistentes pueden causar infecciones en el ser humano y en los animales que son más difíciles de tratar. En consecuencia, la resistencia a los antibióticos hace que se incrementen los costos médicos, que se prolonguen las estancias hospitalarias y que aumente la mortalidad. Los microorganismos pueden adquirir la multirresistencia, a través de plásmidos, transposones o mediante mutaciones. Existe un gran número de especies bacterianas patógenas que han desarrollado resistencia, las cuales se encuentra en mayor proporción en los hospitales [2]. Con el fin de evitar el contagio de pacientes por infecciones nosocomiales, se ha visto la necesidad de combatir este problema con la búsqueda e implementación de nuevas alternativas, entre las que se encuentran, el uso de nanopartículas metálicas [3].

Nanopartículas metálicas. El término nanopartículas (NPs) se aplica a las partículas en donde por lo menos una de sus dimensiones se encuentra entre 1 y 100 nanómetros. Actualmente, existe una gran variedad de NPs metálicas tales como plata, oro, cobre, titanio y zinc, en donde sus características particulares dependen principalmente de su tamaño, forma, geometría y superficie. Se ha reportado que las NPs de Ag y Cu, entre otras, tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, produciendo un efecto biocida, es decir, neutralizan o impiden la acción de cualquier organismo considerado nocivo para el hombre [4].

NPs de Cu

Recientemente las NPs de Cu han atraído el interés científico e industrial puesto que presentan importantes propiedades fisicoquímicas similares a las NPs de Ag, con la ventaja de que el costo de fabricación es mucho menor. Actualmente ya se usan las NPs en recubrimientos con actividad antimicrobiana que podría contribuir a disminuir las infecciones, por lo que se les considera la nueva generación de agentes antimicrobianos [3].

Nanomateriales. Los nanocompuestos tienen una amplia gama de aplicaciones, como son la incorporación de componentes biológicos (como las enzimas) o bien incorporando NPs metálicas con aplicaciones en la industria alimenticia y de empaquetamiento de perecederos, en la industria de textiles, en materiales quirúrgicos y recientemente con un potencial para combatir enfermedades [4].

Metodología

Cultivo de bacterias. Se utilizaron las bacterias *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) y *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 13388), las cuales se cultivaron en medio de cultivo LB.

Nanopartículas y nanocompuestos. Se utilizaron dos tipos de nanopartículas (NPs) de Cu provenientes de Inglaterra y México denominadas (A) y (B), respectivamente. Se utilizaron hilos de PET y Nylon con NPs de Cu (CIQA) y telas impresas con NPs de Cu con tres diferentes tratamientos, A, B y C (Inglaterra). Las características de las NPs, tales como el tamaño, síntesis y recubrimiento son procesos que están en proceso de ser patentados.

Actividad antibacteriana de NPs de Cu. Preparación de NPs: Se pesaron las NPs de Cu, se resuspendieron en PBS estéril con un agente dispersante y se sonicaron. Se prepararon diferentes concentraciones de NPs de Cu (50, 100, 200 y 400 $\mu\text{g/ml}$). Preparación de bacterias: Se utilizaron bacterias frescas provenientes de un cultivo de LB crecidas durante 16 h a 37°C y se ajustaron con PBS. Se realizaron diluciones seriadas hasta tener 0.5×10^5 bacterias. Interacción bacterias-NPs: Se incubó 1 ml de NPs a diferentes concentraciones con 1 ml de bacterias a 37°C durante 15 min. Se colocaron 100 μl en placas de agar LB y se incubaron durante 16 h a 37°C . Finalmente se realizó conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

Actividad antibacteriana de hilos y telas con NPs de Cu. Preparación de hilos y telas con NPs: Se cortaron trozos homogéneos de hilo y círculos de telas y se esterilizaron con luz UV dentro de una caja Petri. Preparación de bacterias: Se utilizaron bacterias frescas provenientes de un cultivo crecidas durante 16 h a 37°C y se ajustaron con LB-PBS. Se realizaron diluciones seriadas hasta tener 0.5×10^5 bacterias para los hilos y 0.5×10^6 para las telas. Interacción bacterias-hilos con NPs: Se incubaron las bacterias con distintos hilos y telas a 37°C durante 6, 12 y 24 h. Se recuperaron las bacterias, se sembraron diferentes diluciones y se incubaron durante 16 horas a 37°C . Finalmente se realizó el conteo de UFC en el Scan 500.

Resultados

Se evaluó la actividad antibacteriana de NPs de Cu (A) y (B) sobre las bacterias patógenas *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Para lo cual se incubaron a 37°C durante 15 min bajo agitación con diferentes concentraciones de NPs (50-400 $\mu\text{g/ml}$). Se encontró que las dos bacterias son susceptibles a ambas NPs de Cu alcanzando un 100% de actividad antibacteriana con ambas NPs (Figura 1). Al determinar la dosis letal media se encontró que para las NPs (A) era de 55 $\mu\text{g/ml}$ mientras que para las NPs (B) fue de 110 $\mu\text{g/ml}$ para *S. aureus* (Figura 1A). En contraparte, para *P. aeruginosa* se obtuvo una dosis letal media de 57 $\mu\text{g/ml}$ y 113 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente (Figura 1B). Por lo tanto, las NPs (A) son más efectivas contra bacterias patógenas.

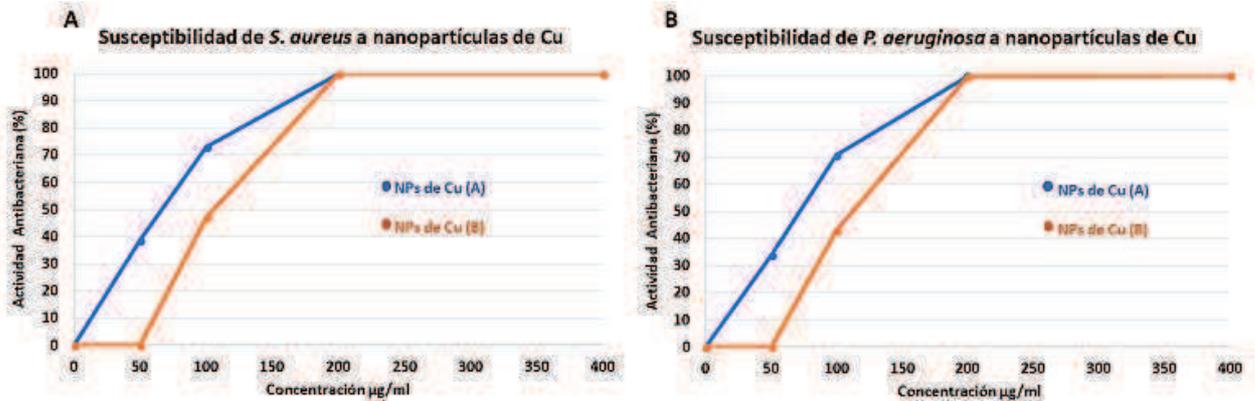


Figura 1. Actividad antibacteriana de NPs Cu sobre bacterias patógenas. Se evaluaron diferentes concentraciones de NPs de Cu tipo (A) y (B) sobre *S. aureus* (Figura 1A) y *P. aeruginosa* (Figura 1B). Se calculó el porcentaje de actividad antibacteriana de acuerdo con las UFC de bacterias expuestas a NPs con respecto al control.

Se elaboraron hilos de PET Y Nylon (CIQA) con distintos porcentajes en peso de NPs de Cu (A) y se determinó la actividad antibacteriana sobre las bacterias patógenas *S. aureus* y *P. aeruginosa* a diferentes tiempos. Se encontró que los hilos inhiben parcialmente el crecimiento de ambas bacterias (Figura 2). La bacteria *S. aureus* fue más susceptible a los hilos de Nylon-NPs Cu 2%, alcanzando un 80% de inhibición del crecimiento bacteriano (Figura 3A), mientras que contra *P. aeruginosa*, sólo inhibió un 60% (Figura 2B). Los hilos de PET con NPs de Cu presentaron baja actividad antibacteriana. Es importante evaluar la exposición de las NPs de Cu sobre la superficie de los polímeros.

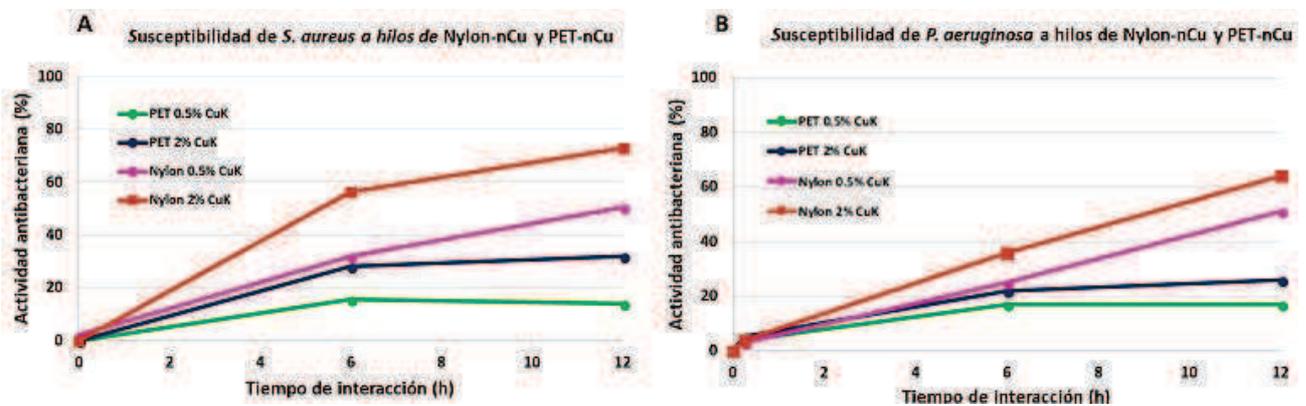


Figura 2. Actividad antibacteriana de hilos con NPs Cu sobre bacterias patógenas. Se evaluaron hilos de PET y Nylon con diferentes porcentajes NPs de Cu sobre *S. aureus* (A) y *P. aeruginosa* (B), y se calculó el porcentaje de actividad antibacteriana de acuerdo a las UFC de bacterias expuestas a los hilos con NPs con respecto al control.

De igual forma fue evaluada la actividad antibacteriana de telas con NPs de Tipo A, B, C y tela sin NPs de Cu sobre las bacterias patógenas *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Para lo cual se incubaron a 37°C durante 6, 12 y 24 horas. Se encontró que los tipos de telas A, B y C inhiben la actividad de ambas bacterias (Figura 3). La bacteria *S. aureus* fue más susceptible a la tela tipo C alcanzando un 80% de actividad antibacteriana (Figura 3A). Al determinar la actividad antibacteriana con *P. aeruginosa* todas las telas se comportaron de manera similar, presentando

un porcentaje de inhibición no mayor al 50% (Figura 3B). Estas diferencias pueden estar relacionadas a la interacción diferencial de las bacterias con las telas.

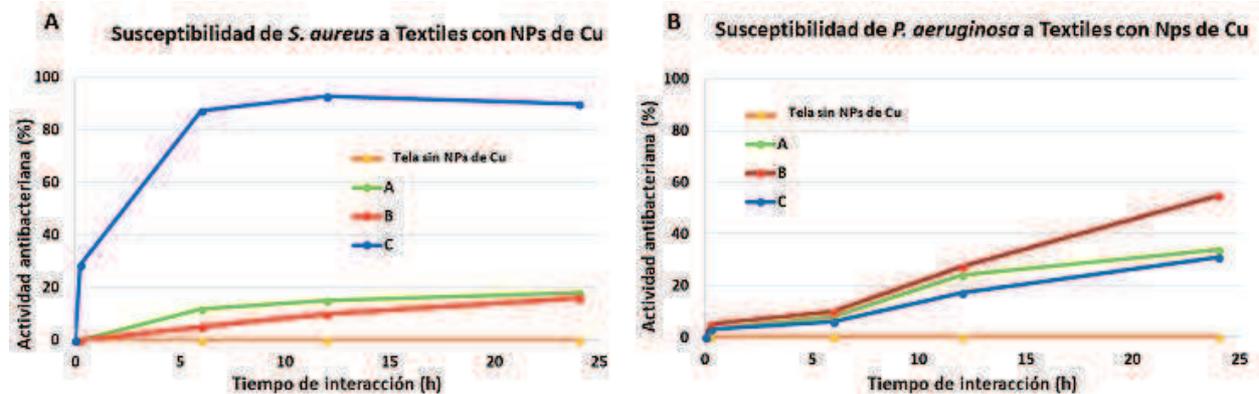


Figura 3. Actividad antibacteriana de telas con NPs Cu sobre bacterias patógenas. Se evaluaron telas con NPs Cu (A) con diferentes tratamientos sobre *S. aureus* (A) y *P. aeruginosa* (B), y se calculó el porcentaje de actividad antibacteriana de acuerdo a las UFC de bacterias expuestas a las telas con NPs con respecto a la tela control.

Conclusiones

Las nanopartículas de Cu (A) presentaron mayor actividad antibacteriana que las NPs Cu (B) sobre bacterias patógenas, lo cual podría estar relacionado con su tamaño, forma y recubrimiento. Los hilos de Nylon con NPs de Cu presentaron mayor actividad antibacteriana que los hilos de PET, lo cual podría estar relacionado con la naturaleza del polímero o por la exposición de las NPs de Cu. La actividad antibacteriana de las telas con NPs dependen del post-tratamiento a las que fueron sometidas ya se incrementó su actividad contra *S. aureus*.

Bibliografía

- [1] Organización Mundial de la Salud (2003). “ Prevención de las infecciones nosocomiales, guía práctica” , 2nd Ed., Organización Mundial de la Salud, Malta, 4-7.
- [2] Arias-Flores R, Rosado-Quiab U, Vargas-Valerio A, GrajalesMuñiz C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 54 (1), 4-20.
- [3] Medina Navarro L. (2015). Trabajo de tesis de licenciatura: Actividad antibacteriana de nanopartículas metálicas de Cu y Ag y su efecto sobre proteínas y ácidos nucleicos. Universidad de Guanajuato, Guanajuato, Gto., México, 14-25.
- [4] Padilla Vaca F., Mendoza Macías C., Franco B., Anaya Velázquez F., Ponce Noyola P., Flores Martínez A. (2018). El mundo micro en el mundo nano: importancia y desarrollo de nanomateriales para el combate de las enfermedades causadas por bacterias, protozoarios y hongos. Mundo Nano, 11 (21), 15-24.

AISLADOS CLÍNICOS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* Y *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* FORMADORES DE BIOPELÍCULAS

Mayela Martínez Cano^a, Cruz Eugenia Martínez Palacios^a, José Juan Torres Hernández^b, Norma Claudia Martínez Delgado^b, Irais Berenice Bermúdez Valencia^b, Ruth Reyes Cortés^a

^aLaboratorio de biología del parasitismo. Departamento de Biología, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, CP.36000, México. ^bHospital General de Guanajuato Dr. Martín Gracia
lara_may84@hotmail.com

Resumen

El objetivo de este estudio fue analizar aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* por su perfil de resistencia a antibióticos y la formación de biopelículas. Para ello se utilizaron 5 aislados clínicos de *K. pneumoniae* y 5 de *S. aureus* provenientes del Hospital General de Guanajuato “Valentín Gracia”. La sensibilidad a antibióticos se determinó mediante un sistema automatizado y la formación de biopelículas por un método colorimétrico. Los resultados observados mostraron que, los antibiogramas de los aislados clínicos de *S. aureus* y *K. pneumoniae* son resistentes principalmente a antibióticos del tipo de las cefalosporinas y penicilinas. Todas las cepas de *S. aureus* formaron biopelículas a las 36 horas y tres de las cinco cepas de *K. pneumoniae* formaron biopelículas desde las 24 horas de incubación. Por lo que, debido a la problemática de la alta incidencia y multiresistencia presentada por *K. pneumoniae* y *S. aureus* en el sector salud, este estudio provee información relevante de su capacidad para formar biopelículas, la cual puede estar relacionada con el perfil de resistencia hacia los antibióticos de elección. Este conocimiento es de vital importancia, ya que nos permite proponer terapias alternativas de tratamiento cuando los antibióticos convencionales son ineficientes para combatir las infecciones producidas por bacterias formadoras de biopelículas.

PALABRAS CLAVE: *Biopelícula. Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus. resistencia a antibióticos*

Introducción

Las bacterias se encuentran en la naturaleza de dos maneras, de forma planctónica y formando biopelículas. Desde los años 70, los microbiólogos plantearon que probablemente la mayoría de las bacterias en la naturaleza se encuentran en estado de biopelícula. Las biopelículas son creadas cuando las bacterias de vida planctónica se adhieren a una superficie, elaborando señales químicas para coordinar la diferenciación, formación de estructura y desarrollo de una cubierta protectora de polisacáridos. La formación de biopelícula les confiere a las bacterias ventajas significativas en la protección frente a fluctuaciones ambientales de: humedad, temperatura, pH, concentración de nutrientes y facilitando la eliminación de desechos [1].

S. aureus, es una bacteria Gram positiva, no formadora de esporas, no móvil y anaerobia facultativa. Este, es un patógeno que produce enterotoxinas a temperaturas de 10 a 46°C. Las enterotoxinas se unen al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) para ser activas,

provocando un choque tóxico agudo [2]. Esta especie se multiplica en las membranas mucosas y su importancia radica en el surgimiento de bacterias resistentes principalmente a la meticilina, además de su capacidad para formar biopelículas en distintas superficies bióticas y abióticas. Este factor acarrea considerable importancia económica debido a los altos costos que genera su tratamiento.

K. pneumoniae es una bacteria Gram negativa, no móvil, con cápsula y anaerobia facultativa. Usualmente se ubica en las mucosas de nasofaringe y el tracto gastrointestinal [3]. En las últimas décadas, *K. pneumoniae* se ha convertido en un patógeno asociado al cuidado y atención de la salud, ya que se reporta como el agente causal de infecciones hospitalarias relacionadas al tracto respiratorio, urinario, conducto biliar inferior y heridas por cirugías [4]. La capacidad de *K. pneumoniae* para formar biopelículas, la protege de la respuesta inmune del huésped, así como de la acción de antibióticos, haciendo más larga su persistencia en los diferentes tejidos donde se presenta. Algunos de los genes detectados en *K. pneumoniae* que se relacionan con la virulencia, también son relacionados con la formación de biopelículas [5]. Las cepas de *K. pneumoniae* desarrollan resistencia a los antibióticos carbapenémicos por la producción de carbapenemasas, b-lactamasas y porinas, las cuales están relacionadas también en la producción de biopelículas [6]

Por lo que, el objetivo de este trabajo fue analizar el perfil de resistencia a los antibióticos de elección y la capacidad de producir biopelículas de diversos aislados clínicos de *K. pneumoniae* y *S. aureus*.

Metodología

Bacterias y condiciones de cultivo.

Se utilizaron cinco aislados clínicos de *K. pneumoniae* y de *S. aureus* obtenidos de pacientes provenientes del Hospital General de Guanajuato “Valentín Gracia”. Las bacterias se identificaron mediante el sistema VITEK 2. Las cepas utilizadas de *K. pneumoniae* se denominaron: 1006009851, KL-147-III, KL-08 y KL-10, la mayoría fueron aisladas de muestras de urocultivos. También, se contó con una cepa de referencia *K. pneumoniae* ATCC 700603. De la misma manera, se contó con los aislados de *S. aureus* 1130059, 306012753, 1217002153, 1016017553 y 303003853, procedentes de muestras de secreciones abdominales y de pie. Los cultivos bacterianos se realizaron utilizando medio Luria Bertani (LB) (Peptona 10gr/L, Extracto de levadura 5 gr/L, NaCl 5 gr/L y agar 15gr/L para la realización del medio LB sólido).

Determinación de la sensibilidad a antimicrobianos.

La determinación de sensibilidad a antimicrobianos se realizó con el sistema automatizado Vitek 2. Este sistema, utiliza tarjetas de plástico con diferentes concentraciones de antibióticos que se llenan con el inóculo bacteriano estandarizado y cada 10 min el sistema hace una lectura del crecimiento bacteriano, con su respectivo control de crecimiento normal. Los antibióticos probados para *S. aureus* y *K. pneumoniae* se muestran en la Tabla 1 y Tabla 2.

Análisis de la formación de biopelículas.

Para determinar la formación de biopelículas, se aplicó el método de tinción con cristal violeta en microplaca [7]. Brevemente, se utilizó un cultivo bacteriano a una densidad óptica DO_{600} nm de 0.5 (2×10^8 Unidades formadoras de colonia) en placas de 96 pozos, las cuales se mantuvieron en incubación a 37°C a diferentes tiempos (24, 36 y 48 horas). Después de los diferentes periodos de incubación, se retiró el sobrenadante que contenía las bacterias planctónicas y se realizó la fijación de la muestra que contiene la biopelícula con metanol al 99%. Posteriormente se tiñó con cristal violeta al 0.1 % y finalmente se midió la DO a 540 nm. Los ensayos se realizaron 3 veces por triplicado.

Resultados

Tabla 1. Perfil de resistencia a antibióticos de las cepas de S. aureus

ANTIBIÓTICO	CEPAS DE <i>S. aureus</i>				
	303003853	1217002153	306012753	1130005953	1016017553
Gentamicina	S	S	S	R	S
Bencilpenicilina	S	R	R	R	S
Cefoxitina	ID	ID	R	ID	ID
Oxacilina	S	S	R	S	S
Nitrofurantóina	S	S	S	S	S
Vancomicina	S	S	S	S	S
Clindamicina	S	S	R	R	S
Eritromicina	S	S	R	S	S
Quinupristina /Dalfopristina	S	S	S	S	S
Clindamicina	ID	ID	ID	ID	ID
Linezolid	S	S	S	S	S
Ciprofloxacino	S	S	R	S	S
Levofloxacino	S	S	R	S	S
Moxifloxacino	S	S	R	S	S
Rifampicina	S	S	S	S	S
Tetraciclina	S	S	S	S	S
Tigeciclina	S	S	S	S	S
Trimetoprima /Sulfametoxazol	S	S	S	S	S

(S)sensible; (R) resistente; (I) intermedio; (ID) indeterminado.

Perfil de resistencia a antimicrobianos

El antibiograma de los 5 aislados clínicos de *S. aureus* mostró sorpresivamente, sensibilidad a una gran cantidad de antibióticos de elección, Tabla 1, siendo la cepa 306012753, la única con un perfil de multirresistencia a 7 de los 17 antibióticos probados. Los resultados para *K pneumoniae* mostraron que, las cepas KL-147 y la 1006009851 tienen un perfil de multirresistencia, ya que, de los 17 antibióticos probados, solo son sensibles a 3 de ellos (ciprofloxacina, eritapenem y al

meropenem). Las otras 3 cepas de *K. pneumoniae* fueron sensibles a 15 de los antibióticos probados con excepción de la ampicilina y la nitrofurantoina Tabla 2.

Tabla 2. Perfil de resistencia a antibióticos de las cepas de *K. pneumoniae*

ANTIBIÓTICO	CEPAS DE <i>K. pneumoniae</i>			
	KL-08	KL-147-III	KL-07	1006009851
Amicacina	S	R	S	S
Gentamicina	S	R	S	R
Tobramicina	S	R	S	R
Ampicilina	R	R	R	R
Ampicilina/Sulbactam	I	R	I	R
Aztronam	S	R	S	R
Blee	-	+	-	+
Cefazolina	S	R	S	R
Cefepima	S	R	S	R
Ceftriaxona	S	R	S	R
Eritapenem	S	S	S	S
Meropenem	S	S	S	S
Piperacilina /Tazobactam	S	R	S	S
Nitrofurantoína	I	S	I	I
Ciprofloxacino	S	S	S	S
Tigeciclina	I	S	I	S
Trimetoprima /Sulfametoxazol	S	S	S	S

(S) sensible; (R) resistente; (I) intermedio; (+) presencia de enzimas Blee; (-) ausencia de enzimas Blee

Formación de biopelículas

El análisis de la formación de biopelículas mostró que, todas las cepas de *S. aureus* forman biopelículas a las 36 horas, ya que se observó las mediciones de la OD_{450nm} entre 1 y 2 Figura 1. Las cepas de *K. pneumoniae* forman las biopelículas a partir de las 24 horas de incubación Figura 2. Sin embargo, solo 3 cepas mostraron densidades ópticas por arriba de 1, lo cual indica que estas bacterias son formadoras de biopelículas eficientes y la cepa de referencia ATCC y el aislado KL08 no son formadoras de biopelículas debido a sus OD₄₅₀ menores de 1

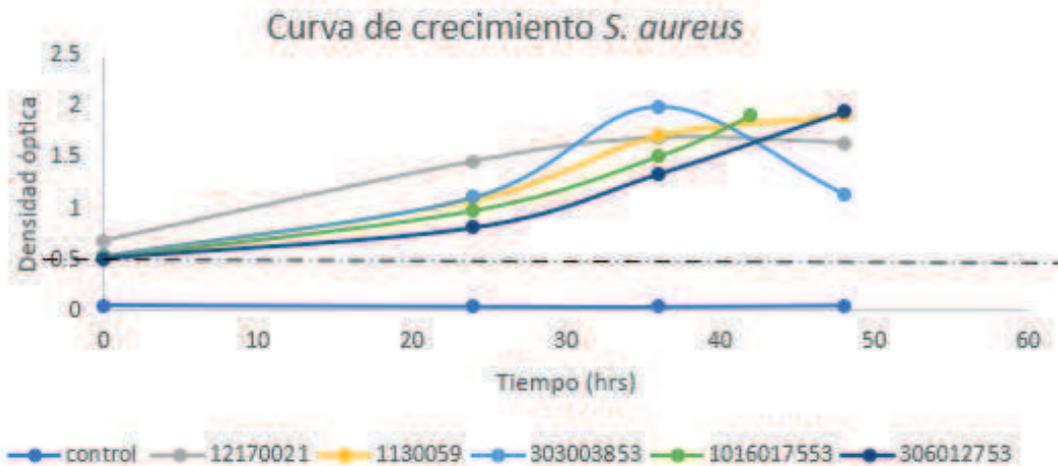


Figura 1. Curva de crecimiento de la formación de biopelículas de las cepas de *S. aureus*. La OD_{450nm} se obtuvo en función de la captación del cristal violeta después de la incubación a 24,36 y 48 horas. La línea punteada indica el límite de la formación de biopelícula

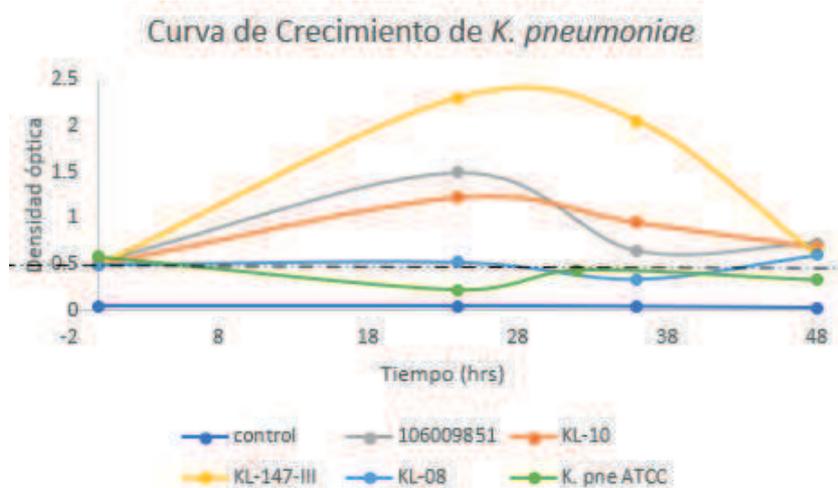


Figura 2. Curva de crecimiento de la formación de biopelículas en las cepas de *K. pneumoniae*. La OD_{450nm} se obtuvo en función de la captación del cristal violeta después de la incubación a 24,36 y 48 horas. La línea indica el límite de la formación de biopelícula

Discusión

En este estudio, las diferentes cepas de *S. aureus* y *K. pneumoniae* aisladas de pacientes del Hospital General de Guanajuato “Valentín Gracia” se analizaron respecto al perfil de resistencia a antibióticos y su capacidad para formar biopelículas. Los resultados reunidos en este trabajo mostraron que las cepas de *S. aureus* que son formadoras de biopelículas, no necesariamente presentan un perfil de resistencia a los antimicrobianos de elección. Sin embargo, al analizar el comportamiento de las cepas de *K. pneumoniae*, se observó claramente que su capacidad para formar biopelícula sí está estrechamente relacionada con su perfil de multiresistencia. Los resultados obtenidos para *K. pneumoniae* concuerdan con los resultados obtenidos por otros

autores que mencionan que la formación de biopelícula representa una ventaja para la sobrevivencia de las bacterias [1]. Conocer si las bacterias son capaces de producir biopelículas es de gran relevancia para la elección de su tratamiento, ya que se necesitarían de terapias alternativas al uso de antibióticos.

Bibliografía

- [1] Scott C, Manning Sc. “*Basics of biofilm in clinical otolaryngology*”. Ear Nose Throat J 2003; 82 (suppl): 18-20
- [2] Schelin, J., Susilo, Y. B., and Johler, S. (2017). “*Expression of Staphylococcal enterotoxins under stress encountered during food production and preservation*”. Toxins 9:401. doi: 10.3390/toxins9120401
- [3] Echeverri Toro, Lina María, Castaño Correa, Juan Carlos, “*Klebsiella pneumoniae como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia*”. 2010, Disponible en :<hiip://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180518994006> ISSN0121-0793
- [4] De Rosa, F.G., Corcione, S., Cavallo, R., Di Perri, G. and Bassetti, M. (2015) “*Critical issues for Klebsiella pneumoniae KPC-carbapenemase producing K. pneumoniae infections: a critical agenda*”. Future Microbiol 10, 283–294.
- [5] Jagnow, J. and Clegg, S. (2003) “*Klebsiella pneumoniae MrkD mediated biofilm formation on extracellular matrix- and collagen-coated surfaces*”. Microbiology 149, 2397–2405.
- [6] Kvist, M., Hancock, V. and Klemm, P. (2008) “*Inactivation of efflux pumps abolishes bacterial biofilm formation. Appl Environ Microbiol*” 74, 7376–7382.
- [7] Elke Peeters, Hans J. Nelis, Tom Coenye. (2008). *Comparison of multiple methods for quantification of microbial films grown in microtiter plates. ScienceDirect, 1, 157-165.*

CARACTERIZACIÓN DEL DESENQUISTAMIENTO EN ENTAMOEBA INVADENS

Rosiles Ortega Ana Fernanda ^a, Villagómez Castro Julio César^b, Amezola Rivera Jesús Antonio^b
^a [Licenciatura en Biología Experimental, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico:
[af.rosilesortega@ugto.mx]

^b [Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [castroj@ugto.mx] [ja.amezolarivera@ugto.mx]

Resumen

Entamoeba invadens es una especie importante dentro del reino Protozoa porque permite un amplio estudio y comparación con los individuos del mismo género que resultan ser patógenos para los seres humanos, como lo es *E. histolytica*. Dentro de estos estudios resaltan los relacionados con su ciclo de vida, específicamente enquistamiento y desenquistamiento. En el presente trabajo se evaluaron dos enzimas presentes durante el enquistamiento amibiano y que pudiesen participar en el desenquistamiento: la quitinasa, encargada de la degradación de la pared gruesa del quiste en dímeros o monómeros de GlcNac y la *N*-acetil- β -D-glucosaminidasa, que se encarga de la degradación de los dímeros de GlcNac.

Palabras clave: *Desenquistamiento, Glucosaminidasa, Quitinasa.*

Introducción

Las amibas del género *Entamoeba* tienen importancia especial para su estudio por incluir especies parásitas y patogénicas para el hombre y algunos animales. Las más conocidas son *Entamoeba invadens* (Rodhain, 1934) y *Entamoeba histolytica* (Schaudinn, 1903).

La amibiasis representa un gran problema de salud pública en México y otros países. Esta enfermedad cuyo causal en el hombre es *E. histolytica* es típica de los países con clima tropical. Sin embargo, la disentería amebiana es bastante común en todo el mundo, principalmente en regiones templadas.

Se han comparado estas dos especies de *Entamoeba* y esto nos ha llevado al estudio de la morfología y ciclo vital de *E. invadens* (Geiman y Ratcliffe, 1972) lo que permite concluir que *E. invadens* y *E. histolytica* son cercanamente semejantes. En opinión de McConnachie (1986), esta semejanza está dada en los procesos de diferenciación y desarrollo metaquístico, por lo que una especie puede ser comparada con la otra.

Es por lo que a pesar de que *E. invadens* (Imagen 1) es parásito de reptiles, es una especie que permite estudiar el comportamiento de la especie in vitro (sobre todo el proceso de diferenciación) para compararla con el comportamiento de *E. histolytica* que no se ha logrado enquistar en cultivo in vitro.

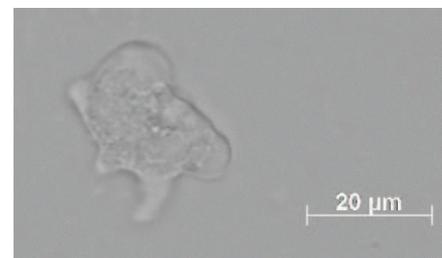


Imagen 1: Trofozoito de *E. invadens* (campo claro 40x).

En este trabajo mostramos los resultados preliminares del desenquistamiento de *E. invadens* en función de su morfología y de dos enzimas probablemente involucradas en el proceso diferenciativo.

Metodología

Medios de cultivo

-Medio de cultivo TYI-S-33 para mantenimiento:

Peptona biotriptasa 30.0 g, Extracto de levadura 3.0 g, Dextrosa 10.0 g, Cloruro de sodio 2.0 g, Fosfato de potasio monobásico 0.6 g, Fosfato de potasio dibásico 1.0 g, L-cisteína 1.0 g, Citrato férrico amoniacal 0.023 g, Agua desionizada 820 mL, Suero bovino (SB) suplementado con SED 180 mL. (Diamond, 1978).

-Medio LG: Misma composición del medio TYI-S-33, exceptuando el uso de dextrosa o glucosa. (Vazquezdelara-Cisneros, 1984).

-Medio LG-47:

Por cada 100 ml de medio se mezclan 47 mL de medio LG, 5 mL de SB y 48 mL de agua desionizada estéril. (Turner, 2007).

-Medio Desenquistamiento:

TYI-S-33, NaHCO₃ 40 mM, Bilis bovina 1mg/mL. (Biswa Nath Mitraa, 2010).

Morfología microscópica:

-Viabilidad celular: Se tiñeron las células con azul de Tripano 0.2 % (p/v) en PBS. Las células teñidas son células muertas (Imagen 2A).

-Determinación de madurez nuclear y morfología: Las células se tiñeron con colorante D'Antonie para evidenciar el número de núcleos y su morfología (Imagen 2 B).

-Tinción de la pared celular: Se realizó con blanco de Calcoflúor al 0.01% y observación con microscopio de fluorescencia para revelar la pared de quitina (Imagen 2C).

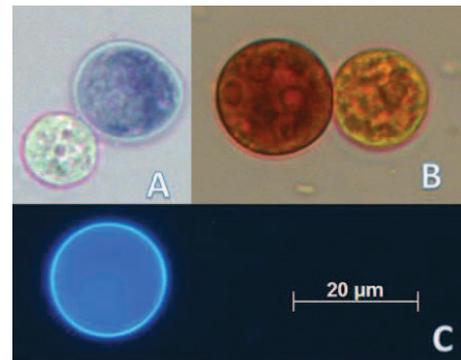


Imagen 2: Tinciones diferenciales amibianas. A., Viabilidad, quiste viable (blanco) y quiste no viable (azul); B, Madurez quística, quiste tetranucleado (café izquierda); C, Pared celular; quiste maduro con halo refringente de quitina.

Proceso de Enquistamiento y Desenquistamiento:

El proceso de enquistamiento fue realizado por duplicado. Se resuspendieron los trofozoítos cultivados en medio completo TYI-S-33 y LG, se lavaron por centrifugación y se resuspendieron en medio LG-47, adicionado con antibióticos, a una densidad de 500,000 trofozoítos/mL en cajas Costar de 40 ml de volumen. Se incubaron a 28 °C.

En alícuotas 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, mientras que las células muertas no lo hacen. 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 0.05 % (v/v) a temperatura ambiente y posteriormente fueron lavadas 1x con PBS 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 Calcoflúor W2R (0.2 % p/v), observando la integridad de ésta y contando el número de núcleos presentes en las células recuperadas teñidas con colorante D'Antonie.

Los ensayos de desenquistamiento se realizaron con los quistes resistentes al detergente, obtenidos después de 24 horas de incubación en medio LG-47, los cuales fueron lavados y resuspendidos en medio TYI-S-33 completo adicionado de NaHCO₃, 40 mM y bilis bovina (1 mg/mL) de acuerdo con lo descrito por Mitra et al., 2010 (imagen 3).

Determinación de la actividad enzimática:

-Ensayo de actividad de N-acetil-β-D-glucosaminidasa:

El ensayo se realizó en mezclas conteniendo 40 y 100 μL de la muestra enzimática, 4-MUGlc 5 μM como sustrato, amortiguador de citrato-fosfato 50 mM, pH 5.5 y Tritón X-100 al 0.5 % (p/v). La mezcla se incubó a 37 °C durante 30 min y la reacción se detuvo por la adición de 2.7 mL de solución de paro (Na₂CO₃ 0.5 M en NaOH 0.1 N, pH 10.4). La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 5 min en la oscuridad para permitir el desarrollo de la fluorescencia debida a la 4-metilumbeliferona (4-MU) liberada por la hidrólisis enzimática. La fluorescencia se determinó en un espectrofluorómetro Perkin-Elmer utilizando longitudes de onda de excitación de 350 nm y de emisión de 440 nm y los valores obtenidos se interpolaron en una curva de calibración estándar de 4-metilumbeliferona (4-MU) de acuerdo con el método descrito por Bravo-Torres y col., (2005).

-Ensayo de actividad de Quitinasa:

El ensayo se realizó en mezclas conteniendo 40 y 100 μL de la muestra enzimática, 4-MU-N-N-N-triacetilquitotriósido 5 μM, amortiguador de citratos 50 mM, pH 5.5 y Tritón X-100 al 0.5 % (p/v). La mezcla de reacción se incubó a 37 °C durante 30 min y la reacción se detuvo por la adición de 2 mL de solución de paro (Na₂CO₃ 0.5 M en NaOH 0.1 N, pH 10.4). La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 5 min en la oscuridad para permitir el desarrollo de la fluorescencia debida a la 4-Metilumbeliferona (4-MU) liberada por la hidrólisis enzimática. La fluorescencia se determinó en un espectrofluorómetro Perkin-Elmer utilizando longitudes de onda de excitación de 350 nm y de emisión de 440 nm y los valores obtenidos se interpolaron en una curva de calibración estándar de 4-Metilumbeliferona (4-MU) de acuerdo con el método descrito por Villagómez-Castro y col. (1992).

Determinación de proteína:

Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu, descrito por Lowry y col. (1951) para la determinación de proteína en presencia de lípidos. Se utilizó albúmina de suero bovino (BSA) como estándar para la curva de calibración. Los volúmenes se ajustaron para realizar la determinación en método micro utilizando una placa de 96 pozos. La lectura se realizó en un lector de Microplacas con Monocromador UV-Vis EPOCH en una longitud de onda de 750 nm.

Resultados

Los datos de determinación de proteínas y lectura de actividad en el fluorómetro se utilizaron para determinar la Actividad Específica de cada enzima.

Los valores mayores se encontraron en los sobrenadantes (Gráfica 1), lo que indica que ambas enzimas están presentes durante el desenquistamiento y ambas son secretadas en función del tiempo de diferenciación (Gráfico 2).

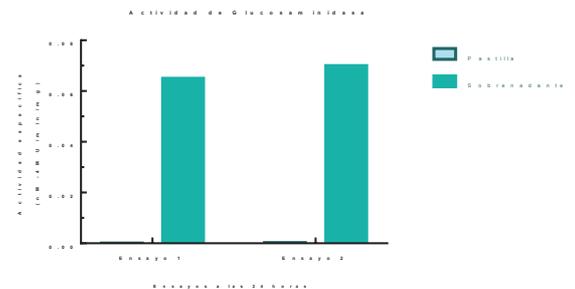


Gráfico 1: Actividad enzimática determinada a las 24 h de desenquistamiento.

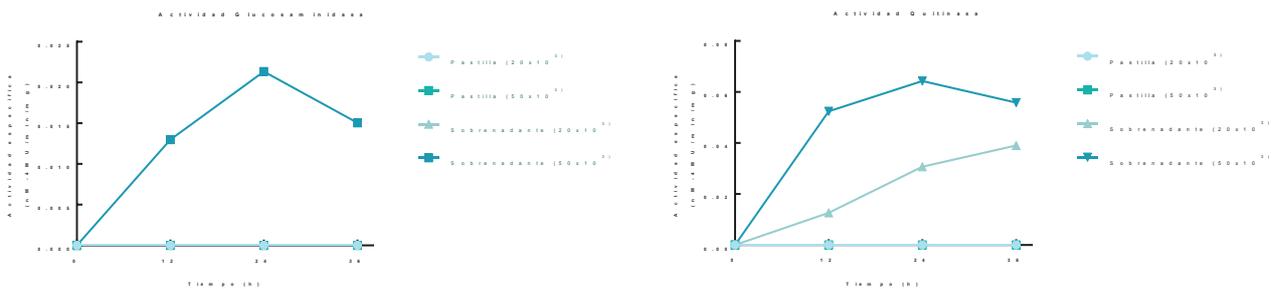


Gráfico 2: Cinética del desenquistamiento amibiano en función de las actividades de Glucosaminidasa y Quitinasa. Se realizaron ensayos con 2 cantidades de muestra correspondientes a dos diferentes concentraciones de proteína y número de células en función del tiempo de desenquistamiento y la fracción celular: pastilla y sobrenadante.

Si bien, los trofozoítos inoculados en medio de enquistamiento muestran una morfología normal (Imagen 3 C) y los quistes recuperados durante el proceso diferenciativo, con eficiencia del 50 %, manifiestan viabilidades superiores al 95 % (Imagen 2A) y madurez medida por la formación de células tetranucleadas (Imagen 2B) y la integridad de la pared celular (Imagen 2C); durante el desenquistamiento amibiano se generan células enormes provenientes de la agregación de los trofozoítos metaquísticos recién liberados de los quistes (Imágenes 3A y 3D), los cuales a las 36 h de iniciada la diferenciación recuperan su



Imagen 3. Morfología de trofozoítos de *E. invadens*.
 A) Trofozoito enorme campo claro 40x.
 B) Trofozoito antes de enquistamiento campo claro 40x.
 C) Trofozoito después de desenquistamiento campo claro 40x
 D) Trofozoito enorme campo claro 40x.

morfología y tamaños normales (Imagen 3B). Este proceso diferenciativo requiere la participación de hidrolasas ácidas secretadas como las determinadas en este trabajo. Como se observa en los Gráficos 1 y 2, la actividad enzimática presente en el sobrenadante (actividad enzimática secretada) alcanza un máximo y luego desciende ligeramente durante la diferenciación amibiana. Un proceso semejante fue descrito para estas enzimas durante el enquistamiento amibiano (Villagómez-Castro, 1992). Sin embargo, no fue posible observar actividad en las pastillas celulares, significando que toda la actividad enzimática es secretada.

Se requiere un estudio exhaustivo para caracterizar el proceso de desenquistamiento amibiano que podría utilizarse para la búsqueda de fármacos que inhiban el proceso y eviten la infección en el hospedero.

Conclusiones

Durante el desenquistamiento amibiano se secretan dos enzimas: Quitinasa y N-acetil-Glucosaminidasa que dadas las evidencias presentadas se sugiere participan en la diferenciación celular.

Durante el desenquistamiento amibiano se producen trofozoítos metaquísticos agregantes que pudiesen tener una mayor concentración de glicoproteínas en su membrana que podrían ser posteriormente hidrolizadas o recicladas por las amibas para recuperar su morfología normal.

Perspectivas

Se requiere un análisis integral de este proceso de diferenciación para determinar las enzimas y glicoproteínas involucradas en él.

Agradecimientos

A mis maestros, Dr. Julio César Villagómez Castro, C. a Dr. Lérida Liss Flores Villavicencio y pasante de Q.F.B. Jesús A. Amezola Rivera por enseñarme y ayudarme durante toda la etapa de verano. A mi Papá Gustavo, mi hermano Gael y mi familia que hicieron un gran esfuerzo para que yo estuviera aquí, a J. Pablo Gutiérrez Vicencio por la paciencia, tiempo y apoyo mutuo para lograr una estancia constructiva y de mucho aprendizaje para ambos.

A la Universidad de Guanajuato y la DCNE por mantener esta labor de apoyo y desarrollo para los jóvenes.

Bibliografía

- [1] Biswa Nath Mitraa, Gabriele Pradelb, Ute Frevert, and Daniel Eichinger. (2010). Compounds of the upper gastrointestinal tract induce rapid and efficient excystation of *Entamoeba invadens*. *J Parasitol.* 40(6): 751–760. doi: 10.1016/j.ijpara.2009.11.012. NIH-PA
- [2] Bravo Torres José Carlos, (agosto, 1994). Estudio Epidemiológico de *Entamoeba histolytica* en la ciudad de Guanajuato. Págs. 5,7,68-69.
- [3] Diamond, S., D. R. Harlow y C. C. Cunnick (1978). A new medium for the axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other *Entamoeba*. *Trans Roy. Soc, Trop. - Med Hyg* 72: 431.
- [4] Geiman, Q. M. y H. Ratcliffe (1936). Morphology and life-cycle of an amoeba producing amoebiasis in reptiles. *J Parasitol.* 20: 208.

- [5] Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr A. Randall RJ (1951). Protein measurement with the with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 193(1), 265-75.
- [6] McConnachie, E. W (1955). Studies on *Entamoeba invadens*. Rodhain, 1934 in vitro an its relationship to some other species of *Entamoeba*. *J. Parasitol.* 59:41
- [7] Pimenta PF, Diamond LS, Mirelman D (2002). *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 and *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925: differences in their cell surfaces and in the bacteria-containing vacuoles. *J Eukaryot Microbiol.* 49(3):209-19.
- [8] Rodhain, J (1934). *Entamoeba invadens* parasite de serpents. C.- R. Soc. Biol. Paris. 117: 1195-1200.
- [9] Turner, N.A., Eichinger, D. (2007). *Entamoeba invadens*: The requirement for galactose ligands during encystment. *Exp Parasitol*, 115, pp.467-474.
- [10] Vazquezdelara-Cisneros, L. G. & Arroyo-Begovich, A. (1984). Induction of Encystation of *Entamoeba invadens* by Removal of Glucose from the Culture Medium. *J. Parasitol.* 70, 629-633
- [11] Villagómez-Castro, Calvo-Méndez, López-Romero. (1992). *Molecular and Biochemical Parasitology*, 52-53-62 53. Elsevier Science Publishers B.V. 0166-6851

DEGRADACIÓN DE PET MEDIANTE CONSORCIOS FÚNGICOS

Pérez Méndez Martha Lizeth (1), Villagómez Castro Julio César (2)

1 [Licenciatura en Biología Experimental, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, México] | Dirección de correo electrónico: [ml.perezmendez@ugto.mx]

2 [Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico : [castroj2407@hotmail.com]

Resumen

El tereftalato de polietileno, mejor conocido como PET, ha sido ampliamente usado en las últimas décadas por sus propiedades fisicoquímicas. Hoy día, la producción en masa de productos de PET ha traído graves consecuencias ambientales debidas tanto a su compleja estructura química que lo hace difícil de degradar, como a la pésima disposición final de estos residuos. Actualmente se conocen cinco grandes islas de plástico en el mundo, las cuales traen consigo desde migración de especies parasitarias e invasivas hasta pérdida de especies animales. En este proyecto se evaluó la capacidad de dos aislados fúngicos, denominados “1A” y “Blanco”, para utilizar PET como fuente de carbono. Las cepas fúngicas aisladas se recuperaron de un consorcio que creció en una suspensión acuosa de PET pulverizado. Se crecieron ambos aislados de manera individual o combinada en medio mínimo de Mathur conteniendo PET o PETs (PET derivatizado con sorbitol) y se determinó su crecimiento analizando la proteína fúngica total al final de los ensayos y la proteína secretada. Asimismo, se evaluó el crecimiento colocando el PETs en una bolsa de celofán sumergida en el medio de cultivo para analizar la secreción de enzimas hidrolíticas capaces de digerir el PET o el celofán. Adicionalmente se realizaron co-cultivos de los dos hongos analizados en este estudio y un tercer hongo, denominado “Rosa”, proveniente del mismo consorcio inicial. Ambos hongos lograron crecer en el medio mínimo de cultivo adicionado de PET, sugiriendo el uso de éste como una potencial fuente de carbono. Si bien, el hongo 1A presentó un mejor crecimiento en este medio con respecto al hongo Blanco. También se observó que los consorcios planteados no resultan eficientes ya que se inhibe el crecimiento de las cepas Blanco y A1 en presencia de la cepa Rosa. Los resultados obtenidos sugieren que la cepa 1A es un hongo con potencial biotecnológico ya que al crecer en medio mínimo de Mathur, ocasiona una disminución significativa del PET adicionado al medio de cultivo. Mientras que la cepa rosa, analizada en un estudio independiente, podría secretar metabolitos secundarios antimicrobianos que limitan el crecimiento de otros hongos.

Palabras clave: *Biodegradación, Hongos, PET.*

Introducción

El plástico, debido a su resistencia a la degradación y su alta producción en la industria, se ha convertido en un gran problema ambiental a nivel global. Los desechos plásticos representan una amenaza directa para la vida silvestre. Los principales peligros de especies asociados con los plásticos son la ingesta y asfixia por este. Por otro lado, la gran cantidad de desechos plásticos,

que incrementan cada año, aumentan la posibilidad de que especies invasoras migren y colonicen otros hábitats usando los residuos como medio de transporte.

El tereftalado de polietileno (PET) es uno de los plásticos más usados por sus propiedades de moldeabilidad, resistencia, permeabilidad y durabilidad. Actualmente el PET se encuentra en la mayoría de los productos comerciales que consumimos todos los días [1].

Cada año, desde 1967, se incrementa en gran manera la producción de plástico, pasando de aproximadamente 2 millones de toneladas anuales a 380 millones de toneladas actualmente; y con ello la cantidad de residuos plásticos.

La mayor parte del plástico en los océanos proviene de los países en rápido desarrollo de Asia Oriental. Científicos del Centro Helmholtz de Investigación Ambiental, en Alemania, descubrieron que diez ríos descargan el 90% de todos los desechos marinos de plástico y según las tendencias actuales, para 2050 podría haber más plástico en las aguas del mundo que peces, esto medido por peso [2]. Adicionalmente, se sabe que los polímeros plásticos adsorben algunos compuestos tóxicos que pueden ser liberados desde el tracto digestivo hasta el músculo de aquellas especies que los ingirieron [2].

De acuerdo con el artículo “Plastic waste inputs from land into the ocean” publicado en Science en marzo de 2018 [3], se calcula que 275 millones de toneladas métricas (TM) de productos plásticos fueron generados en 192 países costeros en 2010, por una mala disposición final de residuos plásticos liberaron 4.8 a 12.7 toneladas métricas a los océanos Este problema aunado a que el desgaste por fricción de los escombros plásticos causa el desprendimiento de partículas muy pequeñas y difíciles de rastrear, las cuales pueden ser ingeridas por pequeños invertebrados marinos ocasionando graves daños a los ecosistemas [3]. Particularmente en lo que se refiere al PET, se ha descrito que tan solo en 2013 se produjeron 56 millones de toneladas de PET globalmente [4].

Existen varias formas de tratar los residuos plásticos como son el almacenamiento bajo tierra, la incineración y el reciclaje. Sin embargo los primeros dos implican una alta contaminación por desprendimiento de gases tóxicos, mientras que el reciclaje es un tanto más complejo, debido a que el plástico debe tener ciertas características y condiciones específicas para poder llevar a cabo este proceso. Por lo que se ha sugerido el uso de sistemas biológicos para la bio-degradación del PET como se ha implementado para metales pesados o hidrocarburos y sus derivados.

Se ha demostrado que algunos microorganismos son capaces de utilizar tereftalato de dietilenglicol (DTP), sin embargo, son incapaces de degradar el PET debido a su elevada polimerización [1]. Actualmente existen pocos estudios de la bio-degradación de plásticos, principalmente en lo que respecta al PET. Se ha descrito que cepas como *Fussarium oxysporum* y *Fussarium solani*, pueden crecer en medios minerales con hilos de PET. Varios investigadores de la Universidad de Kyoto, con colaboraciones de otras instituciones, recuperaron un consorcio de microorganismos capaces de crecer sobre una fina película de PET, observando la degradación de 0.13 mg/cm²/día a 30°C en CO₂. A partir de este consorcio lograron aislar una bacteria capaz de degradar y asimilar exitosamente el PET a la que le atribuyeron la capacidad degradativa del consorcio. A esta bacteria la denominaron *Indoenella sakaiensis* 201-F6. Al inocular a esta bacteria en una película de PET, este fue dañado casi por completo después de 6 semanas [4].

La actividad enzimática de la proteína ISF6_4831, aislada de *Indoenella sakaiensis* fue comparada con la capacidad de tres esterasas comerciales para degradar películas de PET, observándose que la proteína ISF6_4831 degradó más eficientemente al PET con respecto a los ésteres alifáticos degradados preferentemente por las esterasas comerciales inespecíficas, motivo por el cual se denominó como PET-hidrolasa o PETasa [4]. El mecanismo de degradación de la PETasa aún es desconocido, sin embargo, se ha sugerido un mecanismo semejante al de las esterasas dada su capacidad de hidrolizar también al ácido mono-2-hidroximetil tereftalato [4]. Otro plástico importante en la industria de polímeros es el di-2-etylexyltereftalato o DEHP, plastificador muy usado sobre todo para formar PVC. Este plástico ha sido utilizado como sustrato de *Fussarium curmorum* en cultivo. Este hongo secreta esterasas y lacasas capaces de degradar casi totalmente el DEHP adicionado a cultivos en medio GYE, con eficiencias cercana al 100%, en concentración de 1 g/L, después de 6 días de incubación a 28 °C [5].

Recientemente se ha sugerido como alternativa para evitar la problemática ambiental provocada por los diferentes polímeros derivados del petróleo, el uso de bio-polímeros biodegradables. Tal es el caso de la bacteria *Azotobacter vinelandii* que puede producir plásticos biodegradables o biopolímeros de alta pureza y nulo impacto ambiental, tales como el agnato y el poli-β-hidroxibutirato, a partir de acetato como fuente de carbono, si bien, con baja eficiencia. Motivo por el cual fue modificada genéticamente para que no presente represión catalítica y pueda utilizar glucosa como fuente de carbono y sintetizar una mayor cantidad del biopolímero [6].

Aunque ya se han descrito algunos microorganismos capaces de degradar PET o de sintetizar nuevos biopolímeros biodegradables, aún queda el grave problema de la acumulación de PET en mar y tierra, por lo cual la búsqueda de organismos capaces de biodegradar éste polímero es aún un objetivo biotecnológico ampliamente deseado. En este trabajo se presentan la caracterización inicial de dos cepas fúngicas aisladas de un consorcio capaz de crecer en una suspensión acuosa de PET en polvo con base en su potencial uso en biorremediación.

Objetivo:

El estudio tiene como objetivo evaluar la capacidad bio-degradativa de las cepas fúngicas aisladas en diferentes consorcios.

Metodología

Los aislados fúngicos blanco y 1A fueron mantenidos en medio YPG agar a 28 °C. Para los ensayos y la propagación de los mismos se utilizó medio mínimo de Mathur adicionado de PET o PETs (PET derivatizado con sorbitol) en presencia o ausencia de glucosa 0.1 % p/v.

El crecimiento fúngico se evaluó por el incremento en el radio colonial de cultivos inoculados centralmente con un bocado de 0.5 cm de diámetro, sobre medio YPG. Para determinar la capacidad de las cepas blanca y 1A para utilizar el PET como fuente de carbono, se inocularon matraces de 25 ml con medio mínimo de Mathur en presencia o ausencia de 0.1 % de glucosa y adicionados con PET o PETs. Los matraces se incubaron a 26 °C, 125 rpm durante 10 días. Al término de la incubación se determinó la proteína total fúngica y la proteína secretada. Para determinar la secreción enzimática y su posibilidad de degradar PET, se inocularon matraces con

medio mínimo de Mathur adicionado con glucosa al 0.1 % y PET o PETs en una bolsa de celofán sumergida en el medio de cultivo. Cada tercer día se recuperaron alícuotas del medio de cultivo para determinar la proteína secretada y al término de la incubación (10 días) se determinó la proteína total.

Para determinar si la combinación de las cepas estudiadas mejoraba la hidrólisis del PET, se realizaron combinaciones de los dos aislados, 1A y Blanco con la cepa Rosa caracterizada en otro ensayo en el laboratorio. Las combinaciones analizadas fueron: cepa Rosa-1A, Rosa- Blanca, Rosa- Blanca- 1A y Blanca-1A inoculadas en medio mínimo de Mathur adicionado de PET, PETs y/o glucosa. Al término de la incubación, se determinó nuevamente la proteína fúngica total y la proteína secretada y los resultados se compararon con los obtenidos de los cultivos fúngicos individuales.

Adicionalmente se determinó el crecimiento de los hongos en medio YPG-agar en confrontación, incubando durante 5 días las placas.

Resultados

Mediante el crecimiento radial colonial, la cepa 1A creció más rápidamente que la cepa blanca en medio YPG a pH de 4.5 a una temperatura de 28 °C como se observa en la Tabla 1. Cuando se analizó el crecimiento fúngico en función de la proteína secretada en el medio de cultivo cada tercer día, conteniendo el PET en una bolsa de celofán sumergida en el medio de cultivo, se observó un crecimiento constante en la cepa 1A con respecto a la cepa Blanca que no mostró cambios significativos en la proteína secretada (Figura 1.).

Cuando se determinó el crecimiento fúngico, determinado por la proteína fúngica total al fin de la incubación, en función de las adiciones de PET, PETs o glucosa al medio mínimo de Mathur se observó que la cepa Blanca presentó un mayor crecimiento en presencia de glucosa en combinación con PET o PETs, que en ausencia de la misma. En cambio, la cepa 1A presenta el mismo crecimiento al final de la incubación (Figura 2A). Sin embargo, al evaluar la proteína secretada (Figura 2C), la cepa 1A secreta mayor cantidad de proteína cuando se expuso a Pet o PETs en ausencia de glucosa, sugiriendo la secreción de un metabolito capaz de utilizar el PET como fuente de carbono.

Las confrontaciones de los hongos en las cajas de cultivo mostraron que la cepa Rosa es capaz de inhibir el crecimiento de la cepa Blanca y sobrecrecer sobre la cepa 1A. Una característica significativa fue la presencia de coloración rosada en las cajas de cultivo cuando la cepa Rosa toma contacto con la cepa de confrontación (datos no mostrados).

El efecto de los co-cultivos de los hongos reportó que la combinación de la cepa Rosa con la cepa 1A disminuyó la cantidad de PET, en presencia de glucosa al 0.1%, presente al final del cultivo al determinar el peso seco de la bolsa de celofán conteniendo PET, sugiriendo la interacción de ambas cepas en la degradación del PET (Figura 2C y 2D).

Tabla 1. Crecimiento radial de las cepas Blanca y 1A en medio YPG, pH 4.5 a 28°C.

Día/Cepa	Blanca crecimiento radial	1A crecimiento radial
1	0.5 cm	1 cm
2	0.3 cm	0.5 cm
3	0.3 cm	1 cm
4	0.2 cm	0.3 cm
5	0.4 cm	0.2 cm

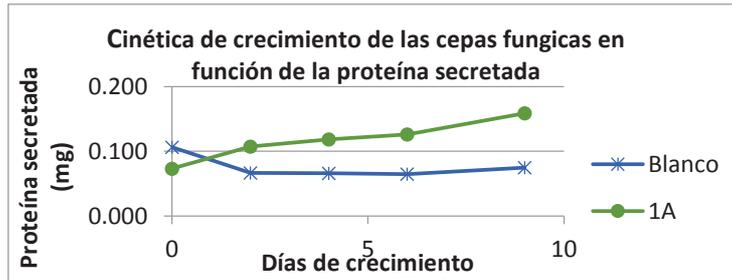


Figura 1. Cinética de crecimiento de las cepas Blanca y 1A. Proteína secretada por las cepas cada tercer día. Se cultivaron en medio Mathur líquido con 0.1% de glucosa y 0.5 g de PET contenido en una bolsa de celofán sumergida en el medio de cultivo.

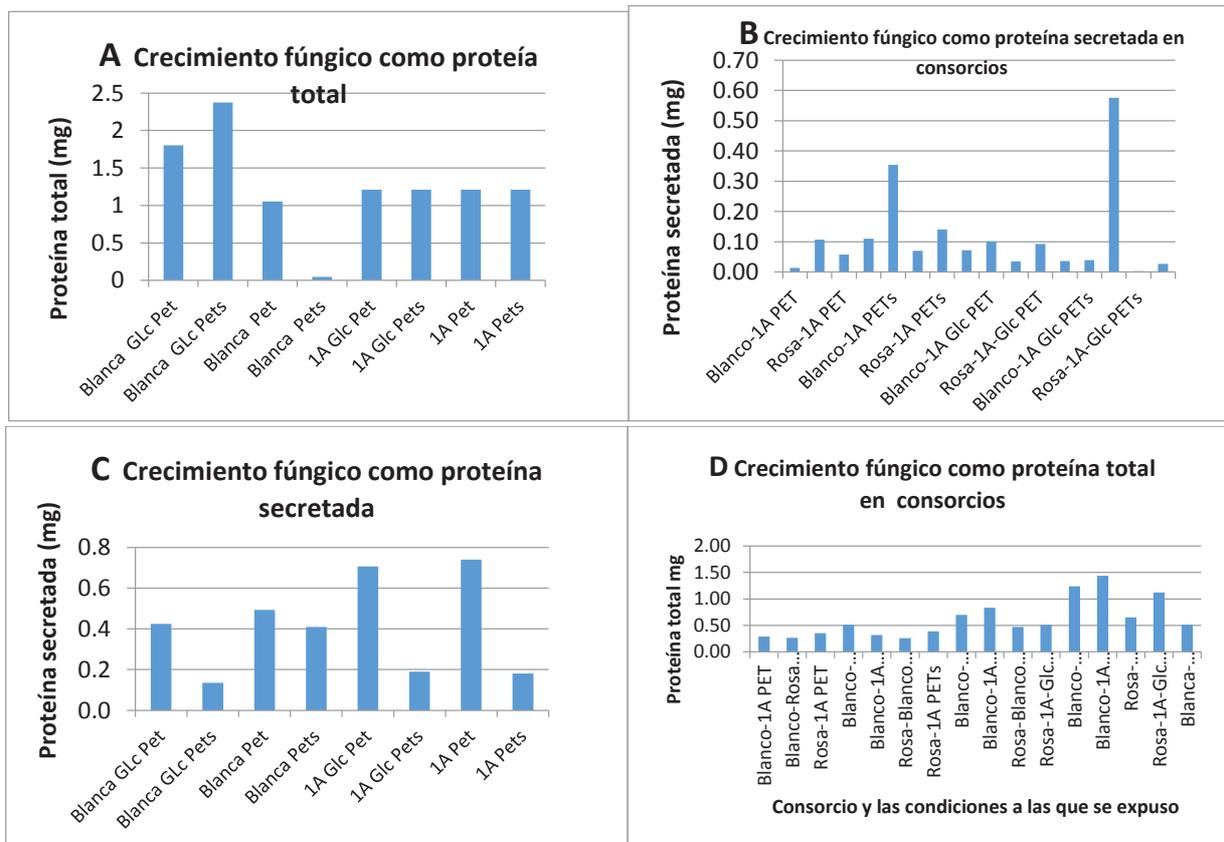


Figura 2. Crecimiento fúngico en función de la Proteína Total y Secretada por los Cultivos independientes o en co-cultivo. A) y C) proteína total a punto final y proteína secretada, respectivamente de las cepas Blanca y 1A., en medio mínimo de Mathur, pH 4., incubadas 10 días a 28°C con 125 rpm bajo diferentes condiciones. B) y D) Proteína secretada y total respectivamente de los diferentes consorcios cultivados en medio líquido Mathur, pH 4.5 por 10 días a 28°C con 125 rpm bajo diferentes condiciones.

Conclusiones:

La biodegradación de plásticos es un tema con poco estudio y a pesar del auge que representa esta alternativa, aún no se encuentran microorganismos eficientes contra el PET.

De acuerdo con el objetivo del proyecto se sugiere que la cepa 1A tiene un potencial biotecnológico como organismo biodegradador del PET, sin embargo, se requiere un estudio más acucioso para confirmarlo, al mismo tiempo que debe ser analizada la cepa Rosa y los metabolitos que secreta como posibles inhibidores del crecimiento fúngico.

Bibliografía

- [1] Hayden K. Webb, Jaimys Arnott, Russell J. Crawford and Elena P. Ivanova. (2013). Plastic Degradation and Its Environmental Implications with Special Reference to Poly(ethylene terephthalate). *Polymers*, **5**, 1-18.
- [2] Justin Hofman. (2018). Las incógnitas conocidas de la contaminación plástica. *The economist*, (1), 1-10.
- [3] Jambeck Jenna R., Wilcox Chris, Siegle Theodore R., Perryman Miriam, Andrady Anthony, Narayan Ramani and Lavender Law Kara. (2018). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, **347**, 768-771.
- [4] Yoshida Shosuke, Hiraga Kazumi, Takehana Toshiniko, Taniguchi Ikuo, Yamaji Hirono, Maeda Yasuhito, Toyohara Kiyotsuna, Miyamoto Kenji, Kimura Yoshiharu, Oda Kohei. (2016). A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science*, **351**, 1196-1199.
- [5] Pérez Miriam Ahuactzin, Beristain Saúl Tlecuítl, Dávila Jorge García, Pérez Manuel, González Pérez Manuel, Gutiérrez Ruíz María Concepción, Sánchez Carmen. (2016). Degradation of di(2-ethyl hexyl) phthalate by *Fusarium culmorum*: kinetics, enzymatic activities and biodegradation pathway based on quantum chemical modeling pathway based on quantum chemical modeling. *Science of the Total Environment*, **566-567**, 1186-1193.
- [6] Bonilla Armando. (2018). La bacteria golosa que fabrica y devora plástico. Agosto 2018, de CONACYT Sitio web: http://conacytprensa.mx/index.php/tecnologia/biotecnologia/20120-bacteria-fabrica-devora-plastico?utm_source=feedburner&utm_medium=feed&utm_campaign=Feed%3A+conacytprensa%2FKjsA+%28Tecnolog%C3%ADa%29

EFECTO DE COMPUESTOS DE ORIGEN NATURAL SOBRE EL CRECIMIENTO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Sara Paulina López López^a, Dr. Pedro Damián Loeza Lara^b, Dr. Joel Edmundo López Meza^c, Dra. Patricia Nayeli Alva Murillo^a

^a Departamento de Biología Experimental, Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas: Noria Alta, S/N., Guanajuato, Gto, CP 36050, MEXICO pn.alva@ugto.mx

^b Lic. en Genómica Alimentaria, Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, Avenida Universidad 3000, Col. Lomas de la Universidad, Sahuayo, Mich., CP 59103, MEXICO

^c Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología, FMVZ, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, km 9.5 carretera Morelia-Zinapécuaro, Morelia, Mich., CP 58893, MEXICO

Resumen

Staphylococcus aureus es un patógeno oportunista que está colonizando las fosas nasales de una de cada tres personas. Este patógeno se asocia con enfermedades en la medicina humana y en la veterinaria, y puede formar biopelículas, las cuales son un problema de salud relacionado con dispositivos médicos. Alarmantemente, *S. aureus* presenta multi-resistencia, por lo que el tratamiento de estas enfermedades no es exitoso. Por lo anterior, diversas investigaciones se han enfocado en descubrir y/o desarrollar compuestos con actividad bacteriana. El quitosano (QTS) y los ácidos grasos (AG), hexanoato (HXT), son compuestos interesantes de origen natural. Ambos compuestos ejercen actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y hongos. Ya se ha reportado la actividad antimicrobiana del QTS contra células planctónicas y biopelículas de aislados de *S. aureus* de humanos, se desconoce si el HXT afecta a esta bacteria. En este sentido, los ensayos para determinar el sinergismo de compuestos antimicrobianos llaman la atención. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo, como una aproximación a los ensayos de sinergismo, fue evaluar el efecto del QTS y AG sobre el crecimiento de células planctónicas de *S. aureus* aislado de vacas con mastitis, así como en la formación de biopelículas. Se demostró que el QTS inhibe los aislados multirresistentes de *S. aureus* AMC16 y AMC46, mientras que el HXT no afecta el crecimiento de estas bacterias.

Palabras clave: *Quitosano, hexanoato, Staphylococcus aureus, biopelículas, antimicrobiano*

Introducción

Las infecciones en humanos y animales son causadas por distintos patógenos, por lo que las estrategias de prevención y tratamiento de enfermedades deben adaptarse para reflejar los factores de riesgo de las infecciones y opciones de tratamiento disponible. En las últimas décadas, se han seleccionado patógenos resistentes a uno o más antimicrobianos. Para la Organización Mundial de la Salud algunas especies de microorganismos resistentes a antimicrobianos son de gran preocupación en la salud pública, entre ellos podemos encontrar a *Staphylococcus aureus* (resistente a meticilina, MRSA) [1].

S. aureus es un patógeno facultativo intracelular que se asocia con enfermedades en humanos (ej. endocarditis, osteomielitis, neumonía, entre otros) y en animales (mastitis bovina). Además de los factores de virulencia que expresan las cepas patógenas, parte del éxito de esta bacteria, para

establecer las infecciones, es su capacidad de formar biopelículas (ej. en dispositivos médicos), lo cual aumenta su resistencia a los antibióticos en comparación con las células planctónicas o individuales [2]. Por lo tanto, son de nuestro interés las estrategias basadas en la utilización de compuestos de origen natural (ej. quitosano y ácidos grasos) como alternativa al uso de la terapia antimicrobiana convencional.

El quitosano (QTS, poly β -[1-4]-*N*-acetyl-D-glucosamina) es un biopolímero producido por la desacetilación química de la quitina presente en el exoesqueleto de crustáceos, hongos e insectos. Se ha descrito que el QTS y sus derivados ejercen actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y hongos [5]. Particularmente, ya se ha reportado el efecto del QTS sobre el crecimiento de células planctónicas de *S. aureus* y sus biopelículas [5,6]. Por su parte, los ácidos grasos de cadena media (AGCM,6-12C) presentan un espectro de acción antimicrobiana amplio [3]. Se sabe que los ácidos caprílico (8C), capríco (10C) y láurico (12C), así como sus 1-monoacilglicéridos, inhiben el crecimiento de células planctónicas de *S. aureus* [4]. Además, las relaciones sinérgicas entre estos compuestos mejoran su actividad antimicrobiana. No obstante, hasta el momento se desconoce el efecto del ácido caproico o hexanoico (presente en mantequilla, queso cheddar, aceite de coco, leche de cabra) sobre las células planctónicas y/o biopelículas de *S. aureus*. Se han realizado ensayos donde se evalúa el efecto sinérgico del QTS y AGCM en un modelo de infección de *Botrytis cinerea* en frutos de fresa post-cosecha, observando que el compuesto del QTS-AGCM posee mayor efecto protector que el tratamiento individual [Loeza-Lara, comunicación personal], sugiriendo que esta mezcla puede ser atractiva contra otros patógenos. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto individual del QTS y de ácidos grasos (como el hexanoato, (HXT)) sobre el crecimiento de células planctónicas y la formación de biopelículas de *S. aureus* multirresistente. Lo anterior para generar las bases de los futuros ensayos de sinergismo.

Metodología

- Material biológico

En el presente estudio se utilizaron dos aislados multirresistentes de *Staphylococcus aureus* (AMC16 y AMC46) asociados a mastitis bovina, proporcionadas generosamente por la Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo por medio del Dr. Loeza-Lara. Las cepas se pusieron a crecer en cajas Petri en medio LB durante 48 h. Una vez crecidas se inocularon en 5 mL de caldo Mueller Hinton (Difco) por 24 h a 37°C.

- Soluciones

El quitosano (QTS) de mediano peso molecular se obtuvo de Sigma-Aldrich, México (75-85% de desacetilación) y se preparó de acuerdo con lo reportado [6]. Brevemente, se preparó una solución de 200 mL a una concentración de 20 mg/mL, para lo cual 4 g de quitosano se disolvieron en 100 mL de agua destilada y 2 mL de ácido acético (J.T. Baker, México), manteniéndose en agitación constante por 24 h. Posteriormente, el pH de la solución se ajustó a 5.6 con NaOH 1 N (J.T. Baker, México). Se adicionó agua destilada hasta alcanzar un volumen total de 200 mL y se procedió a esterilizar. El hexanoato de sodio (HXT) se obtuvo de Sigma (St.

Louis, MO, USA) y la solución de trabajo 500 mM se preparó disolviendo con agua, para posteriormente esterilizar por filtración (0.22 μ M, Merck Millipore, USA).

- Efecto del QTS y HXT sobre el crecimiento de células planctónicas de *S. aureus*

Primero se evaluó el efecto del vehículo (ácido acético al 1%) con el que se disolvió al QTS, para ello se cultivaron 9×10^7 UFC/mL ($DO_{600}=0.2$) en caldo Mueller Hinton suplementado o no con el vehículo, se monitoreó el crecimiento midiendo la D.O.₆₀₀ a las 24, 48 y 72 h. Para analizar el efecto del QTS o del HXT sobre el crecimiento de *S. aureus*, se cultivaron 9×10^7 UFC/mL ($DO_{600}=0.2$) en caldo Mueller Hinton suplementado con diferentes concentraciones de QTS (1.5, 1.75, 2, 2.5 y 2.75 mg/mL) o de HXT (1, 10 y 50 mM), y el crecimiento fue monitoreado midiendo la D.O.₆₀₀ a las 24, 48 y 72 h. Se realizaron tres experimentos independientes por triplicado.

- Evaluación de la producción de biopelículas bacterianas

La capacidad de los aislamientos bacterianos de formar biopelículas se evaluó utilizando un ensayo de placa de microtitulación colorimétrica [7]. *S. aureus* se cultivó en caldo de soya tripticasa (TSB, BD, BIOXON) toda la noche en agitación constante (180 rpm), los cultivos se diluyeron 1:100 en medio TSB. Posteriormente, se tomaron 150 μ L de la suspensión bacteriana y se inoculó una placa de microtitulación (de 96 pozos) de poliestireno. Después de 24 horas de incubación a 37°C, sin agitación, los pozos se lavaron (3X) lentamente con 200 μ L de PBS (Buffer fosfato salino y pH final: 7.2 ± 0.2), la placa se invirtió y se dejó secar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Para la fijación de las biopelículas, 100 μ L de metanol al 99% fueron agregados a cada pozo, después de 15 min se removió el sobrenadante y se secó la placa a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se agregaron 100 μ L de cristal violeta (CV) al 1% por pozo, el exceso de CV fue removido después de 20 min, lavando la placa con agua. El CV unido a la placa se disolvió en 150 μ L de ácido acético al 33%. Se midió la DO_{590} . Se realizaron dos experimentos independientes por triplicado.

Para determinar el fondo de la DO se utilizó el medio sin inóculo como control. El punto de corte de la DO (DO_c) se define como tres desviaciones estándar arriba de la media de la DO del control negativo, y el valor final de la DO, de la cepa probada, se define como el promedio de la DO menos el valor de la DO_c [7]. La habilidad de adherencia de la cepa se clasifica en cuatro categorías basadas en la DO: no adherentes ($DO < DO_c$), débilmente adherente ($DO_c < DO < 2XDO_c$), moderadamente adherente ($2XDO_c < DO < 4XDO_c$) y fuertemente adherente ($4XDO_c < DO$) [7].

Resultados

Los resultados obtenidos indican que el vehículo no modifica la turbidez del medio respecto al cultivo bacteriano sin tratamiento (Figura 1A,B), sugiriendo que no afecta el crecimiento bacteriano. Al evaluar el efecto del QTS (1.5-2.75 mg/mL) sobre ambos aislados de *S. aureus*, se observó que este compuesto disminuyó la turbidez de los cultivos bacterianos en todos los tiempos analizados (24-72 h), respecto al cultivo tratado con vehículo (Figura 1A,B), lo cual sugiere que el QTS redujo el crecimiento del aislado AMC16 y AMC46.

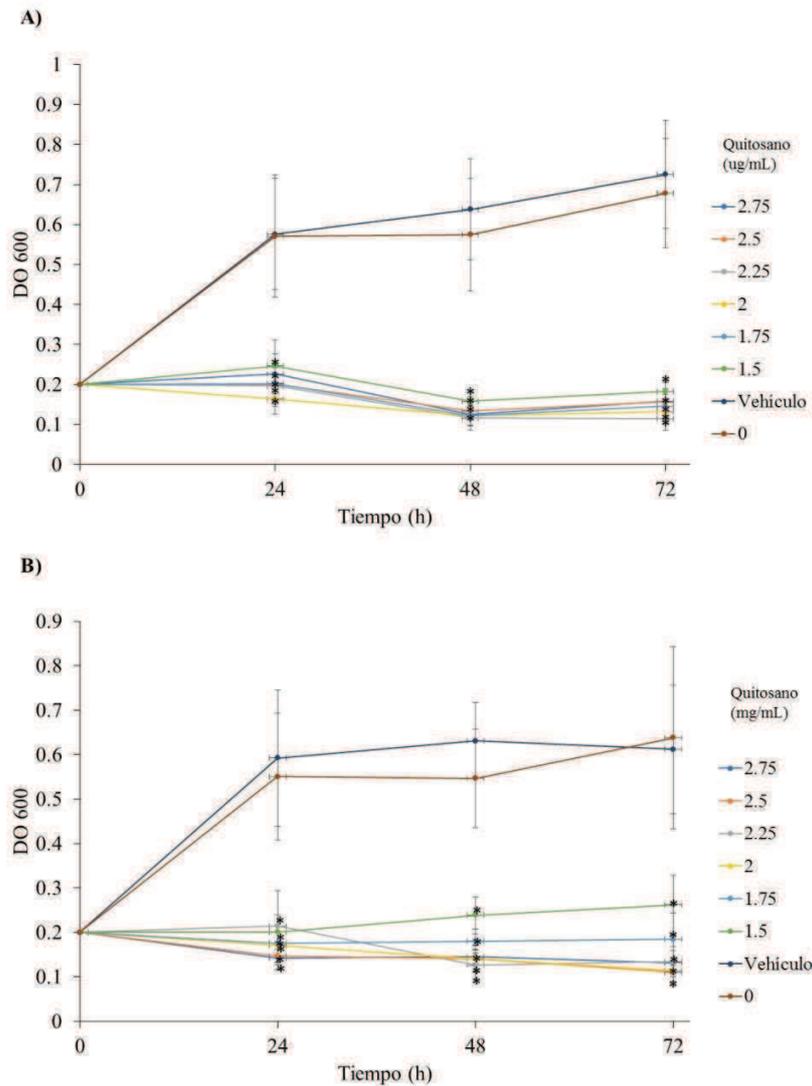


Figura 1. El quitosano inhibe el crecimiento bacteriano de *S. aureus*.

Se cultivaron a los aislados (A) AMC16 y (B) AMC46 de *S. aureus* en presencia de distintas concentraciones de QTS y se monitoreo la turbidez (600 nm) del medio a las 24, 48 y 72 h. Vehículo: ácido acético al 1%. Cada punto representa el promedio de tres experimentos independientes por triplicado \pm EE. El símbolo “*” indica cambios significativos ($P < 0.05$) respecto al control (*S. aureus* tratado con el vehículo).

Paralelamente se evaluó el efecto del HXT (1-50 mM) sobre el crecimiento de los aislados AMC16 y AMC46. Los resultados obtenidos indican que las concentraciones de HXT no afectaron la turbidez del medio bacteriano en ningún tiempo evaluado (Figura 2A,B), excepto al utilizar 50 mM a las 24 h, donde se observó menos turbidez respecto al control (cultivo bacteriano sin tratamiento); no obstante este efecto se revirtió a las 48 h en los dos aislados.

Resultados preliminares indican que el aislado AMC16 se adhiere débilmente a las superficies de poliestireno, mientras que el aislado AMC46 no se adhiere.

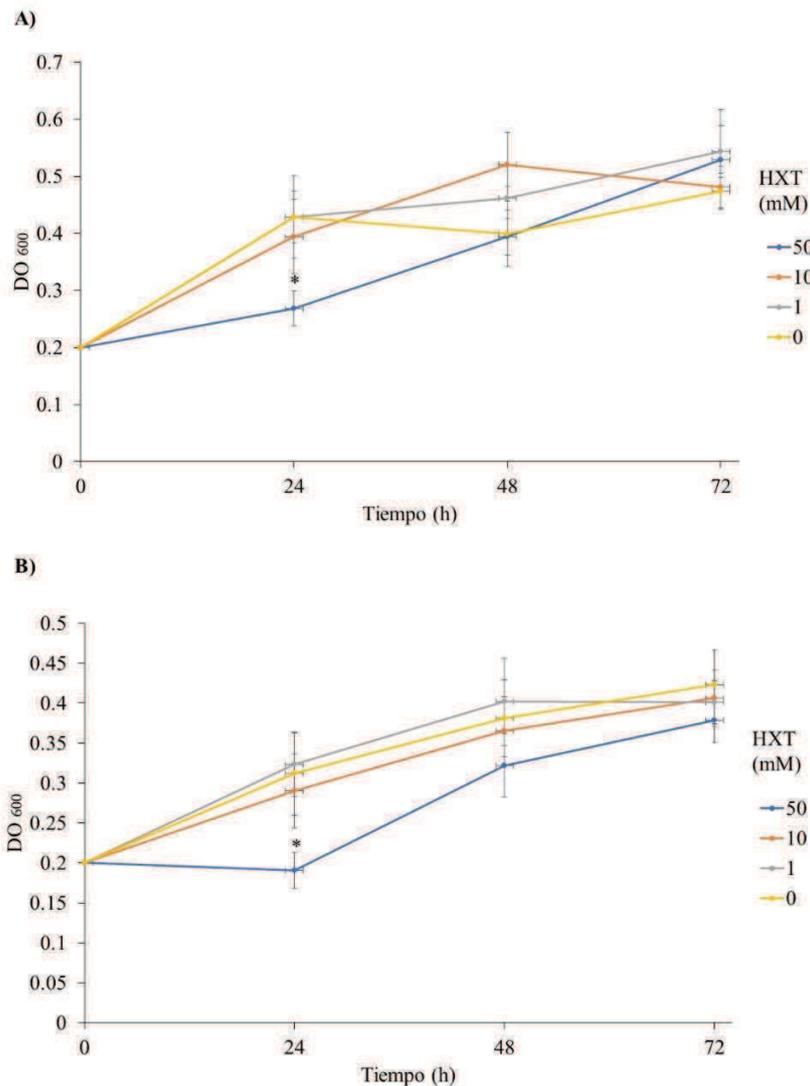


Figura 2. Efecto del hexanoato sobre el crecimiento de *S. aureus*.

Se cultivaron los aislados (A) AMC16 y (B) AMC46 de *S. aureus* en presencia de distintas concentraciones de HXT y se monitoreo la turbidez (600 nm) del medio a las 24, 48 y 72 h. Cada punto representa el promedio de tres experimentos independientes por triplicado \pm EE. El símbolo “*” indica cambios significativos ($P < 0.05$) respecto al control (*S. aureus* tratado con el vehiculo).

Conclusiones

Los resultados obtenidos sugieren que el quitosano (1.5-2.75 mg/mL) inhibe el crecimiento de los aislados multirresistentes de *S. aureus* (AMC16 y AMC46), mientras que las concentraciones utilizadas de hexanoato (1-50 mM) no afectan su crecimiento.

Perspectivas

Entre las perspectivas de este proyecto están:

- Evaluar el efecto de bajas concentraciones de QTS sobre estos aislados.
- Evaluar concentraciones de HXT más elevadas.

- Realizar ensayos de sinergismo (mezclando QTS/HXT) sobre el crecimiento de *S. aureus*.

Bibliografía

- [1] World Health Organization. Drug resistance. 2018. Recuperado de: http://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/en/
- [2] de Oliveira, A., Catanelo Pereira, V., Pinheiro, L., Moraes Riboli, D. F., Benini Martins, K. y Ribeiro de Souza de Cunha, Mde. L. (2016) "Antimicrobial resistance profile of planktonic and biofilm cells of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative Staphylococci" *Int J Mol Sci.* 17, (9), pii:E1423.
- [3] Verlee, A., Mincke, A. y Stevens, C. V. (2017) "Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives" *Carbohydr Polym.* 164, 268-283.
- [4] Sánchez-Ceja, M., Arceo-Martínez, M. T., Sandoval-Flores, M.G., Alva-Murillo, P. N, Jiménez-Mejía, R. y Loeza-Lara, P. D. (2018). "Uso de nisina y quitosano para la inhibición de *Staphylococcus aureus* resistente a antibióticos y asociado a mastitis bovina" *Rev Mex Cienc Pecu* [Aceptado]
- [5] Debois, A. P. (2012) "Potential applications of antimicrobial fatty acids in medicine, agriculture and other industries" *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 7, (2), 111-122.
- [6] Batovska, D. I., Todorova I. T., Tsvetkova, I. V. y Najdenski, H. M. (2009) "Antibacterial study of the medium chain fatty acids and their 1-monoglycerides: individual effects and synergistic relationships" *Pol J Microbiol.* 58, (1), 43-47.
- [7] Babak Khoramian, Fereshteh Jabalameli, Amir Niasari-Naslaji, Morovat Taherikalani, Mohammad Emameini, (2015). "Comparison of virulence factors and biofilm formation among *Staphylococcus aureus* strains isolated from human and bovine infections" *Microbial Pathogenesis*, 88, 73-77.
- [8] Nair, M. K. M., Joy, J., Vasudevan, P., Hinckley, L., Hoagland, T. A. Y Venkltanarayanan, K. S. (2005) "Antibacterial effect of caprylic acid and monocaprylin on major bacterial mastitis pathogens" *J Dairy Sci.* 88, 3488-3495.

EFFECTO DEL EXTRACTO HEXANOICO DE LA SEMILLA DEL AGUACATE CRIOLLO MEXICANO SOBRE *Trichomonas vaginalis*.

Blanca Yessenia Mendez Grimaldo^a, Susana Flores-Gallegos^a, Marisol Báez-Magaña^b, Alejandra Ochoa-Zarzosa^b, Joel Edmundo López-Meza^b, Rafael Salgado-Garciglia^c, Patricia Nayeli Alva Murillo^a

^a Departamento de Biología, DCNE, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, C.P. 36050, Guanajuato, Gto. Tel (+52) 473 732 006 Ext. 8199. pn.alva@ugto.mx

^b Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología-FMVZ, Posta Veterinaria, UMSNH, Morelia, Michoacán. ^c IIQB, UMSNH, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán.

Resumen

La tricomoniasis, causada por *Trichomonas vaginalis* (*Tv*), es la infección de transmisión sexual no viral más común a nivel mundial, se asocia con graves problemas obstétricos y ginecológicos, su tratamiento convencional es el metronidazol; sin embargo, ya se han reportado parásitos resistentes a esta droga. Por lo que es interesante la búsqueda de compuestos con actividad antiparasitaria, siendo atractivas las plantas medicinales. En este sentido, México es el primer productor mundial de aguacate (*Persea americana* var. *drymifolia*), y su fruto se ha utilizado ampliamente por sus propiedades medicinales. Se sabe que el extracto hexanoico de la semilla de aguacate (EHSA) ejerce efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores, pero se desconoce si posee actividad antiparasitaria, siendo el objetivo de este trabajo. Para ello se utilizaron dos cepas de *Tv* aisladas de casos clínicos (GT13 y GT21), con distinto grado de virulencia, y se realizaron ensayos de exclusión del azul tripano. Los resultados obtenidos indican que el EHSA (0.25-4 µg/mL, 24 h) disminuyó (41-85%) la viabilidad de la cepa GT13 de manera dependiente de la concentración, observándose un resultado similar para la cepa GT21. Mediante el análisis Probit se determinó la concentración letal 50, siendo de 0.28 y 0.26 µg/mL para la cepa GT13 y GT21, respectivamente. Los resultados obtenidos indican que el EHSA inhibe el crecimiento de *Tv*, efecto que es independiente de la cepa, lo cual es de interés farmacológico.

Palabras clave: *Trichomonas vaginalis*, aguacate, *tricomoniasis*

Introducción

La tricomoniasis, enfermedad de transmisión sexual -no viral- con mayor incidencia en el mundo, es causada por el parásito *Trichomonas vaginalis* (*Tv*). Según la Organización Mundial de la Salud, se estima una incidencia anual de 273 millones de casos nuevos [1]. La tricomoniasis cursa un proceso inflamatorio crónico que predispone a la mujer al parto prematuro y a sufrir vaginosis bacteriana, incrementa el riesgo de contraer infecciones por el virus del papiloma humano y de la inmunodeficiencia humana. El hombre suele ser un portador asintomático [1,2]. El tratamiento convencional de la tricomoniasis son los fármacos de la clase 5-nitroimidazol (ej. metronidazol o tinidazol). El fracaso del tratamiento se asocia con las terapias inconclusas, la reinfección y/o a la falta del tratamiento de las parejas sexuales, el tratamiento inespecífico o la resistencia a los medicamentos [1,3]. Se han reportado aislamientos clínicos de *Tv* resistentes al metronidazol [4] y esta cifra va en aumento, lo cual supone un problema de salud pública.

Es así como la búsqueda nuevos compuestos, que sean seguros y eficaces en el tratamiento y prevención de la tricomoniasis, son relevantes. En este sentido, las plantas medicinales son una fuente invaluable para descubrir nuevas drogas [5].

El aguacate nativo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) se ha utilizado -por sus propiedades medicinales- para tratar afecciones en la salud del humano desde la época prehispánica [7,8]. Recientemente se han estudiado sus efectos medicinales y antimicrobianos del aguacate, y la semilla es atractiva por su contenido de compuestos bioactivos (ej. compuestos fenólicos, proantocianinas); se ha reportado que estos compuestos pueden actuar como anticancerígenos, antiinflamatorios, antidiabéticos, antihipertensivos, hipocolesterolémicos, insecticidas, tóxicos y antimicrobianos [8]. Tanto el extracto como la semilla de aguacate tienen efecto contra microorganismos [8-11]. En el 2013, Jiménez y col. reportaron que el extracto clorofórmico y etanólico de la semilla de *P. americana* ejercen un efecto anti-*Trichomonas* [12]. En el grupo de trabajo se ha identificado la propiedad inmunomoduladora del extracto hexanoico de la semilla del aguacate (EHSA) criollo mexicano (*P. americana* var. *drymifolia*) [13]. No obstante, se desconoce si este extracto ejerce actividad antiparasitaria. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del EHSA (*Persea americana* var. *drymifolia*) sobre *Trichomonas vaginalis*.

Metodología

- Material biológico

Las cepas de *Trichomonas vaginalis* (*Tv*) GT13 y GT21 (menor y mayor virulencia, respectivamente) se aislaron de pacientes femeninas infectadas del estado de Guanajuato, y fueron donadas por el Dr. F. Anaya-Velázquez y Dr. F. Padilla-Vaca (Departamento de Biología, UG).

- Cultivo de los trofozoitos

El parásito se cultivó en 5 mL de medio TYI-S-33 (trypticase y extracto de levaduras, pH 7) suplementado con 6% de suero bovino, en tubos tapados con rosca, por 72 h a 36.5°C para mantener a los trofozoitos [14]. Para los bioensayos, se cultivaron los organismos en la fase logarítmica de crecimiento (24 h) que exhibieron más del 95% de viabilidad y morfología normal, se centrifugaron (2,500 rpm, 5 min) y resuspendieron en medio TYI fresco para la evaluación del extracto de aguacate a diferentes concentraciones [14].

- Actividad antiparasitaria del extracto hexanoico de la semilla de aguacate criollo mexicano

El EHSA fue amablemente proporcionado por el Dr. J.E. López-Meza (CMEB-UMSNH). Las soluciones de trabajo se diluyeron en DMSO al 5% (vehículo). Para determinar el efecto del EHSA sobre *Tv*, se incubaron 6,000 trofozoitos en cajas de 96 pozos (volumen final 100 µL) con concentraciones crecientes (0.25-8 µg/mL) del EHSA por 24 h a 37°C (en atmósfera microaerofílica). Se emplearon metronidazol (1 µg/ml) y el DMSO al 5% como control positivo y negativo, respectivamente. La viabilidad de los trofozoitos se evaluó mediante ensayos de exclusión del azul tripano.

- Análisis estadístico

Los resultados se obtuvieron del promedio de tres experimentos independientes por triplicado y se compararon mediante la prueba de *t*-Student. Se realizó el análisis Probit para calcular la concentración letal 50 (CL₅₀).

Resultados

La tricomoniasis es la infección de transmisión sexual (ITS) no viral más extendida en el mundo. La epidemiología de esta ITS puede verse afectada porque no es una enfermedad de reporte obligatorio y porque puede ser asintomática (lo que también facilita su transmisión). En México, el tratamiento actual se basa en los fármacos de la familia de los nitroimidazoles, siendo el metronidazol el tratamiento de elección, mientras que el tinidazol es el tratamiento alternativo [15]. Actualmente hay reportes de resistencia a dichos fármacos cerca del 4.3-9.6% de los aislamientos clínicos de *T. vaginalis* [4] y esta cifra va en aumento. Por lo cual, la búsqueda de alternativas farmacológicas es interesante, siendo el aguacate un fruto atractivo. Se ha reportado que el extracto clorofórmico y etanólico de la semilla de aguacate inhibe el crecimiento de la cepa GT9 de *Tv* [12]. Por otro lado, se ha descrito que el extracto hexanoico de la semilla de aguacate (EHSA) tiene propiedades inmunomoduladoras en enfermedades infecciosas (ej. mastitis bovina) [13], pero se desconoce si posee actividad antiparasitaria. Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del EHSA sobre la viabilidad de *Tv*, mediante ensayos de exclusión del azul tripano.

Los resultados obtenidos indican que DMSO al 5% (vehículo) no modificó la viabilidad de las dos cepas *Tv* utilizadas en este estudio (Tabla 1). Además, se utilizó el metronidazol (1 µg/mL) como control positivo de la inhibición de la viabilidad (Figura 1 y 2), observándose un crecimiento de los parásitos de entre 26-31%.

Tabla 1. Efecto del DMSO al 5% sobre la viabilidad de *Trichomonas vaginalis*.

<i>Tratamiento</i>	<i>Viabilidad de trofozoítos (%)</i>	
	Cepa GT13	Cepa GT21
<i>Sin DMSO al 5%</i>	100	100
<i>Con DMSO al 5%</i>	103.5 ± 17.8	108 ± 13.5

Los datos mostrados representan el promedio de tres experimentos independientes por triplicado ± error estándar.

Al evaluar el efecto del EHSA (0.25-4 µg/mL, 24 h) sobre la cepa menos virulenta de *Tv* (GT13), se observó que el extracto inhibe el crecimiento del parásito de manera dependiente de la concentración, siendo la concentración más efectiva la de 4 µg/mL (disminuyendo ~85% la viabilidad), mostrando mayor efecto inhibitorio que el metronidazol (Figura 1).

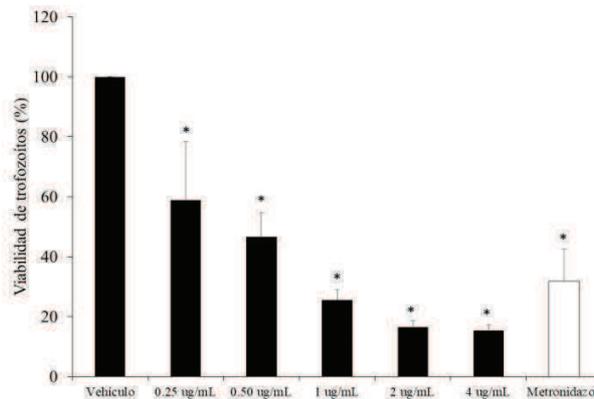


Figura 1. El extracto hexanoico de la semilla de aguacate inhibe la viabilidad de *Trichomonas vaginalis* GT13. Se cultivaron 6×10^3 trofozoítos con distintas concentraciones de EHSO (24 h) y se realizó el ensayo de exclusión del azul tripano. Se utilizó 1 µg/mL de metronidazol como control positivo. Cada barra representa el promedio de tres experimentos independientes por triplicado \pm error estándar. El símbolo “*” indica cambios significativos ($P \leq 0.05$) con respecto a los trofozoítos tratados con vehículo (DMSO 5%).

Paralelamente se determinó el efecto del EHSO (0.25-1 µg/mL) sobre la cepa de mayor virulencia (GT21), los resultados obtenidos indican que la concentración de 0.25 µg/mL no alteró significativamente la viabilidad de la cepa (Figura 2). Por el contrario, se observó un efecto inhibitorio en la viabilidad de los trofozoítos de ~30 y 70% con las concentraciones de 0.5 y 1 µg/mL, respectivamente (Figura 2). Actualmente se está evaluando el efecto de las concentraciones de 2 y 4 µg/mL sobre la cepa GT21.

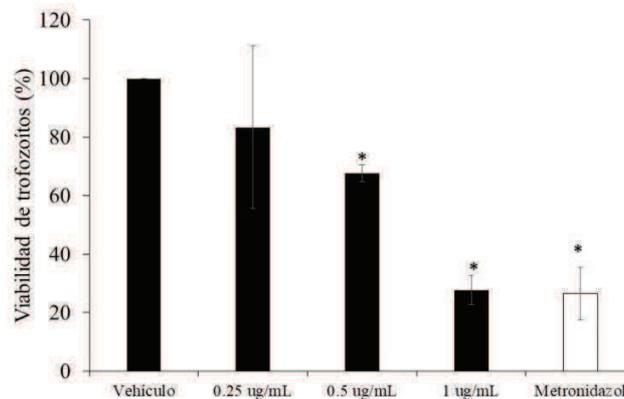


Figura 2. Efecto del extracto hexanoico de la semilla de aguacate sobre *Trichomonas vaginalis* GT21. Se cultivaron 6×10^3 trofozoítos con distintas concentraciones de EHSO por 24 h y se realizó el ensayo de exclusión del azul tripano. Se utilizó 1 µg/mL de metronidazol como control negativo. Cada barra representa el promedio de tres experimentos independientes por triplicado \pm error estándar. El símbolo “*” indica cambios significativos ($P \leq 0.05$) con respecto a los trofozoítos tratados con vehículo (DMSO 5%).

Adicionalmente, se realizó el análisis Probit para determinar la concentración letal 50 (CL₅₀) del EHSO sobre las dos cepas, siendo la CL₅₀ de 0.28 µg/mL para la cepa GT13 y de 0.26 µg/mL para la GT21. Estudios realizados anteriormente reportaron la actividad antiparasitaria (contra *Tv* GT9) del extracto clorofórmico y etanólico de la semilla de aguacate, indicando una CL₅₀ de

0.524 y 0.533 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente [12], siendo concentraciones mayores a las obtenidas en este estudio. Estos resultados sugieren que el EHSA es más efectivo inhibiendo el crecimiento de *Tv* que los extractos clorofórmico y etanólico. La caracterización del EHSA ya se ha reportado (moléculas de origen lipídico) [13]; no obstante, hacen falta más estudios para identificar el compuesto que ejerce el efecto antiparasitario.

Conclusiones

El extracto hexanoico de la semilla de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) ejerce actividad anti-*Trichomonas* de manera dependiente de la concentración e independiente de la cepa, lo que podría ser de interés farmacológico.

Bibliografía

- [1] Bouchemal K, Bories C, Loiseau PM. 2017. Strategies for prevention and treatment of *Trichomonas vaginalis* infections. *Clin Microbiol Rev* 30:811-825.
- [2] Menezes CB, Tasca T. 2016. Trichomoniasis immunity and the involvement of the purinergic signaling. *Biomed J* 39:234-243.
- [3] Menezes CB, Frasson AP, Tasca T. 2016. Trichomoniasis - are we giving the deserved attention to the most common non-viral sexually transmitted disease worldwide? *Microb Cell*. 3:404-19.
- [4] Paulish-Miller TE, Augostini P, Schuyler JA, Smith WL, Mordechai E, Adelson ME, et al. 2014. *Trichomonas vaginalis* metronidazole resistance is associated with single nucleotide polymorphisms in the nitroreductase genes *ntr4Tv* and *ntr6Tv*. *Antimicrob Agents Chemother*. 58:2938-43.
- [5] Mehriardestani M, Aliahmadi A, Toliat T, Rahimi R. 2017. Medicinal plants and their isolated compounds showing anti-*Trichomonas vaginalis*- activity. *Biomed Pharmacother*. 88:885-93.
- [6] Bala V, Chhonker YS. 2018. Recent developments in anti-*Trichomonas* research: An update review. *Eur J Med Chem*. 143:232-43.
- [7] Ramos-Jerz MdR. (2007) Phytochemical analysis of avocado seeds (*Persea americana* Mill., c.v. Hass): Göttingen Cuvillier, Göttingen, Germany, 1-9.
- [8] Dabas D, Shegog RM, Ziegler GR, Lambert JD. 2013. Avocado (*Persea americana*) seed as a source of bioactive phytochemicals. *Curr Pharm Des*. 19:6133-40.
- [9] Salinas-Salazar C, Hernandez-Brenes C, Rodriguez-Sanchez DG, Castillo EC, Navarro-Silva JM, Pacheco A. 2017. Inhibitory activity of avocado seed fatty acid derivatives (acetogenins) against *Listeria monocytogenes*. *J Food Sci*. 82:134-44.
- [10] Falodun A, Imieje V, Erharuyi O, Ahomafor J, Jacob MR, Khan SI, et al. 2014. Evaluation of three medicinal plant extracts against *Plasmodium falciparum* and selected microorganisms. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 11:142-6.
- [11] Rodriguez-Sanchez DG, Pacheco A, Garcia-Cruz MI, Gutierrez-Urbe JA, Benavides-Lozano JA, Hernandez-Brenes C. 2013. Isolation and structure elucidation of avocado seed (*Persea americana*) lipid derivatives that inhibit *Clostridium sporogenes* endospore germination. *J Agric Food Chem*. 61:7403-11.
- [12] Jimenez-Arellanes A, Luna-Herrera J, Ruiz-Nicolas R, Cornejo-Garrido J, Tapia A, Yopez-Mulia L. 2013. Antiprotozoal and antimycobacterial activities of *Persea americana* seeds. *BMC Complement Altern Med*. 2013 May 16;13:109.
- [13] Baez-Magaña, M. 2014. Efecto de los ácidos grasos de semilla de aguacate y sus derivados sobre la respuesta inmune innata durante la internalización de *Staphylococcus aureus* en células epiteliales mamarias bovinas, Tesis de Maestría, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. 3: 24-27
- [14] Hernandez-Flores JL, Rodriguez MC, Gastelum Arellanez A, Alvarez-Morales A, Avila EE. 2015. Effect of recombinant prophenin 2 on the integrity and viability of *Trichomonas vaginalis*. *Biomed Res Int*. 2015:430436.

[15] Guía de referencia rápida. Diagnóstico y Tratamiento de la Vaginitis Infecciosa en Mujeres en Edad Reproductiva en el Primer Nivel de Atención. Catálogo Maestro de Guías de Práctica Clínica IMSS-081-08. Tomada de: http://www.saludbc.gob.mx/wp-content/uploads/2011/02/IMSS_081_08_GRR.pdf

EFFECTO DEL QUITOSANO Y HEXANOATO SOBRE *Klebsiella pneumoniae*

Ana Cristina Morales Moreno^a, Dra. Ruth Reyes Cortés^a, Pedro Damián Loeza Lara^b, Dra. Patricia Nayeli Alva Murillo^a

^a Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Noria Alta, Guanajuato, Guanajuato, C.P. 36050, México. pn.alva@ugto.mx

^b Lic. en Genómica Alimentaria, Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, Avenida Universidad 3000, Col. Lomas de la Universidad, Sahuayo, Michoacán, C.P. 59103, México.

Resumen

Klebsiella pneumoniae es un importante patógeno oportunista multidrogo-resistente (MDR) que representa la principal fuente de enfermedades hospitalarias, además, la Organización Mundial de la Salud lo cataloga como uno de los patógenos de prioridad crítica, es decir, entre los microorganismos que necesitan con mayor urgencia nuevos antibióticos. Por estas razones se han buscado compuestos naturales que tengan actividad antimicrobiana para el posterior desarrollo de terapias alternativas ante patógenos MDR. En este trabajo de investigación se evaluó la actividad antimicrobiana que tiene el quitosano, forma desacetilada de la quitina, la cual es un biopolímero encontrado en crustáceos, hongos e insectos, así como el efecto del hexanoato de sodio, una sal derivada del ácido hexanoico, un ácido graso encontrado en productos lácteos y aceite de coco. Ambos compuestos naturales mostraron distintos efectos sobre el crecimiento bacteriano de *K. pneumoniae*, entre los cuales observamos que el quitosano (1,5-2,75 mg/mL) tiene actividad antibacteriana sobre las cepas MDR de *K. pneumoniae*. Por su parte, el hexanoato (50 mM) reduce el crecimiento de la cepa KL-19714 de *K. pneumoniae* en un 67.96% a las 24 h. Además, ambas cepas son productoras débiles de biopelículas no adherentes.

Palabras clave: *Quitosano, Hexanoato, Klebsiella pneumoniae, biopelículas, patógeno oportunista, multidrogo-resistente.*

Introducción

Klebsiella pneumoniae es una bacteria perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, es Gram-negativa, inmóvil, encapsulada, anaerobia facultativa y tiene forma de bacilo; forma parte del microbioma del tracto gastrointestinal de humanos. Este patógeno oportunista ha mostrado multidrogo-resistencia y es la mayor fuente de enfermedades hospitalarias asociadas a una alta morbilidad y mortalidad debido a las limitadas opciones de tratamiento. *K. pneumoniae* está involucrada en infecciones extraintestinales que incluyen infecciones del tracto urinario, cistitis, neumonía, infecciones de heridas quirúrgicas e infecciones que amenazan la vida, como endocarditis y septicemia. Además, *K. pneumoniae* cuenta con la capacidad para formar biopelículas en la superficie del tejido del huésped y materiales inertes, lo cual es un paso importante en el desarrollo de la infección y la resistencia a antimicrobianos [1].

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2017) ha catalogado a esta bacteria como uno de los patógenos de «prioridad crítica», es decir, microorganismos que necesitan con más urgencia

nuevos antibióticos, ya que han adquirido resistencia a un elevado número de éstos. [2,3] Debido a esta resistencia adquirida, por este y otros patógenos, se ha optado por utilizar productos naturales como tratamiento alternativo, ejemplos de ellos son el quitosano (QTS) y los ácidos grasos (AG).

El QTS es obtenido de la quitina, un biopolímero que puede ser extraído de crustáceos, hongos e insectos, y es un copolímero de unidades de D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina. Este compuesto se obtiene desacetilando la quitina con NaOH, al realizar esto, la actividad antimicrobiana (contra bacterias Gram-positivas, bacterias Gram-negativas y hongos) aumenta así como la solubilidad en medio ácido. El radio entre las dos unidades monoméricas, expresado como el grado de acetilación o desacetilación, y el peso molecular, juegan un papel importante en la actividad antimicrobiana del QTS y su solubilidad en medio acuoso [4]. Se ha reportado la reducción de la viabilidad (CFU/mL) de aislados de *K. pneumoniae* y *E. coli* en presencia de QTS de distinto peso molecular en medio ácido [5]. Además, se ha evaluado la capacidad de formación de biopelículas de aislados clínicos de *K. pneumoniae* demostrando que algunos de ellos son formadores de biopelículas [5,6].

Por otro lado, los AG son moléculas antimicrobianas de interés científico, debido a que para ejercer esta actividad deben ser utilizados en bajas concentraciones (μM -mM), interaccionan con distintos blancos intracelulares (por lo que la selección de resistencia es baja), no son tóxicos para las células de mamíferos, son estables químicamente y se degradan naturalmente [7]. Hasta el momento, los AG de cadena media (AGCM) ejercen el espectro de acción más amplio [7]. No obstante, hasta el momento se desconoce el efecto del ácido hexanoico sobre las células planctónicas y/o biopelículas de *K. pneumoniae*. Interesantemente, se ha observado el efecto sinérgico entre AGCM y QTS en un modelo de interacción *Botrytis cinérea*, en fresa afectando el hongo post-cosecha [comunicación personal Loeza-Lara, 2018].

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto individual del quitosano y de ácidos grasos (como el ácido hexanoico) sobre el crecimiento de células planctónicas y/o la formación de biopelículas de *K. pneumoniae* multidrogo-resistente.

Metodología

- Cepas bacterianas

Se utilizaron las cepas de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y KL-19714, ésta última fue proporcionada por la Dra. Ruth Reyes Cortés (Universidad de Guanajuato). Cada cepa fue crecida en placa de agar Mueller-Hinton durante 24 h a 37°C.

- Soluciones

El QTS de mediano peso molecular (75-85% de desacetilación) se obtuvo de Sigma-Aldrich, México. Se preparó una solución de 30 mg/mL, para lo cual se disolvieron 6 g de QTS en 200 mL de ácido acético al 1% (preparado a partir de ácido acético glacial J.T. Baker, México, 2 mL de ácido aforando con agua destilada hasta 200 mL), manteniéndose en agitación constante durante 24 h. Posteriormente, el pH de esta solución se ajustó a 5,6 con NaOH 1 N (J.T. Baker,

México) y finalmente se esterilizó. El hexanoato de sodio (HXT) se obtuvo de Sigma-Aldrich (USA). Se preparó una solución con concentración final de 500mM, disolviendo en agua para posteriormente esterilizar por filtración (tamaño de poro 0,22 μm , Millipore, USA).

- Efecto del QTS y HXT sobre el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae*

Se sembraron las cepas de *K. pneumoniae* ATCC 700603 y KL-19714 en caldo Mueller-Hinton (Becton Dickinson, México), se incubaron por 24 h (37°C a 180 rpm). Posteriormente, se ajustó la Densidad Óptica (DO_{600}) de cada cultivo a un valor de $0,2 \pm 0,01$. Una vez ajustada la DO_{600} , se probaron distintas concentraciones de quitosano (1,5, 1,75, 2, 2,25, 2,5 y 2,75 mg/mL) y de hexanoato (1, 10 y 50 mM) sobre las dos cepas bacterianas. Se incubaron a 37°C con agitación constante de 180 rpm, y se evaluó el crecimiento bacteriano a las 24, 48 y 72 h, midiendo la DO_{600} . Se realizaron tres experimentos independientes por triplicado.

- Evaluación de la producción de biopelículas bacterianas

Para evaluar la capacidad de la formación de biopelículas por parte de *K. pneumoniae*, se realizó un ensayo en placa de microtitulación. Para ello cultivaron las cepas en agar BHI fresco (Becton Dickinson, México), se sembraron en caldo BHI (Becton Dickinson, México) estéril y se incubaron durante la noche a 37°C (180 rpm). Estos cultivos se diluyeron a un estándar 0,5 de McFarland en caldo BHI fresco. Se añadió una alícuota de 10 μL de cultivo a 100 μL de caldo BHI en una microplaca estéril (de 96 pozos) y se incubó durante 24 h a 37° sin agitación. Posteriormente, se aspiraron las células planctónicas y se lavaron los pocillos con 100 μL de tampón de fosfato salino (PBS, pH 7,2). Se fijaron las biopelículas adheridas a los pocillos con 50 μL de acetato de sodio al 2% y se tiñeron con 50 μL de cristal violeta al 1%. Se lavó el exceso de colorante con 100 μL de agua desionizada (3X) y se dejó secar la placa durante 20 minutos. Finalmente, se determinó la absorbancia de las bacterias adheridas (biopelículas) a 595nm, para compensar la absorbancia de fondo, se promediaron los valores de $\text{DO}_{595\text{nm}}$ del medio estéril y se restó de todos los valores de prueba. Se realizaron dos experimentos independientes por triplicado.

Los aislados que dieron una $\text{DO} < 0,120$ se clasifican como débiles productores de biopelículas no adherentes; los valores de 0,120 a 0,240 se clasifican como moderados productores de biopelículas medianamente adherentes; los valores $> 0,240$ se clasificaron como fuertes productores de biopelículas altamente adherentes.

Resultados

El efecto del QTS y el HXT sobre las cepas de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y KL-19714 fueron evaluados por separado. En los resultados se observó que el QTS, en todas las condiciones evaluadas, redujo la turbidez del medio de la cepa ATCC 700603 respecto al control (cultivo bacteriano tratado con vehículo) (Figura 1A), sugiriendo que este compuesto actúa como

bactericida contra dicha cepa. Cabe mencionar que el vehículo utilizado (ácido acético al 1%) no modificó la turbidez del cultivo bacteriano de las cepas evaluadas, respecto al cultivo bacteriano sin tratamiento (Figura 1A,B), indicando que el vehículo no afecta el crecimiento de *K. pneumoniae*.

Adicionalmente, los resultados obtenidos indican que el QTS (2,25-2,75 mg/mL) inhibió la turbidez del medio de la cepa KL-19714 a las 24, 48 y 72 h (Figura 1B), sugiriendo que puede actuar como bactericida. Al evaluar las concentraciones de 1,5-2 mg/mL de QTS se observó que la turbidez del medio de cultivo se redujo a las 24 h, pero este efecto se revirtió a las 48 y 72 h, alcanzando una turbidez similar al control (bacteria tratada con vehículo) (Figura 2).

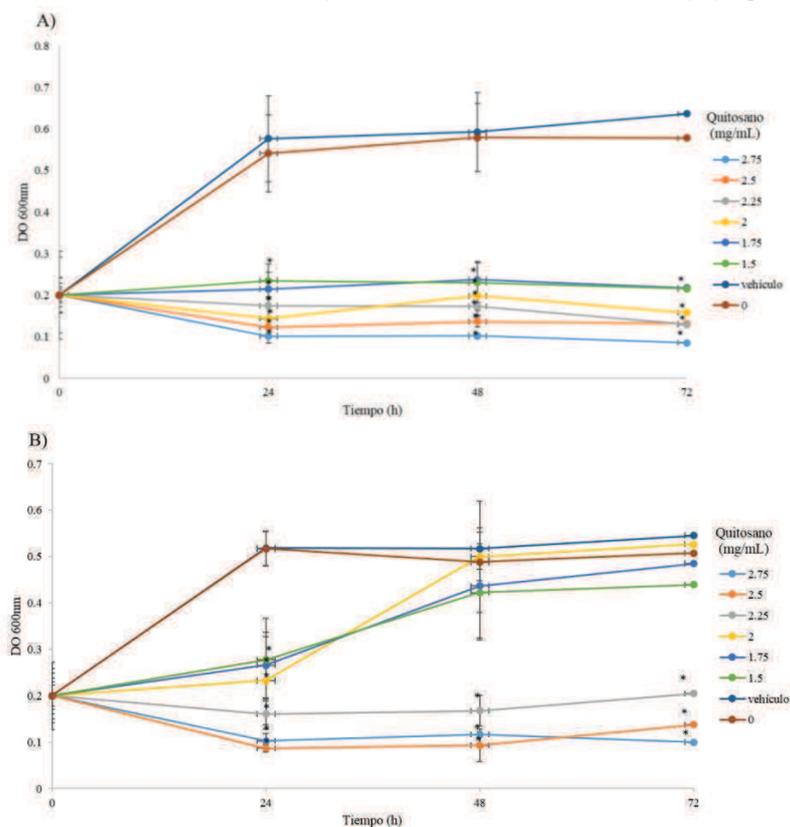


Figura 1. Efecto del quitosano sobre el crecimiento de *K. pneumoniae*. Se cultivaron las cepas (A) ATCC y (B) KL-19714 de *K. pneumoniae* en presencia de distintas concentraciones de QTS y se monitoreó la turbidez (DO_{600nm}) del medio a las 24, 48 y 72 horas. Vehículo: ácido acético al 1%. Cada punto representa el promedio de tres experimentos independientes por triplicado \pm EE.

El símbolo “*” indica cambios significativos ($P < 0,05$) respecto al control (*K. pneumoniae* con el vehículo).

El HXT (1, 10 y 50 mM) no alteró la turbidez del cultivo de la cepa ATCC 700603 en ningún tiempo evaluado (Figura 2A), indicando la resistencia de esta cepa al AGCM. Mientras que en la cepa KL-19174, el HXT (50 mM) redujo la turbidez del cultivo bacteriano, respecto al control (bacteria sin HXT) (Figura 2A). Se identificó incremento en la turbidez del cultivo a las 48 y 72 h, aunque la turbidez fue menor que la obtenida en el control, sugiriendo un efecto bacteriostático del HXT, aunque se necesitan experimentos posteriores para corroborarlo.

Es importante mencionar que se están realizando experimentos para determinar si existe efecto sinérgico entre el QTS y el HXT.

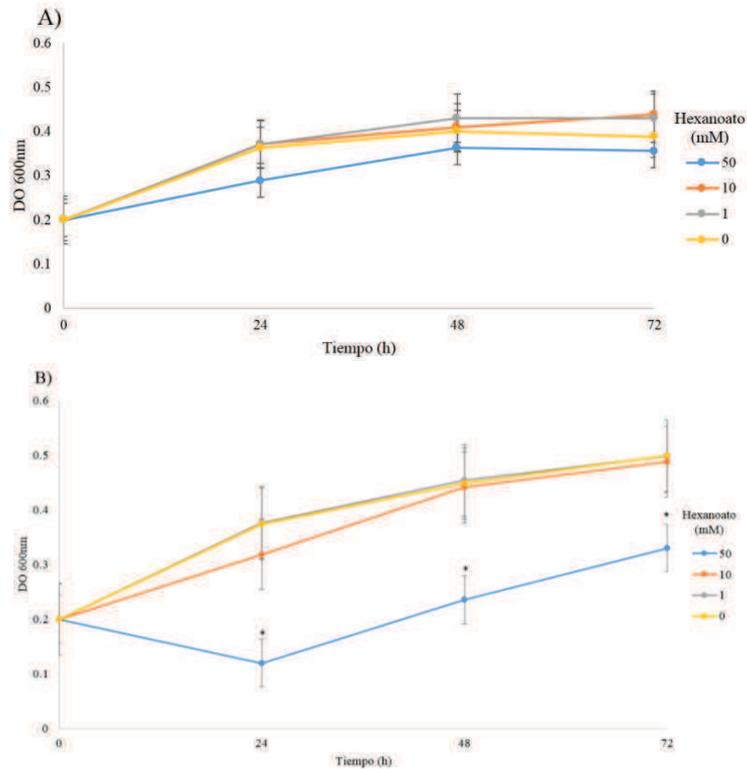


Figura 2. Efecto del hexanoato sobre el crecimiento de *K. pneumoniae*. Se cultivaron las cepas (A) ATCC y (B) KL-19714 de *K. pneumoniae* en presencia de distintas concentraciones de HXT y se monitoreó la turbidez (DO_{600nm}) del medio a las 24, 48 y 72 horas. Cada punto representa el promedio de tres experimentos por triplicado \pm EE. El símbolo “*” indica cambios significativos ($P < 0,05$) respecto al control (*K. pneumoniae* sin tratamiento).

Adicionalmente, se evaluó la capacidad de formación de biopelículas por parte de las dos cepas de *K. pneumoniae*, de dos experimentos por triplicado se obtuvieron resultados preliminares que indican que ambas cepas son productoras de biopelículas no adherentes y débiles ($DO < 0,120$).

Conclusiones

Los resultados obtenidos indican que el quitosano (1,5-2,75 mg/mL) tiene actividad antibacteriana sobre las cepas MDR de *K. pneumoniae*. Por su parte, el hexanoato (50 mM) reduce el crecimiento de la cepa KL-19714 de *K. pneumoniae*. Además, los resultados preliminares indican que ambas cepas son productoras de biopelículas no adherentes y débiles.

Bibliografía

- [1] Organización Mundial de la Salud. “La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos”. 2017. Recuperado de: <http://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- [2] Organización Mundial de la Salud. “Resistencia a los antimicrobianos”. 2018. Recuperado de: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>
- [3] World Health Organization. Drug resistance. 2018. Recuperado de: http://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/en/
- [4] Verlee, A., Mincke, S. y Stevens, C. V. (2017) “Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives”, *Carbohydrate Polymers*, 164, 268-283.
- [5] Campana, R., Casettari, L., Ciandrini, E., Illum, L. y Baffone, W. (2017) “Chitosans inhibit the growth and the adhesion of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* clinical isolates on urinary catheters”, *Int J of Antimicrobial Agents*, 50, 135-141.
- [6] Magesh, H., Kumar, A., Alam, A., Priyam, Sekar, U., Sumantran V. N. y Vaidyanathan R. (2013) “Identification of natural compounds which inhibit biofilm formation in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*”, *Indian J of Experimental Biology*, 51, 764-772.
- [7] Debois, A. P. (2012) “Potential applications of antimicrobial fatty acids in medicine, agriculture and other industries” *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 7, (2), 111-122.
- [8] Sanabria-Ríos, D. J., Rivera-Torres, Y., Maldonado-Domínguez, G., Domínguez, I., Ríos, C., Díaz, D., Rodríguez, J. W., Altieri-Rivera, J. S., Ríos Olivares, E., Cintrón, G., Montano, N. y Carballeira, N. M. (2014) “Antibacterial activity of 2-alkynoic fatty acids against multidrug-resistant bacteria”, *Chemistry and Physics of Lipids*, 178, 84-91.

EFFECTOS DE LAS HORMONAS TIROIDEAS Y LOS RECEPTORES NUCLEARES EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL PEZ CEBRA (*Danio rerio*)

Katheryne Fernández Padilla^a, María de los Angeles García Escamilla^b, María Isela García Martínez^c, Oriana Isabel Olvera Velazquez^d. Asesor: Dr. Aurea Orozco Rivas^e

^a Universidad de Sonora, Boulevard Luis Encinas y Rosales, Col. Centro, Hermosillo, Sonora. C.P. 83000, México. kat.fdez.p@gmail.com.

^b Universidad Autónoma del Estado de México, Campus El Cerrillo, Carretera Toluca – Ixtlahuaca Km 15.5, Piedras Blancas, Toluca de Lerdo, C.P. 50200, México. angees366@gmail.com.

^c Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Camino Ramón Padilla Sánchez 2100 Nextipac, Zapopan, Jalisco, C.P. 45220, México. alesi.airam@hotmail.com.

^d División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N; C.P. 36050; Guanajuato, Gto. México. orianaolvera@gmail.com.

^e Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro, 76230, México. aureao@unam.mx.

Resumen

Las hormonas tiroideas (THs) son mensajeros endócrinos que abarcan una amplia gama de funciones como el crecimiento y la diferenciación, el metabolismo energético y en particular el desarrollo y maduración del sistema nervioso central (SNC). Las THs regulan la expresión de genes blanco a través de su unión a receptores de THs o TRs que funcionan como factores de transcripción ligando-dependientes. El trabajo se concentra específicamente, en el estudio de T3 y T2 (hormonas con bioactividad), con sus efectos a través de su unión a isoformas distintas de TR y la expresión de genes asociados a procesos de neurogénesis, y mielinización, sugieren que la T3 y la T2 son importantes moduladores del SNC en etapas tempranas del desarrollo.

Palabras Clave: *Hormonas Tiroideas; Receptores de Hormonas Tiroideas; Pez cebra.*

Introducción.

Las hormonas tiroideas (THs), 3,3',5-tri-iodothyronine (T3) y thyroxine (T4), son reguladores esenciales del desarrollo, crecimiento, y metabolismo en varios tejidos, desde el cerebro y el corazón a la piel y los ovarios. La reducción de la producción de THs por la glándula tiroides o la absorción insuficiente de TH por las células blanco causa hipo-tiroidismo, que es una de las causas más comunes de retraso [1]. Las THs son producidas por la glándula tiroides y secretado en el torrente sanguíneo para alcanzar sus células objetivo (diana). La glándula tiroides principalmente produce T4, que se convierte en la hormona activa T3 a partir de eliminación de yodo de su anillo exterior. En las células diana, las yodotironina deiodinasas (D1, D2 y D3) activan o inactivan THs. D2 activa las TH convirtiendo T4 en T3 y ésta en 3,5-diiodothyronine (T2), mientras que D3 reduce actividad celular de TH convirtiendo T4 y T3 en los isómeros inactivos T3 reversa y 3, 3'-T2, respectivamente [2].

Los niveles de circulación fisiológica de TH están regulados por el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides (HPT). Los niveles de TH reducidos aumentan la producción y secreción de hormona tirotrópica hipotalámica (TRH), que, a su vez, induce la liberación de hormona estimuladora de

tiroides (TSH) de la pituitaria. Luego TSH induce la producción de TH en la glándula tiroides, equilibrando así los niveles de TH. [1]

Las THs entran a la célula y se unen a los receptores de TH (TR) dentro del núcleo. Los TRs funcionan como factores de transcripción activados por hormonas, controlando la expresión de cientos de genes. Los TR funcionan como factores de transcripción dependientes del ligando formando heterodímeros con el RXR y se encuentran interactuando específicamente con secuencias de DNA conocidas como TRE localizadas en las regiones promotoras de los genes regulados por TH. En este mecanismo, cuando no están ligados, la conformación de los TR es tal que permite su asociación con proteínas correpresoras que incluyen proteínas que modifican la cromatina para impedir que se lleve a cabo la transcripción del gen. Una vez que la T3 se une a la TR, la conformación del TR cambia y promueve una conformación que libera a los correpresores y permite la interacción de correguladores que otra vez incluyen remodeladores de la cromatina. Esto libera la represión e induce la transcripción del gen y la posterior traducción que da lugar a la proteína.

Para funcionar, las THs requieren transporte activo a través de la membrana celular por transportadores transmembrana de hormona tiroidea tejido-específico (THTT). Los portadores de soluto son una familia de proteínas de membrana que regulan el transporte de muchos tipos de sustancias, incluyendo las THs. El transportador de monocarboxilato 10 [MCT10 / SLC16A10], es uno de los transportadores que tienen alta afinidad por THs. [1]

En las últimas dos décadas, el modelo de *Danio rerio* (pez cebra) se ha convertido en un vertebrado atractivo para estudiar la señalización de TH, el desarrollo embrionario, y trastornos humanos relacionados con la tiroides. Tiene ventajas distintivas, tales como mantenimiento simple, gran cantidad de progenie y transparencia óptica, promovió el desarrollo de kits de herramientas genéticas, que permiten la mutagénesis a gran escala, dirigidos a manipulaciones genéticas, imágenes en vivo de todos los tipos de células y alta rendimiento conductual y ensayos farmacológicos. La glándula tiroides de *D. rerio* se origina en el endodermo faríngeo, y los principales genes implicados en su patrón y desarrollo son conservados con los de los mamíferos. En las primeras etapas del desarrollo embrionario, las THs maternas se almacenan en el saco vitelino, y a las 72 h post-fertilización (hpf) la glándula tiroides comienza a secretar THs endógenas. Similar a los mamíferos, en el pez cebra, la señalización de TH está regulada por el eje HPT, deiodinasas, THTT y TRs. [1]

Los receptores nucleares (NR) y sus respectivos ligandos regulan conjuntamente la transcripción de ADN de varios genes cuyas funciones regulan el desarrollo, la reproducción, el estrés y el equilibrio energético, entre otros. Todas las proteínas de NR muestran una estructura modular distintiva que consta de varios dominios funcionales que incluyen un N-terminal que se une al ADN genómico (DBD); una bisagra; y un dominio de unión a ligando C-terminal (LBD). Este LBD contiene las 12 hélices alfa que forman el bolsillo hidrofóbico que se une a los ligandos hidrofóbicos específicos de NR. [3]

Contrariamente a otros vertebrados que contienen solo dos genes que codifican TRs (*thra* y *thrb*), los teleosteos experimentaron una ronda específica de duplicación de genes y presión evolutiva selectiva que resultó en el mantenimiento de tres genes que codifican los TRs en peces: dos *thra*

(thraa y thrab) y un thrb [3]. La isoforma funcional específica de teleosteos más representativa es un producto de thrb que contiene una inserción de nueve aminoácidos al comienzo de la LBD. Este TR se ha denominado receptor de la hormona tiroidea larga o grande $\beta 1$, o L-TR $\beta 1$, porque es de hecho más grande que la isoforma corta (STR $\beta 1$) que carece de esta inserción. En el caso particular de L-TR $\beta 1$, muestra una alta afinidad por T2. [4] Los estudios de unión y de activación muestran que el T2 activa la isoforma de humano y la larga TR $\beta 1$ de algunos peces, pero no la corta, mientras que T3 regula parcialmente a la isoforma corta (STR $\beta 1$). [4]

La influencia de la señalización tiroidea en el desarrollo del sistema nervioso se extiende a todos los períodos de la vida, desde la embriogénesis temprana hasta la neurogénesis en el cerebro adulto. Las TH en las primeras etapas de la neurogénesis tienen relevancia sobre los efectos adversos de la falta de TH en el embarazo temprano en el resultado del desarrollo neurológico de los niños [5]. La mielinización, el proceso mediante el cual las células gliales envuelven y aíslan eléctricamente los axones, se ha investigado intensamente. Sin embargo, el conocimiento de cómo se regula la mielinización o cómo las células mielinizantes se comunican con las neuronas aún está incompleto. Pez cebra (*D. rerio*) ha encontrado genes que codifican proteínas de mielina, una de ellas es la proteína básica de mielina (MBP) que se detecta a los 2 días postfertilización (dpf), primero en el cerebro posterior ventral, cerca de la línea media. Durante los próximos 8 días, la expresión se extiende rostralmente al cerebro medio y el nervio óptico, y caudalmente a la médula espinal.

Los oligodendrocitos se producen a partir de la misma región de la médula espinal ventral que las neuronas motoras. La neurona motora y las células precursoras de oligodendrocitos expresan genes Olig. Los oligodendrocitos se desarrollan de manera similar en los embriones de pez cebra (*Danio rerio*), ya que surgen de la médula espinal ventral y migran a nuevas posiciones. El desarrollo de neuronas motoras primarias y oligodendrocitos expresan olig2. La pérdida de la función de olig2 evita la neurona motora primaria y el desarrollo de oligodendrocitos, mientras que la sobreexpresión de olig2 promovió la formación de exceso de neuronas motoras primarias y oligodendrocitos. [6]

Aún cuando se conoce que las THs son críticas para el desarrollo correcto del SNC, poco se sabe acerca de la temporalidad de sus acciones tempranas en éste proceso. Tomando ventaja del modelo de *Danio rerio* (pez cebra), en éste trabajo se pretende relacionar los efectos de las THs en donde se hace un análisis morfológico de T3 y T2 en estadios embrionarios de *D. rerio*, de los cuales se pretende conocer el efecto que tienen con isoformas distintas de TR, transportadores y genes implicados en procesos de neurogénesis y mielinización, así como en el crecimiento.

Metodología

i. Microinyección de embriones.

Se inyectó 1 nL de TH (T3 o T2) a concentraciones de 0.01, 0.1, 1 y 10 nM, en el polo animal de embriones de *Danio rerio* recién fertilizados (durante las primeras divisiones). Los embriones fueron monitoreados a 5, 24 y 48 horas post-fertilización (hpf). Como control se inyectaron embriones con vehículo.

ii. Extracción de RNA

Los embriones de 48 hpf se colocan en frío como medio de anestesia; después se enjuagaron tres veces con agua estéril y se almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente se les adicionó Trizol para extraer el RNA, y con un pistilo para tubos se trituran los embriones. El protocolo de extracción se realizó según las instrucciones del fabricante. El RNA extraído se diluyó en agua estéril y posteriormente se midió su pureza.

iii. Medición del efecto de receptores, transportadores, desyodasas y genes implicados en la mielinización y crecimiento. Genes analizados: D3, TRa, L-TRb, S-TRb, MCT8, mbp, olig2 y GH.

Se realizaron PCRs de punto final con el kit Taq 2X Master Mix y se variaron las condiciones del termociclador según los oligonucleótidos utilizados para los genes. Las reacciones obtenidas se corrieron en una electroforesis para observar la amplificación de los genes y por último se realizó un PCR de tiempo real para cuantificar la expresión de los genes analizados.

iv. Sobreexpresión de receptores de THs (TRs).

Primero se genera un plásmido que contiene un promotor y la secuencia del receptor de hormona tiroidea (TRa, L-TRb y S-TRb), después este plásmido se linealiza y se hace una transcripción *in vitro* que genera el RNAm que codifica a los receptores, finalmente se purifica este RNAm y se inyecta a los embriones de *D. rerio* en estado de 1 célula para que empiecen a transcribir ese mensajero y tener la proteína del receptor en exceso. Se realizó un análisis morfológico a las 5, 24 y 48 hpf.

Resultados. Resultados preliminares.

Como resultado de la medición del efecto de las TH (hormonas tiroideas) en el desarrollo temprano de *D. rerio* se obtuvieron porcentajes significativos de mortalidad y afectación de embriones ya que con el vehículo inyectado a los embriones se puede inferir en realidad que tanto afecta la adición de TH o el daño que causa la inyección al embrión como se observa en la gráfica de la Figura 1a, donde un 25% de embriones aproximadamente fueron afectados por la inyección. Con la implementación de hormonas T2 y T3 exógenas a los embriones, se obtuvo que un gran porcentaje de embriones fueron afectados y/o muertos como se muestra en la Figura 1b y Figura 1c, en donde se aprecia que la concentración de hormona T2 y T3 más alta (10nM) obtuvo un porcentaje más alto de mortalidad, además de un aumento de embriones afectados (embriones con anomalías en su desarrollo pero que siguen con vida) como se muestra en la Figura 4.

En la medición del efecto de los receptores (L-TR β , S-TR β y TR α), la desyodasa 3 (D3), el transportador de TH (MCT8), la hormona de crecimiento (GH), la hormona básica de mielina (MBP) y el factor de transcripción de oligodendrocitos (OLIG 2) como se muestra en la Figura 2,

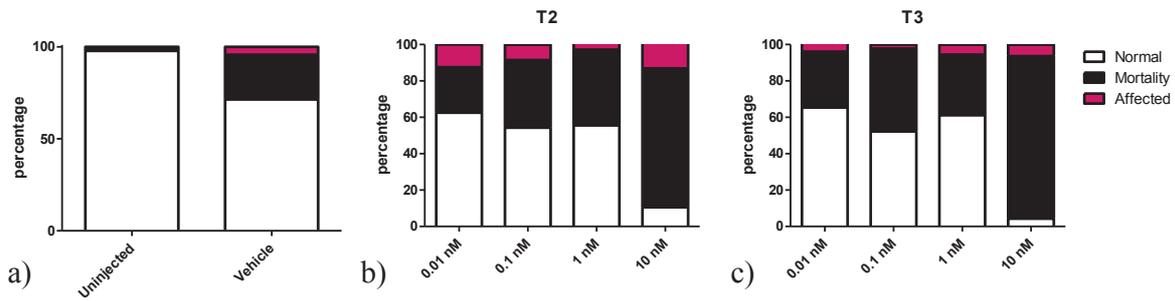


Figura 1. Porcentaje de embriones de pez cebra normales, con deleciones y muertos a las 48 hpf: a) Controles, b) diferentes concentraciones de T2, c) diferentes concentraciones de T3.

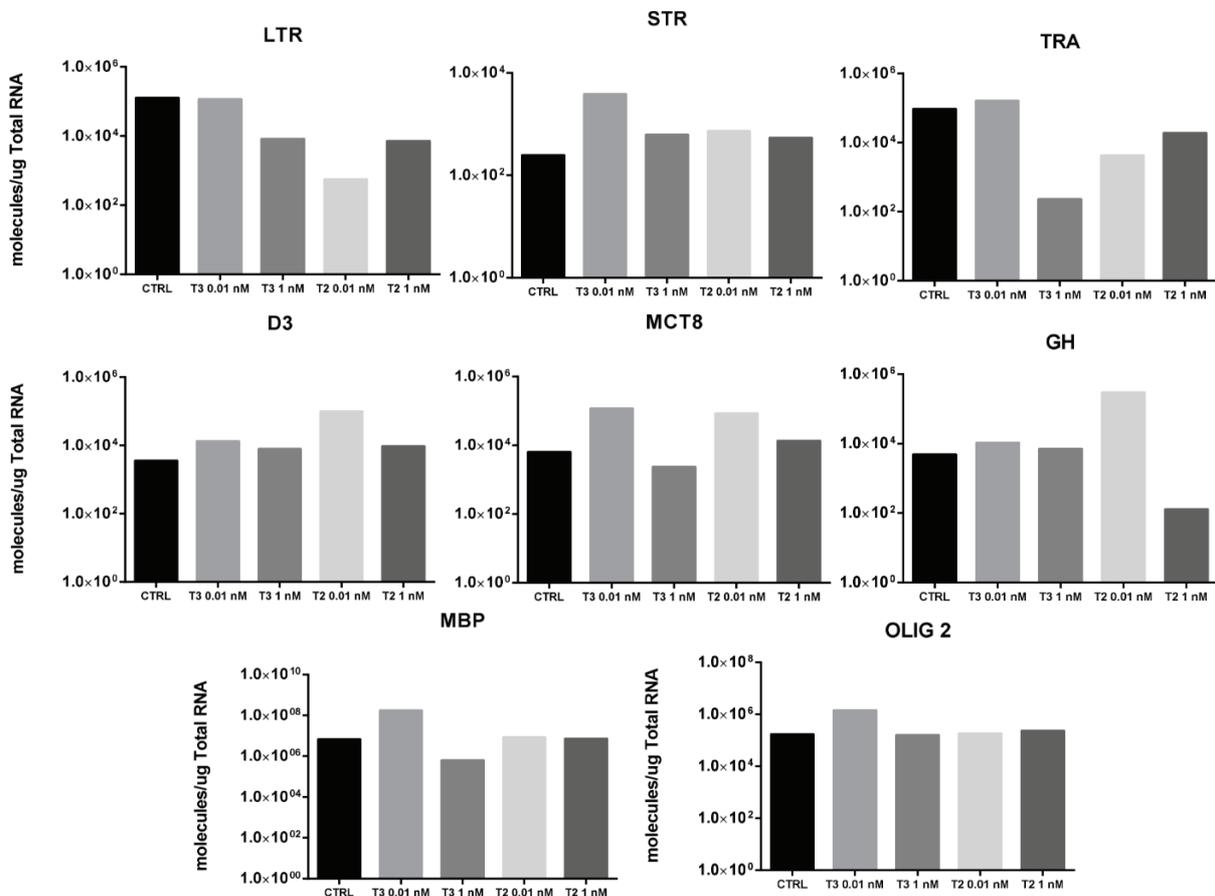


Figura 2. Cuantificación por PCR en tiempo real. Graficas del efecto de T2 y T3 en la expresión de diversos genes durante el desarrollo embrionario de *Danio rerio* a las 48hpf.

se puede observar como cada puede ser regulado a la alta o a la baja por las hormonas T2 y T3 a concentraciones de 0.01nM y 1nM a excepción de OLIG 2 que no se aprecia una regulación significativa por parte de las hormonas.

En la sobreexpresión de las isoformas de TRs (L-TR β , S-TR β y Tr α) se puede observar en la Figura 3 como las isoformas Tr α y L-TR β afectan más a los embriones que S-TR β . En la Figura 4 se pueden observar algunos de los fenotipos afectados que presentaron los embriones de *D. rerio*.

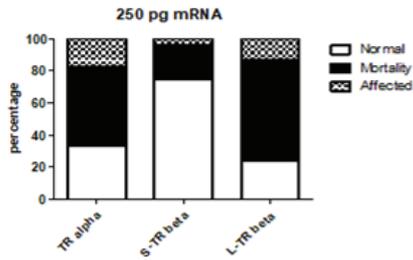


Figura 3. Sobreexpresión de diferentes isoformas de TRs en embriones de pez cebra a las 48 hpf.

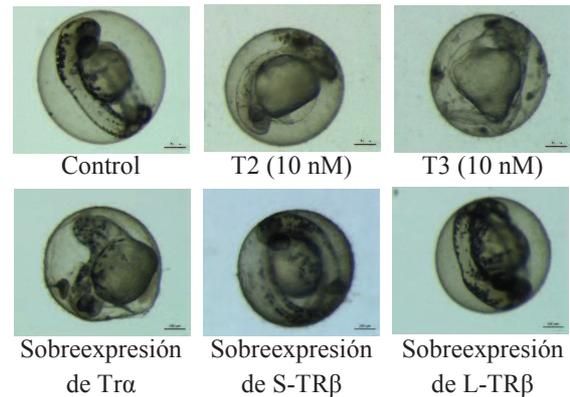


Figura 4. Análisis morfológico. Fenotipos de embriones de *Danio rerio* a las 48 hpf.

Conclusiones

Los resultados preliminares muestran que en condiciones altas de THs presentan un mayor porcentaje de toxicidad en el desarrollo embrionario de *Danio rerio* en comparación con dosis pequeñas de las THs, además de que T3 muestra ser más tóxica que T2. Hay genes que se regulan a la alta o a la baja dependiendo de la concentración de T3 y T2, lo que implica que son críticas en el desarrollo embrionario de *D. rerio*, y que pueden ser de igual forma en el desarrollo temprano del humano. La sobreexpresión de los TRs, al no estar ligados causa efectos negativos en el desarrollo embrionario de *D. rerio*.

Bibliografía

- [1] Zada D., Blitz E. y Appelbaum L. (2017) “Zebrafish - An emerging model to explore thyroid hormone transporters and psychomotor retardation”, *Mole. and Cell. Endo.*, (459), 53-58.
- [2] García-G C., López-Bojorquez L., Nuñez J., Valverde-R C., and Orozco A. (2007) “3,5-Diiodothyronine in vivo maintains euthyroidal expression of type 2 iodothyronine deiodinase, growth hormone, and thyroid hormone receptor $\beta 1$ in the killifish”, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, (293), R877-R883.
- [3] Lazcano I. y Orozco A. (2018) “Revisiting available knowledge on teleostean thyroid hormone receptors”, *Gen. and Comp. Endo.*, xxx (xxxx)
- [4] Mendoza A., Navarrete-Ramírez P., Hernández-Puga G., Villalobos P., Holzer G., Renaud J.P., Laudet V., and Orozco A. (2013) “3,5-T2 Is an Alternative Ligand for the Thyroid Hormone Receptor $\beta 1$ ”, *Endocrinology*, 154, (8), 2948–2958.
- [5] Préau L., Fini JB, Morvan-Dubois G., Demeneix B., “Thyroid hormone signaling during early neurogenesis and its significance as a vulnerable window for endocrine disruption. ”, (2015), *Biochim Biophys Acta.*, 1849(2):112-21.
- [6] Hae-Chul Park, Amit Mehta, Joanna S. Richardson, Bruce Appel, “*olig2* Is Required for Zebrafish Primary Motor Neuron and Oligodendrocyte Development”, (2002), *Developmental Biology*, 248, (2), 356-368

ESTUDIO DE LA DEGRADACIÓN DE PET POR CONSORCIOS FÚNGICOS

Gutiérrez Vicencio José Pablo (a), Flores Villavicencio Lérida Liss (b),

Villagómez Castro Julio César (b)

a [Lic. Biología Experimental, Universidad de Guanajuato] [jp.gutierrezvicencio@ugto.mx]

b [Departamento de Biología, DCNE campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | [leri_00@hotmail.com, castroj2407@hotmail.com]

Resumen

El consumo excesivo de los recursos naturales ha aumentado durante los últimos años, las nuevas tecnologías comienzan a brindarnos comodidad con todo lo que podemos llamar “desechable” y con ello viene un punto crítico, la contaminación y la manera de resolverla. En el presente trabajo se evaluaron 3 cepas con la capacidad de degradar PET como una posible alternativa para biorremediación de zonas con alta cantidad de este. Estas cepas fueron aisladas de un consorcio de microorganismos que creció sobre PET pulverizado como fuente de carbono. Se sometieron las tres cepas a diferentes condiciones de cultivo tratando de inducir la producción de enzimas que le permitiesen utilizar el PET. Los hongos crecieron en medio mínimo de Mathur adicionado de 0.1 % de glucosa y en presencia de PET libre o PET colocado en una bolsa de celofán y, como control, el cultivo en presencia de la bolsa de celofán vacía. Las tres especies ensayadas presentaron crecimiento escaso, sugiriendo una capacidad muy pobre para utilizar el PET como fuente de carbono, sin embargo, presentan una posible actividad celulolítica ya que crecieron bien en presencia de la bolsa vacía de celofán.

Palabras clave

Tereftalato de polietileno, hongos, degradación, celobiasas, lipasas.

Introducción

El PET (tereftalato de polietileno), es el plástico de más fácil obtención y manejo. A partir de él se obtienen diversos derivados los cuales son empleados en distintas industrias, tales como la textil, la alimenticia, para productos de uso diario etc.

En México el informe N°3469 de la cámara de diputados [1], reporta que de las 722 mil toneladas de botellas que se desechan al año, 90 millones de ellas llegan a ríos y al mar. El órgano gubernamental ECOCE, reporta en el informe anual del 2017 [2], que México es líder en América Latina en recuperación de PET para su reciclado y comercialización, recuperando aproximadamente el 57% de la producción anual.

El PET, por su facilidad para moldeado y su bajo costo de producción, se produce en masa desde hace varios años y por ende su acumulación en el planeta ha ido al alza; ésta ha comenzado a ser monumental y las opciones para su reciclado son escasas y costosas. Es importante entonces, buscar alternativas de biorremediación. Se han reportado distintos microorganismos para el estudio de la biodegradación de PET, tales como bacterias de los géneros *Micrococcus*, *Moraxela*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, o *Pseudomonas* y hongos como *Aspergillus glaucus* y *A. niger* [3]. En este trabajo se presenta la caracterización de tres cepas aisladas de un consorcio de microorganismos que crece sobre PET como fuente de carbono.

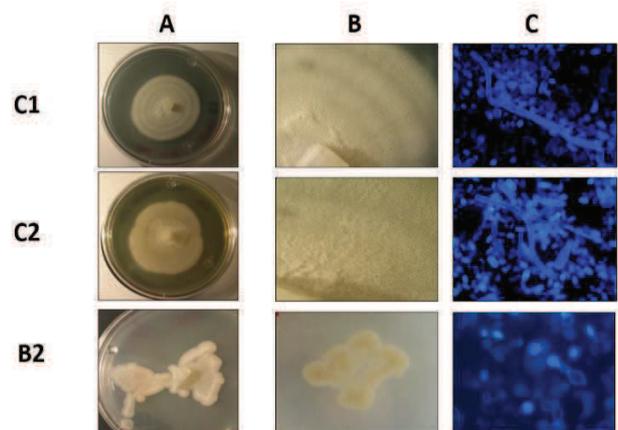
Metodología

- *Cultivo de los hongos*: Las cepas C1, C2 y B2 fueron crecidas en medio PDA natural (Agar Papa Dextrosa), YPG (Extracto de levadura-Peptona-Glucosa) sólido y líquido por 7 días a 24°C. El crecimiento radial se analizó con un microscopio invertido (Primo Vert Carl Zeiss acoplado con una cámara ERc5s) y en un microscopio estereoscópico.
- *Morfología microscópica de los hongos estudiados*. Microcultivos de las 3 cepas fueron teñidas con Blanco de Calcoflúor y observadas en un microscopio de Epifluorescencia (Leica, DMLS) con una cámara AxioCam ICc1 (Carl Zeiss).
- *Condiciones de crecimiento*: Los hongos crecieron en 4 condiciones para realizar los ensayos de degradación del PET, como se describe a continuación. Se prepararon matraces con 30 mL de medio mínimo de Mathur suplementado con glucosa 0.1 %; Glucosa 0.1 % + una bolsa de celofán; Glucosa 0.1 % + una bolsa de celofán conteniendo 0.125 g de PET; o, glucosa 0.1 % + 0.125 g de PET y se incubaron a 24°C, por un periodo de 0-20 días con agitación constante (125 rpm).
- *Determinación de la masa micelial y la proteína secretada*: A diferentes tiempos de cultivo se realizó la cuantificación de la proteína secretada, para ello, los cultivos fueron centrifugados a 1438 x g/10min/4°C, se recuperó el sobrenadante y se realizó la cuantificación de la proteína secretada utilizando el método de Lowry [4]. Por otra parte, la masa micelial recuperada a los 14 días de crecimiento fue hidrolizada con NaOH 1 M durante 12 h a temperatura ambiente. El sobrenadante de esta maceración se utilizó para cuantificar proteína por el método de Lowry. Previamente se realizó una curva estándar de calibración con albumina sérica bovina.
- *Determinación enzimática de lipasa y celobiasa*: Se ensayaron los cultivos de los hongos a diferentes tiempos y condiciones de crecimiento incubándolos en medio sólido Tween 80 (peptona bacteriológica-agar-cloruro cálcico y sódico) por 3 días a 24 °C para determinar su actividad lipolítica. La actividad de celobiasa se realizó utilizando 4-metil-celobiosa como sustrato. La mezcla de reacción se incubó a temperatura ambiente durante 30 min, finalmente se determinó la fluorescencia liberada en un espectrómetro Perkin Elmer utilizando longitud de onda de Exc, 350 nm y Em, 440 nm. La concentración de 4-Mu liberada se cuantificó interpolando los resultados en una curva de calibración con 4-MU.
- *Determinación de la degradación del PET*: Se realizó la determinación del cambio de peso seco en las bolsas de celofán recuperadas: bolsa vacía y bolsa con PET (celofán-PET).

Resultados

La morfología macroscópica y microscópica de los hongos designados como C1, C2 y B2, indican que C1 y C2 crecen como micelio, mientras que B2 es levaduriforme (Fig.1). Además, se observó una firme adhesión de los hongos al PET libre (Fig. 2).

Imagen 1. Morfología de los hongos C1, C2 y B2 en medio sólido. A, crecimiento radial de los hongos en agar YPD. B, morfología macroscópica y C, morfología microscópica



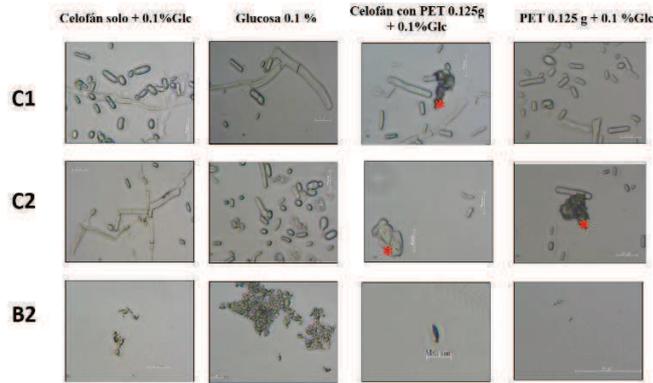


Imagen 2. Morfología de los hongos C1, C2 y B2 en medio líquido en las diferentes condiciones de cultivo. Se observan pequeños acúmulos de PET (asterisco).

El crecimiento de los hongos fue lento. Particularmente, al evaluar la proteína secretada por los 3 hongos cultivados en las diferentes condiciones, todos mostraron una pequeña secreción de proteína al medio de cultivo en presencia de PET (Fig. 3).

Asimismo, se puede observar que el hongo C2 ve favorecido su crecimiento y secreción de proteínas en presencia de la bolsa de celofán, ya sea que esta esté vacía o conteniendo el PET, indicando que el factor que favorece el crecimiento sea posiblemente el celofán porque pueda secretar enzimas que le ayuden a su degradación. Por otra parte, el aumento de la masa micelial para C1 y C2 fue evidente en dos condiciones: glucosa 0.1 % y PET 0.125 g + Glucosa 0.1%. Sin embargo, el hongo B2 no presentó diferencias significativas en su masa levaduriforme (Fig.4).

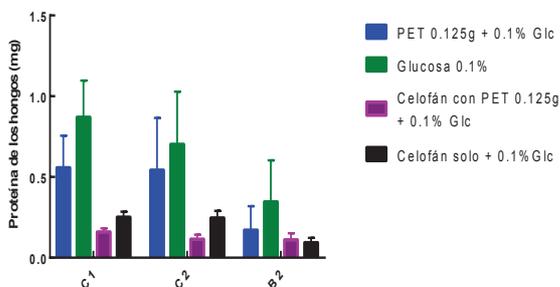
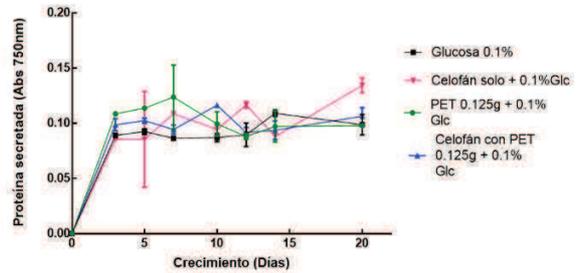
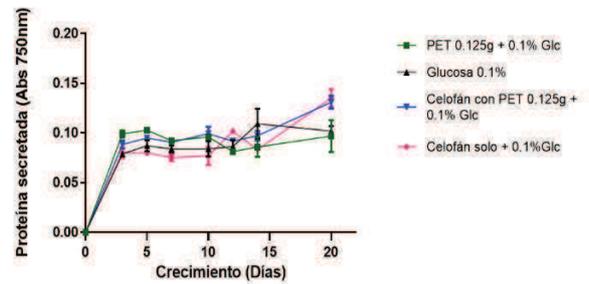


Imagen 4: Determinación de la masa fúngica de los hongos C1, C2 y B2 a los 14 días de crecimiento en diferentes condiciones de cultivo. Los resultados son el promedio de dos experimentos independientes.

Proteína secretada del hongo C1



Proteína secretada del hongo C2



Proteína secretada del hongo B2

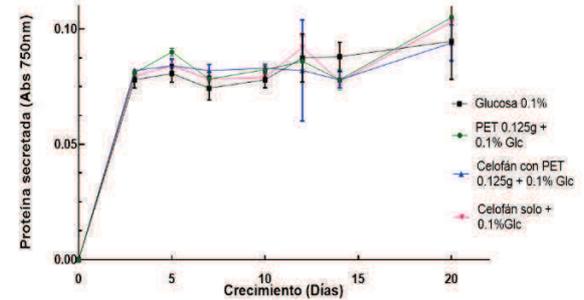


Imagen 3: Proteína secretada por los hongos C1, C2 y B2 en las diferentes condiciones de cultivo.

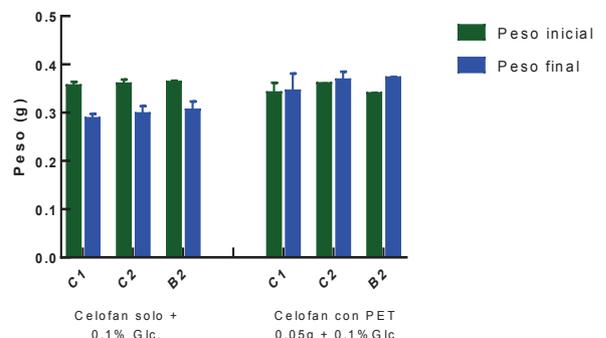


Imagen 5: Determinación de la degradación del PET por los hongos C1, C2 y B2.

Para cuantificar con precisión la degradación del PET por los hongos, se diseñó un experimento en condiciones controladas del peso de PET presente en el medio de cultivo, mediante la determinación de la diferencia de peso seco del PET inicial con respecto al final, cuando el PET se contuvo en una bolsa de celofán en el medio de cultivo. Al finalizar el experimento, se observó que no hubo diferencias significativas entre el peso inicial del PET y el final, independientemente del hongo (Fig. 5).

En cambio, al determinar el peso seco de las bolsas de celofán, en el ensayo control con la bolsa de celofán vacía con respecto al peso inicial de la bolsa se pudo observar en el control una disminución en el peso final de la bolsa de celofán sin PET; sugiriendo su posible degradación por la presencia de enzimas celulolíticas (endoglucanasas, celobiohidrolasas o celobiasas) secretadas en el medio de cultivo por los hongos en crecimiento. Estos datos correlacionan con el ligero incremento observado en la proteína secretada en los ensayos bajo la condición de cultivo: celofán + glucosa 0.1 %, independientemente del hongo ensayado.

Considerando que los hongos podrían estar secretando hidrolasas con el fin de encontrar un sustrato que pudiesen hidrolizar, se realizaron ensayos para determinar la presencia de lipasas o celulasas en el medio de cultivo. Se inocularon los sobrenadantes recuperados de los cultivos de los tres hongos cultivados en las diferentes condiciones de cultivo en medio sólido Tween 80 para la determinación de lipasas (Fig. 6) y al término de tres días se analizó el crecimiento fúngico. Como se observa en la figura, el hongo B2 fue incapaz de crecer en estas condiciones, sin embargo, los hongos C1 y C2 mostraron crecimiento, independientemente de las condiciones de cultivo inicial y el tiempo de este, sugiriendo la presencia de lipasas.

Adicionalmente se determinó la actividad de celobiohidrolasa secretada por los diferentes hongos en las condiciones de cultivo ensayadas. Como se observa en la tabla 1., los hongos C1 y C2, secretan al medio de cultivo una actividad enzimática capaz de degradar el sustrato fluorescente 4-MU-celobiósido. Cabe aclarar que este ensayo se realizó únicamente con los sobrenadantes recuperados 14 días después de inoculados los hongos, por tal motivo no es posible determinar con precisión en qué momento los hongos secretan esta actividad de celobiohidrolasa.

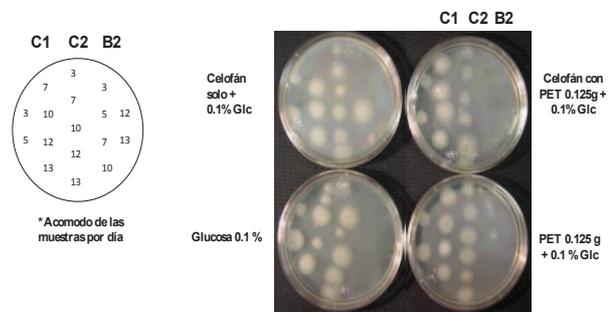


Imagen 6: Determinación de la actividad de lipasas por los hongos C1, C2 y B2.

	Glucosa 0.1 %		PET 0.125 g + 0.1 %Glc		Celofán solo + 0.1%Glc		Celofán con PET 0.125g + 0.1%Glc	
	Intensidad	Concentración	Intensidad	Concentración	Intensidad	Concentración	Intensidad	Concentración
C1	86.44	5.731	90.094	5.961	102.2755	7.226	47.888	2.092
C2	159.9005	12.666	221.531	18.450	213.66	35.481	108.134	7.777
B2	34.827	0.859	37.914	1.1505	33.969	0.778	39.822	1.3305

Tabla 1: Determinación de actividad de celobiasa en el sobrenadante de los cultivos de 14 días de los 3 hongos en diferentes condiciones.

Conclusiones

Los hongos C1, C2 y B2, los cuales pertenecen a un consorcio de microorganismos degradadores de PET, muestran diferencias de crecimiento en cultivos con PET. Dos de ellos presentan crecimiento micelial y el tercio, que mostró baja actividad celulolítica y nula actividad de lipasa secretadas, tiene una morfología de levadura. Particularmente los cultivos de los hongos en presencia del celofán mostraron una mayor cantidad de proteína secretada. Cabe hacer notar que ambos hongos con crecimiento micelial presentan actividad de lipasa como se observó en la figura 6 y de celobiosidasa, como se observa en la Tabla 1.

En conclusión, sugerimos que los hongos C1 y C2 secretan al medio de cultivo, en condiciones de estrés por baja concentración de fuente de carbono, enzimas que le ayudan a hidrolizar los sustratos del entorno, entre ellas lipasa y un posible celobiohidrolasa. Asimismo, son incapaces de degradar PET de forma individual, lo que sugiere que en el consorcio del cual fueron aislados podría jugar un papel diferente al de ser organismos degradadores de PET.

Agradecimientos

Agradezco al Dr. Julio César Villagómez Castro y a la C. a Dr. en C., Lérica Liss Flores Villavicencio por su apoyo para la realización de este proyecto. A la C. A. Fernanda Rosiles Ortega por su apoyo, compañía y tiempo durante la realización del proyecto. A la Universidad de Guanajuato por la oportunidad que me brindaron, mi primer verano de investigación científica.

Bibliografía

- [1] <http://www5.diputados.gob.mx/index.php/esl/Comunicacion/Boletines/2017/Abril/13/3469-En-Mexico-90-millones-de-botellas-de-plastico-de-refrescos-y-agua-son-lanzados-a-la-via-publica-rios-y-mares>
- [2] <https://ecoce.mx/files/Informe-ECOCE-2017.pdf>
- [3] http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442003000300003&script=sci_arttext
- [4] Lowry O.H., Rosebrough N.J. & Randall R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 193(1), 265-75.

ESTUDIO DE LA TRANSFERENCIA DE CALOR Y MASA EN CABINAS DE REFRIGERACIÓN

Jusvy Jeraldi García López^a, Jorge Arturo Ayala Alfaro^b

^a Licenciatura en Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Noria Alta S/N, Guanajuato, Gto, 36050, México. jusvy2808@hotmail.com

^b Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Noria Alta S/N, Guanajuato, Gto, 36050, México. jusvy2808@hotmail.com

Resumen

En el posterior trabajo se presenta un estudio numérico para la determinación de transferencia de masa y energía en un espacio refrigerado, utilizando la dinámica de fluidos computacional (CFD). Se simuló una cabina de refrigeración en la cual se consideraron escenarios donde el aire contenía un porcentaje de humedad inicial (vapor de agua) de 50% hasta 90% a condiciones iniciales de 299.29 K y 102.73 KPa. Se estudió el comportamiento de la temperatura, humedad y de fracción masa en estado transitorio en un periodo de 45 horas, considerando los periodos de ON y OFF del refrigerador. Con ayuda de programación de una función definida por el usuario (UDF), se cuantificó el porcentaje de agua condensada y energía requerida debida a la condensación. Al igual que las temperaturas, fueron dadas por una función polinomial. La energía que consumió el refrigerador con la finalidad de condensar el agua para llegar a 0.0065 fracción masa dentro de la cabina tiene un rango de 7 a 20% con humedades iniciales de 50 y 90 % respectivamente a una temperatura mínima de 281 K.

Palabras clave: *Ecuación de energía; Transferencia de especies; Condensación de agua, Fracción masa.*

Introducción

La transferencia de calor de regiones de temperatura inferior a regiones de temperaturas más altas se llama refrigeración. Los refrigeradores son dispositivos cíclicos y los fluidos de trabajo utilizados en los ciclos de refrigeración se llaman refrigerantes [1]. Los ciclos de refrigeración más usados son los de compresión mecánica de vapor, pero estos requieren bastante potencia eléctrica que en ocasiones no está disponible y su funcionamiento es ruidoso por culpa del compresor [2]. Otra forma de refrigeración que tiene un atractivo económico cuando se tiene una fuente de energía térmica barata a una temperatura de 100 a 200°C, es la refrigeración por absorción [1].

Sistemas de Refrigeración por Absorción.

Los sistemas de refrigeración por absorción implican la absorción de un refrigerante por un medio de transporte. El sistema de refrigeración por absorción más utilizado es el sistema de amoníaco-agua, donde el amoníaco (NH₃) sirve como el refrigerante y el agua (H₂O) es el medio de transporte.

Otros sistemas de refrigeración por absorción son los de agua-bromuro de litio y el de agua-cloruro de litio, en los que el agua sirve como refrigerante.

La máquina de refrigeración de amoníaco-agua fue patentada por el francés Ferdinand Carre en 1859. El sistema de refrigeración por absorción es muy similar al sistema por compresión de vapor, excepto que el compresor se ha sustituido por un complicado mecanismo de absorción compuesto por un absorbedor, una bomba, un generador, un regenerador, una válvula y un rectificador.

Una vez que la presión del NH_3 es elevada por los componentes en la caja (esto es lo único que tienen que hacer), se enfría y se condensa en el condensador, liberando calor hacia los alrededores; se estrangula hasta la presión del evaporador y absorbe calor del espacio refrigerado cuando fluye a través del evaporador. [1]

El refrigerador es uno de los electrodomésticos que más consume energía dentro del hogar, al usarlo 9 hrs al día en un mes tenemos un total de 270 hrs y un consumo de 135 kWh; mientras que una televisión usándola 6 horas diarias en un mes realiza un consumo de 25.2 kWh. [3]

La energía que consume el refrigerador no solo es aprovechada en enfriar el espacio de la cabina, sino también en condensar el vapor de agua que se encuentra en el aire.

Para cuantificar transferencia de energía y masa dentro del espacio refrigerado, se usa un modelo numérico CFD y así calcular la energía consumida en condensar el agua, la cual no se aprovecha en enfriar el espacio.

Metodología

El estudio de transferencia de energía y masa dentro de una cabina refrigerada, se utilizó un modelo numérico en el cual se cuantifico las temperaturas, la fracción masa, la humedad y la masa de condensación del agua dentro de la cabina, al ingresar el aire con diferentes porcentajes de humedad: 50%, 60%, 70%, 80% y 90%. Para realizar el estudio nos apoyamos del programa Ansys- Fluent®.

Se activaron la ecuación de energía (Ecuación 1), de continuidad (Ecuación 2) y transporte de especies (Ecuación 3).

$$\rho c \left(\frac{\partial T}{\partial t} + u_x \frac{\partial T}{\partial x} + u_y \frac{\partial T}{\partial y} + u_z \frac{\partial T}{\partial z} \right) = k \left(\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right) \quad (1)$$

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \rho \left(\frac{\partial u_x}{\partial x} + \frac{\partial u_y}{\partial y} + \frac{\partial u_z}{\partial z} \right) = 0 \quad (2)$$

$$\frac{\partial(\rho Y_i)}{\partial t} + \nabla(\rho \vec{v} Y_i) \quad (3)$$

La simulación se consideró Flujo laminar, estado transitorio, un coeficiente de transferencia en las paredes de la cabina de $0.2221 \text{ w/m}^2\text{K}$, gases ideales al aire y al vapor de agua, puesto que estos se encuentran a baja presión y temperatura.

Para las condiciones de frontera se utilizó una UDF en programación C para poder cuantificar la condensación del vapor de agua sobre el evaporado (Figura 1a) [4], ya que Fluent tiene una limitación y no cuenta con un modelo de condensación. La UDF le indica al programa que al llegar el aire a un 100% de saturación, el vapor de agua empieza a condensar.

Las temperaturas del evaporador y las paredes del refrigerador (Figura 1a), se hizo uso de polinomios, los cuales fueron obtenidos de forma experimental, realizadas previamente y se observan en la Ecuación 5 para el evaporador y la Ecuación 6 para las paredes.

$T_{eva}(t) = -1.8908 \times 10^{-22} \cdot t^6 + 8.3804 \times 10^{-16} \cdot t^5 - 1.4017 \times 10^{-12} \cdot t^4 + 1.0704 \times 10^{-9} \cdot t^3 - 3.2861 \times 10^{-6} \cdot t^2 - 8.8539 \times 10^{-4} \cdot t + 2.9929 \times 10^2$	$t \leq 9,000 \text{ s}$
$T_{eva}(t) = -2.3278 \times 10^{-14} \cdot t^3 + 2.6143 \times 10^{-09} \cdot t^2 - 1.5390 \times 10^{-04} \cdot t + 2.8107 \times 10^{02}$	$9,000 \text{ s} < t \leq 69,900 \text{ s}$
$T_{eva}(t) = -1.1442 \times 10^{-21} \cdot t^6 + 5.1680 \times 10^{-16} \cdot t^5 - 9.2912 \times 10^{-11} \cdot t^4 + 8.3069 \times 10^{-06} \cdot t^3 - 3.6903 \times 10^{-01} \cdot t + 6.7871 \times 10^{03}$	$69,900 \text{ s} < t \leq 106,800 \text{ s}$
$T_{eva}(t) = 5.9253 \times 10^{-19} \cdot t^4 - 2.7688 \times 10^{-13} \cdot t^3 + 4.6587 \times 10^{-08} \cdot t^2 - 3.3816 \times 10^{-03} \cdot t + 3.6942 \times 10^{02}$	$106,800 \text{ s} < t \leq 158,400 \text{ s}$
$T_{eva}(t) = 6.1450 \times 10^{-19} \cdot t^4 - 4.5192 \times 10^{-12} \cdot t^3 + 1.2391 \times 10^{-06} \cdot t^2 - 1.5001 \times 10^{-01} \cdot t + 7.0395 \times 10^{02}$	$158,400 \text{ s} < t \leq 198,900 \text{ s}$
$T_{eva}(t) = -1.1205 \times 10^{-03} \cdot t + 3.0205 \times 10^{02}$	$198900 < t \leq 241500 \text{ s}$
(5)	
$T_{omb}(t) = -8.9474 \times 10^{-20} \cdot t^6 + 2.7350 \times 10^{-22} \cdot t^5 - 3.1630 \times 10^{-12} \cdot t^4 + 1.7725 \times 10^{-12} \cdot t^3 - 5.0942 \times 10^{-09} \cdot t^2 + 6.4331 \times 10^{-04} \cdot t + 2.9884 \times 10^{02}$	$0 < t \leq 60000 \text{ s}$
$T_{omb}(t) = -3.6698 \times 10^{-10} \cdot t^6 + 1.9555 \times 10^{-22} \cdot t^5 - 3.9874 \times 10^{-12} \cdot t^4 + 3.7665 \times 10^{-12} \cdot t^3 - 1.4895 \times 10^{-07} \cdot t^2 + 5.6873 \times 10^{-04} \cdot t + 3.6768 \times 10^2$	$60000 \text{ s} < t \leq 140100 \text{ s}$
$T_{omb}(t) = -1.87658 \times 10^{-22} \cdot t^6 + 2.04051 \times 10^{-21} \cdot t^5 - 9.16825 \times 10^{-10} \cdot t^4 + 2.17771 \times 10^{-10} \cdot t^3 - 2.88283 \times 10^{-09} \cdot t^2 + 2.01601 \cdot t - 5.78769 \times 10^4$	$140100 \text{ s} < t \leq 225000 \text{ s}$
(6)	

Para obtener el porcentaje de humedad en el programa Fluent se ingresa con la fracción masa, la cual se calculó con ayuda de la Ecuación 7. Donde: w es la humedad específica, P es la presión total, P_v es la presión de vapor la cual se puede sustituir por la presión de saturación a esa misma temperatura, debido a las condiciones en las que se encuentra el aire.

$$\omega = \frac{0.622P_v}{P - P_v} \quad (7)$$

Donde $P_v = \% \text{Humedad} * P_s$

Para poder obtener la energía consumida en condensar el agua, primero tenemos que conocer la cantidad de agua condensada y para esto se utiliza la Ecuación 8. En donde m_{agua} es la masa del agua y Y son las fracciones de masa inicial y final.

$$m_{\text{condensado}} = m_{\text{agua}}(Y_{\text{Inicial}} - Y_{\text{Final}}) \quad (8)$$

Teniendo la masa del agua condensada se utiliza la Ecuación 9 para conocer la energía consumida al condensar el vapor de agua. Posteriormente se obtiene la energía total consumida por el refrigerador con la Ecuación 10 y así se calcula el porcentaje de energía consumida por la condensación con la Ecuación 11.

$$E_{\text{Cond}} = m_{\text{Agua}}(h_{\text{Inicial}} - h_{\text{Final}}) \quad (9)$$

$$E_T = E_{\text{Cond}} + E_{\text{Aire}} \quad (10)$$

Donde $E_{\text{Aire}} = m_{\text{Aire}}(h_{\text{Inicial}} - h_{\text{Final}})$

$$\%E = \frac{E_{\text{Cond}}}{E_T} * 100 \quad (11)$$

Se llevó a cabo la realización de la geometría con dimensiones internas de 43.5 x 28 x 36 cm (Figura 1a), posteriormente se malló con un total de 1950 nodos y 1512 elementos (Figura 1b)



Figura 1. a) Geometría del Refrigerador, b) Mallado del Refrigerador

Resultados

En la simulación: se agregó el poliuretano como material (material con el cual se aíslan las paredes del refrigerador), se cargó la UDF de forma interpretada para la temperatura de las paredes y evaporador, y para la transferencia de masa en el evaporador. Se llevó a cabo la realización de la simulación en un periodo de 45 hrs con ciclos de ON y OFF.

Se tomó de ejemplo para reportar el aire a una temperatura inicial de 299.29 K, 102.73 kPa (presión promedio en Gto) [5] y humedad inicial de 80%. En la simulación se monitoreo la fracción masa (Figura 2), humedad (Figura 3) y la temperatura dentro de la cabina de refrigeración (Figura 4) al haber transcurrido un periodo de 45 horas.

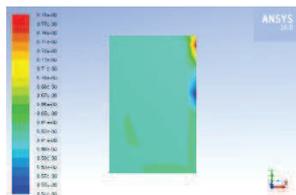


Figura 2. Contornos de Fracción masa en el plano perpendicular al evaporador al transcurrir 45 hrs.

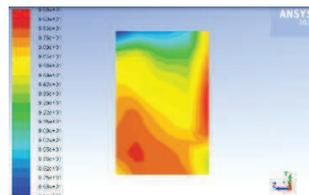


Figura 3. Contornos de Humedad en el plano perpendicular al evaporador al transcurrir 45 hrs.

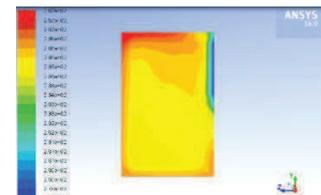


Figura 4. Contornos de Temperatura en el plano perpendicular al evaporador al transcurrir 45 hrs.

Para la verificación de los resultados se realizó una gráfica comparativa con los valores de las temperaturas medidas experimentalmente y las temperaturas obtenidas del simulador (Figura 5), con lo cual se obtuvo un porcentaje de error relativo promedio de 0.94% entre la experimental con respecto a la del simulador.

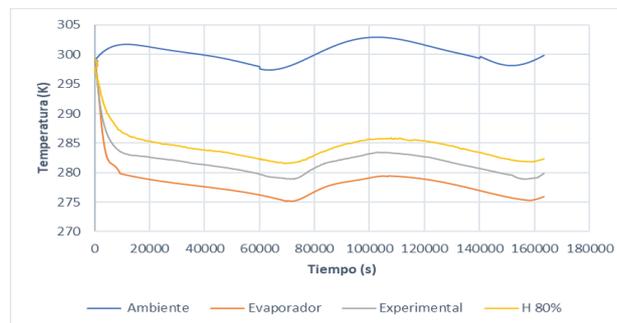


Figura 5. Gráfica comparativa de temperaturas entre las experimentales y las obtenidas en el simulador.

En la gráfica de la temperatura se monitorearon los ciclos de ON y OFF en los cuales la temperatura baja a 281 K, el refrigerador se apaga, comienza a elevarse la temperatura y al llegar a 285 K se vuelve a encender para que la temperatura vuelva a descender. Al igual que en la

temperatura se monitorearon la fracción masa (Figura 6) se observó que tenía un comportamiento parecido a la de la temperatura, y la fracción más baja reportada fue de 0.0065, y de la humedad (Figura 7) que al bajar la temperatura esta aumenta, ya que a menor temperatura la presión de saturación es menor.

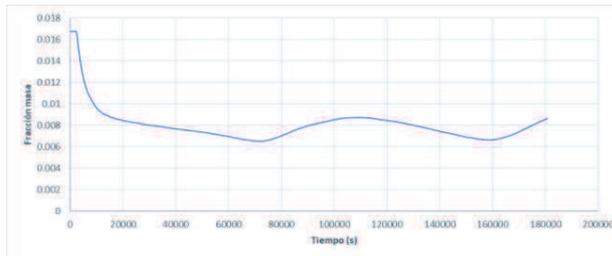


Figura 6. Gráfica de la Fracción masa con una humedad inicial de 80%

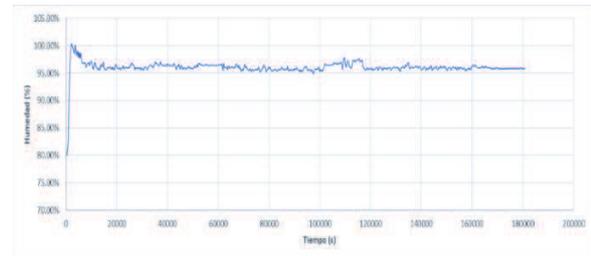


Figura 7. Gráfica de Humedad con una humedad inicial de 80%

En la Tabla 1 se muestra el concentrado de resultados obtenidos en el simulador con los diferentes porcentajes de humedad y la energía que se requiere para condensar el agua. Sin importar la humedad que tenga inicialmente la cabina de refrigeración, la fracción masa siempre llega a 0.0065, una temperatura mínima de 281 K y a una humedad de casi el 100%. La energía que se consume en enfriar el aire que se encuentra dentro de la cabina es aproximadamente de 513 KJ y el aumento de energía consumida es consecuencia de una mayor condensación del vapor de agua.

Tabla 1. Concentrado de resultados a las diferentes Humedades

Porcentaje de Humedad inicial	Humedad máxima alcanzada (%)	Fracción masa mínima	Temperatura mínima (K)	Consumo de Energía por condensación (%)
50 %	98.52	0.00655	281.55	7.34
60 %	99.57	0.00654	281.66	10.97
70 %	100.96	0.00654	281.64	50.40
80 %	100.10	0.00654	281.59	17.51
90 %	100.80	0.00654	281.61	20.45

Conclusiones

Un refrigerador de absorción consume en promedio 513 KJ en enfriar el aire que se encuentra en la cabina de refrigeración considerando 0% de humedad para llevar de una temperatura de 299 K a 281 K, sin embargo, puede aumentar 40.8 KJ si el aire tiene una humedad de 50% hasta 132 KJ si tiene 90% de humedad, es decir, entre mayor es el porcentaje de humedad, el refrigerador consume mayor energía a causa de la energía que se requiere para condensar el agua, debido a que las moléculas de gas que se condensan entregan energía cinética a la superficie sobre la que condensan, por lo que este es un proceso de calentamiento. Así mismo se obtuvieron los comportamientos de la temperatura, humedad y fracción masa al operarlo durante un periodo de 45 hrs, llevándose a cabo a través de simulaciones numéricas CFD. Se pudo observar que la

curva de la fracción masa tiene un comportamiento similar a la de la temperatura, mientras que la humedad se eleva hasta casi llegar al 100% y oscila entre 95 y 100%.

Bibliografía

- [1] Yunus A., Cengel (2006). Termodinámica (5ta ed.) Mexico, D.F: McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.
- [2] Martínez, Isidoro, Termodinámica básica y aplicada. Madrid: DOSSAT, S.A
- [3] Calderón, R. vivienda net-zero en Mexicali., B.C, un camino hacia las políticas energéticas en desarrollos habitacionales sustentables. Recuperado de https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/12828/06_Calderon_Arredondo_Cardenas_Mayagoitia.pdf?sequence=1&isAllowed=y. (18/07/18)
- [4] Jiménez Z, Alfredo, Estudio de la tasa de formación de condensado en el evaporador de un sistema de acondicionamiento de aire mediante dinámica de fluidos computacional.(Diciembre 2017), Universidad autónoma de Nuevo León
- [5] Tiempo y temperatura. Recuperado de <http://tiempoytemperatura.es/mexico/guanajuato.html#por-horas> (2/07/18)

EVALUACIÓN DE MATERIALES POLISILOXANOS Y SÍLICES FUNCIONALIZADAS CON PROPIEDADES CONDUCTORAS DE IONES PARA SU APLICACIÓN EN SISTEMAS DE ALMACENAMIENTO DE ENERGÍA

Paulina Palafox González ^{a*}, Guillermo Manuel González Guerra ^a, Martín Alejandro Alatorre Ordaz ^a

^a División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N,
Guanajuato, Guanajuato, C.P. 36050, MÉXICO.
p.palafoxgonzalez@ugto.mx

Resumen

Con las problemáticas ambientales actuales, se busca la producción de energía sin el uso de los combustibles fósiles. Una alternativa muy explorada es el uso de celdas de combustible como sistemas de almacenamiento de energía. El foco de las celdas de combustible es una membrana intercambiadora de iones, la más utilizada en la actualidad es el Nafión®, la cual presenta desventajas debido a su alto costo y su fácil degradación. En el presente trabajo se realiza una evaluación de materiales polisiloxanos y sílices funcionalizadas con propiedades conductoras de iones, sintetizados anteriormente en el grupo de trabajo [1,2], a través de depósitos en membranas comerciales de Nafión®; las cuales se evalúan para su posible uso en celdas de combustible. La evaluación de las propiedades conductoras se realizó por medio de la titulación de las membranas con depósitos para el cálculo de la Capacidad de Intercambio Iónico (IEC, por sus siglas en inglés). De igual forma, los materiales y depósitos se caracterizaron por microscopía óptica, SEM y por espectrometría de dispersión de rayos X. Con estos resultados se realiza una comparación de la capacidad de intercambio iónico del material de Nafión®, con respecto a los materiales estudiados.

Palabras clave: PEMFC, Polisiloxanos, Sílice funcionalizada, IEC.

Introducción

El problema de la producción energética surge principalmente del uso de los combustibles fósiles, un recurso no renovable. Entre las consecuencias de su uso se encuentra el aumento de los gases de efecto invernadero en la atmósfera, debido a la quema dichos combustibles como son la gasolina, el diésel y el gas, que emiten dióxido de carbono [3].

Ante esta preocupación y la necesidad de reducir los impactos ambientales negativos han surgido alternativas de energías renovables, entre las que se encuentran las llamadas Celdas de Combustible (Fuel Cells) como una opción para la obtención y suministro de energía. Las celdas de combustible tienen su primera aparición en el siglo XIX, pero el desarrollo de materiales con propiedades para su aplicación en las FC comenzó a finales del siglo XX [4]. Existen diferentes tipos de FC según el combustible, el electrolito y el intervalo de temperatura de operación. Las más destacadas son celdas de membrana de intercambio protónico o PEMFC (Proton Exchange Membrane Fuel Cell), ya que tienen una mayor versatilidad y mayores aplicaciones.

Una celda de combustible de tipo PEM se basa en reacciones química de oxidación-reducción [1] y tiene su sitio central en una membrana intercambiadora de iones, de la cual se espera que sea

capaz de conducir protones y separar el combustible del oxidante [4]. El material más frecuentemente utilizado para estos dispositivos es el Nafión®. El gran uso del Nafión® se debe a sus propiedades electroquímicas, su estabilidad térmica y la presencia de sitios ácidos gracias al grupo ácido sulfónico [5], sin embargo, este material ha presentado algunas desventajas por su baja estabilidad a baja humedad y a temperaturas altas (80°C), su rápido desgaste y su alto costo [6].

El desarrollo de nuevos materiales capaces de mejorar o de sustituir al Nafión® ha sido un área de investigación laboriosa para el progreso de las PEMFC. Idealmente, estos materiales deben tener alta conductividad de protones, estabilidad térmica y química y ser de bajo costo, entre otras características [1]. La incorporación de materiales inorgánicos hidrofóbicos a la membrana de Nafión® ha mejorado su capacidad de conductividad a mayores temperaturas, aproximadamente 130°C, y con menor humedad [7,8].

Por las razones antes mencionadas, el objetivo de este trabajo es estudiar el comportamiento de materiales polisiloxanos y sílices funcionalizadas por medio de depósitos a membranas comerciales de Nafión para su posterior titulación y cálculo de su IEC. Los valores de IEC permiten conocer la capacidad y suficiencia que tiene el material tratado para poder intercambiar un ion por otro en un medio acuoso [5], característica crucial para un posible uso dentro de una PEMFC.

En el grupo de trabajo se han desarrollado los antes mencionados polisiloxanos y sílices funcionalizadas. El polisiloxano perarilado funcionalizado, sintetizado a partir de un proceso de policondesación e hidrólisis, se basa en grupos fenilos unidos a silicio funcionalizado, generando una estructura mediante el enlace siloxano (Si-O-Si). Las ventajas del uso de polisiloxanos son su alta estabilidad térmica, resistencia mecánica, sus propiedades dieléctricas e hidrofóbicas, en el grupo de trabajo se obtuvo dicho polisiloxano con características de transporte de protones cercanas al Nafión® [1]. Se trabajó con diferentes polímeros, un polisiloxano como la parte hidrofóbica (PS), del cual se espera una reducción del IEC al no contener el grupo sulfónico; y un polisiloxano sulfonado (PSS) como la parte hidrofílica, esperando de este un aumento de IEC al contener dicho grupo. Por otra parte, las sílices son materiales híbridos orgánico-inorgánico que se basan en una matriz de un material cerámico inorgánico, en este caso sílice, con fragmentos orgánicos unidos de forma covalente por la técnica sol-gel. También, se desarrolló en el grupo de trabajo la metodología sol-gel no acuosa para obtener sílices porosas funcionalizadas, denominadas UGM-fx (Universidad de Guanajuato Materiales) a partir de la ceniza de cáscara de arroz debido a que el 90% de su ceniza está compuesta por sílice. Los grupos funcionales incorporados a la sílice son ácido sulfónico (-SO₃H), ácido carboxílico (-COOH) y ácido fosfórico (-PO(OH)₂), confiriendo así propiedades ácidas de Bronsted-Lowry, capaces de lograr la conducción protónica [2].

Metodología

La membrana utilizada fue Nafión®-117, ya que esta es sensible a la suciedad y a la manipulación, causando que no funcione de manera correcta, debe pasar por un proceso de limpieza y activación. Se cortaron cuadros de 2cmx2cm de Nafión® de manera cuidadosa y se le

dió el siguiente tratamiento en un vaso de precipitados: 1 hora en H₂SO₄ 0.5M a 80 °C con agitación, 1 hora en H₂O destilada a 80 °C con agitación y 1 hora en H₂O₂ al 3%vol a 80 °C con agitación. Finalmente se almacenaron en agua destilada.

Para realizar la disolución de los polisiloxanos se probó en dos diferentes disolventes: Cloroformo (pureza de 99.8%, Karal) y Acetona (grado purificado, Karal). Obteniendo una mejor solubilidad en Cloroformo. Se realizó el anterior análisis con la finalidad de que a la hora de ser incorporados a la membrana de Nafión® se obtenga una estructura homogénea. Se procedió con las disoluciones de los polisiloxanos al 5% de peso en su respectivo disolvente.

En el caso de la disolución de las sílices se utilizó Acetona y se prepararon al 5%. Debido a que no se ha encontrado un buen disolvente para la sílice, las soluciones se llevaron a un baño de ultrasonido por 1 hora con la finalidad de hacer una suspensión y que la solución sea homogénea para su posterior incorporación al Nafión®.

Sobre las membranas de Nafión® se depositaron 250μL de las soluciones de polisiloxanos como de las sílices. Se dejaron secar por 30 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se pesaron.

Para llevar a cabo la titulación ácido-base, las membranas se introdujeron en una disolución NaCl (pureza 99.0%, Karal) con concentración 2M por 24 horas, con la finalidad de que se dé un intercambio de protones con Na⁺. Esta disolución se valoró con NaOH (pureza 97.0%, Karal) con una concentración de 0.1M. Se realizó el mismo procedimiento para el caso una membrana de Nafión® sin depósito con el objetivo de tener un control de comparación.

Se elaboraron otros depósitos, tanto de polímeros como de sílices para su posterior caracterización por microscopía óptica, SEM y EDS.

Resultados

Con los datos obtenidos se calculó la capacidad de intercambio iónico por medio de la fórmula (1):

$$IEC = \frac{V_{NaOH} * [NaOH]}{Peso\ seco} \quad (1)$$

En la tabla 1 se muestra el calculo de IEC para una membrana de Nafión® sin depósito como control.

Tabla 1. IEC de Nafión®

	PESO (g)	VOLUMEN NaOH (mL)	IEC (mmol/g)
Nafión®	0.080	0.46	0.57

En la tabla 2 se reportan los valores obtenidos de IEC para las membranas con depósitos de polisiloxanos.

Tabla 2. IEC de Polisiloxanos

POLÍMERO	PESO (g)	VOLUMEN NaOH (mL)	IEC (mmol/g)
PSS	0.109	0.68	0.62
PS	0.130	0.58	0.44

Se observa que en el caso de los depósitos con polisiloxano sulfonados (PSS) se obtuvo una capacidad de intercambio iónico mayor que la obtenida por la membrana de Nafión® por sí sola. En el caso del polisiloxano sin sulfonar (PS), como se esperaba, el valor de IEC es menor ya que forma una película densa sobre la membrana de Nafión® y no permite que esta realice el intercambio.

En la tabla 3 se reportan los valores obtenidos de IEC para las membranas con depósitos de sílices funcionalizadas.

Tabla 3. IEC de Sílices funcionalizadas

SÍLICE	PESO (g)	VOLUMEN NaOH (mL)	IEC (mmol/g)
-SO ₃ H	0.062	0.46	0.74
-COOH	0.079	0.48	0.61
-PO(OH) ₂	0.059	0.40	0.68

Como se muestra en los resultados, los valores de IEC para los depósitos con sílice fueron todos mayores al IEC del Nafión. Esto debido a los grupos funcionales que presentan las sílices, permiten un intercambio mayor.

En figura 1 y 2 se muestran las microscopías ópticas de polisiloxanos y sílices.

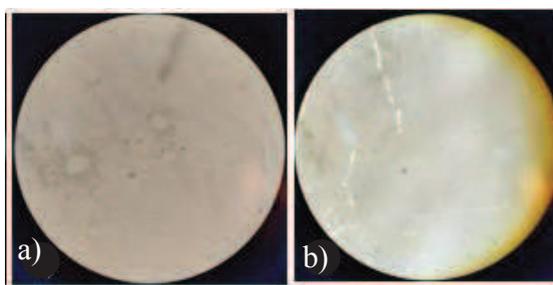


Figura 1. Microscopía óptica de polisiloxanos a) PSS, b) PS.

En la figura 1 se observa que las microscopías ópticas de los polisiloxanos en general muestran una superficie homogénea. Se observa que el PS tiene mayor impregnación en la membrana de Nafión®, formando una película densa sobre él.

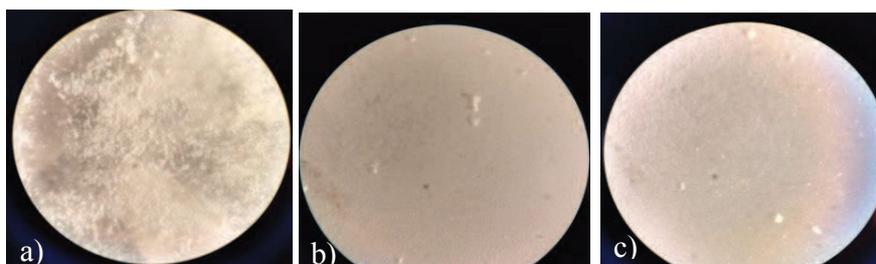


Figura 2. Microscopía óptica de sílices funcionalizadas a) -SO₃H, b) -COOH, c) -PO(OH)₂

En la figura 2 se muestran las microscopías ópticas de las sílices funcionalizadas, se observa una mayor homogeneidad en los grupos de ácido carbónico y ácido fosfórico. El ácido sulfónico mostró menor homogeneidad en su superficie, no obstante, el valor de IEC para esta sílice es el mayor de los obtenidos.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de microscopia SEM de los polisiloxanos, para tomar dichas micrografías se hicieron depósitos en placas de acero inoxidable, con la finalidad de observar si los materiales pueden formar películas por si solos.

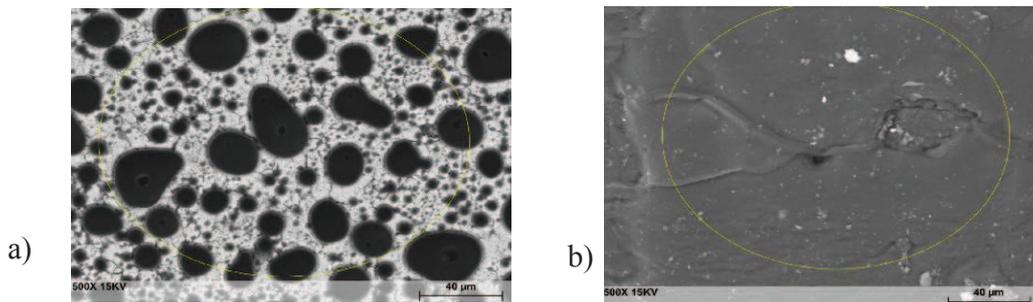


Figura 3. SEM de polisiloxanos. a) PSS en cloroformo, b) PS en cloroformo.

Como se puede observar en la figura 3 el polisiloxano sin sulfonar presenta características interesantes al momento de formar películas, ya que se aprecia una estructura densa y homogénea. Por su parte, el polisiloxano sulfonado presenta grietas al formar la película y se observa una estructura no homogénea, donde se forman micelas, esto puede ser debido a las propiedades hidrofóbicas (polisiloxano) e hidrofílicas (grupo sulfónico) de este polímero.

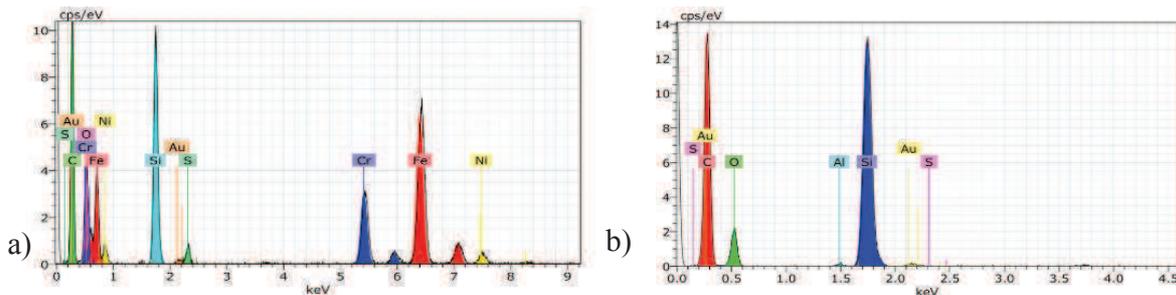


Figura 4. EDS de polisiloxanos. a) PSS, b) PS.

En la figura 4 se presentan los análisis EDS de los materiales PSS y PS, para corroborar la composición de los materiales antes mencionados, en el polisiloxano sulfonado se encontró mayor cantidad de azufre y oxígeno proveniente del grupo sulfónico.

También se presenta la micrografía SEM y el análisis EDS de la sílice funcionalizada con grupos sulfónicos, la cual es la que presento mayor conductividad en los depósitos.

En la figura 5 se puede observar que los depósitos con sílice forman algunas grietas, lo que ocasiona que el material sea poco estable mecánicamente en los depósitos y no se impregne totalmente en la membrana de Nafión®, de igual manera se corrobora en el análisis EDS su composición base.

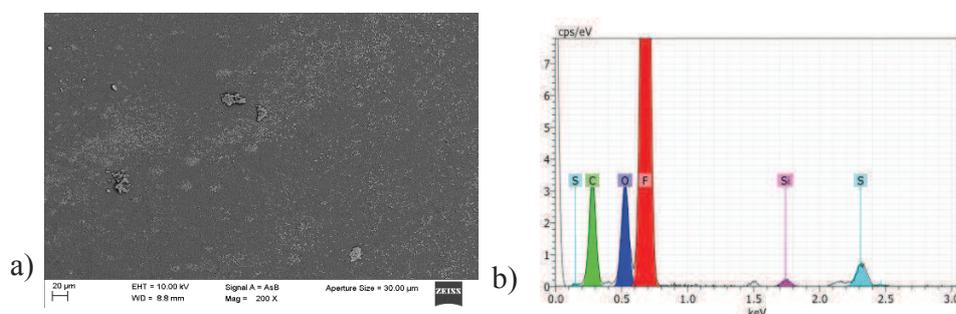


Figura 5. Análisis de sílice con grupos sulfónicos. a) SEM, b) EDS

Conclusiones

En el presente proyecto se logró realizar una comparación de dos materiales con propiedades conductoras, así como una comparación con el Nafión®. Se observó que al hacer depósitos de los nuevos materiales en las membranas comerciales se mejora su IEC. Asimismo, se logró observar que ambos materiales polisiloxano presentan características interesantes al momento de formar películas, al no contener el grupo sulfónico se presenta como una capa densa y al contar con dicho grupo se presenta una estructura no homogénea. Se deja como perspectiva la posible aplicación de los materiales como componentes en celdas de combustible tipo PEM, esto debido a sus propiedades conductoras y de formación de films. Igualmente, queda como perspectiva un estudio detallado de las características que presentan estos materiales sintetizados recientemente.

Bibliografía

- [1] González Guerra Guillermo Manuel, 2015, Tesis de Licenciatura, Guanajuato, Gto., 6-50, 93, 103.
- [2] Rodríguez Garnica Delia Paulina, 2015, Documento Predoctoral, Guanajuato, Gto., 5-10, 20-33.
- [3] Herrán Claudia, 2012, El cambio climático y sus consecuencias para América Latina. Proyecto Energía y Clima de la Fundación Friedrich Ebert-FES, Revista de la Bolsa de Comercio de Rosario, 6-7.
- [4] Whittingham, M. S., Savinell R. F., Zawodzinski T., 2004, Introduction: batteries and fuel cells, Chem. Rev., 2004, 104 (10), 4243–4244.
- [5] Martos Gómez Ana M^a, 2015, Tesis Doctoral, Leganés, Madrid, XIII, 28.
- [6] Pereira, F., Vallé, K., Belleville, P., Morin, A., Lambert, S., & Sanchez, C., 2008, Advanced mesostructured hybrid silica–nafion membranes for high-performance PEM fuel cell. Chemistry of Materials, 20(5), 1710-1718
- [7] Guzmán C., Alvarez A., Ledesma García J., Duron Torres S.M., Arriaga L.G., 2011, Composite Membranes Based on SBA – 15 and SBA – 16 Evaluated at High Temperature and Low Relative Humidity Fuel Cell Conditions, Int. J. Electrochem. Sci., Vol. 6, 4787-4797
- [8] Barclay Satterfield M., Majsztrik Paul W., Ota Hitoshi, Benziger Jay B., Bocarsly Andrew B., 2006, Mechanical Properties of Nafion and Titania/Nafion Composite Membranes for Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cells, Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics, Vol. 44, 2327–2345.

EVALUACIÓN FITOTOXICOLÓGICA DE NANOZEOLITA LTA

Soledad del Rosario Cabrera Fajardo^a, Adriana Medina Ramírez^b, Rosalba Fuentes Ramírez^c

^a Departamento de ingeniería química, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Guanajuato, 36050, México. sdr.cabrerafajardo@ugto.mx

^b Departamento de ingeniería química, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Guanajuato, 36050, México. adriana.medina@ugto.mx

^c Departamento de ingeniería química, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Guanajuato, 36050, México. fuentes_ros@hotmail.com

Resumen

Las zeolitas son materiales altamente utilizados en diferentes áreas enfocadas en mejorar la vida. La agricultura no es la excepción y actualmente, hace uso de zeolitas para mejorar su producción y calidad, pretendiendo satisfacer la demanda, no obstante, esta crece día con día. Ahí radica la importancia de innovar. La investigación consiste en hacer uso de nanomateriales (nanozeolita LTA) intercambiada con micro/macronutrientes necesarios para el buen desarrollo de una planta. El material zeolítico fue caracterizado mediante difracción de rayos X y microscopía electrónica de barrido. Se determinó el efecto de cada nanozeolita intercambiada en la germinación y crecimiento de diferentes semillas (chile, jitomate, lechuga, acelga, cilantro betabel y rábano). Los resultados mostraron que el efecto adverso de las nanopartículas fue significativo en el porcentaje de germinación, la tasa de germinación, la longitud de la raíz, la expansión foliar y del grosor de las raíces para las semillas de acelga y lechuga. Por otro lado, las semillas de chile, rábano y de jitomate se vieron positivamente favorecidas con el uso de las zeolitas incrementando incluso en 200% (chile), 150% (rábano) su crecimiento y en un 135%(jitomate) su germinación, por lo que las nanozeolitas podrían ser utilizadas como fertilizantes para estos cultivos.

Palabras clave: *Nanozeolitas intercambiadas; agricultura; nutrientes.*

Introducción

Generalidades de las zeolitas y de los nutrientes

Las zeolitas son una clase de materiales microporosos cristalinos con poros bien definidos y cavidades de dimensiones moleculares [1], constituidos principalmente de átomos de Si (silicio) y Al (aluminio), llamados átomos T, cada uno de los cuales está unido de forma tetraédrica a los átomos de O. Debido a que este tipo de materiales son cristalinos, presentan distribuciones de tamaño de poro estrecha. Considerando este aspecto, las zeolitas presentan muchas aplicaciones donde el tamaño y la selectividad de forma son indispensables, tales como catálisis, intercambio iónico y adsorción [2]. A escala nanométrica (<100nm) los cristales desarrollan una gran área superficial externa donde se pueden localizar hasta el 30% de sus átomos T. La disminución en el tamaño de los cristales de una zeolita conduce a un considerable incremento de su superficie externa y de las propiedades asociadas. Algunas propiedades excepcionales de las zeolitas a escala nanométrica son: mayor área superficial externa, estructuras jerárquicas, propiedades de superficie ajustables, una difusión más rápida y morfología de auto-ensamblaje [3]. Las zeolitas

tienen muchas aplicaciones tanto en el mundo científico, de investigación y desarrollo, como en la vida diaria, algunos ejemplos son: materiales ópticos, pinturas, cosméticos, productos farmacéuticos, producción de papel, aplicación anti-microbial, detergentes, electrónica, absorbancia, industria alimenticia, cerámica y catálisis [3].

Tabla 1. Beneficios de las zeolitas en la agricultura

BENEFICIO
Retiene los fertilizantes en la zona de enraizamiento
Previene la lixiviación y volatilización de los fertilizantes
Mejora la capacidad del suelo para retener nutrientes
Reduce costos de irrigación al retener humedad
Agiliza la germinación y crecimiento de las plantas
Se reutiliza las veces que sean necesarias
Menos problemas de acidez, al nivelar el pH del suelo

Nanozeolitas y agricultura

Otra área de aplicación de las zeolitas es la agricultura donde por su alta capacidad de intercambio iónico y su capacidad para absorber humedad, es perfecta para incrementar la eficiencia de los fertilizantes y reducir la lixiviación y volatilización de los nutrientes. En la agricultura se le conoce como el “Fertilizante Inteligente”, ya que libera lentamente los nutrientes y cuando las plantas lo requieren. Esto es porque las plantas se alimentan por medio del intercambio catiónico y la zeolita no libera los nutrientes a menos que haya un intercambio iónico. Los beneficios que se ven al usar zeolita en la agricultura se muestran en la Tabla 1. Actualmente la producción en invernaderos es cada vez más común, y los beneficios que brinda la zeolita son excelentes, a tal grado que existe un sistema de invernaderos a base de zeolitas llamado “Zeoponia”, desarrollado por la NASA [4].

La mayoría de las plantas requieren un total de 16 nutrientes inorgánicos para un crecimiento normal. Estos nutrientes son elementos con funciones específicas y esenciales en el metabolismo de las plantas que se clasifican, según su concentración en la planta y conforme a sus requerimientos para el adecuado crecimiento y reproducción, en dos grupos: macronutrientes y micronutrientes. Los macronutrientes son: carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, potasio, calcio, fósforo, magnesio y azufre. Los micronutrientes son: hierro, cloro, cobre, manganeso, zinc, molibdeno y boro [3,5].

Por lo anterior, en la presente investigación se estudia el efecto de la presencia la de nanozeolita LTA (**Figura 1**) sobre la tasa de germinación y crecimiento de diferentes semillas, tomando como base los conocidos beneficios de las zeolitas, pero potenciándolos en el uso de nutrientes específicos necesarios para el buen desarrollo y crecimiento de una planta.

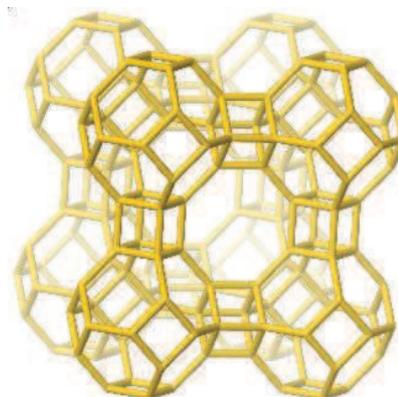


Figura 1. Estructura zeolita LTA

Metodología

Etapa 1: Preparación de nanozeolitas intercambiadas con macro/micronutrientes

Se prepararon soluciones de sales metálicas (CaCl_2 , MnCl_2 y $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) con concentración 5mM para luego adicionar 100mg de la nanozeolita LTA, la solución se mantuvo en agitación suave por 5 horas. Posteriormente la solución resultante fue filtrada y lavada con agua desionizada. El sólido obtenido fue secado en una estufa a 80°C por 24 horas. Se obtuvieron un total de 3 nanozeolitas intercambiadas.

Etapa 2: Evaluación fitotoxicológica de las nanozeolitas

Se prepararon suspensiones de nanozeolitas pesando 10mg de cada una y añadiéndolas, aforando a 100mL, se colocaron en el ultrasonido por 5 min para que se dispersaran de forma homogénea. Para continuar se esterilizaron las semillas a utilizar haciendo lavados con agua desionizada 3 veces, 1 vez con alcohol etílico y otra con agua desionizada. Las semillas evaluadas fueron chile serrano, acelga, cilantro, rábano y jitomate. Finalmente, se colocó un papel filtro en una caja Petri y se pusieron 10 semillas (del mismo tipo) procurando dejar una separación de 1cm entre cada una, se adicionó un volumen de 5mL de la suspensión de la nanozeolita a evaluar y se llevaron a una incubadora a una temperatura de 35°C durante el tiempo establecido para la germinación de cada tipo de semilla. Concluido el tiempo, fueron sacadas, se contabilizó el número de semillas germinadas y se midió la longitud de cada raíz haciendo uso de un Vernier digital.

Etapa 3: Caracterización de nanozeolitas

Las zeolitas se analizaron mediante Difracción de rayos X (DRX) utilizando un difractómetro PANalytical modelo Epyrean con una fuente de radiación de Cu K a ($\lambda=1.5406\text{\AA}$). La morfología se determinó mediante microscopia electrónica de barrido (MEB) con un equipo JEOL® modelo JSV-6610LV.

Resultados

La zeolita LTA presentó morfología cúbica (**Figura 2**). De acuerdo con el análisis de difracción de rayos X, la nanozeolita corresponde a fase cristalina (**Figura 3**).

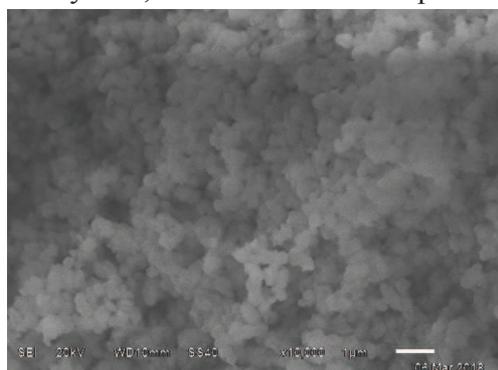


Figura 2. Micrografía de la zeolita LTA

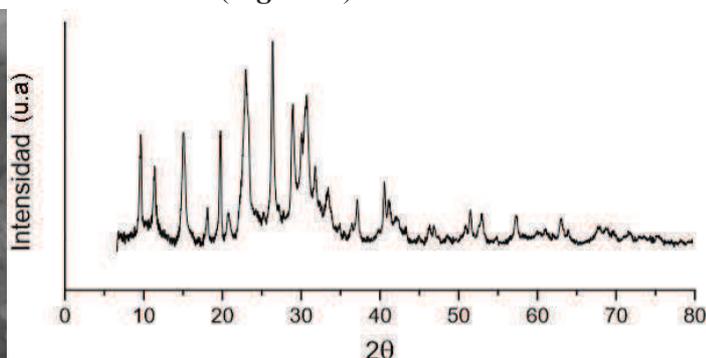


Figura 3. Difractograma de la zeolita LTA

La Tabla 2 muestra los valores de la tasa de germinación (G) y de crecimiento (C), para cada semilla y cada nanozeolita intercambiada y se realizaron los gráficos (Ver **Figura 4** y **5**).

Entre las nanozeolitas intercambiadas, las que resultaron más benéficas para la tasa de germinación fueron LTA+Ca y LTA+Zn, aplicadas a las semillas de chile y cilantro respectivamente. En cuanto a la tasa de crecimiento, Ca+LTA incremento en casi el doble la tasa de la semilla de jitomate, Mn+LTA dio efectos positivos sobre la semilla de chile y Zn+LTA fue benéfica para las semillas de jitomate y rábano. Por otro lado, la toxicidad estuvo presente en las semillas de cilantro, su tasa de germinación fue completamente inhibida al estar en contacto con LTA+Ca y disminuida en un 50% con el nutriente manganeso. La acelga también mostro efectos adversos disminuyendo ambas tasas en presencia del nutriente zinc. Finalmente, en cuanto a su crecimiento, el chile tuvo una inhibición parcial de su crecimiento con el macronutriente calcio.

Tabla 2. Tasas de germinación y de crecimiento

TRATAMIENTO	CHILE		JITOMATE		ACELGA		CILANTRO		RÁBANO	
	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
Ca+LTA	116.67	58.82	62.5	180.89	100	100	0	100	100	94.059
Mn+LTA	100	140.98	87.5	108.657	100	100	50	100	100	137.871
Zn+LTA	100	91.855	87.5	134.62	60	75.782	150	34.936	100	148.391

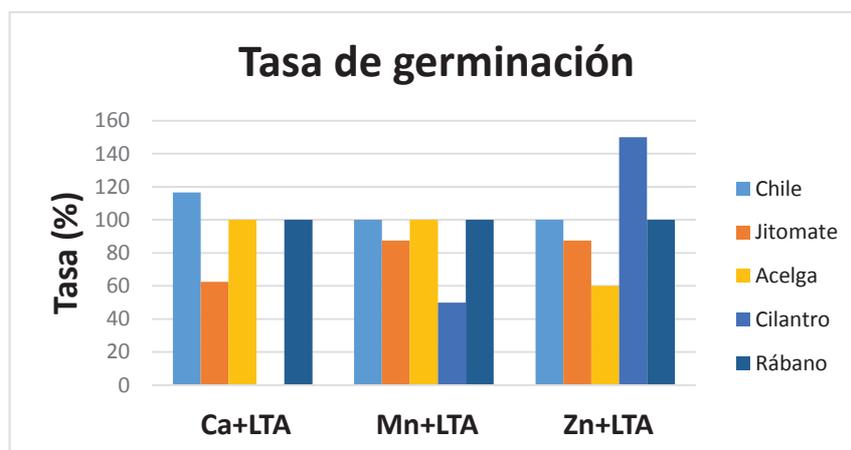


Figura 4. Tasas de germinación de cada semilla con cada nanozeolita intercambiada

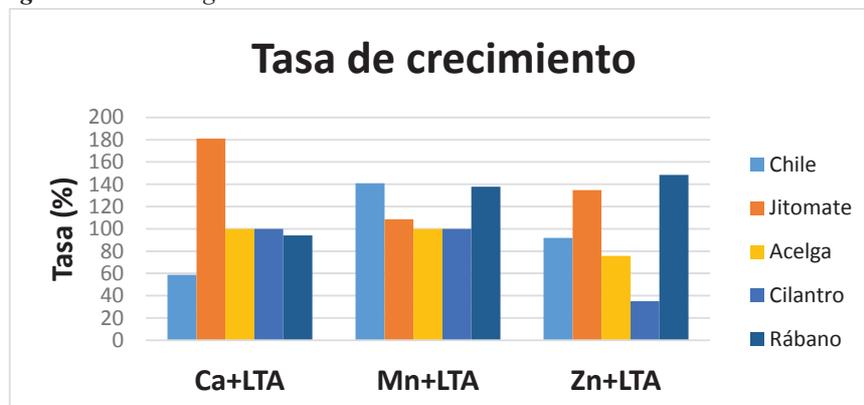


Figura 5. Tasas de crecimiento de cada semilla con cada nanozeolita intercambiada

La disminución e inhibición en la tasa de germinación de las semillas de acelga pueden asociarse al límite de tolerancia que presentan respecto a la concentración del nutriente. Si se sobrepasa este umbral se hacen evidentes los efectos de toxicidad que generan alteraciones fisiológicas negativas sobre el crecimiento y reproducción de las plantas [6]. La favorable germinación y crecimiento de las semillas de jitomate en presencia de las zeolitas modificadas con Zn, coincide con lo reportado por Kosesakal [7], donde observaron que una concentración 1mM de $ZnCl_2$ es necesaria para las condiciones ideales de crecimiento de las plantas de tomate.

Conclusiones

El efecto de la presencia de nanozeolitas con micro y macronutrientes es influenciado por el tipo de nutriente, la estructura de la zeolita y la sensibilidad y tolerancia de la semilla evaluada. A manera general, el zinc fue el nutriente que proporcionó mejores resultados, incrementando ambas tasas en diferentes semillas. El manganeso fue el que menos influyó en las semillas, considerando que ambas tasas casi se mantuvieron iguales al control y finalmente, el calcio fue el macronutriente que dio los resultados más adversos pero también los menos deseados.

De acuerdo con los resultados obtenidos se propone el uso de las 3 nanozeolitas resultantes al intercambiar con los micro/macronutriente para las semillas de jitomate con el fin de mejorar sus tasas de crecimiento. Así mismo, la nanozeolita LTA-Ca, para incrementar la tasa de germinación para el chile. Ambas zeolitas podrían ser materia de análisis variando la concentración del material zeolítico y de los nutrientes de acuerdo con los niveles adecuados requeridos por las plantas.

Bibliografía

- [1] Zhu, J., Liu, Z. & Sukenaga, S. (2018). Ultrafast synthesis of *BEA zeolite without the aid of aging pretreatment. *Microporous and Mesoporous Materials*, volumen (268), 1.
- [2] Corona, O.L., Hernández, F. & Rojas, F. (2009). Propiedades de adsorción en zeolitas con anillos de 8 miembros. *Microporosidad y superficie externa*, volumen(14), 2.
- [3] Kirkby, E. & Römheld, V. (2007). Micronutrientes en la fisiología de las plantas: funciones, absorción y movilidad. *Informaciones agronómicas. International Plant Nutrition Institute*. 1.
- [4] Crilarsa C. A. 11 de julio de 2018. Recuperado de www.crilarsa.com/zeolitas-en-la-agricultura-1.html
- [5] Mintova, S., Gilson, J. & Valtchev, V. (2013). *Advances in nanosized zeolites. Nanoscale*. 5, 6693.
- [6] Casierra, F., Poveda J. (2005). La toxicidad por exceso de Mn y Zn disminuye la producción de materia seca, los pigmentos foliares y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria sp. cv. Camarosa*). *Agronomía Colombiana*, 23(2), pp. 283-289
- [7] Kosesakal T., Ünal MEffe. (2012). Effects of zinc toxicity on seed germination and plant growth in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Fresenius Environmental Bulletin*. 21(2). pp.315-32

OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE ACEITE DE SOYA

Nallely Nava Pérez^{a}, Guillermo Manuel González Guerra^a, Martín Alejandro Alatorre Ordaz^a.*

^a Departamento de Química, Universidad de Guanajuato, Cerro de la Venada SN, Pueblito de Rocha, Guanajuato, Guanajuato, 36040, México. n.navaperez@ugto.mx

Resumen

Los biocombustibles se han vuelto de especial interés en los últimos años debido a la fuerte necesidad de tener una alternativa ecológica a los combustibles fósiles. Un biocombustible con características interesantes es el biodiesel, pues se encuentra en estado líquido y posee propiedades muy similares al aceite diésel derivado del petróleo, pero es obtenido a partir de productos renovables que suelen ser aceites vegetales, las especies más usadas son la soya, el girasol y la palma.

Debido a este interés, el propósito del proyecto está centrado en obtener biodiesel a partir de aceite de soya nuevo y usado, comparando diferentes marcas comerciales, y diferentes catalizadores para encontrar el método más eficaz. El proceso se lleva a cabo por medio de una transesterificación. Las diferentes muestras obtenidas se caracterizan por medio de espectroscopia infrarroja, con el fin de observar las características estructurales de cada una. Para complementar los resultados, las muestras también se estudian de acuerdo a las propiedades características del biodiesel, tales como la viscosidad y la densidad, de modo que se pueda encontrar una comparativa entre la materia prima utilizada y la eficiencia del biocombustible.

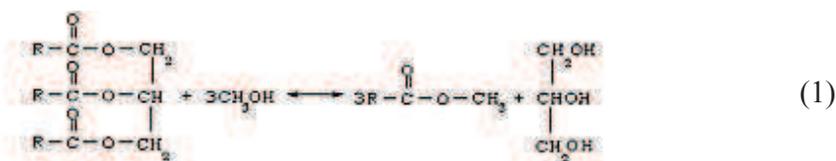
Palabras clave: *Soya, síntesis, catalizador, transesterificación, biocombustible.*

Introducción

El impacto en el medio ambiente por el uso de hidrocarburos y combustibles fósiles ha motivado la necesidad de buscar otros tipos de energías sostenibles. El biodiesel representa una de las alternativas más interesantes, al reemplazar parcial o totalmente al diésel de origen mineral [1]. El biodiesel es una mezcla de ésteres alquílicos producido a través de una reacción de esterificación entre un aceite vegetal o grasa animal y un alcohol de cadena corta, para producir los ésteres respectivos y el subproducto glicerol [2]. De acuerdo a su contenido, cada aceite presenta características diferentes que lo hacen más o menos favorable para la producción de biodiesel. Un punto importante es que los biodiesel producidos de materias primas con alto contenido de ácidos grasos tienen mejor resistencia a la oxidación, en este caso solo la palma y ricino cumplen con los estándares mínimos exigidos por la legislación brasileña y europea de estabilidad oxidativa, sin embargo, el de soya y jatrofa cumplen con las normas establecidas por la ASTM (American Society of Testing Materials) [3] [4]. Por lo anterior, el aceite de soya representa una materia prima prometedora pues además de su contenido y lo que éste representa, es un aceite utilizado para cocinar, económico y al alcance de todos; así pues, se decidió trabajar con aceite de soya, pero no solo nuevo sino también aquel que ya se ha usado para cocinar, esto

representa una excelente opción pues le da una vida más larga a los grandes volúmenes de aceite que diariamente se utilizan en la cocina.

La reacción química que mejores resultados ha demostrado tener para obtener biocombustible es la transesterificación (1). Esta reacción consiste en la interacción entre un triglicérido (contenido en el aceite) y un alcohol ligero, utilizando un catalizador, obteniéndose como subproducto glicerol [5].



La transesterificación alcalina homogénea es el proceso más usado por la industria para producir biodiesel. Generalmente es más rápida y menos costosa, además, las bases fuertes presentan altas conversiones a condiciones moderadas y tiempos de reacción cortos. Sin embargo, para funcionar óptimamente se requiere la utilización de aceites con una concentración baja de ácidos grasos libres, sin impurezas y con una humedad mínima, de lo contrario se presentan reacciones secundarias de saponificación o neutralización [6]. Por otro lado, los catalizadores ácidos son recomendados para transesterificar aceites con un alto contenido de ácidos grasos libres como el aceite de palma o los aceites reciclados, pero la reacción es lenta y requiere mayor temperatura, presión y cantidad de alcohol. Con el fin de evitar las situaciones anteriores, se ha estudiado también, el uso de catalizadores heterogéneos metálicos [7], y heterogéneos alcalinos como el etóxido de calcio [8]. Este tipo de catálisis tiene numerosos beneficios, al estar en una fase diferente a la de los reactantes, son fácilmente recuperables al final de la reacción, además también se obtiene una glicerina pura sin contaminantes. La desventaja principal de los catalizadores heterogéneos es su elevado costo, debido a la necesidad de elevadas condiciones de temperatura y presión, así como grandes volúmenes de alcohol [6].

El desarrollo de este trabajo está centrado en la necesidad de establecer una comparativa entre diferentes marcas comerciales de aceite de soya (nuevos y usados para cocinar), utilizados con distintos catalizadores, y de esta manera presentar las ventajas de cada uno de los diferentes métodos.

Metodología

Para llevar a cabo el estudio, se utilizaron muestras de aceite de soya: Nutrioli (por porción 15.4ml/14g: ácidos grasos saturados 2.1g; ácidos grasos monoinsaturados 3.4g; ácidos grasos poliinsaturados 8.5g). Nutrioli DHA (por porción 15.5ml/14g: ácidos grasos saturados 2.1g; ácidos grasos monoinsaturados 3.4g; ácidos grasos poliinsaturados 8.5g, ácido docosahexaenoico 20mg). Sarita (por porción 15.2ml/14g: ácidos grasos saturados 2.1g; ácidos grasos monoinsaturados 3.4g; ácidos grasos poliinsaturados 8.5g).

Se utilizaron los siguientes reactivos: Alcohol metílico (Karal, 99.8%), Hidróxido de sodio en lentejas (Karal, 97%), Ácido fosfórico (Karal, 85%), Alcohol etílico absoluto (Karal, 99.5%), Calcio granular (Sigma Aldrich, 99%).

Procedimiento experimental

- Preparación del catalizador

El etóxido de calcio fue sintetizado en un matraz de fondo redondo de una boca, una válvula y una junta para termómetro, al que se conectó un refrigerante, y una manguera para tener atmósfera de nitrógeno. Se mezcló calcio y etanol en relación molar 1:2, a 65°C por ocho horas. Después se secó en la estufa, a 100°C por al menos tres días.

Dependiendo del método deseado, por litro de aceite a utilizar, se mezcló con agitador metálico hasta obtener una mezcla homogénea: metanol e hidróxido de sodio (en relación molar 1:56), o metanol y ácido fosfórico (en relación molar 1:56), o metanol y etóxido de calcio (en relación molar 2:56).

- Reacción de transesterificación

Se calentó el aceite hasta alcanzar una temperatura entre 50 y 55°C, seguidamente se colocó en un matraz de bola con dos bocas y con un agitador metálico. A continuación, se añadió el catalizador y se dejó agitando y calentando (manteniendo la temperatura entre 50 y 55°C) en un sistema de reflujo por un tiempo entre 30 minutos y 12 horas (dependiendo de la naturaleza del catalizador).

Una vez terminada la reacción, se colocó el producto en un embudo de separación por 24 horas. Se decantó, separando el glicerol y en caso de la catálisis heterogénea también se separó el catalizador.

- Lavado del biodiesel

Para el procedimiento con el hidróxido y con el ácido, se lavó el biodiesel con agua desionizada en proporción 1:1, hasta que el agua desechada alcanzaba pH neutro. En el caso del etóxido de calcio, se lavó de la misma manera, pero el procedimiento se encontró hasta 12 veces más lento, por lo que se necesita diseñar un método de lavado más eficaz.

Una vez lavado, se calentó a 100°C.

- Análisis

Para obtener las viscosidades de los biodiesel, se utilizó un viscosímetro de Ostwald con las siguientes especificaciones: Factor C de calibración de 0.22140 a 100F, tipo rutina y calibrado en base al valor de la viscosidad del agua.

Por otro lado, los espectros de FTIR fueron adquiridos en el equipo Perkin Elmer Spectrum 100, también equipado con un detector DTGS. Los espectros se obtuvieron con el accesorio de ATR con ventana de diamante con 8 barridos en la región que va de (4000-650) cm^{-1} .

Resultados

Las primeras tres síntesis se llevaron a cabo con aceites nuevos y NaOH como catalizador (que es de los más comúnmente utilizados para la producción de biodiesel), en estas reacciones fue

sencillo medir los volúmenes obtenidos, sin embargo, conforme las variables de la síntesis fueron cambiando, la lenta separación de los productos, o el complicado lavado, dificultó el proceso de medición de los volúmenes obtenidos.

Tabla 1. Rendimiento obtenido de los biodiesel sintetizados a partir de aceites nuevos.

Nutrioli con NaOH	DHA con NaOH	Sarita con NaOH
95.77%	81.32%	82.90%

Las muestras obtenidas de biodiesel se analizaron por medio de espectroscopia IR.

Al comparar las figuras 1 y 2 se observan claramente señales, en su mayoría iguales, características del biodiesel como son dos grupos de bandas de absorción propias de los ésteres metílicos que lo conforman entre $(1200-1300) \text{ cm}^{-1}$. La casi única diferencia notable que presentan ambos espectros es la intensidad en una de las bandas, sin embargo, ambas se encuentran en $(1470-1435) \text{ cm}^{-1}$ que se refiere a los grupos alquilo. En la región de los grupos funcionales entre $(1730-1750) \text{ cm}^{-1}$ se encuentra el pico intenso correspondiente al grupo carbonilo propio de los ésteres. Para ambos espectros es común la banda de absorción entre $(2950 \text{ y } 3000) \text{ cm}^{-1}$, correspondientes al estiramiento de los enlaces CH_3 , CH_2 y CH , propio de los carbonos alifáticos.

De los espectros presentados, resulta evidente que se obtiene un producto con características estructurales similares al utilizar aceites nuevos o usados, además de destacar que el catalizador heterogéneo de etóxido de calcio tiene resultados prometedores en la obtención de los productos..

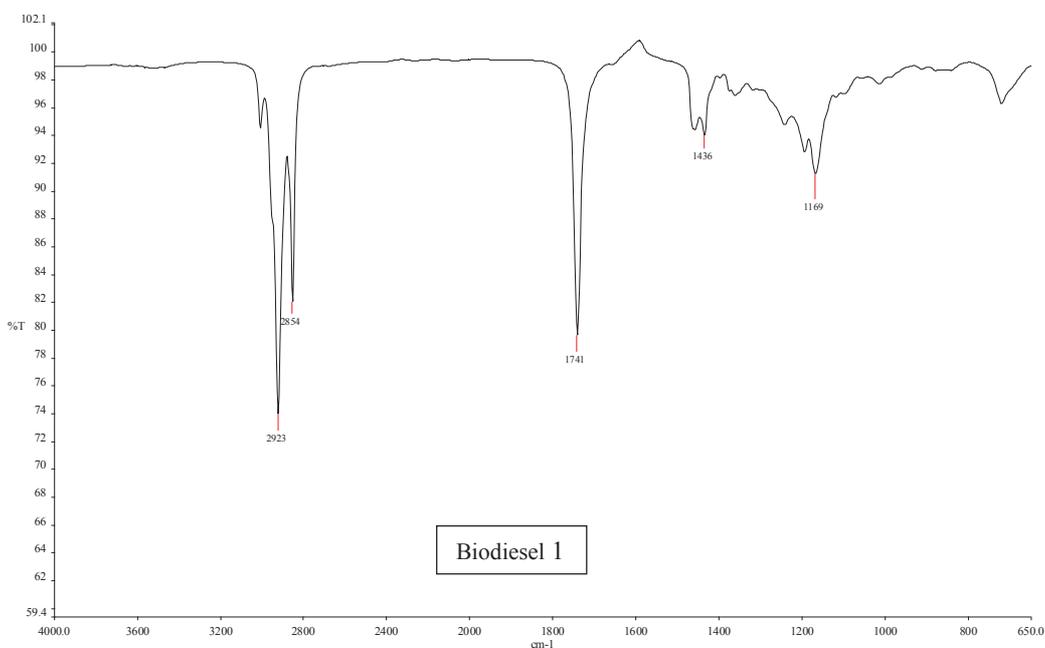


Figura 1. Espectro IR del biodiesel obtenido de la síntesis con aceite Nutrioli y NaOH como catalizador.

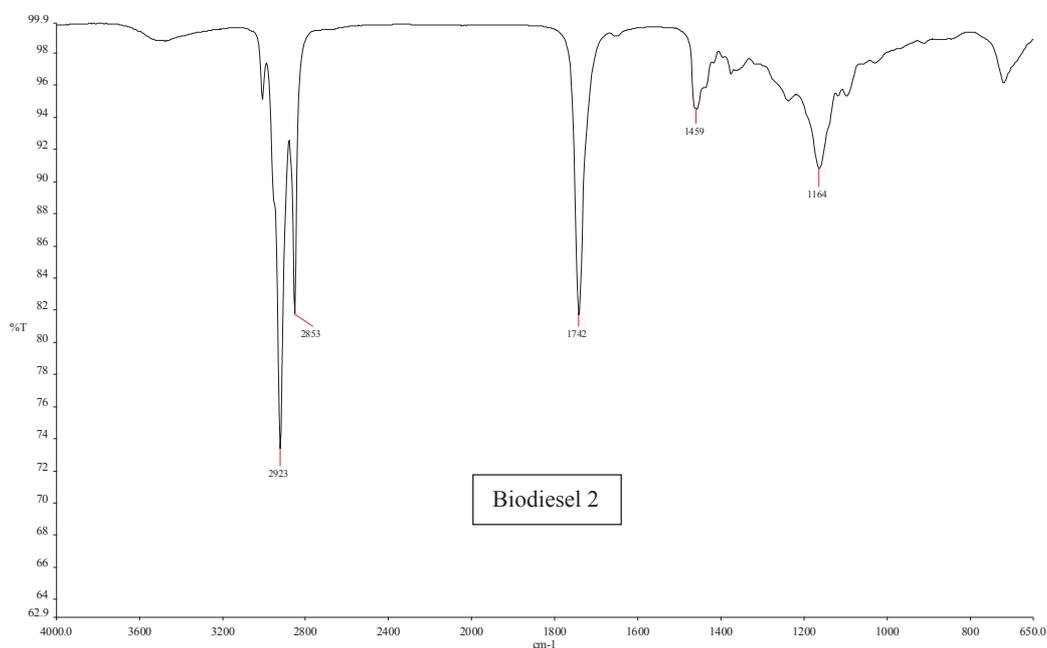


Figura 2. Espectro IR del biodiesel obtenido de la síntesis con aceite Nutrioli usado y etóxido de calcio como catalizador.

Es primordial que los reactivos sean libres de agua, pues si no se cumple esto, se generará un biodiesel con alto contenido de agua, por consiguiente lejos de la norma, a su vez se verá afectada la reacción, produciéndose más de los subproductos. Este punto también es válido para la parte de los lavados. Debe diseñarse un mejor sistema de lavado para las síntesis que se hicieron con el catalizador heterogéneo, pues el tiempo utilizado fue extremadamente mayor al de los otros procesos, y esto también podría propiciar el aumento del contenido en agua. Los valores mínimos y máximos permitidos para un biodiesel, de acuerdo a la norma ASTM para: densidad son de (0.86-0.9) g/cm³, viscosidad cinemática a 40°C son de (1.9-6.0) mm²/s.

Tabla 2. Propiedades de los biodiesel sintetizados a partir de aceites nuevos.

PROPIEDAD	Nutrioli con NaOH	DHA con NaOH	Sarita con NaOH	Nutrioli con Ca(OCH ₂ CH ₃) ₂
Densidad, g/cm ³	0.8882	0.9183	0.8375	0.9037
Viscosidad cinemática a 40°C, mm ² /s	4.65	4.33	5.04	6.42

Tabla 3. Propiedades de los biodiesel sintetizados a partir de aceites usados para cocinar.

PROPIEDAD	Nutrioli con H_3PO_4	DHA con NaOH	Sarita con H_3PO_4	Nutrioli con $Ca(OCH_2CH_3)_2$
Densidad, g/cm ³	0.9402	0.8517	0.9374	0.9212
Viscosidad cinemática a 40°C, mm ² /s	23.88	16.73	28.89	16.22

El único biodiesel obtenido que cumple con ambas normas, es el nutrioli nuevo con NaOH como catalizador, los demás solo cumplen con una, o con ninguna. Es evidente que los aceites usados tienen un rango de error mucho mayor que los nuevos. Para las síntesis realizadas con el catalizador ácido y el heterogéneo, debe tenerse en consideración que el tiempo debe ser mayor al realizado con la base, de no ser así la transesterificación no se completa y en el producto existen ácidos grasos u otros componentes de la materia prima.

Conclusiones

Todos los productos obtenidos cuentan con la estructura característica de un biodiesel, por lo que puede afirmarse que aceites de soya, tanto nuevos como usados, son aptos para la producción de biodiesel.

Los espectros IR obtenidos resultaron consistentes con los resultados esperados y evidenciaron la eficacia de cada uno de los diferentes catalizadores, dejando como diferencias importantes entre éstos, el tiempo de síntesis, de lavado y de vida de los catalizadores. Además, es importante mencionar que los aceites usados y los catalizadores ácidos y heterogéneos, presentan menor eficacia, tomando como valor de referencia las normas ASTM, que requieren ser cumplidas para verificar la calidad del producto.

Para los aceites nuevos se obtuvieron rendimientos mayores al 80% lo cual representa un muy bajo porcentaje de pérdida, sin embargo, no fue posible comparar estos datos con los rendimientos de los aceites usados, por lo que no existe conclusión precisa en este ámbito.

Todas las muestras de obtenidas son de biodiesel, pero es necesario realizar análisis más completos, tales como la cromatografía de gases, y también la determinación del punto de inflamación y del contenido de agua para verificar el cumplimiento de las normas correspondientes.

Bibliografía

- [1] Vicente Pardal, Ana Cristina Dinis, (2012), "Obtención de biodiesel por transesterificación de aceites vegetales: nuevos métodos de síntesis", Tesis doctoral, Universidad de Extremadura, Badajoz, España, 3.
- [2] J. Lafont, Jennifer, S. Páez, Manuel y C. Torres, Yudi, (2011), "Análisis químico de mezclas biodiesel de aceite de cocina usado y diesel por espectroscopía infrarroja", *Información Tec.*, 22(4), 35-42.
- [3] Moreira Santos, Eleonice, (2012), "Principales características de las materias primas utilizadas en la producción de biodiesel: la influencia del contenido y la concentración de los ácidos grasos", *Ingenium Rev. Fac. de Ing.*, 25, 53-61.
- [4] Knothe, Gerhard, (2010), "Calidad del combustible biodiesel y la norma ASTM", *PALMAS*, 31(2), 162-171.

- [5] Gandón-Hernández, José, C. Torres-Baratute, Yanelis y García-Díaz, Marilin, (2017), “Caracterización de un biocombustible obtenido a partir de aceite vegetal de desecho”, *Tec. Química*, 37(2), 236-248.
- [6] Gallegos Ardiles, David, Llanos Velesville y Enrique J. R., (2013), “Simulación del proceso para la obtención de biodiesel a partir de aceites usados usando datos obtenidos a nivel de laboratorio”, Tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Tujillo, Trujillo, Perú, 34-37
- [7] Singh, Dheerendra, Bhoi, Rohidas, Ganesh, Anuradda and Mahajani, Sanjay, (2014), “Synthesis of biodiesel from vegetable oil using supported metal oxide catalysts”, *Energy & Fuels*, 28(1), 2743-2753.
- [8] Liu, Xuejun, Piao, Xiaglan and Wang, Yujun, (2008), “Calcium ethoxide as solid base catalyst for the transesterification of soybean oil to biodiesel”, *Energy & Fuels*, 22(2), 1312-1317.

PROCESO INTEGRAL ELECTROQUÍMICO PARA TRATAMIENTO DE EFLUENTES CONTAMINADOS POR CROMO HEXAVALENTE

María del Rosario Loredo Méndez^a, Martín Alejandro Alatorre Ordaz^b, Rossy Feria Reyes^c, Guillermo Manuel González Guerra^b

^aDepartamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Col. Noria Alta, Guanajuato, Gto., C.P. 36050, MÉXICO.
charittoloredo@hotmail.com

^bDepartamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Cerro de la Venada S/N, Col. Pueblito de Rocha, Guanajuato, Gto., C.P. 36040, MÉXICO.

Resumen

Actualmente en México se registran altos niveles de contaminación generados por los efluentes industriales cuyo contenido de metales pesados es muy elevado. El cromo es uno de estos metales y en su estado de oxidación VI se considera como tóxico. Es por ello que se buscan métodos para reducir la concentración de esta especie en las aguas residuales. La electro-reducción directa del cromo hexavalente es un método muy eficiente para lograrlo; sin embargo, se ha demostrado que este tratamiento no es costeable, debido a que se requieren reactivos caros para adquirir las condiciones de pH y se opera con energía eléctrica. El objetivo de este trabajo fue desarrollar la adaptación de un sistema en el cual se generan los insumos a partir de la electrólisis del agua; además de lograr la ejecución del proceso con energía fotovoltaica y así reducir los costos de operación. Se integró un reactor electroquímico tipo filtro-prensa conformado por dos celdas separadas por una membrana Nafion®, el cátodo fue de acero inoxidable y el ánodo un electrocatalizador de Ti/IrO₂. En la celda del lado del ánodo se hizo circular la solución de K₂Cr₂O₇ junto con el electrolito Na₂SO₄ obteniendo la variación del pH de 5.2 a 2.7. En la celda del lado del cátodo circuló el electrolito Na₂SO₄ obteniendo la variación del pH desde 6.6 hasta 11.9. La solución de cromo acidificada se condujo al reactor encargado de reducir el Cr (VI) a Cr (III) alcanzando una conversión del 95.99%. El cromo trivalente obtenido se hizo precipitar vertiendo la solución alcalina. Se filtró y, la solución remanente se reutilizó en dos ciclos más obteniendo conversiones del 81.32% y 79.36%, respectivamente.

Palabras clave: *cromo, electrólisis, pH, electro-reducción y fotovoltaico.*

Introducción

El cromo es un elemento que se encuentra presente en la naturaleza en varios estados de oxidación, principalmente en los números +2, +3 y +6 [1]. Gracias a esto los compuestos de cromo poseen diversas propiedades implicando así su uso en un diferentes industrias por ejemplo, en la galvanoplastia, como base de numerosos pigmentos, en la curtiduría de pieles, como mordientes, como catalizadores, en aleaciones, como oxidantes, para la fabricación de materiales refractarios, entre otros [2,3]. Desafortunadamente, estas actividades producen un aumento significativo en las concentraciones de dicho elemento en el medio ambiente. Más aún, en

diversas industrias no se cuenta con las medidas adecuadas para el manejo de residuos, lo que ocasiona problemas de contaminación y riesgos en la salud humana [4].

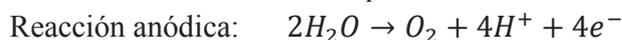
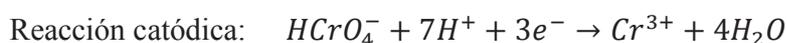
La contaminación se da principalmente por la presencia de cromo hexavalente, ya que esta especie es tóxica y, al ser altamente soluble en toda condición de pH, adquiere una gran movilidad en el suelo, en el agua y en el aire [5].

Los efectos que causa la exposición prolongada a los compuestos de cromo hexavalente son graves en los seres humanos: debido a sus propiedades altamente oxidativas, afectan principalmente la piel, el tracto respiratorio y el sistema digestivo causando lesiones como dermatitis y úlceras [6]. Además, se ha determinado que estos compuestos son carcinógenos [1, 7, 6 y 7]. En cambio, el cromo en su estado de oxidación +3 es un elemento esencial en el metabolismo del ser humano y de los animales [6]; no suele ser biodisponible, ya que suele formar compuestos insolubles [5] y, es considerado 100 veces menos tóxico que el cromo hexavalente [7].

Los métodos de tratamiento que actualmente se usan son: intercambio iónico, ósmosis inversa, adsorción, electrodiálisis, electrocoagulación y reducción-precipitación química, biosorbentes, fitoremediación, bioremediación y microremediación.

El tratamiento de electro-reducción directa, es una opción viable para disminuir la toxicidad en los efluentes contaminados con cromo hexavalente. Ya que es un proceso muy efectivo, no genera lodos y, emplea como principal reactivo al electrón.

El principio del método de electro-reducción directa es la reducción del cromo (VI) en medio ácido sobre la superficie del cátodo. Este proceso se rige con las siguientes reacciones:



Una vez que se tiene a la especie reducida Cr (III), no tóxica, se hace un ajuste de pH para que precipite como $Cr(OH)_3$.

Se han realizados diversos estudios de la electro-reducción directa en reactores tipo filtro-prensa. Particularmente, G. Almaguer Busso [1], propuso una configuración con la cual se logró prácticamente el 100% de la conversión de Cr (VI) a Cr (III).

Hasta ahora, este método luce muy atractivo y, probablemente podría competir con la reducción química que, actualmente, es el tratamiento más empleado en diversas industrias para descontaminar los efluentes; sin embargo, presenta un par de desventajas:

1. Se consumen reactivos de precios considerables para las etapas de reducción (H_2SO_4) y de precipitación ($NaOH$).
2. Para la operación del reactor se consume energía eléctrica.

Por esta razón, en este trabajo se desarrolló la adaptación de un sistema que, mediante la electrólisis del agua en un reactor tipo filtro-prensa, se obtienen, simultáneamente, los insumos que se requieren en las etapas de electro-reducción y precipitación; usando únicamente como reactivo Na_2SO_4 . Además, se utilizó un sistema fotovoltaico como fuente de energía del proceso.

Metodología

Se diseñó el reactor tipo filtro-prensa donde se llevó al cabo la electrólisis del agua. De ahora en adelante no referiremos a este reactor como “Reactor 1”. Los equipos que se usaron en esta etapa fueron: taladro de prensa OTMT X2 Variable Speed Mini Mill, sierra caladora ScrollSaw16” TRUPER Variable Speed, mufla y parrilla eléctrica.

Se elaboró el ánodo dimensionalmente estable de Ti/IrO₂ (DSA, por sus siglas en inglés) siguiendo el método de Pechinni [8]: se cortó una placa de titanio y posteriormente se limpió sumergiéndola en HCl concentrado durante 1 hora a 70°C y luego en HNO₃ al 10% en ebullición durante 15 minutos. Se enjuagó con H₂O destilada y se dejó secar. En seguida se preparó el precursor polimérico: se mezclaron los reactivos etilenglicol (EG) y ácido cítrico (AC) en las proporciones molares 16EG:0.12AC, la mezcla se calentó a 60°C y se agitó constantemente hasta que se homogenizó. Se adicionó a la mezcla ácido hexacloroirídico hidratado (0.0296 moles) y se aumentó la temperatura a 75°C, se agitó constantemente hasta que se homogenizó y se dejó enfriar. Con la ayuda de un pincel de pelo muy suave, se cubrió con el precursor polimérico la superficie de la placa. Se dejó secar y se introdujo en la mufla a 100°C durante 5 minutos. Se sacó y se dejó enfriar. Se aplicaron 4 capas de precursor repitiendo los pasos anteriores. Finalmente, el electrodo se introdujo en la mufla durante 1 hora a 550°C.

Se cortaron una placa de acero inoxidable (cátodo), 8 empaques de caucho, dos placas de teflón (proporcionaron soporte), dos mallas de plástico como promotores de turbulencia, dos placas de acero que brindaron estabilidad mecánica, dos tapas de teflón y una membrana de Nafion® NF-115 a la cual se le dio el siguiente tratamiento: Se mantuvo una temperatura constante de 80°C durante 1 hora en cada uno de los baños. El primero fue en una solución de H₂O₂ al 3%; el segundo en H₂O desionizada; el tercero en una solución de H₂SO₄ 2M y el cuarto, nuevamente en H₂O desionizada [9,10]. Todos los elementos se dispusieron de tal manera que el arreglo final resultó en un reactor tipo filtro- prensa FM01-LC, con la peculiaridad de contener dos celdas separadas por la membrana.

El reactor se conectó por medio de mangueras a dos bombas peristálticas y se realizó el estudio de las variables para controlar el Reactor 1. Los equipos que se usaron en esta etapa fueron: fuente de poder STEREN PRL-25, multímetro con interface PC STEREN, equipo de cómputo, pH metro HANNA INSTRUMENTS HI 233, bomba peristáltica Colege-Palmer, bomba peristáltica Thermo Scientific y balanza. Se prepararon soluciones del electrolito Na₂SO₄ y se realizó una curva de polarización para determinar el rango de tensión de la electrólisis del agua. Posteriormente se realizaron diferentes electrólisis variando flujos, potenciales, tiempo y concentraciones para analizar su efecto en el pH del anolito y del catolito respectivamente.

En la siguiente etapa se integró el Reactor 1 al sistema de electro-reducción directa [1]. Los equipos que se emplearon en esta fase fueron: 2 Bombas centrífugas SHURflo modelo SLV10-AA41, bomba centrífuga March, fuente de poder STEREN PRL-25, multímetro con interface PC STEREN, equipo de cómputo, pH metro HANNA INSTRUMENTS HI 233, balanza y el reactor FM01-LC denominado RFP 2C3M por G. Almaguer Busso [1].

Se prepararon soluciones sintéticas de dicromato de potasio (100 ppm K₂Cr₂O₇) y se les agregó el electrolito Na₂SO₄ de concentración previamente determinada; esta solución se alimentó por el

lado del ánodo en el Reactor 1, cuando alcanzó la acidez adecuada se pasó al reactor RFP 2C3M donde se redujo el Cr (VI). Del lado del cátodo solamente se alimentó el electrolito Na_2SO_4 de concentración previamente determinada, donde aumentó el valor de pH y se vertió en la solución resultante de la electro-reducción para precipitar el Cr (III). Se filtraron los cristales de $\text{Cr}(\text{OH})_3$, se hizo recircular el electrolito recuperado (Na_2SO_4) y se realizaron dos ciclos más del proceso. Se realizaron análisis de espectrometría UV-Vis para determinar el porcentaje de conversión. En la última etapa se dimensionó un sistema fotovoltaico para el funcionamiento del proceso. Los equipos empleados en esta fase fueron: 3 paneles solares, controlador de energía, batería para almacenar energía solar, 1 inversor (CD-CA) y un regulador de corriente directa. Se realizó un estudio de carga-descarga de la batería durante todo el proceso.

Resultados

Se determinó la región de la tensión de la electrólisis del agua. Dicho rango está delimitado entre 3V y 4V como se puede apreciar en la figura 1.

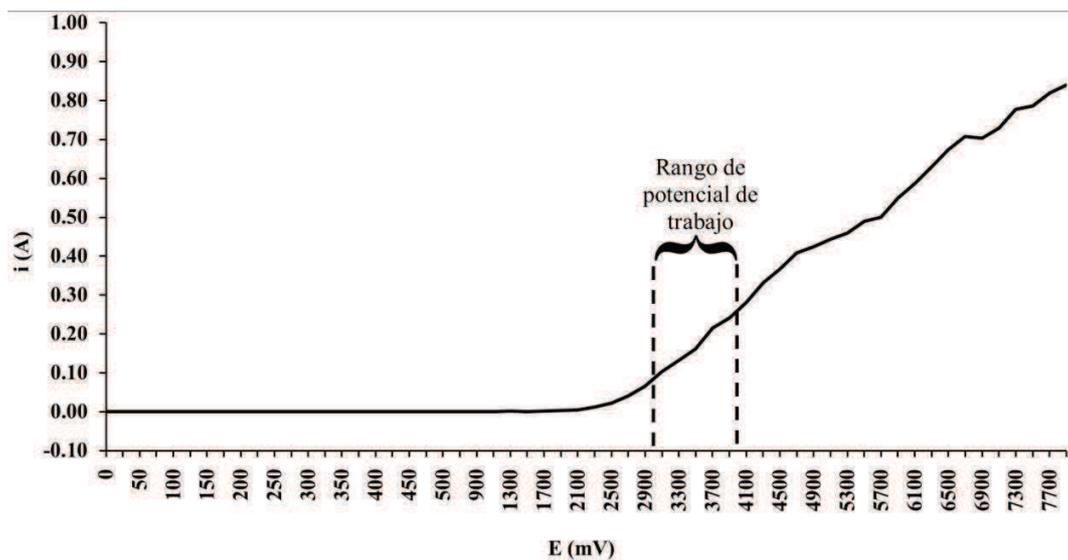


Figura 1. Curva de polarización. Electrólisis de 1800 mL de 0.05 M Na_2SO_4 . Ánodo: Ti/IrO_2 ; cátodo: acero inoxidable y membrana Nafion®.

En las figuras 2 y 3 se puede apreciar un notable cambio en el pH conforme pasó el tiempo de electrólisis. Esto se debió a que la membrana impidió el paso de los iones, generados por las siguientes reacciones, hacia los electrodos contrarios. De acuerdo a los resultados que se muestran en las figuras 2 y 3, las condiciones óptimas para operar el Reactor 1 se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Condiciones óptimas para la electrólisis del agua en el Reactor 1.

Flujo (mL/s)	Tensión de electrólisis (V)	Concentración de Na_2SO_4 (M)	Tiempo (h)
5.5	3.5	0.1	2

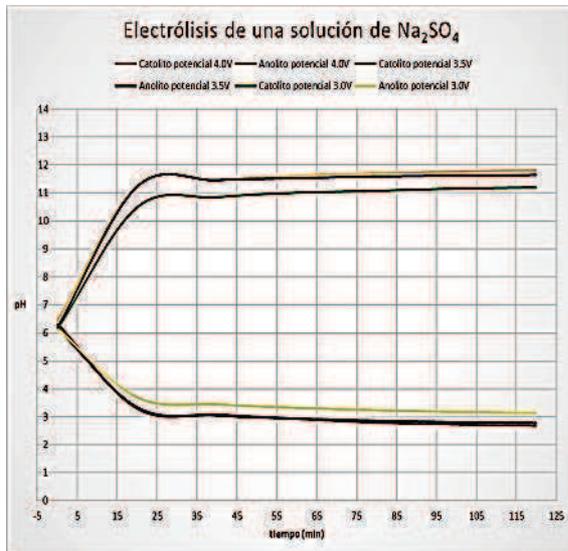


Figura 2. Efecto de la tensión de electrólisis sobre el pH. Electrólisis de 2 L de 0.05 M Na_2SO_4 con un flujo constante de 5.5 mL/s.

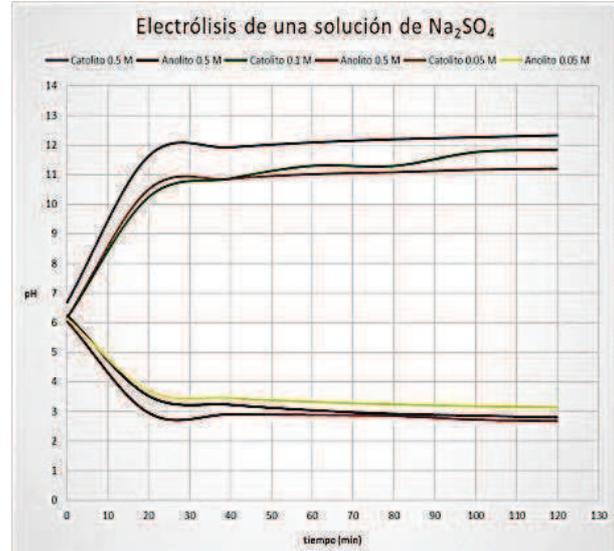


Figura 3. Efecto de la concentración de Na_2SO_4 del electrolito sobre el pH. Electrólisis de 2 L de Na_2SO_4 a un potencial constante de 3.0 V y con un flujo constante de 5.5 mL/s.

Al integrar los dos reactores y el sistema fotovoltaico, se obtuvieron los siguientes resultados:

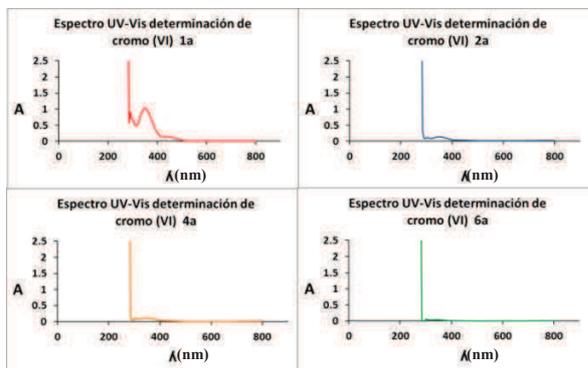


Figura 5. Espectros UV-Vis de muestras obtenidas mediante el primer ciclo de la electro-reducción directa de Cr(VI).

Tabla 2. Porcentaje de conversión de Cr (VI) a Cr (III) en el primer ciclo a un potencial constante de 2.0 V por un periodo de 30 min.

$\lambda=349.9852\text{nm}$			
Muestra	A	C (ppm)	% conversión
1a	1.2702	52.6532	47.3468
2a	0.3755	9.0121	90.9879
3a	0.3725	8.8647	91.1353
4a	0.3527	7.8993	92.1007
5a	0.2959	5.1251	94.8749
6a	0.2730	4.0080	95.9920

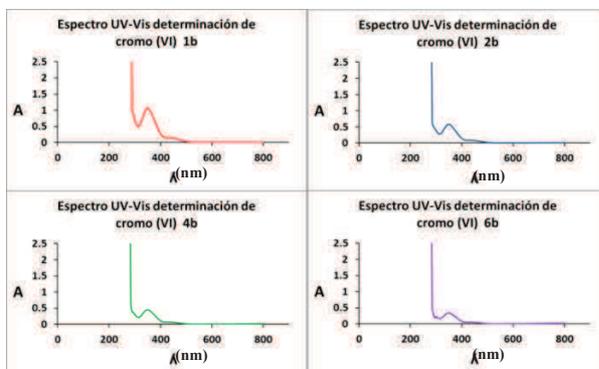


Figura 6. Espectros UV-Vis de muestras obtenidas mediante el segundo ciclo de la electro-reducción directa de Cr(VI).

Tabla 4. Porcentaje de conversión de Cr (VI) a Cr (III) en el tercer ciclo a un potencial constante de 2.0 V por un periodo de 30 min.

$\lambda=349.9852\text{nm}$			
Muestra	A	C (ppm)	% Conversión
1b	1.3049	54.3447	45.6553
2b	0.8145	30.4229	69.5771
3b	0.7638	27.9495	72.0505
4b	0.6859	24.1536	75.8464
5b	0.6484	22.3198	77.6802
6b	0.5738	18.6823	81.3177

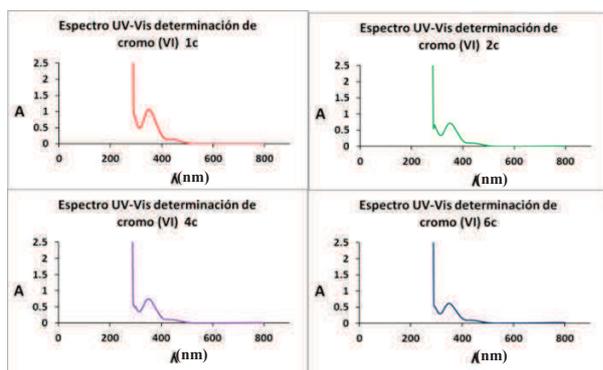


Figura 7. Espectros UV-Vis de muestras obtenidas mediante el tercer ciclo de la electro-reducción directa de Cr(VI).

Tabla 3. Porcentaje de conversión de Cr (VI) a Cr (III) en el segundo ciclo a un potencial constante de 2.0 V por un periodo de 30 min.

λ=349.9852 nm			
Muestra	A	C (ppm)	% Conversión
1c	1.0696	42.8679	57.1321
2c	0.7148	25.5622	74.4378
3c	0.8099	30.1986	69.8014
4c	0.7422	26.8960	73.1040
5c	0.6583	22.8040	77.1960
6c	0.6139	20.6414	79.3586

Conclusiones

Se desarrolló un reactor electroquímico tipo filtro-prensa en el cual se generaron, simultáneamente, un electrolito ácido y uno básico a partir de la electrólisis del agua empleando como único reactivo Na_2SO_4 . El valor del pH del anolito fue suficiente para reducir electroquímicamente el cromo hexavalente a Cr (III) en un 95.99%. Con el catolito se hizo precipitar el Cr (III) obtenido. Se logró recircular el electrolito Na_2SO_4 dos veces más obteniendo conversiones del 81.32% y 79.36% respectivamente. El proceso integral se operó exitosamente con energía fotovoltaica.

Bibliografía

- [1] Almaguer Busso G. (2008) “Estudio comparativo de la reducción química y electroquímica de cromo hexavalente”, Tesis de Maestría, Universidad de Guanajuato. Guanajuato, Guanajuato, Gto., México.
- [2] Housecroft Catherine E., Sharpe Alan G. “Química Inorgánica”, Segunda Edición, Prentice Hall, 594 y 595.
- [3] Sceri Eric. “50 Elementos Químicos qué son y qué representan”, Primera Edición, Blume, Barcelona, 72.
- [4] Cruz González Víctor H. (2009) “Contaminación de agua potable por cromo hexavalente. Caso de estudio: colonia Lechería, Municipio de Tultitlán, Estado de México”, Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México.
- [5] María Pía Di Nanno, Gabriela Cordon, Leonardo Di Paolo, Leonardo Murrini y Gustavo Curutchet. 13 Congreso Argentino de Saneamiento y Medio Ambiente. Septiembre 2003. <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/argentina13/Cong2.pdf>
- [6] Irgolic Kurt J., Marteil Artur E. “Environmental Inorganic Chemistry”. VCH Publishers Inc. Florida 1985. Pp 475 y 476.
- [7] Netzahuatl Muñoz Alma Rosa, Pineda Camacho Gabriela, Barragán Huerta Blanca Estela, Cristiani Urbina Eliseo. “Remoción de cromo hexavalente y cromo total por la corteza de *pyrus communis*”, Revista CENIC. Centro Nacional de Investigaciones Científicas. La Habana, Cuba. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181620500026>
- [8] León, M. I. Aguilar, Z. G., and Nava J. L. (2014). “Electrochemical combustion of indigo at ternary oxide coated titanium anodes”, J. Electrochem. Sci. Eng. 4(4) 247-258.
- [9] O. Solorza Feria, J. Fonseca Ortuño, R. González Hernández, J.P. Zúñiga Moreno. “Diseño y construcción de un electrocatalizador y una pila de combustible para producir energía eléctrica libre de contaminantes”.
- [10] M.J. Laborante, B. Scalise, C. López, A. Sanguinetti, J. Franco, H.J. Fasoli. “Estudio sobre la hidratación de membranas de Nafion® 117 a diferentes concentraciones de ácido sulfúrico”. Tercer Congreso Nacional - Segundo Congreso Iberoamericano. Hidrógeno y Fuentes Sustentables de Energía - HYFUSEN 2009.

REMOCIÓN DEL ION CÚPRICO MEDIANTE EL USO DE *Lactuca sativa* y *Lycopersicon sp.*

Elizabeth Tovar Campos ^{a*}, Guillermo Manuel González Guerra ^a, Martín Alejandro Alatorre Ordaz ^a.

^a Departamento de química. Universidad de Guanajuato. Cerro de la Venada SN, Pueblito de Rocha, 36040 Guanajuato, Gto. México. e.tovarcampos@ugto.mx

Resumen

Hoy en día nuestro entorno está caracterizado por los grandes niveles de contaminación que presenta como resultado de la actividad industrial, principalmente entre estos contaminantes se encuentran los metales pesados, que tienden a bioacumularse y que en ciertas concentraciones afectan a los seres vivos, pero los métodos químicos, fisicoquímicos y electroquímicos que suelen utilizarse para descontaminar son costosos, en cambio, la fitorremediación aprovecha la capacidad de plantas específicas para absorber, acumular, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes. El presente proyecto se realizó con el objetivo de comparar la eficiencia de la remoción del ion cúprico basado en la fitorremediación, empleando dos especies: *Lactuca sativa* y *Lycopersicon sp.*, provenientes de dos municipios de Guanajuato: Cortázar y Guanajuato capital. Ambas especies se colocaron en soluciones de sulfato cúprico de concentraciones conocidas, tomando muestras periódicas. Se efectuó un análisis con espectroscopía de absorción atómica, así como con espectroscopía UV-Visible con el fin de observar la disminución de las concentraciones del ion. Finalmente, con ello se pudo determinar qué especie y de qué lugar es más eficiente para en un futuro aplicarlo a un ambiente crítico.

Palabras clave: Metales pesados, fitorremediación, espectroscopía de absorción atómica, espectroscopía UV-Visible.

Introducción

Los metales pesados se encuentran entre los principales contaminantes ambientales y representan una grave amenaza para la salud por su persistencia a largo plazo en el medio ambiente, sin embargo, las tecnologías de remediación para sitios contaminados con metales pesados suelen estar limitadas a áreas pequeñas o bien, son costosas; como lo son el lavado de suelo, la reducción química, la electroforesis, vitrificación, entre otros. En los últimos años, la fitorremediación se ha considerado una alternativa económica y ecológica para este tipo de ambientes críticos, la técnica involucra a las plantas ya que éstas pueden absorber, acumular y desintoxicar contaminantes de sus sustratos (suelo, agua y aire) a través de procesos físicos, químicos o biológicos. La eficacia de la fitorremediación se debe a diversos factores, como: las propiedades físicas y químicas del ambiente a tratar y de la planta, la biodisponibilidad de los metales y la capacidad de las plantas para absorber, acumular, translocar, secuestrar y desintoxicar metales. [1] Hay una gran variedad de especies usadas en estudios de

fitorremediación [2], muchas de ellas conllevan a procesos costosos, o el uso de las mismas implica invertir demasiado en su producción.

Las plantas utilizan varios métodos para restaurar los sitios contaminados, como:

Fitoextracción: Implica la absorción del contaminante por las raíces de las plantas con la consiguiente acumulación en las partes aéreas de la planta.

Rhizofiltración: Se basa en la capacidad de las raíces de las plantas para absorber y secuestrar los contaminantes metálicos. Las plantas ideales deberían producir cantidades significativas de biomasa de la raíz o área de la superficie de la raíz, ser capaces de acumular y tolerar cantidades significativas de metales.

Fitoestabilización: En esta técnica, las plantas se utilizan para transformar los metales en formas menos tóxicas, estabilizando los desechos. Requiere plantas que puedan alterar las condiciones biológicas, químicas o físicas del sustrato para que conviertan las formas tóxicas del metal.

Fitovolatilización: Se basa en el uso de plantas para absorber metales pesados y convertirlos en especies químicas volátiles menos tóxicas a través de la transpiración. Generalmente se utilizan plantas genéticamente modificadas.

Fitodegradación (fitotransformación): En este método, las plantas degradan los contaminantes orgánicos por procesos metabólicos y utilizan las asociaciones entre las plantas y los microorganismos del suelo. [1]

La gran variedad de métodos, implica buscar el más eficiente, menos costoso, y buscar una especie que sea barata y con un mecanismo eficiente.

Hoy en día, en el estado de Guanajuato contamos con diversos sitios problemáticos, producto de la influencia y proximidad de minas o las actividades industriales; algunos ejemplos son la Cuenca del Río Guanajuato, Cuenca San Juan de Otates o la Cuenca del Río Turbio [3]; al buscar una solución se optó por la fitorremediación, ya que es una alternativa ecológica, fácil de realizar, económica, no es invasiva para el sitio a remediar, se puede aplicar cuantas veces lo requiera la zona contaminada; además una de las principales actividades económicas del estado es la agricultura y entre su producción se encuentran algunas de las especies antes mencionadas. Se decidió utilizar *Lactuca sativa* (Lechuga) y *Lycopersicon sp.* (Jitomate), ya que son de las plantas con capacidad fitorremeddiadora más económicas, de fácil acceso, crecen en poco tiempo, tienen gran área de sistema de raíces y en el caso de la lechuga se puede colocar en hidroponía, facilitando su cultivo sin el uso de tierra y fertilizantes.

Ambas especies mediante la fitoextracción, acumulan los metales pesados en sus raíces y en la parte aérea, por lo tanto, poseen las siguientes características: tolerancia a altas concentraciones de metales, alta capacidad de acumulación de metales, biomasa pesada, capacidad de crecimiento rápido y un sistema de raíces profusas. [4-9]

Las fases del proceso por el cuál las plantas acumulan los metales son las siguientes:

Fase I. Implica el transporte de los metales pesados al interior de la planta y, después, al interior de la célula. La raíz constituye el tejido de entrada principal de los metales, los cuales llegan por difusión en el medio, mediante flujo masivo o por intercambio catiónico. La raíz posee cargas negativas en sus células, debido a la presencia de grupos carboxilo, que interaccionan con las

positivas de los metales pesados, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular.

Fase II. Una vez dentro de la planta, las especies metálicas son secuestradas o acomplejadas mediante la unión a ligandos específicos.

Fase III. Involucra la compartimentalización y detoxificación, proceso por el cual, el complejo ligando-metal queda retenido en la vacuola. [10]

Metodología

Obtención de las plantas: Las lechugas se adquirieron en el mercado de cada municipio, y se colocaron en hidroponía aproximadamente 1 mes con el fin de favorecer el crecimiento de raíces. Las semillas de jitomate se prepararon a partir del fruto y se colocaron en sacos de musgo aproximadamente 10 días para su crecimiento.

Proceso de fitorremediación:

Se colocaron plantas de ambos municipios y ambas especies en soluciones de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Pureza 90%. Marca Karal) de 0.5 M y 0.25M. Se tomaron muestras cada 5 días.

Se colocaron plantas de ambos municipios y ambas especies en soluciones de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Pureza 90%. Marca Karal) de 100ppm, 50ppm y 25ppm y se tomaron muestras en intervalos de 1 hora, durante 8 horas.

Caracterización:

La caracterización para las muestras de concentraciones molares se llevó a cabo en el equipo “Varian 50 PROBE UV-VISIBLE spectrophotometer”, mediante el software Scan, en un rango de 200-800nm, con un barrido ágil y corrección en la línea base. Se llevaron a análisis las muestras de 10 y 20 días y fueron preparadas previamente como complejos con hidróxido de amonio (Pureza 30%. Marca Karal) [11]

Aplicando la ley de Beer, se calcularon las concentraciones de las muestras usando los valores obtenidos de absorbancia a una longitud de onda de 627 nm para todas las muestras y con una curva de calibración con soluciones de 0.125 M, 0.25 M y 0.5 M. [12]

La caracterización para muestras de concentraciones en partes por millón se llevó a cabo en el equipo “Perkin Elmer. A.Analyst 200. Atomic absorption spectrometer”, empleando la lámpara de cátodo hueco específica para cobre. Se realizó una curva de calibración con soluciones de 0.5 ppm, 1 ppm y 1.5 ppm; obteniendo así los datos en ppm, obedeciendo la ley de Beer. Se realizaron diluciones (1/10) en las muestras de 100ppm.

Resultados

Como se observa en la tabla 1, tras haber transcurrido 20 días, las muestras 0.5M tratadas con *L.Sativa* de Cortázar presentan una menor absorbancia y por lo tanto una menor concentración, por otro lado, aquellas de 0.25M provenientes de Guanajuato capital, son las que presentan una

mejor remoción. En la figura 1 y 2 se comparan los espectros de las muestras de 0.5 M para ambos municipios durante 20 días.

Tabla 1. Concentraciones transcurridos 10 días y 20 días empleando *L. Sativa* de Cortázar y Guanajuato.

[] inicial	MUESTRAS A LOS 10 DÍAS				
	CORTAZAR		GUANAJUATO		
	Absorbancia	Concentración	Absorbancia	Concentración	
0.5M	0.6702	0.3602 M	0.7549	0.3978 M	
0.25 M	0.298	0.2207 M	0.3026	0.2225 M	
[] inicial	MUESTRAS A LOS 20 DÍAS				
	0.5 M	0.516	0.3052 M	0.5767	0.3287 M
	0.25 M	0.2423	0.1991 M	0.2318	0.1950 M

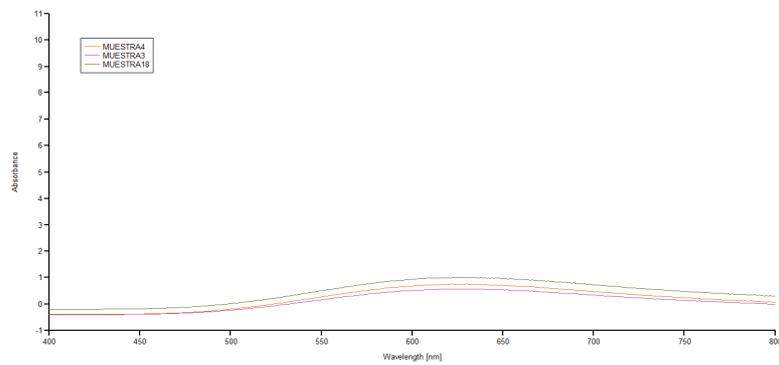


Figura 1. Espectro UV-VIS: Comparación *L.Sativa* Guanajuato. Solución 0.5M (Verde), muestras transcurridos 10 y 20 días (Naranja y rosa, respectivamente)

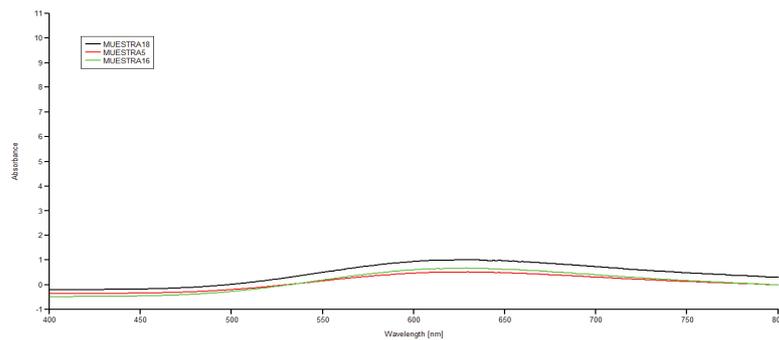


Figura 2. Espectro UV-VIS: Comparación *L.Sativa* Cortázar. Solución 0.5M (Negro), muestras transcurridos 10 y 20 días (Verde y roja, respectivamente)

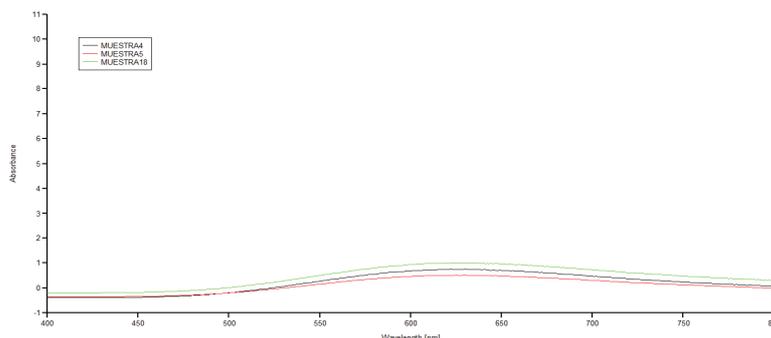


Figura 3. Espectro UV-VIS. Comparación *L. Sativa* transcurridos 10 días. Solución 0.5M (Verde), muestra Guanajuato (Negro) y Cortazar (Rojo)

En las tablas 3 y 4 se muestran las concentraciones obtenidas en el equipo de absorción atómica de muestras representativas: 1 hora, 4 horas y 8 horas, para ambas especies y de ambos municipios. Como se observa, la que obtuvo un mejor resultado en general, fue la tratada con *Lycopersicon sp.* proveniente de Guanajuato para la concentración de 25ppm. Para aquellas de concentración de 100 ppm, *L. Sativa* proveniente de Guanajuato fue la que presentó menores concentraciones trascurridas las 8 horas.

Tabla 3. Concentraciones de Cu empleando *L. Sativa*.

	Cortázar 1 hora	Guanajuato 1 hora	Cortázar 4 horas	Guanajuato 4 horas	Cortázar 8 horas	Guanajuato 8 horas
100 ppm	24.38 ppm	8.67 ppm	15.08 ppm	6.41 ppm	7.14 ppm	5.87 ppm
50 ppm	5.308 ppm	9.61 ppm	4.444 ppm	1.862 ppm	4.319 ppm	1.851 ppm
25 ppm	4.604 ppm	3.390 ppm	3.577 ppm	2.230 ppm	1.762 ppm	2.042 ppm

Tabla 4. Concentraciones de Cu empleando *Lycopersicon sp.*

	Cortázar 1 hora	Guanajuato 1 hora	Cortázar 4 horas	Guanajuato 4 horas	Cortázar 8 horas	Guanajuato 8 horas
100 ppm	20.62 ppm	23.16 ppm	20.53 ppm	21.87 ppm	15.23 ppm	21.20 ppm
50 ppm	12.36 ppm	9.263 ppm	9.11 ppm	8.369 ppm	8.25 ppm	5.682 ppm
25 ppm	3.814 ppm	5.343 ppm	3.621 ppm	2.041 ppm	2.257 ppm	0.749 ppm

Conclusiones

Con el presente trabajo se demostró la eficiencia de dos especies fitorremediadoras: *Lactuca sativa* y *Lycopersicon sp.* para la absorción de cobre; en donde *L. sativa* obtuvo en su mayoría mejores resultados, esto puede atribuirse a que el área del sistema de raíces y de almacenamiento es mayor que la de *Lycopersicon sp.* Como se observa en la muestra de 25 ppm, *Lycopersicon sp.* obtuvo resultados favorables, por lo que el uso de esta especie puede dirigirse a sitios con bajas concentraciones, o bien, incorporar la especie hasta que haya alcanzado un mayor crecimiento. Las concentraciones finales entre las especies provenientes de Cortázar y aquellas de Guanajuato capital no presentan diferencias significativas; sin embargo, en general, las muestras de Guanajuato mostraron una mejor capacidad fitorremediadora. Cabe destacar la importancia que

tienen este tipo de estudios para la futura aplicación en sitios contaminados con metales pesados, ya que ambas especies no son específicas para cobre, sino que pueden acumular otros metales como el plomo. Visto desde otra perspectiva, se debe reflexionar acerca del correcto manejo de aguas residuales (Industriales, principalmente), ya que si llegan a campos de cultivo, se absorberá material tóxico, y dependiendo de la especie que se trate, se acumulará en las raíces o llegará a las partes aéreas de las plantas, aquellas que son importantes en los procesos fisiológicos y de nuestra alimentación.

Bibliografía

- [1] Ahmad, A., Iqbal, M., & Jabeen, R. (2009) Phytoremediation of Heavy Metals: Physiological and Molecular Mechanisms. *Bot. Rev.* 75. 340-343.
- [2] Sumiahadi, A. & Acar, R. (2018). A review of phytoremediation technology: heavy metals uptake by plants. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*,142, (012023), 5.
- [3] Silva, G. H. (2005). Monitoreo de Contaminantes en Las Cuencas de Los Ríos Guanajuato, San Juan de Otates Y Turbio Y Su Impacto en El Río Lerma, Estado de Guanajuato, Mexico. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geología. 1-3,10.
- [4]Radish, A., Mahmood, T., Mehmood, F., Khalid A, Saba B, Batool A & Riaz A (2014) Phytoaccumulation, competitive adsorption and evaluation of chelators-metal interaction in lettuce plant *Environ. Eng. Management J.* 13(10). 2583-2590
- [5]Gunduz, S., Uygur, F., & Kahramanoglu, I. (2012) Heavy metal phytoremediation potentials of *Lepidium sativum* L., *Lactuca sativa* L., *Spinacia oleracea* L. and *Raphanus sativus* L. *Herald J. Agric. Food Sci. Res.* 1(1)
- [6]Achakzai, K., Bazai, Z. & Kayani, S. (2011) Accumulation of heavy metals by lettuce (*Lactuca sativa* L.) irrigated with different levels of wastewater of Quetta City Pak. *J. Bot.* 43(6), 2953
- [7]León, C.P.D., I. Sommer, S. Cram, F. Murguía, M. Hernandez and C. Vanegas. 2010. Metal uptake in a peri-urban *Lactuca sativa* cultivated area. *J. Environ. Sci. & Health*, 45, 111-120.
- [8]Sbartai, I., Djebar, M. R., Berrebbah, H., & Sbartai, H. (2016, March). Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals-“Case Tomato”. In XIV International Symposium on Processing Tomato. 1159. 95-100.
- [9]Lothe, A. G., Hansda, A. and Kumar, V. (2016), Phytoremediation of Copper- Contaminated Soil Using *Helianthus annuus*, *Brassica nigra*, and *Lycopersicon esculentum* Mill.: A Pot Scale Study. *Environmental Quality Management*, 25: 63-70.
- [10] Navarro,J., Aguilar,I. & López, J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas.* 16. 10-25.
- [11]Universidad Central de Venezuela. (2013) Guía de análisis mediante métodos de espectrometría molecular en el uv-visible. 12.
- [12] Christian, G., & Álvarez, R. (2011). *Química analítica* (6th ed.). McGraw-Hill: México. 476, 481-482

SINTESIS DE COPOLIMEROS POLARES POR EL PROCESO DE EMULSION VIA RADICALES LIBRES (FRP)

Luis Mario Magaña Maldonado, David Contreras López

^a Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N Guanajuato, Guanajuato, 36050, MÉXICO. mariomaldonado007@gmail.com

Resumen

En la actualidad, la industria de los polímeros ha cobrado una creciente importancia debido a la versatilidad de sus propiedades, así como en el impacto que estos tienen con el ambiente. La presente investigación proporciona la determinación de condiciones de operación óptimas para la polimerización de estireno y de vinil propionato en un reactor Batch, así como la copolimerización de estireno con monómeros de propionato mediante el proceso de emulsión vía radicales libres, permitiendo observar las variaciones respecto a rendimientos de reacción y pesos moleculares. Otro factor importante es la activación del iniciador para que comience el proceso de polimerización dentro de cada una de las micelas. Así mismo, se encontró que, en las copolimerizaciones, hay variaciones considerables respecto a rendimientos de reacción y pesos moleculares en la medida que se modifican las concentraciones. Además que se encontró que existen mayores rendimientos en polimerizaciones de estireno por solución que por emulsión esto debido principalmente a las técnicas de purificación utilizadas para cada caso.

Palabras clave: *Estireno, Vinil Propionato, Radicales Libres, Micela, Iniciador.*

Introducción

La polimerización en emulsión es ampliamente usada para la fabricación de varios polímeros comercialmente importantes. Muchos de estos polímeros se utilizan como materiales sólidos y deben aislarse de la dispersión acuosa después de la polimerización. En otros casos, la dispersión misma es el producto final. Una dispersión resultante de la polimerización en emulsión es a menudo llamada látex. [1]

Los látex se utilizan en un sinnúmero de aplicaciones entre las cuales podemos mencionar: adhesivos, pinturas, recubrimiento de papel y de alfombras, pegamentos para telas, tintas de impresión, productos de caucho, reforzamiento de cemento y en materiales para pruebas inmunodiagnósticos. [2]

La polimerización en emulsión es un tipo de polimerización radical que involucra a un iniciador soluble en agua, un monómero insoluble en agua y un emulsificante o surfactante (agente de estabilización formador de micelas). El principal sitio de la polimerización son las partículas de polímero (partículas de latex).

Una molécula de emulsificante (surfactante o emulgente) consiste en una larga cadena hidrocarbonada de naturaleza hidrófoba con un extremo hidrófilo. Al añadir pequeñas cantidades de emulsificante al agua, este se reparte entre la fase acuosa donde sus moléculas están individualizadas, y las interfases del sistema (adsorbidas en las gotas de monómero y/o en las

partículas de polímero y/o en la interfase líquido/gas). Al aumentar la cantidad de emulsificante su concentración en el agua aumenta y por encima de cierto valor, las moléculas de emulsificante forman agregados llamados micelas. En ellas el grupo hidrófobo de la molécula se dispone orientado hacia el interior y el grupo hidrófilo dirigido hacia la fase acuosa. La concentración de emulsificante a la que se forman las micelas corresponde a la concentración de saturación del emulsificante en el agua y se denomina concentración micelar crítica (CMC). Su valor depende de la naturaleza del emulsificante y de la presencia de electrolitos en el medio acuoso. Al añadir emulsificante por encima de la CMC; la solubilidad aparente del monómero aumenta debido a que éste puede absorberse en el interior hidrófobo de las micelas. [3]

Los iniciadores utilizados en las polimerizaciones en emulsión son normalmente solubles en la fase acuosa. En el momento en que se añade el iniciador, éste se descompone y comienza a generar radicales libres a una velocidad que depende de su naturaleza, de la temperatura del sistema y del pH del medio. Debido a que la composición del iniciador suele acidificar el medio, es necesario añadir una sustancia tampón o buffer. A temperaturas moderadas y altas (>50 C) se utilizan iniciadores disociativos tales como los persulfatos. En cambio, a temperaturas bajas (-5 a 20 C) se utilizan iniciadores de tipo Redox. [4]

En muchos sistemas industriales se añaden agentes de transferencia de cadena (modificadores o reguladores) que permiten controlar el peso molecular de las cadenas poliméricas producidas a lo largo de la reacción.

Los monómeros que son altamente solubles en agua o casi insolubles en agua no se pueden polimerizar por emulsión convencional clásica (en medio acuoso). En el caso de monómeros solubles, la polimerización en solución acuosa puede ocurrir simultáneamente con la polimerización en emulsión. [5]

Metodología

Reactivos

Monómeros: Estireno y Propionato de Vinilo: con porcentaje de pureza >98% (Sigma-Aldrich)

Lavado: Hidróxido de Sodio 0.1M

Destilación: Propionato de Vinilo 96 °C

Agente Surfactante: Dodecilsulfato Sódico (SDS).

Iniciador: Peróxido de Benzoilo y Persulfato de Potasio: con porcentaje de pureza de 97% (Sigma-Aldrich)

Solvente: Agua destilada, metil etil cetona (MEK) y Tolueno.

Purificación: Metanol 96% y Agua destilada

Polimerización de estireno por emulsión

Se siguió el proceso de polimerización por emulsión via FRP. La reacción se llevó a cabo en un reactor Batch de 250 ml, utilizando para la fase acuosa un volumen constante de 150 ml de agua destilada, con una concentración de Dodecilsulfato Sódico de 33.3 g/L, mientras que para la fase

dispersa se agregó un volumen de 20 ml de Estireno con 0.350 g de iniciador (KPS). La síntesis se realizó a una velocidad de agitación de 500 rpm a una temperatura de 60 ± 2 °C durante 3 horas.

Polimerización de estireno por solución:

Se siguió el proceso de polimerización por solución via FRP. La reacción se llevó a cabo en un reactor Batch de 250 ml, utilizando para la fase acuosa un volumen de 150 ml de Tolueno, mientras que para la fase dispersa se agregó un volumen de 20 ml de Estireno con 0.350 g de iniciador (BPO). La síntesis se realizó a una velocidad de agitación de 500 rpm a una temperatura de 60 ± 2 °C durante 3 horas.

Polimerización de Propionato de Vinilo por solución:

Se siguió el proceso de polimerización por solución via FRP. La reacción se llevó a cabo en un reactor Batch de 250 ml, utilizando para la fase acuosa un volumen de 150 ml de MEK, mientras que para la fase dispersa se agregó un volumen de 20 ml de Propionato de Vinilo con 0.350 g de iniciador (BPO). La síntesis se realizó a una velocidad de agitación de 500 rpm a una temperatura de 60 ± 2 °C durante 3 horas.

Polimerización de Propionato de Vinilo por emulsión:

Se siguió el proceso de polimerización por emulsión via FRP. La reacción se llevó a cabo en un reactor Batch de 250 ml, utilizando para la fase acuosa un volumen de 150 ml de agua destilada, con una concentración de Dodecilsulfato Sódico 33.3 g/L, mientras que para la fase dispersa se agregó un volumen de 20 ml de Propionato de Vinilo con 0.350 g de iniciador (KPS). La síntesis se realizó a una velocidad de agitación de 500 rpm a una temperatura de 60 ± 2 °C durante 3 horas.

Copolimerización de Estireno-Propionato de Vinilo

Se siguió el proceso de polimerización por solución y por emulsión vía FRP. La reacción se llevó a cabo en un reactor Batch de 250 ml, utilizando 150 ml de MEK para el caso de solución y 150 ml de Agua destilada, con una concentración de Dodecilsulfato Sódico de 33.3 g/L para la fase acuosa, mientras que para la fase dispersa se agregó una mezcla de monómeros tanto para emulsión como para solución; 15 ml de estireno con tres variaciones de propionato de vinilo en cada reacción; 2:1, 4:1, 1:1 porcentaje en peso con respecto al estireno, agregando al sistema BPO y KPS para cada caso: 350 g, a T: 60°C. La síntesis se realizó a una velocidad de agitación de 500 rpm durante 3 horas.

Purificación del polímero

Para los polímeros por emulsión, se agrega 0.5 g de Cloruro de Sodio, se disuelve en la muestra. El líquido es decantado para llevar a evaporación. Posteriormente se agregan 10 ml de Tolueno para disolver y finalmente se agrega metanol a una relación 1:1.5, se decanta dejando el sólido secar a 40 °C. Para los polímeros por solución, únicamente se lava con 80 ml de metanol frío para eliminar el disolvente y se deja secar a 40 °C.

Resultados

Tabla 1. Condiciones de operación para reacciones (S-Estireno, PV-Propionato de Vinilo) de la figura 2

REACCION	RELACION MOL S-PV	Condiciones	%Solidos	REACCION	RELACION MOL S-PV	Condiciones	%Solidos
RXN 2 Solución	PV	500 rpm, 60°C, 0.35g BPO, 150 ml MEK	13 %	RXN 8 Emulsión	4:1	500 rpm, 60°C, 0.35g KPS, 150 ml H2O-D, 5g SDS	10%
RXN 10 Solución	S	500 rpm, 60°C, 0.35g BPO, 150 ml Tolueno	12%	RXN 7 Emulsión	2:1	500 rpm, 60°C, 0.35g KPS, 150 ml H2O-D, 5g SDS	11%
RXN 4 Solución	4:1	500 rpm, 60°C, 0.35g BPO, 150 ml MEK	12%	RXN 3 Emulsión	1:1	500 rpm, 60°C, 0.35g KPS, 150 ml H2O-D, 5g SDS	15%
RXN 3 Solución	2:1	500 rpm, 60°C, 0.35g BPO, 150 ml MEK	14%	RXN 1 Emulsión	S	500 rpm, 60°C, 0.35g KPS, 150 ml H2O-D, 5g SDS	10%
RXN 5 Solución	1:1	500 rpm, 60°C, 0.35g BPO, 150 ml MEK	18%	RXN 6 Emulsión	PV	500 rpm, 60°C, 0.35g KPS0, 150 ml H2O-D, 5g SDS	11%

En la experimentación se realizaron 10 reacciones, las cuales involucraron diferentes volúmenes de Propionato de Vinilo y de Estireno de acuerdo de relaciones molares. Se mantuvieron constantes las condiciones de operación para analizar o los efectos en la polimerización.

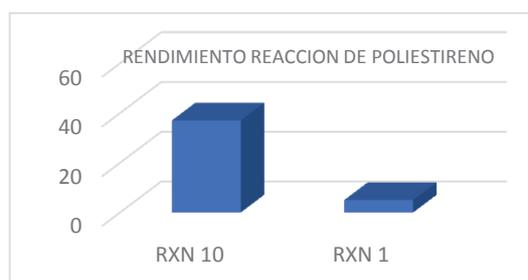


Figura 1. Gráfico de rendimiento de la reacción poliestireno, (RXN 10 por solución, RXN 1 emulsión)

En las reacciones donde se utilizó únicamente estireno como monómero, se obtuvieron mayores rendimientos para la polimerización por solución que por emulsión como se muestra en el gráfico 1, principalmente porque el solvente puede afectar al producto polimerizado además que el método de purificación por emulsión es un poco más riguroso lo que hace disminuir considerablemente el rendimiento.

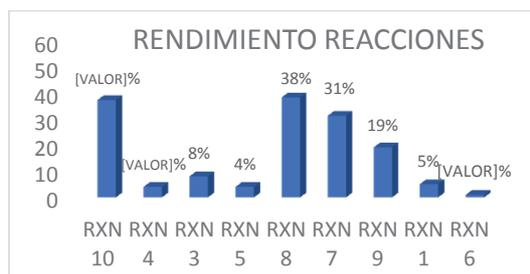


Figura 2. Gráfico de rendimiento de reacciones por solución y emulsión.

Vemos en la figura 2 que los más altos rendimientos obtenidos son en las reacciones donde involucra el mayor porcentaje en mol de estireno, excepto para la rxn 1 por emulsión ya que, por ser ligeramente soluble en agua, por lo que tiende a perderse el mayor porcentaje en sólidos de monómero durante la purificación. Es claro que, en las copolimerizaciones por emulsión, los rendimientos decrecen con el aumento de monómero de vinilo.

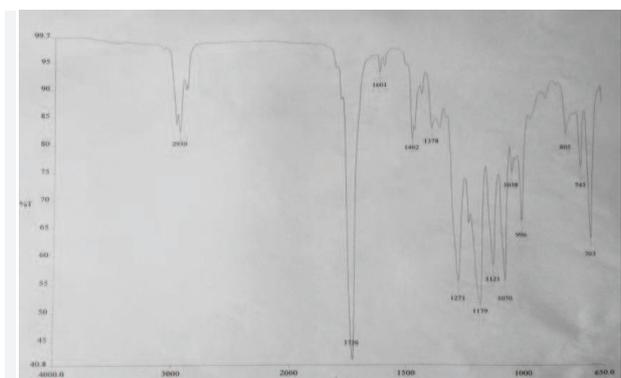


Figura 3. Espectro de Infrarrojo de Propionato de Vinilo por solución.

La figura 3 muestra el espectro de IR para la rxn 2, la cual es propionato de vinilo polimerizado, podemos apreciar la presencia algunos grupos funcionales como lo es el grupos metilo en la señal de 2930, lo cual, confirma la señal de 1400 la presencia de un grupo CH, así como se observa la presencia de un grupo C=O en la señal de 1726, lo cual pertenece a un aldehído confirmado por las señales entre 1200 y 1000. La señal de 700 nos indica la presencia de un grupo propilo. Por lo cual se puede comprobar la polimerización llevada a cabo.

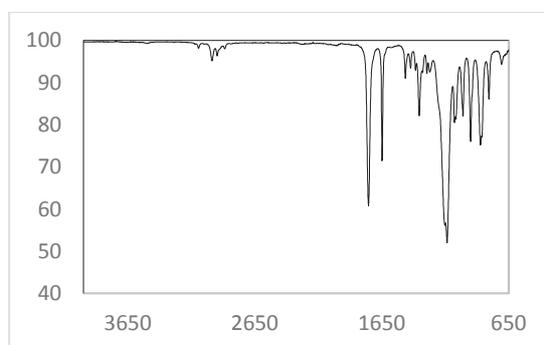


Figura 4; Espectro de Infrarojo Propionato de Vinilo monómero destilado.

En la figura 4 se puede reafirmar purificación del monómero de Vinilo logrando eliminar sus inhibidores, de los cuales principalmente se encontraban hidroquinonas como inhibidores. Por lo tanto, en el espectro no se ve ningún tipo de señal de algún compuesto cíclico.

Tabla 2. Tabla comparativa de pesos moleculares promedio en peso por viscosimetría (a 25°C)

<i>Reacción</i>	Peso Molecular kg/mol (Mv)	Peso Molecular kg/mol (MW)
RXN 10	2,582	3,098.9
RXN 4	978.6	1,174.4
RXN 3	256.7	308.1
RXN 5	2,520	3,024.1

En la tabla 2 se puede apreciar que se obtuvo un peso molecular más elevado para la reacción por solución donde involucra únicamente estireno, en las copolimerizaciones, con el aumento del porcentaje en sólidos de monómeros, disminuye el peso molecular, en el momento que se igualan las cantidades molares, los pesos moleculares incrementan.

Conclusiones

Es importante mencionar que por emulsión se obtuvieron bajas conversiones por la vida útil que presenta el iniciador. Esto determina la iniciación y propagación de la reacción puesto que su función es generar radicales libres y, por lo tanto, limita la conversión.

Se logró sintetizar copolímeros por emulsión con mayores rendimientos con la disminución de concentraciones de monómero de vinilo. Además, que es importante asegurar la formación de una concentración micelar adecuada para garantizar el medio adecuado de la reacción.

Finalmente se pudo notar que los rendimientos de las polimerizaciones de estireno son más elevados por polimerización por solución que por emulsión esto debido al tipo de purificación que se debe llevar a cabo para cada una de las diferentes técnicas.

Bibliografía

- [1] Anderson D. (2000) *Emulsion Polymerisation and applications of latex*. Akron University. Ohio.
- [2] Mendizabal. M. E. (2016). *Emulsiones, microemulsiones obtenidas mediante polimerización de monómeros*. Universidad de Guadalajara. Guadalajara
- [3] Odian, G. (1991). *Principles of Polymerization* 3rd Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.
- [4] L.M. Gunliotta (2015). *Polimerización de monómeros solubles en agua*. Universidad Nacional del Litoral. Argentina.
- [5] L. M. Gunliotta. (2013). *Polimerizaciones Radicalarias Heterogéneas*. Universidad Nacional del Litoral. Argentina.

SÍNTESIS DE POLÍMEROS DE ESTIRENO CON MONÓMEROS POLARES POR EL PROCESO DE EMULSIÓN

Francisco Javier Gaytán Lara^a, María del Rosario Galindo González^b, David Contreras López^c

^a Licenciatura en Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato. C.P. 36050. México. fj.gaytanlara@ugto.mx

^b Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato. C.P. 36050. México. galindorosario@gmail.com

^c Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato. C.P.36050. México. david.contreras@ugto.mx

Resumen

Se realizó un proceso de polimerización por el método de emulsión, con el objetivo de conocerlo, entender su importancia ya que se utiliza para la producción industrial de varios polímeros comercialmente importantes. Se utilizó un reactor enchaquetado tipo batch y como medio continuo agua, el tiempo de reacción fue de 3 horas a 85°C y agitación a 500 rpm, persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) como iniciador, dodecil sulfato de sodio ($NaC_{12}H_{25}SO_4$) como tensoactivo, agua destilada H_2O como solvente. De los polímeros obtenidos se determinó el peso molecular por la técnica de viscosimetría capilar, dando como resultado el homopolímero de estireno (S) un peso molecular en peso (Mw) teórico de 1215600 g/mol, los copolímeros de estireno (S) con diferente porcentaje de metacrilato de metilo (MMA), al 5% con Mw de 254400 g/mol, al 10% con Mw de 195900 g/mol, al 15% con un Mw teórico de 129300 g/mol, así como el copolímero de estireno (S) con acetato de vinilo (VA) al 5% con Mw teórico de 371000 g/mol. Se determinó el peso molecular por la técnica de viscosimetría capilar utilizando tolueno como solvente a 25°C, encontrando que al aumentar el porcentaje de monómero polar el peso molecular en peso obtenido fue menor.

Abstract

A polymerization process was carried out by the emulsion method, in order to know it, to understand its importance since it is used for the industrial production of several commercially important polymers. A batch type batch reactor was used and as a continuous water medium, the reaction time was 3 hours at 85 ° C and agitation at 500 rpm, potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) as initiator, sodium dodecyl sulfate ($NaC_{12}H_{25}SO_4$) as surfactant, H_2O distilled water as solvent. From the obtained polymers, the molecular weight was determined by the capillary viscometry technique, resulting in the styrene homopolymer (S) a theoretical molecular weight (Mw) of 1215600 g / mol, the copolymers of styrene (S) with different percentage of methyl methacrylate (MMA), 5% with Mw of 254400 g / mol, 10% with Mw of 195900 g / mol, 15% with a theoretical Mw of 129300 g / mol, as well as the styrene copolymer (S) with 5% vinyl acetate (VA) with theoretical Mw of 371000 g / mol. The molecular weight was determined by the capillary viscometry technique using toluene as a solvent at 25 ° C, finding that when the percentage of polar monomer increased, the molecular weight in weight obtained was lower.

Palabras clave: *Copolimerización; Proceso en emulsión; Radicales libres; Polimerización; Estireno; Tolueno.*

Introducción

Generalidades

Los polímeros son un tipo particular de macromolécula, que se caracteriza por tener una unidad que se repite a lo largo de la molécula. Por lo tanto, los polímeros son formados por la unión de moléculas más pequeñas llamadas monómeros. Las pequeñas moléculas (monómeros) se combinan entre sí mediante un proceso químico, llamado *reacción de polimerización*. En un determinado polímero, si todas las unidades monoméricas son idénticas este se llama *homopolímero*, pero si este procede de dos o más monómeros recibe el nombre de *copolímero*. Los polímeros juegan un papel importante dentro de las necesidades del consumo humano en la actualidad. Es por esto, que los científicos durante muchos años han trabajado en la modificación de propiedades físicas y químicas de estos compuestos, con el fin de producir materiales diversos según la aplicación que requieran. En el campo de producción de polímeros, a través del tiempo se ha venido trabajando en la búsqueda de procesos de síntesis, esto para buscar mejorar las propiedades finales del polímero o para buscar un mejor proceso industrial de síntesis de éste. [1].

Obtención de Polímeros sintéticos

Métodos de polimerización

Los métodos más importantes para la obtención de polímeros son: la poliadición y la policondensación.

- *Policondensación:* Método de polimerización en el cual los monómeros reaccionan a través de grupos químicos. Además del polímero, se producen también moléculas de peso molecular pequeño (ejemplo: agua).
- *Poliadición:* Método de polimerización en el cual los monómeros se unen químicamente unos a otros a través de un sitio activo (radical libre, anión, catión). Este método es el utilizado en el presente trabajo de investigación.

Polimerización radicalica

La polimerización por radicales libres o radicalica es un tipo de poliadición, el cual es un proceso con mucha utilidad para una diversidad de productos comerciales. Más del 50% de los polímeros sintetizados a nivel mundial se generan por esta vía. De las ventajas que presenta la polimerización por radicales libres es que es altamente tolerante a impurezas, se puede llevar a cabo en presencia de agua, tolerante a una amplia variedad de grupos funcionales y escalable a nivel industrial. Ejemplos de procesos de polimerización radicalica son la polimerización en masa, solución, suspensión y la polimerización en emulsión (utilizada en éste proyecto).

- Polimerización en solución

En este proceso se usa un disolvente en el cual tanto el monómero como el polímero son solubles. El uso de solventes elimina la alta viscosidad que se genera durante el crecimiento del polímero y permite una mejor disipación de calor. Por otro lado, la elección del disolvente debe ser apropiada (solubilidad y viscosidad). Si el disolvente es poco viscoso, podría favorecer la formación de cadenas de bajo peso molecular.

- Polimerización por emulsión

En este proceso de polimerización el monómero es insoluble en el medio continuo y es suspendido para formar gotas de emulsión estabilizadas usando surfactantes (tensoactivos). Los iniciadores usados son solubles en agua (o en el solvente) en contraste con la polimerización en suspensión, de tal modo que el proceso de polimerización no se da en las gotas, sino en unos entes formados por el surfactante llamados micelas, que son alimentadas por el monómero que viaja por difusión a través del medio. [2].

El desarrollo de la polimerización por emulsión se debe a Harkins precursor (1947), Smith & Ewarth (1948) que aportaron la matemática del proceso y Gardon quien la definió como un proceso de 3 Intervalos (1968).

- Concentración micelar crítica (CMC)

En solución, los tensoactivos tienden a ubicarse en las interfaces del sistema, quedando muy pocos en solución, de tal modo que la concentración de saturación es baja. Si se sigue aumentando la concentración de tensoactivo, estos no precipitan, sino que se asocian entre ellos formando unas estructuras llamadas micelas. Estas estructuras se forman debido a que la parte liofóbica de la cadena prefiere asociarse con otras partes liofóbicas, que permanecer en solución. La concentración a la cual ocurre este fenómeno (inicio de formación de micelas) es conocida como Concentración Micelar Crítica (CMC).

Caracterización

Peso Molecular

En altos polímeros, las moléculas individuales varían ampliamente en el número de átomos que contienen y, por ello, en el peso molecular. A causa de esta variación debe usarse un promedio para caracterizar una muestra particular de un polímero. Los dos promedios más comúnmente usados son el peso molecular promedio (M_n), en el cual se encuentra la masa total de las cadenas poliméricas y se divide entre el número de cadenas presentes; y el peso molecular promedio en peso (M_w), en el cual cada molécula contribuye a la medida final de acuerdo con su tamaño.

$$(1) \quad M_w = \frac{\sum n_i * M_i^2}{\sum n_i * M_i} \quad (2) \quad M_n = \frac{\sum n_i * M_i}{\sum n_i} \quad (3) \quad M_z = \frac{\sum n_i * M_i^3}{\sum n_i * M_i^2}$$

- *Distribución de peso molecular*

La medición del ancho de la distribución es la relación entre el peso molecular promedio numérico y el peso molecular promedio en peso. Esta relación es la polidispersidad (PDI o \mathfrak{D})

$$\mathfrak{D} = \frac{M_w}{M_n} \quad (4)$$

Para los polímeros comerciales, PDI esta entre 2 y 40. En los polímeros sintetizados por vía radicálica, los valores van de 2 a 3.

- *Grado de polimerización*

Una propiedad importante relacionada con el peso molecular y la cristalinidad del polímero es el grado de polimerización, que se define como el número de unidades monoméricas que se unen para formar una cadena (n).

- *Peso molecular promedio de viscosidad*

En soluciones viscosas, la medición es el peso molecular promedio de viscosidad (M_v). La determinación se lleva a cabo por medio de la medición de viscosidad intrínseca en solución diluida, ya que los polímeros vuelven viscosa una solución cuando se les disuelve en un disolvente, forzando a las moléculas del disolvente a moverse más lentamente al igual que ellas. Cuanto mayor es el peso molecular, más viscosa será la solución. Este método es barato, rápido y de rutina básica.

$$\bar{M}_v = \left[\sum w_x M_x^a \right]^{1/a} = \left[\frac{\sum N_x M_x^{a+1}}{\sum N_x M_x} \right]^{1/a}$$

(5)

Donde a es una constante dada para cada polímero y se encuentra entre 0.5 a 1.0.

El presente trabajo de investigación está enfocado en el estudio de la copolimerización del estireno (S) con metacrilato de metilo (MMA) mediante el proceso en emulsión a diferentes porcentajes de monómero, así como la copolimerización del estireno (S) con acetato de vinilo (VA) con el fin de analizar su eficacia en la obtención de polímeros sintetizados en laboratorio e industrialmente. Se obtuvo el homopolímero de estireno (S). Posteriormente se obtuvieron los copolímeros a diferente porcentaje en peso de los monómeros (5, 10 y 15% de metacrilato de metilo MMA), siempre con estireno (S) en mayor proporción, poniendo especial atención en la influencia del porcentaje en sólidos en el peso molecular del polímero final. Para caracterizar, se determinó el peso molecular por la técnica de viscosimetría capilar y la ecuación de Mark-Houwink.

Metodología Polimerización

La obtención de los copolímeros de estireno (S) y metacrilato de metilo (MMA), así como el copolímero de estireno (S) y Acetato de vinilo (VA) fue obtenido mediante una polimerización en emulsión vía radicales libres convencionales (FRP). Para dicha reacción se utilizó un reactor

enchaquetado tipo batch y como medio continuo agua. Los monómeros estireno, metacrilato de metilo (MMA) y acetato de vinilo (VA) así como el dodecil sulfato de sodio ($\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$) (surfactante), persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), fueron adquiridos de alta pureza (Sigma-Aldrich). Metanol (Grado RA, Merk). En todas las reacciones realizadas se utilizaron 20 mL de monómero, ajustando según el homopolímero o copolímero a realizar la cantidad de mmol de cada monómero a adicionar, manteniendo constante la cantidad de iniciador (7.97 mL de persulfato de potasio $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ al 0.68%), de tensoactivo o surfactante (25mL de dodecil sulfato de sodio $\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$ al 3.56%) y el solvente (32.55mL de agua destilada H_2O). Además se mantuvo constante la temperatura de reacción (85 °K), la velocidad de agitación fue de 500 rpm y el tiempo de reacción de 3 h.

- Purificación del polímero

Con el propósito de purificar el polímero la emulsión obtenida se sometió a un proceso de desestabilización por adición de sales, adicionando 1g de Cloruro de sodio NaCl, enseguida se filtró al vacío, se sometieron a evaporación por calentamiento en parrilla las aguas madres por 30 min. A continuación el sólido obtenido se depositó en un matraz y se adicionó Tolueno (metilbenceno $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$) aproximadamente 50 mL hasta disolver el polímero presente, se decantó la solución, para eliminar residuos sólidos no deseados. A continuación se adicionó lentamente y agitando metanol CH_3OH aproximadamente 50 mL hasta precipitar el polímero y extraerlo del recipiente por decantación. Se pesó en balanza analítica el producto obtenido y se sometió a secado en estufa a 60°C por 48 h para posteriormente pesar de nuevo y calcular el rendimiento.

- Obtención del peso molecular

La determinación de los pesos moleculares de viscosidad (M_v) y en peso teórico (M_w) del homopolímero y los copolímeros se realizó por una técnica de viscosimetría capilar utilizando un viscosímetro de Ostwald número 150 y la ecuación de Mark-Houwink. El solvente utilizado fue tolueno a temperatura de 25°C.

$$[\eta] = K' M^\alpha$$

Figura 2. Ecuación de Mark-Houwink

Donde:

$[\eta]$ = Viscosidad intrínseca.

K= Constante de Mark Houwink (depende del polímero y solvente)

α = Constante de Mark Houwink (depende del polímero y solvente)

M= Viscosidad promedio o Peso molecular promedio en numero

Resultados y discusión

Tabla 1: Homopolímero PS 100 %

Concentración (g/mL)	η_r (t/t0)	η_{SP} (t-t0/t0)	η_{red}	(η_{SP}/C)	η_{inh} (ln η_r/C)
0.002	1.6612	0.6612	330.6257	253.7856	
0.001	1.4119	0.4119	411.8764	344.9196	
0.0005	1.2018	0.2019	403.6355	367.6704	
0.00025	1.1221	0.1221	488.6204	461.0041	

Gráfica 1: Homopolímero PS 100 %

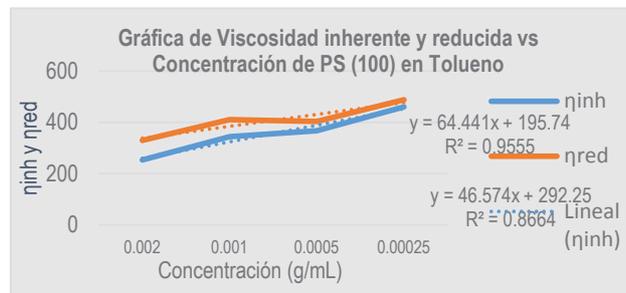


Tabla 2: Homopolímero PS 100 %

$[\eta]$	α (Tolueno a 298°K)	K PS(10 ⁻³)	Mv (($[\eta]/K'$) ^(1/α)) (g/Mol)	Mw (1.2Mv) (g/Mol)
195.74	0.62	37	1013000	1215600

El Peso molecular en peso teórico (Mw) fue de 1215600 g/Mol lo cual es un peso molecular bastante alto. Se realizó el mismo procedimiento para cada copolímero, mostrando los resultados resumidos en la tabla 4.

Tabla 4: Comparativa

Polímero	Proporción	Mv (g/Mol)	Mw (teórico) (g/Mol)
PS	100	1013000	1215600
PS-PMMA	95 - 5	212000	254400
PS-PMMA	90 - 10	163200	195900
PS-PMMA	85 - 15	107800	129300
PS – PVA	95 - 5	309100	371000

Se realizaron tablas de resultados y gráficas para cada copolímero y con los datos obtenidos de Mv se procedió a calcular el peso molecular en peso teórico y se realizó la tabla comparativa donde se puede observar que al incrementar el porcentaje del monómero polar (MMA por ejemplo) el peso molecular viscoso Mv disminuye, por lo cual se concluye que el peso molecular en peso Mw (teórico) también disminuirá.

Conclusiones

En copolímeros de estireno al aumentar el porcentaje de monómero polar el peso molecular en peso (Mw) disminuye. El proceso de polimerización por emulsión es complejo, ya que el surfactante provoca impurezas en el polímero y por ello se requiere el procedimiento de purificación del polímero descrito en el procedimiento, sin embargo los pesos moleculares altos son difíciles de obtener en emulsión por lo cual dio como resultado polímeros con pesos moleculares excelentes.

Agradecimientos

A la Dra. María Del Rosario Galindo González por el apoyo brindado en asesoría, material y capacitación y al Dr. David Contreras López por su confianza, conocimiento y proporcionar el espacio de trabajo y equipos.

Referencias

1. - Long, Timothy E. & McGrath, James E. 2008. “*Polymers, Synthesis*”. Encyclopedia of Physical Science and Technology, 3, 751–774.
2. - Chern, Chorng-Shyan. 2008. “*Principles and Applications of Emulsion Polymerization*”. Wiley VCH.
3. - Sandler, R. Stanley. 1998. “*Polymer synthesis and Characterization*”. 14-16.
4. - López Santamaría, C. Andrés. 2011. “*Modelo de Estabilidad de Emulsiones Poliméricas*”. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. Bogotá D.C., Colombia.
5. - Aranberri, I.; Binks, B.P.; Clint, J.H. & Fletcher, P.D.I. 2006. “*Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensioactivos*”. Revista Iberoamericana de Polímeros Vol. 7(3), Agosto de 2006.

SÍNTESIS HIDROTHERMAL DE SULFURO DE MOLIBDENO UTILIZANDO DIVERSOS PRECURSORES DE AZUFRE Y MOLIBDENO

Arizbeth Vianey Andrade Lobatón^{a,b}, Claudia Martínez Alonso^b, María del Rosario Galindo González^a, Ma. Concepción Arenas Arrocena^b

- a. División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato, Sede Noria Alta, Noria Alta S/N Col. Noria Alta, Guanajuato, Gto. C.P. 36050, México.
ariz.lobaton@gmail.com
- b. Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León de la Universidad Nacional Autónoma de México. Blvd. UNAM 2011, Predio El Saucillo y El Potrero, Comunidad de los Tepetates. León, Gto. C.P.37684, México.

Resumen

El sulfuro de molibdeno es un mineral semiconductor (MoS_2 -Molibdenita) del tipo 2D y transparente, de estructura laminar análoga al grafito; al contener una lámina de átomos de Mo por dos de S con enlace principalmente covalente; al formar capas existen interacciones de Van Der Waals entre éstas. Se reporta la energía de banda prohibida para el MoS_2 de 1-2 eV lo cual permite que una sus principales aplicaciones sea como extractor de huecos en celdas solares. En este trabajo se emplean distintos precursores de Mo y de S en la síntesis vía hidrottermal del MoS_2 ; se reporta que éste método es empleado ampliamente para la obtención de diversas nanoestructuras de semiconductores, al tener ventajas sobre el control de la morfología y las condiciones no complejas de síntesis como temperatura, atmosfera, tiempo de reacción, entre otras. Lo anterior tiene como finalidad concluir el efecto del precursor en las características finales del MoS_2 tales como fases cristalinas, morfología, niveles energéticos y resistencia eléctrica.

Palabras clave: *Semiconductor, TMD, MoS_2 , nivel energético.*

Introducción

Los avances en materiales 2D son liderados por algunas de las principales formas alotrópicas del carbono, como lo son: el fullereno con su forma esférica, que impulsó inicialmente en 1985 [1] la búsqueda de materiales en capas y como resultado, el grafeno [2] con su forma plana-hexagonal, es el principal exponente. Desde su aislamiento en 2004, los investigadores han descubierto cientos de materiales bidimensionales (2D), que tienen una o varias capas atómicas de grosor y tienen propiedades de alto interés como una resistencia excepcional, una gran movilidad de electrones o capacidades reactivas excepcionales brindando a sus aplicaciones nuevas y únicas propiedades y funciones atribuibles a la escala (1-100) nm [3].

Los TMDs (*Transition Metal Dichalcogenoides*) son ejemplo de materiales 2D; siendo compuestos de estructura X-M-X donde M es un metal de transición del bloque d (V, Cd, W, Zn, Mo) y X es el dicalcogenuro (S, Se, Te). Esto es, son tres laminas: dos láminas de átomos de dicalcogenuro por una lámina de átomos de metal, ésta última se encuentra ubicada entre las primeras, empaquetadas a modo de “sándwich”, el enlace X-M es covalente. Es así como se forma una lámina con celdas hexagonales de analogía estructural al grafeno, a medida que el número de laminas aumenta y se forman capas, similar a la formación del grafito, el enlace entre

láminas será de tipo Van Der Waals. Lo que explica las propiedades y aplicaciones de los TMDs en la óptica, electrónica, catálisis, lubricantes, entre otras. El MoS₂ es un TMD semiconductor y posee además de una estructura laminar, sitios activos en centro del hexágono, entre el enlace Mo-S, sobre el Mo y sobre S, lo que le brinda aplicaciones de catálisis [4]. También, se reportan valores de banda prohibida para el MoS₂ en bulto (indirecta) y monocapa (directa) de: ~1.2 eV y ~1.85 eV, respectivamente.

El método hidrotermal se reporta para la obtención de diversas nanoestructuras de semiconductores, al tener ventajas sobre el control de la morfología y las condiciones no complejas de síntesis como temperatura, atmosfera controlada, tiempo de reacción, entre otras.

Metodología

Como ya se mencionó, la síntesis del MoS₂ se realizó cambiando las fuentes de los precursores tanto de azufre como de molibdeno, los reactivos empleados se enlistan en la tabla 1.

Tabla 1 Lista de precursores de Mo y S

Precursor de Molibdeno	Precursor de Azufre
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O (Molibdato de amonio)	CH ₄ N ₂ S (Tiourea)
MoO ₃ (Óxido de Molibdeno)	C ₂ H ₅ NS (Tioacetamida)
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O (Molibdato de sodio)	

Entonces, al combinar entre sí las fuentes de molibdeno con las fuentes de azufre, se obtuvieron seis distintos materiales de MoS₂, denominados grupos y se nombraron como se tabula a continuación:

Tabla 2 Grupos resultantes al combinar los diferentes precursores

Grupo A	Grupo D
<ul style="list-style-type: none"> • CH₄N₂S • (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 	<ul style="list-style-type: none"> • C₂H₅NS • (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O
Grupo B	Grupo E
<ul style="list-style-type: none"> • CH₄N₂S • MoO₃ 	<ul style="list-style-type: none"> • C₂H₅NS • MoO₃
Grupo C	Grupo F
<ul style="list-style-type: none"> • CH₄N₂S • Na₂MoO₄·2H₂O 	<ul style="list-style-type: none"> • C₂H₅NS • Na₂MoO₄·2H₂O

Los precursores se disolvieron por separado en un volumen total de 0.036 L. Una vez lograda la disolución total de cada precursor, mediante el empleo de agitación magnética por 5 minutos y sonicación por 3 minutos, se mezclaron para agitar magnéticamente por 5 minutos más. Al término se colocó la disolución en el interior de un vaso de teflón y éste en el interior del reactor hidrotermal, cerrándolo herméticamente.

El reactor fue dispuesto en el interior de un horno previamente llevado a la temperatura de reacción, 220 °C. La reacción transcurrió en 6 horas, una vez transcurridas el horno se apagó para continuar con el enfriamiento natural del reactor.

Al tener el material frío y de apariencia negra con brillo metálico se procedió con el proceso de lavado alternando agua y etanol, entre cada lavado el material se sonicó por 5 minutos y centrifugó por 10 minutos a 4 000 rpm. El proceso de lavado se llevó a cabo por 4 ocasiones.

Al tener completamente seco el material, se procedió con la molienda y resguardo del mismo para su posterior caracterización y evaluación electroquímica.

La caracterización se inició con la medición de la difracción de rayos X en el equipo Rigaku Ultima IV X-Ray diffractometer (CuK-radiation $\lambda=0.154$ nm), se midió fotoluminiscencia (PL) con longitud de onda incidente de 450 nm brindada por una lámpara de Xenon, en el interior del espectrofluorómetro FS5 de Edinurgh instruments, voltamperometría cíclica (VC) y espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) en el Potenciostato/Galvanostato biologic modelo SP-150 con Software Ec-Lab V10.19, V10.19, y una celda de tres electrodos (como contraelectrodo (CE) se usó alambre de Pt, como electrodo de trabajo (WE), se utilizó un electrodo de carbón vítreo y como electrodo de referencia (RE) Ag/AgCl en KCl 3.5 M). Esto con la solubilización previa del MoS₂ en H₂SO₄ al 20% y en un intervalo de 1.5 a 0 V a 100 mV/s.

Resultados

De los resultados obtenidos mediante XRD (*figura 1*) se demuestra la obtención de MoS₂ en su estructura cristalina de 2H y 3R por la obtención de los picos característicos en el difractograma (14.4, 32.8 y 58.3) ° así como otros picos correspondientes a impurezas, productos secundarios o bien, reactivos sin reaccionar.

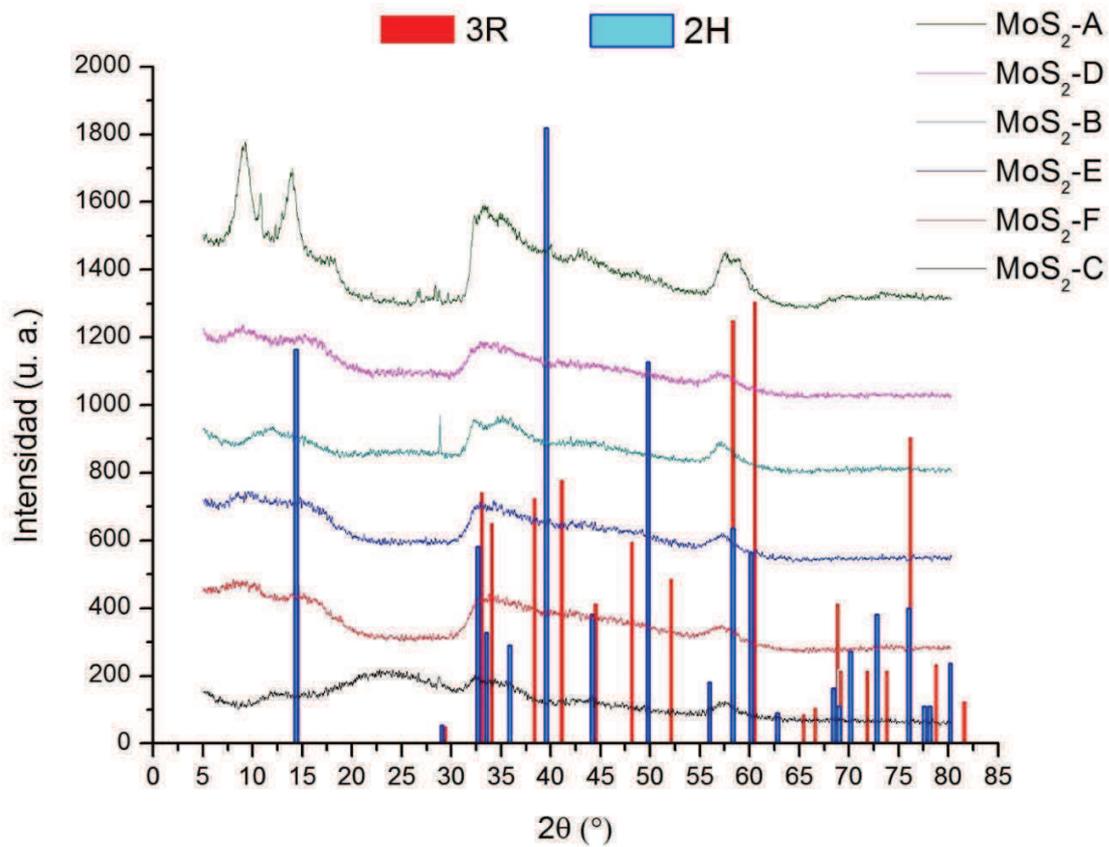


Figura 3 Difractograma de los distintos MoS₂ sintetizados

En los resultados de TEM (*figura 2*) podemos observar que no existe ningun efecto en el empleo de distintos precursores de Mo, caso contrario en la fuente de S, donde sí hay cambio en el tamaño de las nanohojas de todos los grupos, disminuye en el empleo de muestras con Tioacetamida. En el empleo de Tiourea, existe un efecto de aglomerado en dos de los grupos B y C, mientras que la morfología en el grupo A, no sólo es nanohojas sino también nanopartículas.

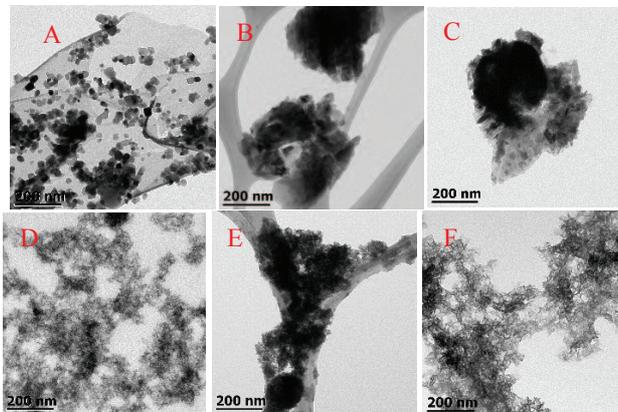


Figura 2 Morfología de MoS₂ sintetizados obtenida mediante TEM

Los resultados en la evaluación de VC para la determinación de las bandas de valencia (BV) y banda de conducción (BC) y, en contraste con PL, para la evaluación de la banda prohibida se muestran en la *tabla 3*. Se observa una tendencia de los diferentes grupos en formar banda prohibidas directas o en monocapa, el grupo y combinación con la banda prohibida menor es el A con la combinación de $\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$ y $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

Tabla 3 Valores de banda de energía, niveles energéticos y longitudes de onda de emisión para los distintos MoS₂-grupo obtenidos por VC (verde) y PL (azul)

Material	BV/BC (eV)	Banda prohibida (eV)	Longitud de onda de emisión (nm)	Banda prohibida (eV)
MoS ₂ -A	-5.30/-3.84	-1.46	542	-2.29
MoS ₂ -B	-5.30/-3.80	-1.51	541	-2.30
MoS ₂ -C	-5.45/-3.84	-1.61	539	-2.30
MoS ₂ -D	-5.52/-3.84	-1.67	541	-2.29
MoS ₂ -E	-5.54/-3.86	-1.68	541	-2.29
MoS ₂ -F	-5.51/-3.84	-1.67	550	-2.25

En la *figura 3* podemos observar el espectro de impedancia de los materiales obtenidos, por la forma del espectro se concluye que la resistencia es mínima, dado que el material no presenta interacción con el medio electrolítico, por lo que es un buen conductor.

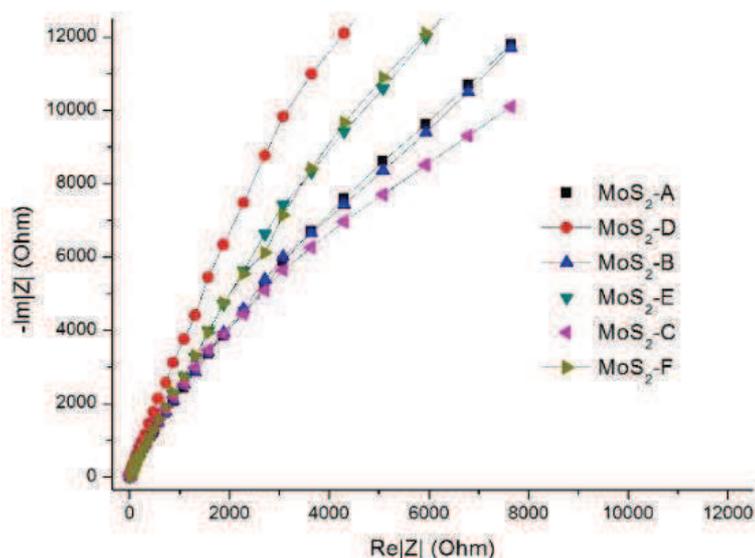


Figura 3 Espectros de impedancias de los MoS₂ sintetizados

Conclusiones

El MoS₂ es de los minerales semiconductores más empleados por sus diversas aplicaciones lo que hace que sintetizarlo vía hidrotermal sea favorable en cuanto a costo-beneficio. Se obtuvo el MoS₂ por el método hidrotermal con distintos precursores de azufre y molibdeno. Se logró la estimación de los niveles energéticos y de los distintos MoS₂ sintetizados mediante técnicas electroquímicas y de fotoluminiscencia. Concluyendo que el molibdato de amonio en

combinación con la Tiourea disminuye el band gap. Así como la Tiourea afecta en la morfología al obtenerse nanopartículas, adicionales a las nanohojas, así como promover aglomeración en los dos grupos adicionales que la contienen. En el caso de los grupos con Tioacetamida el tamaño de los cristales es disminuido. No se observa efecto en el empleo de distintas fuentes de Mo.

Bibliografía

- [1] Kroto H. W., Heath J. R., O'Brien S. C., Curl R. F. & Smalley R. E. (1985) "C⁶⁰: Buckminsterfullerene", *Nature*, 318, (3), 162- 163.
- [2] Lay E., Chng K., Sofer Z. & Pumera M. 2014 "MoS₂ exhibits stronger toxicity with increased exfoliation", *RSC: Nanoscale*, 6, (23), 14412–14418.
- [3] Emadi H., Salvati-Niasari M. & Sobhani A. (2017) "Synthesis of some transition metal (M: ²⁵Mn, ²⁷Co, ²⁸Ni, ²⁹Cu, ³⁰Zn, ⁴⁷Ag, ⁴⁸Cd) sulfide nanostructures by hydrothermal method", *Advances in Colloid and Interface Science*, 246, (17) 52-74.
- [4] He Z. & Que W. (2016) "Molybdenum disulfide nanomaterials: Structures, properties, synthesis and recent progress on hydrogen evolution reaction", *Applied Materials Today*, 3, (2352), 23-56.

CARACTERIZACIÓN DE UNA MUTANTE DE LA ENZIMA TRANSIALIDASA DE *Tripanosoma cruzi* (TcTS) Y SU POTENCIAL PARA EL DESARROLLO DE UNA VACUNA CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Carlos Miguel Barajas Arteaga ^a, Julio Cesar Villagómez Castro ^a, Sabine Flitsch ^b, Juana Elizabeth Reyes Martínez ^a.

^a Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N; Guanajuato, Gto. C.P. 36050; MÉXICO. E-mail: juana.reyes@ugto.mx

^b Manchester Institute of Biotechnology, University of Manchester, Oxford Rd, Manchester M13 9PL, REINO UNIDO.

Resumen

La enfermedad de Chagas es una infección causada por el parásito *Tripanosoma cruzi*, esta condición se caracteriza por presentar en su fase aguda síntomas generales como fiebre y fatiga, y en su fase crónica genera afecciones al corazón. Actualmente el tratamiento principal se enfoca en fármacos antiparasitarios, cuya alta toxicidad se ha observado en periodos prolongados de administración; hasta la fecha no hay vacuna contra la enfermedad. *T. cruzi* se caracteriza por evadir al sistema inmune añadiendo ácido siálico a su superficie; este ácido siálico es obtenido del hospedero por la acción de una enzima llamada transialidasa (TcTS). Debido a que el humano carece de proteínas similares a esta, la hace un blanco potencial para el diseño de una vacuna. En este proyecto de investigación, se trabajó con el constructo pTrcHis-A-TcTS en el cual se encuentra insertado el marco de lectura abierto del sitio catalítico de la enzima TcTS. Mediante la técnica de mutagénesis sitio dirigida, se generó una biblioteca de mutantes y usando un método colorimétrico el cual nos permitió medir la actividad relativa de la tran-sialidasa, se identificó una mutante inactiva. El DNA plasmídico de dicha mutante será aislado para confirmar la presencia del gen en el constructo y posteriormente identificar las mutaciones mediante secuenciación. La expresión y purificación de la enzima TcTS con actividad nula, nos permitirá realizar estudios en los que se determinará la capacidad para inducir una respuesta inmune protectora contra la enfermedad de Chagas.

Palabras clave: Chagas; *Trypanosoma cruzi*; transialidasa; ácido siálico.

Introducción

La tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas) es una zoonosis parasitaria causada por *Tripanosoma cruzi*, éste parásito flagelado es transmitido por el insecto *Triatominae*. La tripanosomiasis es una enfermedad endémica en gran parte de Latinoamérica. Sin embargo, en las últimas décadas se ha observado con mayor frecuencia en los Estados Unidos de América, Canadá, muchos países europeos y algunos del Pacífico Occidental. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) se calcula que hay entre 6 y 7 millones de personas infectadas a nivel mundial y se diagnostican aproximadamente 40,000 casos nuevos cada año [1-2]. En la República Mexicana se ha reportado que 19 de las 31 especies endémicas de *Triatominae* se

encuentran infectadas por *T. cruzi* incrementando la posibilidad de transmisión. El reservorio natural del parásito lo constituyen los armadillos, marsupiales (tlacuaches), roedores, murciélagos y primates silvestres, además de ciertos animales domésticos como perros, gatos, incluso ratas y coballos [3].

En el humano, *T. cruzi* causa linfadenopatías, cefalea, salpullido, y fiebre pero también causa miocarditis, arritmia y falla cardiaca llegando a ser mortal. Así mismo provoca daños irreversibles en aparato digestivo y sistema nervioso periférico. En la fase aguda de la enfermedad se genera un proceso inflamatorio agudo, destrucción de células musculares y de células nerviosas [4-5].

El tratamiento contra la tripanosomiasis es la administración de benznidazol y/o nifurtimox. Ambos medicamentos son eficaces en el tratamiento de la enfermedad si se administran en etapas tempranas de la infección. Sin embargo, su eficacia disminuye a medida que transcurre el tiempo debido a la resistencia del parásito. Además el tratamiento es costoso y altamente tóxico si se administra por periodos prolongados y no se puede administrar a mujeres embarazadas [6-7]. Actualmente no hay vacunas contra la enfermedad de Chagas por lo que es necesaria la búsqueda de tratamientos alternativos para combatir las infecciones por este parásito.

T. cruzi contiene una enzima llamada Transialidasa unida a su membrana por un enlace glicofosfatidilinositol. Ya que *T. cruzi* es incapaz de sintetizar ácido siálico *de novo* lo obtiene de los glicoconjugados del hospedero mediante dicha enzima. La actividad de la Transialidasa de *Trypanosoma cruzi* (TcTS) se describió por primera vez en 1992 por Schenkman y cols [8].

Se ha demostrado que cuando *T. cruzi* emerge de las células del hospedero, contiene muy poco o nada de ácido siálico en su superficie. Sin embargo, rápidamente después de entrar en circulación, expresa en su membrana la TcTS la cual se encarga de recubrir la superficie del parásito con ácido siálico añadiéndolo a los residuos que contienen α -galactopiranosas en las mucinas del parásito. Este mecanismo le permite al parásito evadir la respuesta inmune y también escapar hacia el citoplasma, donde se replica [8-10].

La actividad de la TcTS ha sido bien estudiada y se ha confirmado que la presencia de glicoconjugados ricos en ácido siálico le confieren al parásito resistencia a la actividad lítica de los anticuerpos favoreciendo la sobrevivencia del parásito. Además, el tratamiento del parásito con un coctel de sialidasas lo sensibiliza a componentes líticos del complemento y la fagocitosis del mismo se ve incrementada [11]. También, se ha demostrado que en células dendríticas, las mucinas sialiladas del parásito promueven la inmunosupresión [12].

TcTS es una *exo- α -sialidasa* que pertenece a la familia 33 de las glicohidrolasas (GH33) de acuerdo a la clasificación de la base de datos del CAZy (Carbohydrate Active Enzyme Database; <http://www.cazy.org/>). Dado que no se han identificado proteínas similares a TcTS en humanos, la convierte en un blanco para el diseño y/o desarrollo potencial de fármacos y vacunas.

En este sentido, estudios realizados anteriormente, han identificado la presencia de anticuerpos anti-TcTS en humanos en estadios crónicos de la infección y la transferencia pasiva de anticuerpos contra TcTS en un modelo de infección murino, previene el daño en múltiples órganos causado por el parásito [13]. Avances en la tecnología para la generación de anticuerpos monoclonales, han permitido determinar que anticuerpos específicos anti-TcTS reducen la

infección de células en modelos in vitro. [13-14]. Dado que la TcTS es un factor de virulencia que afecta células y órganos del sistema inmune, su administración en su forma activa en humanos es poco recomendable.

En nuestro grupo de trabajo, se ha logrado realizar la expresión heteróloga de TcTS. También, se ha logrado estandarizar un método colorimétrico para el estudio de la actividad enzimática de la TcTS y finalmente, mediante el uso de técnicas como mutagénesis sitio dirigida se ha generado una mutante de la enzima TcTS carente de actividad de trans-sialidasa.

Por lo que en el presente proyecto, se pretende caracterizar plenamente a la mutante generada y evaluar su inmunogenicidad con la posibilidad de desarrollar alternativas para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

Metodología

Para la realización de los objetivos planteados, se utilizó la metodología que se describe a continuación:

1.1 Cultivo de *E. coli* BL21- β GalKO

En el presente proyecto se trabajó con una cepa de *E. coli* BL21 deletante para la enzima β -galactosidas. La cepa de *E. coli* BL21- β GalKO fue amablemente donada por el Dr. Josef Voglmeir del Centro de Investigaciones en Glicómica y Bioingeniería de Glicanos de la Universidad de Agricultura de Nanjing, China. A partir de una alícuota se sembró en medio Luria Bertani sólido a 37 °C toda la noche, para obtener colonias aisladas. Se tomó una colonia con la que se inocularon 5 mL de medio LB líquido durante toda la noche a 37 °C.

1.2 Generación de células competentes

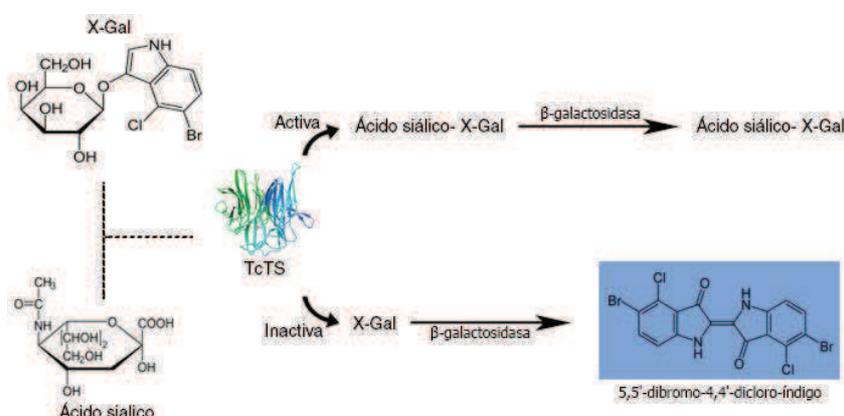
Se tomaron 200 μ L de medio de cultivo previamente inoculado toda la noche y que contuvieran *E. coli* BL21- β GalKO y se añadieron a un matraz de 250 mL con 50 mL de medio LB fresco sin antibiótico. Se incubó a 37 °C con agitación constante hasta alcanzar una densidad óptica (O.D.600) de 0.6. Una vez alcanzada la O.D. deseada se colocó el cultivo en hielo por 10 minutos. Para posteriormente centrifugar la suspensión celular durante 10 minutos a 4000 rpm a 4 °C. Se desechó el sobrenadante y se resuspendió la pastilla suavemente en buffer TB (solución de PIPES, CaCl₂-2H₂O y KCl, pH 6.7). Las células se colocaron nuevamente en hielo por 10 minutos. Se centrifugó la muestra nuevamente para recolectar las células, se descartó el sobrenadante para finalmente resuspender la muestra en 1.6 mL de buffer TB, una vez resuspendida la muestra, se añadieron 112 μ L de Dimetilsulfóxido (DMSO) – TB DMSO 7% y se realizaron alícuotas las cuales se conservaron a -70 °C hasta su posterior uso.

1.3 Transformación de células *E. coli* BL21- β GalKO

Se utilizó el método de choque térmico, en donde las células competentes de *E. coli* BL21- β GalKO se descongelaron y se añadieron 50 ng de pDNA –pTrcHis-TcTS-nativa ó TcTS-mutante. Posteriormente, el tubo se colocó en hielo durante 30 minutos y se dió un choque térmico a 42 °C por 45 segundos, regresando al hielo por 2 minutos, posteriormente se añadió 1 mL de LB líquido y se incubó a 37°C por una hora. Se sembraron las células en medio LB sólido adicionado con ampicilina y las placas se incubaron toda la noche a 37 °C. Se calculó la eficiencia de transformación a las 24 horas de incubación.

1.4 Ensayo de actividad enzimática

Para la determinación de la actividad enzimática, se siguió el método reportado por Reyes-Martinez *et. al.* en 2013 [15] con modificaciones. Se utilizó suero fetal bovino (SFB) como donador de ácido siálico y 5-bromo-4cloro-3indolil- β -D-galactopiranosido (X-Gal) (Sigma-Aldrich) como aceptor a una concentración final de 1mM. A esta mezcla de reacción se añadieron 20 μ L de sobrenadante que contenía la enzima recombinante y se incubó 1 hora y 6 horas a 25°C. Posteriormente se agregaron 4 μ L de la enzima β -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis* (Sigma), esta última remueve la galactosa del compuesto X-Gal favoreciendo la formación de complejos indólicos lo que genera la aparición de una coloración azul (Esquema 1). Posteriormente se determinó su Absorbancia la cual se midió por espectrofotometría a 630 nm (Epoch, BioTek). Cada reacción se realizó por duplicado.



Esquema 1. Reacción de colorimetría para la determinación de la actividad de trans-sialidasa.

Resultados

En este proyecto se usaron las células competentes *E. coli* BL21- β GalKO para su transformación con el plásmido pTrcHis-TcTS-nativa y pTrcHis-TcTS-mutante (Figura 1); de las cuales se obtuvieron las siguientes eficiencias de transformación: TcTS nativa= 1.1×10^4 ufc/ μ g DNA, TcTS mutante= 1.2×10^3 ufc/ μ g DNA.

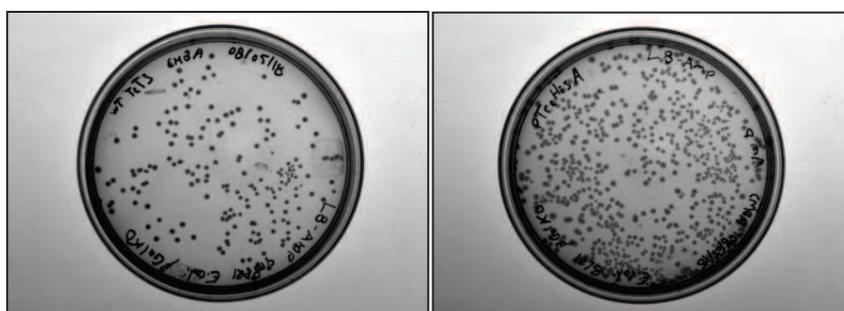


Figura 1. Células de *E. coli* BL21 β Gal KO transformadas con los constructos pTrcHis-TcTS-nativa (Derecha) y pTrcHis-TcTS-mutante (Izquierda).

Una vez obtenidos los cultivos transformados con el plásmido que contiene la secuencia codificante para la proteína mutante y silvestre de la transialidasa se procedió a analizar la actividad enzimática con el método colorimétrico establecido, con esta metodología se podrán obtener datos semicuantitativos tras la determinación de la absorbancia a 630nm. En dicha reacción, la intensidad de la coloración será inversamente proporcional a la actividad de transialilación. Esto es, que entre más colorida este la muestra menor actividad presentará la enzima. Se analizaron 20 colonias aisladas transformadas con el plásmido que contiene la secuencia codificante para la proteína mutante; se tomó como control negativo de actividad una reacción sin enzima y como control positivo una reacción con la enzima silvestre de la transialidasa.

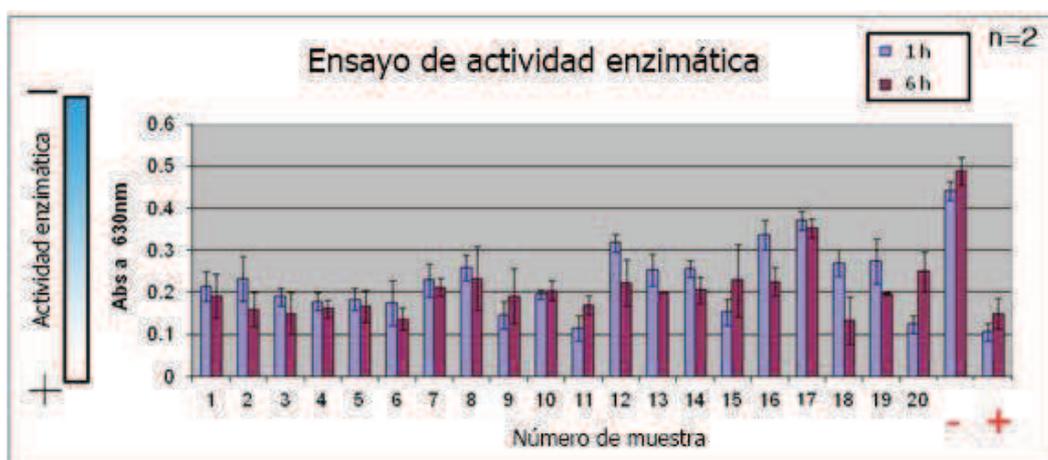


Figura 2. Ensayo de actividad enzimática para 20 colonias de *E. coli* BL21 β Gal KO transformadas con el plásmido codificante para la enzima transialidasa mutante.

De los datos obtenidos se sacó un promedio, el cual se graficó y se determinó su desviación estándar obteniendo así la gráfica con la actividad enzimática de las cepas mutantes de TcTS (Figura 2). Esta gráfica confirmó lo propuesto en el Esquema 1; en donde las enzimas mutantes poseen menor actividad respecto a la enzima TcTS nativa, por lo tanto mayor absorbancia fue observada. Con este resultado se identificó una colonia de *E. coli* BL21- β GalKO que expresa una mutante de la enzima transialidasa con el menor grado de actividad (Número 17), la cual será usada en estudios posteriores.

Conclusiones

Se logró transformar células de *E. coli* BL21- β GalKO para producir la enzima recombinante TcTS nativa y mutante. Se determinó la actividad enzimática de dichas mutantes y se observó que la mutante 17 es la que presenta menor actividad, por lo que se propone ésta podrá ser usada en estudios posteriores, por ejemplo, como antígeno para la producción de anticuerpos para combatir la infección causada por *T. cruzi*. Los resultados obtenidos de este proyecto representan un avance hacia la generación de tratamientos para combatir la tripanosomiasis Americana.

Bibliografía

- [1] OMS. La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). (2017).
- [2] Carabarin-Lima, A., *et al.* Chagas disease (American tripanosomiasis) in Mexico: an update. *Acta Trop* **127**, 126-135 (2013).
- [3] Ramsey, J.M., *et al.* Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae: Hemiptera) and vector transmission of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **110**, 339-352 (2015).
- [4] CDC. Parasites – American Trypanosomiasis. (2016).
- [5] Cabello, R.R. *Microbiología y Parasitología Humana Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias*, (2007).
- [6] Ramsey, J.M., Elizondo-Cano, M., Sanchez-Gonzalez, G., Pena-Nieves, A. & Figueroa-Lara, A. Opportunity cost for early treatment of Chagas disease in Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* **8**, e2776 (2014).
- [7] Garg, N. & Bhatia, V. Current status and future prospects for a vaccine against American trypanosomiasis. *Expert rev Vaccines* **4**, 867-880. (2005).
- [8] Schenkman, S., Jiang, M.S., Hart, G.W. & Nussenzweig, V. A novel cell surface trans-sialidase of *Trypanosoma cruzi* generates a stage-specific epitope required for invasion of mammalian cells. *Cell* **65**, 1117-1125 (1991).
- [9] Schenkman, S. & Eichinger, D. *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase and cell invasion. *Parasitol Today* **9**, 218-222 (1993).
- [10] Rubin-de-Celis, S.S., Uemura, H., Yoshida, N. & Schenkman, S. Expression of trypomastigote trans-sialidase in metacyclic forms of *Trypanosoma cruzi* increases parasite escape from its parasitophorous vacuole. *Cell Microbiol* **8**, 1888-1898 (2006).
- [11] Tomlinson, S. & Raper, J. Natural human immunity to trypanosomes. *Parasitol Today* **14**, 354-359 (1998).
- [12] Erdman, H., Steeg, C., Koch-Nolte, F., Fleischer, B. & Jacobs, T. Sialylated ligands on pathogenic *Trypanosoma cruzi* interact with Siglec-E (sialic acid-binding Ig-like lectin-E). *Cell Microbiol* **11**, 1600-1611 (2009).
- [13] Risso, M.G., Pitcovsky, T.A., Caccuri, R.L., Campetella, O. & Leguizamon, M.S. Immune system pathogenesis is prevented by the neutralization of systemic trans-sialidase from *Trypanosoma cruzi* during severe infections. *Parasitology* **134**, 503-510 (2007).
- [14] Buschiazzi, A., *et al.* *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase in complex with a neutralizing antibody: structure/function studies towards the rational design of inhibitors. *PLoS Pathog* **8**, e1002474 (2012).
- [15] Reyes Martinez JE, Sardzik R, Voglmeir J, Flitsch SL. 2013. Enzymatic synthesis of colorimetric substrates to determine [alpha]-2,3- and [alpha]-2,6-specific neuraminidase activity. *RSC Advances* **3**: 21335-8. doi: 10.1039/c3ra44791j.

OPTIMIZACIÓN DE UN PROCESO DE FERMENTACIÓN FED-BATCH PARA LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO POR *CASEI RHAMNOSUS*

Roberto Gasca-González, Fernando Israel Gómez-Castro, Ricardo Morales-Rodríguez

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.

r.gascagonzalez@ugto.mx

Resumen

Una de las estrategias a seguir para preservar los recursos fósiles y reducir el impacto ambiental que conlleva su uso, es el empleo de materiales renovables tal como la biomasa, los cuales se derivan de residuos agroindustriales y pueden ser aplicados en la producción de biocombustibles y otros productos químicos de alto valor agregado. En particular, un producto químico que puede obtenerse de la utilización de la biomasa, es el ácido láctico (AL). Recientemente, se ha puesto gran interés debido a su potencial para la transformación en ácido poliláctico (PLA), el cual se considera un polímero biodegradable. En este trabajo se ha optimizado un proceso de fermentación tipo fed-batch empleando control óptimo. Se ha logrado maximizar la cantidad de ácido láctico producido controlando la velocidad de alimentación al sistema. La optimización y análisis del sistema, se ha llevado a cabo empleando herramientas computacionales tales como GAMS Y Matlab. Finalmente, por medio de la simulación y optimización del proceso se determinó una cantidad máxima de ácido láctico de 35.26 Kg por lote de fermentación con un rendimiento de 1.133 g AL/g glucosa.

Palabras clave: *Ácido láctico, fermentación fed-batch, modelado dinámico, control óptimo*

Introducción

El ácido láctico es uno de los ácidos orgánicos más importantes en el mercado debido a su amplio campo de aplicación en la industria y a su potencial como monómero en varias conversiones químicas para producir otros productos. El ácido láctico (AL) puede obtenerse por medios químicos o biotecnológicos, sin embargo, investigaciones recientes se han centrado en la producción de ácido láctico por medios biotecnológicos, debido a su potencial para la transformación en ácido poliláctico (PLA) [1]. El ácido poliláctico se considera un bioplástico con una amplia variedad de aplicaciones, como en la fabricación vasos, láminas y envases de alimentos. También se ha utilizado en aplicaciones biomédicas, en sistemas de administración de fármacos, gracias a su biocompatibilidad y biodegradabilidad [2].

La producción de ácido láctico a escala industrial requiere la disponibilidad de materias primas sostenibles y baratas con un nivel mínimo de contaminación [3]. Se ha reconocido que el almidón y los materiales lignocelulósicos son más baratos que otras materias primas y pueden utilizarse como una fuente de carbono rentable para la producción de ácido láctico [4].

La producción biotecnológica de AL se basa en la fermentación de sustratos ricos en carbohidratos por bacterias u hongos y tiene la ventaja de formar enantiómeros D (-) o L (+), que

son óptimamente activos [5]. Actualmente, se prefiere producir LA por fermentación, debido a la necesidad de obtener LA ópticamente puro. Sin embargo, la principal desventaja de la producción de fermentación es el alto costo de su aislamiento y purificación.

La fermentación de ácido láctico puede realizarse en tres maneras de operación: fermentación batch, fermentación fed-batch y fermentación en continuo. No obstante, para reducir la inhibición del sustrato, se ha comprobado que la fermentación fed-batch es el mejor sistema de fermentación para mantener la concentración de sustrato a un nivel bajo, a través del control de nutrientes al caldo de fermentación, en comparación con la fermentación batch y en continuo [6]. En la fermentación fed-batch, el sustrato se alimenta continuamente o secuencialmente al fermentador sin la eliminación del caldo de fermentación. Es especialmente ventajoso cuando altas concentraciones de sustrato afectan el crecimiento celular y la productividad [7].

Metodología

En este estudio se considera un fermentador Fed-batch, en el que la reacción de homofermentación de azúcares con *L. casei* ssp. *Rhamnosus* se lleva a cabo para producir ácido láctico, bajo condiciones isotérmicas (42°C) y anaeróbicas. El modelo cinético de Youssef y col. en 2005 para la fermentación considera la inhibición por producto y por sustrato en la tasa de crecimiento específica. El modelo cinético [8] para la fermentación considera la inhibición por producto y por sustrato en la tasa de crecimiento específica como se presenta en la ecuación (1).

$$\mu = \bar{\mu}_{max} \left(\frac{K_p}{K_p + C_p} \right) \left(\frac{C_s}{K_{sc} + C_s} \right) \left(1 - \frac{C_p}{C_{pc}} \right) \quad (1)$$

Mientras que la velocidad específica de consumo q_s y la velocidad específica de producción de AL, V_p están dadas por las ecuaciones (2) y (3).

$$q_s = \frac{V_p}{Y_{p/s}} \quad (2)$$

$$V_p = \delta\mu + \beta \left(\frac{C_s}{K_s + C_s} \right) \quad (3)$$

Además, existe un ajuste de los parámetros cinéticos que depende del factor de enriquecimiento de afinidad α , que relaciona las cantidades de nutrientes requeridas para la fermentación (correspondiente $\alpha = 1$ a 5 g / l de extracto de levadura y 10 g / l L de triptona). Este ajuste está representado por las ecuaciones (4-6).

$$K_s = K_{smax} \frac{(\alpha - \alpha_0)}{K_{\alpha s} + (\alpha - \alpha_0)} \quad (4)$$

$$\bar{\mu}_{max} = \mu_{max} \frac{(\alpha - \alpha_0)}{K_{\alpha u} + (\alpha - \alpha_0)} \quad (5)$$

$$K_p = K_{Pmax} \frac{(\alpha - \alpha_0)}{K_{\alpha P} + (\alpha - \alpha_0)} \quad (6)$$

Debido a que la inhibición de la fermentación puede ocurrir a altas concentraciones de sustrato, una opción para contrarrestar este efecto es proporcionar una corriente de alimentación de sustrato al medio de cultivo. De esta forma, puede aumentar la productividad y reducir el tiempo de alimentación [9]. Los balances de masa para el reactor de fermentación se describen mediante las ecuaciones (7-10). Los parámetros del modelo se presentan en la Tabla 1.

$$\frac{dC_s}{dt} = -q_s C_x + \frac{F}{V} (C_{s,F} - C_s), \quad C_s(0) = C_{s0} \quad (7)$$

$$\frac{dC_x}{dt} = C_x (\mu - K_d) - \frac{F}{V} C_x, \quad C_x(0) = C_{x0} \quad (8)$$

$$\frac{dC_p}{dt} = V_p C_x - \frac{F}{V} C_p, \quad C_p(0) = C_{p0} \quad (9)$$

$$\frac{dV}{dt} = F \quad V(0) = V_0 \quad (10)$$

Tabla 1. Parámetros del modelo para la fermentación de AL [8].

PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES
K_{sc}	0.5	g/L	δ	0.45	1/h
K_{smax}	12	g/L	β	0.9	g/L/h
K_{pmax}	15	g/L	α_0	0.02	g/g
$Y_{p/s}$	0.98	g/L	$K_{\alpha u}$	0.2	g/g
C_{pc}	95	g/L	$K_{\alpha P}$	1.1	g/g
k_d	0.02	1/h	$K_{\alpha S}$	4	g/g
μ_{max}	0.45	1/h			

Se han determinado los grados de libertad del modelo cinético, obteniendo un grado de libertad, lo cual indica que el sistema puede ser optimizado. En este sentido, la variable que ha sido seleccionada como variable a optimizar es la velocidad de alimentación al fermentador.

El control óptimo es la técnica de optimización que se ha aplicado para la resolución del problema debido a que esta técnica permite la optimización de sistemas que evolucionan con el tiempo. Asimismo, el control óptimo es empleado cuando la función objetivo es un funcional, es decir, una función que depende de otras funciones. A continuación, las ecuaciones (11-18) representan formalmente el problema de optimización que se resolvió en este trabajo.

Función objetivo:

$$Z = \max(y_3(t_f) y_4(t_f)) \quad (11)$$

Modelo:

$$\frac{dy_1}{dt} = y_1(P_1 - 0.02) - u y_1 \quad y_1(0) = y_{10} \quad (12)$$

$$\frac{dy_2}{dt} = -p_2 y_1 + u(C_{SF} - y_2) \quad y_2(0) = y_{20} \quad (13)$$

$$\frac{dy_3}{dt} = p_3 y_1 - u y_3 \quad y_3(0) = y_{30} \quad (14)$$

$$\frac{dy_4}{dt} = u \quad y_4(0) = y_{40} \quad (15)$$

Restricciones:

$$p_1 = 0.3176 \left(\frac{4.556}{4.556 + y_3} \right) \left(\frac{y_2}{0.5 + y_2} \right) \left(1 - \frac{y_3}{95} \right) \quad (16)$$

$$p_2 = \frac{P_3}{0.98} \quad (17)$$

$$p_3 = 0.45 p_1 + 0.9 \left(\frac{y_2}{1.2857 + y_2} \right) \quad (18)$$

En este modelo, y_1 representa la concentración de población microbiana, y_2 es la concentración de sustrato, y_3 la concentración de producto (todo en g/L) y y_4 es el volumen del fermentador (en L) el cual debe cumplir la siguiente restricción de punto final $y_4 \leq 1100$, para $t_f = 36$ h. El estado inicial del sistema está dado por $y_1(0) = 0.5$, $y_2(0) = 20$, $y_3(0) = 0$ y $y_4(0) = 600$. La variable de control está limitada como $0 \leq u(t) \leq 50$ para $0 \leq t \leq t_f$.

Para resolver el problema en GAMS, fue necesario realizar una discretización del modelo implementando una extensión del método de Euler, conocido como método de Heun [10].

Resultados

La simulación del proceso de fermentación se describe resolviendo el sistema de ecuaciones diferenciales y sus restricciones a través de Matlab. La Figura 1 representa cómo evolucionan las composiciones del sustrato, la biomasa y el producto durante un tiempo de fermentación de 40 hrs. Además, en la Figura 1 se puede ver que la concentración de sustrato disminuye a medida que se lleva a cabo la fermentación porque el microorganismo la consume y la metaboliza para la producción de ácido láctico. La concentración de la biomasa aumenta debido al aumento en la concentración celular a lo largo de la fermentación y finalmente, la concentración de ácido láctico alcanza un valor máximo de 32.25 g/L en un tiempo de fermentación de 23 h. Prácticamente, después de 23 h de fermentación, el sistema alcanza el estado estacionario.

El optimizador GAMS se usó para resolver el sistema de ecuaciones diferenciales discretizado previamente para determinar el flujo de alimentación que maximice la cantidad de ácido láctico producido. En la Figura 2 el análisis de sensibilidad del proceso de fermentación llevado a cabo en Matlab, verifica que efectivamente el valor óptimo del ácido láctico producido tiene un valor de 32256.8 gr obtenido con un flujo de alimentación de 19.5 L/h.

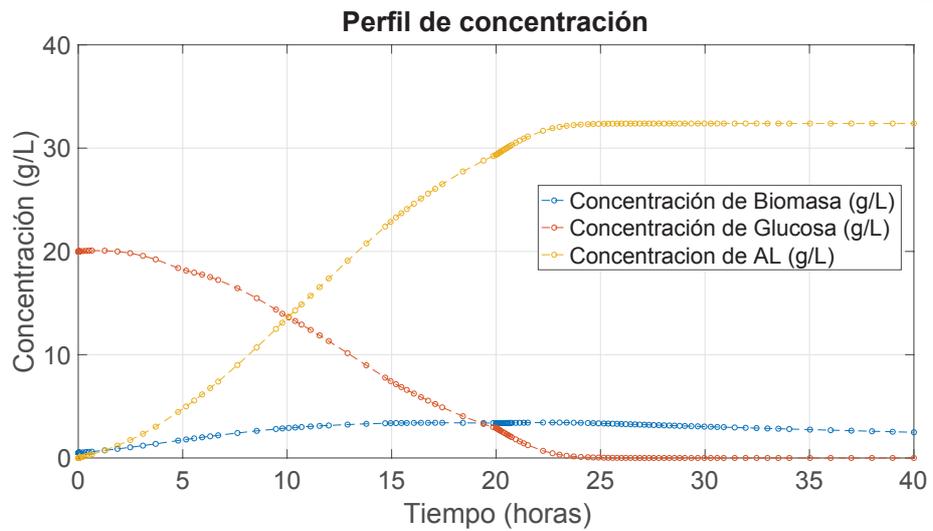


Figura 1. Perfil de composición en el fermentador a medida que evoluciona con el tiempo

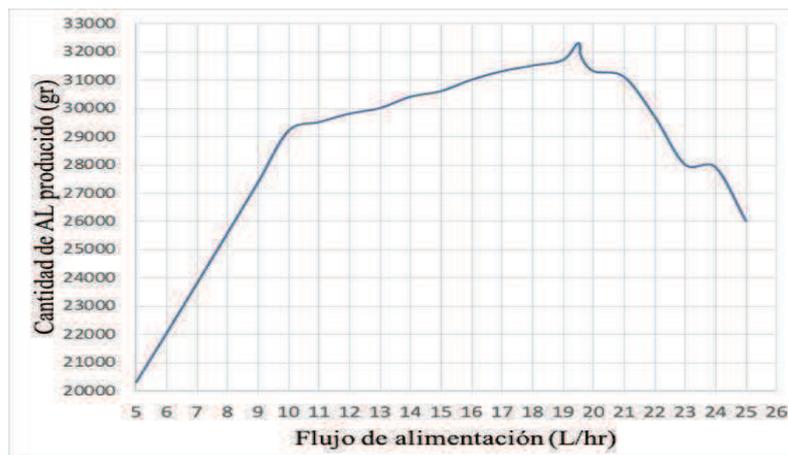


Figura 2. Efecto del flujo de alimentación sobre la cantidad de ácido láctico producido.

La figura 3a muestra la alimentación al fermentador utilizando un flujo constante de 19.5 L/h hasta un tiempo de fermentación de 23 h. En la Figura 3b se presenta la variación del volumen en el fermentador. La Figura 3c muestra la variación en el rendimiento de la fermentación del ácido láctico. Finalmente, La Figura 3d muestra la productividad en el proceso de fermentación.

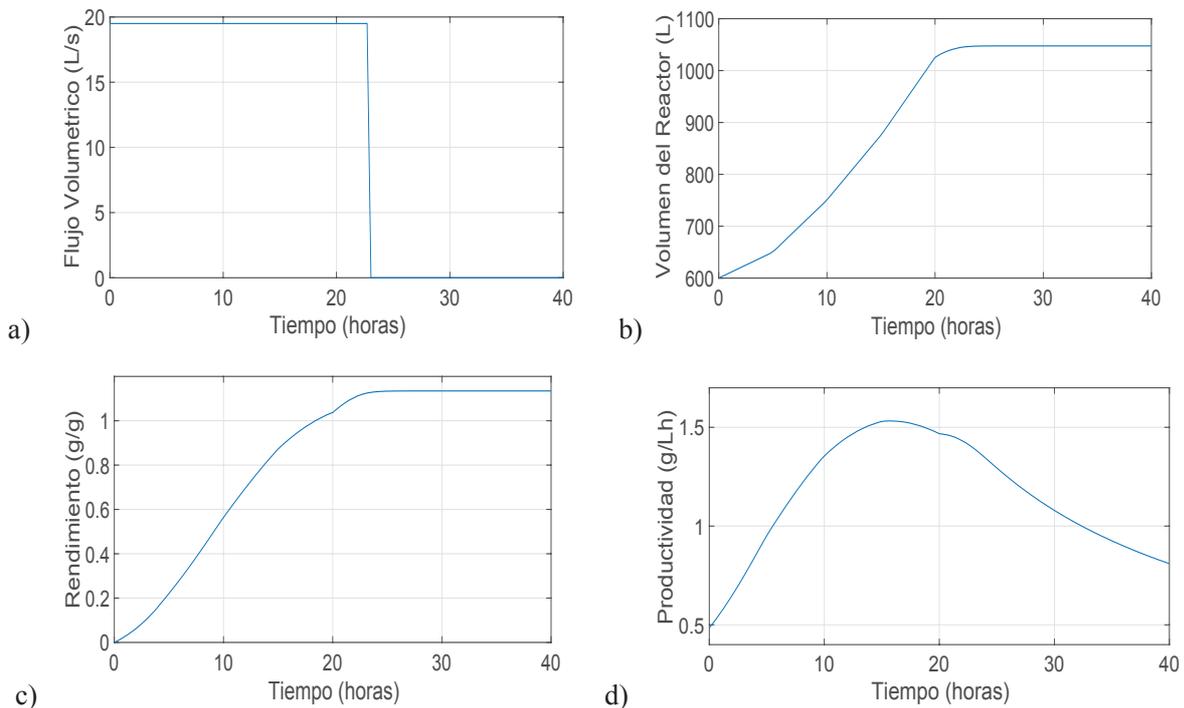


Figura 3. a) Evolución de la variable de control $u(t)$ en el tiempo (alimentación constante), b) Evolución del volumen en el fermentador, c) Rendimiento, d) Productividad.

Conclusiones

La simulación y optimización de un proceso de fermentación fed-batch se ha llevado a cabo mediante el uso de herramientas computacionales como GAMS y Matlab.

La discretización del problema por el método Heun presentó una buena aproximación a la solución del problema debido a que esta solución se comparó con la obtenida por Matlab en donde el sistema de ecuaciones diferenciales fue resuelto por el método Runge-Kutta que es un método mucho más robusto. Para optimizar el problema en GAMS, se usaron dos solucionadores CONOPT y KNITRO, obteniendo una solución única al problema; sin embargo, el resolvidor CONOPT demostró ser el solucionador más eficiente en términos de trabajo computacional.

Con la simulación realizada en Matlab se determinó que el flujo de alimentación que maximiza la cantidad de ácido láctico producido tiene un valor de 19.5 L/h obteniendo una cantidad de 32.257 Kg de AL por lote de fermentación en un tiempo de fermentación de 23 h. Asimismo, al optimizar el flujo de alimentación en el proceso fue posible obtener un rendimiento de 1.133 g AL/g glucosa y una productividad de 1.394 g /Lh. Finalmente, el control óptimo es una técnica de optimización que puede representar adecuadamente los problemas que cambian con el tiempo, el espacio o cualquier otra variable independiente y que permite su implementación de una manera versátil y no tan robusta según el método de discretización.

Referencias

1. Serna-Cock, L. and Rodríguez de Stouvenel, A. (2005). "Biotechnological Production of Lactic Acid: State of The Art." *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 5 (1):54–65.
2. Gina, P., Flores, N. C., y Rodríguez-Sanoja, R. (2014). "Bioplásticos". *BioTecnología*, 18 (2):27–36.
3. Oh, H., Young Jung, W., Jong Sun, Y., Seung Ho, H., Sangwon, J., y Hwa Won, R. (2005). "Lactic Acid Production From Agricultural Resources as Cheap Raw Materials". *Bioresource Technology*, 96:1492–1498.
4. Åkerberg, C. y Zacchi, G. (2000). "An Economic Evaluation of the Fermentative Production of Lactic Acid From Wheat Flour". *Bioresource Technology*, 75 (2):119-126.
5. Hofvendahl, K. y Hägerdal, H. (2000). "Factors Affecting The Fermentative Lactic Acid Production From Renewable Resources". *Enzyme Microb. Technol.*, (26):87–107.
6. Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., y Sonomoto, K. (2011). "Lactic Acid Production From Lignocellulose-Derived Sugars Using Lactic Acid Bacteria: Overview And Limits". *Journal of Biotechnology*, 156:286–301.
7. Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., y Sonomoto, K. (2013). "Recent Advances in Lactic Acid Production by Microbial Fermentation Processes". *Biotechnology advances*, 31:877–902.
8. Ben Youssef, C., Goma, G. y Olmos-Dichara, A. (2005). "Kinetic modelling of *Lactobacillus casei* ssp. *Rhamnosus* growth and lactic acid production in batch cultures under various medium conditions". *Biotechnology Letters*, 27: 1785-1789.
9. Anaya-Reza, O. y López-Arenas, T. (2018). "Design of sustainable biorefinery for the production of lactic acid from sugarcane molasses". *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 17(1):243-259.
10. C. Chapra, S. And P. Canele R. (2007). "Métodos numéricos para ingenieros". 5th Edition, McGraw-Hill interamericana.

PARTICIPACIÓN DE LOS GENES QUE CODIFICAN PARA PRODUCTOS DE LysM DE *Trichoderma atroviride* EN LA INTERACCIÓN CON PLANTAS

Yordan Jhovani Romero Contreras¹, Claudia Ramírez Valdespino¹, Paulina Guzmán Guzmán¹, Vianey Olmedo Monfil¹

¹Laboratorio de Interacción Planta-Microorganismo, Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato. Col. Noria Alta s/n; C.P. 36050, Guanajuato, Gto., MÉXICO
yj.romerocontreras@ugto.mx

Resumen

Las especies del género *Trichoderma* representan un grupo de hongos filamentosos que han sido ampliamente caracterizados por tener un efecto antagonico contra diversos fitopatógenos; además han sido reportados como endófitos de plantas con la habilidad de promover el crecimiento, desarrollo y mejora en la respuesta de defensa vegetal. Sin embargo, existe poca información acerca de los mecanismos moleculares que modulan la interacción de *Trichoderma* con la planta, por lo que se propone que moléculas tipo efector con dominios LysM participen en dicha asociación. En nuestro grupo de trabajo se han identificado seis genes que codifican para seis proteínas con dominios LysM, de los cuales se ha observado que *Tal2a* y *Tal6* se inducen su expresión en presencia de la planta *Arabidopsis thaliana*, por lo que el objetivo de este trabajo es determinar la participación de estos genes en la interacción planta-hongo. Para probar la relevancia de los productos de LysM, complementamos el análisis del patrón de expresión de los otros genes mediante la interacción de *Trichoderma* con la planta *A. thaliana*. Encontrando que los genes *Tal2b* y *Tal5* se inducen en presencia de la planta, mientras que *Tal4* y *Tal17*, no mostraron actividad transcripcional. Además, hemos determinado a través de cepas modificadas, que el producto *Tal6* está implicado en mejorar el desarrollo y sistemas de protección de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) ante el ataque del fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. Con los resultados obtenidos, podemos concluir que los productos LysM podrían estar participando en la interacción de *Trichoderma* con las plantas.

Palabras clave: *Trichoderma*, Efector, LysM, *Tal6*.

Introducción

Los sistemas de defensa vegetal le permiten a la planta detectar la presencia de microorganismos patógenos y protegerse mediante el reconocimiento de moléculas que se encuentran asociados a ellos, como quitina. Estas moléculas son conocidas como Patrones Moleculares Asociados a Microorganismos (MAMPs) o PAMPs. Estos eventos han sido ampliamente estudiados en la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, donde dicho reconocimiento desencadena una respuesta transitoria, que implica la activación de una cascada de señalización mediado por MAP-Kinasas y factores de transcripción WRKY, que regulan la expresión de genes que codifican enzimas involucradas en la destrucción del patógeno [1, 2]. Sin embargo, diversos microorganismos patogénicos han desarrollado estrategias que les permiten evadir los sistemas de defensa vegetal a través de la participación de moléculas conocidas como “efectores” con la capacidad de alterar la

estructura y función del hospedero. Entre los efectores más estudiados de hongos, son aquellos que poseen dominios LysM, reportados en hongos patógenicos de plantas e insectos, los cuales actúan como factores de virulencia [3, 4, 5].

Los dominios LysM fueron descritos por primera vez en una lisozima del fago $\phi 29$ de *Bacillus* [6]. El motivo LysM es un módulo de unión a carbohidratos, con un tamaño aproximado de 50 aa, con una estructura $\beta\alpha\alpha\beta$ y que se unen a glicanos de N-Acetilglucosamina (GlcNAc). Diversos hongos patógenicos han desarrollado estrategias que les permiten evadir los sistemas de defensa vegetal mediante la participación de LysM, a través de tres mecanismos: A) Unión a la quitina en la pared, formando una barrera que evita el acceso de quitinasas, protegiendo de esta manera a las hifas. B) Inactivación de quitinasas, evitando la actividad enzimática y C) Secuestro de oligómeros de GlcNAc, que bloquea el reconocimiento por parte del receptor de la planta y por lo tanto evita la activación del sistema de defensa vegetal [2]. Los efectores con dominios LysM de distintos hongos patógenicos, han sido caracterizados y se han confirmado distintos mecanismos de evasión/protección previamente descritos.

Por otra parte, las plantas también pueden interactuar con hongos benéficos como son los del género *Trichoderma* spp., un hongo filamentoso, anaerobio facultativo, saprófito y cosmopolita; ampliamente estudiado por tener efectos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que puede colonizar y crecer en asociación con las raíces [7]. Dada su amplia distribución, ha sido utilizado como agente de control biológico, debido a la capacidad antagónica que presenta frente a otros fitopatógenos mediante mecanismos de competencia, antibiosis y micoparasitismo [8]. Con relación a los efectores en la asociación entre *Trichoderma* y las plantas, se propone que estos efectores deben participar durante el establecimiento de la interacción [9]. Guzmán-Guzmán y col. (2017), dentro de nuestro grupo de trabajo, reportaron 233 genes candidatos a funcionar como efectores en *T. atroviride* y *T. virens*, de los cuales seis corresponden a LysM [10].

Seidl-Seiboth y col. (2013), reportaron que la proteína Tal6 contiene 7 motivos LysM y mediante la expresión heteróloga y purificación de la proteína, probaron su funcionalidad en la unión a compuestos de GlcNAc. El uso de versiones truncas de la proteína, conteniendo los motivos 4 al 7, indican que esta región está implicada en la unión a perlas de GlcNAc y quitosano y relacionan la función biológica de la proteína con la inhibición de la germinación de conidias de otras especies de *Trichoderma*. Por otro lado, Ramírez-Valdespino en su tesis doctoral, demostró que el gen *tal6*, incrementa su expresión ante la presencia de plantas de *A. thaliana*, por lo que el objetivo de este trabajo es determinar el mecanismo protector del efector Tal6 de *T. atroviride* a través de cepas sobreexpresantes y mutantes, así como la relevancia del efector Tal6 en una interacción tripartita entre el fitopatógeno *R. solani* y plantas de tomate (*Solanum lycopersium*).

Metodología

Ensayos de interacción hongo-planta

En cajas Petri con medio MS 0.2X con MES a pH 5.7 y celofán estéril, se colocaron diez semillas estériles de *A.thaliana Col-0*, ubicadas en un extremo de la placa, se dejaron en cámara de crecimiento para plantas con ciclos de luz y oscuridad (15h/8h) a 24°C durante 4 días. Posteriormente se colocó el hongo *T.atroviride WT* (IMI206040) en el extremo opuesto de la placa. El micelio fue colectado a los 2,3,5 y 7 días después de la interacción.

Determinación del efecto de la proteína Tal6 sobre las cepas de T. atroviride

Las cepas de *T. atroviride* fueron inoculadas en medio PDB a una concentración de 1×10^6 conidias/mL, incubando a 28°C de 12-15 h. Posteriormente se centrifugo a 3,500 rpm / 10 min, el sobrenadante se resguardo a 4°C. Los paquetes celulares fueron resuspendidos en una solución osmótica con 15 mg/mL de extracto enzimático de *T. harzianu*. Posteriormente la formación de protoplastos fue evaluada a los 15 min. Para la observación de protoplastos, se agregó el colorante blanco de calcoflúor (C.F. 0.1g) y se observó por microscopia de fluorescencia. Para determinar el efecto de Tal6 sobre la actividad de quitinasas, los sobrenadantes de los cultivos celulares se incubaron con la enzima quitinasa (C.F 0.1U/mL de *S. griseus*) y el sustrato 10 μ M de 4-MU(Ch)₃, en un volumen total de 100 μ L; se incubó a 28°C durante 15-30 min. Posteriormente, la reacción se diluyó con 2.9 mL de solución de paro (NaHCO₃ 0,1 M pH 10.4). Para las condiciones de competencia con GlcNAc, se realizó una pre-incubación de los sobrenadantes de las cepas de *Trichoderma* con el GlcNAc durante 15 min a 28°C, posteriormente se agregó la enzima quitinasa y el sustrato 4-MU(Ch)₃. El 4-MU liberado fue evaluado a los 15 y 30 min en espectrofotómetro de luminiscencia (Perkin-Elmer LS55).

Análisis de expresión de genes

Para el análisis de genes, las muestras fueron congeladas para la extracción de RNA por el método de Chomezynsky y Sacchi (1987), utilizando un sistema comercial TRIzolr(Reagent, Invitrogen). Se realizo la síntesis de cDNA siguiendo el procedimiento reportado por el proveedor (ReverAid H Minus Fist STrand cDNA SYntesis Kit ThermoScientific). El análisis de genes se realizo por reacción de RT-PCR utilizando oligonucleótidos específicos y la enzima DNA-Polimerasa; posteriormente los productos obtenidos fueron visualizados por electroforesis en gel de agarosa al 1%, utilizando el buffer TAE 1% durante 35 min con una corriente de 86 Volts.

Interacción tripartita entre T. atroviride, S. lycopersicum y R. solani AG2

Las raíces de las plantas de *S. lycopersicum* de tres semanas de edad, se incubaron en una solución de 1×10^6 conidias/mL de las tres cepas de *T. atroviride* (WT, OE1.1 y Δ 4.2) durante 90 minutos a temperatura ambiente. Las plantas fueron transplantadas a botes de 2L, con 100 g de sustrato (3 tierra: 1 vermiculita: 1 perlita), posteriormente se inoculo el fitópato gen *R. solani* AG2 a un gramo de esclorocios/ 100 g de suelo. La viabilidad de las plantas se evaluó a las 8 semanas de edad, tomando como registro el número de plantas sobrevivientes.

Resultados

Análisis de expresión diferencial de efectores con dominios LysM de Trichoderma

Los análisis de expresión de genes muestran que el gen *tal5* aumenta su expresión en presencia con la planta, mientras que *tal2b* no mostró diferencia en su expresión cuando es co-cultivada con la planta *A. thaliana*. Para los genes *tal1* y *tal4* no se detectó presencia del mensajero en las condiciones establecidas. Se incluyeron ampliificaciones para los genes *tal2a* y *tal6* como controles de interacción, donde nuevamente se observaron diferencias en los niveles de expresión.

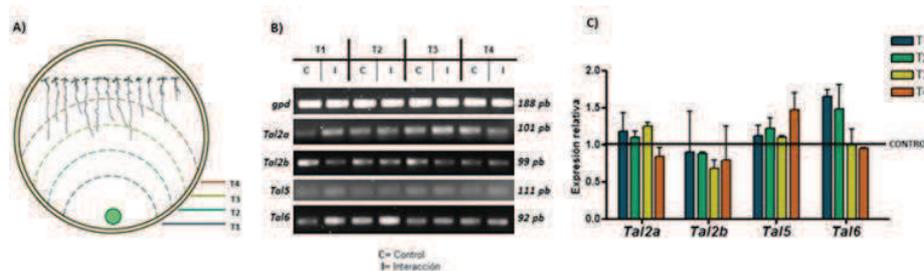


Figura 1. Análisis semicuantitativo de los patrones de expresión de los genes *LysM.A*) Las muestras fueron colectadas a cuatro tiempos distintos. B) La presencia del transcripto se detectó por electroforesis, utilizando como control de expresión endógeno el gen *gpd*. C) Análisis densitométrico.

Función biológica de *tal6*

Para determinar la resistencia/susceptibilidad a quitinasas se utilizó el colorante blanco de calcoflúor, el cual se adhiere a compuestos de GlcNAc. Se observaron germinulas de cada una de las cepas de *T. atroviride* con y sin la enzima quitinasa. Los resultados muestran que la cepa WT tiene una susceptibilidad intermedia a las quitinasas, mientras que la cepa $\Delta 4.2$ es mucho más sensible a las enzimas y la cepa OE1.1 presenta menor grado de susceptibilidad a esta actividad lítica.

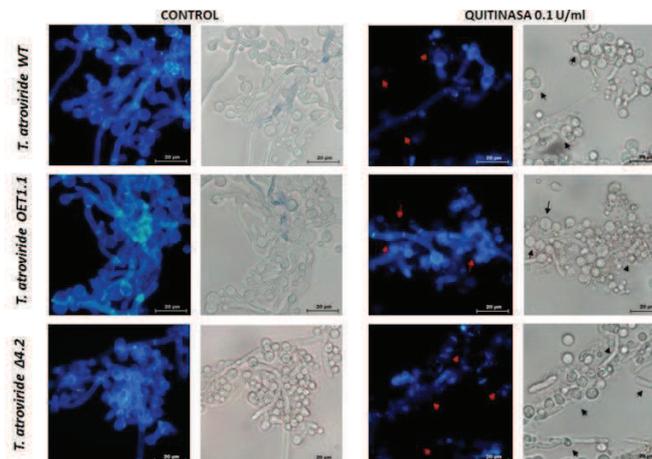


Figura 2. Susceptibilidad a quitinasas de las cepas de *T. atroviride*. Se utilizó una condición control sin la enzima quitinasa, pudiendo observar la forma e integridad de las germinulas (primera fila). Las imágenes muestran los tratamientos de las tres cepas en presencia de quitinasa, las flechas indican la presencia de estructuras denominadas protoplastos (segunda fila).

Para evaluar la inhibición de quitinasas, se utilizaron los sobrenadantes de los cultivos celulares, la enzima quitinasa y el sustrato 4-MU(Ch)₃. Se incluyó una condición control en el cual se

incubó el sustrato y la enzima sola, lo cual corresponde al 100% de actividad hidrolítica. Los resultados obtenidos para cada uno de los sobrenadantes mostraron actividad hidrolítica de 77%, para la cepa mutante se observó una actividad del 90% similar a la condición control, contrario al sobrenadantes de la cepa sobreexpresante que presentó una actividad hidrolítica del 4-MU(Ch)₃ del 54% (Figura 3-A), mientras que los análisis de competencia con un segundo sustrato (GlcNAc) mostraron una actividad hidrolítica similar a la condición control, lo que sugiere que el efector presenta afinidad por GlcNAc y no por la enzima.

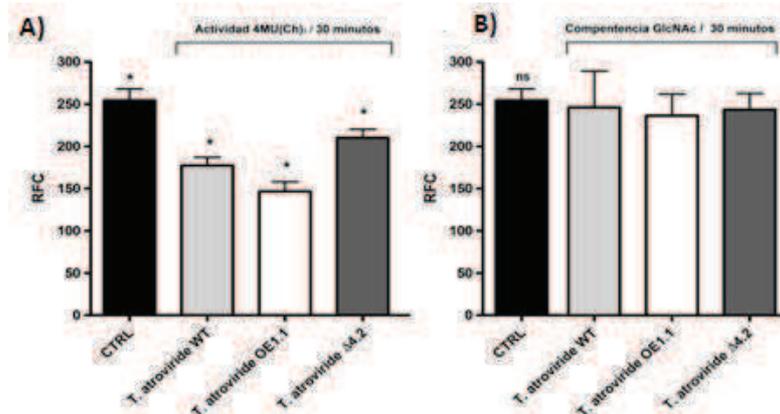


Figura 3. Inhibición de quitinasas. **A)** Se observó una actividad hidrolítica de 77% para WT, un 90% para la cepa $\Delta A.2$ y un 54% para la cepa OE1.1. **B)** Los resultados obtenidos de competencia muestran 90% de actividad de quitinasa sobre el sustrato 4-MU liberado, similar a la condición control.

Participación de Tal6 en una interacción tripartita entre plantas de *S. lycopersicum* y *R. solani*

Para realizar la interacción tripartita se infectaron plantas de tomate con el fitopatógeno *R. solani* AG2, posteriormente se agregó una suspensión de conidas de las tres cepas de *T. atroviride*. Como controles se utilizaron a plantas solas y con los hongos individualmente partiendo con un número de 16 individuos. Los resultados obtenidos muestran que en las condiciones control, los hongos modificados de *T. atroviride* no causaron efectos negativos en plantas de tomate. Las plantas infectadas con el hongo *R. solani* mostraron una supervivencia del 24%. Para la interacción tripartita partimos de 24 individuos, mostraron una supervivencia de las plantas del 46% en presencia de la cepa WT, para la cepa OE un 71% y la cepa mutante del 29%. Los resultados obtenidos sugieren que la proteína Tal6 prepara mejor a *Trichoderma* para asociarse con las plantas, de modo que sean capaces de defenderse el fitopatógeno *R. solani*.

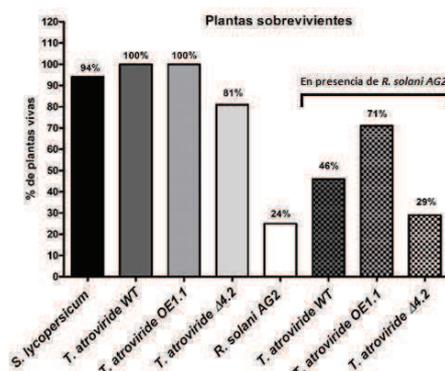


Figura 4. Supervivencia de las plantas de *S. lycopersicum* en presencia de las cepas de *T. atroviride* y el fitopatógeno *R. solani* AG2.

Conclusiones

- Los productos codificados por *tal2a* y *tal5* de *T. atroviride*, podrían participar en la interacción con plantas.
- El gen *tal6* codifica una proteína con características de efector en *Trichoderma*, que funciona mediante dos mecanismos: protegiendo la pared fúngica de las actividades líticas de la planta y mediante el secuestro de GlcNAc.
- La sobreexpresión del gen *Tal6* de *T. atroviride*, genera mejor actividad de biocontrol contra el fitopatógenos *R. solani* AG2.

Bibliografía

- [1] Boller, T. y He, S. Y. (2009). Innate immunity in plants: an arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens. *Science*, 324(5928):742–744.
- [2] Sánchez-Vallet, A., Mesters, J. R., y Thomma, B. P. (2015). The battle for chitin recognition in plant-microbe interactions. *FEMS microbiology reviews*, 39(2):171–183.
- [3] Dou, D., Kale, S. D., Wang, X., Jiang, R. H., Bruce, N. A., Arredondo, F. D., Zhang, X., y Tyler, B. M. (2008). Rxlr-mediated entry of phytophthora sojae effector *avr1b* into soybean cells does not require pathogen-encoded machinery. *The Plant Cell*, 20(7):1930–1947.
- [4] De Jonge, R. y Thomma, B. P. (2009). Fungal lysm effectors: extinguishers of host immunity? *Trends in microbiology*, 17(4):151–157.
- [5] Guzmán-Guzmán, P., Alemán-Duarte, M. I., Delaye, L., Herrera-Estrella, A., y Olmedo-Monfil, V. (2017). Identification of effector-like proteins in trichoderma spp. and role of a hydrophobin in the plant-fungus interaction and mycoparasitism. *BMC genetics*, 18(1):16.
- [6] Garvey, K.J., Saedi, M.S., y Ito, J. (1986). Nucleotide Sequence of Bacillus Phage Ø29 Genes 14 and 15: Homology of Gene 15 with Other Phage Lysozymes. *Nucl. Acids Res.* 14, 10001–10008.
- [7] López-Bucio, J., Pelagio-Flores, R., y Herrera-Estrella, A. (2015). Trichoderma as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientiahorticulturae*, 196:109–123.
- [8] Infante, D., Martínez, B., González, N., y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de trichoderma frente a hongos fitopatógenos. *Revista de protección vegetal*, 24(1):14–21.
- [9] Kambara, K., Ardisson, S., Kobayashi, H., Saad, M. M., Schumpp, O., Broughton, W. J., y Deakin, W. J. (2009). Rhizobia utilize pathogen-like effector proteins during symbiosis. *Molecular microbiology*, 71(1):92–106.
- [10] Gruber, S., Vaaje-Kolstad, G., Matarese, F., López-Mondéjar, R., Kubicek, C. P., y Seidl-Seiboth, V. (2010). Analysis of subgroup c of fungal chitinases containing chitin-binding and lysm modules in the mycoparasite trichoderma atroviride. *Glycobiology*, 21(1):122–133.

[11] Seidl-Seiboth, V., Zach, S., Frischmann, A., Spadiut, O., Dietzsch, C., Herwig, C., Ruth, C., Rodler, A., Jungbauer, A., y Kubicek, C. P. (2013). Spore germination of *trichoderma atroviride* is inhibited by its lysm protein tal6. *The FEBS journal*, 280(5):1226–1236.

DESEMPEÑO TERMO-HIDRÁULICO DE REDES DE ENFRIAMIENTO

Hebert Gerardo Lugo Granados ^a, Martín Picón Núñez ^b

^{a,b} Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, C.P. 36050, Guanajuato, México. lugh871024@gmail.com.

Resumen

Una red de enfriamiento típicamente usa agua como fluido de trabajo. Este fluido aún después de ser tratado contiene cantidades de sales disueltas de solubilidad inversa que pueden llegar a generar ensuciamiento por cristalización (scaling). El ensuciamiento ocasiona una disminución en el rendimiento térmico y mecánico de los cambiadores de calor de la red. Con el paso del tiempo el scaling incrementa, lo que genera una disminución del área seccional libre de flujo y por ende del flujo volumétrico que circula a través de un intercambiador de calor. Esto origina el incremento en la caída de presión y disminuye la transferencia de calor. En este trabajo se analiza el efecto del ensuciamiento en el desempeño termo-hidráulico de redes de enfriamiento.

Palabras clave: *Ensuciamiento por scaling, Redes de enfriamiento, Distribución de flujo.*

Introducción

Para compensar los efectos del ensuciamiento los intercambiadores de calor se diseñan utilizando un valor fijo del factor de ensuciamiento, lo que se traduce en la mayoría de las veces en un sobredimensionamiento. Sin embargo, con el paso del tiempo, el crecimiento de la resistencia a la transferencia de calor crece a tal nivel que el sobre diseño propuesto ya no es el adecuado para alcanzar las temperaturas objetivo del intercambiador. En este trabajo se realiza el diseño de los cambiadores de calor utilizando un nuevo modelo (Lugo-Granados y Picón-Núñez, 2018) que estima el factor de ensuciamiento en función de la calidad del agua, condiciones del flujo, carga térmica y tiempo de operación. La ventaja de este modelo sobre el uso de coeficientes constantes radica en la posibilidad de conocer con exactitud el adecuado diseño geométrico de los cambiadores de calor.

Metodología

Para el diseño de redes de enfriamiento es de suma importancia conocer el crecimiento de ensuciamiento de los cambiadores de calor, ya que de este dependen las caídas de presión y distribución de flujo. La ecuación (1) muestra el modelo utilizado para predecir el ensuciamiento por scaling en los equipos térmicos.

$$\dot{m}_d = \frac{\beta}{2} \left(\frac{\beta}{\alpha k_r} + (C_1 + C_2) - \sqrt{\frac{(\beta + (C_1 + C_2)\alpha k_r)^2 + 4\alpha^2 k_r^2 (Ksp - [C_1][C_2])}{\alpha^2 k_r^2}} \right) \quad (1)$$

Donde C_1 y C_2 son las concentraciones de los iones de Ca^{2+} y CO_3^{2-} contenidos en el agua; β es el coeficiente de transferencia de masa [2]; Ksp es el producto de solubilidad del carbonato de

calcio; kr es el coeficiente de velocidad de reacción obtenido a partir de la ecuación de Arrhenius. El parámetro α es un factor de corrección adimensional que incluye esfuerzos inerciales y viscosos, como se muestra en la ecuación (2)

$$\alpha = a(f \times Re)^b \quad (2)$$

El análisis de una red de enfriamiento se lleva a cabo utilizando una analogía con los circuitos eléctricos [3]. La caída de presión en una tubería se puede determinar a partir de la ecuación (3).

$$\Delta P = KV^2 \quad (3)$$

Donde K es una resistencia al flujo, V es el flujo volumétrico y ΔP es la caída de presión. Haciendo una analogía con los circuitos eléctricos ΔP sería la diferencia de potencial o voltaje. V la cantidad de corriente que circula por el circuito (intensidad de corriente). La resistencia K , es similar a la resistencia al de flujo de electrones.

Para los casos donde se tiene una red en serie o paralelo, se aplica la misma analogía de los circuitos eléctricos. En una red en serie, el flujo es el mismo para todos los equipos térmicos (ver Figura 1), pero cada uno genera una resistencia al flujo. Por tanto, la caída de presión es igual a la sumatoria de las resistencias por el flujo volumétrico al cuadrado, como se indica en la ecuación (4).

$$\Delta P = \sum_i K_i (V^2) \quad (4)$$

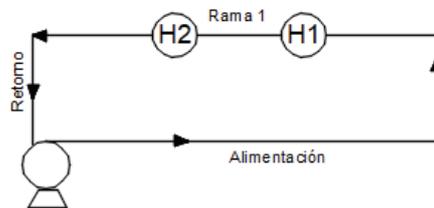


Figura 1. Red de enfriamiento-configuración en serie.

Cuando se tiene una configuración en paralelo, las caídas de presión en cada rama es la misma y el flujo es diferente en cada una de éstas (Figura 2), entonces, el flujo total es igual a la suma del flujo de cada rama. A partir de la ecuación (4), si se despeja el flujo volumétrico se obtiene una nueva expresión de la cual se puede obtener el flujo total, ecuación (5).

$$V = V_1 + V_2 = \sqrt{\frac{\Delta P}{K_{B1}}} + \sqrt{\frac{\Delta P}{K_{B2}}} \quad (5)$$

Si se continúa con la analogía de los circuitos eléctricos, al combinar las ecuaciones (3) y (5) se obtiene una expresión para determinar resistencia entre dos ramas, ecuación (6).

$$K_{1+2} = \frac{\Delta P}{V^2} = \frac{1}{\left(\left(\frac{1}{K_{B1}} \right)^{0.5} + \left(\frac{1}{K_{B2}} \right)^{0.5} \right)^2} \quad (6)$$

A partir de las ecuaciones (3) y (6) se tiene que el flujo de dos corrientes es igual a:

$$V_{1+2} = \sqrt{\frac{\Delta P}{K_{1+2}}} \quad (7)$$

Si el flujo volumétrico en una rama se representa por:

$$V_1 = \sqrt{\frac{\Delta P}{K_{B1}}} \quad (8)$$

La fracción de flujo que pasa a través de cada rama es:

$$\frac{V_1}{V_{1+2}} = \sqrt{\frac{K_{1+2}}{K_{B1}}} \quad (9)$$

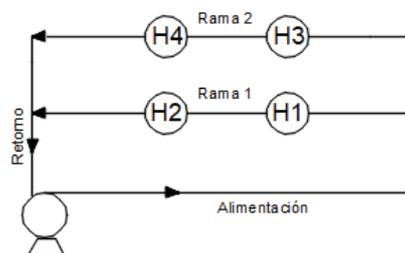


Figura 2 Red de enfriamiento con configuración en paralelo.

Curvas Características

El comportamiento hidráulico de una bomba está especificado por sus curvas características que representan la relación existente entre los distintos valores del caudal de ésta con otros parámetros como la capacidad, potencia, eficiencia y carga neta de succión positiva, que están en función del tamaño, diseño y operación de la bomba (Figura 3).

La curva de capacidad (Figura 3), muestra la relación entre la capacidad total y la capacidad que requiere el sistema, el punto donde estas curvas se cruzan es la capacidad a la que está operando la bomba. La capacidad de la bomba puede variar dependiendo del tipo de impulsor y de su diseño, la capacidad de algunas bombas se puede modificar al variar su velocidad. En el punto A de la Figura 3, la potencia desarrollada por la bomba es mayor a la del punto B, sin embargo, en este último el caudal es mayor. Esto se debe a que, si se quiere vencer una alta caída de presión en la tubería el flujo de salida será pequeño, pero si la caída de presión es mínima el flujo que pasa a través de ésta aumenta.

Velocidades Variables

Cuando una bomba se opera a varias velocidades el desempeño se puede representar gráficamente para diferentes condiciones de operación (Figura 3). Para formar este tipo de gráfica, las curvas de capacidad se trazan para las diferentes velocidades que se consideran. Luego se sobreponen las curvas que tienen la misma eficiencia. Estas curvas de eficiencia

constante, llamadas también curvas de isoeficiencia permiten encontrar la velocidad requerida y la eficiencia para cualquier condición de operación dentro de los límites de la gráfica.

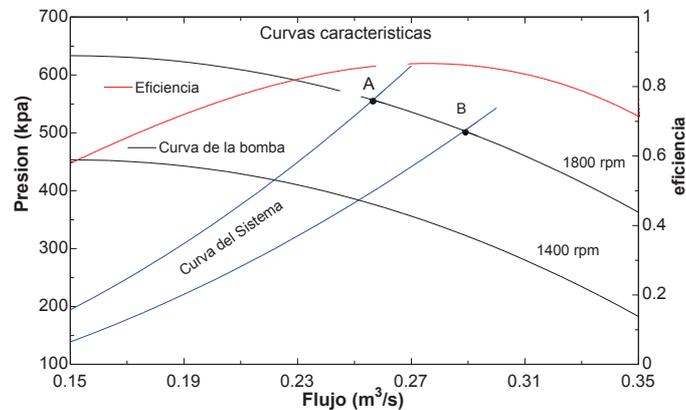


Figura. 3. Curvas características típicas para una bomba centrífuga.

Curvas de caída de presión del Sistema

Estas gráficas (Figura 3) se obtienen combinando la curva de caída de presión por fricción con la caída debida a la estática del sistema y las diferencias de alturas que pueden existir. Una curva de caída de presión por fricción es una relación entre el flujo y la fricción en los tubos, válvulas y accesorios de las líneas de succión y descarga. Puesto que la caída de presión por fricción varía aproximadamente en forma proporcional al cuadrado del flujo, la curva es generalmente parabólica. La pérdida de presión estática es la diferencia en elevación entre los niveles líquidos de la succión y la descarga. La intersección entre la curva de la capacidad de la bomba y la curva del sistema indica las condiciones a las que está operando la bomba (Figura 3).

Caso de estudio.

Como caso de estudio se analiza una red de enfriamiento, que tiene una configuración en paralelo, como se muestra en la Figura 4. Para el diseño térmico de la red se utilizan cambiadores de calor de tubo y coraza, los cuales están diseñados con un factor al ensuciamiento constante. Se analiza la distribución de flujo que pasa por cada ramal considerando diferentes escenarios: 1) no se presenta ensuciamiento los cambiadores de calor. 2) Con ensuciamiento es constante. 3) Ensuciamiento variable respecto al tiempo y otros parámetros de diseño. Para el último escenario se modifica el número de cambiadores de calor y las ramas para tener una mejor perspectiva de la distribución de flujo, la cual es de suma importancia para disminuir los problemas de en ensuciamiento.

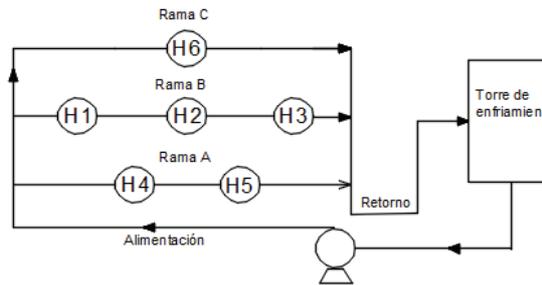


Figura 4. Red de enfriamiento. Caso de estudio.

Se realiza un análisis térmico-hidráulico de la red de enfriamiento. En la Tabla 1, se muestran las dimensiones de las tuberías para cada rama. En la Tabla 2, Se muestran algunas dimensiones de los cambiadores de calor y características de operación.

Tabla 1. Dimensiones de las tuberías.

Componentes	Diámetro (m)	Longitud (m)	Elevación (m)
Alimentación	0.35	200	0
Rama A	0.25	120	5
Rama B	0.2	170	5
Rama C	0.2	180	10
Retorno	0.35	200	0

Tabla 2. Características de los cambiadores de calor.

UNIDADES	H6-C	H1-B	H2-B	H3-B	H4-A	H5A
K valvula [Pa s/m ³]	9	9	9	9	9	9
No. Tubos	800	820	450	800	400	850
No. Pasos	2	2	2	2	2	2
Flujo frio [kg/s]	85	85	85	85	85	85
Hi [w/m ² °C]	6570	6700	10830	6570	11900	6500
Flujo caliente [kg/s]	14	20	12	23	14	18
Ho [w/m ² °C]	1035	495	510	680	650	375
Cp caliente [kw/°C]	2600	2250	2100	1800	2800	2200
TCi [°C]	20	20	TCO1	TCO2	20	TCO4
THi [°C]	120	110	90	85	85	100
L [m]	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
Di [m]	0.0148	0.0148	0.0148	0.0148	0.0148	0.0148
Do [m]	0.01905	0.01905	0.01905	0.01905	0.01905	0.01905
R [m ² °C/W]	0.00224	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005	0.001

Resultados

Distribución de flujo sin ensuciamiento y con ensuciamiento constante.

En las Figuras 5 y 6, se muestran los resultados sin considerar ensuciamiento y considerando un ensuciamiento constante. Se observa que cuando no se considera que hay ensuciamiento la mayor cantidad de flujo se va hacia la corriente C debido a que ésta sólo cuenta con un cambiador de calor y a que no se considera rugosidad en los tubos. Cuando se considera ensuciamiento

constante la corriente A es la que recibe la mayor cantidad de flujo, esto se debe a que los cambiadores de esta rama tienen una resistencia al ensuciamiento menor a la que se considera para los cambiadores de la corriente C. Así mismo, la corriente A tiene menor longitud que las otras ramas, lo cual genera una menor resistencia (Tabla 2).

Distribución de flujo usando ensuciamiento variable.

Los resultados obtenidos al usar un factor a la resistencia por ensuciamiento variable se muestran en las siguientes Figura 7 y 8. De la Figura 7 se observa cómo la distribución de flujo por las ramas va cambiando con el tiempo. Se observa además que, en las corrientes A y B el flujo disminuye mientras que en C aumenta. Esto es porque en las corrientes A y B se genera mayor ensuciamiento por la presencia de un mayor número de cambiadores de calor. Con el paso del tiempo incrementa el ensuciamiento considerablemente, generando una mayor resistencia y por ende menor flujo por la corriente A y B. En la Figura 8, se observa el incremento de la resistencia en cada uno de los ramales teniendo un menor incremento en C.

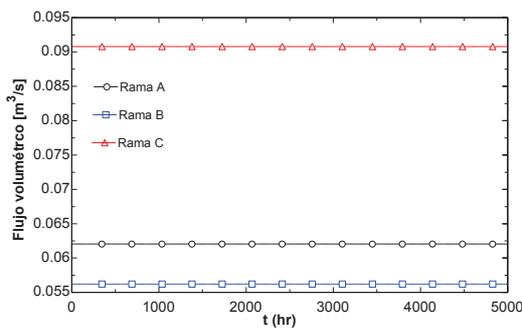


Figura 5. Sin ensuciamiento

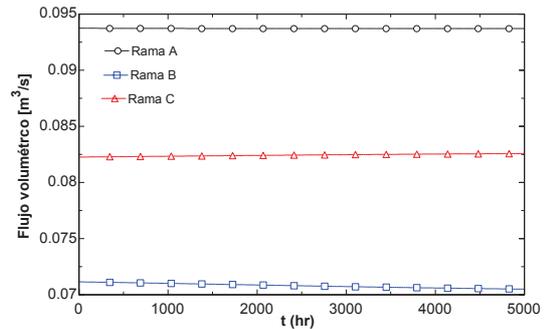


Figura 6. Con ensuciamiento constante.

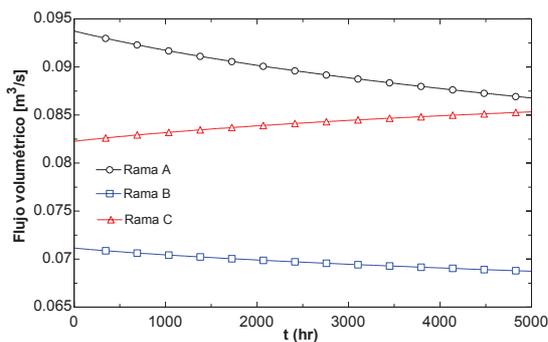


Figura 7. Distribución de flujo por las ramas.

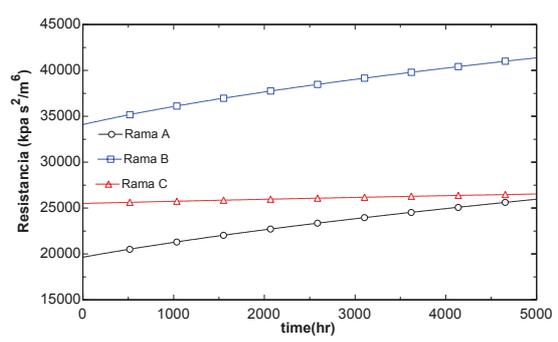


Figura 8. Resistencia al flujo en cada rama.

Conclusiones

Conocer la distribución del flujo en función del tiempo permite predecir el desempeño termo-hidráulico de redes de enfriamiento. El incremento de ensuciamiento en los cambiadores de calor con el tiempo afecta la distribución de flujo en una red de enfriamiento. Mediante el uso de un

nuevo modelo para predecir el ensuciamiento es posible conocer el incremento del ensuciamiento con el tiempo. En cuanto al dimensionamiento de un cambiador de calor, el uso de factores de ensuciamiento constantes y de valor grande tiende a incrementar la rapidez de deposición, reduciendo la capacidad de transferencia de calor, incrementando la caída de presión y creando problemas de distribución de flujo. La metodología que se propone en este trabajo es una herramienta de análisis para la toma de decisiones en la operación de redes de enfriamiento.

Bibliografía

- [1] Lugo-Granados H., Picón Núñez M., (2018). Modelling scaling growth in heat transfer surfaces and its application on the design of heat exchangers. *Energy*. 160, 845-854.
- [2] Kern, D. Q., & Seaton, R. (1959), "Theoretical analysis of thermal surface fouling. *British Chemical Engineering*", 4 (5), 258-262.
- [3] Picón-Núñez, T. Polley, Canizalez-Dávalos y Medina-Flores (2011). Short cut performance method for the design of flexible cooling systems. *Energy*. 36. 4646-4653.
- [4] Tyler G. Hicks. (1988). *Bombas su selección y aplicación*. 1er Ed, Mcgraw-Hill Book Company, Inc. New York. 20-30.

EN BÚSQUEDA DE UNA RELACIÓN ENTRE LA VELOCIDAD DE ROTACIÓN DE LAS ESTRELLAS Y LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE SUS EXOPLANETAS CON EL TIGRE

L. M. Flor Torres^a, R. Coziol^b, K. -P. Schröder^c, y D. Jack^d

^{a,b,c,d} Departamento de Astronomía, Universidad de Guanajuato, Callejón de Jalisco S/N. Colonia Valenciana. Código Postal 36240, Guanajuato, Gto, México.

^alflor@astro.ugto.mx, ^brcoziol@astro.ugto.mx, ^ckps@astro.ugto.mx, ^ddennis@astro.ugto.mx

Resumen

Una muestra de 28 estrellas anfitriones de exoplanetas fue observada con el espectrógrafo Echelle HEROS del telescopio TIGRE localizado en el observatorio La Luz en Guanajuato. Los espectros fueron analizados usando el programa iSpec, para determinar algunas características físicas de las estrellas: Temperatura efectiva, gravedad superficial, metalicidad, microturbulencia, macroturbulencia y velocidad de rotación. Después de comparar estos parámetros se encontró diferencias que pueden ser explicadas por diferencias en la composición de los exoplanetas, en particular la presencia de una envoltura masiva de hidrógeno metálico líquido (HML).

Palabras clave: *Exoplanetas, estrellas, espectroscopía*

Introducción

Hasta la fecha se considera que el número de exoplanetas “confirmados”(planetas fuera del sistema solar) superan los 3800 en [http://exoplanet.eu/\[1\]](http://exoplanet.eu/). Estos exoplanetas han sido detectados mediante diferentes técnicas. Entre ellas las más importantes son: la velocidad radial y el tránsito. Estudiar estos exoplanetas es algo complicado, puesto que la información disponible es escasa. En general, se ha encontrado que la mayoría de los exoplanetas son extremadamente cercanos (periodos cortos) de su estrella, incluso más cercanos que Mercurio está del Sol. Además, una gran cantidad cuentan con masas y radios mayores que Júpiter. En base a estas dos características, se clasificó estos exoplanetas como “Júpiter calientes”. El descubrimiento de los Júpiter calientes es algo problemático, porque sugiere mecanismos de formación diferentes (la migración planetaria) que no ha acontecido (o muy poco) en el sistema solar. Para entender mejor el proceso de formación de los exoplanetas, estudiamos la relación entre la velocidad de rotación de las estrellas y el momento angular de las orbitas de los exoplanetas. Según el modelo estándar de la formación del Sistema Solar, los exoplanetas nacen en un disco protoplanetario en rotación que se forma muy poco tiempo después de la formación de sus estrellas anfitrionas. Por lo tanto, se esperaría ver algunas relaciones entre el momento de rotación de las estrellas y el momento angular de las orbitas de sus planetas.

Diferentes tipos de Júpiter Calientes

De forma general, se ha encontrado que los Júpiter calientes cumple una relación lineal entre la masa y el radio, en donde el radio aumenta con su masa. Dicha relación varía en el caso de las enanas marrón (estrellas menos masivas que el Sol y que no queman hidrógeno en su centro) en donde su radio disminuye cuando su masa aumenta. Esta diferencia de comportamiento masa-radio podría sugerir dos mecanismos distintos de formación: a partir de un disco protoplanetario en el caso de exoplanetas, y a partir de un nube de gas en el caso de enanas marrón. Alternativamente, se podría sugerir un cambio en las estructuras internas de estos objetos en términos de envoltentes masivas de hidrógeno metálico líquido (HML).

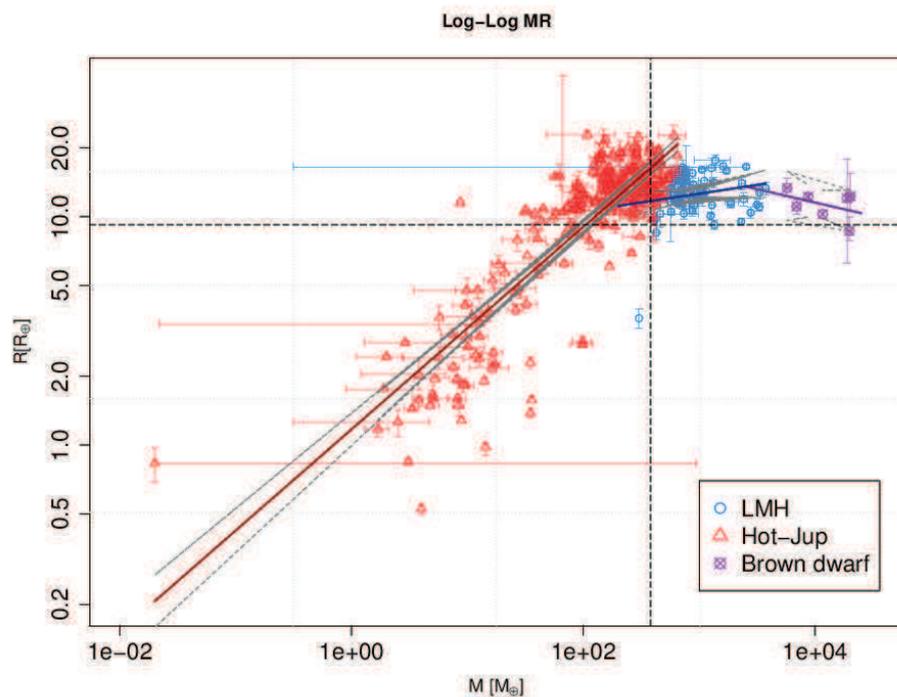


Figura 1. Relación Masa-Radio de los ~3800 exoplanetas

En la figura 1, comparamos la relación masa-radio para el conjunto de las ~3800 exoplanetas conocidos hasta el momento. Como se observa, a medida que la masa del planeta aumenta, la relación masa-radio tiende a desaparecer y el radio tiende a tomar un valor constante. Según los modelos, un radio constante se espera para un objeto formado de HML por la incompresibilidad del hidrógeno en la fase líquida. Basados en los principios físicos, se espera ver cambios en la estructura de exoplanetas más masivos que Júpiter, en donde el hidrógeno a alta presión y baja temperatura cambia de una fase gaseosa a una fase metálica líquida[2]. Usando el límite Auto-gravitante en masa y radio (líneas punteadas verticales de la Figura 1) para ubicar el cambio de fase, vemos que la relación masa-radio de los exoplanetas con alta probabilidad de ser HML (puntos en azul) parece consistente con un radio constante. Además, 7 de los 3800 exoplanetas en nuestra muestra tienen comportamiento similar al de las enanas marrón (puntos púrpuras).

Al ver la diferencia en las relaciones masa-radio de los Júpiter calientes y HML, nos lleva a pensar que el proceso de formación de estos exoplanetas podría ser influenciado por sus diferentes estructuras internas. En particular, el hecho que el HML es incompresible hace estos exoplanetas menos sensible a efectos de marea, que es importante en caso de planetas que pasan a distancias muy cercanas de sus estrellas. También el hecho que el HML sea un buen conductor de electricidad hace que los campos magnéticos de los exoplanetas con HML son más potentes, sugiriendo un acoplamiento más fuerte con el disco protoplanetario, y por lo tanto diferentes procesos de migración. Ambos fenómenos podrían influir en el mecanismo de transferencia de momento angular entre disco-protoplanetario, o exoplaneta y la estrella anfitriona.

Metodología

Para nuestro estudio, se hizo uso de espectros de alta resolución ($R \sim 20000$) de 28 estrellas huéspedes de exoplanetas (Júpiter calientes y HML) obtenidos mediante el telescopio TIGRE[3] equipado con el espectrógrafo HEROS (éste instrumento actúa como un prisma, separando la luz en su diferente longitudes de onda). Para determinar las propiedades físicas de estas estrellas se utilizó el programa iSpec[4], un código abierto para el análisis espectral, el cuál genera un espectro sintético con diferentes parámetros astrofísicos: la temperatura efectiva (T_{eff} ; la temperatura de la superficie visible), la gravedad superficial (g ; la fuerza gravitacional en su superficie), la metalicidad (M_H ; la abundancia relativa de los elementos más pesados que el Helio) y la velocidad de rotación ($v \sin i$). Luego este espectro es comparado con el espectro obtenido en la observación, determinando de esta manera las características físicas de la estrella observada (Figura 2).

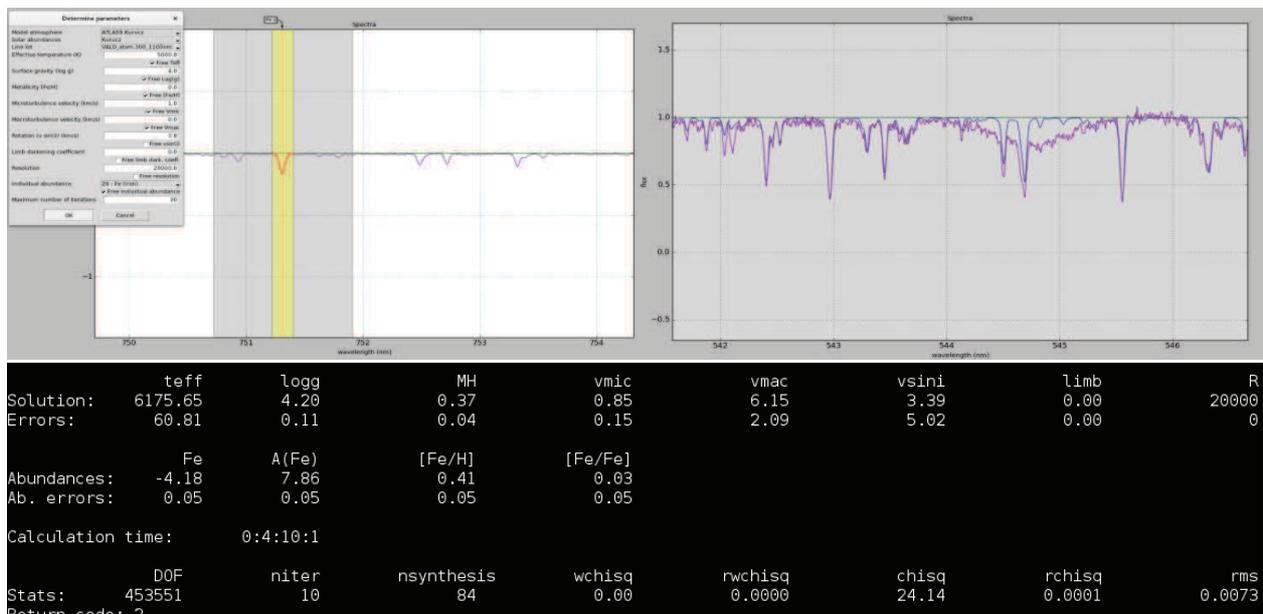


Figura 2. Espectro observado y analizado por iSpec (arriba), y sus respectivos resultados preliminares (abajo)

En nuestro estudio, no se utilizó todo el espectro, sino solo las líneas de absorción más importantes, Fe, Na, Ca y H α , verdaderas huellas dactilar que da información de la estrellas que se está analizando. Es decir, que dan información directa de los parámetros físicos por la forma en que varían con ellas (anchan, encogen, alargan, etc).

Resultados

Siguiendo el método descrito en la sección anterior, se obtuvo los parámetros físicos de las 28 estrellas de nuestra muestra, como se puede ver en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros físicos de las estrellas de nuestra muestra obtenidos con iSpec

NAME STAR	Teff	e_Teff	log g	e_log g	[M/H]	e_[M/H]	[Fe/H]	e_[Fe/H]	vsin i	e_vsin i	Vmic	Vmac	x ²	rms
HD 46375	5258,85	32,08	4,47	0,05	0,37	0,02	0,27	0,02	2,43	0,99	0,653	2,480	23,83	0,0279
HD 75289	6112,25	39,95	4,42	0,09	0,18	0,02	0,18	0,02	3,97	1,00	1,267	4,286	15,00	0,0220
HD 88133	5354,62	27,16	3,92	0,07	0,34	0,02	0,25	0,02	1,94	1,17	0,911	3,623	24,76	0,0285
HD 149143	5967,52	32,34	4,40	0,08	0,31	0,02	0,27	0,02	4,10	0,91	1,168	3,807	24,76	0,0285
HD 179070	6232,58	105,14	3,71	0,26	0,01	0,06	-0,02	0,08	10,60	2,01	1,592	6,147	167,48	0,0245
HAT-P-14	6459,33	48,23	3,86	0,14	-0,02	0,03	-0,07	0,04	9,20	1,17	1,685	6,820	21,37	0,0265
HAT-P-30	6168,67	51,03	3,82	0,15	0,06	0,03	0,03	0,04	9,46	1,01	1,509	5,667	220,92	0,0281
KELT-3	6227,96	55,16	3,70	0,14	0,01	0,03	-0,04	0,03	9,07	0,98	1,593	6,147	18,17	0,0244
KELT-6	6386,49	69,22	3,55	0,14	-0,09	0,04	-0,14	0,04	7,53	1,38	1,755	7,153	32,00	0,0324
WASP-14	6283,46	53,37	3,78	0,16	-0,24	0,04	-0,27	0,04	2,71	2,49	1,603	6,223	18,68	0,0247
KEPLER-21	6153,90	41,96	3,84	0,13	-0,07	0,03	-0,10	0,03	7,76	0,98	1,492	5,570	20,55	0,0260
KELT-2A	6093,99	41,81	3,90	0,12	0,04	0,02	0,00	0,03	6,99	0,89	1,430	5,229	14,43	0,0218
HAT-P-2	6291,40	103,37	4,05	0,17	0,06	0,05	0,04	0,06	21,32	1,54	1,515	5,718	92,77	0,0182
WASP-38	6071,04	72,21	4,00	0,11	-0,05	0,04	-0,10	0,03	7,44	0,97	1,379	4,948	14,66	0,0219
HD86081	5864,41	59,36	3,99	0,10	0,13	0,03	0,08	0,02	3,83	1,08	1,240	4,330	16,77	0,0235
WASP-74	5916,39	33,21	4,38	0,08	0,39	0,02	0,32	0,02	8,49	0,62	1,140	3,694	28,12	0,0304
HD 149026	6058,75	39,28	4,30	0,09	0,23	0,02	0,21	0,02	4,40	0,94	1,266	4,305	18,14	0,0244
HD 209458	6013,97	60,08	4,11	0,12	0,04	0,03	0,01	0,03	5,43	0,97	1,302	4,534	34,28	0,0335
BD 10 31 66	5220,78	30,17	4,28	0,06	0,47	0,02	0,36	0,02	7,88	0,56	0,693	2,853	40,74	0,0365
HAT-P-22	5381,64	37,46	4,50	0,06	0,38	0,02	0,32	0,02	0,00	0,00	0,728	2,481	23,35	0,0277
HD 80606	5486,52	29,27	4,42	0,06	0,38	0,02	0,29	0,02	1,43	1,41	0,828	2,742	27,54	0,0301
HD 49674	5574,87	46,55	4,49	0,07	0,27	0,02	0,24	0,02	0,00	0,00	0,865	2,721	21,53	0,0266
HD 118203	5729,47	52,99	3,97	0,10	0,16	0,03	0,12	0,02	4,19	0,91	1,153	4,044	16,13	0,0230
HD189733	5050,38	41,06	4,49	0,06	0,18	0,03	0,15	0,02	4,57	0,73	0,501	2,473	207,02	0,0272
HD 97658	5320,06	35,64	4,79	0,07	-0,10	0,02	-0,16	0,02	0,00	0,00	0,580	1,843	13,14	0,0208
HD 219134	4981,29	24,77	4,72	0,05	0,33	0,01	0,24	0,02	6,50	0,53	0,373	2,062	23,09	0,0275
HAT-P-7	6221,11	49,40	3,49	0,08	0,16	0,02	0,13	0,02	9,19	0,62	1,661	6,539	252,84	0,0303
KELT-7	6299,82	68,27	3,98	0,13	0,10	0,03	0,06	0,05	65,76	2,49	1,546	5,904	11,74	0,0196
KEPLER-37	5486,52	72,18	4,50	0,10	-0,12	0,04	-0,18	0,03	7,43	0,83	0,800	2,582	19,99	0,0256

Comparando los parámetros físicos de estas estrellas, distinguiéndolas por el tipo de planeta que hay alrededor de ellas, Júpiter calientes y HML.

Se encuentran los siguientes:

- En la Figura 3 comparamos la velocidad de rotación (eje y) con la temperatura efectiva de cada una de las estrellas: a medida que las estrellas son más frías su velocidad es menor. Para estrellas en la secuencia principal, entre más su temperatura efectiva, más baja la masa de la estrella. Por lo tanto, lo que la Figura 3 sugiere es que entre más baja la masa de la estrella, más baja su velocidad de rotación ($v \sin i$).

- Es importante destacar que las estrellas de baja masa, casi no pierden masa durante su evolución sobre la secuencia principal, por lo que el valor de la velocidad de rotación debería ser muy cerca del original cuando la estrella se formó. Además, los exoplanetas en nuestra muestra han sido descubiertos por el método de tránsito y gracias a esto sabemos que el ángulo de visión es perpendicular al eje de translación del planeta (perpendicular al disco proto-estelar), por lo que podemos asumir que también es casi perpendicular al eje de rotación de la estrella. Al no ver diferencia entre los Júpiter calientes y HML sugiere que no hubo gran influencia de la formación de estos exoplanetas sobre la formación de las estrellas.

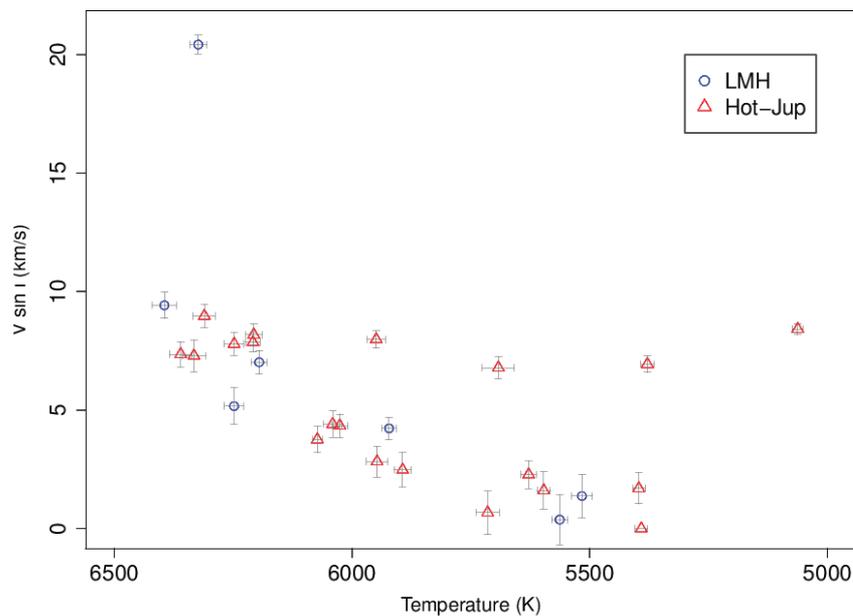


Figura 3. Relación entre la velocidad de rotación ($V \sin i$) y la temperatura de las estrellas. Las cuatro estrellas con Júpiter calientes que caen fuera de la relación general, son estrellas peculiares (con superficies activas, momento angular variable o momentos propios altos). La estrella con más alta velocidad es más masiva que el promedio.

- En la figura 4 comparamos el momento angular de los exoplanetas con la velocidad de rotación de sus estrellas anfitrionas. Para la mayoría de los Júpiter calientes, el momento angular de los planetas aumenta con la velocidad de rotación de sus estrellas. Esta relación es la esperada por la ecuación 1:

$$L_p = m_p \sqrt{GM_{hs} a_p (1 - e_p^2)} \quad (1)$$

donde m_p es la masa del planeta, G es la constante gravitacional, M_{hs} es la masa de la estrella huésped, a_p es el semieje mayor y e_p es la excentricidad del planeta.

Como se puede observar el momento angular de los Júpiter calientes depende principalmente de la masa de la estrella, al igual que la velocidad de rotación. Pero esto

no parece aplicarse para las estrellas con exoplanetas HML. El momento angular de estas es alto e independiente de la velocidad de rotación de sus estrellas. Esto sugiere que la masa de la estrella no es el único valor determinante del momento angular del planeta. Esto podría sugerir diferencias en el proceso de migración a medida que las envolventes de HML crecen.

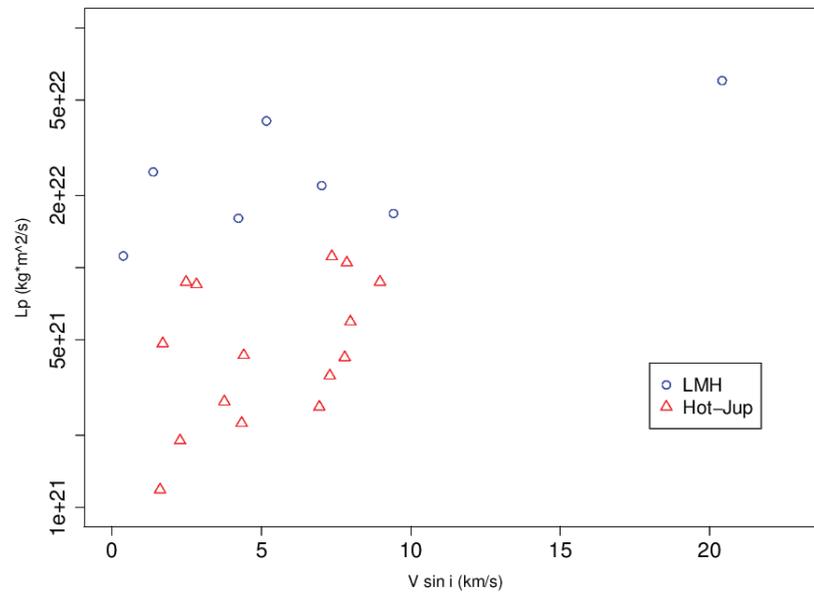


Figura 4. Momento angular de la órbita de los exoplanetas como función de la velocidad rotacional de las estrellas huéspedes, distinguiendo entre Júpiter calientes y SGE

✓ *Relación con el proceso de migración*

El proceso de migración implica un decrecimiento del momento angular del planeta, el cuál implica la disipación de energía por el disco proto-planetario por acoplamiento magnético y/o la transferencia de momento angular entre la estrella y sus planetas. En este proceso la migración debe frenarse cuando las fuerzas del disco sobre el planeta están balanceadas por el momento angular del planeta. En este caso, entre más alta la velocidad de rotación de la estrellas más alto el momento angular del planeta en equilibrio, consistente con la relación encontrada para los Júpiter calientes. Del otro lado, en el caso de HML, un campo magnético mayor produce un acoplamiento mayor con el disco, aumentando la disipación de energía, y un menor efecto de marea, disminuyendo la transferencia de momento angular con las estrellas. Estos dos efectos implican un mayor momento angular de los exoplanetas en equilibrio.

Esto sugiere que las orbitas en equilibrio de los HML deberá ser más energéticas que las orbitas de los Júpiter calientes. En términos del proceso de circularización de las orbitas (la excentricidad tiende a 0), los exoplanetas HML entonces deberían tener diferente excentricidad que los Júpiter

calientes. Esto se verifica en la figura 5, en donde en promedio la excentricidad de los HML es más alta que la de los Júpiter calientes.

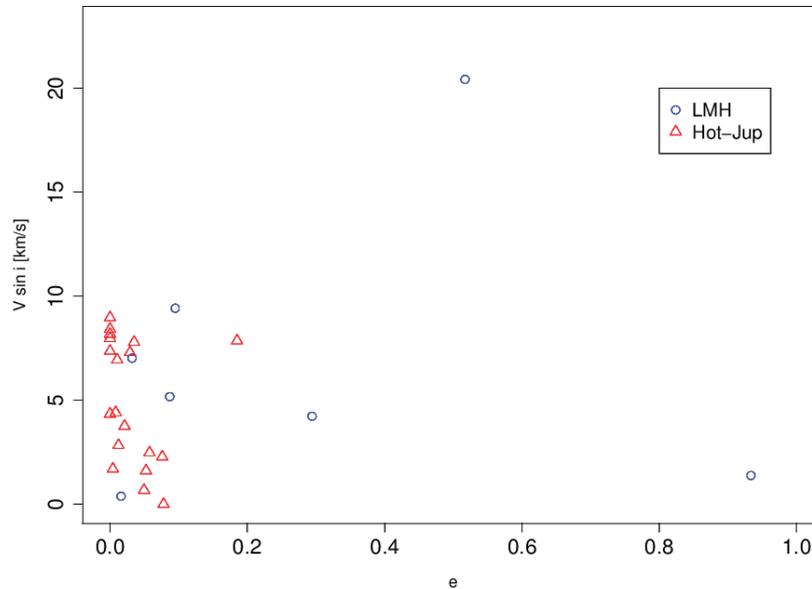


Figura 5. Excentricidad de los SGE y los Júpiter calientes comparada con la velocidad rotacional de sus estrella huéspedes

Conclusiones

A medida que la masa de un exoplaneta aumenta se observa una variación en la relación masa-radio, lo que sugiere un cambio posible en la estructuras de los Júpiter calientes, pasando de una envoltura dominada por hidrógeno en fase gaseosa a un envoltura dominada por HML. Al no ser compresible y al ser altamente conductora de electricidad, los exoplanetas HML podrían influir en sus proceso de migración, cambiando el acoplamiento con el disco proto-planetario, aumentando la disipación, y disminuyendo los efectos de marea, y así disminuyendo la transferencia de momento angular entre los exoplanetas y sus estrellas anfitriones. Estos factores podrían explicar el porqué los exoplanetas HML tienen órbitas de equilibrio más energéticas que los Júpiter calientes (órbitas de más alto momento angular y más alta excentricidad).

Bibliografía

- [1] Schneider, J., Dedieu, C., Le Sidaner, P., Savalle, R., & Zolotukhin, I., 2011, “*Defining and cataloging exoplanets: The exoplanet.eu database*”, *A&A*, A79,532, 11.
- [2] Dalladay-Simpson, P., Howie R. T. & Gregoryanz, E., 2016, “Evidence for a new phase of dense hydrogen above 325 gigapascals”, *Nature*, 529, 63
- [3] Schmitt, J. H. M. M., Schröder, K.-P., Rauw, G., et al. 2014, “*TIGRE: A new robotic spectroscopy telescope at Guanajuato, Mexico*”, *Astronomische Nachrichten*, 335, 787
- [4] Blanco-Cuaresma, S., Soubiran, C., Heiter, U., & Jofré, 2014, “*Determining stellar atmospheric parameters and chemical abundances of FGK stars with iSpec*”, *A&A*, 569, A111

ESTUDIO MOLECULAR DE LA SÍNTESIS DE L-RAMNOSA EN *Sporothrix schenckii* Y SU ROL EN LA INTERACCIÓN CON EL SISTEMA INMUNE INNATO

Alma K. Tamez Castrellón, Luz A. Ramírez López, Héctor M. Mora Montes

Departamento de Biología, DCNE, Universidad de Guanajuato. Noria Alta s/n, Col. Noria Alta

Guanajuato, Gto. CP 36050, México. hmora@ugto.mx

Resumen

La esporotricosis es una micosis subcutánea causada por el hongo *Sporothrix schenckii*. Esta enfermedad se origina por una inoculación cutánea, donde los conidios de *Sporothrix* entran a tejidos subcutáneos. La unión de patrones moleculares asociados a patógenos, como polímeros y proteínas de pared celular, a los receptores de reconocimiento de patrones en las células del sistema inmune innato activan el sistema inmune. Un componente conocido de la pared celular de *S. schenckii* es la peptidoramnomanana (PRM). La PRM de la pared celular de las levaduras está compuesta de 33.5% de ramnosa, 57% de manosa y 14.2% de proteína. La L-ramnosa es sintetizada de manera similar en bacterias, plantas y hongos. En bacterias el precursor dTDP-L-ramnosa es sintetizado a partir de D-glucosa-1-fosfato por una vía que requiere cuatro enzimas distintas. RmlD cataliza el paso final de esta vía convirtiendo dTDP-6-desoxi-L-lixo-4-hexulosa a dTDP-L-rhamnosa. Usando un enfoque bioinformático, identificamos el ortólogo putativo de *rmlD* en *S. schenckii*, el cual codifica para una 4-desoxiramnosa reductasa. Para demostrar el papel que juega la ramnosa durante el reconocimiento inmune con células mononucleares de sangre periférica y su papel en la virulencia y patogenicidad del hongo, nosotros silenciamos la expresión de este gen con el fin de disminuir o abatir por completo la síntesis de ramnosa y así poder determinar su papel durante la infección con el hongo.

Palabras clave: *S. schenckii*, L-ramnosa, pared celular, peptidoramnomanana

Introducción

La esporotricosis es una micosis granulomatosa subcutánea aguda o crónica de humanos y mamíferos que tiene una distribución mundial y distintas manifestaciones clínicas [1]. *Sporothrix schenckii* es un hongo dimórfico que presenta una fase micelial y una fase levaduriforme [2]. La fase micelial o saprofitica se caracteriza por hifas delgadas, hialinas, septadas y ramificadas que contienen conidióforos y estos producen conidios que se agrupan formando grupos parecidos a flores [1]. La fase parasítica o levaduriforme es pleomórfica, presentando células alargadas u ovals que miden de 2.5 a 5 μm de diámetro que parecen cigarrillos [1].

Siendo la pared celular de *S. schenckii* el primer punto de contacto del hongo con las células del sistema inmune ésta pueda mediar varios procesos asociados con la patogénesis. La pared celular de las levaduras de *S. schenckii* está compuesta por glucanos alcali-solubles e insolubles. La fracción soluble contiene ramnosa, manosa y glucosa; las unidades de glucanos presentan uniones $\beta(1-3)$ en 42% y el resto $\beta(1-4)$ y $\beta(1-6)$. En micelio el contenido de los glucanos con uniones $\beta(1-3)$ es del 66% [3]. En 1971 Lyod y Bitoon [4] reportaron el aislamiento y purificación de una

peptidoramnomanana (PRM) inmunológicamente activa de *S. schenckii*. Este glicoconjugado es un complejo de moléculas con un amplio intervalo de pesos moleculares que pueden ser reconocidas por IgG [4] y receptores celulares del hospedero [5]. La PRM contiene 33.5% de ramnosa, 57% manosa y 12.2% de proteína [4].

En las primeras etapas de la interacción del sistema inmune con el hongo, el sistema inmune innato juega un papel muy importante controlando al organismo. Los componentes de la pared celular del hongo son patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) que son reconocidos por los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) que se encuentran en las células del sistema inmune [6].

En los hongos *Magnaporthe grisea* y *Botryotinia fuckeliana* se identificó por primera vez los genes de dos enzimas encargadas de formar la UDP-Rha a partir de UDP-Glu. La primera siendo una 4,6-deshidratasa (UG4,6-Dh) y la segunda una enzima bifuncional con actividades de 3,5-epimerasa y 4-reductasa (U4k6dG-ER) [7]. En *Botritis cinerea* también se encontraron genes ortólogos a los descritos por Martínez *et al.* (2012) siendo estos *bcdh* que codifica para una UDP-glucosa-4,6-deshidratasa y el *bcer* que codifica para una UDP-4-ceto-6desoxiglucosa-3,5-epimerasa/-4-reductasa [8]. Estos estudios demuestran que en hongos la síntesis de UDP-Rha se lleva a cabo por dos enzimas una de las cuales es bifuncional; a diferencia de bacterias en las cuales la síntesis de dTDP-Rha es llevada a cabo por tres distintas enzimas.

Metodología

Construcción del casete de silenciamiento.

Para hacer el casete de silenciamiento del gen *rmlD* de *S. schenckii* se amplificaron las primeras 315 pb del marco de lectura abierto del gen *rmlD* (GenBank XM_016733157.1) que contiene las secuencias adaptadoras para las enzimas de restricción *XhoI* y *HindIII* en los extremos, para clonar el fragmento en sentido; y para clonar el fragmento en antisentido se utilizaron las secuencias adaptadoras para las enzimas *BglII* y *StuI*.

Las amplificaciones resultantes se subclonaron en el vector de mantenimiento pJET blunt 2.1 (ThermoFisher). Luego los fragmentos se subclonaron en el vector pSilent con los sitios de restricción respectivos, una vez clonados los fragmentos sentido y antisentidos se amplificó por PCR la construcción de silenciamiento y esta se subclonó en el vector pBGgHg.

Transformación mediada por *A. tumefaciens* de células de *Sporothrix schenckii*

Se puso un preinóculo de la cepa de *A. tumefaciens* con la construcción a introducir a las células de *S. schenckii* en medio LB a 28°C y 120 rpm durante toda la noche. Al preinóculo se le midió la D. O._{600 nm} y se le hizo una dilución para tener una D. O. de 0.2/mL final Medio de Inducción (MI). Las cepas de *A. tumefaciens* se pusieron a incubar con el inductor Acetoseriingona. Se cosecharon conidios de *S. schenckii* de 7 días de incubación y se hicieron diluciones para tener una concentración final de conidios de 1×10^6 conidios/mL. Una vez pasado el tiempo de inducción, en cajas Petri con MI y con los celofanes se plaquearon 100 μ L de *A. tumefaciens* y

100 μ L de la dilución de conidios de *S. schenckii*. Se incubaron por 3 días a 28°C. Pasados los 3 días los celofanes se pasaron a cajas Petri con medio YPD 4.5 con Higromicina y Cefotaxima, se dejaron incubando por 4 días a 28°C y pasado este tiempo las colonias resistentes a Higromicina se seleccionaron y se sembraron en cajas nuevas con medio YPD con Higromicina.

Complementación heteróloga de *St. mutans* con el gen *rmlD* de *S. schenckii*.

Para confirmar la función de *Ssrm1D* en la biosíntesis de L-ramnosa, expresamos heterológamente, el gene en *Streptococcus mutans*. Para su complementación, el marco de lectura abierto de *Ssrm1D* fue sintetizado a partir de la secuencia nucleotídica y clonado en el vector pDC123 usando los sitios de restricción *XbaI* y *BamHI*. Este plásmido fue transformado en *S. mutans* silvestre, seleccionado por su resistencia a Carbamicina. Después, el gen endógeno *SmurmlD* fue interrumpido por reemplazo preciso con un gen de resistencia a Eritromicina.

Ensayos de Expresión

Para medir la expresión del gen *rmlD* en las mutantes de *S. schenckii*, el RNA se extrajo de las transformantes, se sintetizó cDNA siguiendo las instrucciones del kit SuperScript™ II Reverse Transcriptase (ThermoFisher), luego se cuantificó el cDNA y se diluyó a una concentración de 200 ng/ μ L. La PCR en Tiempo Real fue hecha en un termociclador de Applied Biosystems StepOne™, siguiendo las instrucciones del kit SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems). Todas las reacciones produjeron un solo amplicón, con una curva de fusión uniforme, determinada por el perfil de disociación de los productos. Se determinó una cuantificación relativa calculando $2^{-\Delta\Delta CT}$. Los datos de expresión se normalizaron usando el gen L6 como gen endógeno.

Análisis de la Composición de la Pared Celular.

Las células fueron rotas mecánicamente, el homogenado fue centrifugado, y la pastilla colectada y lavada con agua desionizada. Las paredes celulares fueron liofilizadas y se les hizo una hidrólisis ácida. Estas muestras se analizaron por HPAEC-PAD y la separación de carbohidratos fue alcanzada por un gradiente de acetato de sodio en 150 mM NaOH (flujo 0.5 mL/min).

Resultados

El gen *rmlD* de *S. schenckii* está involucrado en la biosíntesis de L-ramnosa.

La síntesis de L-ramnosa en hongos y bacterias se deriva de UDP-glucosa y dTDP-glucosa por una vía que involucra 3 o 4 pasos. En una búsqueda BLAST de genes ortólogos de la secuencia de la enzima RmlD de *Escherichia coli* en el genoma de *S. schenckii*, encontramos un ortólogo putativo para la secuencia de RmlD en *E. coli* y otros organismos como hongos y plantas (Tabla 1).

Tabla 3. Análisis de homología de la proteína RmlD de *S. schenckii* con enzimas de otras especies.

	Identidad	Similitud
<i>Verticillium dahlia</i>	20%	34%
<i>Botrytis cinerea</i>	23%	43%
<i>Magnaporthe oryzae</i>	23%	39%
<i>Arabidopsis thaliana</i>	24%	38%
<i>E. coli</i>	26%	46%

Para ver si el producto del gen *rmlD* de *S. schenckii* (*SsrmlD*) tiene una función similar a la esperada, una expresión heteróloga de éste fue hecha en una mutante de *Streptococcus mutans* $\Delta rmlD$, los resultados mostraron que el fenotipo de la mutante nula fue restaurado al de la cepa silvestre con la expresión de *SsrmlD*. Estos resultados sugieren que la proteína RmlD es funcional y que está involucrada en la síntesis de L-ramnosa (Fig. 1)

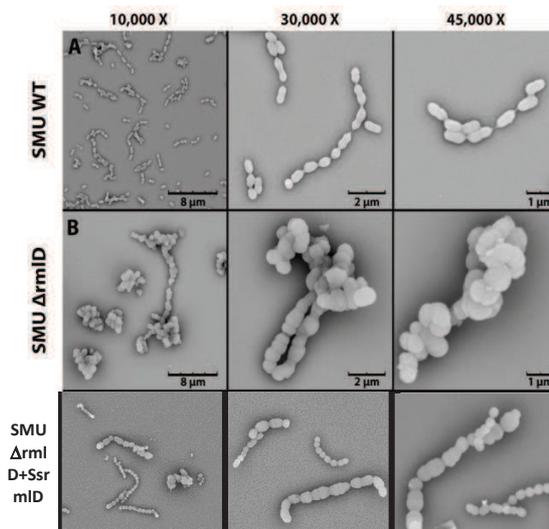


Figura 1. El gen *SsrmlD* restaura el fenotipo silvestre de *St. mutans*. Imágenes tomadas por SEM del fenotipo de Wt SMU, $\Delta rmlD$ y complementante heteróloga con *SsrmlD*.

Silenciamiento del gen *rmlD* de *S. schenckii*

Para obtener las mutantes con una expresión menor o sin expresión del gen *SsrmlD*, llevamos a cabo un silenciamiento del gen. Se obtuvieron cinco mutantes a las que se les corroboró la inserción en el genoma de la construcción de silenciamiento por PCR (datos no mostrados). Para detectar el grado de silenciamiento de la expresión del gen, ensayos de expresión por PCR Tiempo-Real fueron hechos, usado una cuantificación relativa $2^{-\Delta\Delta CT}$ una de las transformantes

mostró aproximadamente un 50% menos en la expresión del gen y tres una disminución del 20% (Fig. 2).

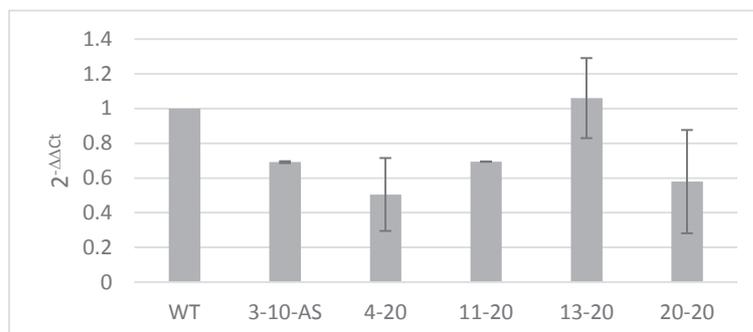


Figura 2. Expresión del gen *rmlD* en las mutantes de *S. schenckii*. Un análisis $\Delta\Delta C_t$ de la expresión del gen *rmlD* de las mutantes de *S. schenckii* comparado con la cepa silvestre, mostró que una de ellas tiene una disminución de aprox. el 50% en la expresión del gen.

Cuantificación de Carbohidratos de pared celular de la mutantes de *S. schenckii*

Para saber si el grado de disminución de la expresión del gen *rmlD* en las mutantes es suficiente para mostrar un fenotipo, en la producción de ramnosa en la pared celular se llevó a cabo un análisis de cuantificación de carbohidratos de pared celular de las mutantes. El cual mostró que en dos de las mutantes hay una disminución en la ramnosa presente en la pared celular.

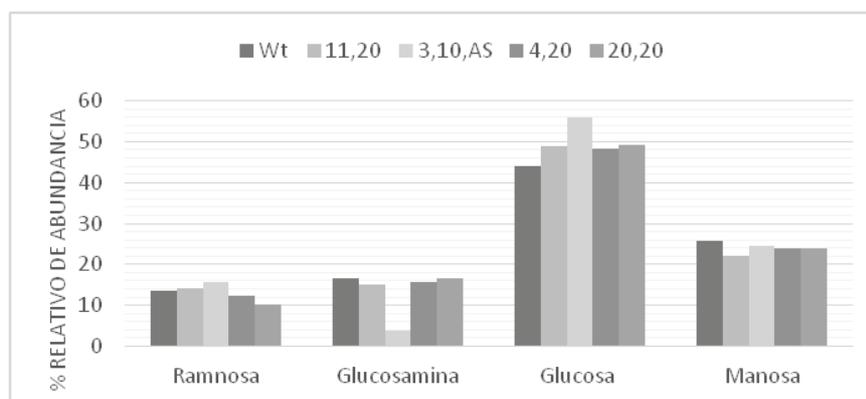


Figura 1. Porcentaje Relativo de Abundancia de carbohidratos de pared celular de las mutantes de *S. schenckii*. Los resultados muestran una disminución en la cantidad de ramnosa presente en la pared celular de dos de las mutantes.

Conclusiones

Los resultados obtenidos hasta el momento nos muestran que el producto del gen *SsrmlD* tiene la actividad esperada, involucrada en el último paso de la síntesis de L-ramnosa. Por un análisis

informático identificamos el gen ortólogo de *rmlD* de *E. coli*, en *S. schenckii* el cual tiene una identidad del 26% y una similitud del 46%, esta enzima cataliza el paso final de la síntesis de L-ramnosa.

Siendo la pared celular el primer punto de contacto con el sistema inmune, es de importancia estudiar los componentes de ésta para establecer la importancia de ellos en la interacción y modulación de la respuesta inmune del hospedero. La ramnosa no es un carbohidrato que se encuentre presente en el hospedero, por lo tanto, su biosíntesis podría ser un blanco para futuros tratamientos terapéuticos contra el hongo.

Para saber el impacto de la ramnosa en la interacción del hongo con células inmunes del hospedero, nosotros silenciemos la expresión del gen *rmlD* de *S. schenckii*, de las mutantes obtenidas, una muestra una disminución en la expresión del gen *rmlD* de aproximadamente un 50% y otras dos de un 40%. En cuanto al contenido de carbohidratos de pared, dos de la mutantes muestran una leve disminución en el contenido de ramnosa en la fase micelial.

Bibliografía

- [1] Lopes-Bezerra, L. M., Schubach, A. and Costa, R. O. (2006) *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. Anais da Academia Brasileira de Ciências 78, 293–308.
- [2] Howard, D. H. (1961) Dimorphism of *Sporotrichum schenckii*. Journal of bacteriology 81, 464.
- [3] Previato, J. O., Gorin, P. A. J., Haskins, R. H., and Travassos, L. R. (1979). Soluble and insoluble glucans from different cell types of *Sporothrix schenckii*. Exp. Mycol. 3, 92–105.
- [4] Lloyd K. O., and Bitoon M. A. (1971) Isolation and purification of a peptido-rhamnomannan from the yeast form of *Sporothrix schenckii*. Structural and immunochemical studies. J Immunol 107, 663-671.
- [5] Lima O. and Bezerra L.M. (1997) Identification of a concanavalin A-binding antigen of the cell surface of *Sporothrix schenckii*. Journal of medical and veterinary mycology: bi-monthly publication of the International Society for Human and Animal Mycology 35, 167–72.
- [6] Martínez-Álvarez, J. A. A. et al. (2017) *Sporothrix schenckii* sensu stricto and *Sporothrix brasiliensis* are differentially recognized by human peripheral blood mononuclear cells. Front Microbiol 8, 843.
- [7] Martinez, V. et al. (2012) Biosynthesis of UDP-4-keto-6-deoxyglucose and UDP-rhamnose in Pathogenic Fungi *Magnaporthe grisea* and *Botryotinia fuckeliana*. Journal of Biological Chemistry 287, 879–892.
- [8] Ma, L. et al. (2017) Genetic alteration of UDP-rhamnose metabolism in *Botrytis cinerea* leads to the accumulation of UDP-KDG that adversely affects development and pathogenicity. Molecular Plant Pathology 18,263–275.

MEDICIONES VISCOSIMÉTRICAS DE LA CARBOXIMETILCELULOSA A DIFERENTES TEMPERATURAS Y pH's.

Gabriela Escobar Vásquez^a, Antonio Martínez Richa^a, Alejandro Gil Villegas Montiel^b

^a Departamento de Química (DCNE), Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, CP 36050, México. gabrellescobar@gmail.com.

^b Departamento de Ingeniería Física (DCI), Campus León, Universidad de Guanajuato, Lomas del Bosque #103, Lomas del Campestre, León, Guanajuato, CP 37150, México.

Resumen

En este trabajo se presenta resultados de mediciones viscosimétricas para determinar la viscosidad intrínseca de tres muestras de CMC (Carboximetilcelulosa) en disoluciones acuosas a diferentes temperaturas y pH's. A partir de las ecuaciones empíricas de Huggins, Kraemer, Martin y Maron-Reznik, se calcularon las correspondientes expresiones para cada condición. Se determinaron las constantes k_H (Huggins), k_K (Kraemer), k_M (Martin) y k_{M-R} (Maron-Reznik). De estas constantes se puede conocer la viscosidad intrínseca teniendo el dato para una medición de una disolución diluida de polímero. Se ha apreciado que estas constantes son bastante diferentes, lo que obliga a determinarlas previamente por no poderse aplicar una constante común.

Palabras clave: *Carboximetilcelulosa (CMC); Constante de Mark-Houwink; Efecto polielectrolito.*

Introducción

El peso molecular de los polímeros está relacionado con la viscosidad intrínseca, o índice de viscosidad límite, a través de la ecuación Mark-Houwink: $[\eta] = k M^\alpha$, en donde las constantes k y α se calculan determinando la viscosidad intrínseca y el peso molecular medio numérico o en peso, de fracciones o muestras de polímeros de diferentes pesos moleculares [1].

Por otra parte, la viscosidad intrínseca de los polímeros puede ser calculada por viscosimetría de disoluciones de diferentes concentraciones haciendo uso de ecuaciones empíricas como las de Huggins [2], Kraemer [3], Martin [4] y Maron-Reznik [5]. A partir de las correspondientes expresiones se pueden conocer las constantes k_H (Huggins), k_K (Kraemer), k_M (Martin) y k_{M-R} (Maron-Reznik). El conocimiento de estas constantes permite conocer la viscosidad intrínseca a partir de una sola medición. Los valores de estas constantes pueden depender del tipo polímero y solvente se este utilizando [5]. En base a lo anterior, este trabajo se enfoca en la determinación la viscosidad intrínseca de tres muestras de Carboximetilcelulosa (por sus siglas en inglés CMC) en disoluciones acuosas a diferentes temperaturas y pH's, para conocer en que medida las diferentes constantes son diferentes para este polímero.

Metodología

Materiales. Se han preparado disoluciones acuosas de diferentes concentraciones, utilizando solución buffer pH 4 (citrato de sodio), solución buffer pH 10 (Borato) y pH 12, 14 (hidróxido de

potasio) como disolventes. Las concentraciones empleadas para las determinaciones fueron de 0.1, 0.16, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 g/dl.

Instrumentación. Las mediciones se hicieron en un viscosímetro Cannon-Fenske No. 200 y los tiempos de elución se midieron a 25, 30, 35, 40 y 45 °C en baño termostático.

Resultados

A partir del tiempo de vertido del disolvente y de la disolución correspondiente, se han calculado las viscosidades relativas, específica, reducida e inherente según las expresiones:

$$\eta_{rel} = t/t_0 \quad \text{viscosidad relativa}$$

$$\eta_{sp} = t - t_0/t_0 \quad \text{viscosidad específica}$$

$$\eta_{red} = \eta_{sp}/c \quad \text{viscosidad reducida}$$

$$\eta_{inh} = \ln \eta_{rel} / c \quad \text{viscosidad inherente}$$

donde t_0 y t corresponden a los tiempos de flujo del disolvente y de cada disolución. Las mencionadas viscosidades están relacionadas con la viscosidad intrínseca o índice límite de viscosidad, $[\eta]$, a través de las expresiones

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k_H[\eta]^2 c \quad \text{(Huggins)}$$

$$\frac{\ln \eta_{rel}}{c} = [\eta] - k_K[\eta]^2 c \quad \text{(Kraemer)}$$

$$\ln \left(\frac{\eta_{sp}}{c} \right) = \ln[\eta] + k_M[\eta]c \quad \text{(Martin)}$$

$$\frac{\Delta}{c^2} = \left(\frac{[\eta]^2}{2} \right) + (k_{M-R} - 1/3)[\eta]^3 c$$

$$\Delta = \eta_{sp} - \ln \eta_{rel} \quad \text{(Maron-Reznik)}$$

En las Tabla 1-4, se presentan los datos correspondientes a las temperaturas, viscosidades intrínsecas y las correspondientes constantes k_H , k_K , k_M y k_{M-R} para soluciones con pH 4, 10, 12 y 14.

Tabla 1. Viscosidades intrínsecas y pesos moleculares según las expresiones de Huggins, Kraemer, Martin y Maron-Reznik, para un pH 4.

T(°C)	HUGGINS		KRAEMER		MARTIN		MARON-REZNIK	
	$[\eta]$	k_H	$[\eta]$	k_K	$[\eta]$	k_M	$[\eta]$	k_{M-R}
25	1.89	2.02	2.64	0.04	2.61	0.50	2.54	0.57
30	1.81	1.92	2.44	0.03	2.41	0.53	2.34	0.60
35	1.49	2.70	2.14	-0.02	2.08	0.65	2.01	0.78
40	1.44	2.54	2.00	-0.04	1.94	0.68	1.87	0.82
45	1.22	3.32	1.77	-0.10	1.68	0.82	1.61	1.09

Tabla 2. Viscosidades intrínsecas y pesos moleculares según las expresiones de Huggins, Kraemer, Martin y Maron-Reznik, para un pH 10.

T(°C)	HUGGINS		KRAEMER		MARTIN		MARON-REZNIK	
	$[\eta]$	k_H	$[\eta]$	k_K	$[\eta]$	k_M	$[\eta]$	k_{M-R}
25	2.01	1.44	2.49	0.04	2.46	0.50	2.46	0.53
30	1.97	1.32	2.36	0.04	2.39	0.48	2.32	0.53
35	1.55	2.10	2.03	-0.03	1.95	0.66	1.95	0.73
40	1.44	2.30	1.91	-0.05	1.82	0.71	1.83	0.79
45	1.31	2.45	1.72	-0.09	1.65	0.78	1.62	0.93

Tabla 3. Viscosidades intrínsecas y pesos moleculares según las expresiones de Huggins, Kraemer, Martin y Maron-Reznik, para un pH 12.

T(°C)	HUGGINS		KRAEMER		MARTIN		MARON-REZNIK	
	$[\eta]$	k_H	$[\eta]$	k_K	$[\eta]$	k_M	$[\eta]$	k_{M-R}
25	2.47	0.94	2.87	0.08	2.92	0.37	2.71	0.47
30	2.46	0.79	2.64	0.07	2.75	0.37	2.68	0.43
35	2.31	0.85	2.50	0.07	2.56	0.41	2.56	0.44
40	1.85	1.32	2.19	0.03	2.18	0.51	2.15	0.56
45	1.63	1.59	1.99	-0.005	1.95	0.60	1.93	0.65

Tabla 4. Viscosidades intrínsecas y pesos moleculares según las expresiones de Huggins, Kraemer, Martin y Maron-Reznik, para un pH 14.

T(°C)	HUGGINS		KRAEMER		MARTIN		MARON-REZNIK	
	$[\eta]$	k_H	$[\eta]$	k_K	$[\eta]$	k_M	$[\eta]$	k_{M-R}
25	1.63	1.02	1.81	0.03	1.80	0.51	1.79	0.54
30	1.46	1.21	1.64	-0.02	1.63	0.58	1.61	0.63
35	1.25	1.55	1.45	-0.07	1.39	0.73	1.41	0.77
40	1.11	1.81	1.30	-0.14	1.26	0.82	1.26	0.92
45	1.06	1.79	1.22	-0.17	1.19	0.83	1.18	0.97

La Figura 1 se muestra gráficamente la viscosidad relativa versus el pH, en esta figura se observa que conforme el pH aumenta la viscosidad disminuye muy lentamente, como era de esperarse; sin embargo cuando se tiene un pH mayor a 10 se observa un comportamiento inesperado, ya que uno esperaría una disminución drástica de viscosidad como se observa en pH 14 y no un aumento como en pH 12. Este comportamiento está siendo investigado por nuestro grupo, en estos momentos no podemos dar una hipótesis concreta y en la literatura no se ha encontrado nada que hable sobre la fisicoquímica de este comportamiento.

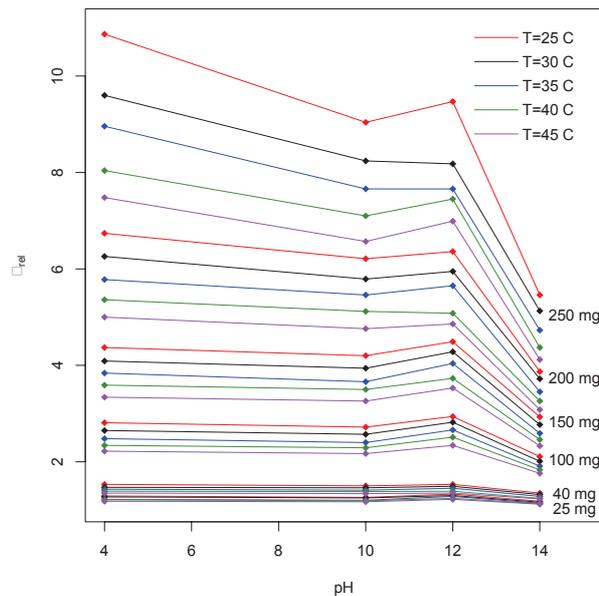


Figura 1. La figura muestra el comportamiento de la viscosidad relativa de la CMC en solución a diferentes pHs.

Conocida la viscosidad intrínseca, el peso molecular promedio en peso ha sido determinado a través de las ecuaciones de T. E. Eremeeva [6] para la CMC en solución a pH 4 y pH 14. La ecuación de Mark-Houwink [7]

$$[\eta] = 2.24 \times 10^{-4} M_w^{0.83} dl g^{-1}$$

Tabla 1 Peso molecular promedio en peso según la ecuación de T. E. Eremeeva [2] para un pH 4.

T(°C)	HUGGINS	KRAEMER	MARTIN	MARON-REZNIK
	M_w (g/mol)	M_w (g/mol)	M_w (g/mol)	M_w (g/mol)
25	53 837.84	80 534.85	79 433.36	76 873.34

Y para un pH 14 la ecuación de Mark-Houwink [7]

$$[\eta] = 5.37 \times 10^{-4} M_w^{0.73} dl g^{-1}$$

Tabla 1 Peso molecular promedio en peso según la ecuación de T. E. Eremeeva [2] para un pH 14.

T(°C)	HUGGINS	KRAEMER	MARTIN	MARON- REZNIK
	M_w (g/mol)	M_w (g/mol)	M_w (g/mol)	M_w (g/mol)
25	58 970.15	68 069.86	67 555.17	67 041.52

Conclusiones

Se determinaron las constantes k_H (Huggins), k_K (Kraemer), k_M (Martin) y k_{M-R} (Maron-Reznik). A partir de estas constantes se puede conocer la viscosidad intrínseca teniendo el dato para una medición de una disolución diluida de polímero. Se ha apreciado que estas constantes pueden ser bastante diferentes, lo que obliga a determinarlas previamente por no poderse aplicar una constante común.

En la gráfica de η_{rel} vs pH se observa que la solución que forma la CMC con el agua a pH=4, 10 y 14, se tiene una estabilidad en la geometría del polímero en un rango de pH=4-10. Sin embargo, los aumentos de temperatura provocan una pérdida de viscosidad. Las soluciones de CMC mantienen una viscosidad constante. Por encima de pH 10, la viscosidad disminuye notablemente.

El peso molecular medio en peso de las soluciones de CMC estudiadas oscilan entre 54000 y 90000 *g/mol*, según se deduce de las mediciones de viscosidad intrínseca calculadas utilizando las expresiones de Huggins, Kraemer, Martin y Maron-Reznik y las ecuaciones de T.E. Eremeeva [2].

Bibliografía

- [1] Sun, S. F., (2004) “*Physical Chemistry of Macromolecules: Basic principles and issues*”, 2nd Edition, Wiley: New York.
- [2] Huggins, M.L., (1942), “The viscosity of dilute solutions of long-chain molecules. IV. Dependence on concentration”, *J. Am. Chem. Soc.*, 64, 2716.
- [3] Kraemer, E.O., (1938), “Molecular weights of celluloses”, *Ind. Eng. Chem.*, 30, 1200-1203.
- [4] Martin, A.F., (1942), “Viscosity and particle shape in colloid solutions”, *Abstr. 103rd Am Chem. Soc. Meeting*.
- [5] Maron, S. H. and Reznik, R. B., (1969), “A new method for determination of intrinsic viscosity”, *J. of polymer science*, 7, 309-324.
- [6] Eremeeva, T. E.; Bykova, T.O., (1998), “SEC of mono-carboxymethyl cellulose (CMC) in a wide range of pH; Mark-Houwink constants”, *Carbohydrate Polymers*, 36, 319-326.
- [7] Mark, H., (1938), in *Der feste Körper*, Leipzig, Germany: Hirzel, 65-104.

MODELO DE LA TRASFERENCIA DE MASA EN LOS PLATOS PERFORADOS EN UNA COLUMNA POR LOTES EN ESCALA PILOTO

Mayra Margarita May Vázquez^a, Mario Alberto Rodríguez Ángeles^b, Fernando Israel Gómez Castro^a

^a Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Gto. 36050, México. mm.mayvazquez@ugto.mx

^b Departamento de Ingeniería en Plásticos, Universidad Politécnica de Juventino Rosas, Calle Hidalgo 102, Comunidad de Valencia, 38253 Santa Cruz de Juventino Rosas, Guanajuato, México.

Resumen

Se desarrollará un modelo de transferencia de masa para una columna de destilación por lotes de platos perforados, empleando datos experimentales para la determinación de parámetros. El modelo para platos perforados a considerar supone dos regímenes de operación: régimen de spray y régimen de burbujeo. Así mismo, el modelo toma en cuenta las zonas de chorro, rompimiento y burbujeo. La mezcla por separar es metanol/etanol, con composición inicial variable. Con base a lo anterior se desarrolló un modelo matemático para representar la transferencia de masa entre las fases líquida y vapor en los platos perforados de una columna de destilación a escala piloto. De acuerdo con las pruebas experimentales, el régimen de operación en la columna de destilación por lotes es de burbujeo, debido al pequeño diámetro de los platos. El diámetro de la burbuja es de 4 mm, la altura de la zona de burbujeo es de 15 mm y la velocidad de ascenso de la burbuja es de 0.342 m/s, los parámetros antes mencionado son de suma importancia para el modelo de transferencia de masa.

Palabras clave: *columna por lotes, destilación, transferencia de masa.*

Introducción

La destilación por lotes es la operación más antigua usada para la separación de mezclas líquidas [1]. Esta es ampliamente usada para la producción de químicos finos y productos especializados, como bebidas alcohólicas, aceites esenciales, perfumes y productos farmacéuticos. En los últimos años se han propuesto diferentes modelos para la columna de destilación por lotes, entre los modelos se encuentran el Rayleigh, el método corto y el método riguroso; a su vez, esos modelos pueden asumir que las fases estén en equilibrio o no. El modelo de fases en equilibrio asume que las fases líquida y vapor están en equilibrio termodinámico y también emplea la eficiencia de Murphree para intentar predecir la desviación del comportamiento real del plato con respecto al equilibrio, mientras que el modelo en no-equilibrio no requiere el uso de eficiencias. El modelo de no-equilibrio es más exacto, pero a su vez más complicado en comparación al modelo de equilibrio. Este modelo toma en cuenta la transferencia de masa y energía en cada fase, así como la interfase. Para que el modelo sea más exacto es muy importante el modelo de transferencia de masa, el cual involucra el cálculo de los coeficientes de transferencia de masa, áreas interfaciales y coeficientes de difusión. Debido a la enorme importancia de la transferencia de masa en la ingeniería química, se han obtenido coeficientes de transferencia de masa en un gran número de

estudios, tanto de forma teórica como experimental. Hay estudios para una geometría específica o tipo de equipo de contacto, empezando por placas planas, columnas de pared mojada, flujo en tuberías, sistemas agitados, solo por mencionar algunas [2].

La transferencia de masa es importante en aquellos procesos que involucran dos fases, siendo uno de lo más usados la destilación. Existen diversos modelos de transferencia de masa, cada uno de los cuales involucra distintas suposiciones. Uno de estos modelos es el de interfase, donde se considera que la transferencia de lleva a cabo en la interfase. La teoría de película, penetración y renovación has sido modelos los cuales han intentado extender los cálculos teóricos a situaciones más complejas. Aunque estas teorías a menudo no son exactas, son útiles para proporcionar una imagen física para las variaciones en el coeficiente de transferencia de masa.

Uno de los modelos para la transferencia de masa en platos perforados fue propuesto por Locket [3] en donde se consideran dos regímenes de operación: régimen de spray y régimen de burbujeo. régimen de burbujeo. Dicho modelo se toma como punto de partida para representar la transferencia de masa en la columna de destilación por lotes empleada.

Metodología

La columna de destilación por lotes por analizar y modelar está compuesta por un calderín, seis platos perforados y un condensador total. En la columna se realizará la separación en una mezcla de alcoholes (metanol y etanol) con diferentes composiciones iniciales. El modelo usado como base es el propuesto por Lockett el cual considera el régimen de burbujeo y de spray. Por medio de la columna experimental será posible determinar el régimen de operación, lo cual a su vez permitirá establecer las zonas a modelar

El régimen de burbujeo considera una zona de formación de chorro, de burbujeo libre y de rompimiento, cada de una de las zonas se modela considerando diversos parámetros como son el diámetro del chorro, velocidad del vapor, altura de la zona, diámetro de las burbujas, velocidad de ascenso de las burbujas, etc. [4]. Para el diámetro de las burbujas Prado y Fair [5] consideran una distribución bimodal, se consideran solo dos tamaños, uno para las burbujas grandes y otro para las burbujas pequeñas. Esto ha sido comprobado por Vermeer y Krishna [6], aplicándolo en columnas de burbujeo que operan en régimen turbulento. La zona de rompimiento es muy pequeña y por lo tanto es ignorado en el modelo de transferencia.

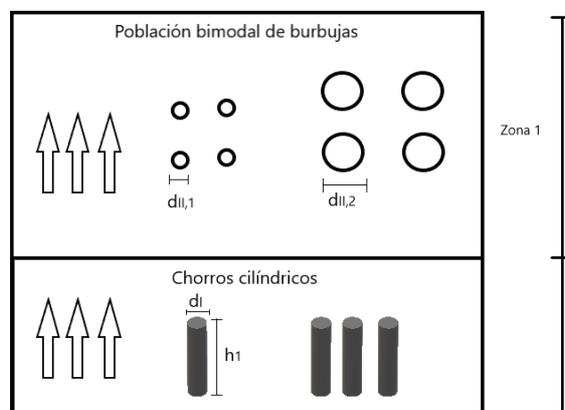


Figura 4. Modelo de burbujeo libre en una columna de destilación por lotes

A continuación, se presentan las ecuaciones para el cálculo de la transferencia de masa cada zona del régimen de burbujeo.

El flux promedio molar en la zona de formación de chorro esta dado por:

$$N_{II} = c_i^V \beta_i^V K_{OV,I} (\Omega_I^V)^{-1} (y_{1E} - y_1^*) \quad (1)$$

El flux promedio molar en la población de burbujas grandes esta dado por:

$$N_{III,1} = c_i^V \beta_{II,1}^V K_{OV,II,1} (\Omega_{II,1}^V)^{-1} Q_I (y_{1E} - y_1^*) \quad (2)$$

El flux promedio molar en la población de burbujas pequeñas esta dado por:

$$N_{III,2} = c_i^V \beta_{II,2}^V K_{OV,II,2} (\Omega_{II,2}^V)^{-1} Q_I (y_{1E} - y_1^*) \quad (3)$$

N : flux molar promedio ($\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$)

c_i^V : densidad molar de la mezcla de vapor (mol/m^3)

β^V : coeficientes de arranque de vapor

K_{OV} : coeficiente total de transferencia de masa en mezclas binarias (m/s)

Ω^V : función definida por

$$\Omega^V = (-N_{OV}) / (\exp(-N_{OV}) - 1) \quad (4)$$

N_{OV} número total de unidades de transferencia

y_{iE} fracción mol del componente i en la fase vapor

y_1^* fracción mol del vapor en el equilibrio

El modelo en no equilibrio de la columna de destilación por lotes debe incluir al modelo de transferencia de masa obtenido en este trabajo. En el trabajo a futuro se resolverá el sistema de ecuaciones completo (balances de materia, balances de energía, velocidad de transferencia de masa y energía en la interfase, restricciones de sumatorias, hidráulica y ecuaciones de equilibrio), permitiendo obtener los perfiles de composición y temperatura, así como su comparación con los obtenidos en las pruebas experimentales.

Resultados

El modelo de transferencia de masa para la columna de destilación por lotes involucra una zona de burbujeo en donde el tamaño de la burbuja estándar es de 4 mm según las pruebas experimentales. Con base en lo anterior y considerando el modelo que se obtuvo el siguiente modelo de transferencia de masa.

El flux molar promedio es:

$$N = c_i^V \beta^V K_{OV} (\Omega^V)^{-1} Q_I (y_{1E} - y_1^*) \quad (5)$$

La diferencia en el comportamiento en la zona de chorro con respecto al equilibrio esta dado por

$$Q_t = \exp(-N_{OV}) \quad (6)$$

Número total de unidades de transferencia

$$N_{OV} = K_{OV} a' t \quad (7)$$

Coefficiente total de transferencia de masa

$$\frac{1}{K_{OV}} = \frac{1}{k^V} + \frac{c_t^V}{c_t^L} \frac{K_1}{k^L} \quad (8)$$

Coefficiente de masa para la fase líquida

$$k^L = 2 \left(\frac{D^L}{\pi d / U} \right)^{1/2} \quad (9)$$

Coefficiente de masa para la fase vapor

$$k^V = -\ln(1-F) / (a' t) \quad (10)$$

Fracción de burbujas en el equilibrio

$$F = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\{-n^2 \pi^2 Fo\} \quad (11)$$

Numero de Fourier

$$Fo = 4D^V t / d^2 \quad (12)$$

Tiempo de residencia

$$t = h / U \quad (13)$$

Área interfacial por unidad de volumen de vapor en la población de burbujas

$$a' = 6 / d \quad (14)$$

Velocidad de ascenso de las burbujas

$$U = \sqrt{\frac{4gd(\rho_L - \rho_V)}{3C_D \rho_V}} \quad (15)$$

Coefficiente de arrastre

$$C_D = \frac{24}{Re} \quad (16)$$

Donde:

c_t^V : densidad molar de la mezcla de líquida (mol/m^3)

d: diámetro de la burbuja (m)

K_1 : constante de equilibrio

D^V : coeficiente de difusividad de Maxwell-Stefan del vapor

D^L : coeficiente de difusividad de Maxwell-Stefan del líquido

ρ_L : densidad del líquido

ρ_V : densidad del vapor

Para completar el modelo, es necesario obtener las correlaciones para el cálculo de las densidades del líquido y vapor adecuados para los alcoholes a destilar, así como el algoritmo de cálculo para las difusividades y constantes de equilibrio.

Conclusiones

Debido a las dimensiones de la columna, su régimen de operación es de burbujeo, con un tamaño de burbuja de 4 mm. Se desarrolló un modelo para la columna de destilación por lotes considerando las características de burbuja antes mencionadas. El modelo de transferencia de masa presentado será incluido posteriormente en el modelo en no equilibrio, el cual requiere el cálculo de la transferencia de masa para así obtener el perfil de composiciones y flujo en cada etapa. El modelo de no equilibrio, al incorporar el modelo de transferencia de masa apropiado, debe ser capaz de predecir el comportamiento de la columna con un error menor al que se obtendría bajo la suposición de equilibrio en los platos de esta.

Bibliografía

- [1] Lucet M., Charamel A., Guido G., Chapuis A., Loreau J. (1992), "Role of Batch Processing in the Chemical Process Industry", *Batch Processing Systems Engineering*, 143, 43-48.
- [2] Perry R. H., (1994), "Manual del Ingeniero Químico", Sexta edición, Tomo I, Mc Graw Hill, México.
- [3] Lockett, M. J., (1986) "*Distillation Tray Fundamentals*", *Cambridge University Press, Cambridge, England*
- [4] Taylor R., Krishna R., (1993) "*Multicomponent Mass Transfer*", 2nd Ed., Wiley Interscience, New York, USA.
- [5] Prado, M., Fair, J. R., (1990), "Fundamental Model for the Prediction of Sieve Tray Efficiency", *Ind. Eng. Chem. Res.*, 29, 1031-1042.
- [6] Vermeer, D., Krishna, R., (1981), "Hydrodynamics and Mass Transfer in Bubble Columns Operating in the Churn-Turbulent Regime", *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.*, 20, 475-482.

OPERABILIDAD Y SINTONIZACIÓN SISTEMÁTICA PARA EL PROCESO DE PURIFICACIÓN DE BIOETANOL

Jesús Miguel Zamudio Lara, Héctor Hernández Escoto, Salvador Hernández Castro

Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Noria Alta s/n, Guanajuato, Guanajuato, 36050, MÉXICO. jmzl05@hotmail.com

Resumen

En el diseño de un sistema de control basado en controladores lineales PI para un sistema de purificación de bioetanol basado en destilación extractiva. Este trabajo aborda el problema de determinar la mejor configuración de control y la sintonización sistemática de los controladores, en un marco físico. Se consideró un sistema convencional consistente de una columna preconcentradora, una extractiva y una recuperadora. Para establecer los lazos de control, se aplicó el índice de Operabilidad (OI). Todos los posibles lazos de control fueron evaluados, y contrario a otros trabajos, también las impurezas en las corrientes fueron consideradas como salidas de control. Los resultados sugirieron que se requiere un menor esfuerzo de control para controlar las impurezas; esto es, los OI para las impurezas fueron menores que los OI para purezas así la configuración de control fue establecida. Para la sintonización de los controladores se utilizó una aproximación de asignación de polos estables. A través de esta técnica, todos los controladores se sintonizaron simultáneamente y los valores de las ganancias de los controladores fueron calculados directamente de la ganancia estática y la constante de tiempo identificada para cada lazo. Se utilizó Aspen Dynamics® para llevar a cabo la evaluación del desempeño de los controladores cuando se controlan purezas e impurezas ante una perturbación del 5% en la composición de bioetanol en la alimentación.

Palabras clave: *Bioetanol, sistema de control, Índice de Operabilidad, sintonización sistemática.*

Introducción

Desde la crisis del petróleo de los años 1970s, se han buscado fuentes de energía renovables que también sean amigables con el medio ambiente debido a la elevada emisión de gases provocada por el uso de combustibles fósiles [1]. Dentro de estas nuevas fuentes de energía, los biocombustibles, han tenido una mayor aceptación por sus ventajas medioambientales, especialmente el bioetanol, producido a partir de biomasa, se ha convertido en el sustituto más popular para la gasolina. Es producido mediante la fermentación de azúcar de diferentes materias primas como son caña de azúcar, maíz, sorgo, residuos agroindustriales, etc., pero tiene la desventaja de presentar una concentración de etanol muy baja (4-10%) y el resto es agua, principalmente. Para ser utilizado como biocombustible, el bioetanol debe tener una concentración del 99.5% en peso [2].

Para alcanzar concentración de bioetanol deseada, se han propuesto varias alternativas de purificación como la pervaporación, adsorción, destilación con cambio de presión, destilación extractiva, destilación azeotrópica, etc. [3] Las alternativas basadas en destilación han sido las

más utilizadas y principalmente la destilación extractiva debido a la presencia de un azeótropo homogéneo en la mezcla etanol-agua, la cual requiere de un tercer componente conocido como extractante que interactúa con la mezcla para romper el azeótropo y obtener el compuesto deseado purificado. Debido a la baja concentración de bioetanol que se obtiene después de la fermentación, debe ser procesado mediante una preconcentración y luego pasar a una etapa de deshidratación donde se obtiene el bioetanol puro por el destilado y finalmente por el fondo se obtiene una mezcla de extractante-agua que pasa a una tercera columna donde se recupera el extractante y así ser recirculado a la columna extractiva. [4]

En cuanto a los sistemas de control implementados para este proceso, existe poca literatura. Para obtener un sistema de control eficaz, se debe determinar la viabilidad de controlar las salidas de control del proceso con las entradas de control disponibles. Esto puede obtenerse mediante diferentes técnicas como SVD, RGA, entre otras. Recientemente se han utilizado nuevas técnicas que permiten entender de manera práctica la noción de controlabilidad y éstas se ven desde un marco operacional donde se abordan los problemas del modelo en estado estacionario del proceso y se determina si los valores de entrada son suficientes para alcanzar los valores de la salida en caso de una perturbación. De esta manera se pueden conocer los mejores lazos de control a implementar y tener un significado físico [5]. Una vez que fue encontrada la configuración de control, se continúa con la construcción y sintonización de los controladores. En el caso del proceso de purificación de bioetanol, el cual consiste en columnas de destilación, se ha demostrado que los controladores PI y PID han presentado buenos resultados. En cuestión de la sintonización, existen varias técnicas como son Ziegler-Nichols, Tyreus-Luyben, etc.; sin embargo, estas técnicas sintonizan a prueba y error, y, además, la sintonización se lleva a cabo controlador por controlador. Existe una técnica reciente propuesta por Zavala-Guzmán [6] la cual sigue una asignación de polos estables y permite a los controladores PI ser sintonizados sistemática y simultáneamente.

Metodología

Debido a la baja concentración de bioetanol proveniente de la fermentación, es necesario concentrarlo a través de un proceso de purificación para obtenerlo al 99.5%. El bioetanol diluido se alimenta a una columna preconcentradora donde se extrae la mayor parte de agua para dejar la mezcla en 91% en peso de etanol la cual sale por la corriente de destilado y se alimenta a la columna extractiva donde también se alimenta el agente extractante, en etapas superiores a la primera alimentación; éste modifica la volatilidad de la mezcla azeotrópica provocando que el agua sea removida junto con el agente extractante por la corriente de fondo y permitiendo obtener bioetanol anhidro (99.5%) en la corriente de destilado. La corriente de fondo se alimenta la columna recuperadora en la cual se recupera el agente extractante y es recirculado a la columna extractiva. La Figura 1 muestra el diagrama del proceso de purificación de bioetanol.

La corriente de alimentación a la columna preconcentradora fue de 507 kmol/h con una concentración del 10% en peso de etanol y el resto agua. La composición de etanol en el destilado de esta columna es del 91% en peso y en el fondo es del 1% en peso. En la columna extractiva se alimentó un flujo de 12.1578 kmol/h de glicerol, la concentración de etanol en el

domo es del 99.5% en peso mientras que en el fondo no debe exceder 0.1% en peso. Finalmente, en la columna recuperadora se obtiene glicerol por el fondo con una concentración de 99.9% en peso y en el domo de 0.1% en peso. El proceso se modeló y simuló en Aspen Plus® utilizando el modelo termodinámico NRTL y posteriormente se exportó a Aspen Dynamics® para el estudio dinámico del sistema y el desempeño de los controladores.

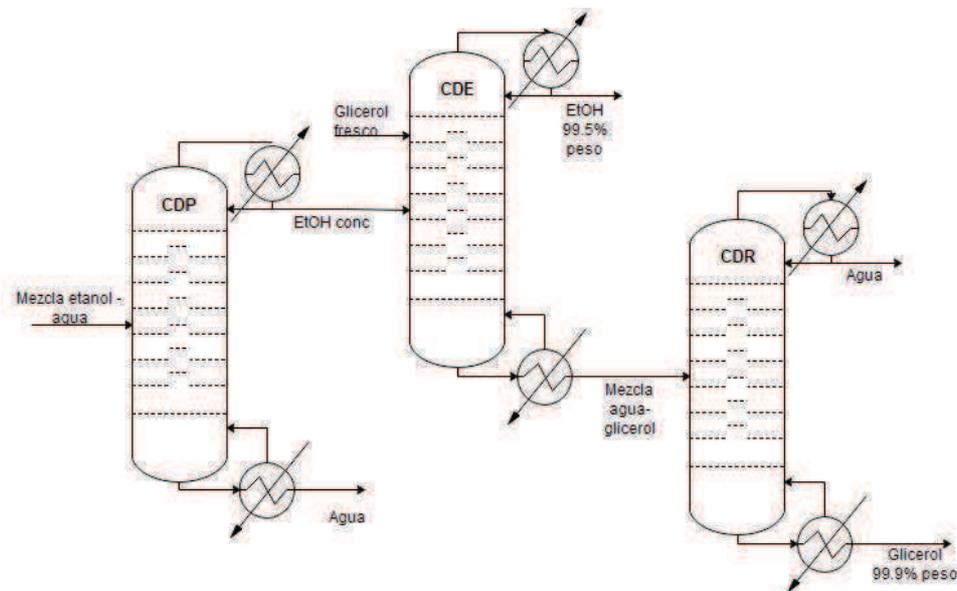


Figura 1. Proceso de purificación de bioetanol.

El objetivo del sistema de control fue mantener la composición de bioetanol en su valor nominal en la corriente de destilado de la columna preconcentradora y de la columna extractiva y la composición de glicerol en la corriente de fondo de la columna recuperadora. Para lograr esto, se tomaron en cuenta como entradas de control el reflujo, la carga térmica y el flujo de extractante. Por otra parte, como salidas de control además de las purezas en las corrientes de producto, se consideraron las impurezas como lo propuso Luyben [7]. El siguiente paso fue establecer la configuración de control a través del Índice de Operabilidad y por medio de una aproximación heurística que empareja la entrada de control con la salida de control más cercana.

La factibilidad de cierta entrada de control para mover cierta salida de control puede ser visualizada primeramente a través de su correspondiente ganancia estática. Sin embargo, esta información no es suficiente para determinar si la entrada de control puede efectivamente llevar a la salida de control al valor deseado. En otras palabras, aunque la entrada de control pueda manejar la salida de control, existen restricciones del proceso que evitarían que se llegara a los valores nominales deseados. Además, si existe más de una opción de entrada de control y más de una salida de control, el problema principal se vuelve en encontrar cual entrada de control haría el menor esfuerzo para accionar cualquier salida de control, y el emparejamiento de entrada-salida de control se vuelve en un problema combinatorio.

Una estimación, en términos de porcentaje con respecto al valor nominal, del cambio que debe ser hecho en cierta entrada de control (u_i) para impulsar un cambio de una unidad en cierta salida de control (y_i) en porcentaje en relación con su valor nominal, es dado por el siguiente parámetro, en este trabajo se conocerá como Índice de operabilidad (OI, por sus siglas en inglés):

$$OI_{ij} = \frac{\bar{y}_j}{\bar{u}_i} \cdot \frac{1}{K_{ij}} \quad (1)$$

Aunque K_{ij} puede ser calculada de forma precisa por medio de la linealización del modelo del proceso y la aplicación de la transformada de Laplace para obtener la función de transferencia de la pareja (u_i, y_i), en el caso de este trabajo, en el cual se consideran sistemas de grandes dimensiones y modelos no lineales, K_{ij} puede fácilmente ser calculada mediante el método de la curva respuesta [8].

Puesto que K_{ij} encierra sólo el efecto de la entrada u_i , de ninguna variable más, en la variable de salida y_i , entonces OI_{ij} también; por lo tanto, si hubiera otras variables de entrada activas con un tipo de efecto adverso, el valor OI puede verse como el cambio más bajo de u_i que produce el cambio unitario de y_i . Por lo tanto, si se compararon los OI de diferentes pares de entrada-salida de control, el mejor par debe tener al menos el OI más bajo.

Posteriormente, se construyó el controlador a implementar el cual fue un controlador lineal PI para cada lazo de control establecido:

$$u_i(t) = \bar{u}_i + k_c^{ij} \cdot (y_j(t) - \bar{y}_j) + \frac{k_c^{ij}}{\tau_I^{ij}} \cdot \int_0^t (y_j(\theta) - \bar{y}_j) \cdot d\theta \quad (2)$$

Finalmente, se realizó la sintonización de los controladores PI mediante la aplicación directa de las relaciones obtenidas por Zavala-Guzmán.

$$k_c^{ij} = \frac{2n - 1}{K_{ij}} \quad (3)$$

$$\tau_I^{ij} = \tau_p^{ij} \cdot (\xi_{ij})^2 \cdot \left(\frac{2n - 1}{n^2} \right) \quad (4)$$

Aquí, ξ_{ij} es el factor de amortiguamiento con un valor de 0.8412 y n puede considerarse como el número de veces que la dinámica de referencia es más rápida que la dinámica natural del proceso.

Resultados

Se determinó el índice de operabilidad para cada una de las columnas de destilación para establecer la mejor pareja de entrada-salida de control considerando las purezas e impurezas. Para obtener el OI se requirió de conocer las ganancias estáticas; para determinarlas, se realizó un cambio del $\pm 1\%$ en cada entrada de control mientras las demás se mantenían constantes y se registró la trayectoria de las salidas de control hasta que no se tuviera un cambio significativo en la respuesta, se tomó el valor final de la salida y se le restó su valor nominal y después se dividió entre el porcentaje de cambio realizado a la entrada de control. Finalmente, se obtuvo el OI mediante la Ecuación (1) y se escogió aquellas parejas con el OI más cercano a cero. En la Tabla 1 se muestran los OI para la columna preconcentradora, de la misma manera se obtuvieron los OI

para la columna extractiva y la recuperadora; se marcan con amarillo los lazos de control que requieren menos esfuerzo en las entradas de control. Estos resultados indican que para controlar las impurezas se requieren los siguientes lazos de control: CDP (Reflujo – x_{Dagua}) y ($Q_R - x_{BEtOH}$); CDE (Reflujo – x_{Dagua}) y ($Q_R - x_{BEtOH}$) y para CDR (Reflujo – $x_{Dglicerol}$) y ($Q_R - x_{Bwater}$). Mientras que para las purzas: CDP (Reflujo – x_{DEtOH}) y ($Q_R - x_{Bagua}$); CDE (Reflujo – x_{DEtOH}) y ($Q_R - x_{Bagua}$) y CDR (Reflujo – x_{Dagua}) y ($Q_R - x_{Bglicerol}$).

Tabla 1. Índice de Operabilidad para la CDP.

Entrada de control	x_{DEtOH}	x_{BEtOH}	x_{Dagua}	x_{Bagua}
Reflujo	12.021	0.134	-1.184	-13.217
Carga térmica	-5.719	-0.0302	0.565	2.996

Una vez establecidos los lazos de control, los controladores para cada columna de destilación fueron implmentados y sintonizados. La Tabla 2 muestra los mejores valores de n, la ganancia proporcional y el tiempo integral usados para cada controlador para los casos de controlar impurezas y purzas. Algo a tener en mente fue que al controlar las purzas en la columna extractiva no se alcanzó el valor nominal aunque se utilizaron varios valores para n, resultando cierto lo que dijo Luyben [7].

Tabla 2. Parámetros de sintonización

Columna	Controlando impurezas				Controlando purzas		
	Controlador	n	K_C	τ_I	n	K_C	τ_I
CDP	B1	3	-5.921	0.0491	3	60.1054822	0.0481573
	B2	3	-0.151	0.0491	3	14.9818251	0.06683054
CDE	B3	1	-0.493	0.80226127	-	-	-
	B4	1	-0.0415	0.76953397	-	-	-
CDR	B5	3	-0.837	0.66437515	3	881.727027	0.91548006
	B6	3	-0.165	0.09090919	3	164.851485	0.10172001

Para determinar el desempeño de los controladores, se realizó una perturbación de 5% en la compisición de etanol en la corriente de alimentación. En las Figuras 2-7, se puede observar que el desempeño es mejor controlando las impurezas debido a que se requiere menos tiempo para alcanzar el valor nominal que controlando las purzas. En la CDP se puede observar que la entrada de control no cambia radicalmente cuando se implementa un controlador u otro. En el caso de la CDE, debido a que no se es capaz de controlar las purzas, se concluyó que la mejor opción es controlar la impureza, y esto significa que se requiere mucho esfuerzo de control para controlar las purzas, esto también se puede observar con el OI. En la CDR, se observó que la carga térmica es ligeramente mayor al controlar la impureza.

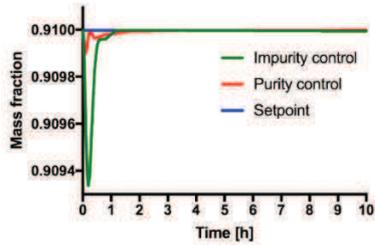


Figura 2. Desempeño del controlador de la CDP.

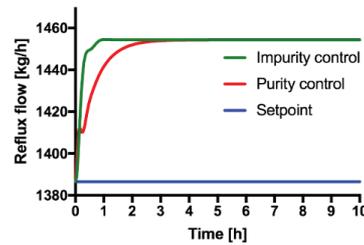


Figura 3. Cambio en la entrada de control de la CDP.

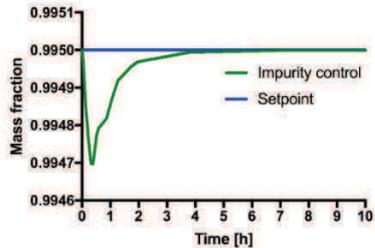


Figura 4. Desempeño del controlador de la CDE.

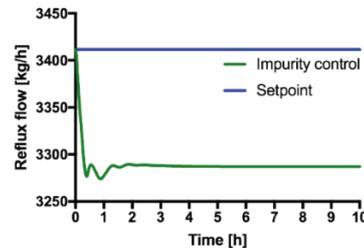


Figura 5. Cambio en la entrada de control de la CDE.

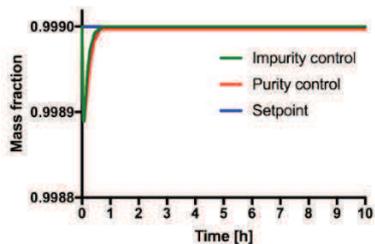


Figura 6. Desempeño del controlador de la CDR.

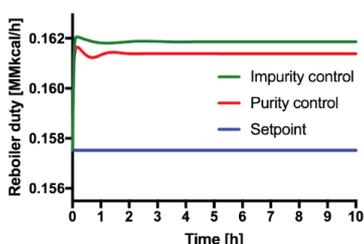


Figura 7. Cambio en la entrada de control de la CDR.

Conclusiones

Mediante el uso del OI, se establecieron los mejores lazos de control en el proceso de purificación y estos fueron los que controlaron las impurezas en cada corriente, esto significa que controlar las impurezas requiere menor esfuerzo en la entrada de control. Se implementaron los controladores PI para el caso de las purezas e impurezas y se sintonizaron mediante la asignación de polos estables escogiendo el mejor valor de n donde las trayectorias no presentaron muchas oscilaciones. Finalmente, Se concluyó que es más fácil controlar las impurezas del proceso, y eso se observa en las gráficas obtenidas al revisar el desempeño de los controladores al controlar ambos casos. El controlador que controla la impureza tiene una respuesta más rápida y por lo tanto alcanza más pronto el setpoint.

Bibliografía

- [1] Meirelles A., Weiss S. y Herfurth H. (1992) "Ethanol Dehydration by Extractive Distillation", *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 53, 181-188.
- [2] Ramos M. A., García-Herreos P. y Gómez J. M. (2013) "Optimal Control of the Extractive Distillation for the Production of Fuel-Grade Ethanol", *Ind. Eng. Chem. Res.*, 52, 8471-8487.
- [3] Frolkova A. K. y Raeva, V. M. (2010) "Bioethanol dehydration: State of art", *Theor. Found. Chem. Eng.*, 44, (4), 545-556.

- [4] Kiss A. A. e Ignat R. M. (2012), Innovative single step bioethanol dehydration in an extractive dividing-wall column, *Sep. Purif. Technol.*, 98, 290-297.
- [5] Georgakis C., Uztürk D., Subramanian S. y Vinson D. R. (2003) “On the operability of continuous processes”, *Control Eng. Pract.*, 11, 859-869.
- [6] Zavala-Guzmán A. M., Hernández-Escoto H., Hernández S. y Segovia-Hernández J. G. (2012) “Conventional Proportional-Integral (PI) Control of Dividing Wall Distillation Columns: Systematic Tuning”, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 51, 10869-10880.
- [7] Luyben W. (1992) “*Practical Distillation Control*”, 1st Ed, Van Nostrand Reinhold, New York, USA, 96-122.
- [8] Romagnoli J.A. y Palazoglu A. (2012). “*Introduction to Process Control*”. 2nd Ed., CRC Press. USA, 145

OPTIMIZACIÓN DE UNA COLUMNA DE DESTILACIÓN POR LOTES POR EL MÉTODO DE COLOCACIÓN ORTOGONAL EN UN PROGRAMA LIBRE (JUMP)

Christian Felipe Rodríguez Robles, Salvador Hernández Castro, Fabricio Omar Barroso Muñoz, Héctor Hernández Escoto

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

Resumen

La destilación por lotes es un proceso ampliamente usado por la industria por tener una operación sencilla. La destilación por lotes es empleada principalmente en procesos de pequeña y mediana escala, para producir químicos finos, en plantas piloto entre otros propósitos. Sin embargo, obtener productos con altas purzas es complicado, por lo cual, es importante aumentar la cantidad de producto con alta pureza.

En el presente trabajo, se busca maximizar la cantidad de destilado con una pureza de 85 % mol de metanol, para una mezcla cuaternaria de alcoholes (metanol, etanol, n-propanol y n-butanol). El problema de optimización se resolvió por medio del método de discretización de colocación ortogonal por elemento finito con raíces de Rauda y la optimización se realizó con el *solver* IPOPT (Interior Point OPTimizer) incluido en la librería de JuMP del software Julia. Se encontró el perfil óptimo de la relación de reflujo, alcanzando la pureza final de 85% del metanol al final del tiempo de una hora.

Palabras clave: *Destilación por lotes, Colocación Ortogonal, JuMP.*

Introducción

La destilación es el proceso de separación más utilizado en el mundo que tiene una fácil operación. La destilación por lotes es empleada principalmente en procesos de pequeña y mediana escala, para producir químicos finos, en plantas piloto entre otros propósitos. La destilación por lotes presenta ciertas ventajas, como la capacidad de separar una mezcla multicomponente en un solo equipo.

La mayoría de las columnas de destilación por lotes operan con una relación reflujo constante obteniendo una composición del componente del destilado variable. Sin embargo, para tener una composición del destilado específico, se requiere operar la columna con relación de reflujo variable. Por lo tanto, se debe optimizar la operación de la columna para alcanzar la composición deseada del destilado. Existen diferentes métodos para optimizar columnas de destilación por lotes, los más usados son el método de colocación ortogonal y el método de parametrización del vector de control (PVC).

Lopez-Saucedo [1] estudió el caso de una columna compleja no reactiva y reactiva, optimizando la conversión y la utilidad (profit) por medio de un método directo (colocación ortogonal) y lo comparó con el método CVP (método integrado). En el método directo utilizo el software GAMS y en el método integrado gPROMS, utilizando la relación de reflujo como variable de control. Los resultados obtenidos por ambos métodos fueron semejantes, ambos tuvieron un buen

desempeño. Sólo se obtienen resultados diferentes cuando se aumenta el número de elementos finitos en la colocación o piezas de control en PVC. El método más rápido fue el CVP resuelto en el software gPROMS.

Aunque varios trabajos han abordado la optimización de columnas de destilación por lotes, muy pocos han utilizado programas gratuitos para resolver sus sistemas. Hedengren [2] ha estimado parámetros por medio de colocación ortogonal para una columna de destilación por lotes para una mezcla binaria metanol-etanol, utilizando el software Python para resolver el sistema.

Usar programas como GAMS y gPROMS requiere el uso de licencias con costos, marcando una clara desventajas en caso de no tener el recurso para adquirir la licencia. Una alternativa es usar programas de uso libre, como pyomo y GEKKO en la paquetería de Python o JuMP integrado al programa Julia. Ya sea pyomo, GEKKO o JuMP, son programas con *solvers* de uso libre totalmente gratuitos, fácil de escribir y manipular, así como rápidos en el tiempo de ejecución.

En este trabajo, se realizará un estudio teórico de la optimización de una columna de destilación por lotes para una mezcla cuaternaria de metanol, etanol, n-propanol y n-butanol. Se maximizará la producción de destilado con una composición mínima del 85% en mol de metanol.

Metodología

Para la optimización dinámica de la columna por lotes, se utiliza un método directo. Primero, es necesario discretizar todas las variables de estado, así como su entrada de control (relación de reflujo en este caso) del modelo dinámico de la columna a ecuaciones algebraicas para que esas ecuaciones algebraicas sean resueltas directamente aplicando una estrategia de programación no lineal.

El modelo matemático empleado es descrito por Mujtaba [3] para una columna de destilación por lotes convencional, sin reacción química, sin corrientes de entrada o salida. Las consideraciones para el modelo matemático fueron: retención de los platos constante, la retención en fase vapor es despreciable, mezclado perfecto en los líquidos y gases de los platos, platos teóricos, pérdidas de calor insignificante, flujo de vapor y de líquido constante en toda la columna.

La columna de destilación

Balance total de masa:

- a) Balance total en el acumulador: $j=1$

$$\frac{dM_a}{dt} = D \quad (1)$$

- b) Balance total en reboiler: $j=N$

$$\frac{dM_N}{dt} = L - V \quad (2)$$

Balance de masa por componentes:

- a) Acumulador del destilado

$$\frac{dx_{ji}}{dt} = D(x_{ji} - x_{ai}) \quad (3)$$

b) Retención del tanque del condensador: $j=1$

$$M_c \frac{dx_{j1}}{dt} = V(y_{21} - x_{j1}) \quad (4)$$

c) Etapas intermedias: $j=2$ a $N-1$

$$M_j \frac{dx_j}{dt} = Lx_{j-1} + Vy_{j+1} - Lx_j - V_j \quad (5)$$

d) Re hervidor: $j=N$

$$M_N \frac{dx_N}{dt} = L(x_{N-1} - x_N) - V(y_N - x_N) \quad (6)$$

La relación de equilibrio

$$y_{i,j} = K_{i,j}x_{i,j} \quad (7)$$

Restricciones

$$\sum y_{i,j} = 1 \quad (8)$$

Balance de energía

a) Condensador

$$0 = VH_2^V - H_1^L V + Q_c \quad (9)$$

b) Reboiler

$$0 = L(H_{N-1}^L - H_N^L) - V(H_N^V - H_N^L) + Q_r \quad (10)$$

Así como las siguientes relaciones

$$D = V(1 - RR) \quad (11)$$

$$LR = V(RR) \quad (12)$$

La relación de equilibrio $K_{i,j}$ de (7) fue calculada por medio de la ley de Raoult donde

$$K_{i,j} = \frac{P_{i,j}^{Sat}}{P} \quad (13)$$

Donde P es la presión total del sistema y es la presión de saturación de cada componente. La Figura 1 muestra el esquema de una columna de destilación por lotes. La columna tiene 10 etapas de separación, incluyendo el condensador y re hervidor. Para este caso, el valor V_2 es igual a 7.5 moles/h.

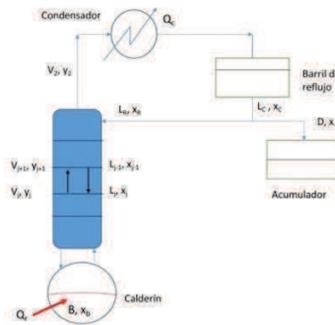


Figura 1. Esquema de la columna de destilación por lotes.

Las ecuaciones diferenciales y algebraicas (EDA) que gobiernan al sistema fueron discretizadas por medio de colocación ortogonal sobre elemento finito para emplear un método de optimización directo. La colocación ortogonal consiste en acercar la respuesta del sistema por medio de un polinomio de potencias con orden K . Al aplicar el límite al polinomio obtenido, es posible sustituirlo en (1) -(6). Para este caso, $K = 3$ y se utilizaron las raíces de Rauda. Para mayor detalle del método, revisar el trabajo desarrollado por Cuthrell y Biegler [4].

Después de reducir las EDA a ecuaciones algebraicas, es posible optimizar directamente el sistema. La estrategia de programación no lineal consistió en lo siguiente: para la optimización se utilizó el solver *IPOPT (Interior Point OPTimizer)* disponible en el paquete JuMP [5] del programa Julia, la maximización del problema de optimización puede ser matemáticamente formulada como

Maximizar $u(t)$, Sujeto a	$M_a x_{a,1}$	
	$\frac{dx}{dt} = f(x(t), u(t), q, t_f)$	Ecuaciones de modelo y restricciones de igualdad
	$h(x, u, q, t) = 0$	
	$x_{\text{producto}} \geq x_{\text{producto}}^*$	Restricciones de desigualdad
	$t = t_f$	

Para este caso, la relación de reflujo se encuentra en la región $0.2 \leq RR \leq 1.0$. Como límite inferior se toma el valor de 0.2 y por cuestiones de diseño, una columna de destilación por lotes tiene como valor máximo 1. La entrada $u(t)$ es RR , x_{producto}^* es la pureza en mol del metanol especificada (0.85), t_f es el tiempo final y q son los parámetros.

Resultados

En esta sección, se presentarán los resultados obtenidos para las simulaciones realizadas. En la Figura 2 se observan los perfiles de la relación de reflujo según el número de elementos de elementos finitos utilizados.

La relación de reflujo se va ajustando a lo largo del tiempo para obtener mayor cantidad de destilado que cumpla con la especificación del 85%. Para $N = 3$, durante los primeros 25 minutos la relación de reflujo tiene el valor del límite inferior para obtener la mayor cantidad de destilado posible. Después de los 25 minutos, la relación de reflujo aumenta conforme transcurre el tiempo hasta llegar a reflujo total al tiempo de 1 h. Los últimos 10 minutos, la relación de reflujo es el máximo posible para lograr alcanzar la composición de 85 fracción mol.

Cuando el número de elementos es de 6 y 15, el perfil tiene mayor velocidad para alcanzar el reflujo total. Hasta los 42 minutos, se mantiene al mínimo valor de RR, hasta los 50 minutos la relación de reflujo pasa del mínimo al máximo. Mientras que la optimización con 3 elementos requiere 25 minutos para llegar al reflujo total, con más elementos sólo requiere 10 minutos.

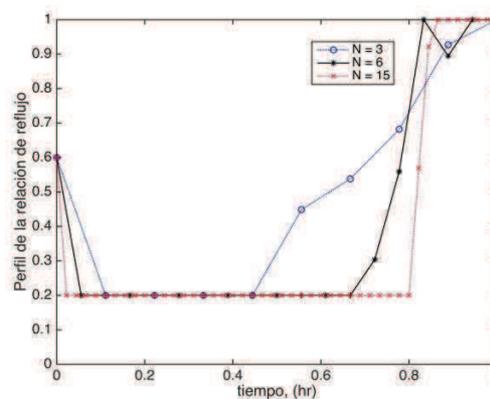


Figura 2. Perfil óptimo de la relación de reflujo.

Los resultados de todas las optimizaciones se muestran en la Tabla 1, variando el número de elementos finitos. Con $N = 3$, el valor óptimo tiene una diferencia porcentual de alrededor del 9% respecto a $N = 6$ y 15. Sin embargo, basta con $N = 6$ para obtener el valor óptimo de 1.91 y no utilizar 15 elementos. El tiempo de computo fue mínimo, para 15 elementos sólo se necesitó 26 segundos, para $N = 6$ se necesitaron 25 segundos y para 3 elementos 4 segundos.

Tabla 1. Resultados óptimos para 3, 5 y 10 elementos.

Elementos	X_D (Metanol)	X_D (Etanol)	X_D (n-propanol)	X_D (n-butanol)	Hax_{a1} óptimo
3	0.850	0.149	0.000	1.176e-5	1.781
6	0.850	0.146	0.003	0.000	1.910
15	0.850	0.148	0.001	4.334e-6	1.950

En la Figura 3 se observa el perfil de composiciones del destilado para 3 elementos. El metanol mantiene una composición baja mientras la relación de reflujo es pequeña, hasta los 50 minutos de operación, donde aumenta 40% de composición para llegar a los 85%.

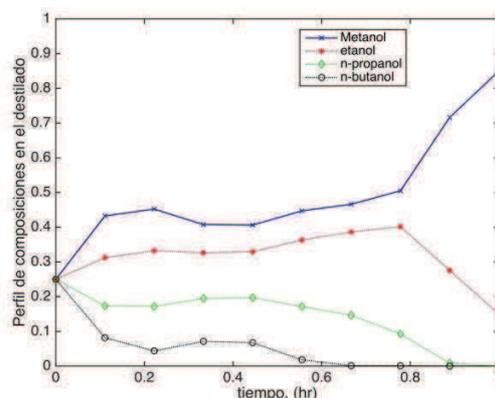


Figura 3. Perfil óptimo del destilado para 3 elementos.

Conclusiones

Es posible obtener un perfil óptimo de pureza del metanol en el destilado y maximizar la corriente del destilado a través de un método de colocación ortogonal, manipulando la relación de reflujo. Aunque el método de colocación ortogonal ayuda a la discretización del problema y resolver el sistema con un menor tiempo de computo, para ecuaciones rígidas es complicado la inicialización de sus valores de estado.

El programa de uso libre Julia con el paquete de optimización JuMP es capaz de resolver problemas de optimización dinámica para columnas de destilación por lotes.

Bibliografía

- [1] E. S. Lopez-Saucedo, I. E. Grossmann, J. G. Segovia-Hernandez, y S. Hernández. (2016) “Rigorous modeling, simulation and optimization of a conventional and nonconventional batch reactive distillation column: A comparative study of dynamic optimization approaches”, Chem. Eng. Res. Des., vol. 111, pp. 83–99.
- [2] S. M. Safdarnejad, J. R. Gallacher, y J. D. Hedengren. (2016) “Dynamic parameter estimation and optimization for batch distillation”, Comput. Chem. Eng., vol. 86, pp. 18–32.
- [3] I. M. Mujtaba, Batch distillation: design and operation. (2004) vol. 3. World Scientific Publishing Company, 56–104,
- [4] J. E. Cuthrell y L. T. Biegler. (1987) “On the optimization of differential-algebraic process systems”, AIChE J., vol. 33, núm. 8, pp. 1257–1270.
- [5] I. Dunning, J. Huchette, y M. Lubin. (2017) “JuMP: A Modeling Language for Mathematical Optimization”, SIAM Rev., vol. 59, núm. 2, pp. 295–320.

OPTIMIZACIÓN DE SEGURIDAD, ECONÓMICA Y AMBIENTAL APLICADA A TRES PROCESOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SILICIO DE GRADO SOLAR

César Ramírez -Márquez^a, Gabriel Contreras-Zarazúa^a, Juan Gabriel Segovia-Hernández^a, Mariano Martín^b

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

^b Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Salamanca, Pza. Caidos 1-5, Salamanca, 37008, España.

Resumen

La elección del diseño de todo proceso industrial se basa principalmente en cuestiones económicas. Si bien este aspecto es importante, no es el único a considerar. En todo diseño se deben tener en cuenta aspectos como la seguridad y el impacto ambiental. En este trabajo, presentamos la optimización de tres procesos diferentes para obtener silicio de grado solar, incluyendo consideraciones de seguridad, impacto económico y ambiental en la etapa de diseño del proceso. La seguridad está involucrada a través del índice de riesgo individual (IR), la economía con el retorno de la inversión (ROI) y el impacto ambiental con el eco-indicador 99 (EI99). El diseño del Proceso de Siemens resultó ser el que obtuvo los mejores índices de seguridad, rentabilidad y medio ambiente, a pesar de tener la menor producción de silicio solar, siendo cuatro veces menor que el Proceso Híbrido.

Palabras clave: *Silicio grado solar, Seguridad inherente, Impacto Ambiental.*

Introducción

La producción de silicio grado solar es un paso clave en la industria fotovoltaica. Con el fin de abordar la creciente demanda de materia prima de silicio, se han desarrollado muchas rutas de producción [1]. La producción de silicio grado solar se puede llevar principalmente a través de dos rutas. La primera de ellas es con un enfoque metalúrgico, la cual combina una serie de etapas de refinado, así como una etapa de solidificación [1]. La segunda ruta es la producción de silicio grado solar por métodos químicos, los cuales tienen la ventaja de producir silicio grado solar de mejor calidad [2]. Los principales problemas de las rutas químicas son el alto consumo de energía, conjuntamente con el riesgo de seguridad que presentan los procesos, además del peligro ambiental que implica la producción de clorosilanos. Estos compuestos son corrosivos y tóxicos y por lo tanto presentan problemas de seguridad y ambientales [2].

El entorno de seguridad juega un rol muy importante en este tipo de procesos, puesto que se tienen riesgos muy significativos, tal es el uso de gas silano (SiH_4), el cual torna a ser el peligro más característico en la producción de Si grado solar en el proceso Union Carbide, lo anterior porque es extremadamente explosivo y presenta un peligro potencial para los trabajadores y las comunidades. Se conoce que las liberaciones accidentales de silano explotan espontáneamente, y la industria de los semiconductores informa varios incidentes de silano todos los años [2].

Otras sustancias que representan un riesgo son el tetracloruro de silicio (SiCl_4), y el ácido clorhídrico (HCl), ya que son extremadamente tóxicas, corrosivas, y la primera reacciona

violentemente con el agua. No obstante, resultan fácil de recuperar y reutilizar como insumos para la producción de silano; en lugares con poca o ninguna regulación, pueden constituir un peligro de seguridad y ambiental extremo. Washington Post informó en el 2008, la fabricación de silicio se está expandiendo rápidamente en China, pero las instalaciones para reciclar el tetracloruro de silicio y otros productos tóxicos no siguen el ritmo [2].

Por lo anterior que es extremadamente importante el diseño de una planta de producción de silicio grado solar, que además de poder abaratar los costos de producción y aumentar la producción, sean capaces de ser seguros y responsables con el medio ambiente.

El objetivo de este trabajo es la optimización de tres procesos de obtención de silicio grado solar, considerando aspectos de seguridad, rentabilidad y ambientales a fin de cubrir las necesidades industriales actuales. Este procedimiento da lugar a un problema de optimización multiobjetivo, en el que las métricas de seguridad, rentabilidad y ambientales son factores conflictivos que deben minimizarse y maximizarse en el caso de la rentabilidad.

Metodología

Esta sección muestra la metodología de la optimización multiobjetivo de los tres procesos para obtención de silicio grado solar, expuestos en el trabajo de Ramírez-Márquez et al [3].

Los casos fueron optimizados simultáneamente mediante un algoritmo híbrido llamado Evolución diferencial con Taboo List (DETL). Se tienen tres funciones objetivo, el retorno de inversión (ROI), el impacto ambiental (Eco-indicador 99) y el riesgo inherente (IR). Esta metodología de optimización permite incluir funciones objetivo conflictivas entre sí, tratando de obtener diseños más rentables, respetuosos con el medio ambiente y buenos en términos de seguridad. Los índices de optimización se describen a continuación. Para observar el aspecto económico de los tres Retorno de la inversión (ROI).

El uso del retorno de la inversión (ROI) como objetivo económico permite observar el desempeño económico del proceso, ya que muestra los problemas de planificación de la inversión. La ecuación más simplificada de ROI es la siguiente:

$$ROI = \frac{\sum_{i=1}^N CF_i / N}{I}, \quad (1)$$

donde, CF_i es el flujo de efectivo después de impuestos, I es la inversión de capital, N es el número de años del proyecto, se utiliza un valor promedio de los ingresos después de impuestos.

El Eco indicador 99 (EI99) es una metodología basada en la evaluación del ciclo de vida (ECV), donde se basa la ponderación jerárquica en la evaluación relativa del daño. El EI99 se define en la siguiente ecuación:

$$EI99 = \sum_b \sum_d \sum_{k \in K} \delta_d \omega_d \beta_b \alpha_{b,k} \quad (2)$$

donde, δ_d es el factor de normalización para el daño de la categoría d , ω_d es el factor de ponderación para el daño de la categoría d , β_b representa la cantidad total de producto químico b

liberado por unidad de flujo de referencia debido a las emisiones directas, $\alpha_{b,k}$ es el daño causado en la categoría k por unidad de producto químico b liberado al medio ambiente.

El IR define el riesgo que tiene una persona dependiendo de su posición, ocurrencia de frecuencia implícita y una probabilidad de muerte o lesiones que podrían ser causadas por un accidente. El IR lo definió como sigue:

$$IR = \sum f_i P_{x,y} \tag{3}$$

donde, f_i es la frecuencia en la que puede pasar el accidente; y $P_{x,y}$ es la probabilidad de afectación en un área específica.

Se localizan grados de libertad en cada proceso, lo cual lo convierte en un problema optimizable. La optimización por el método DETL se llevó a cabo utilizando una plataforma híbrida que incluye Microsoft Excel y Aspen Plus. En donde básicamente el vector de variables de decisión se envía desde Microsoft Excel a Aspen Plus por medio de DDE (Dynamic Data Exchange) a través de la tecnología COM. Ahí esos valores son asignados a las variables del proceso en Aspen Plus Modeler, para realizar la simulación. Una vez hecha la simulación, Aspen Plus regresan los valores de salida a Microsoft Excel como un vector resultante que contiene los datos de salida. Por último, Microsoft Excel analiza los valores de la función objetivo y propone nuevos valores de variables de decisión según la metodología DETL.

Resultados

En esta sección se muestran los resultados de la optimización realizada a los tres procesos antes mencionados. La Tabla 1 nos exponen de manera más clara los resultados para cada proceso.

Tabla 1. Resultados del ROI, Eco 99 e IR para los procesos.

	ROI [%]	Eco-99[MP/a]	IR [1/a]
Proceso Siemens	35.17	0.53	1.86E-04
Proceso FBR Union Carbide	15.38	0.95	1.79E-03
Proceso Híbrido	15.21	3.37	7.12E-04

Los resultados mostrados en la Tabla 1 nos brinda un panorama corto de análisis, puesto que para darnos cuenta de las bondades cada uno de los procesos, hace falta un estudio más extenso en términos de producción de cada proceso. Si bien, El ROI resultante de la optimización para el Proceso Siemens es más de dos veces mayor que el de los procesos FRB Union Carbide e Híbrido, y resultaría ser el proceso más rentable, pero no el que más producción de Si_{SG} tiene, 55.25 kg/h, 183.26 kg/h y 219.80 kg/h, respectivamente (Ver Figura 1). Se asume que la alta rentabilidad de 35.17%, bajo índice ambiental de 0.53 (MP/a) y mejor seguridad de 1.86E-04 (1/a) del Proceso Siemens se da por la poca cantidad de equipos y poca cantidad la materia prima

requerida en comparación a los otros dos procesos, y que en el caso del índice de rentabilidad ROI no se alcanza a notar la mejoría en producción de Si_{SG} y de otros subproductos que se venden.

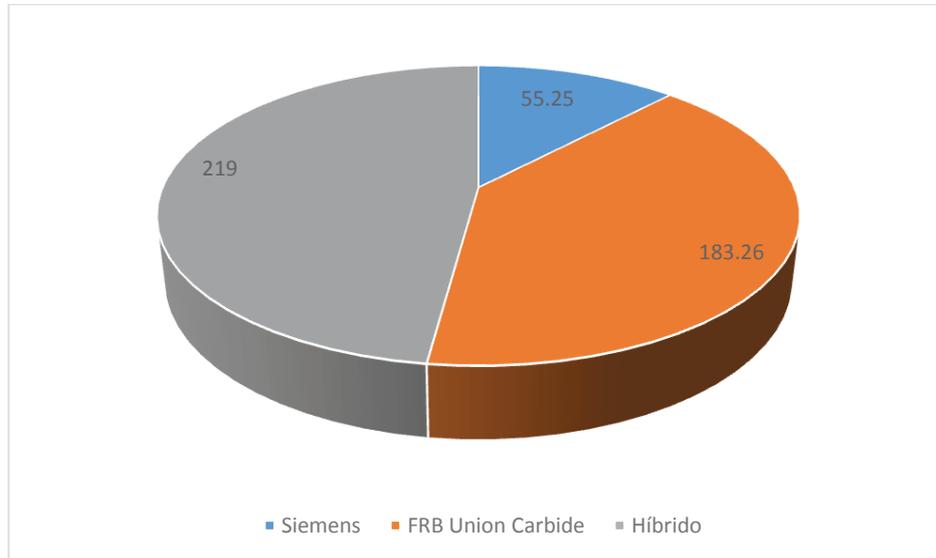


Figura 1. Producción de Silicio [kg/h] grado solar por proceso.

Los procesos FRB Union Carbide e Híbrido exhiben prácticamente la misma rentabilidad de 15.38% y 15.21% respectivamente, con diferencia notoria en el caso del EI99 a favor del proceso FRB Union Carbide de 0.95 (MP/a) con respecto a los 3.37 (MP/a) en el caso del proceso Híbrido. Y con diferencia notoria en el IR a favor del proceso Híbrido de $7.12E-04$ (1/a), siendo un orden de magnitud menor que el proceso Intensified FBR Union Carbide. Se puede decir que los tres procesos resultan rentables, aunque con diferencias significativas en los otros índices de seguridad y ambiental.

En términos generales se puede decir que existe cierta conveniencia en la elección del Proceso Híbrido conforme a la producción y a la seguridad del proceso, que como se menciona en la introducción en este tipo de procesos termina siendo un factor relevante en la elección del proceso puesto que se manejan sustancias altamente tóxicas e inflamables. Además se puede decir que si el alcance en la producción de una planta de producción de Si_{SG} pretende ser corto, una buena elección es el Proceso Siemens que resulta rentable, amigable con el ambiente y seguro, pese a la baja producción mostrada.

Asimismo se puede inferir del presente trabajo, que la reducción en los valores del IR para cualquier proceso se puede explicar principalmente de dos maneras. La reducción en el tamaño del proceso generará una reducción en los valores de IR, además que la presencia de sustancias tóxicas y peligrosas a través del van a aumentar los valores de IR. Para el EI99 se demostró que como se menciona en la sección de la metodología, el acero para construir los equipos y accesorios el vapor utilizado para producir calor, y la electricidad para bombeo, aumentan considerablemente el valor del índice. Y para terminar el ROI nos permite visualizar de manera

general la rentabilidad de un proceso, pero puede dejar a un lado aspectos que determinen la capacidad de venta y producción de un proceso cualquiera.

Conclusiones

El trabajo presenta la evaluación de tres procesos para la obtención de silicio, conforme a propiedades de seguridad, rentabilidad e impacto ambiental. La obtención de los parámetros óptimos de cada proceso se llevó a cabo mediante un la optimización multiobjetivo por el método DETL. La inclusión de los principios de seguridad en el diseño de los tres procesos mostrados, conduce a lo que debe ser el desarrollo de uno de los principales enfoques que se debe tomar en cuenta en el nacimiento de todo proceso que funciona con sustancias peligrosas. Los resultados obtenidos muestran al Proceso Siemens como el mejor proceso en término de los tres objetivos. Sin embargo se tiene que considerar que la producción de Si_{SG} es muy baja (un 25% del que se obtiene del Proceso Híbrido) y que los mercados actuales demandan mayor producción, por lo cual la elección del ROI como un índice económico no resulto ser la adecuada. Teniendo en cuenta lo anterior y considerando que el Proceso Híbrido resulta con un índice de seguridad muy aproximado al del Proceso Siemens, puede resultar como la mejor opción para su implementación industrial. El Proceso FRB por su parte resulta ser el proceso menos seguro de los tres, aunque con mejor desempeño en términos ambientales. Se concluyó que uno de los factores que afectan de mayor manera la seguridad en el proceso FRB es la inclusión de SiH_4 en la producción de Si_{SG} . El enfoque presentado aquí constituye un esfuerzo para incluir la seguridad como parte del diseño de procesos, y en particular se puede extender a otros sistemas que presenten de igual manera sustancias que representen algún peligro.

Bibliografía

- [1] Chigondo, F. (2018). From metallurgical-grade to solar-grade silicon: an overview. *Silicon*, 10(3), 789-798.
- [2] Coalition, S. V. T. (2009). *Toward a Just and Sustainable Solar Energy Industry*. San Jose: Silicon Valley Toxics Coalition.
- [3] Ramírez-Márquez, C., Otero, M. V., Vázquez-Castillo, J. A., Martín, M., & Segovia-Hernández, J. G. (2018). Process design and intensification for the production of solar grade silicon. *Journal of Cleaner Production*, 170, 1579-1593.

OPTIMIZACIÓN MULTI-OBJETIVO DE ESQUEMAS INTENSIFICADOS PARA LA PURIFICACIÓN DE ÁCIDO LEVULÍNICO

Heriberto Alcocer-García^a, Juan Gabriel Segovia-Hernandez^a, Oscar Andrés Prado-Rubio^b, Eduardo Sanchez-Ramirez^a, Juan José Quiroz-Ramirez^a

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

^b Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales, Departamento de Ingeniería Química, La Enea, campus la Nubia, Manizales, Colombia.

Resumen

El ácido levulínico es considerado como uno de los productos más importantes basados en su potencial dentro de una economía basada en aprovechamiento de residuos. Sin embargo, el alto consumo de energía en su purificación representa un inconveniente para su producción a gran escala. Debido a esto, es importante investigar formas alternativas de purificación intensificada que disminuyan los costos de purificación, esto sin dejar de lado la parte ambiental. Por tanto, en este trabajo se presentan los resultados de la optimización de varios diseños para la purificación de ácido levulínico. Estos diseños fueron diseñados bajo un riguroso proceso de optimización a través de un algoritmo híbrido multi-objetivo, evolución diferencial con lista tabú considerando dos objetivos: 1) el costo total anual como criterio económico y 2) el eco-indicador 99 como índice ambiental. Los resultados indicaron que los diseños intensificados (usando columnas de pared divisoria y) presentan mejores resultados, esto se ve reflejado directamente en la reducción del uso de energía. La secuencia B mostró los mejores resultados, presentando un ahorro económico del 8.42% y una disminución en 10.94% del Eco-indicador 99 en comparación con el esquema convencional, esto debido a la disminución de acero y consumo de energía.

Palabras clave: *Optimización, purificación, ácido levulínico.*

Introducción

El ácido levulínico (AL) es considerado dentro de los doce principales productos químicos provenientes de biomasa en términos de potencial de mercado, por su gran número de aplicaciones [1]. A pesar de su condición de producto químico especializado en un mercado relativamente pequeño de alto valor agregado (i.e. aproximadamente 1 millón libras/año a 4.00-6.00 dolar/lb) [2], el ácido levulínico tiene un enorme potencial como materia prima económica para producir una gama de productos de importancia industrial. El AL se obtiene a partir de la hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica [1]. La composición de la mezcla obtenida de la hidrólisis ácida es: 86% agua, 3% ácido fórmico, 4% furfural y 7% ácido levulínico. La corriente diluida es posteriormente purificada usando una secuencia de extracción líquido-líquido y una secuencia de columnas de destilación. Esta separación no es trivial debido a que mezcla de componentes es muy diluida y presenta dos azeótropos heterogéneos: furfural-agua y ácido fórmico-agua. Como consecuencia, el costo del proceso es elevado y tiene limitaciones para ser

escalado a nivel industrial usando el esquema de separación convencional. El primero en proponer un esquema de separación fue Dunlop en 1957 el cual consistía de una columna de extracción líquido-líquido, donde uso el isobutil-metil-cetona como agente extractante, lo cual tenía como inconveniente el uso de un sistema externo de recuperación del solvente [3]. Seibert en 2010 propone un proceso para extraer LA utilizando furfural como agente extractante, el proceso consta de una columna de extracción líquido - líquido y una serie de columnas de destilación [4]. Recientemente en 2016 Nhien [5] realizó la primera propuesta de intensificación para la separación de LA, la cual consistía en una columna de extracción líquido-líquido, seguida de una columna convencional y una columna de pared divisoria con decantador. De esta manera, se propusieron esquemas de procesos intensificados para la purificación de LA mediante la utilización de acoplamiento térmico, columnas de pared divisoria (DWC), uso de decantadores e implementación de columnas con salidas laterales, que hagan económicamente atractiva la obtención de una gama de productos que usan el ácido levulínico como precursor.

Metodología

Las configuraciones para la separación y purificación de ácido levulínico consideradas para su optimización en Eco-indicador 99 y en TAC, se muestran en la Figura 1.

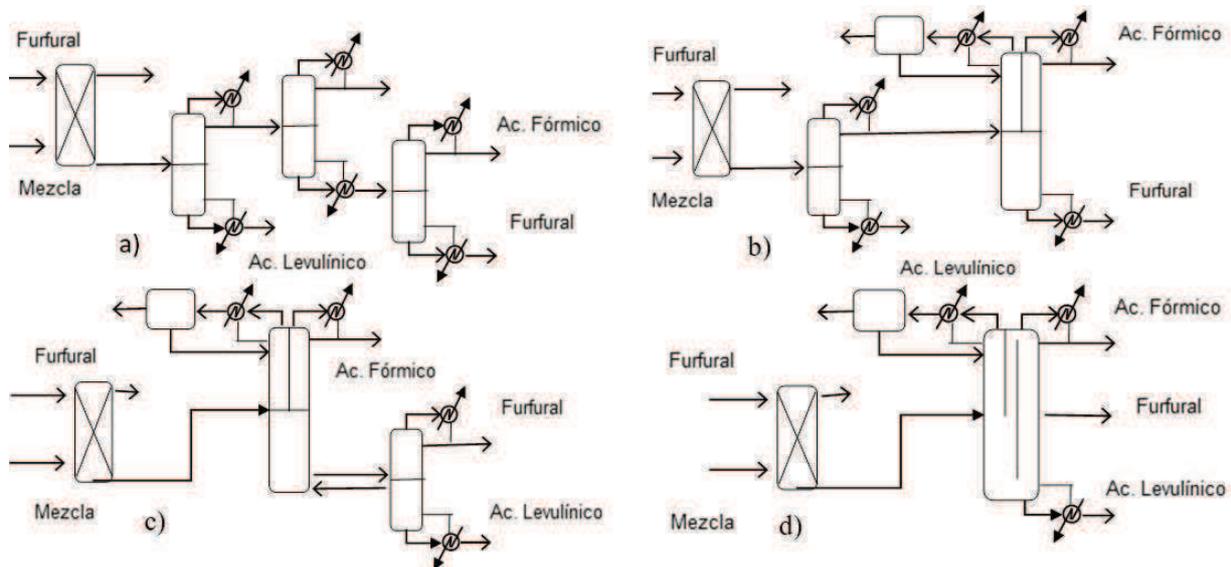


Figura 1. Diseños optimizados: a) secuencia convencional (A), b) Secuencia con pared divisoria (B), c) Secuencia con pared divisoria y acoplamiento térmico (C) y d) Secuencia de doble pared divisoria(D).

Los esquemas A y B se diseñaron con base a las propuestas de los autores antes mencionados, sin embargo, se retoman para tener un punto de comparación y además que estos no fueron diseñados a través de un método riguroso que contemple ambas funciones objetivo. Por otro lado, los diseños C y D se proponen en este trabajo. El esquema C se diseña moviendo la columna de pared divisoria del esquema B y agregando un acoplamiento térmico en la parte inferior, entre el rehervidor de la columna de pared divisoria con el vapor de la última columna. La configuración

D se propone en extrapolando lo reportado por Halvorsen et al (2011) [6] a nuestra mezcla, ya que propone diseños de doble pared con salidas laterales para mezclas cuaternarias. En estos esquemas, el sistema de enfriamiento externo se modificó antes del decantador propuesto por Nhien (2016) por un condensador total.

La tasa de producción de AL considerada en este estudio fue de 50 kilo toneladas por año por todos los diagramas híbridos propuestos. Se consideró una corriente de alimentación de 90000 Kg hr⁻¹. La corriente de alimentación está compuesta por 86% de agua, 7% de ácido levulínico, 4% de furfural y 3% de ácido fórmico, 25 ° C y 2 atm. La composición se definió de acuerdo con Nhien et al. (2016). El flujo de furfural utilizado como extractante se consideró como una variable a optimizar.

Todas las configuraciones propuestas han sido simuladas usando Aspen Plus V8.8. El NRTL-HOC se seleccionó como un modelo termodinámico para calcular las propiedades físicas de los componentes utilizados en las condiciones especificadas (Nhien et al., 2016). Los objetivos mínimos de pureza se establecieron en 98% (% wt) para ácido levulínico, 85% para ácido fórmico y 99.9% para furfural. Las purezas para el ácido levulínico y el ácido fórmico se consideraron según los usos industriales y la pureza del furfural para ser utilizado y reciclado en el mismo proceso.

Los esquemas propuestos se optimizaron utilizando el método de evolución diferencial con lista tabú (DETL), este método demostró que el uso de algunos conceptos del tabú metaheurístico puede mejorar el rendimiento del algoritmo de evolución diferencial. En particular, la lista tabú se puede utilizar para evitar la revisión del espacio de búsqueda manteniendo un registro de los puntos visitados recientemente, lo que puede evitar evaluaciones de funciones innecesarias [7]. Con base a este hecho, se propone el método híbrido DETL. La implementación de este método de optimización se realiza mediante una plataforma híbrida utilizando Microsoft Excel® y Aspen Plus®. El vector de variables de decisión (es decir, las variables de diseño) se envían de Microsoft Excel® hacia Aspen Plus® utilizando DDE (Dynamic Data Exchange) a través de la tecnología COM. En Microsoft Excel®, este vector se atribuye a las variables del proceso que Aspen Plus® evaluará. Después de que la simulación se hace, Aspen Plus® devuelve a Microsoft Excel® el vector resultante. Finalmente, Microsoft Excel® analiza los valores de las funciones objetivo y propone nuevos valores de variables de decisión de acuerdo con el método de optimización estocástica utilizado [8,9]. En el cálculo de las funciones objetivo, el TAC es calculado con el método publicado por Guthrie [10], realizando la estimación de costos de una planta industrial separada en unidades y el Eco-indicador99 es calculado con el procedimiento propuesto por Geodkoop & Spriensma [11], el cual está basado el análisis de ciclo de vida.

Los siguientes parámetros se usan para el método DETL: 120 individuos, 417 generaciones, 50% del total de individuos en la lista tabú, un radio tabú de 0.000001 y 0.90 y 0.3 para fracciones de cruce y mutación, respectivamente. Estos parámetros se obtuvieron a través de un proceso de sintonización a través de los cálculos preliminares. El proceso de sintonización consiste en realizar varias pruebas con diferente número de individuos y generaciones, con el fin de detectar los mejores parámetros que permitan obtener el mejor rendimiento de la convergencia de DETL.

Resultados

La Figura 2 muestra los resultados de la optimización multiobjetivo de los cuatro esquemas propuestos, estos se colocaron en diferentes ventanas debido a la escala entre paretos. En cada Pareto se muestra la zona óptima del punto óptimo. Se considera que en esta zona de Pareto, ambas funciones objetivas alcanzan sus valores mínimos.

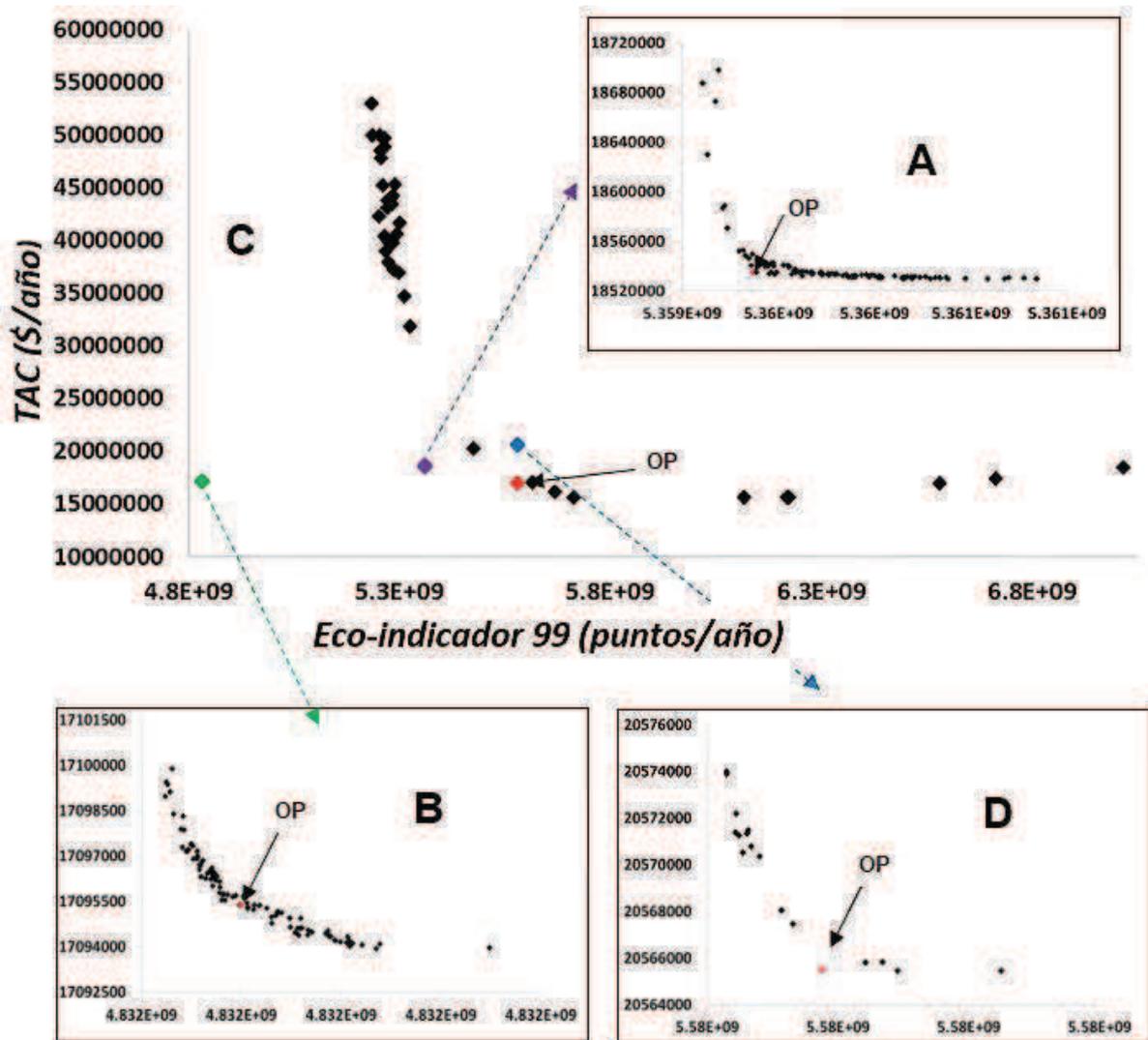


Figura 2. Gráfico de Pareto superpuesto de los diseños optimizados.

En la Tabla 1, se presentan los resultados del mejor punto obtenido de cada esquema. Los porcentajes mostrados están en relación con el esquema óptimo convencional (A).

Tabla 1. Valores de las funciones objetivo de las configuraciones seleccionadas (OP) en la Figura 2.

FUNCIONES OBJETIVO	A	B	C	D
TAC [M\$ año-1]	18.53	17.09	16.93	20.56
EI99 [Gpuntos año-1]	5.36	4.83	5.58	5.58
Pureza de AL [Kg/Kg %]	98.02	98.01	99.92	98.58
Ahorro de TAC [%]		8.42	9.43	-9.87
Ahorro de EI99 [%]		10.92	-3.7	-3.95

Comparando los resultados, podemos observar desde el punto de vista económico que la secuencia C tiene el valor más bajo del TAC presentando ahorros de 9.43% pero presenta un incremento de 3.7% en los valores EI99, esto debido a la pureza del ácido levulínico alcanzado por este esquema es 99.9%, superior a todo lo logrado. La secuencia B tiene el valor EI99 más bajo, presentando una mejora en el indicador ambiental de 9.87% y un ahorro TAC de 8.42%, colocando solo 1.1% menos en ahorros que el esquema C.

El esquema B presenta los peores resultados en ambas funciones objetivas, aunque tiene una pureza superior al 98%, sus valores en TAC e EI99 son mayores que el esquema convencional en 10.92% y 3.95% respectivamente. Esto se debe a que el ácido fórmico está separado por la parte superior de la columna, y dado que es un flujo tan pequeño en comparación con los otros compuestos, esto representa un aumento considerable del reflujo, el aumento de los flujos internos y el requerimiento de energía.

Comparando los esquemas B y C, la B es solo un 1,1% más cara y tiene mejores valores en EI99, por lo que debe tenerse en cuenta que el objetivo de esta optimización es encontrar un diseño que logre equilibrar ambas funciones objetivas, de modo que el esquema B se convierte en la opción de los esquemas evaluados. Entonces los parámetros de este diseño se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de diseño del esquema B considerado como óptimo.

PARÁMETROS DE DISEÑO	C1	C2	C3	C4
Número de etapas	21	28	46	62
Etapas de alimentación	2-21	11	4	20
Reflujo	-	0.069	-	8.205
Diámetro [m]	0.529	3.577	1.664	1.952
Corriente de alimentación				
Flujo de agua (kg h ⁻¹)	77400.000	-	-	-
Flujo de furfural (kg h ⁻¹)	176968.602	-	-	-
Flujo de ácido fórmico (kg h ⁻¹)	2700.000	-	-	-
Flujo de ácido levulínico (kg h ⁻¹)	6300.000	-	-	-
Flujo de vapor de interconexión (kg h ⁻¹)				30024.804
Etapas de salida del vapor				21
Carga térmica del rehervidor [kW]	-	23188.924	-	4739.759
Pureza del furfural (kg/kg%)	-	-	-	0.999
Pureza del ácido fórmico (Kg/Kg%)	-	-	-	0.935
Pureza de ácido levulínico (Kg/Kg%)	-	0.98	-	-

Conclusiones

Gracias a la intensificación y optimización, se obtuvieron esquemas con mejor potencial económico y ambiental en comparación con el esquema convencional. El diseño C presenta los mejores ahorros en términos de TAC, este es debido a la disminución del tamaño de sus equipos, sin embargo, al contar con grandes flujos internos de vapor, esto eleva la carga térmica y por consecuencia el uso de vapor, impactando negativamente en el Eco-indicador 99. Por otro lado, la secuencia híbrida "B" compuesto por una columna de extracción líquido-líquido, una columna convencional y una columna de pared divisoria con decantador, presenta un ahorro económico del 8.42% y una disminución en el Eco-indicador 99 del 10.94%, esto gracias al tamaño de sus equipos y energía reducción generada por la implementación de la columna de pared divisoria, obteniendo con ella la propuesta de una secuencia para la depuración de AL que logra mejorar ambas funciones objetivas. El esquema D, que tiene una mayor intensificación que los demás diseños, mostro los flujos internos de vapor mayores, logrando impactar en ambos indicadores. En términos generales, la intensificación aplicada a cualquier proceso de separación produce varios beneficios. Durante este estudio, los beneficios de la intensificación del proceso se reflejan en el ahorro económico y ambiental, sin embargo, es interesante darse cuenta de que la intensificación del proceso no siempre produce grandes ahorros. En otras palabras, debido a la intensificación del proceso, es posible diseñar esquemas de separación que pueden aumentar los índices económicos y ambientales a condiciones específicas. Por ejemplo, la intensificación del proceso puede ocurrir al aumentar los flujos internos de las columnas, pero éstas a su vez aumentan los requisitos de energía y, en consecuencia, también aumentan los índices económicos y ambientales.

Bibliografía

- [1] Werpy, T., Petersen, G., Aden, A., Bozell, J., Holladay, J., White, J., Manheim, A., Eliot, D., Lasure, L. y Jones, S. (2004) "Top value added chemicals from biomass. volume 1-results of screening for potential candidates from sugars and synthesis gas", Technical report, Department of Energy Washington DC.
- [2] Bozell, J. J., Moens, L., Elliott, D., Wang, Y., Neuenschwander, G., Fitzpatrick, S., Bilski, R. y Jarnefeld, J. (2000) "Production of levulinic acid and use as a platform chemical for derived products", Resources, conservation and recycling 28(3), 227-239.
- [3] Dunlop, A., Wells, J. (1957) "Process for producing levulinic acid", US Patent 2,813,900.
- [4] Seibert, F. (2010) "A method of recovering levulinic acid", WO Patent App. PCT/US2009/056,296.
- [5] Nhien, L.C., Long N.V.D., Kim, S. y Lee, M. (2016) "Design and assessment of hybrid purification processes through a systematic solvent screening for the production of levulinic acid from lignocellulosic biomass", Industrial & Engineering Chemistry Research 55(18), 5180-5189.
- [6] Halvorsen, I.J. Skogestad, S. Dejanovic, I. Matijasevic, L. y Olujić Z. (2011) "Multiproduct dividing wall columns: A simple and effective assessment and conceptual design". Chemical Engineering Transaction, 25 611-616.
- [7] Srinivas, M. & Rangaiah, G. (2007), 'Differential evolution with tabu list for solving nonlinear and mixed-integer nonlinear programming problems', Industrial & Engineering Chemistry Research 46(22), 7126-7135.
- [8] Miranda-Galindo, E. Y. (2013) "Diseño Óptimo del Proceso de Hidrodesulfurización (HDS)", Tesis de Doctorado, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, Gto., México.
- [9] Sánchez-Ramírez, E. (2017) "Estudio de las Propiedades de Control de un Proceso Sustentable para la Obtención de Biobutanol", Tesis de Doctorado, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, Gto., México.
- [10] Guthrie, K. M. (1969) "Capital cost estimation", Chem. Eng. 24, 114-142.

[11] Geodkoop, M. y Spiensma, R. (2001) “The eco-indicator 99. a damage oriented for life cycle impact assessment methodology report and manual for designers”, Technical Report. PRe-Consultants, Amersfoort, The Netherlands.

PROPUESTA DE UNA CERVEZA CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES

Elena Elsa Bricio Barrios ^a, Jaime Alberto Bricio Barrios ^b, Mauricio Esteban Mosquera Jordán ^c, Santiago Arceo Díaz ^d, Héctor Hernández Escoto ^a y Fernando López Caamal ^a *hhee@ugto.mx*

^a Universidad de Guanajuato, Departamento de Ingeniería Química, Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto., C.P. 36050, México;

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

^c Departamento de Ingeniería Ciencia de los Alimentos y Biotecnología, Escuela Politécnica Nacional, Ladrón de Guevara E11-253, Quito; Ecuador y d Departamento de Ciencias Exactas, Instituto Tecnológico de Colima, Av. Tecnológico #1, Villa de Álvarez, Col., C.P. 28976, México.

Resumen

La cerveza, una de las bebidas alcohólicas más consumidas alrededor del mundo, se fabrica mediante la fermentación de un cereal, que al ponerla en contacto con una levadura dará paso a la formación de etanol. Aunque este proceso ha sido estandarizado, en años recientes se ha propuesto la fabricación de cervezas con propiedades nutrimentales sin afectar el sabor tradicional de esta bebida alcohólica. Sin embargo, añadir ingredientes extras incrementan considerablemente su costo. Por tanto, este proyecto propone, vía experimental, la fabricación de lotes de cerveza a base de jamaica-malta capaces de aportar los requerimientos diarios nutrimentales para ser considerado como nutracéutico, además de reducir el tiempo de fermentación a través de la variación de temperatura en el interior del bioreactor.

Palabras clave: *Antioxidantes, cerveza con antioxidantes, cerveza de flor de jamaica.*

Introducción

La industria alimenticia se encuentra en constante crecimiento gracias a la alta demanda de sus productos y, por tanto, es de importancia analizar el efecto de los componentes como macromoléculas, alimentos funcionales y nutraceuticos [1], éste último ha demostrado proporcionar beneficios médicos para la salud como la prevención y/o el tratamiento de enfermedades [2].

Uno de los efectos más estudiados de los alimentos nutraceuticos es la capacidad antioxidante, los cuales retarda o previene la oxidación de otras moléculas. Los antioxidantes previenen el estrés oxidativo, cuya situación cuando las células se exponen a un ambiente prooxidante, por lo que los mecanismos de defensa (antioxidantes) no son capaces de evitar el daño o la muerte en las células expuestas [3]. Estos alimentos ricos en antioxidantes pueden encontrarse en la menta, té rojo, manzanilla y flor de jamaica. Ésta última suele utilizarse para la elaboración de bebidas frías y calientes [4], adjunto de maíz para fabricar tortillas, sustituto de carne para la elaboración de tacos y en menor proporción en la fabricación de mermeladas [5].

Aunado a la gran variedad de alimentos y bebidas fabricados con la flor de jamaica, el consumo diario de 2 gramos de este cáliz está asociado a múltiples beneficios como el control de la presión

arterial, enfermedades hepáticas y fiebre [6], inhibición de la acción carcinogénica en hígado, boca y colon [7, 8]. A pesar de las bondades que proporciona este alimento, su consumo se ha reducido en los últimos 30 años debido a la facilidad para adquirir bebidas carbonatadas como refrescos o cervezas.

En contraparte, la cerveza es una de las bebidas alcohólicas más consumidas alrededor del mundo. A pesar de que, la fabricación de cerveza es un proceso estandarizado; en los últimos treinta años, los consumidores de esta bebida han exigido nuevas variedades de sabor aroma dando pauta a la incorporación de cervezas de tipo de artesanal a base de adjuntos de hierbas y frutos como café, chocolate, chile, jengibre, etc.

No obstante, existe otra línea de investigación enfocada en la conceptualización, diseño y fabricación de cerveza con propiedades nutrimentales sin afectar las características organolépticas de la cerveza. Por ejemplo; Molina [11] fabricó lotes de cerveza de tipo rubia, rojiza y oscura con hierbas de romero y menta para incrementar la concentración de compuestos antioxidantes y fenólicos. Mientras que, Changotasi [10] añadió pulpa de mora y maracuyá como adjunto en la fabricación de cerveza de tipo Ale y evaluó la concentración de antioxidantes y tiempo de vida útil de esta cerveza. En cambio, Terán [9] elaboró una cerveza a base de amaranto-malta y Bricio et al. [12] retomaron las trayectorias de biomasa de Terán y a través de un modelado matemático y demostraron que esta bebida alcohólica posee aminoácidos de cadena ramificada necesarios para considerarse como un alimento funcional. No obstante, aunque estas bebidas tienen alto potencial, la incorporación de ingredientes adicionales incrementa el costo de fabricación tornándose un nicho de oportunidad para búsqueda de la mejora de este proceso de fermentación.

Por tanto, en este proyecto se planteó la fermentación alcohólica de diversos lotes a base de flor de jamaica para la fabricación de cerveza con propiedades antioxidantes, esto sin incrementar el costo de fabricación a través de la incorporación de perfiles de temperatura.

Metodología

Fabricación del mosto

Se tomaron dos vertientes para incorporar la flor de jamaica al producto deseado; (i) emplear una infusión de jamaica con el agua que se pondrá en contacto con el cereal y (ii) dado que, la flor de jamaica es un producto seco (2 gr de caliz por litro de mosto a fermentar), fue molida y se agregó junto con la malta previo a la maceración.

Temperatura de fermentación

En la literatura se ha reportado que la variación de temperatura durante el proceso de fermentación puede acelerar o reducir la tasa de producción de biomasa y por tanto el tiempo de residencia en el interior del reactor [14]. Por tanto, el volumen del mosto a fermentar se distribuyó en dos bioreactores anaerobios los cuales fueron sometidos a dos variantes de temperatura: (i) *Ambiente (8 a 24°C)* durante cinco días; donde el tanque se colocó en el interior de una gaveta de madera, esto para impedir el contacto con el sol y oxidar los compuestos en fermentación y (ii) *Proceso isotérmico*; se utilizó una incubadora marca Ecocell y se mantuvo la

temperatura de 20 °C por siete días, magnitud considerado como el punto medio para la fermentación de cerveza tipo Ale.

Determinación de etanol/densidad/biomasa/propiedades antioxidantes

Durante el proceso de fermentación, se tomaron dos muestras del mosto en fermentación cada 10 y 14 horas hasta que la concentración de etanol alcanzaba el estado estacionario. Cada muestra fue centrifugada durante 15 min a 4000 rpm donde la fracción líquida fue inyectada a la boquilla de alimentación del equipo Beer Alcoholyzer, previamente lavado y calibrado con agua destilada. Tras unos minutos, el equipo mostró, a través de su pantalla, la magnitud de los parámetros siguientes: densidad, grado alcohólico y contenido calórico de la muestra [12]. Mientras que, para la cuantificación de biomasa, se agitó el tanque de fermentación para homogeneizar el mosto con la levadura del fondo donde se tomó una porción de 1 ml y se añadió 1 ml de agua destilada con 10 gotas de una solución de Rodamina para que ésta realice la tinción sobre las células de la muestra. Tras dos min en reposo, se colocó una gota de la muestra con el agente de teñido sobre una placa de Neubauer y se realizó el conteo celular a través de un microscopio óptico convencional [10].

Una vez que se alcanzó la máxima concentración de etanol, se procedió a separar la levadura a través del proceso de filtrado donde la fase líquida fue vaciada a envases de cerveza donde se añadió 6 gr de azúcar por litro de cerveza fabricada y estas botellas fueron selladas con corcholatas con ayuda de una prensa manual. En seguida, los envases fueron almacenados en una gaveta de madera y se dejó en reposo por siete días. Al concluir este periodo, se tomó una muestra de 1 ml de la cerveza se determinó la actividad antioxidante a través del método de cuantificación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Esta técnica consiste en tomar 400 microlitros de la muestra (cerveza) y disolverla en 1.96 ml de DPPH, así como la solución patrón de DPPH y de DPPH con metanol [10].

Resultados

Efecto de la preparación del adjunto para la fermentación

Se obtuvo un lote de cerveza de 3.6 litros bajo dos condiciones de preparación de la flor de jamaica; como infusión y la flor molida con la malta. La figura 1, muestra la tasa de producción de biomasa en el mosto durante la fermentación, la velocidad de producción de etanol y el diagrama de fases de estos estados.

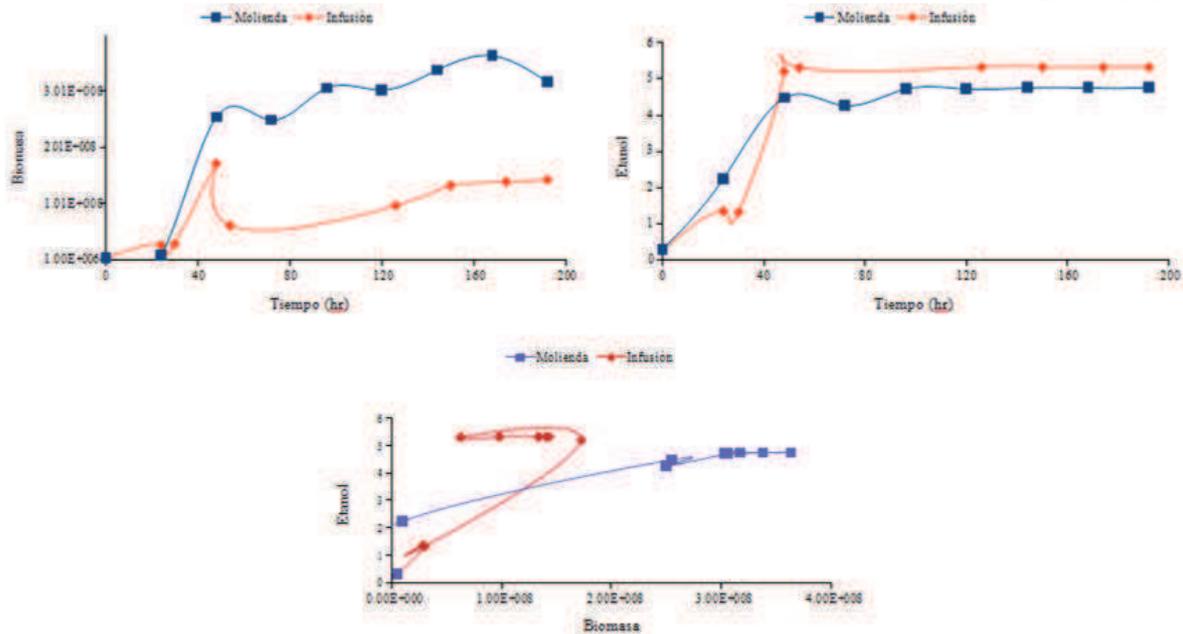


Figura 1. Trayectoria de biomasa y etanol durante la fermentación con diferente preparación del adjunto de malta.

En el primer panel (figura 1.1) se observa que existe una mayor producción de biomasa con la flor molida respecto a la infusión de jamaica. Esto se debe a que, la jamaica molida acidificará el mosto durante la fermentación, las cuales impiden la libre producción de biomasa y, por tanto, será menor la velocidad de producción de etanol. Esta relación se observa en la figura 1.2 donde la concentración final de etanol con la infusión es de 5.32 % respecto al 4.75% de la flor molida, aunado a esto, en la figura 1.3 se observa que se requiere una menor concentración de biomasa para alcanzar la máxima concentración de etanol, es decir, se podrá añadir menos levadura en la etapa final de la preparación del mosto reduciendo costos de operación.

Efecto de la temperatura de fermentación

Dado que se plantea reducir el costo de fabricación de cerveza, se eligió la técnica de la fabricación de cerveza con la infusión de flor de jamaica. Se repitió la metodología y en esta ocasión se varió la temperatura de fermentación bajo una rampa de calentamiento de 20 a 24°C durante 5 días. Las trayectorias de las variables de interés se muestran en la figura 2.

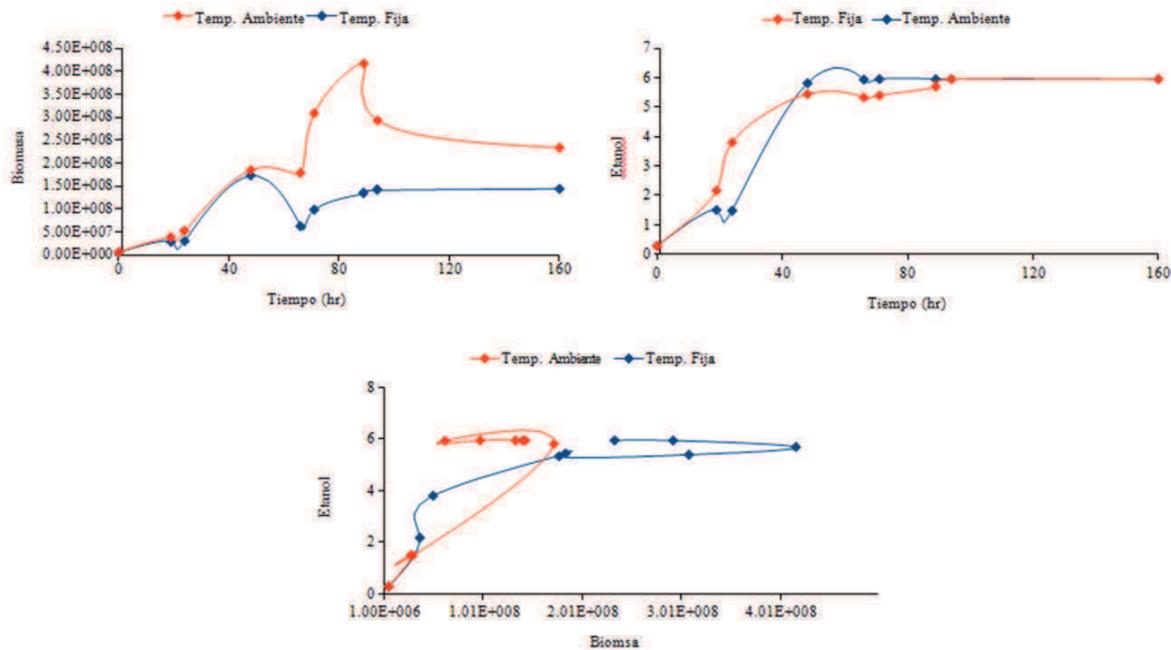


Figura 2. Trayectoria de biomasa, etanol durante la fermentación a diferente temperatura.

En la figura 2 se muestra el efecto de la temperatura sobre las variables de interés. En este experimento se observa que, en la figura 2.1 se requerirá un menor volumen de biomasa reduciendo el costo de la materia prima. Además, se observa que la fermentación a temperatura fija alcanzó la máxima concentración de etanol a las 105 horas respecto a las 94 horas que requirió el proceso isotérmico (figura 2.2). Esta tendencia es más notoria, al comparar el volumen de biomasa respecto a la producción de etanol (figura 2.3), se observa que al someter a la levadura a variaciones de temperatura dentro de su capacidad de tolerancia, aumentará el consumo de las fuentes de carbono disponibles en el mosto. Por tanto, si se desea fabricar un lote de cerveza, se recomienda realizar la fermentación a temperatura ambiente.

Presencia de antioxidantes

A partir de la reacción del radical DPPH con las muestras obtenidos de los lotes fabricados se obtuvo 195 mg de ácido ascórbico/L de la cerveza a base de jamaica molida, 190 y 189 mg de ácido ascórbico/L para los lotes de cerveza con la infusión en la fermentación isotérmica y temperatura ambiente, respectivamente. Estos valores son superiores respecto a Molina [10] cuya cerveza de menta y romero fue de 170 y 143 mg de ácido ascórbico/L.

Conclusiones

En este trabajo se abordó el diseño, fabricación y reducción de costo en la fabricación de una cerveza a base de jamaica-malta con potenciales propiedades antioxidantes bajo diferentes estrategias de fabricación del mosto y condiciones de fermentación. En la primer etapa, se observó que la jamaica en presentación de infusión y molida con los granos de la malta

alcanzaron el mismo tiempo de fermentación. No obstante, la presentación molida obtuvo menor grado alcohólico debido a la presencia de sólidos de menor tamaño presentes durante la fermentación y liberaron los agentes antimicrobianos de esta flor (figura 1.3). Mientras que, al evaluar la temperatura de fermentación se observó que, de realizarse este proceso a temperatura ambiente, se alcanzará la máxima concentración de etanol y menor volumen de biomasa, por tanto, ésto reducirá costos significativamente. Referente al aporte nutrimental, se obtuvo mayor actividad antioxidante respecto a otras cerveza fabricadas con adjuntos de mayor costo.

Aunado a la alta concentración de antioxidantes en la cerveza elaborada a base de malta- jamaica, el empleo de esta flor está asociado al aumento de tiempo de vida útil de esta bebida alcohólica, por tanto, será mayor el tiempo en stock.

Bibliografía

- [1] Badui Dergal, S. (2012). La ciencia de los alimentos en la práctica: Pearson.
- [2] Boucher, Francois (2000). Los productos nutracéuticos: Oportunidad para los recursos naturales autóctonos. Editorial CIID
- [3] Ascensión, M. (2011). Inmunonutrición en la Salud y en la Enfermedad. Madrid, España: Panamericana.
- [4] Bridle, P., y Timberlake, C. (1997). Anthocyanins as natural food colours—selected aspects. Food chemistry, 58(1-2), 103-109.
- [5] Fernández, A. (1989). La tradicional cocina mexicana y sus mejores recetas. Editorial Panorama.
- [6] Ali, B. H., Wabel, N. A., y Blunden, G. (2005). Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of Hibiscus sabdariffa L.: a review. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 19(5), 369-375.
- [7] Kawamori, T., Tanaka, T., Kojima, T., Suzui, M., Ohnishi, M., y Mori, H. (1994). Suppression of azoxymethane-induced rat colon aberrant crypt foci by dietary protocatechuic acid. Japanese journal of cancer research, 85(7), 686-691.
- [8] Tanaka, T., Kawamori, T., Ohnishi, M., Okamoto, K., Mori, H., y Hara, A. (1994). Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced oral carcinogenesis by dietary protocatechuic acid during initiation and postinitiation phases. Cancer research, 54(9), 2359-2365.
- [9] Changotasi (2018). Tesis de Licenciatura de Escuela Politécnica Nacional, Ecuador, Quito. Evaluación de uso de mora y maracuyá como adjuntos en la elaboración de cerveza.
- [10] Molina, K. (2018). Tesis de Licenciatura de Escuela Politécnica Nacional, Ecuador, Quito. Evaluación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante de cerveza tipo rubia, roja y negra elaboradas con romero y menta.
- [11] Terán S. 2017. Tesis de Licenciatura de Escuela Politécnica Nacional, Ecuador, Quito. Evaluación de la utilización de amaranto como adjunto y dos cepas de levadura en la fabricación de cerveza.
- [12] Bricio, E., Bricio, J., Arceo, S., Hernández, H., and López, F. (2018). Análisis de las propiedades nutrimentales de la cerveza a base de amaranto-malta por medio del modelado matemático. Alimentos Hoy, 26(43), 66-81.

PROPUESTA DE UN ESQUEMA DE BIOREFINACIÓN PARA EL APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE *JATROPHA CURCAS*

Araceli Guadalupe Romero-Izquierdo^{a*}, Claudia Gutiérrez-Antonio^b, 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.

ag.romeroizquierdo@ugto.mx

^b Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Centro Universitario, Cerro de las Campanas, Santiago de Querétaro, Qro., 76010, MÉXICO.

Resumen

Ante la creciente demanda de energía y las severas problemáticas en torno al agotamiento de las reservas petroleras, temas importantes como la fluctuación en el precio de los combustibles fósiles y el impacto ambiental provocado por su sobreexplotación, han motivado la búsqueda de fuentes alternativas de energía. En este sentido, el aprovechamiento integral de materias primas de segunda y tercera generación para la producción de combustibles renovables representa una estrategia promisoría. En este trabajo se presenta la propuesta de un esquema de biorefinación para el aprovechamiento integral del fruto de *Jatropha curcas*. Asimismo, se lleva a cabo la estimación del volumen de los diversos productos renovables obtenidos a través de las diversas tecnologías de procesamiento que conforman el sistema. El objetivo principal de esta biorefinería es la obtención de bioturbosina, como estrategia para mitigar el impacto ambiental provocado por el sector de aviación.

Palabras clave: *Biorefinería. Jatropha curcas, Bioturbosina.*

Introducción

Actualmente, la creciente demanda de energía, producto del incremento en la población mundial, representa un problema de especial importancia debido al pronosticado agotamiento de las reservas petroleras, lo cual está directamente relacionado con las fluctuaciones en el precio de la mayoría de los insumos y el severo impacto ambiental derivado de su uso excesivo. En este sentido, el desarrollo de fuentes alternativas de energía, sustentables y de precios competitivos se ha convertido en una de las estrategias para solucionar, al menos parcialmente, tales problemáticas. Diversos trabajos en torno al uso de biomasa de segunda y tercera generación para la producción de biocombustibles se han presentado [1]; no obstante, su aprovechamiento integral en un entorno de biorefinación ha sido hasta ahora escaso. Una biorefinería es una planta de procesamiento diseñada sustentablemente, en donde la biomasa es totalmente aprovechada para obtener productos de alto valor agregado [2]. Así como las refinerías del petróleo, en las biorefinerías es necesario seguir una estrategia adecuada de separación de la materia prima en fracciones útiles, las cuales se convierten en materia prima interna para su completo aprovechamiento dentro del sistema [2]. Por otro lado, el crecimiento en la demanda dentro de la industria de la aviación representa un severo impacto en este sector de transporte, no sólo

económico sino además ambiental, debido a que acrecienta su dependencia a las reservas fósiles. Se ha determinado que las emisiones de CO₂ generadas por este sector son proporcionales al combustible utilizado por un factor de 3.15 [3]. En este sentido, las principales autoridades de aviación han identificado a la bioturbosina como una estrategia promisoriosa para la disminución de su impacto ambiental e independencia parcial del petróleo [4]. Sin embargo, pocos trabajos se han reportado entorno a esquemas de biorefinación para la producción de bioturbosina. En este trabajo, se propone un esquema de biorefinería para el aprovechamiento integral de la planta de *Jatropha curcas* especie mexicana, en donde la bioturbosina sea el producto principal. La investigación en cuanto a su potencial de cultivo, la periodicidad de siembra-cosecha y la composición de cada una de las partes que integran este cultivo energético, ha sido base para la propuesta de las diversas formas de procesamiento que integran el esquema de biorefinación, así como para la estimación de cada uno de los productos obtenidos.

Metodología

*Características de la *Jatropha curcas**

La *Jatropha curcas*, planta originaria de México y otros países de Latinoamérica tiene un tiempo de vida media de 50 años [5]. Este cultivo puede crecer en condiciones semiáridas y altas temperaturas, así como en una gran variedad de suelos, incluso aquellos con bajo contenido de nutrientes [6]. En México su siembra se realiza entre los meses de mayo a julio; cosechando en función al incremento de sus ramas laterales, y, por ende, a los periodos de poda [7]. Se recomienda podar en invierno, desde el primer año de plantación y hasta que el arbusto alcance una copa de entre 50 a 60 ramas, manteniendo esta proporción hasta el final de su vida [7,8]. Este cultivo produce frutos desde el segundo año de plantación, a partir de lo cual se recomiendan colectas semanales [7]. Se ha estimado que después del quinto año de plantación son obtenidos entre 4 y 5 kg de fruto por arbusto plantado [9]. Es importante señalar que el rendimiento promedio de fruto por hectárea es variable, dependiendo de las condiciones edafológicas de la región [5]. Los mejores rendimientos de semilla se han obtenido en Jalisco, siendo de 1 Ton de semilla por año [7]. Si se considera que en una Ha existen alrededor de 2,200 árboles de *jatropha curcas*, entonces es posible cosechar durante un año, hasta 11.1 Ton/ Ha. Por otro lado, a nivel nacional 3, 3,138,302 Ha tienen un potencial productivo alto y 7,779,868 Ha tienen un potencial medio [10]. Para este trabajo se consideran los 7 estados de mayor potencial productivo en el país: Sinaloa, Tamaulipas, Guerrero, Chiapas, Morelos, Yucatán y Michoacán; siendo en total una superficie potencial de cultivo estimada de 1,780,765 Ha. El fruto de *Jatropha curcas* contiene alrededor de 37.5 % de cáscara y 62.5 % de semilla. A su vez, la semilla está compuesta por alrededor de 42 % de cascarilla y 58 % de almendra [9]. Esta última contiene el aceite rico en triglicéridos y ácidos grasos. Por su parte, la cantidad promedio de aceite por semilla de *Jatropha curcas* cosechada es de 35% para la especie mexicana, siendo su composición en peso trioleína (42%), trilinoleína (44%), tripalmitina (11%) y triesterarina (3%) [12]. La composición en peso de la cáscara y cascarilla es celulosa (34%), hemicelulosa (12%) y lignina (10%); mientras que la composición de la semilla y la torta residual (obtenida después de un proceso de extracción de aceite) [11] es lignina (5.32%), agua (4.57%), proteínas (36.3%) y aceite (53.81%) [11].

Estimación de datos para biorefinería

En la Figura 1 se presenta la composición del fruto de *Jatropha curcas*. En la Tabla 1 se presenta la cantidad de fruto de *Jatropha curcas* potencial, en base a las consideraciones previamente señaladas. Asimismo, se presenta la cantidad estimada para cada uno de sus componentes. Esta información es la base del análisis del esquema de biorefinación. Para fines de este trabajo se considera un rendimiento promedio de 5 Ton/Ha/año de semillas.



Figura 1. Composición del Fruto de *Jatropha curcas* [9]

Tabla 1. Datos de entrada, esquema de biorefinación.

DATOS	DESCASCARILLADO 1	DESCASCARILLADO 2
Superficie potencial, 7 Estados (Ha)		
Fruto de J.C (TON/Ha/año)	5	
Fruto de J.C. (kg/h)	1,016,418.38	
	<i>Cáscara</i> (kg/h)	<i>Semilla</i> (kg/h)
	381,156.89	635,261.49
	<i>Cascarilla</i> (kg/h)	<i>Almendra</i> (kg/h)
	260,457.21	374,804.28

De acuerdo con la naturaleza y composición presentadas anteriormente es elegida la tecnología de procesamiento, de forma tal que sea aprovechada cada parte del fruto; estimándose la obtención de diversos combustibles renovables. Procesos como pirólisis y gasificación se proponen para la conversión de la biomasa lignocelulósica en combustibles renovables y otros productos. Asimismo, el proceso de hidrotatamiento se ha propuesto para el procesamiento del aceite extraído de las semillas de *Jatropha*, hacia la obtención de bioturbosina y otros biocombustibles.

Resultados

El fruto de *Jatropha curcas* debe pasar por dos procesos de descascarillado; el primero para remover la cáscara exterior dejando libre a las semillas, y el segundo para remover la cascarilla que las recubre, dejando libre la almendra para facilitar el proceso de extracción del aceite. Por lo tanto, se dispone de 3 materias primas para su procesamiento: cáscara, cascarilla y almendra. De acuerdo con algunos autores [13-15] es posible pirolizar la cascarilla de *Jatropha curcas* para la obtención de bio-aceite, bio-carbón y gas combustible. El rendimiento obtenido para la pirólisis

convencional es de alrededor de 30%, 35% y 40% para bio-aceite, bio-carbón y gas, respectivamente; a presión atmosférica en la presencia de aire o nitrógeno, a temperaturas entre los 300 y 550°C [13,15]. Por su parte, la cascarilla que recubre a las semillas puede ser tratada por gasificación, acoplando un sistema de adsorción de CO₂ mediante CaO (sorbente) para maximizar la producción de hidrógeno. Este sistema fue propuesto como un modelo a 950 K, obteniendo hasta 98% de pureza molar de hidrógeno [16]. Es importante señalar que este trabajo fue realizado a partir de residuos maderosos, validándose experimentalmente en [17] y [18]. En lo que respecta al tratamiento de la semilla para la producción de aceite vegetal, el prensado mecánico a partir de un tornillo prensa se propone para alcanzar hasta 80% de aceite extraído [19,5]. Semillas de *Jatropha curcas* e higuera han sido probadas en ese sistema, procesándose hasta 210 kg/h con una potencia de uso de 22 kW [5]. Se ha determinado además que el aceite obtenido contiene entre 5 y 15 % de impurezas, generando alrededor de 65% en peso de torta residual. La torta residual, subproducto de la extracción de aceite es un sustrato eficiente para la producción de biogás [20]. Este residuo está formado por 93.8% en peso de sólidos totales (TS, proteínas y carbohidratos), y se ha demostrado que el uso de esta materia orgánica para biodigestión genera 60% más de biogás comparado con estiércol de diversos animales; mejorando el poder calorífico, debido a su mayor porcentaje de [9]. Se ha reportado [9] la digestión anaerobia de la torta residual de *Jatropha curcas* en 40 días de tiempo de retención a 35°C y presión atmosférica, añadiendo un inóculo de estiércol de vaca. La mejor producción total de biogás fue de 348 L de biogás por kg de sólidos totales; siendo la concentración de metano de 66% en peso en el biogás. Finalmente, el hidrotreamiento se propone como alternativa para la producción de bioturbosina y otros combustibles renovables, a partir del aceite extraído. Este proceso ha sido desarrollado a nivel de simulación [4], tomando como base el proceso general HEFA de UOP Honeywell, así como datos experimentales reportados para las dos zonas reactivas que conforman el proceso: hidrotreamiento del aceite vegetal e hidrocrackeo/hidroisomerización de los alcanos de cadena larga. La primera zona reactiva opera a 320°C y 80 bar de presión; mientras que, en segunda zona de reacción, se obtienen gases ligeros, naftas, bioturbosina y diésel verde a 480°C y 80 bar de presión. El rendimiento del proceso reportado es: 14.3% a gases ligeros, 17.03% a naftas, 18.6% a bioturbosina y 35.64% a diésel verde; obteniendo además CO₂, CO y vapor de agua. Asimismo, la relación hidrógeno/aceite fue de 1500 mL NPT de hidrógeno/mL de aceite vegetal. De acuerdo con lo anterior, cuatro zonas de análisis pueden distinguirse de esta propuesta: extracción de aceite (1), tratamiento de cascarilla y torta residual (2), tratamiento de cascarilla (3) y uso de aceite de proceso. En la figura 2 se presenta el diagrama de flujo del proceso, incorporando los balances de materia necesarios para la estimación del volumen de productos generados en cada zona, a través de esta propuesta de biorefinación. Las condiciones de operación, conversiones y/o rendimientos utilizados para las estimaciones de materia presentadas en la Figura 2, han sido en base a la información previamente descrita.

La factibilidad económica de esta propuesta ha sido evaluada tomando como base los precios en el mercado de cada producto obtenido. Esta evaluación no incluye el precio de compra de la materia prima, ni de ningún otro insumo necesario para el proceso. Asimismo, no considera el

precio de venta del aceite extraído, ni del hidrógeno obtenido. En la Tabla 2 se presentan los precios de venta de cada producto en el esquema general de biorefinación. El precio de venta total de los productos está reportado en \$ USD/h, por lo que se ha considerado el precio del dólar de 18.6494 MX, y el de 1 £ como 1.567 USD, de acuerdo con el Banco de México [27]. De acuerdo con los resultados, el precio de venta total de los productos generados es de \$ 2,816,858.44 USD/h.

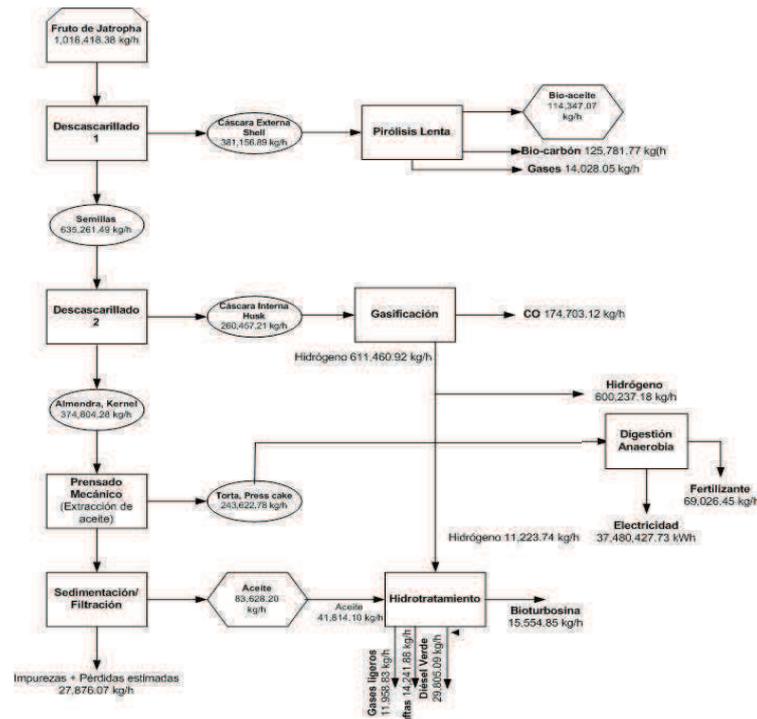


Figura 2. Esquema de biorefinación a partir de *Jatropha curcas*.

Tabla 2. Precios de venta en el mercado.

ZONA	PROCESO	PRODUCTOS	UNIDAD DE VENTA	VENTA \$	REFERENCIAS
1	Prensado mecánico	Aceite/ Torta residual	N/A	N/A	N/A
2	Pirólisis convencional	Bio-aceite	Libra (£) /GJ	11.2	[21]
		Carbón Vegetal	Libra (£) /GJ	6	[22]
3	Digestión anaerobia	Electricidad	\$ MX/ kWh	1.34	[23]
		Gasificación	H ₂	\$ USD /kg	13.99
4	Hidrotratamiento	Gases ligeros	\$ MX / GJ	88.43	[25]
		Naftas	\$ MX / L	13.98	
		Bioturbosina	\$ MX / L	12.41	[26]
		Diésel verde	\$ MX / L	14.63	

Conclusiones

En este trabajo se ha presentado una propuesta de un esquema de biorefinación para el aprovechamiento integral del fruto de *Jatropha curcas*, así como su factibilidad técnica y económica; siendo la bioturbosina el producto principal. La investigación en cuanto al potencial de cultivo, la composición de cada constituyente y la elección de las tecnologías de procesamiento han permitido la estimación de los flujos de proceso y la ganancia bruta de los diversos productos.

Bibliografía

- [1] Ben-Iwo, J., Manovic, V., Longhurst, P., (2016) "Biomass resources and biofuels potential for the production of transportation fuels in Nigeria", *Ren Sust Ener Rev*, 63 (May), 172-192.
- [2] Sadhukhan, J., Siew-Ng, K., Martínez-Hernández, E., (2014), "Biorefineries and Chemical Processes: design, Integration and Sustainability Analysis", 1st Ed.
- [3] Grote, M., Williams, I., Preston, J., (2014), "Direct carbon dioxide emissions from civil aircraft", *Atm Env*, 95 (October), 214-224.
- [4] Gutiérrez-Antonio, C., Romero-Izquierdo, A.G., Gómez-Castro, F.I., Hernández, S., (2016), "Energy integration of a hydrotreatment process for sustainable biojet fuel production", *Ind and Eng Chem Res*, 55, 8165-8175.
- [5] Inurreta-Aguirre, H.D., García-Pérez, E., Uresti-Gil, J., Martínez-Dávila, J.P., Ortiz-Laurel, H., (2013), "Potencial para producir *Jatropha curcas* L. como materia prima para biodiésel en el estado de Veracruz", *Trop and Subtrop Agroeco*, 16 (3), 325-339.
- [6] Behera, S.K., Srivastava, P., Tripathi, R., Singh, J.P., Singh, N., (2010), "Evaluation of plant performance of *Jatropha curcas* L. under different agro-practices for optimizing biomass, a case study", *Biom & Bioen*, 34 (1), 30-41.
- [7] González-Ávila, A., García-Mariscal, K.P., Hernández-García, M.A., y col., (2011) "Guía para cultivar Piñón Mexicano (*Jatropha Curcas* L.) en Jalisco", INIFAP.
- [8] Gómez-Mercado, R., Hernández-Martínez, M., Morales-Díaz, P., y col., (2013) "Tecnología para la producción de *Jatropha* en el estado de Hidalgo", INIFAP.
- [9] Singh, R.N., Vyas, D.K., Srivastava, N.S.L., Narra, M., (2008), "SPRERI experience on holistic approach to utilize all parts of *Jatropha Curcas* fruit for energy", *Ren Ene*, 33 (February), 1868-1873.
- [10] INIFAP, (2012), "Potencial productivo de especies agrícolas de importancia socioeconómica en México".
- [11] Wang, W., (2016), "Techno-economic analysis of a bio-refinery process for producing Hydro-processed Renewable Jet fuel from *Jatropha*", *Ren Ene*, 95 (April), 63-73.
- [12] Herrera-Martínez, J., (2007) "Experiencia con *Jatropha Curcas* en México", Instituto Politécnico Nacional.
- [13] Liu, C., Wang, H., Karim, A.M., Sun, J., Wang, Y., (2014), "Catalytic fast pyrolysis of lignocellulosic biomass", *Chem Soc Biom*, 43 (22), 7594-7623.
- [14] Anca-Couce, A. and Scharler, R., (2017), "Modelling heat of reaction in biomass pyrolysis with detailed reaction schemes", *Fuel*, 206 (1), 572-579.
- [15] Gómez, A., Klose, W., Rincón, S., 2008, "Pirólisis de Biomasa: cuesco de palma de aceite", Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia.
- [16] Inayat, A., Ahmad, M.M., Yusup, S., Mutallb, M.I.A., (2010), "Biomass steam gasification with in situ CO₂ capture for enriched hydrogen gas production: a reaction kinetics modelling approach", *Ener*, 3 (1), 1472-1484.
- [17] Mahishi, M.R., Goswami, D.Y., (2007), "An experimental study of hydrogen production by gasification of biomass in the presence of a CO₂-sorbent", *Inter Jour Hydro Ene*, 32 (1), 2803-2808.
- [18] Florin, N.H., Harris, A.T., (2007), "Hydrogen production from biomass coupled with carbon dioxide capture: the implications of thermodynamic equilibrium", *Inter Jour Hydro Ener*, 32 (1), 4119-4134.
- [19] Beerens, P., 2005, "Screw-pressing of *Jatropha* seeds for fueling purposes in less development countries", Master Thesis, Eindhoven University of Technology.

- [20] Schmidt, T., (2010), “Anaerobic digestion of *Jatropha curcas* L. press cake and effects of an iron-additive”, *Wast Man & Res*, 29 (11), 1171-1176.
- [21] Rogers, J.G., Brammer, J.G., (2012), “Estimation of the production cost of fast pyrolysis bio-oil”, *Biom & Bioen*, 36 (1), 208-217.
- [22] Reporte quincenal de precios de fertilizantes SNIIM, Septiembre 2015, <http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/Precios/Documents/Reportes%20Fertilizantes/1ra%20Septiembre%202015.pdf>, Consultado: Febrero 2018.
- [23] Precios medios de energía eléctrica por sector tarifario, <http://sie.energia.gob.mx/bdiController.do?action=cuadro&cvequa=IIIBC01>, Consultado: Febrero 2018.
- [24] Precio del hidrógeno, <https://cafc.org/content/cost-refill>, Consultado: Marzo 2018.
- [25] Precio del gas natural, http://www.pemex.com/comercializacion/productos/Documents/GasNatural_PreciosDiarios_VPM_ene_2018.pdf, Consultado: Febrero 2018.
- [26] Precio de productos petrolíferos, http://www.pemex.com/ri/Publicaciones/Indicadores%20Petroleros/epublico_esp.pdf, Consultado: Febrero 2018.
- [27] Tipo de cambio, Banco de México, <http://www.banxico.org.mx/portal-mercado-cambiario/index.html>, Consultado: 07-Febrero 2018.

SIMULACIÓN NUMÉRICA DEL ENSUCIAMIENTO POR COQUE DENTRO DE LOS TUBOS DE LOS CALENTADORES A FUEGO DIRECTO PARA EL REFINADO DEL PETRÓLEO

Juan Nicolás Flores Balderas^a, Jorge Arturo Alfaro Ayala^a, Alberto Florentino Aguilera Alvarado^a, Agustín Ramón Uribe Ramírez^a, José de Jesús Ramírez Minguela^a, Oscar Alejandro López Núñez^a

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

jn.floresbalderas@ugto.mx

Resumen

En este trabajo se predice mediante CFD la cantidad de coque formado en la tubería de un horno a fuego directo para el proceso de desintegración térmica de petróleo. Este estudio se realiza mediante el análisis de los fenómenos químicos y físicos que ocurren y que permiten la acertada implementación de modelos teóricos, tanto aquellos ya aceptados como otros ampliados o adicionales en la dinámica de fluidos computacional que incluyen aspectos de proceso: transporte de masa, calor y movimiento; y aspectos fundamentales como: esquema de reacción química y la cinética de formación de coque. Con esta información se establecieron criterios para minimizar la formación de coque con el objetivo de mejorar el desempeño de los hornos o calentadores a fuego directo.

Palabras clave: *CFD, Ensuciamiento, Coque, Fired heaters, Thermal cracking.*

Introducción

En la industria petrolera los calentadores a fuego directo, denominados también *fired heaters*, son equipos utilizados para el refinado de residuos de petróleo con la finalidad de obtener destilados medios y ligeros. Estos residuos que alimentan al calentador son desintegrados térmicamente (*thermal cracking*). Este proceso ocurre como consecuencia de las altas temperaturas que se presentan debido a la transferencia de calor en los tubos del calentador a fuego directo y a un tiempo de residencia considerable dentro de los tubos, los cuales conforman el serpentín del calentador. Es aquí donde ocurren una serie de reacciones térmicas importantes del proceso. Dentro de estos fenómenos se genera una problemática recurrente de formación de coque que con el tiempo se va depositando y acumulando en la pared interna de los tubos. Esta capa de coque se adhiere a la superficie interior del tubo e inhibe la transferencia de calor, induciendo un sobrecalentamiento a tal grado que se pudiera alcanzar el límite de temperatura metalúrgica [1, 2], superando así las condiciones de operación normales en un *fired heater*: 103.4-137.9 kPa (15-20 psig) de presión, una temperatura del petróleo a la entrada del serpentín de 232 °C y a la salida del serpentín de 482 °C [3,4].

Dado que el petróleo se compone de una mezcla compleja de hidrocarburos, muchos de los cuales se desconocen, es difícil predecir las reacciones reales que se producen para cada una de las especies químicas reales. Lejos de eludir este problema es considerar grupos de moléculas que representen el petróleo y que logren tener un comportamiento representativo, llamadas pseudo-

componentes. Los pseudo-componentes que representan el petróleo son: destilado, saturados, aromáticos, resinas, asfaltenos solubles, asfaltenos en mesofase y coque.

Como lo definió Wiehe [5], los asfaltenos son una porción del petróleo, insolubles en compuestos alifáticos, pero solubles en disolventes aromáticos tales como tolueno. Los asfaltenos son una mezcla de diversos compuestos químicos, conteniendo: carbono, hidrógeno, azufre, nitrógeno, oxígeno, y una pequeña cantidad de vanadio y níquel [6]. La fórmula química aproximada de asfaltenos, con un peso molecular promedio de 3000, es $C_{205}H_{236}S_7O_3N_2$ [5]. La precipitación de asfaltenos está en función de las condiciones de operación, principalmente la temperatura y la composición [7]. Por cambios en la temperatura, presión, pH, régimen de flujo, efectos de pared y la composición del petróleo crudo, los componentes del asfalteno pueden segregarse, por lo tanto, la formación de coque se inicia por la precipitación de asfaltenos [8]. Por el aumento de la deposición de asfaltenos, la formación de coque y como consecuencia el ensuciamiento de los *fired heaters*, es importante entender el comportamiento de deposición de estas partículas en la pared de los tubos que integran estos equipos.

Köseoglu and Phillips [9-12] y Mendonça Filho [13] presentan tres modelos cinéticos con un grupo de pseudo-componentes para hidrocraqueo catalítico de Athabasca bitumen. Las constantes de velocidad de reacción fueron representadas por un tipo de expresión de Arrhenius. Las energías de activación y los factores de frecuencia se determinaron para cada modelo de reacción propuesto. Takatsuka et al. [14] propusieron un diagrama de control de compatibilidad ternaria para predecir la formación de coque sobre la base de su propio modelo de reacción.

Bayat et al. [15] desarrollaron un modelo CFD en 2-D para estudiar el comportamiento del ensuciamiento de los precalentadores de petróleo crudo. El petróleo crudo se supone que está compuesto por: asfaltenos y sal, y las reacciones de la deposición de los asfaltenos y sal se definieron en el paquete Fluent de Ansys usando el modelo de transporte de las especies.

Souza et al. [16] desarrollaron un modelo numérico para flujo monofásico (CFD) dentro de las tuberías de los *fired heaters* para el refinado del petróleo. Las ecuaciones de flujo que rigen este fenómeno se integraron numéricamente utilizando un esquema de volumen finito. Su objetivo fue determinar las condiciones operativas que pueden reducir la formación de coque debido al craqueo térmico de la alimentación. Con el fin de predecir la formación de coque, el modelo utiliza un diagrama ternario [14] para probar si el pseudo-componente asfalteno se precipita (sólo el asfalteno puede conducir a la formación de coque), un detalle de este modelo es que no considera la importancia del refinado de la malla cerca de la pared para contemplar los efectos por la formación de la capa límite, lo cual implica una condición importante a valorar en el presente trabajo, dado que la transferencia de calor se da desde la pared del tubo hacia al petróleo que fluye.

Fontoura et al. [17] modelaron el craqueo térmico y el cambio de fase dentro de los tubos de los *fired heaters* mediante simulaciones CFD, sin embargo, solamente el campo de temperatura y las líneas de corriente de velocidad se discutieron, sin involucrar el aspecto de la formación de coque en sus resultados y conclusiones.

En la revisión de la literatura que se llevó a cabo se observó que a la fecha no se ha desarrollado una simulación completa vía CFD para estudiar los detalles de la deposición de asfaltenos y la

formación de coque en equipos de transferencia de calor como los *fired heaters*, esto es debido en gran medida a la complejidad de los fenómenos químicos y físicos involucrados. En este trabajo se calculará la temperatura y velocidad del petróleo, así como la concentración de los pseudo-componentes debido al craqueo térmico de petróleo dentro de los tubos, para de esta manera establecer y asegurar una operación adecuada de los *fired heaters*. Para lograr esto se hace uso de una herramienta muy efectiva como lo es la dinámica de fluidos computacional (CFD), mediante el paquete comercial ANSYS-Fluent 16.0. Una ventaja importante del presente trabajo es el empleo de las denominadas UDFs (*User-Defined Functions*) o funciones definidas por el usuario. Una función definida por el usuario UDF, es una función que se programa y se puede cargar de forma dinámica con el solucionador ANSYS-Fluent para mejorar las características estándar del código, permitiendo de esta manera tener el control de los modelos a ingresar en el software para agilizar los cálculos, así como resolver la transferencia de masa.

Metodología

Para desarrollar los modelos que permitan predecir la formación de coque dentro de las tuberías de un *fired heater*, se establecen varias suposiciones: el flujo es en estado estable y en una sola fase, es decir, el petróleo siempre permanece en estado líquido al someterlo a altas temperaturas. El flujo de petróleo a la entrada del serpentín del *fired heater* está completamente desarrollado, como si el flujo viniera de una sección de tubo anterior unido a la porción de tubo en cuestión (esto es razonable dado que en la industria del refinado de petróleo la alimentación al *heater* viene de otro proceso). Aunque el serpentín de los *fired heaters* está sometido a diferentes flujos de calor, una buena aproximación es suponer que la temperatura de la pared del tubo es constante, lo que es aceptable para el diseño de los *fired heaters* [18]. Dado que las condiciones de operación para el *fired heater* son a bajas presiones, las propiedades físicas dependen de la temperatura, pero no de la presión. El petróleo puede ser representado por siete pseudo-componentes, de acuerdo al modelo modificado de Köseoglu and Phillips [9-12] y Mendonça Filho [13], en el que el petróleo estuvo representado por S.A.R.A. (saturados, aromáticos, resinas, asfaltenos) y los pseudo-componentes destilado, asfaltenos en mesofase y el coque que se introdujeron para tener en cuenta la reacción térmica (Figura 1). A pesar de que es posible la formación de asfaltenos en mesofase y posteriormente coque en estado sólido, son considerados como partículas microscópicas portadas por el fluido, por lo que no afectan la cinética neta utilizada.

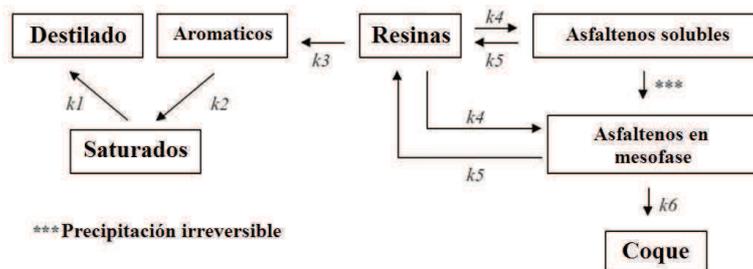


Figura 1.- Esquema de reacción neta del craqueo térmico del petróleo.

Se estudia la desintegración térmica de los residuos de petróleo, las reacciones que se llevan a cabo dentro de la tubería, así como de la cinética completa, donde los modelos a utilizar contemplan los denominados modelos de química global, así como la transferencia de masa, momento, energía y modelos de turbulencia. Se lleva a cabo un análisis de sensibilidad de malla para establecer el efecto del tamaño de malla en los resultados calculados, y determinar el tamaño óptimo de malla para usar en la simulación, el mallado se realiza mediante ANSYS Meshing 16.0. Se establece la condición de frontera a la entrada de la tubería "*velocity inlet*" con un perfil tridimensional (m/s) para la condición de flujo completamente desarrollado, con una temperatura del petróleo de 232 °C y fracción de masa de entrada de los pseudo-componentes (Tabla 1). A la salida "*pressure outlet*", con un valor de 0 Pa de presión manométrica (es decir, a presión atmosférica). La pared del tubo se modela utilizando condición de frontera "*wall*" de no deslizamiento a lo largo, con la temperatura de la pared del tubo constante de 482 °C. La geometría y mallado de la tubería empleada se muestra en la Figura 2. Se emplea una geometría en tres dimensiones con mallado estructurado y un refinado cerca de la pared para tomar en cuenta los efectos de la capa límite, con un número total de 630,500 elementos. Las simulaciones se llevan a cabo utilizando los paquetes comerciales de ANSYS Fluent 16.0.

Tabla 1.- Fracción masa de los pseudo-componentes para el Arabian light a la entrada del tubo.

Pseudo-componente	Y_i
Destilado	0.00
Resinas	0.37
Saturados	0.15
Aromáticos	0.37
Asfaltenos	0.11
Coque	0.00

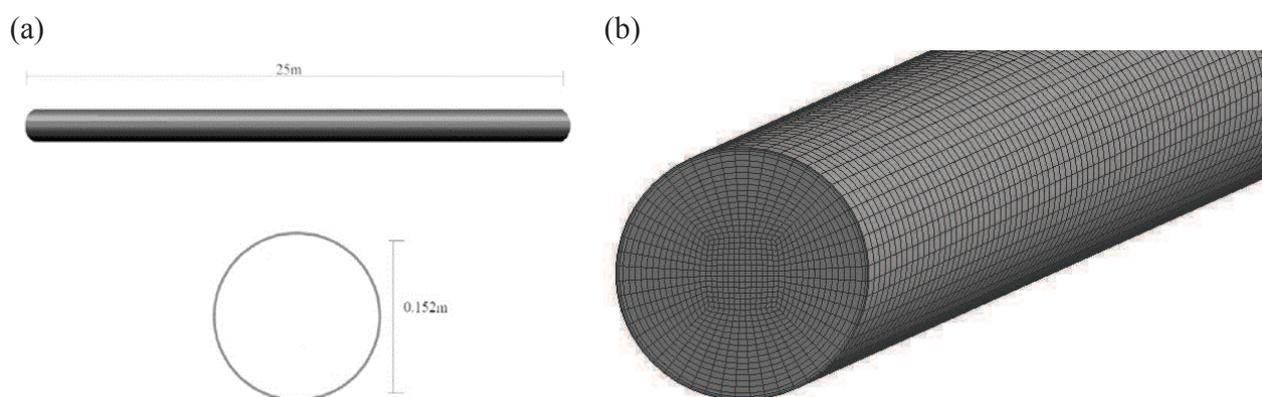


Figura 2.- a) geometría y b) mallado de un tubo de un horno de desintegración térmica.

Resultados

Con el fin de realizar la validación del modelo, este fue probado para algunas situaciones en las que era posible compararlo con los resultados experimentales. Hay muchos experimentos de flujos monofásicos en tuberías reportados en la literatura. Una prueba se llevó a cabo y el perfil de velocidad obtenido mediante este modelo en ANSYS-Fluent se compara con los datos experimentales reportados por Laufer [19] para flujo turbulento de aire dentro de un tubo. Los resultados adimensionales estimados por el modelo CFD muestran buena concordancia, como se puede observar en la Figura 3. En este mismo sentido se compara la caída de presión obtenida por el modelo CFD para diferentes números de Reynolds con la caída de presión obtenida por la expresión para flujo completamente desarrollado usando factor de fricción [20]. Se puede apreciar que los resultados son muy aproximados, ver la Figura 4. Dado que no hay experimentos específicos en la literatura para las condiciones que se establecieron para el modelo, los resultados similares obtenidos con CFD en las comparaciones del perfil de velocidad adimensional y la caída de presión, permiten determinar que el modelo es confiable.

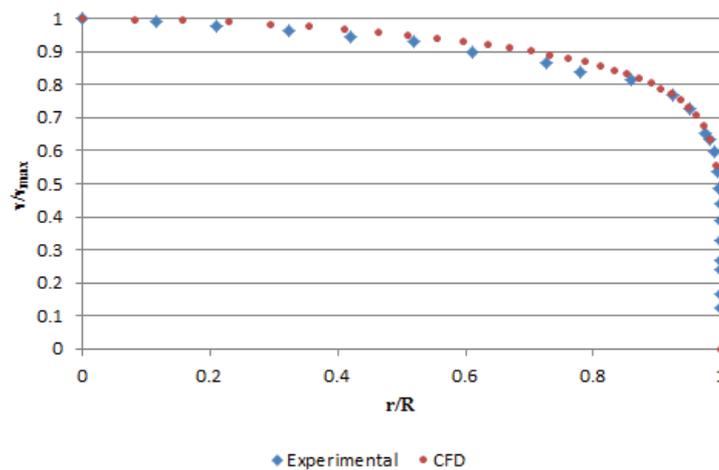


Figura 3.- Comparación de la velocidad estimada por el modelo CFD y los datos experimentales por Laufer [19] ($Re = 500,000$).

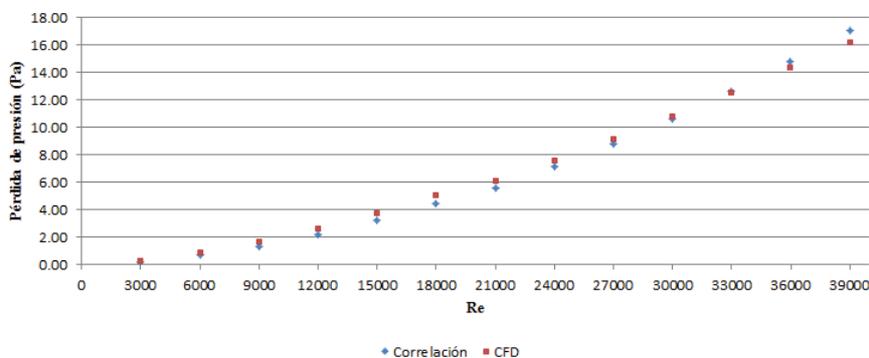


Figura 4.- Comparación de la caída de presión estimada por el modelo CFD y la correlación para flujo turbulento.

En la Figura 5 se observan las líneas de corriente desde la entrada y hasta la salida de la tubería para la velocidad del petróleo, las líneas de corriente no aparentan tener un cambio significativo en su trayectoria a pesar de ser flujo turbulento, esto se debe principalmente a las relativamente bajas velocidades que se consideran para el flujo de petróleo y a la presencia solamente de fase líquida.

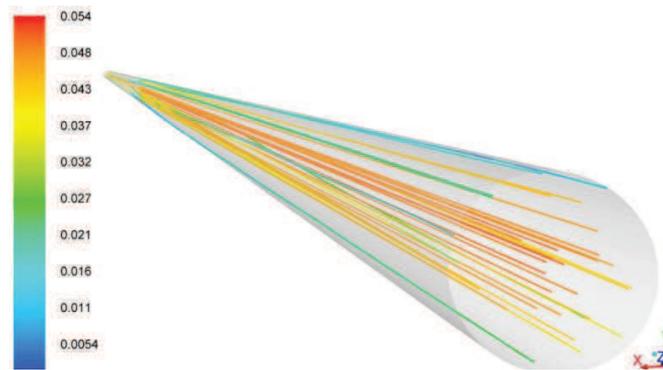


Figura 5.- Perfiles de las líneas de corriente de la velocidad del petróleo para un Reynolds de 12,000 y una temperatura de pared de 482 °C.

En la Figura 6 se observa el comportamiento de la generación de coque para diferentes números de Reynolds. Con este modelo se logró determinar las condiciones a las que convendría operar el reactor. Se observó que para los regímenes de flujo a partir de $Re > 24,000$ prácticamente la formación de coque es despreciable, esto nos indica que cuanto mayor sea la velocidad de flujo (altos Reynolds), menor es la posibilidad de formación de coque.

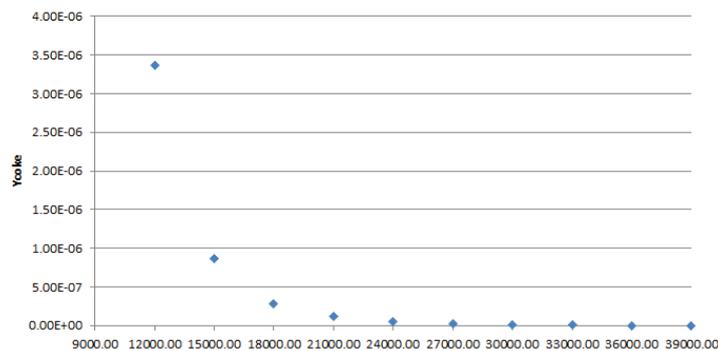


Figura 6.- Variación de la fracción masa de coque con el número de Reynolds.

Conclusiones

Para valores de temperatura de pared superior a la utilizada en este trabajo se incrementa la posibilidad de formación de coque. Esto puede explicarse por el hecho de que las constantes de velocidad de reacción son dependientes de la temperatura y aumentan exponencialmente si se aumenta la temperatura, lo que implica que también el coque incrementa en esta misma proporción. Con este modelo se pudo determinar que para regímenes de flujo desde $Re > 24,000$ prácticamente la formación de coque es despreciable, puesto que se observó que cuanto mayor

sea la velocidad de flujo (altos Reynolds), menor es la posibilidad de formación de coque. Por lo cual se recomienda operar los calentadores a fuego directo bajo régimen de flujo turbulento y a partir de esta condición de flujo.

Referencias

- [1] Martin, G., Barletta, T. (2001) "Vacuum unit fired heater coking-avoid unscheduled shutdowns", *Pet. Technol. Q.*, 123–127.
- [2] Barletta, T. (2002) "Why vacuum unit fired heaters coke", *Pet. Technol. Q.*, 123–128.
- [3] Jones, D., Pujadó P. (2006) "*Handbook of Petroleum Processing*", Springer, Dordrecht, The Netherlands, 448–449.
- [4] Fahim, M.A., Al-Sahhaf, T.A., Elkilani, A.S. (2010) "*Fundamentals of Petroleum Refining*", 1st ed., Elsevier, Oxford, UK.
- [5] Wiehe, I.A. (2012) "Asphaltene solubility and fluid compatibility", *Energy Fuels*, 26, 4004–4016.
- [6] Bennett, C.A. (2012) "A theory describing asphaltene adhesion fouling inside heat exchanger tubes", *Heat Transf. Eng.*, 33, 1246–1250.
- [7] Bennett, C.A. et al. (2006) "Industry-recommended procedures for experimental crude oil preheat fouling research", *Heat Transf. Eng.*, 27, 28–35.
- [8] Speight, J.G. (2007) "*The Chemistry and technology of petroleum*", Fourth ed., CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida.
- [9] Köseoglu, R.Ö., Phillips, C.R. (1988a) "Hydrocracking of Athabasca bitumen: kinetics of formation of gases", *Fuel*, 67, 552–556.
- [10] Köseoglu, R.Ö., Phillips, C.R. (1988b) "Kinetic models for the non-catalytic hydrocracking of Athabasca bitumen", *Fuel*, 67, 906–915.
- [11] Köseoglu, R.Ö., Phillips, C.R. (1988c) "Kinetics and product yield distributions in the CoOMoO₃Al₂O₃ catalysed hydrocracking of Athabasca bitumen", *Fuel*, 67, 1411–1416.
- [12] Köseoglu, R.Ö., Phillips, C.R. (1988d) "Effect of reaction variables on the catalytic hydrocracking of Athabasca bitumen", *Fuel*, 67, 1201–1204.
- [13] Mendonça Filho, L.G. (1998) "*Modelagem e Simulação de Reator Trifásico Aplicado a Óleos Pesados com Reações de Hidrocraqueamento Térmico e Catalítico, Demetalização e Deposição de Coque na Mistura e no Catalisador*", Tese de Mestrado, UNICAMP, Campinas, SP, Brazil.
- [14] Takatsuka, T., Wata, Y., Hirohama, S., Fukui, Y. (1989) "A prediction model for dry sludge formation in residue hydroconversion", *J. Chem. Eng. Jpn.*, 3, 22, 289–303.
- [15] Bayat, M., Aminian, J., Bazmi, M., Shahhosseini, S., Sharifi, K. (2012) "CFD modeling of fouling in crude oil pre-heaters", *Energy Convers. Manage.*, 64, 344–350.
- [16] Souza, B.A., Matos, E.M., Guirardello, R., Nunhez, J.R. (2006) "Predicting coke formation due to thermal cracking inside tubes of petrochemical fired heaters using a fast CFD formulation", *J. Pet. Sci. Eng.*, 51, 138–148.
- [17] Fontoura, D., Matos, E., Nunhez, J. (2013) "A three-dimensional two-phase flow model with phase change inside a tube of petrochemical pre-heaters", *Fuel*, 110, 196–203.
- [18] Wimpres, R.N. (1963) "Rating fired heaters, hydrocarbon process", *Pet. Refin.*, 10, 42, 115–126.
- [19] Laufer, J. (1952, October 28) "The Structure of Turbulence in Fully Developed Pipe Flow", *National Advisory Committee of Aeronautics 1174*, National Aeronautics and Space Administration of The United States of America, Washington D.C.
- [20] Incropera, F., Dewitt, D. (2002) "*Fundamentals of Heat and Mass Transfer*", 5th ed., John Wiley & Sons, New York, USA.

SIMULACIÓN NUMÉRICA DE UN REFLECTOR LINEAL FRESNEL UTILIZANDO VOLUMEN FINITO

Oscar A. López-Núñez^{a*}, J. Arturo Alfaro-Ayala^a, O.A. Jaramillo^b, J. J. Ramírez-Minguela^a

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

*oa.lopeznunez@ugto.mx

^b Instituto de Energías Renovables, Universidad Nacional Autónoma de México, Priv. Xochicalco S/N Temixco, Morelos, 62580 México.

Resumen

En este trabajo, se presenta el modelado de un Reflector Lineal Fresnel a través del método de volumen finito mediante el software comercial de Dinámica de Fluidos Computacional (CFD) conocido como ANSYS Fluent®. El estudio se llevó a cabo utilizando cuatro valores distintos de radiación directa normal de 400, 600, 800 y 1000 W/m², tomando en cuenta una geometría en dos dimensiones con 25 espejos planos, 4 tubos absorbedores y una altura del receptor de 8 m, bajo un régimen en estado estable. Los resultados muestran que es posible obtener la distribución de flujo de calor alrededor de los tubos absorbedores, así como el contorno de radiación incidente al LFR para cada uno de los casos presentados. Los resultados obtenidos muestran una relación directa entre la irradiación directa normal y el flujo de calor absorbidos por los tubos. Este modelo permitirá obtener resultados de interés en el desarrollo de propuestas de sistemas solares tipo LFR.

Palabras clave: *Concentrador solar, Reflector Lineal Fresnel, Volumen Finito, CFD.*

Introducción

Dentro de los recursos de energías renovables, la energía solar se ha posicionado como una alternativa limpia, barata y sobre todo abundante a lo largo del año, llamando la atención de muchos investigadores para estudios teóricos y experimentales [1]. Así mismo, nuestro país tiene una posición privilegiada para el uso de la energía solar, ya que es uno de los cinco países más atractivos en inversión de proyectos solares, solo por detrás de China y Singapur [2].

En el contexto de la conversión de energía solar a energía térmica, existen los Reflectores Lineales Fresnel (LFR, por sus siglas en inglés), los cuales son dispositivos conformados de una serie de filas de superficies reflectoras que concentran la radiación solar hacia uno o varios tubos absorbedores por donde circula un fluido de trabajo (Figura 1).

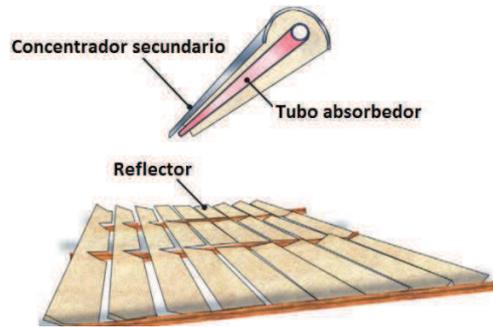


Figura 5. Esquema de un LFR

Los espejos son montados sobre un sistema de seguimiento, moviéndose a una misma velocidad a lo largo del día, pero cada fila se encuentra posicionada en un ángulo distinto, consiguiendo con esto rangos de temperatura del fluido de trabajo que van de los 80 hasta los 250°C [3].

El avance de estos dispositivos se ha centrado en la mejora de su rendimiento utilizando muchas veces herramientas computacionales [4]–[6]. El presente trabajo incorpora el modelado de una geometría LFR mediante el uso del método de volumen finito utilizando el software ANSYS Fluent®, resolviendo la ecuación de transferencia de energía radiativa (RTE) a diferentes valores de radiación directa normal. Este trabajo presenta otra opción en el análisis de estos dispositivos LFR, además del ya conocido trazado de rayos mediante el método de Monte Carlo, obteniendo con ello la distribución de flujo de calor en las superficies de interés.

Metodología

Como caso de estudio, se tomó en cuenta la geometría de un LFR reportada en [7], tomando en cuenta 4 tubos absorbedores. Los parámetros geométricos son presentados en la Tabla 1 de acuerdo con el esquema mostrado en la Figura 2.

Tabla 4. Parámetros geométricos del LFR.

Número de Espejos: 25	Desplazamiento de tubería (d): 55 mm	θ : 30°
Ancho del Campo Solar (W): 21 m	Ancho cavidad superior (c): 400 mm	Diámetro OD: 50 mm
Ancho Espejos (w): 0.6 m	Altura de Recibidor (H): 8 m	Profundidad (e): 240 mm
Distancia entre centros de tubería (m): 75 mm		

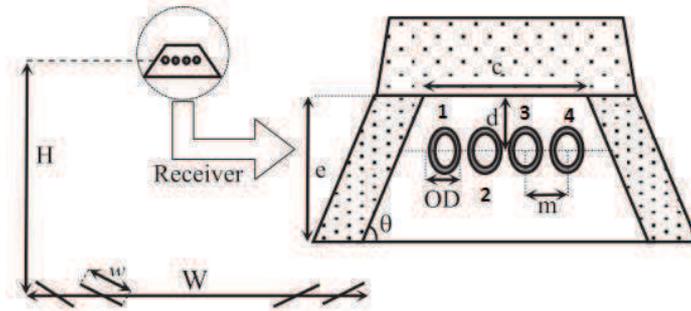


Figura 6. Geometría del LFR reportada en [7]

Dentro del software de CFD se realizó la construcción de la geometría en dos dimensiones (Figura 3a y 3b), así como el mallado necesario para la discretización de las ecuaciones a resolver (Figura 3c y 3d), tales como la ecuación RTE, ecuación de la energía, así como la de continuidad y cantidad de movimiento [8]. Cabe mencionar que la geometría fue construida tomando en cuenta la mitad del LFR debido a la simetría existente.

El análisis fue llevado a cabo mediante un régimen en estado estable, utilizando el método de Ordenadas Discretas (DO) para la solución de la ecuación RTE (Ecuación 1).

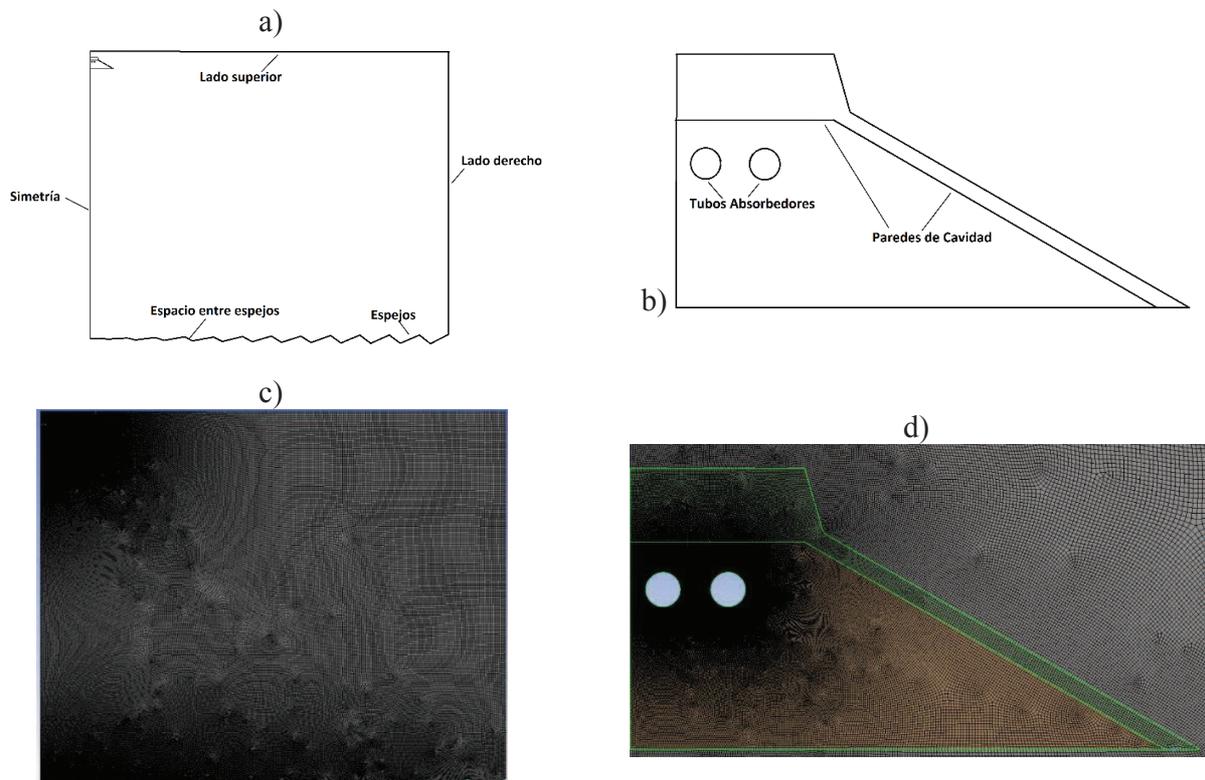


Figura 7. a) Geometría del LFR construida b) Acercamiento al receptor c) Mallado de la geometría d) Acercamiento en el mallado del receptor.

$$\nabla \cdot (I(\vec{r}, \vec{s})\vec{s}) + (a + \sigma_s)I(\vec{r}, \vec{s}) = an^2 \frac{\sigma T^4}{\pi} + \frac{\sigma_s}{4\pi} \int_0^{4\pi} I(\vec{r}, \vec{s}') \Phi(\vec{s}, \vec{s}') d\Omega' \quad (1)$$

Donde:

\vec{r} : Vector posición	\vec{s} : Vector director	\vec{s}' : Vector director de dispersión
a : Coeficiente de absorción	I : Intensidad de radiación	Φ : Función de fase
Ω' : Ángulo sólido	σ_s : Coeficiente de dispersión	σ : Constante de Stefan-Boltzmann
n : Índice de refracción	T : Temperatura absoluta	

El método de ordenadas discretas se basa en la representación discreta de la variación direccional de la intensidad de radiación. La solución al problema de transporte se encuentra resolviendo la ecuación de transferencia para un conjunto de direcciones discretas abarcando el ángulo sólido total de 4π [9].

Se tomaron en cuenta 4 valores distintos, 400, 600, 800 y 1000 W/m², para la radiación directa incidente en el dominio de la geometría con el fin de conocer el flujo de radiación absorbida en cada tubo. La Tabla 2 resume las condiciones de frontera utilizadas en la simulación numérica, las superficies se pueden observar en la Figura 3a y 3b.

Tabla 5 Condiciones de Frontera

Superficie	Tipo de Condición de Frontera
Superior	Semitransparente con Radiación Directa: 400, 600, 800 y 1000 W/m ² hacia abajo
Lado derecho y espacios entre espejos	Opaco y cuerpo negro
Espejos	Opaco y reflectividad pura
Lado izquierdo	Simetría
Paredes de cavidad trapezoidal	Opaco y reflectivo
Superficie externa de tubos	Opaco con capa selectiva

Resultados

A manera de resultados, se muestran en primera instancia las distribuciones de flujo alrededor de los tubos absorbedores. Cabe mencionar que, debido a la simetría existente en la geometría, los resultados presentados para el 3er tubo (es decir, el más cercano a la línea de simetría) corresponden de igual manera para el 2do tubo y los resultados del 4to tubo (el más cercano a las paredes de la cavidad) serán iguales para el 1er tubo absorbedor. La Figura 4 muestra la distribución de flujo alrededor del 3er tubo absorbedor, para cada uno de los valores de radiación directa establecidos.

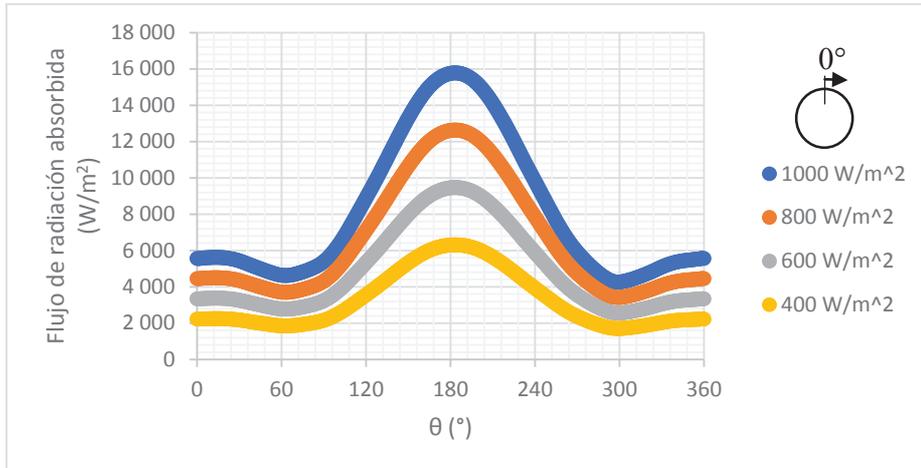


Figura 8. Distribución de flujo alrededor del 3er tubo.

Se observa que el flujo de radiación absorbida para todas las radiaciones directas tiene un máximo en alrededor de los 180 grados (parte del tubo más cercano a la entrada de la cavidad), además, se tiene dos mínimos en aproximadamente 60 y 300 grados, para este caso se nota una distribución simétrica y se obtuvo un valor promedio de radiación absorbida de 8180.2, 6547.7, 4908.1 y 3272.1 W/m^2 para la radiación incidente de 1000, 800, 600 y 400 W/m^2 respectivamente.

De igual modo, en la Figura 5 se tiene el comportamiento de la radiación absorbida alrededor del 4to tubo absorbedor para cada valor de radiación normal incidente. Para este caso, el máximo de radiación absorbida se recorrió más allá de los 180 grados, presentando un mínimo en alrededor de los 300 grados, así mismo, no se observa una simetría en el comportamiento de la distribución para todas las radiaciones normales incidentes. Los valores promedio de radiación absorbida fueron de 9042.9, 7236.2, 5425.8 y 3617.2 W/m^2 para las radiaciones directas de 1000, 800, 600 y 400 W/m^2 respectivamente.

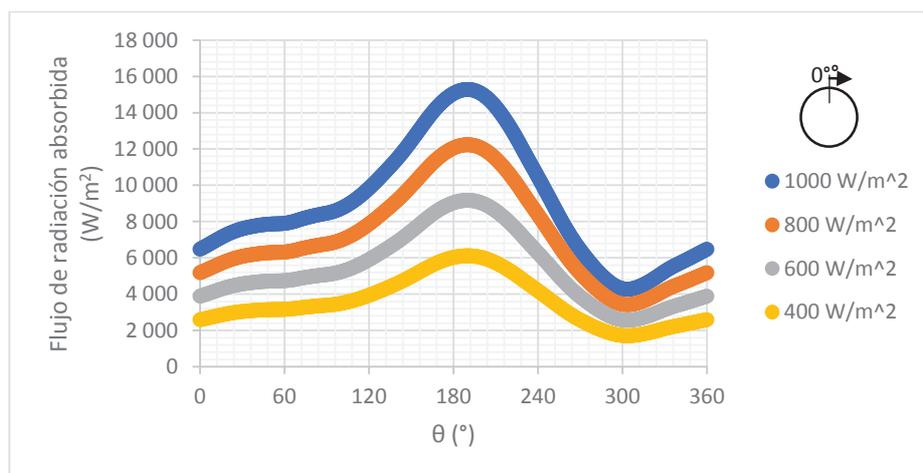


Figura 9. Distribución del flujo alrededor del 4to tubo.

Además, es observable que existe una relación directa entre la radiación normal incidente y la absorbida, es decir a menor radiación normal, menor radiación absorbida, sin embargo, en todos los casos el perfil de radiación resultante es similar en tendencia sobre la superficie del tubo.

Por último, la Figura 10 muestra el contorno de radiación incidente en las superficies de la geometría para un solo valor de radiación directa normal (1000 W/m^2), debido a que el contorno es similar para todos los demás casos con excepción de su correspondiente escala de valores.

Dicho contorno es capaz de mostrar los efectos ópticos de bloqueo y sombreado en las superficies reflectoras adyacentes, así como el efecto de concentración en el receptor, cabe mencionar que el valor máximo del contorno fue fijado en $30,000 \text{ W/m}^2$, en lugar del máximo registrado de $52,000 \text{ W/m}^2$, esto con el fin de destacar los efectos mencionados anteriormente.

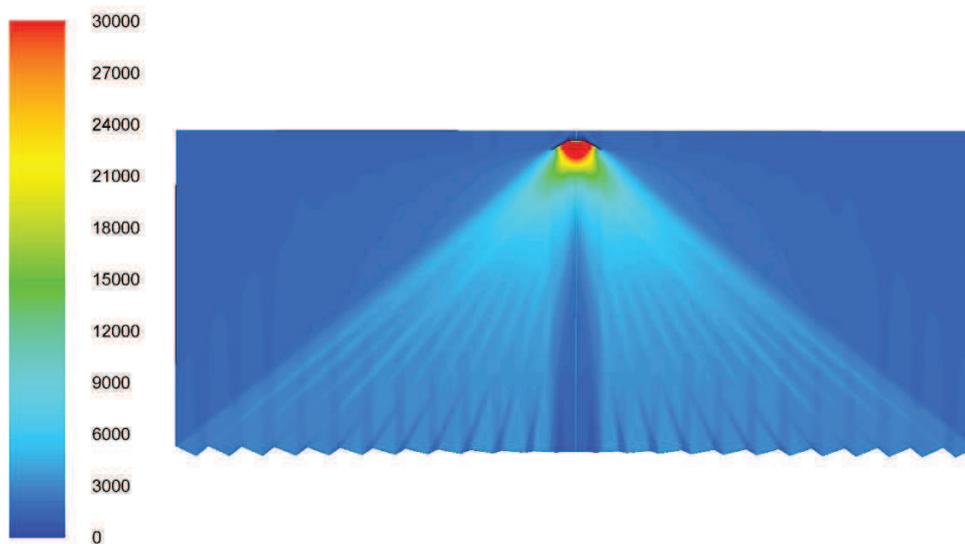


Figura 10. Contorno de radiación incidente (W/m^2)

Conclusiones

El presente trabajo muestra el modelado de un LFR a través del método numérico de volumen finito por medio del software comercial ANSYS Fluent, obteniendo con ello la distribución de flujo radiativo alrededor de los tubos absorbedores a diferentes valores de radiación directa normal, así como también el contorno de la radiación incidente a la geometría del LFR.

Este trabajo representa un primer acercamiento en el uso de volumen finito como una alternativa en el análisis de este tipo de sistemas, además, del ya conocido trazado de rayos por medio del método de Monte Carlo.

Debido a las bondades propias del método numérico y del software comercial, es posible en un futuro expandir y realizar un estudio más completo en este tipo de dispositivos como, por ejemplo: analizar el comportamiento térmico e hidráulico del fluido de trabajo, realizar un análisis en tres dimensiones del sistema, llevar a cabo un análisis en régimen transitorio, así como la aplicación de técnicas de optimización que resulten en un mejor rendimiento térmico.

El análisis en el comportamiento de dispositivos solares junto con el uso de técnicas de CFD conllevan a una disminución de recursos económicos y humanos comparado con estudios meramente experimentales, pudiendo llegar a una mejora en el rendimiento del sistema.

Bibliografía

- [1] Sansaniwal, S. K., Sharma, V. and Mathur, J., (2017) “*Energy and exergy analyses of various typical solar energy applications: A comprehensive review*”, *Renew. Sustain. Energy Rev.*
- [2] Alemán-Nava G. S., et al., (2014) “*Renewable energy research progress in Mexico: A review*”, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 32, pp. 140–153, 2014.
- [3] Kalogirou, S. A., (2004) “*Solar thermal collectors and applications*”, *Prog. Energy Combust. Sci.*, vol. 30, no. 3, pp. 231–295.
- [4] Moghimi, M. A., Craig, K. J., and Meyer, J. P. (2017) “*Simulation-based optimisation of a linear Fresnel collector mirror field and receiver for optical, thermal and economic performance*,” *Sol. Energy*, vol. 153, pp. 655–678.
- [5] Montes, M. J., Rubbia, C., Abbas, R., and Martínez-Val, J. M. (2014) “*A comparative analysis of configurations of linear fresnel collectors for concentrating solar power*” *Energy*, vol. 73, pp. 192–203.
- [6] Chaitanya Prasad, G. S., Reddy, K. S. and Sundararajan, T. (2017) “*Optimization of solar linear Fresnel reflector system with secondary concentrator for uniform flux distribution over absorber tube*” *Sol. Energy*, vol. 150, pp. 1–12.
- [7] Moghimi, M. A., Craig, K. J., and Meyer, J. P. (2015) “*A novel computational approach to combine the optical and thermal modelling of Linear Fresnel Collectors using the finite volume method*” *Sol. Energy*, vol. 116, pp. 407–427.
- [8] Bergman, T. L., Incropera, F. P., DeWitt, D. P., & Lavine, A. S. (2011). “*Fundamentals of heat and mass transfer*”. John Wiley & Sons.
- [9] Modest, M. F., (2013) “*Radiative Heat Transfer*”, Third Edition, Elsevier.

SÍNTESIS DE UN MATERIAL POLISILOXANO SULFONADO PARA FABRICACIÓN DE MEMBRANAS DE INTERCAMBIO IÓNICO CON POSIBLES APLICACIONES EN SISTEMAS DE ALMACENAMIENTO DE ENERGÍA

Guillermo Manuel González Guerra^{1*}, Martín Alejandro Alatorre Ordaz¹, Gerardo González García²

¹ Universidad de Guanajuato. Depto. de Química. Cerro de la Venada s/n, Pueblito de Rocha. C.P. 36040, Guanajuato, México. *elvis_memo@hotmail.com*

² Universidad de Guanajuato. Depto. de Química. Noria Alta s/n, Noria Alta. C.P. 36050, Guanajuato, México.

Resumen

En el presente trabajo se describe la síntesis y preparación de un material polisiloxano (PS) a partir de una reacción de policondensación, seguida de una funcionalización con HClSO_3 mediante una reacción de sustitución electrofílica. De acuerdo con las técnicas de caracterización aplicadas se obtuvo un polisiloxano sulfonado, (PSS). El propósito de estos materiales es obtener materiales que puedan ser aplicados en la fabricación de membranas para celdas de combustible de hidrógeno del tipo membrana intercambiadora de protones. La reacción para producir el precursor del polisiloxano se llevó a cabo con los reactivos comerciales: PhSiCl_3 , Ph_2SiCl_2 y Ph_3SiCl en THF anhidro a $75\text{ }^\circ\text{C}$ y el material sulfonado PSS se obtuvo por sulfonación del precursor con ácido clorosulfónico, las reacciones se hacen a diferentes tiempos de reflujo para ver como afecta en la conformación del polímero. El PS y PSS se caracterizaron mediante las técnicas NMR de ^{29}Si para sólidos, IR-ATR, ATG, DSC, SEM y voltamperometría cíclica. Los espectros de NMR ^{29}Si , muestran que el PS y PSS contienen regiones de entrecruzamiento debido al PhSiCl_3 , zonas de crecimiento de la cadena polimérica debido al Ph_2SiCl_2 y zonas de terminación del polímero debido al Ph_3SiCl obteniéndose una mezcla de siloxanos. El análisis termogravimétrico presenta estabilidad térmica del polímero, y el análisis voltamperométrico nos muestra que el PSS puede comportarse de manera similar al Nafión[®] al momento de conducir protones. Finalmente, la microscopía de depósitos del PS y PSS muestra que son materiales capaces de formar películas.

Palabras Claves: *Membranas intercambiadoras, síntesis de Polisiloxanos, sulfonación de polisiloxanos, intercambio protónico, voltamperometría cíclica.*

Introducción

Los Polisiloxanos son polímeros híbridos que pueden ser combinados con grupos funcionales orgánicos, y por esta propiedad poseen propiedades fisicoquímicas muy interesantes que los hacen atractivos en diversos campos de la ciencia, y también para aplicaciones comerciales [1-3]. El elemento estructural más importante en este tipo de polímeros híbridos a base de PS es el enlace Si-O, el cual les proporciona una considerable estabilidad térmica en comparación con los polímeros puramente orgánicos [4]; este enlace es la base también de la alta flexibilidad que generalmente presentan las estructuras combinadas con PS. La razón de esta extraordinaria flexibilidad se explica por la longitud del enlace Si-O (1.64 \AA), que es significativamente más

largo comparado con el enlace C-C de los polímeros orgánicos (1.53 Å). Como resultado, el impedimento estérico al combinar grupos funcionales con siloxanos se ve disminuido, puesto que el ángulo de enlace Si-O-Si es de aproximadamente 143°. De manera que la naturaleza del enlace y las características típicas de los grupos laterales proporcionan a la cadena una baja energía libre de superficie, lo que explica también las propiedades inusuales de este tipo de polímeros [5,6].

En el caso particular de la aplicación para membranas, existe el área de interés de las celdas de combustible a baja temperatura, denominadas celdas de combustible de membrana polimérica, o de intercambio protónico (PEMFC), objeto del desarrollo del presente trabajo. Los prototipos experimentales y los equipos comerciales más desarrollados de PEMFC utilizan como compósito y membrana el ionómero perfluorosulfónico, conocido como Nafion[®] [7,8]. Las ventajas que presenta este material son su alta estabilidad térmica y química a temperaturas moderadas, su robustez en medios ácidos, alcalinos, oxidantes o reductores, su alta conductividad de protones en membrana hidratada y su baja resistencia eléctrica. Sus principales desventajas son la baja estabilidad térmica a temperaturas superiores a los 80 °C liberando gases tóxicos y corrosivos, la pérdida de la capacidad de retención de agua y su conductividad protónica, que disminuyen con la temperatura.

Por lo tanto, se requiere del desarrollo de nuevos materiales para membrana intercambiadora de iones, y el objetivo de este trabajo fue buscar nuevos materiales que cumplan con estas exigencias de estabilidad térmica, química, alta conducción de protones y alta conductividad eléctrica, que requieren los materiales para aplicaciones en PEMFC. Dadas las interesantes propiedades fisicoquímicas de los PS, se realizó la síntesis de un polímero con características estructurales similares al Nafion[®], tomando como base un PS en la estructura principal, partiendo del uso de organoclorosilanos como materia prima, y considerando los elementos principales de la estructura del Nafion[®] que lo hacen un buen ionómero transportador de protones, a saber, una cadena principal estable fisicoquímicamente, cadenas laterales que le confieren un alto grado de entrecruzamiento, y un grupo funcional sulfónico, para el transporte de cationes en general, y de protones en particular [7,8].

Metodología

La preparación de material de polisiloxano funcionalizado (PSS) se llevó a cabo utilizando SiPhCl₃, SiPh₂Cl₂ y SiPh₃Cl, (todos ellos 99%) como precursores, Tetrahidrofurano (anhidro), metanol (99%) y aguas destiladas como solventes y HSO₃Cl (99%) para sustitución electrofílica. Todos los productos químicos fueron suministrados por Sigma Aldrich.

En un matraz de fondo redondo de tres bocas previamente purgado con nitrógeno, se disolvieron en primer lugar 0,97 g de SiPhCl₃, 5 g de SiPh₂Cl₂ y 0,56 g de SiPh₃Cl (1: 6: 1) en 90 ml de THF y se agitaron vigorosamente durante 10 minutos. Luego se agregan 85 ml de agua destilada y la solución se mantiene bajo agitación y reflujo de nitrógeno a 65 °C por diferentes tiempos (2, 12 y 24 horas). El polisiloxano (PS) se secó después durante 2 horas bajo un extractor de vacío a 75 °C. En un vaso de precipitados, el PS se disolvió lentamente en cloroformo bajo agitación durante 10 minutos. La funcionalización se llevó a cabo introduciendo HSO₃Cl (1: 1) previamente disuelto en cloroformo, gota a gota durante 30 minutos bajo agitación. La solución

resultante se mantuvo a reflujo durante 2 hr a 45 ° C, y finalmente el disolvente se extrajo y el material de polisiloxano sulfonado (PSS) se secó al vacío a 65 ° C.

PS y PSS se caracterizaron adicionalmente a través de RMN sólido ^{29}Si , FTIR-ATR, ATG-DSC, SEM retención de agua y voltametría cíclica.

Resultados

La síntesis del polisiloxano per arilado se hizo a 3 diferentes tiempos de reflujo, para observar las diferencias en la confirmación estructural del polímero, tomando en cuenta los antecedentes presentados [3]. Los resultados de las síntesis se resumen a continuación:

Tabla 1. Resumen de síntesis del polisiloxano per arilado sulfonado.

SÍNTESIS	RELACIÓN MOLAR SIPHCL ₃ , SIPH ₂ CL ₂ Y SIPH ₃ CL	RENDIMIENTO (%)	ABSORCIÓN DE AGUA (%)	TIEMPO DE REFLUJO (HRS)
1	1:6:1	81.25	19.73	2
2	1:6:1	83.42	75.16	10
3	1:6:1	83.33	71.33	25

En la caracterización estructural del material se puede observar como varia la conformación de sus unidades fundamentales (M, D y T) con respecto al tiempo de reflujo.

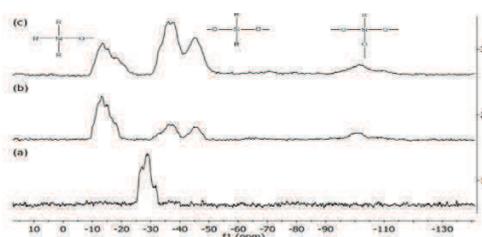


Figura 1. Espectros RMN ^{29}Si CPMAS en estado sólido del polisiloxano per-arilado, muestra 1 (reflujo 2 horas), muestra 2 (reflujo 10 horas), muestra 3 (reflujo 24 horas).

Se obtuvo el espectro IR en placas de KBr con el polímero disuelto en metanol. Donde se observa la señal RSO_3H en 1265 cm^{-1} , correspondiente a la fracción sulfonada del polímero. Lo que nos permite pensar en que se funcionalizó de manera adecuada.

La Figura 3 se muestran los resultados de la técnica ATG y DTA para el PS y para el PSS. De estas graficas podemos determinar el proceso de descomposición térmica del material; la línea punteada representa la pérdida de peso a medida que aumenta la temperatura, mientras que la línea continua representa las diferentes reacciones de descomposición del material conforme aumenta la temperatura. Donde se puede observar que arriba de los 200 °C el material presenta estabilidad térmica

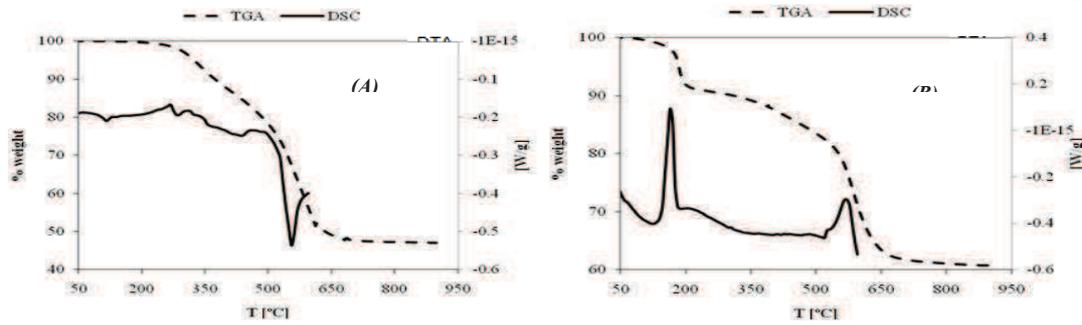


Figura 3. TGA-DTA PS y PSS de los materiales obtenidos a 24 horas de reflujo.

Mediante el análisis DSC del material PS obtenido con un tiempo de reflujo de 24 horas, se obtuvo que la temperatura de transición vítrea del polímero está por encima de los 40 °C.

A continuación, se puede observar que el material polisiloxano sulfonado se comporta de manera similar al Nafión® en el proceso de adsorción-desorción en la voltamperometría cíclica, en la superficie del electrodo de platino.

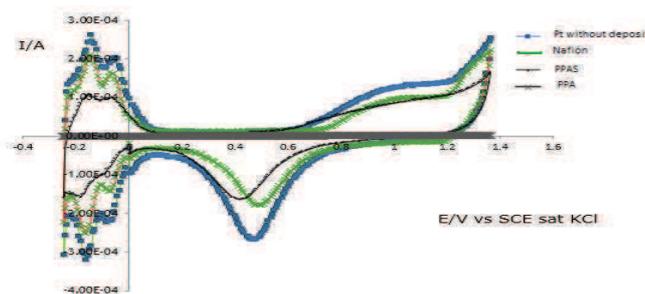


Figura 5. Curvas corriente potencial obtenida por voltamperometría cíclica para un electrodo de platino desnudo, así como su respuesta con depósitos Pt-PSS y de Pt-Nafión, en contacto con solución de H_2SO_4 0.5 M. A una velocidad de barrido de 100 mV/S y 25°C.

Por último, se presentan los resultados obtenidos al hacer la caracterización de películas en superficie de acero inoxidable de los materiales, esto con el fin de observar si son capaces de formar membranas. En la figura 6 se muestra las microscopías SEM del PS obtenido a 24 horas de reflujo y del PSS.

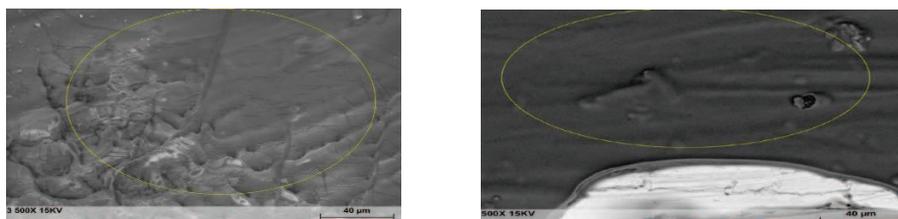


Figura 6. SEM PS y PSS en superficie de acero inoxidable.

También, se obtuvo el análisis EDS de las películas obtenidas en la superficie de acero inoxidable, para corroborar la composición de los materiales PS y PSS. Como se puede observar en la figura 7.

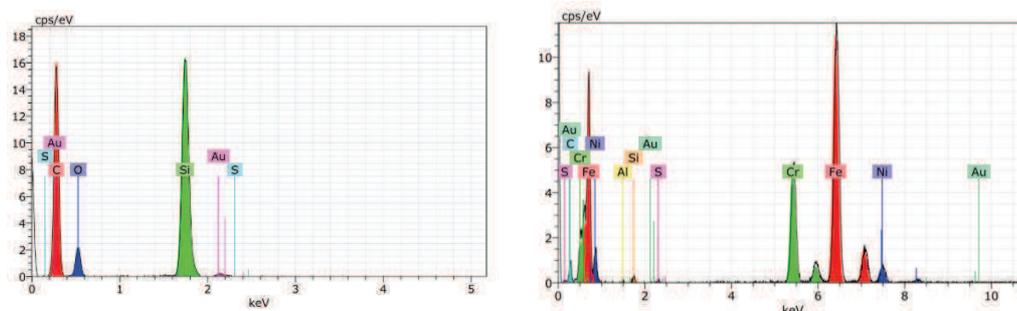


Figura 7. EDS PS y PSS.

Conclusiones

Se logró obtener una metodología para la síntesis de material polisiloxano, y también, para obtener un material sulfonado.

Se observó que el tiempo de reflujo es muy importante en el método de síntesis, ya que a mayor tiempo se obtiene un material con mejores propiedades tanto fisicoquímicas como de conducción, esto debido al entrecruzamiento que presenta el material.

Se obtuvo la caracterización térmica del material, donde se puede observar que es estable a temperaturas altas, esta propiedad es deseable en estos materiales. También, a través de la voltamperometría cíclica se observa que el material obtenido se comporta de manera similar al Nafión[®], con posible aplicación en la conducción de iones en las celdas tipo PEM.

Por último, en el análisis SEM-EDS se observa que los materiales son capaces de formar películas, lo que hace pensar que tiene propiedades plásticas interesantes.

Bibliografía

- [1] Clarson S. J., Semlyen, J. A., *Siloxane Polymers*, Ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, (1993).
- [2] Auner N., Weis J., *Organosilicon Chemistry*. Wiley –VCH: Weinheim, (1994).
- [3] Rappoport Z., Apeloig Y.; *The Chemistry of Organic Silicon Compounds*. Vol 2. Parts 1-3. Wiley, New York, (1998).
- [4] Mark, J. E. *Physical Properties of Polymers*. Cambridge University Press; Cambridge (2003).
- [5] Rehahn M., Mattice W. L., Suter, U. W.; *Adv. Polym. Sci.*, 1, (1997), 131.
- [6] Bahar I., Zuniga I., Dodge R., Maticce W. L.; *Macromolecules*, 24, (1991), 2986.
- [7] Gubler L., Kuhn H., Schmidt T. J. Scherer G. G., Brack H., Simbeck K.; *Fuel Cells*, 4, (2004), 196.
- [8] Gubler L., Gursel S. A., Scherer G. G.; *Fuel Cells*, 5, (2005), 317.

USO DE ALUMINATOS DE NÍQUEL BIOINSPIRADOS EN DETECCIÓN ELECTROQUÍMICA DE METANOL

Paloma Eloísa Ramírez Zúñiga^a, Christian Gómez Solís^b, Rosalba Fuentes Ramírez^a, Rosario Galindo González^{b,c}

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

^b Departamento de Física Médica, División de Ingenierías, Universidad de Guanajuato, Lomas del Bosque No. 103, Col. Lomas del Campestre, C.P. 37150, León, Guanajuato, MÉXICO.

^c Cátedras CONACYT División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Académica asignada, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, C.P. 36050, MÉXICO.

Resumen

En el presente trabajo, se sintetizaron aluminatos de níquel usando el método Pechini modificando su morfología con plantillas naturales: *Helianthus annuus* (girasol), *Leucaena leucocephala* (mimosa blanca) y *Blattodea* (cucaracha). Los materiales fueron caracterizados con Difracción de Rayos X (DRX), Microscopía Electrónica de Transmisión (MET), Espectroscopía de Reflectancia Difusa (ERD), Fisisorción de Nitrógeno, Voltimetría Cíclica y Cronoamperometría. Se obtuvieron cambios en el valor del band gap óptico, área superficial, y se evaluaron para la detección electroquímica de metanol.

Palabras clave: *Aluminatos de níquel, bioinspirados, Pechini, metanol, sensor.*

Introducción

Los aluminatos de níquel se han estudiado debido a su potencial como materiales termo y fotoluminiscentes, y su alta estabilidad mecánica, térmica y química para aplicaciones tecnológicas sensores [1,2]. Algunos de los métodos de síntesis que se han estudiado para estos materiales son: sol-gel [3], sol-gel Pechini [4,5], combustión [6], coprecipitación [1] y reacción en estado sólido [7]. Los métodos basados en soluciones proporcionan rutas simples y económicas para generar estructuras biorreplicadas, son rápidos, económicos y ampliamente aplicables. El método de biorreplicación basado más usado es el sol-gel [8]. El método Pechini es de tipo sol gel que utiliza la síntesis homogénea de componentes múltiples, que incluye un proceso combinado de formación de complejos metálicos y polimerización orgánica in situ. Se requieren sales metálicas comunes como precursores, como el ácido cítrico para la quelación de iones metálicos y un polialcohol como el etilenglicol, que ayuda a formar una resina polimérica a nivel molecular con alta porosidad y alta energía superficial [9].

Varios aluminatos han sido estudiados para la detección de diferentes sustancias: $MgAl_2O_4$ para sensor de humedad [10], $LiAl_5O_8-Cr^{3+}$ para sensor de temperatura [11], $CoAl_2O_4$ para sensor de CO_2 [12], $CuAl_2O_4-Sr$ para compuestos orgánicos volátiles (compuestos orgánicos volátiles) [13], $CoAl_2O_4-Sr$ sensor de alcoholes (metanol, etanol, isopropanol y butanol) [13] y $(Sr, Ni) Al_2O_4$ sensor de benceno y tolueno [3].

Las propiedades de los compuestos dependen en gran medida de la microestructura [3], ésta se puede modificar por el método de síntesis, variando condiciones como la temperatura de reacción y calcinación, relación molar entre reactivos, haciendo mezclas con otros elementos, dopando el material o tratando de imitar la morfología de alguna estructura natural. Se ha demostrado que en la plantilla natural se unen y definen perfectamente las estructuras en niveles bien elaborados, que resultan en materiales con alta porosidad, alta conectividad y áreas superficiales grandes para el transporte de materia [14].

La bioinspiración es duplicar los diseños que hay en la naturaleza en productos y tecnologías para los seres humanos. Los materiales de la naturaleza revelan una estrecha relación con las funciones de conversión, captura, transporte y almacenamiento de energía por ello el uso de estas estructuras como plantillas para desarrollar materiales avanzados nos da un nuevo método para mejorar las propiedades de los materiales [8,15].

Algunas plantillas naturales en las que se han inspirado para la síntesis de materiales son las alas de mariposa [16], la cáscara de toronja [17], membranas de huevo [18,19], algodón [20].

En este trabajo se sintetizaron aluminatos de níquel usando plantillas de *Leucaena leucocephala* (mimosa blanca), *Helianthus annuus* (girasol) y *Blattodea* (cucaracha) por medio del método sol-gel Pechini. Estos compuestos fueron evaluados en la detección electroquímica de metanol.

Metodología

Las plantillas naturales utilizadas fueron: de la Mimosa blanca se usaron las hojas (MA), los capullos (MC) y las cabezuelas (MD); del Girasol, las hojas (GA), los pétalos (GB) y el centro de la flor (GC), y de la Cucaracha, solo las alas (CA). Cada parte de la plantilla se separó, se lavó con agua destilada y etanol en baño ultrasónico durante 20 minutos. Se secó a temperatura ambiente por 24 horas y después se usó de tamaño normal. Para las síntesis se utilizó el método sol-gel Pechini. En una mezcla de etanol y agua desionizada se agregaron en el siguiente orden los reactivos: la plantilla natural, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ y ácido cítrico. La mezcla se agitó y calentó a una temperatura de 70 °C para agregar el etilenglicol y llevar la mezcla hasta una temperatura final de 90°C. El sólido final se calcinó a 1100 °C por 2h con una rampa de 10°C/min en una mufla. Los aluminatos de níquel fueron etiquetados como: Ni-MA, Ni-MC, Ni-MD, Ni-GA, Ni-GB, Ni-GC de acuerdo con la plantilla natural usada y Ni-0 (sin plantilla).

Para el análisis de Difracción de Rayos X se utilizó el equipo Miniflex de Rigaku usando radiación $\text{Cu K}\alpha$ a $\lambda = 0.15406$ nm. El tamaño del cristal (τ) fue calculado usando la ecuación de Debye-Scherrer: $\tau = 0.9\lambda / B \cos\theta$ donde λ , B y θ son la longitud de onda de radiación de los rayos X, la anchura a media altura del pico máximo de refracción y el ángulo de difracción de Bragg, respectivamente. Las microscopías electrónicas de transmisión fueron obtenidas con el equipo JEOL-1010. Las isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno fueron medidas a -195.8 °C con el equipo Micromeritics Tristar II Plus. El área superficial y el diámetro promedio de poro fueron estimados por medio de los métodos Brunauer-Emmet-Teller (BET) y Barret-Joyner-Halenda (BJH) respectivamente. El valor del band gap óptico fue obtenido por medio de los gráficos de Tauc usando los espectros de reflectancia difusa del espectrofotómetro Avaspec-2048L. Las pruebas electroquímicas fueron hechas en el potenciostato Bio-Logic modelo SP-150, con una

celda de tres electrodos: Ag/AgCl 3M como electrodo de referencia, alambre de platino como contraelectrodo y como electrodo de trabajo se utilizó una película de aluminato de níquel sobre vidrio FTO (óxido de estaño dopado con flúor).

Resultados

Los patrones DRX de aluminatos de níquel bioinspirados se muestran en la Figura. 1 [21], y el rango de 2θ es de 20-70 °. Se puede ver que los patrones de los materiales sintetizados indican que no hay una diferencia significativa entre cada uno de ellos, lo que implica que la plantilla no modifica la estructura del compuesto. Asimismo, se observa que algunos de los materiales tienen impurezas de óxido de níquel. Cuando las alas de la cucaracha se utilizaron como plantilla, no se detectó la formación de óxido de níquel, por lo que su uso ayudó a mejorar la pureza del aluminato de níquel. Los resultados muestran una gran concordancia con el archivo de datos estándar JCPDS 01-081-0718 y su sistema cristalino es cúbico centrado en las caras. El rango de tamaño obtenido de los cristales de aluminatos de níquel es 10-27 nm (Tabla 1), lo que muestra que el uso de las plantillas en la síntesis modificó el tamaño del material.

Las micrografías MET de los cristales de aluminato de níquel sintetizado se muestran en la Figura. 2 [21]. En los aluminatos con plantilla las partículas se definen mejor con un tamaño aproximado de 20 nm con una forma cúbica y la aglomeración de las partículas disminuyó debido a la presencia de la plantilla natural durante el proceso de síntesis.

EL área superficial fue obtenida por medio del método BET y el valor de la Energía de banda prohibida se obtuvo con los datos de Reflectancia difusa, en la Tabla 1 [21] se muestran los resultados para cada compuesto. La plantilla ayudó a aumentar el área superficial, disminuir el valor del band gap y a disminuir el tamaño del cristal.

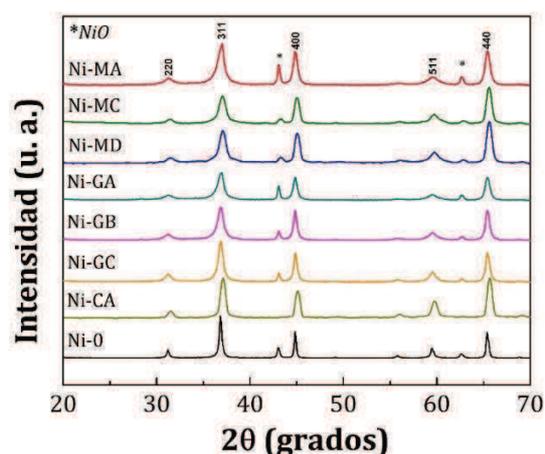


Figura 1. Difractogramas de los aluminatos de níquel bioinspirados.

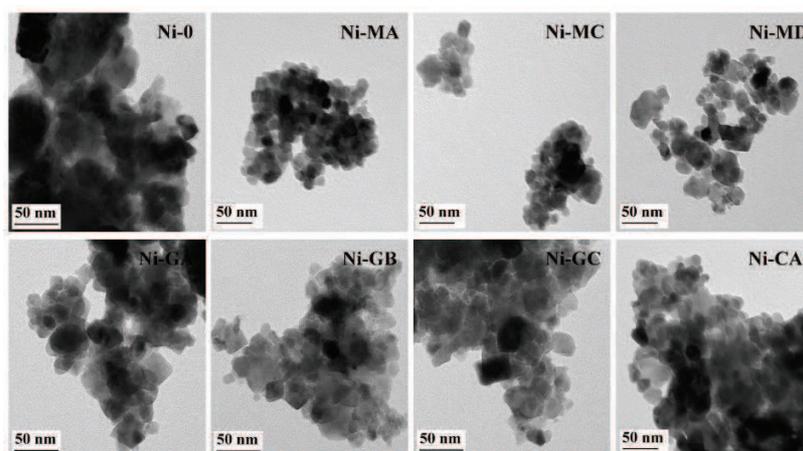


Figura 2. Micrografías MET de los aluminatos de níquel bioinspirados.

Tabla 6. Valores del tamaño de cristal, energía de banda prohibida y área superficial BET para los aluminatos de níquel bioinspirados.

Compuesto	Tamaño de cristal (nm)	Energía de banda prohibida E_g (eV)	Área superficial BET (m^2/g)
Ni-0	27.0	3.38	5.71
Ni-MA	10.5	3.29	17.70
Ni-MC	12.0	3.32	25.18
Ni-MD	12.3	3.26	24.41
Ni-GA	11.2	3.09	19.47
Ni-GB	11.6	3.31	29.80
Ni-GC	14.4	3.21	25.12
Ni-CA	19.5	2.95	12.65

La capacidad de los aluminatos sintetizados en la detección de pequeñas concentraciones de metanol se evaluó mediante la técnica de voltametría cíclica y cronoamperometría. Con la voltametría cíclica se obtuvo el voltaje en el cual se presenta el pico de oxidación de metanol y con las cronoamperometrías se probó si se obtenía una relación lineal entre la concentración de metanol y la corriente. En la Figura. 3 se muestran los gráficos para el compuesto con el mayor rango de detección y buena sensibilidad. Un ajuste lineal dio un coeficiente de correlación de 0.9941. El aluminato de níquel sintetizado con el centro del girasol (Ni-GC) dan resultados alentadores para continuar con el estudio de detección de metanol.

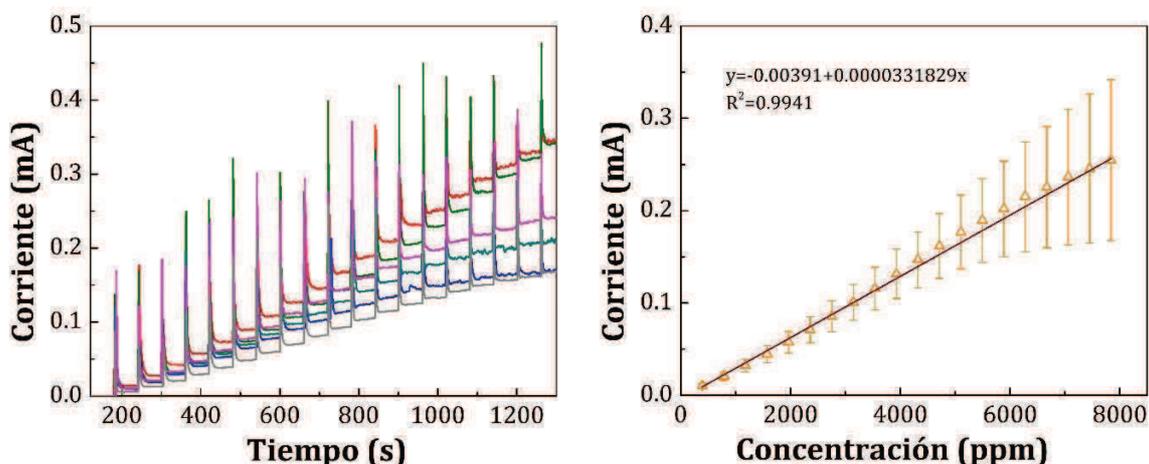


Figura 3. Cronoamperometrías del aluminato Ni-GC con adiciones de 10 microlitros de metanol y la curva de calibración.

Conclusiones

Se sintetizaron aluminatos de níquel tipo espinela bioinspirados en plantillas naturales. Se obtuvieron compuestos con mayor área superficial, menor tamaño de cristal y menor valor del band gap óptico. Se evaluaron en sensores electroquímicos de metanol logrando buena sensibilidad en un rango aceptable en el aluminato de níquel con plantilla del centro de girasol.

Bibliografía

- [1] Hasan M, Drazin J, Dey S and Castro R H R 2015 Synthesis of stoichiometric nickel aluminate spinel nanoparticles *Am. Mineral.* **100** 652–7
- [2] Jeevanandam P, Koltypin Y and Gedanken A 2002 Preparation of nanosized nickel aluminate spinel by a sonochemical method *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.* **90** 125–32
- [3] Vijaya J J, Kennedy L J, Sekaran G and Nagaraja K S 2007 Sol-gel derived (Sr,Ni)Al₂O₄ composites for benzene and toluene sensors *Mater. Lett.* **61** 5213–6
- [4] Chai Y L, Chang Y S, Chen G J and Hsiao Y J 2008 The effects of heat-treatment on the structure evolution and crystallinity of ZnTiO₃ nano-crystals prepared by Pechini process *Mater. Res. Bull.* **43** 1066–73
- [5] Gaki A, Perraki T and Kakali G 2007 Wet chemical synthesis of monocalcium aluminate *J. Eur. Ceram. Soc.* **27** 1785–9
- [6] Ragupathi C, Vijaya J J, Surendhar P and Kennedy L J 2014 Comparative investigation of nickel aluminate (NiAl₂O₄) nano and microstructures for the structural, optical and catalytic properties *Polyhedron* **72** 1–7
- [7] Goto T, He G, Narushima T and Iguchi Y 2003 Application of Srh-alumina solid electrolyte to a CO₂ gas sensor *Solid State Ionics* **156** 329–36
- [8] Risbud A S and Bartl M H 2013 Solution-Based Techniques for Biomimetics and Bioreplication *Eng. Biomimicry* 359–82
- [9] Monrós G, García A, Bandenes J A and Tena M Á 2003 *EL COLOR DE LA CERAMICA: Nuevos mecanismo en pigmentos para los nuevos procesados de la industria cerámica* ed Publicacions de la Universitat Jaume I (Castellón, España)
- [10] Arai H and Seiyama T 1985 School of Engneermg *Sens. Actuators* **7** 11–22
- [11] Li X, Jiang G, Zhou S, Wei X, Chen Y, Duan C K and Yin M 2014 Luminescent properties of chromium(III)-doped lithium aluminate for temperature sensing *Sensors Actuators, B Chem.* **202** 1065–9
- [12] Morán-Lázaro J P, Blanco O, Rodríguez-Betancourt V M, Reyes-Gómez J and Michel C R 2016 Enhanced

- CO₂-sensing response of nanostructured cobalt aluminate synthesized using a microwave-assisted colloidal method *Sensors Actuators, B Chem.* **226** 518–24
- [13] Judith Vijaya J, John Kennedy L, Sekaran G, Meenakshisundaram A, Thinesh Kumar R, Amalathi P and Nagaraja K S 2008 Alcohol sensing properties of sol-gel prepared Sr(II)-added cobalt aluminate spinel composites *Sensors Actuators, B Chem.* **129** 741–9
- [14] Coppens M O 2012 A nature-inspired approach to reactor and catalysis engineering *Curr. Opin. Chem. Eng.* **1** 281–9
- [15] Fratzl P and Weinkamer R 2007 Nature's hierarchical materials *Prog. Mater. Sci.* **52** 1263–334
- [16] Chen J, Su H, Song F, Moon W J, Kim Y S and Zhang D 2012 Bioinspired Au/TiO₂ photocatalyst derived from butterfly wing (*Papilio Paris*) *J. Colloid Interface Sci.* **370** 117–23
- [17] Zhang C, Wang J, Hu R, Qiao Q and Li X 2016 Synthesis and gas sensing properties of porous hierarchical SnO₂ by grapefruit exocarp biotemplate *Sensors Actuators, B Chem.* **222** 1134–43
- [18] Camaratta R, Orozco Messana J and Pérez Bergmann C 2015 Synthesis of ZnO through biomimetization of eggshell membranes using different precursors and its characterization *Ceram. Int.* **41** 14826–33
- [19] Dong Q, Su H, Zhang C, Zhang D, Guo Q and Kiessling F 2008 Fabrication of hierarchical ZnO films with interwoven porous conformations by a bioinspired templating technique *Chem. Eng. J.* **137** 428–35
- [20] Cai B, Zhao M, Ma Y, Ye Z and Huang J 2014 Bio-inspired formation of mesoporous LiNbO₃ nanotubes and application for glucose biosensor *Electrochim. Acta* **147** 176–82
- [21] Zúñiga P E R, Solís C G, Ramírez R F and González R G 2018 Influence of natural templates in the synthesis of nickel aluminate and the evaluation in methanol detection *Mater. Res. Express*

UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



Campus Guanajuato | División de Ciencias
Naturales y Exactas



DCNE Semana de
Innovación,
Emprendimiento
e Investigación