



TOMO LXXIV

APRIL - JUNE

AFINAE 74 (578)

p. 81- 157

ISSN 0001 - 9704 ISSN Electronic version 2339-9686

AFINIDAD
2017

AFINIDAD

578

*Journal of Chemical
Engineering, theoretical and
applied chemistry*

EDITED BY

AIQS
N.I.F. G-08392128
© AIQS, 2017

DIRECTOR

Joan O. Grimalt

EDITORIAL BOARD

Joan Genescá Llongueras
Antoni Ginebreda Martí
Raquel Otero Rodríguez
Laia Ros Blanco
Jordi Teixido Closa

**DRAFTING, ADMINISTRATION
AND ADVERTISING**

Vía Augusta, 380
08017 Barcelona
Tel. 93 267 20 12
Fax 93 280 42 76
afinidad@aiqs.eu
http://www.aiqs.eu

DESIGN AND PRINTING

TORMIQ, S.L.
Major de Sarrià 139
08017 Barcelona
Tel. 93 203 36 98
Fax 93 203 35 12
info@tormiq.com
http://www.tormiq.com

SP - ISSN 0001 - 9704
D.L.B. 460 - 1958

ISSN electronic version 2339-9686

PERIODICITY

4 issues per year



MONGAY, S.A.
FÁBRICA DE PINTURAS, BARNICES Y PRODUCTOS AFINES
Fundada el 9 de mayo de 1917

Miquel Romeu 110-112
08907 L'HOSPITALET - BARCELONA
Tel. 93 337 06 43 Fax. 93 337 29 23
www.mongay.net
mongay@mongay.net

REAL, CINCO AROS, ROYALINA, MUNDIAL, SOL Y TIERRA, NUVODUR, EPOXIDUR, IMPERIAL, MONGAY, GO-GAY, TURIA, HUMO-FIX, BEL-PLAST, UNIMIX, TONO-PLAST

Son un ejemplo de marcas registradas de prestigio internacional



AFINIDAD

JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING,
THEORETICAL AND APPLIED CHEMISTRY
EDITED BY AIQS

Vía Augusta, 380
Tel. 93 267 20 12 - Fax 93 280 42 76
afinidad@aiqs.eu - www.aiqs.es
08017 Barcelona



SERVICIO DE DOCUMENTACION

Vía Augusta, 390 - 08017 Barcelona
Tel. 93 267 20 00 - Fax 93 205 62 66

BÚSQUEDAS BIBLIOGRÁFICAS RETROSPECTIVAS
DIFUSIÓN SELECTIVA DE LA INFORMACIÓN
SINTESIS BIBLIOGRÁFICAS
SUMINISTROS DE DOCUMENTOS ORIGINALES

SUMMARY

AFINIDAD 578

Structural implications of the DFD-in domain in computer-aided molecular design of MAP kinase interacting kinase 2 inhibitors by E. Bou-Petit, J.I. Borrell, S. Ramón y Cajal and R. Estrada-Tejedor

Implicaciones estructurales del dominio DFD-in en el diseño molecular de inhibidores de la proteína MAP kinase interacting kinase 2.

Implicacions estructurals del domini DFD-in en el disseny molecular d'inhibidors de la proteïna MAP kinase interacting kinase 2

83

Production of sub-micron emulsions formulated with two biosolvents and three different ecological surfactants, by L.A. Trujillo-Cayado, M.C. Alfaro and J. Muñoz

Producción de emulsiones submicrónicas formuladas con dos biosolventes y tres tensioactivos ecológicos diferentes

Producció d'emulsions submicròniques formulades amb dos biosolvents i tres tensioactius ecològics diferents

90

A theoretical study of the mechanism of rearrangement of dihydropyrimidines into pyrroles, by A. de la Hoz, I. Alkorta and J. Elguero

Estudio teórico del mecanismo de transposición de dihidropirimidinas a pirroles

Estudi teòric del mecanisme de transposició de dihidropirimidines a pirròls

97

Characteristics of activated carbons modified with agents chelating for toxic metal adsorption from solution aqueous, by Sergio Acevedo, Liliana Giraldo and Juan Carlos Moreno-Piraján

Caracterización de carbones activados modificados con agentes quelantes para la adsorción de metales tóxicos en solución acuosa

Caracterització de carbons activats modificats amb agents quelants per a l'adsorció de metalls tòxics en solució aquosa

101

Kinetic study of spontaneous deposition process of molybdenum oxides, by P.A. Lazo and A. P. Lazo

Estudio cinético del proceso espontáneo de deposición de los óxidos de molibdeno

Estudi cinètic del procés espontani de deposició de òxids de molibdè

108

Removal of phenol, p-nitrophenol and p-chlorophenol from activated carbon chemically with sulfuric acid from lignocellulosic waste material: Effect of the concentration of activating agent, N.G. Rincon-Silva, J.C. Moreno-Piraján and L. Giraldo

Remoción de fenol, p-nitrofenol y p-clorofenol desde carbones activados químicamente con ácido sulfúrico desde material lignocelulósico de desecho: Efecto de la concentración del agente activante

Avaluació d'alternatives fotomètriques per a l'anàlisi de diòxid de clor en aigües: amarant i vermell de clorofenol

112

Machine learning based multiclassifiers as a neurotoxicity estimation tool for ionic liquids, by R. Domínguez-López, L.C. Avilade-la-Cruz, F. Borges, M.N.D.S. Cordeiro, C. Paz-y-Miño, E. Tejera, Y. Pérez-Castillo, A. Sánchez-Rodríguez, Y. Perera-Sardiña and M. Cruz-Monteagudo

Multiclasificadores basados en aprendizaje automático como herramienta para la evaluación del perfil neurotóxico de líquidos iónicos

Multiclassificadors basats en l'aprenentatge automàtic com a eina per a l'avaluació del perfil neurotòxic de líquids iònics

124

Exergy analysis of integrated sceneries to ethanol and other products production from sugar cane, by M. González Cortés, S. Herrera Álvarez, Y. Martínez Martínez, Y. Albernas Carvajal, M. Morales Zamora and V.M. González Morales

Análisis exergético de escenarios integrados de producción de etanol y otros productos a partir de la caña de azúcar

Anàlisi exergètic d'escenaris integrats de producció d'etanol i altres productes a partir de la canya de sucre

134

A new hybrid: Artesunate-Tumacona B, by M. B. Niebles, J. G. Arroyave, S. T. Blair and N. Restrepo-Sánchez

Nuevo híbrido Artesunato-Tumacona B

Nou híbrid Artesunat-Tumacona B

141

Tensile properties of LDPE/electrical cable waste blends prepared by melt extrusion process by E.A. Franco-Urquiza, N. Camacho and M.LI. Maspocho

Propiedades de resistencia a la tracción de las mezclas de residuos de LDPE/cables eléctricos, preparadas mediante el proceso de extrusión por fusión

Propietats de resistència a la tracció de mesclades de residus de LDPE/cables elèctrics, preparats per mitja del procés de extrusió per fusió

147

General Information

154

Tecnical Information

156

Structural implications of the DFD-in domain in computer-aided molecular design of MAP kinase interacting kinase 2 inhibitors.

P. Salvador Gil 2015 Award in Chemistry (November 27th, 2015 in the Annual General Assembly of the AIQS)

E. Bou-Petit¹, J.I. Borrell¹, S. Ramón y Cajal² and R. Estrada-Tejedor^{1,*}

¹Grup d'Enginyeria Molecular, IQS School of Engineering, Universitat Ramon Llull. Via Augusta 390, 08017 Barcelona, Catalonia, Spain. ²Department of Pathology, Vall d'Hebron University Hospital, Universitat Autònoma de Barcelona, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain

Implicaciones estructurales del dominio DFD-in en el diseño molecular de inhibidores de la proteína MAP kinase interacting kinase 2.

Implicacions estructurals del domini DFD-in en el disseny molecular d'inhibidors de la proteïna MAP kinase interacting kinase 2.

RECEIVED: 17 FEBRUARY 2017. ACCEPTED: 31 MAY 2017

SUMMARY

Protein translation is a key process on cell development and proliferation that is often deregulated in cancer. MAP kinase interacting kinases 1 and 2 (Mnk1/2) play a pivotal role in regulating the cap-dependent translation through phosphorylation of eIF4E transcription factor. Thus, Mnk1/2 targeting have been proposed as a novel therapeutic strategy that would minimize side-effects in contrast to other therapies. For this reason, there is a growing interest in designing *in silico* new Mnk1/2 inhibitors which demands from reliable structural models. Interestingly, the catalytic domain of Mnk proteins are characterized by a DFD motif instead of the characteristic DFG motif of other kinases. However, Mnk2 structural models described in literature are DFG mutated and do not contain the activation loop. Molecular design techniques have been applied to obtain a structural model of the full wildtype Mnk2 protein including the activation loop. The effect of the loop on the interaction mechanism of well-known ligands has been evaluated. Obtained results suggest that the presence of the activation loop is determinant for the correct prediction of the active site and it is essential for the design of new inhibitors.

Keywords: Drug design; MNK2 inhibition; molecular docking.

RESUMEN

La traducción de proteínas es un proceso clave para el desarrollo y la proliferación celular que se encuentra desregulado en muchos cánceres. Las proteínas MAP kinase interacting kinases 1 and 2 (Mnk1/2) juegan un papel fundamental en la traducción *cap*-dependiente regulando la fosforilación del factor eIF4E y se han postulado como una diana terapéutica de gran interés para intentar minimizar los efectos secundarios de las terapias convencionales. Por este motivo, hay un interés creciente en el diseño *in silico* de nuevos inhibidores de Mnk1/2 que, en consecuencia, requiere de modelos estructurales fiables. El dominio catalítico de las proteínas Mnk presenta un motivo DFD que sustituye el motivo DFG característico de las proteínas quinasas. Sin embargo, en el caso particular de la Mnk2, los modelos estructurales disponibles en la bibliografía presentan la mutación DFG y les falta el *loop* de activación. Mediante técnicas de diseño molecular se ha obtenido un modelo completo de la proteína Mnk2 *wildtype* que incluye el *loop* de activación y se ha evaluado el efecto de éste sobre el mecanismo de interacción de ligandos conocidos. Los resultados obtenidos indican que la presencia del *loop* de activación es determinante para la correcta identificación del centro activo y se considera esencial para el diseño de nuevos inhibidores.

*Corresponding author: roger.estrada@iqs.url.edu

Palabras clave: Diseño de fármacos; inhibición de MN2; docking molecular.

RESUM

La traducció de proteïnes és un procés clau per al desenvolupament i la proliferació cel·lular que es troba desregulat en molts càncers. Les proteïnes MAP kinase interacting kinases 1 and 2 (Mnk1/2) juguen un paper fonamental en la traducció cap-depenent mitjançant la fosforilació del factor eIF4E i han esdevingut una diana terapèutica de gran interès per intentar minimitzar els efectes secundaris de teràpies convencionals. Per aquest motiu, hi ha un interès creixent en el disseny *in silico* de nous inhibidors de Mnk1/2 que, en conseqüència, requereix de models estructurals fiables. El domini catalític de les proteïnes Mnk presenta un motiu DFD que substitueix el característic motiu DFG de les proteïnes cinases. No obstant, en el cas particular de la Mnk2, els models estructurals disponibles en la bibliografia presenten la mutació DFG i els manca el *loop* d'activació. Mitjançant tècniques de disseny molecular s'ha obtingut un model complet de la proteïna Mnk2 *wildtype* que inclou el *loop* d'activació i s'ha avaluat l'efecte d'aquest sobre el mecanisme d'interacció de lligands coneguts. Els resultats obtinguts indiquen que la presència del *loop* d'activació és determinant per a la correcta identificació del centre actiu i es considera essencial pel disseny de nous inhibidors.

Paraules clau: Disseny de fàrmacs; inhibició de MNK2; docking molecular.

INTRODUCTION

Overexpression of the components of the translation initiation machinery has been correlated to malignant transformation. The limiting eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E) was found to be up-regulated in most human cancers¹ and has been related to poor prognosis². Overexpression of eIF4E increases the translation of mRNAs with a structured 5' untranslated region (5' UTR) which are usually translated with low efficiency as they include transcription factors, growth factors, receptors and tyrosine kinases²⁻⁶.

The mitogen-activated protein kinase (MAPK) interacting protein kinases (Mnks 1/2) are serine/threonine kinases that regulate the activity of proteins involved in diverse cellular functions through phosphorylation. Mnk inhibition decreases the levels of phosphorylated eIF4E and attenuates the expression of mRNA involved in cell proliferation becoming a potential strategy for the treatment of many cancers. Interestingly, experimental studies on Mnk1/2 knockout mice conclude that eIF4E phosphorylation is crucial for tumorigenesis but dispensable for normal cell development⁷.

Design of new inhibitors to target Mnk proteins has become an interesting starting point for search of novel cancer therapies. In this regard, molecular modelling

techniques have risen as an effective strategy to guide the drug design process. Unfortunately, limited data is available on known inhibitors commonly used as reference for drug design (Figure 1). Moreover, these molecules are planar heterocyclic systems that mimic the adenine moiety of ATP in order to act as ATP competitors and, therefore, present a low specificity for Mnks. In view of the lack of ligand-based information, structural information about the receptor becomes mandatory to allow the application of structure-based drug design.

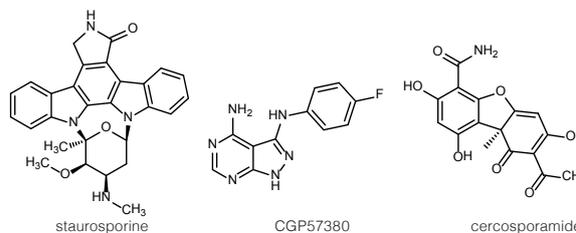


Figure 1. Molecular structure of known Mnk1/2 inhibitors taken as reference in this study.

Molecular structure of Mnk proteins has a strong resemblance to other protein kinases; they have a bilobed arrangement in which the N-terminal lobe contains the regulatory α -helix (α C), a twisted sheet of five antiparallel β -strands and a highly flexible glycine-rich loop which plays a key role in the ATP binding. The C-terminal lobe mainly consists on hydrophobic α -helical bundles and contains the elements required for phosphate transfer and for peptide substrate binding, including the activation loop. Interestingly, the ATP binding pocket is an hydrophobic cleft found abutting the hinge region. Both Mnk1/2 present a 80% identity of the active site despite the N-terminal lobe of Mnk1 is inclined 10° leaving a slightly more closed binding site⁸. However, Mnks present two unique features in contrast to tyrosine kinases^{4,11} consisting of (1) an specific insert in the catalytic domain (EAFSE in Mnk2) that seems to promote their activation or to guide the substrate recognition and (2) the replacement of the conserved DFG-motif for a particular DFD-motif (Figure 2).

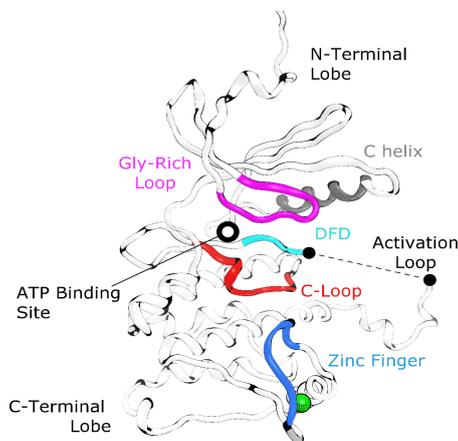


Figure 2. General structure of the Mnk2 catalytic domain. The dotted line indicates that the activation loop has not been experimentally solved yet.

DFD-motif is abutting the activation loop, which controls the binding of the ligand due to steric hindrance. In absence of ligands, Mnk2 adopts an inactive conformation (referred as the DFD-out conformation), sticking Phe227 into the ATP binding pocket and blocking the access to the binding site. When activated, the Phe227 leaves the hydrophobic pocket and flips clockwise about 180°. During this process, the salt bridge between Asp226 and Lys234 found on the DFD-out conformation is broken and a new salt bridge between Asp226 and Lys113 is formed (DFD-in conformation)¹⁰.

To the best of our knowledge, the crystal structure of the wildtype (wt) Mnk2 protein presenting the DFD-in active conformation has not been described yet, and it is only available for the DFD-out conformation (PDB ID: 2AC3⁹). Most of the studies reported in literature are leaned on crystallographic structures of D228G Mnk2 mutants¹²⁻¹⁵ (PDB ID: 2HW7⁹, 2AC5⁸), considering that this mutation affects the conformation of Mnk2, but not the ATP binding and its kinase activity⁸. Noteworthy, none of the crystallographic models mentioned include information about the activation loop, thus it is usually neglected. This would lead to an over-simplistic model, particularly when molecular dynamics simulations suggested that DFD flip is directly associated with conformational changes in the activation loop^{10, 16}.

In this study we have applied molecular modeling techniques to generate an structural model of Mnk2 DFD-in conformation including the activation loop. Having available the three dimensional structure of Mnk2 protein allows the design of new inhibitors through the application of Structure-Based Drug Design (SBDD) methodologies. Moreover, the effect of the activation loop has been evaluated by predicting the interaction mechanism of well-known Mnk2 inhibitors (i.e. staurosporine, cercosporamide and CGP57380, see Figure 1) by means of molecular docking.

Computational details

Modelling the activation loop of the Mnk2 DFD-in conformation

Structure of the Mnk2 D228G mutant in the active conformation (PDB ID: 2HW7) was downloaded from the PDB and prepared by using Molecular Operating Environment (MOE2014.09¹⁷). Hydrogen atoms were added, minimized and protonation states were assigned, and crystallographic waters were removed.

This structure was used as reference to generate two additional structural models: (1) a model without the activation loop, obtained by manually removing the residues of the DFD-motif (D226-G228) included in 2HW7 and (2) a second model of the wildtype Mnk2 protein including the activation loop in the active conformation. To generate the latest model, residue G228 was de-mutated to recover the wildtype sequence. The tertiary structure of the activation loop (involving L229-C251 residues) was predicted *de novo* by applying the loop modeler module available in MOE. All calculations were conducted using the Amber12 forcefield. The best loop candidate was se-

lected and energy minimized by molecular dynamics (MD) simulations, using AMBER software¹⁸, to obtain the final model. Amber ff13 forcefield was used for the parameters of standard amino acids. The system was subjected to a first minimization including a 5000-step minimization of TIP3P water molecules followed by a 20000-step energy minimization of the entire system. The system was therefore heated to 300 K in 200 ps using the Langevin thermostat restraining the backbone atoms except the loop atoms using an 8 kcal·mol⁻¹·Å⁻² force constant. Pressure equilibration (1 atm) was performed for 1000 ps maintaining the restraints previously described. The SHAKE algorithm¹⁹ was used throughout to restrain the bonds involving hydrogens and the Particle Mesh Ewald²⁰ method for long range electrostatic, while the short range interactions had a 10 Å cutoff radius. The production phase was extended to 20 ns defining a 2 fs time-step.

Molecular docking

Molecular docking was performed using AutoDock 4 and AutoDock Tools²¹ on a 1.80 GHz Intel® Core™ i5-3337U processor with 4 GB RAM. A 126x126x126 Å grid was defined to perform a blind docking. Genetic Algorithms (GA) were used as docking search method, fixing the number of GA runs to 200, defining a population size of 500 and a maximum number of 2500000 evaluations. Evaluation of the results is performed by cluster analysis. Alternatively, MOE 2014.09 software was applied to include a flexible receptor into docking procedure (i.e. induced fit protocol). Docking poses are generated using the triangle matcher placement method (2000 poses) and scored using London ΔG scoring function and GBVI/WSA ΔG for rescoring (100 poses).

RESULTS AND DISCUSSION

Three models were considered for the evaluation of the activation loop effect: (1) the reported 2HW7 PDB structure, which contains the resolved structure for only few atoms of the activation loop and presents the DFG mutation, (2) the wildtype Mnk2 protein with the modelled loop and (3) 2HW7 without loop.

Two docking methods (rigid receptor and induced fit) were compared in order to discuss the relevance of the D228G mutation and the presence of the activation loop when studying the binding mechanism of drug candidates to Mnk2. For this purpose, we docked the reference compounds (i.e. staurosporine, cercosporamide and CGP57380, see figure 1) on the three Mnk2 models.

Molecular docking protocol was validated (RMSD < 0.25 Å) by predicting the binding mechanism of staurosporine and comparing the result to the crystal structure of staurosporine complexed to the Mnk2 D228G mutant structure available in the PDB (2HW7).

Rigid docking

According to the results, the recognition of the active site by the ligands could be conditioned by the presence of the activation loop when applying rigid docking and the protein structure was fixed.

Cluster analysis showed that staurosporine was able to mostly recognize the active site in all models, suggesting that the presence of the loop did not induce a remarkable effect on the location of the ligand. On the contrary, the presence of the activation loop hindered the access to the active site for cercosporamide and CGP57380. The combined effect of activation loop and the DFD motif conformations blocked the active site abutting the C-helix, moving their preferred binding site from the ATP binding site to the helix region at the C-terminal lobe (Figure 3).

From Figure 3 it can be seen that an appreciable percentage of conformations are located in the ATP binding site, regardless of the presence of the activation loop. Residues included in the active site were defined by proximity (4.5 Å) to the crystallized staurosporine-Mnk2 complex available in literature. Nevertheless, conformations located into the active site do not correspond to the best ranked conformations in terms of the scoring function and this could lead to confusing results.

Although staurosporine preferentially bounds to the ATP binding site, the spatial orientation of the most stable binding conformations predicted with and without the activation loop were slightly different (Figure 4). Structural differences could be appreciated when comparing the binding mechanism, obtaining two flipped conformations according to a symmetry axis, with comparable score.



Figure 4. Comparison between the most stable staurosporine conformations predicted by docking when considering the Mnk2 protein without activation loop (white) and containing a de novo modelled activation loop (black). (A) Position of the best ranked staurosporine conformations within the Mnk2 protein, corresponding to the active site. (B) Comparison between the spatial orientations of both conformations obtained.

According to these results, the activation loop may have a pivotal role in drug recognition. Moreover, rigid docking did not allowed to obtain a correlation between the active site recognition and the scoring function value. This situation gives rise to unrealistic docking results and we hypothesized the need of including protein flexibility in the study.

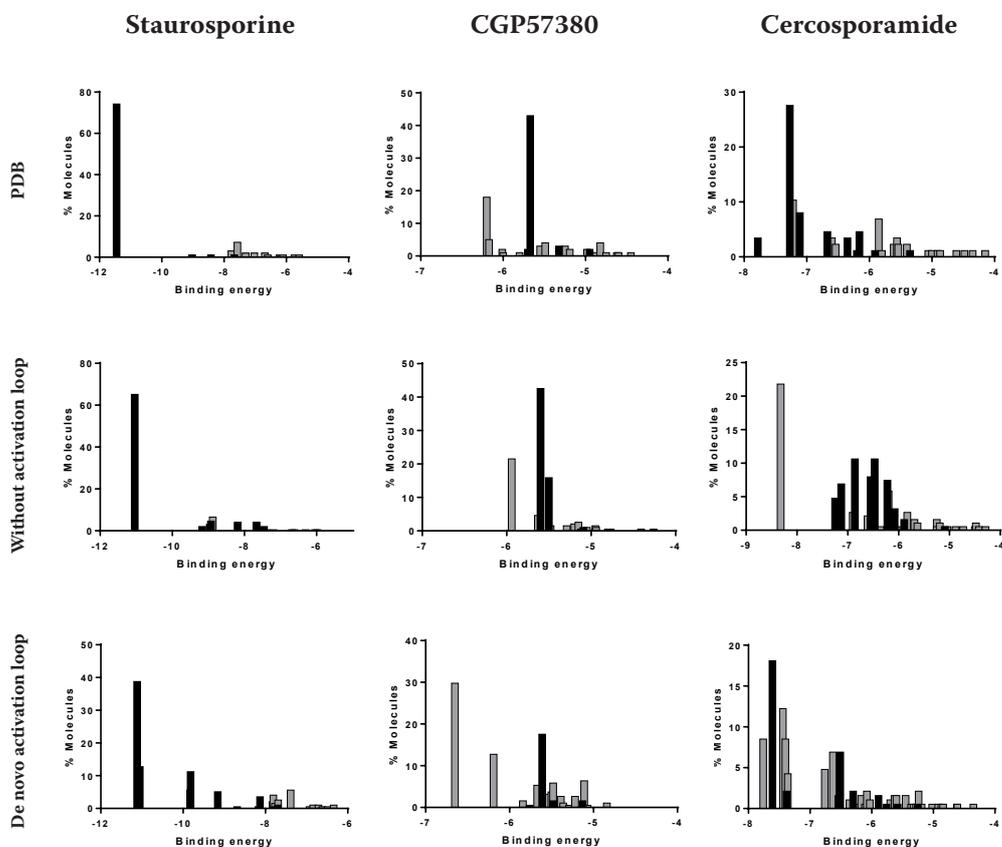


Figure 3. Cluster analysis from rigid docking. Molecules are divided in two groups depending on where they bind: the active site (black) or other parts of the protein, usually the α -helixes (grey).

Induced fit docking

Induced fit docking revealed that the flexibility of the activation loop may contribute to guide ligands towards the active site. Interestingly, reference compounds showed a similar behavior in all models when allowing receptor flexibility. Ligands tend to bind to the external part of the β -sheets in absence of the activation loop. When a small part of the loop is present (corresponding to the structure directly obtained from the PDB), more conformations are found in the helices despite some conformations bind into the active site.

In the presence of the modelled loop a higher percentage of conformations end up in the ATP binding site. The modelled loop guides molecules to the Glycine rich loop and avoids binding to the C-helix. Interestingly, the conformations with the best score are those located in the ATP binding site and conformations with a lower score bind to helices. The distribution of docking conformations obtained for each model is included in Figure 5.

Cluster analysis revealed that the model including the activation loop *de novo* modeled is the one that allows to lead the higher number of conformations with higher score within the active site (Table 1). The flexibility of the activation loop is determinant in order to obtain these results.

Table 1. Percentage of molecules bound to the Mnk2 ATP binding site.

	Staurosporine	CGP57380	Cercosporamide
PDB	28%	20%	12%
Without activation loop	18%	15%	11%
<i>De novo</i> activation loop	33%	36%	22%

In order to make the visualization of these results easier, the three dimensional coordinates of each Mnk2 residue were projected into the H^2 hyperbolic plane. This procedure allows the representation of multidimensional points into a bidimensional space in which the distance between projected points increase exponentially with the radii by changing the metric definition (in this case, using Poincaré's disk model)²². Residues were colored according to the protein region and their positions were compared with the location of staurosporine conformations (Figure 6).

As expected, results showed that a higher number of staurosporine conformations are located close to the DFD motive and the ATP binding site. It is a worth of attention the effect of the activation loop on the Mnk2 projection, which modifies the conformation of the protein and induces a change into staurosporine distribution reducing binding affinity towards the β -sheets and the C-helix and concentrating conformations on the active site.

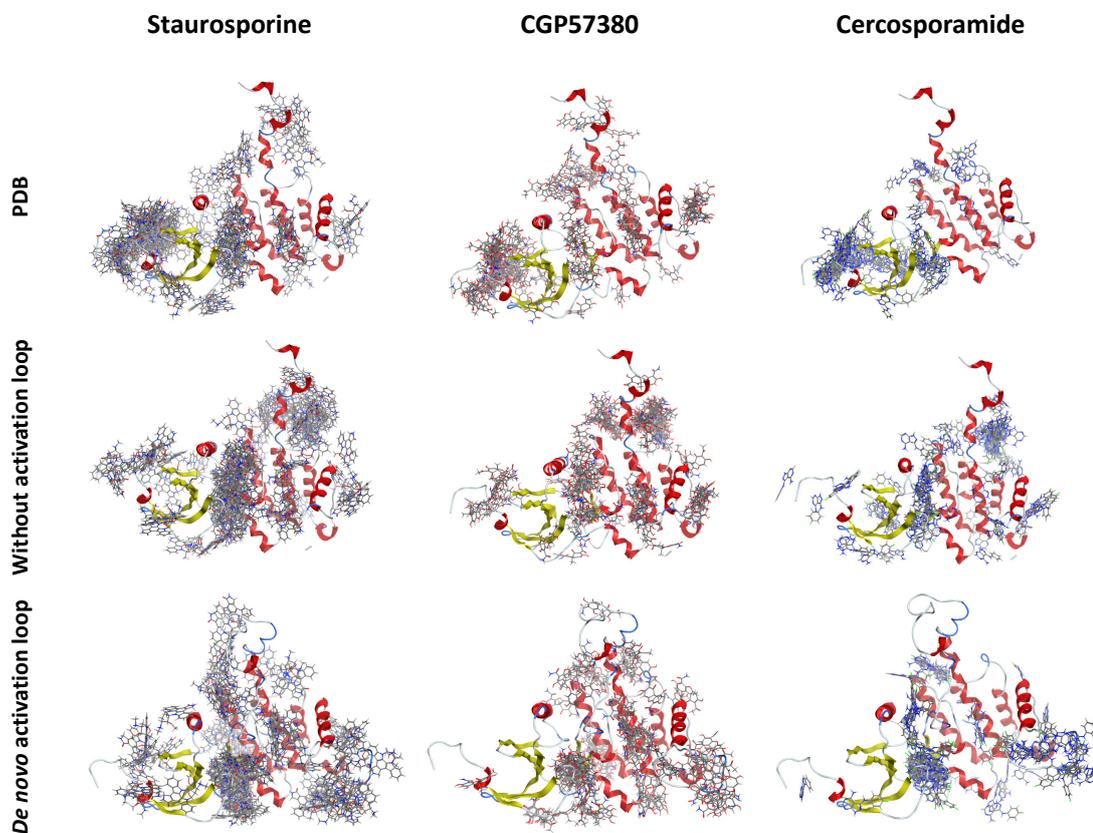


Figure 5. Graphical representation of the conformations obtained by induced fit docking.

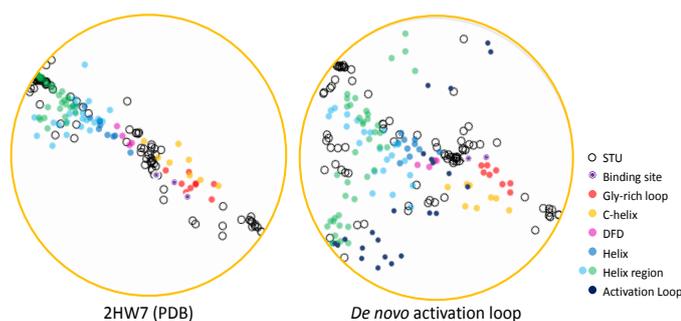


Figure 6. Hyperbolic projection of *Mnk2* residues resulting from flexible docking on PDB (2HW7) and the structure with the modelled loop.

These results are in disagreement with methodologies commonly reported in literature for designing new *Mnk2* inhibitors. Most of research articles directly apply molecular docking on the mutated *Mnk2* structure available in the PDB. Our findings suggest that these models may be over simplistic and they could lead to unrealistic results. The presence of the activation loop and considering the flexibility of the receptor may be crucial for the correct description of the *Mnk2*-ligand complex and both should be considered when applying structure-based drug design techniques.

CONCLUSIONS

The effect of the activation loop on predicting the preferred binding site of *Mnk2* inhibitors has been evaluated by molecular docking. The wildtype *Mnk2* structure in the DFD-in conformation has been modeled by modifying the structure of *Mnk2* D228G mutant available in the PDB. The three dimensional structure of the activation loop has been predicted computationally by *de novo* design methodologies.

The presence of the activation loop was essential to lead ligands towards the active site and receptor flexibility was required in order to obtain reliable results. Thus, obtained results suggest that the presence of the activation loop is determinant for the correct prediction of the active site of known ligands in docking procedures and it should be therefore considered in molecular design of new *Mnk2* inhibitors.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thankfully acknowledge the AIQS for the award of Pare Salvador Gil prize. Authors thankfully acknowledge the computer resources at Mino-tauro and technical support provided by Barcelona Supercomputing Center (BCV-2015-2-0001, BCV-2015-3-0009). E. Bou-Petit thanks the *Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Economia i Coneixement de la Generalitat de Catalunya* (2016FI_B100054) and the European Social Funds for her predoctoral grant.

REFERENCES

1. Wheeler, M. J.; Johnson, P. W.; Blaydes, J. P. The role of MNK proteins and eIF4E phosphorylation in breast cancer cell proliferation and survival. *Cancer Biol. Ther.* **2010**, *10*, 728–735.
2. Ozretic, P.; Bisio, A.; Inga, A.; Levanat, S. The growing relevance of cap-independent translation initiation in cancer-related genes. *Period. Biol.* **2012**, *114*, 471–478.
3. Diab, S.; Kumarasiri, M.; Yu, M.; Teo, T.; Proud, C.; Milne, R.; Wang, S. MAP Kinase-Interacting Kinases—Emerging Targets against Cancer. *Chem. Biol.* **2014**, *21*, 441–452.
4. Hou, J.; Kam, F.; Proud, C.G.; Wang, S. Targeting Mnk2 for Cancer Therapy. *Oncotarget.* **2012**, *3*, 118–131.
5. Furic, L.; Rong, L.; Larsson, O.; Koumakpayi, I.H.; Yoshida, K.; Brueschke, A.; Petroulakis, E.; et al. eIF4E phosphorylation promotes tumorigenesis and is associated with prostate cancer progression. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107*, 14134–14139.
6. Wendel, H.-G.; Silva, R.L.; Malina, A.; Mills, J.R.; Zhu, H.; Ueda, T.; Watanabe-Fukunaga, R.; et al. Dissecting eIF4E action in tumorigenesis. *Genes Dev.* **2007**, *21*, 3232–3237.
7. Ueda, T.; Sasaki, M.; Elia, A.J.; Chio, I.I.; Hamada, K.; Fukunaga, R.; Mark, T.W. Combined deficiency for MAP kinase-interacting kinase 1 and 2 (*Mnk1* and *Mnk2*) delays tumor development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 32, 13984–13990.
8. Jauch, R.; Jäkel, S.; Netter, C.; Schreiter, K.; Aicher, B.; Jäckle, H.; Wahl, M.C. Crystal Structures of the *Mnk2* Kinase Domain Reveal an Inhibitory Conformation and a Zinc Binding Site. *Structure.* **2005**, *13*, 1559–1568.
9. Jauch, R.; Cho, M.; Jäkel, S.; Netter, C.; Schreiter, K.; Aicher, B.; Zweckstetter, M.; Jäckle, H.; Wahl, M.C. Mitogen-activated protein kinases interacting kinases are autoinhibited by a reprogrammed activation segment. *EMBO J.* **2006**, *25*, 4020–4032.
10. Hou, J.; Teo, T.; Sykes, M. J.; Wang, S. Insights into the Importance of DFD-Motif and Insertion I1 in Stabilizing the DFD-Out Conformation of *Mnk2* Kinase. *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 736–741.
11. Cargnello, M.; Roux, P.P. Activation and Function of the MAPKs and Their Substrates, the MAPK-Activated Protein Kinases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2011**, *75*, 50–83.
12. Teo, T.; Yang, Y.; Yu, M.; Basnet, S. K.; Gillam, T.; Hou, J.; Schmid, R.M.; Kumarasiri, M.; Diab, S.; Albrecht, H.; Sykes, M.J.; Wang, S. An integrated approach for discovery of highly potent and selective *Mnk* inhibitors: Screening, synthesis and SAR analysis. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *103*, 539–50.
13. Wu, H.; Wu, H. S.; Wang, A.; Weisberg, E.L.; Chen, Y.; Yun, C.; Wang, W.; Liu, Y.; et al. Disco-

- very of a BTK/MNK dual inhibitor for lymphoma and leukemia. *Leukemia*. **2016**, 30, 173–181.
14. Yu, M.; Li, P.; Basnet, S.K.; Kumarasiri, M.; Diab, S.; Teo, T.; Albrecht, H.; Wang, S. Discovery of 4-(dihydropyridinon-3-yl)amino-5-methylthieno[2,3-d]pyrimidine derivatives as potent Mnk inhibitors: synthesis, structure–activity relationship analysis and biological evaluation. *Eur. J. Med. Chem.***2015**, 95, 116–126.
 15. Oyarzabal, J.; Zarich, N.; Albarran, M.I.; Palacios, I.; Urbano-Cuadrado, M.; Mateos, G.; Raymundo, I.; Rabal, O.; et al. Discovery of Mitogen-Activated Protein Kinase-Interacting Kinase 1 Inhibitors by a Comprehensive Fragment-Oriented Virtual Screening Approach. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 6618–6628.
 16. Kumarasiri, M.; Teo, T.; Wang, S. Dynamical insights of Mnk2 kinase activation by phosphorylation to facilitate inhibitor discovery. *Future Med. Chem.***2015**, 7, 91–102.
 17. Chemical Computing Group Inc. Molecular Operating Environment (MOE). **2014**, 2014.09.
 18. Case, D. A.; Berryman, J. T.; Betz, R. M.; Cai, Q.; Cerutti, D. S.; Cheatham, T. E. AMBER 14. University of California, San Francisco, **2014**.
 19. Ryckaert, J.P.; Ciccotti, G.; Berendsen, H.J. Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *J. Comput. Phys.***1997**, 23, 327–341.
 20. Darden, T.; York, D.; Pedersen, L. Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 10089–10092.
 21. Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M.F.; Belew, R.K.; Goodsell, D.S.; Olson, A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.* **2009**, 30, 2785–2791.
 22. Estrada, R.; Nonell, S.; Teixidó, J. Changing the way of viewing QSAR methods: the application of hyperbolic projection in medicinal chemistry. *Rev. la Soc. Catalana Química*. **2012**, 11, 61–67.

Producción de emulsiones submicrónicas formuladas con dos biodisolventes y tres tensioactivos ecológicos diferentes

L.A. Trujillo-Cayado^{a*}, M.C. Alfaro^a y J. Muñoz^a

^aDepartamento de Ingeniería Química, Facultad de Química, Universidad de Sevilla, c/ P. García González, 1, E41012, Sevilla, Spain

Production of sub-micron emulsions formulated with two biosolvents and three different ecological surfactants

Producció d'emulsions submicròniques formulades amb dos biodisolvents i tres tensioactius ecològics diferents

RECEIVED: 7 SEPTEMBER 2016. REVISED: 17 OCTOBER 2016. ACCEPTED: 24 OCTOBER 2016

SUMMARY

The target of this investigation was to compare the yield of three different eco-friendly surfactants derived from cocoa oil for the development of oil-in-water emulsions formulated with a mixture of green solvents as dispersed phase, N,N-dimethyldecanamide y α -pinene. Rheology, laser diffraction, optical microscopy and multiple light scattering were the main techniques used to assess the emulsification properties of the surfactants. Slightly concentrated ecological emulsions were obtained using all the studied surfactants, which differ in the number of ethoxylated groups. Nevertheless, it has been demonstrated that the use of the non-ionic surfactant with higher number of ethoxylated groups (Levenol C201) is adequate for three reasons: (a) allowing the lowest droplet size to be achieved, (b) providing the sufficient viscosity to prevent creaming and (c) no destabilization by coalescence occurs. The systematic characterization presented in this work provides important new findings on emulsifying properties of polyoxyethylene glycerol ester surfactants derived from coconut oil, which can be applied in the rational development of new biocompatible products.

Keywords: Ecological; emulsion; physical stability; rotor-stator; surfactant.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue comparar las propiedades emulsionantes de tres tensioactivos ecológicos que derivan del aceite de coco para la preparación de emulsiones aceite-en-agua formuladas con una mez-

cla de disolventes verdes como fase dispersa, N,N-dimetildecánamida y α -pineno. La reología, la difracción láser, la microscopía óptica y el “multiple light scattering” fueron las técnicas principales utilizadas para evaluar las propiedades emulsionantes de estos tensioactivos. Se obtuvieron emulsiones ligeramente concentradas usando cualquiera de los tensioactivos estudiados, que difieren en el número de grupos etoxilados. Sin embargo, se ha demostrado que el uso del tensioactivo no-iónico con el mayor número de grupos etoxilados (Levenol C201) es adecuado por tres motivos: (a) permite obtener los menores tamaños de gota, (b) proporciona suficiente viscosidad para prevenir el cremado y (c) no se produce desestabilización por coalescencia. La caracterización sistemática que se presenta en este trabajo proporciona importantes resultados sobre las propiedades emulsionantes de los ésteres polietoxilados de glicerina derivados del aceite de coco, que pueden ser utilizados para el desarrollo de nuevos productos biocompatibles.

Palabras clave: Ecológico; emulsión; estabilidad física; rotor-estátor; tensioactivo.

RESUM

L'objectiu d'aquest treball va ser comparar les propietats emulsionants de tres tensioactius ecològics que deriven de l'oli de coco per a la preparació d'emulsions oli-en-aigua formulades amb una barreja de dissolvents verds coma fase dispersa, N,N-dimetildecánamida i α -pinè. La reologia, la difracció làser,

*Corresponding author: ltrujillo@us.es

la microscòpia òptica i el “multiple light scattering” van ser les tècniques principals emprades per avaluar les propietats emulsionants d'aquest tensioactiu. Es van obtenir emulsions lleugerament concentrades emprant qualsevol dels tensioactius estudiats, que difereixen en el nombre de grups etoxilats. No obstant, s'ha demostrat que l'ús del tensioactiu no-iònic amb el major nombre de grups etoxilats (Levenol C201) es adequat per tres motius: (a) permet obtenir les mides de gota més petites, (b) proporciona suficient viscositat per prevenir el cremat i (c) no es produeix desestabilització per coalescència. La caracterització sistemàtica que es presenta en aquest treball proporciona importants resultats sobre les propietats emulsionants dels èsters polietoxilats de glicerina derivats de l'oli de coco, que poden ser emprats pel desenvolupament de nous biocompatibles.

Paraules clau: Ecològic; emulsió; estabilitat física; rotor-estator; tensioactiu.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales objetivos de la química verde es desarrollar compuestos que sean menos dañinos para el medio ambiente que los compuestos químicos a los que quiere reemplazar. Así, la química verde, que a su vez forma parte de la ingeniería verde, es una de las mejores herramientas que existen para impulsar el desarrollo sostenible⁹. La ingeniería verde se centra en diseño, comercialización y uso de productos y procesos sostenibles a través de la ciencia y la tecnología¹. En este sentido, la aplicación de los principios de la ingeniería verde orienta al desarrollo de alternativas ecológicas a compuestos peligrosos y/o contaminantes, como los tensioactivos o disolventes verdes⁸.

Los ésteres polietoxilados de glicerina derivados del aceite de coco son tensioactivos no iónicos que pueden ser utilizados para la formulación de productos ecológicos dado su origen natural y su nula toxicidad para el ser humano². Los tensioactivos o agentes emulsionantes son compuestos con actividad superficial que se sitúan en la interfase de contacto entre dos fases reduciendo la tensión interfacial. Esta familia de tensioactivos ha demostrado poseer buenas propiedades superficiales e interfaciales^{7,16,17}. Por otro lado, la N,N-dimetildecánamida y el α -pineno son dos bi-disolventes que cumplen con los requisitos para ser considerados como disolventes verdes^{5,3}.

El carácter apolar de muchos disolventes orgánicos hace que estos compuestos no puedan ser dispersos directamente en una fase acuosa, ya que la formación de una disolución homogénea sería un proceso termodinámicamente desfavorable⁶. Para dispersarlos es necesario formar una dispersión coloidal como las emulsiones, en las que un líquido está disperso en otro en el cual es inmiscible en forma de gotas¹¹. En el caso de que las gotas sean de fase orgánica u oleosa y estén dispersadas en una fase acuosa, se corresponde con emulsiones aceite-en-agua. La capacidad de poder incorporar ingredientes activos a estos sistemas hace

que puedan tener aplicaciones en industrias como la alimentaria o la agroquímica. Para que las emulsiones puedan formarse es necesaria la participación de uno o varios tensioactivos o agentes emulsionantes.

Es muy importante detectar los procesos de desestabilización en las emulsiones en las primeras etapas de los mismos para poder acortar los estudios de tiempo de envejecimiento. Para ello, técnicas como la difracción láser permite detectar procesos de coalescencia o maduración de Ostwald mediante el análisis de las distribuciones de tamaño de gota y la evolución de los diámetros medios. La técnica del “multiple light scattering” permite analizar tanto variaciones en los tamaños de gota así como agregaciones y migraciones de las mismas. Además la medidas reológicas puede ser una herramienta muy útil para detectar estos mecanismos de desestabilización en emulsiones, ya que permiten determinar la relación entre el esfuerzo y la deformación de las muestras y por tanto determinar la viscosidad de las mismas, propiedad que influye en la estabilidad física de las emulsiones. Por ejemplo, las viscosidades a valores de esfuerzo muy bajos pueden ser utilizadas para predecir el cremado¹⁵.

El objetivo de esta investigación es desarrollar emulsiones de bajo tamaño de gota y alta estabilidad física haciendo uso únicamente de componentes ecológicos. Se estudiará la influencia del número de grupos etoxilados (óxido de etileno) en tres tensioactivos verdes de la misma familia para la preparación de emulsiones formuladas con una mezcla de dos disolventes verdes (N,N-dimetildecánamida y α -pineno) como fase orgánica. La caracterización de las emulsiones se ha llevado a cabo mediante la combinación de técnicas como la difracción láser, microscopía óptica, reología y multiple light scattering. Estas emulsiones pueden encontrar aplicaciones relacionadas con el diseño de sistemas biotecnológicos complejos con diferentes usos, como por ejemplo ser usadas como matrices para la incorporación de agentes agroquímicos activos.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Se han preparado emulsiones concentradas con un 30% en peso de fase dispersa y un 3% de tensioactivo, siendo el resto agua desionizada. La fase dispersa estaba compuesta por un 75% en peso de N,N-dimetildecánamida (Agnique AMD-10TM) y un 25% en peso de α -pineno, siendo esta proporción de disolventes la óptima según estudios previos¹⁹. Agnique AMD-10TM (densidad: 0.88 g/mL a 25°C) fue suministrado por BASF mientras que el α -pineno (densidad: 0.84 g/mL a 25°C) fue suministrado por Sigma Chemical Company. Como tensioactivos se han utilizado tres ésteres polietoxilados de glicerina derivados del aceite de coco que difieren en el número de grupos etoxilados. Levenol C201 (glycereth-17 cocoate, 17 grupos etoxilados) posee un HLB de 13 mientras que Levenol F200 (glycereth-6 cocoate, de 6 grupos etoxilados) y Leve-

nol H&B (glycereth-2 cocoate, de 2 grupos etoxilados) poseen un valor del HLB de 14.7 y 11.3 respectivamente. La concentración de tensioactivo fue fijada en el 3 % en peso dado que estudios previos con Levenol C201 y mezclas de AMD-10 y D-limoneno han puesto de manifiesto que en torno a esa concentración se obtienen emulsiones de alta estabilidad física¹³.

MÉTODOS

Preparación de las emulsiones

Las emulsiones (250 g por lote) fueron preparadas en dos etapas haciendo uso de un sistema rotor-estator Silverson L5M equipado con una malla especial emulsionadora. En la primera de las etapas se añadió lentamente la fase dispersa sobre la fase continua mientras que se homogeneizaba a 4000 rpm durante 30 s. En la segunda etapa se homogeneizó toda la muestra durante 90 s a 7500 rpm. La temperatura se mantuvo constante a 20°C. Se prepararon tres lotes de cada una de las muestras.

Distribuciones de tamaño de gota y diámetros medios

Las distribuciones de tamaño de gota y los diámetros medios fueron determinados mediante difracción láser con un Malvern Mastersizer X. Todas las medidas se realizaron por triplicado a las 24 horas de tiempo de envejecimiento para cada uno de los lotes, siendo los resultados mostrados la media de todos ellos. Estas medidas se realizaron durante 40 días para poder detectar posibles fenómenos de desestabilización por coalescencia y/o maduración de Ostwald. Los diámetros medios de gota han sido expresados como el diámetro de Sauter ($D_{3,2}$) y el diámetro volumétrico ($D_{4,3}$):

$$D_{3,2} = \frac{\sum_{i=1}^N n_i d_i^3}{\sum_{i=1}^N n_i d_i^2} \quad (1)$$

$$D_{4,3} = \frac{\sum_{i=1}^N n_i d_i^4}{\sum_{i=1}^N n_i d_i^3} \quad (2)$$

donde d_i es el diámetro de la gota, N es el número total de gotas y n_i es el número de gotas que tienen el diámetro d_i .

Para determinar la anchura de las distribuciones de tamaño de gota ha sido utilizado el parámetro "span" que se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\text{span} = \frac{D(v,0.9) - D(v,0.1)}{D(v,0.5)} \quad (3)$$

donde $D(v,0.9)$, $D(v,0.5)$ y $D(v,0.1)$ son los diámetros acumulativos al 90%, 50% y 10% respectivamente.

Microestructura

Se ha utilizado un microscopio óptico Axio Scope A1 de Carl Zeiss con luz transmitida y un aumento de 63x para obtener información sobre la microestructura de las emulsiones. Las imágenes fueron tomadas a las 24 horas de tiempo de envejecimiento.

Caracterización reológica

La caracterización reológica se llevó a cabo me-

dante curvas de flujo realizadas con un reómetro de esfuerzo controlado Haake Mars y un sensor de cilindros coaxiales modelo Z20. La toma de muestra se llevó a cabo de la parte superior de los recipientes que contenían las muestras. Las medidas se llevaron a cabo por triplicado a los días 1, 3, 10, 21 y 40 de tiempo de envejecimiento.

Estabilidad física

Para la monitorización de la estabilidad física se utilizó la técnica del "multiple light scattering", usando un Turbiscan Lab Expert a 20°C. Las muestras fueron introducidas por primera vez una hora después de su preparación y fueron medidas de manera continua durante 40 días.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos por difracción láser y las medidas reológicas fueron evaluados por el análisis de la varianza ANOVA mediante el programa StatPlus[®]: mac. Todos los cálculos estadísticos se determinaron con nivel de significación de $p = 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestran las distribuciones de tamaño de gota (DTG) para las emulsiones preparadas en función del tensioactivo utilizado para los días 1 y 40 de tiempo de envejecimiento. Se observa que todas emulsiones poseen distribuciones monomodales a las 24 horas, aunque de distinta anchura de pico. Tal y como se muestra en la tabla 1, los valores del parámetro "span", que da cuenta de la homogeneidad de la distribución de las gotas y por tanto de la anchura del pico, es muy superior en el caso de Levenol H&B que en de los otros dos tensioactivos, siendo el menor valor el obtenido para Levenol F200. La distribución que se corresponde con los menores valores de diámetros de gota, y por tanto más desplazada hacia la izquierda, es la obtenida para las emulsiones formuladas con Levenol C201. Los resultados del test de ANOVA demostraron que los valores de los diámetros $D_{3,2}$ y $D_{4,3}$ son significativamente inferiores para las emulsiones con C201 en comparación con los obtenidos con los otros dos tensioactivos, lo que implica que con este C201 se obtienen los mejores resultados en este sentido. El tamaño de las gotas en una emulsión influye en gran medida en las propiedades reológicas y en la estabilidad física de la misma. Menores diámetros medios de gota están relacionados con una mayor estabilidad física de las emulsiones¹⁰. Cabe resaltar que solo en el caso de usar Levenol H&B se obtienen diámetros medios de Sauter superiores a una micra. Estos resultados son coherentes con estudios previos que demostraban las mejores propiedades emulsionantes del Levenol C201 frente al Levenol H&B^{16,17}. Teniendo en cuenta ahora el tensioactivo con cadena de grupos etoxilados intermedia (Levenol F200), queda demostrado que la longitud de dicha cadena influye en las propiedades emulsionantes de esta familia de tensioactivos puesto que lo hace también en sus propiedades interfaciales¹⁷. Con respecto a la evolu-

ción con el tiempo de envejecimiento de las DTG y los diámetros medios, sólo en la emulsión formulada con H&B se produce un desplazamiento de la DTG hacia tamaños mayores, y por tanto un incremento en el $D_{3,2}$ y en el $D_{4,3}$, lo que implica un fenómeno de desestabilización por coalescencia y/o maduración de Ostwald. Teniendo en cuenta la evolución de la DTG en función del tiempo de envejecimiento, y dado que la distribución ha pasado a ser bimodal, se puede afirmar que el fenómeno de desestabilización que causa el incremento en los tamaños de las gotas es la coalescencia. Este hecho pone de manifiesto que el tensioactivo Levenol H&B no es capaz de proteger y estabilizar la interfase con igual eficacia que los tensioactivos con mayor número de grupos etoxilados.

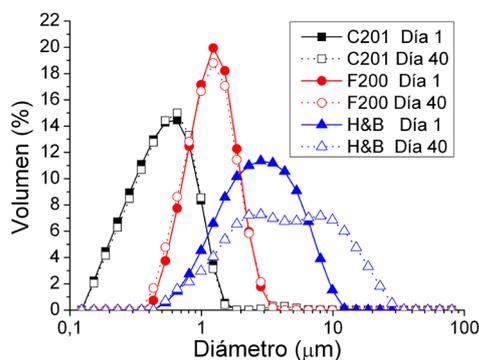


Figura 1.- Distribuciones de tamaño de gota de las emulsiones estudiadas a los días 1 y 40 de tiempo de envejecimiento.

En la figura 2 se muestran las microfotografías tomadas para uno de los lotes de cada uno de los sistemas preparados con diferentes tensioactivos. Las imágenes son consistentes con los resultados obtenidos por difracción láser. La emulsión formulada con Levenol C201 muestra tamaños de gota muy pequeños y homogéneos, al igual que en el caso de Levenol F200 aunque siendo en este último caso gotas de mayor tamaño. La emulsión con Levenol H&B posee gotas de mayor tamaño un mayor nivel de polidispersión, con gotas de muy distintos tamaños. Se observa además en este último caso un mayor nivel de floculación de la emulsión.

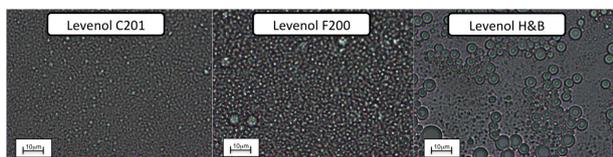


Figura 2.- Microfotografías con luz transmitida y un aumento de 63x de las emulsiones estudiadas a las 24 horas de su preparación.

La figura 3 muestra las propiedades de flujo de las emulsiones estudiadas a las 24 horas desde su preparación en función del tensioactivo utilizado. Las curvas de flujo se han ajustado a la ley de la potencia modificada en la que el índice de consistencia (k) se ha sustituido por el esfuerzo a 1 s^{-1} (τ_1) con el objetivo de poder comparar entre estos parámetros¹⁸ ($R^2 > 0.999$):

$$\tau = \tau_1 \cdot \left(\frac{\dot{\gamma}}{1 \text{ s}^{-1}} \right)^n \quad (4)$$

donde τ es el esfuerzo, τ_1 es el esfuerzo a 1 s^{-1} , $\dot{\gamma}$ es la velocidad de cizalla y n el índice de flujo. Los parámetros de ajuste se muestran en la tabla 2. Todas las emulsiones poseen carácter pseudoplástico ($0 < n < 1$), aunque en el caso de la emulsión con F200 el carácter es prácticamente newtoniano a las 24 horas (mirar tabla 2). Estos resultados junto a los valores obtenidos para τ_1 son consistentes con la formación de emulsiones ligeramente floculadas con carácter fluido¹⁵.

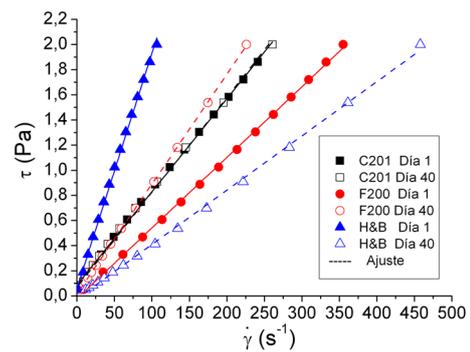


Figura 3.- Curvas de flujo de las emulsiones estudiadas a los días 1 y 40 de tiempo de envejecimiento. Temperatura = 20°C

La floculación es un proceso de desestabilización mediante el cual las gotas de la emulsión se aglutinan y que puede conllevar un posterior proceso de coalescencia mediante dos o más gotas se fusionan formando una de mayor tamaño²¹. Pese a que la emulsión formulada con Levenol C201 posee los menores tamaños de gota y por tanto debería poseer el valor más alto de τ_1 , este se corresponde con la emulsión con H&B. A medida que el tamaño de las gotas aumenta, el número de gotas por unidad de volumen de emulsión disminuye así como la distancia media de separación entre las gotas incrementa¹². Por tanto, las gotas tienen mayor movilidad y ofrecen una menor resistencia al flujo, lo que implica menor viscosidad y en este caso, menor τ_1 . Sin embargo, en este caso el mayor valor de τ_1 para las emulsiones con Levenol H&B se debe al mayor nivel de floculación de la emulsión. Si se observa la evolución de τ_1 con el tiempo de envejecimiento se observan tres comportamientos distintos según el tensioactivo utilizado. Teniendo en cuenta el test de ANOVA, la emulsión formulada con Levenol C201 no presenta variación significativa en el valor del esfuerzo a 1 s^{-1} , aunque se produce una ligera subida. En el caso de la emulsión con Levenol F200, se produce un aumento significativo de τ_1 desde el día 1 al día 40 de tiempo de envejecimiento. Esto puede deberse a que las gotas han floculado sin producirse coalescencia o a un proceso de desestabilización por cremado, en el que las gotas han migrado de la parte inferior de la muestra hacia la parte superior a causa de la diferencia de densidad entre la fase dispersa y la fase continua. Por último la emulsión con el tensioac-

tivo que posee menor número de grupos etoxilados, Levenol H&B, sufre un descenso muy significativo del valor esfuerzo a 1 s^{-1} , confirmado por los resultados del test de ANOVA. Este hecho es nuevamente indicativo de un proceso de desestabilización por coalescencia. Los resultados reológicos concuerdan por tanto con los resultados obtenidos por difracción láser expuestos anteriormente. Ninguna de las muestras obtenidas mostró propiedades viscoelásticas.

En la figura 4 se representa el backscattering (BS) frente a la altura de la muestra y en función del tiempo de envejecimiento para un lote de cada una de las tres formulaciones estudiadas. Estas representaciones nos permiten estudiar la estabilidad física de los sistemas investigados. Un análisis de la variación producida en la emulsión con Levenol C201 revela un ligero descenso del BS en la parte baja del vial de muestra. Este hecho está relacionado con un fenómeno de desestabilización por cremado, que en este caso es poco acusado, lo que explicaría la ligera subida del valor de τ_1 en función del tiempo de envejecimiento. Se observa además que no hay variación del BS en la zona intermedia, por lo que puede descartarse nuevamente variación en el tamaño de gota⁴, lo que concuerda con los resultados obtenidos por difracción láser y las curvas de flujo. En las emulsiones con F200 y H&B el descenso en la zona baja es mucho más acusado, lo que indica que la desestabilización por cremado es mayor. Para poder evaluar y cuantificar la cinética de desestabilización por cremado en estos sistemas, se representó el índice de cremado (CI) en función del tiempo de envejecimiento (figura 5). Este parámetro se ha calculado mediante la siguiente ecuación:

$$CI (\%) = \frac{H_s}{H_E} \cdot 100 \quad (5)$$

donde H_s es la altura de cremado y H_E la altura total de la emulsión. Además, se determinó la velocidad de cremado (w) mediante la pendiente de la zona lineal a partir del tiempo t_0 . Este parámetro se corresponde con el valor del tiempo de envejecimiento a partir del cual el equipo comienza a detectar que se está produciendo desestabilización por cremado.

$$w = \frac{d(CI)}{dt} \cdot \frac{H_E}{100} \quad (6)$$

En la figura 5 se observa como la mayor pendiente y el menor tiempo para el inicio del cremado (t_0) lo po-

see la emulsión con Levenol H&B. Esto es consistente con los resultados obtenidos por difracción láser y las curvas de flujo, ya que las emulsiones son más estables gracias a la combinación de pequeños tamaños de gota y mayores viscosidades²⁰. Así, la emulsión con C201 es la emulsión con mayor viscosidad y menores $D_{3,2}$ y $D_{4,3'}$, y por tanto la más estable frente a este mecanismo de desestabilización, con un t_0 mayor y menores valores de la velocidad de cremado y del índice de cremado a los 40 días (ver tabla 3).

Con respecto al descenso del BS en la zona intermedia del vial mostrado para la emulsión con Levenol H&B (ver figura 5), este puede ser atribuido a un fenómeno de desestabilización por coalescencia que ya fue detectado por difracción láser. Además, tanto en a emulsión con F200 como con H&B, se produce un descenso del BS en la zona alta del vial. Este descenso del BS puede ser atribuido a que gracias a acumulación de gotas de fase dispersa en la parte superior del vial debido a la desestabilización por cremado, se produce coalescencia de las mismas. Esta coalescencia provoca a su vez un posterior proceso de "oiling-off", es decir, la separación y acumulación en la parte superior de la muestra de la fase oleosa¹⁴. Es importante destacar que la emulsión con Levenol C201 presentaba al día 40 un aspecto visual idéntico al día 1. Por el contrario en los otros sistemas mostraban una capa clarificada en la parte inferior (cremado) y una de aceite en la superior ("oiling-off").

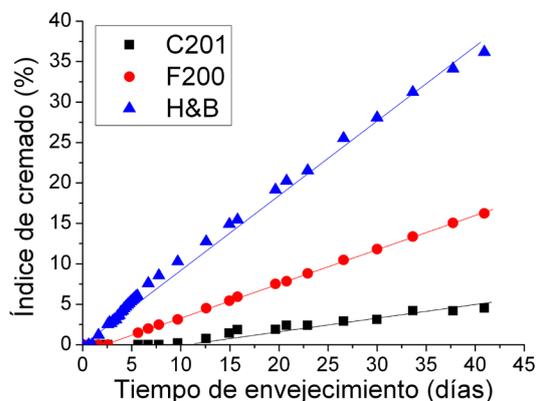


Figura 5.- Índice de cremado frente al función del tiempo de envejecimiento para todas las emulsiones estudiadas. La línea representa el ajuste lineal realizado para determinar la velocidad de cremado (w). Temperatura = $20 \text{ }^\circ\text{C}$

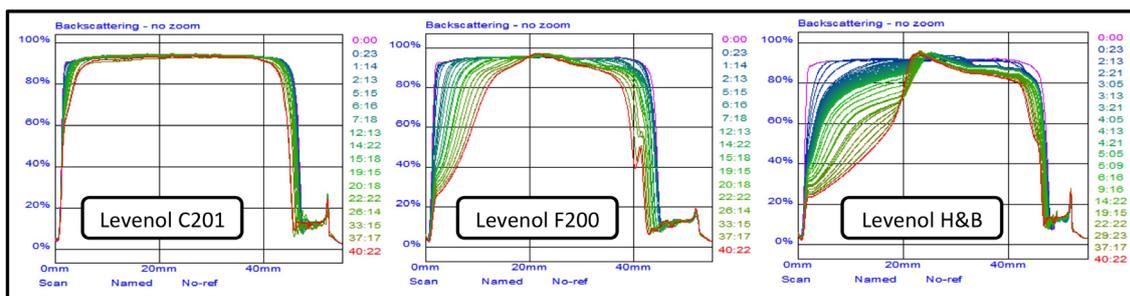


Figura 4.- Backscattering frente a la altura de la muestra en función del tiempo de envejecimiento para todas las emulsiones estudiadas. Temperatura = $20 \text{ }^\circ\text{C}$

Tabla 1.- Diámetros medios de Sauter ($D_{3,2}$), diámetro medio volumétrico ($D_{4,3}$) y span para las emulsiones estudiadas en función del tensioactivo utilizado y el tiempo de envejecimiento. Desviación estándar: $D_{3,2} < 8\%$, $D_{4,3} < 6\%$, $span < 10\%$.

Tiempo (días)	Levenol C201			Levenol F200			Levenol H&B		
	$D_{3,2}$ (mm)	$D_{4,3}$ (mm)	Span	$D_{3,2}$ (mm)	$D_{4,3}$ (mm)	Span	$D_{3,2}$ (mm)	$D_{4,3}$ (mm)	Span
1	0.38	0.50	1.397	0.97	1.15	1.056	1.98	2.97	1.844
3	0.37	0.49	1.425	0.96	1.20	1.215	2.08	3.04	1.760
10	0.37	0.47	1.461	0.97	1.14	1.128	2.37	4.68	2.380
21	0.39	0.51	1.383	0.97	1.14	1.291	2.48	5.39	3.564
40	0.39	0.50	1.361	0.98	1.13	1.254	2.62	5.60	3.201

Tabla 2.- Parámetros de ajuste para el modelo de la ley de la potencia de las curvas de flujo para las emulsiones estudiadas en función del tensioactivo utilizado y el tiempo de envejecimiento.

Tiempo (días)	Levenol C201		Levenol F200		Levenol H&B	
	t_1 (Pa)	n	t_1 (Pa)	n	t_1 (Pa)	n
1	14.92 ± 0.86	0.86 ± 0.01	4.35 ± 0.26	0.96 ± 0.01	28.91 ± 1.76	0.87 ± 0.01
40	16.51 ± 1.47	0.80 ± 0.01	6.88 ± 0.31	0.92 ± 0.01	2.93 ± 0.23	0.99 ± 0.01

Tabla 3.- Tiempo de inicio para el cremado (t_0), velocidad de cremado (w) e índice de cremado a los 40 días de tiempo de envejecimiento (CI_{40}) para todas las emulsiones en función del agente emulsionante empleado. Temperatura = 20 °C

Tensioactivo	t_0 (días)	w (mm/día)	CI_{40} (%)
Levenol C201	9.77 ± 0.51	0.06 ± 0.01	4.51 ± 0.27
Levenol F200	2.77 ± 0.16	0.20 ± 0.01	16.24 ± 0.41
Levenol H&B	0.98 ± 0.07	0.44 ± 0.02	34.17 ± 0.61

CONCLUSIONES

Se han preparado emulsiones concentradas aceite-en-agua con una mezcla de N,N-dimetildecánamida y α -pineno, dos disolventes verdes, como fase dispersa. Estas emulsiones han sido formuladas con tres tensioactivos ecológicos distintos que difieren en el número de grupos etoxilados, de manera que se han comparado las propiedades emulsionantes de dichos surfactantes.

El tipo de tensioactivo utilizado ha influido notoriamente en las propiedades de las emulsiones, tanto en las distribuciones de tamaño de gota y diámetros medios como en la reología y estabilidad física de las mismas. La información suministrada de forma conjunta por la difracción láser, "multiple light scattering" y la reología ha permitido monitorizar e identificar los

mecanismos de desestabilización que se producen en cada una de las distintas formulaciones. La emulsión que contiene Levenol C201 ha sido la que ha presentado tamaños menores de gota así como mayores valores del esfuerzo a 1 s^{-1} , dando como resultado una mayor estabilidad física. Esta alta estabilidad física se ha puesto de manifiesto en la nula variación del tamaño de gota con el tiempo de envejecimiento así como la poca desestabilización por cremado. La formulación con Levenol F200, y pese a los bajos diámetros medios y del parámetro "span", presenta desestabilización por cremado debido a la baja viscosidad de las muestras. Por último, las emulsiones que contenían Levenol H&B como agente emulsionante han demostrado tener la peor estabilidad física, tanto por el incremento de los tamaños de gota como por la desestabilización por cremado, dada la alta polidispersidad de tamaños de gota de la muestra y los altos diámetros iniciales. Además, la microscopía óptica y las medidas reológicas pusieron de manifiesto que las emulsiones con Levenol H&B presentaban un alto nivel de floculación.

AGRADECIMIENTOS

The financial support received (Project CTQ2015-70700) from the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad and from the European Commission (FEDER Programme) is kindly acknowledged. The authors are also grateful to BASF and KAO for providing materials for this research.

REFERENCIAS

- Anastas, P.T.; Y Zimmerman, J.B. Peer reviewed: design through the 12 principles of green engineering. *Environ. Sci. Chem.* **2003**, *37*, 94-101.
- Bermejo, M.J.; Castan, P.; Siscart, N.; Y Vilaret, J. Una nueva generación de tensioactivos no-iónicos completamente inocuos, para nuevos desarrollos en detergencia. *Comunicaciones presentadas a las Jornadas del Comité Español de la Detergencia.* **2002**, *32*, 85-94.
- Bertouche, S.; Tomao, V.; Ruiz, K.; Hellal, A.; Boutekedjiret, C.; Y Chemat, F. First approach on moisture determination in food products using alpha-pinene as an alternative solvent for Dean-Stark distillation. *Food Chem.* **2012**, *134*, 602-605.
- Buron, H.; Mengual, O.; Meunier, G.; Cayré, I.; Y Snabre, P. Optical characterization of concentrated dispersions: applications to laboratory analyses and online process monitoring and control. *Polym. Int.* **2004**, *53*, 1205-1209.
- Höfer, R.; Y Bigorra, J. (2007) Green chemistry—a sustainable solution for industrial specialties applications. *Green Chem.* **2007**, *9*, 203-212.
- Israelachvili, J.N. *Intermolecular and Surface Forces*, London: Academic Press. **1992**
- Jurado, E.; Vicaria, J.M.; García-Martín, J. F.; Y García-Román, M. Wettability of aqueous solu-

- tions of eco-friendly surfactants (ethoxylated alcohols and polyoxyethylene glycerin esters). *J Surfactants Deterg.* 2012, 15, 251-258.
8. Kirchhoff, M.M. Promoting green engineering through green chemistry. *Environ. Sci. Chem.* **2003**, 37, 5349-5353.
 9. Kirchhoff, M.M. Promoting sustainability through green chemistry. *Resour Conserv Recy.* **2005**, 44(3), 237-243.
 10. McClements, D.J. critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2007**, 47, 611-649.
 11. McClements, D.J., Y Rao, J. (2011) Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2011**, 51, 285-330.
 12. Pal, R. Shear viscosity behavior of emulsions of two immiscible liquids. *J. Colloid Interface Sci.* **2000**, 225, 359-366.
 13. Santos, J.; Calero, N.; Y Muñoz, J. Influence of the concentration of a polyoxyethylene glycerol ester on the physical stability of submicron emulsions. *Chem. Eng. Res. Des.* **2015**, 100, 261-267.
 14. Santos, J., Trujillo-Cayado, L. A., Calero, N., Alfaro, M. C., & Muñoz, J. Development of eco-friendly emulsions produced by microfluidization technique. *J. Ind. Eng. Chem.* **2016**, 36, 90-95.
 15. Tadros, T.F. Rheology of Dispersions. Principles and Applications. Weinheim: Wiley-VCH. **2009**.
 16. Trujillo-Cayado, L.A.; Ramírez, P.; Pérez-Mosqueda, L.M.; Alfaro, M.C.; Y Muñoz, J. (2014) Surface and foaming properties of polyoxyethylene glycerol ester surfactants. *Colloids Surf. A.* **2014**, 458, 195-202.
 17. Trujillo-Cayado, L.A.; Ramírez, P.; Alfaro, M.C.; Ruíz, M.; Y Muñoz, J. () Adsorption at the biocompatible α -pinene-water interface and emulsifying properties of two eco-friendly surfactants. *Colloids Surf. B.* **2014**, 122, 623-629.
 18. Trujillo-Cayado, L.A.; Natera, A.; García, M.C.; Muñoz, J.; Alfaro, M.C. Rheological properties and physical stability of ecological emulsions stabilized by a surfactant derived from cocoa oil and high pressure homogenization. *Grasas y Aceites*, **2015**, 66, e087.
 19. Trujillo-Cayado, L.A.; Alfaro, M.C.; Raymundo, A.; Sousa, I.; Y Muñoz, J. Rheological behavior of aqueous dispersions containing blends of rhamnan and welan polysaccharides with an eco-friendly surfactant. *Colloids Surf. B.* **2016**, 145, 430-437
 20. Trujillo-Cayado, L.A.; Santos, J.; Alfaro, M.C.; Calero, N.; Y Muñoz, J. (2016b) A further step in the development of oil-in-water emulsions formulated with a mixture of green solvents. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2016**, 55(27), 7259-7266
 21. Trujillo-Cayado, L.A.; Alfaro, M.C.; García, M.C. Y Muñoz, J. Physical stability of *N,N*-dimethyldecanamide/ α -pinene-in-water emulsions as influenced by surfactant concentration. *Colloids Surf. B.* **2016**, 149, 154-161

A theoretical study of the mechanism of rearrangement of dihydropyrimidines into pyrroles

A. de la Hoz¹, I. Alkorta^{2*} and J. Elguero²

¹Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de Castilla-La Mancha, Avda. Camilo José Cela, 10, E-13071 Ciudad Real, Spain. ²Instituto de Química Médica, CSIC, Juan de la Cierva, 3, E-28006 Madrid, Spain

Estudio teórico del mecanismo de transposición de dihidropirimidinas a pirroles

Estudi teòric del mecanisme de transposició de dihidropirimidines a pirrols

RECEIVED: 24 OCTOBER 2016. REVISED: 23 NOVEMBER 2016. ACCEPTED: 29 NOVEMBER 2016

SUMMARY

Two possible mechanisms for the transformation of a 1,4-dihydropyrrolo[3,2-b]pyrrole derivative into a tetrasubstituted pyrrole have been studied theoretically and one of them has been found in reasonable accord with the experimental data. This mechanism is part of the very rare example of rearrangement of dihydropyrimidines into pyrroles.

Keywords: Pyrimidines, pyrroles, cycloreversion, CO extrusion, DFT calculations.

RESUMEN

Se han estudiado teóricamente dos posibles mecanismos para la transformación de un derivado del 1,4-dihidropirrol [3,2-b]pirrol en un pirrol tetrasustituido; uno de ellos está en acuerdo razonable con los datos experimentales. Este mecanismo es una parte de uno más completo de transposición de dihidropirimidinas en pirroles, del cual hay muy pocos ejemplos.

Palabras clave: Pirimidinas; pirroles; cicloever-sión; extrusión de CO; cálculos DFT.

RESUM

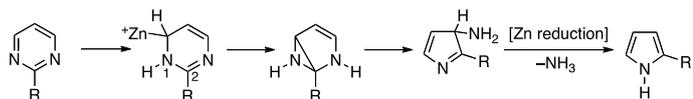
S'han estudiat teòricament dos possible mecanismes per a la transformació d'un derivat de 1,4-dihidropir-rol[3,2-b]pirrol en un pirrol tetrasustituit; un d'ells està en acord raonable amb les dades experimentals. Aquest mecanisme és part d'un mes complet de trans-posició de dihidropirimidinas a pirrols, del qual hi ha molt pocs exemples.

Paraulas clau: Pirimidinas; pirrols; cicloever-sió; extrusió de CO; DFT calculs.

*Corresponding author: ibon@iqm.csic.es

INTRODUCTION

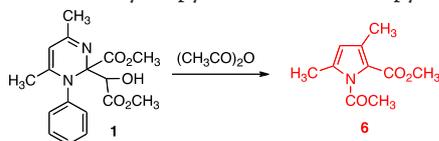
The field of heterocyclic rearrangements owes much to van der Plas and, particularly, to his two volumes on "Ring Transformations of Heterocycles"¹ where so many reactions are reported. If a search for transformation of pyrimidines into pyrroles is made, there is an entry in volume 2 sending to page 116, where there is nothing on this subject. However, in page 125 of the same volume, there is the following sentence "It has further been reported that arylpyrimidines by use of zinc and aqueous acetic acid are converted into pyrroles (ref. 453a). In the mechanism of this ring interconversion the site of the initial reduction attack by zinc is believed to be at the 1,6- rather than the 2,3-bond"^{2,3}. One of the proposed mechanisms by Longridge and Thompson³ is represented in Scheme 1. It may be observed that the mechanism involves a 2-substituted-1,6-dihydropyrimidine, although it was not isolated. The authors suggest that to prove the mechanism a dihydropyrimidine has to be synthesized and rearranged, they wrote: "Scheme 1 could be verified by synthesis of a dihydro compound and demonstrating that it will react to form a pyrrole under the required conditions. However compounds of this type have not been reported, possibly owing to their instability".



Scheme 1. The Longridge-Thompson mechanism of ring-contraction of pyrimidines into pyrroles.

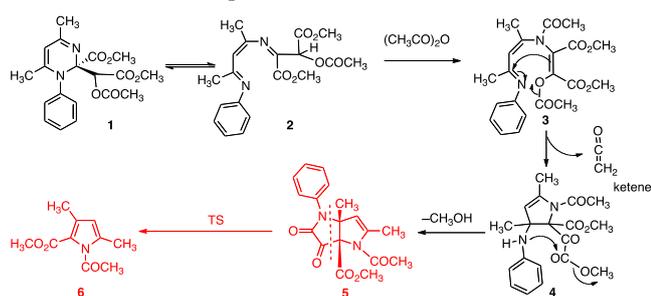
This work has been cited in several reviews^{4,5,6,7} because it is related to the transformation of pyrimidin-2-ones to pyrroles^{8,9,10,11}. The reaction has been successfully applied to the preparation of 4-cyanopyrroles¹².

In 1989 we reported (Scheme 2) the transformation of an isolated 1,2-dihydropyrimidine **1** into a pyrrole **6**¹³.



Scheme 2. The 1989 ring transformation.

To explain the experimental results, we proposed the mechanism represented in Scheme 3.



Scheme 3. The proposed mechanism.

Since this ring contraction remains the only unambiguous reported example of a transformation of a dihydropyrimidine into pyrrole and since pyrimidine is one of the most important ring systems in medicinal chemistry¹⁴, we decided to explore theoretically one part of the mechanism of Fig. 1, i.e. the transformation of the 3a,6a-dihydropyrrolo[3,2-b]pyrrole derivative **5** into the pyrrole derivative **6**.

COMPUTATIONAL DETAILS

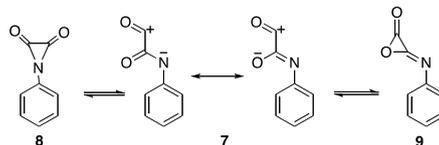
The geometry of the molecules has been fully optimized with the hybrid HF/DFT^{15,16,17} computational method B3LYP and the 6-31G(d) basis set¹⁸. (posar el 18 en superindex). Frequency calculations have been carried out at the same computational level to verify that the structures obtained correspond to energy minima (number of imaginary frequencies = 0) or to transition states (TS, number of imaginary frequencies = 1). All the calculations have been carried out with the Gaussian-09 package¹⁹.

RESULTS AND DISCUSSION

We have considered two possible mechanisms:

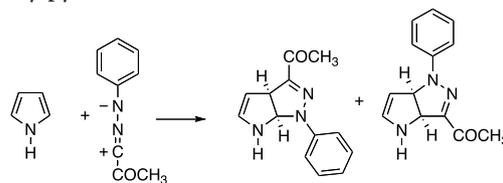
i. Retrocycloaddition.

The isomerization **5** → **6** is formally the reversed part of a 1,3-dipolar cycloaddition of the 1,3-dipole **7** [1-oxoethan-1-ylum](phenyl)amide or (Z)-1-oxo-N-phenylethan-1-ylumimide] on the pyrrole **6** (Scheme 4).



Scheme 4. Compounds of general formula $C_8H_5NO_2$.

Cycloaddition of dipoles on pyrroles are very uncommon and the main results were due to Ruccia, Viona and Cusmano^{20,21,22} (Scheme 5). Recently, it was reported the [3+2] dipolar cycloaddition reaction of nitrones and benzonitrile oxide with the electron-rich N-vinylpyrrole^{23,24,25}.



Scheme 5. Addition of C-acetyl-N-phenylnitrilimine to pyrrole itself.

We have calculated the minimum energy structures of compounds **5** and **6** (Fig. 1 and Fig. 2).

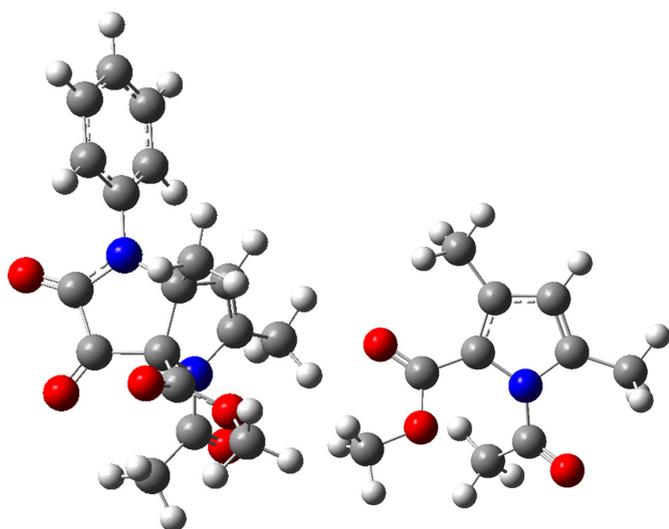


Fig. 1 (compound **5**) left; **Fig. 2** (compound **6**) right.

However, when the 1,3-dipole **7** was optimized, it spontaneously decomposes into isocyanatobenzene (or phenyl isocyanate) and carbon(II) oxide (or carbon monoxide). We have considered the possibility that the dipole **7** was stabilized by forming 1-phenylaziridine-2,3-dione (**8**) or (Z)-3-(phenylimino)oxiran-2-one (**9**). Isomer **8** is much more stable than **9** (43.9 kJ·mol⁻¹) and it has been isolated and characterized²⁶. However, the energy balance is unfavorable, **5** being more stable than the sum of **6** and **8** by 100.8 kJ·mol⁻¹.

ii. CO extrusion.

Since compound **5** decomposes into three compounds, **6** plus phenyl isocyanate, Fig. 3 (**10**) and carbon monoxide, Fig. 4 (**11**) (both in their minimum energy structures), the reaction can be considered to belong to the group of CO extrusion reactions^{27,28}. An FVP experiment of extrusion of CO from a compound

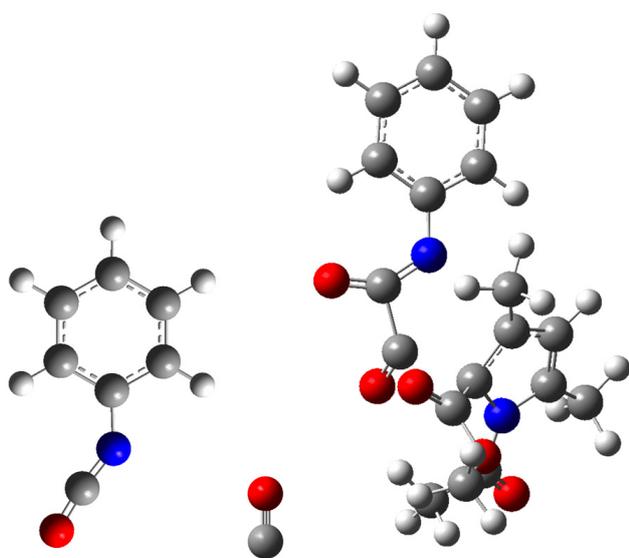


Fig. 3 (compound **10**) left; **Fig. 4** (compound **11**) middle; **Fig. 5** (TS) right.

related to **5** (a pyrrole-2,3-dione) has been reported²⁹. Fig. 5 is the structure of the TS.

The energy values are gathered in Table 1.

Table 1. Energy values (absolute in hartress, relative in kJ·mol⁻¹) of the mechanism **5** → **6** + **10** + **11**.

Comp.	E	Erel	E+ZPE	Erel+ZPE	G	ΔG
5	-1182.3727	0.0	-1182.0351	0.0	-1182.0896	0.0
TS	-1182.3110	161.9	-1181.9785	148.6	-1182.0357	141.5
6	-669.3311	-1.0	-669.1117	-24.9	-669.1539	-127.9
10	-399.7325		-399.6284		-399.6608	
11	-113.3095		-113.3044		-113.3236	

The inclusion of the ZPE and even more the use of free energies strongly favors the fragments compared to the bicycle to the point that the transition state for the forward reaction is reduced to 13.6 kJ·mol⁻¹: this justifies the spontaneous **5** → **6** exoergic reaction.

CONCLUSIONS

Computational chemistry can shed light on complex mechanisms as two recent reviews report [30,31]. Our present contribution justifies the spontaneous formation of pyrrole **6** from the bicyclic derivative **5**. Although the whole mechanism depicted in Scheme 3 still remains incomplete, at least, part of it is now firmly supported.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work has been supported by the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (CTQ2015-63997-C2-2-P) and Comunidad Autónoma de Madrid (S2013/MIT-2841, Fotocarbon). Computer, storage and other resources from the CTI (CSIC) are gratefully acknowledged. We are greatly indebted to Professors Fernando Cossío (Universidad del País Vasco UPV/EHU, Química Orgánica I) and José Ignacio García (Instituto de Síntesis Química y Catálisis Homogénea, Universidad de Zaragoza-CSIC) for useful discussions about the mechanisms.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data associated with this article can be obtained from the authors on request.

REFERENCES

- H. C. van der Plas, Ring Transformations of Heterocycles, Vols. 1 and 2, Academic Press, London, 1973.
- T. W. Thompson, Chem. Commun., 532 (1968).

3. J. L. Longridge, T. W. Thompson, *J. Chem. Soc. C*, 1658 (1970).
4. S. K. Robev, *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 1587 (1981).
5. A. L. Weis, *Adv. Heterocycl. Chem.*, **38**, 1 (1985).
6. A. L. Weis, H. C. van der Plas, *Heterocycles*, **24**, 1433 (1986).
7. U. Joshi, M. Pipelier, S. Naud, D. Dubreuil, *Curr. Org. Chem.*, **9**, 261 (2005).
8. E. Bullock, R. A. Carter, B. Gregory, D. C. Shields, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 657 (1972).
9. J. Ashby, D. Griffiths, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 657 (1975).
10. E. Bullock, R. A. Carter, R. M. Cochrane, B. Gregory, D. C. Shields, *Can. J. Chem.*, **55**, 895 (1977).
11. C. O. Kappe, *Tetrahedron*, **49**, 6937 (1993).
12. S. Robev, *Tetrahedron Lett.*, **19**, 1163 (1978).
13. A. M. de la Hoz, J. Elguero, C. Pardo, *Heterocycles*, **29**, 1951 (1989).
14. R. D. Taylor, M. MacCoss, A. D. G. Lawson, *J. Med. Chem.*, **57**, 5845 (2014).
15. A. D. Becke, *Phys. Rev. A*, **38**, 3098 (1988).
16. A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, **98**, 5648 (1993).
17. C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B*, **37**, 785 (1988).
18. P. A. Hariharan, J. A. Pople, *Theor. Chim. Acta*, **28**, 213 (1973).
19. Gaussian 09, Revision A.1. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Menucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
20. M. Ruccia, N. Vivona, G. Cusmano, *Tetrahedron Lett.*, **13**, (1972) 4703.
21. M. Ruccia, N. Vivona, G. Cusmano, G. Macaluso, *J. Heterocycl. Chem.*, **15**, (1978) 1485.
22. A. S. Shawali, M. M. Edrees, *Arkivoc*, **ix**, 292 (2006).
23. A. P. Molchanov, R. S. Savinkov, A. V. Stepakov, G. L. Starova, R. R. Kostikov, V. S. Barnakova, A. V. Ivanov, *Synthesis*, **46**, 771 (2014).
24. M. M. Efremova, A. P. Molchanov, A. V. Stepakov, R. R. Kostikov, V. S. Shcherbakova, A. V. Ivanov, *Tetrahedron*, **71**, (2015) 2071.
25. L. R. Domingo, S. Emamian, M. Salami, M. Ríos-Gutiérrez, *J. Phys. Org. Chem.*, **29**, 368 (2016).
26. F. Risi, L. Pizzala, M. Carles, P. Verlaque, J. P. Aycaud, *J. Org. Chem.*, **61**, 666 (1996).
27. A. Obenhuber, K. Ruhland, *Organometallics*, **30**, 171 (2011).
28. C. Schulten, G. von Frantzius, G. Schnakenburg, A. Espinosa, R. Streubel, *Chem. Sci.*, **3**, 2526 (2012).
29. S. Ebner, B. Wallfisch, J. Andraos, I. Aitbaev, M. Kislewsky, P. V. Bernhardt, G. Kollenz, C. Wentrup, *Org. Biomol. Chem.*, **1**, 2550 (2003).
30. D. Balcells, E. Clot, O. Eisenstein, A. Nova, L. Perrin, *Acc. Chem. Res.*, **49**, 1070 (2016).
31. T. Sperger, I. A. Sanhueza, F. Schoenebeck, *Acc. Chem. Res.*, **49**, 1311 (2016).

Caracterización de carbones activados modificados con agentes quelantes para la adsorción de metales tóxicos en solución acuosa

Sergio Acevedo¹, Liliana Giraldo¹, Juan Carlos Moreno-Piraján²

¹Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Cra. 30 No 45-03. Bogotá D.C. Colombia. ²Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad de los Andes. Grupo de Investigación en Sólidos Porosos y Calorimetría. Cra. 1 No. 18A-10. Bogotá D.C. Colombia..

Characteristics of activated carbons modified with agents chelating for toxic metal adsorption from solution aqueous

Caracterització de carbons activats modificats amb agents quelants per a l'adsorció de metalls tòxics en solució aquosa

RECEIVED: 17 JANUARY 2015. REVISED: 16 JUNE 2016. ACCEPTED: 16 JULY 2016

SUMMARY

Chemical surface of a microporous activated carbon is modified with chelating agents which are suitable for the adsorption of metal ions from aqueous solution to generate solids with capacity for remediation the actual contaminated water. Starting activated carbon is prepared from coconut shell, is physically active and is modified by the use of three chelating agents: citric acid, tartaric acid and ethylene-diamine-tetra-acetic acid (EDTA). Modified activated carbons are characterized by N_2 physical adsorption at 77 K, from the isotherms are obtained textural parameters: surface area and micropore volume with values between 842 and 1171 $m^2 \cdot g^{-1}$ and 0,36 and 0,47 $cm^3 \cdot g^{-1}$, respectively. Immersion enthalpies of the activated carbons in benzene were determined with values between -73,87 and -143,80 $J \cdot g^{-1}$; the results show that activated carbons have pores in the range of micropores which facilitate the entry of the metallic ions to the carbonaceous structure. The density of acid and basic total groups, the pH at the point of zero charge, pH_{PZC} , the infrared spectra (FTIR-DR) and next analysis for each modified activated carbons were determined. Furthermore was determined the adsorption in aqueous phase of ions Ni (II), Cd (II) and Co (II) for solutions of 500 $mg \cdot L^{-1}$ obtaining values for the adsorbed quantity between 22,8 y 30,4 $mg \cdot g^{-1}$ for Ni(II); between 22,9 y 33,9 $mg \cdot g^{-1}$ for Cd(II) and between 35,5 y 41,2 $mg \cdot g^{-1}$ for Co(II).

Keywords: Activated carbon; chelating agent; ions Ni(II); Cd(II) and Co(II); adsorption; immersion enthalpy.

RESUMEN

Se modifica la superficie de un carbón activado microporoso con agentes quelantes adecuados para la adsorción de iones metálicos en solución acuosa con el fin de generar sólidos con capacidad para la remediación de aguas contaminadas. El carbón activado de partida se prepara a partir de la cáscara de Coco, se activa físicamente y se modifica mediante el uso de tres agentes quelantes: ácido cítrico, ácido tartárico y ácido etilendiamino-tetra-acético (EDTA). Los carbones activados modificados se caracterizan por adsorción física de N_2 a 77 K, de las isothermas resultantes se obtienen los parámetros texturales: área superficial y volumen de microporo con valores entre 842 y 1171 $m^2 \cdot g^{-1}$ y 0,36 y 0,47 $cm^3 \cdot g^{-1}$ respectivamente. Se determinan entalpías de inmersión de los carbones activados en benceno con valores entre -73,87 y -143,80 $J \cdot g^{-1}$; los resultados muestran que se producen carbones activados con poros en el rango de los microporos lo cual facilitaría la entrada de los iones metálicos a la estructura carbonosa. Se determinan la densidad de grupos ácidos y básicos totales, el pH en el punto de carga cero, pH_{PCC} , los espectros infrarrojos (DR-FTIR) y análisis para cada uno de los carbones activados modificados. Además se determina la adsorción en fase acuosa de los iones Ni(II), Cd(II) y Co(II) para soluciones de 500 $mg \cdot L^{-1}$ obteniendo valores para las cantidades adsorbidas entre 22,8 y 30,4 $mg \cdot g^{-1}$ para el Ni(II); entre 22,9 y 33,9 $mg \cdot g^{-1}$ para el Cd(II) y 35,5 y 41,2 $mg \cdot g^{-1}$ para el Co(II).

*Corresponding author: jumoreno@uniandes.edu.com

Palabras clave: Carbón activado; agente quelante; iones Ni(II); Cd(II) y Co(II); adsorción; entalpía de inmersión.

RESUM

Es modifica la superfície d'un carbó activat microporós amb agents quelants adequats per a l'adsorció de ions metàl·lics en solució aquosa per tal de generar sòlids amb capacitat per la remediació d'aigües contaminades. El carbó activat de partida es prepara a partir de la closca de Coco, s'activa físicament i es modifica mitjançant l'ús de tres agents quelants: àcid cítric, àcid tartàric i àcid etilen-diamino-tetra-acètic (EDTA). Els carbons activats modificats es caracteritzen per la adsorció física de N₂ a 77 K i de les isoterms resultants s'obtenen els paràmetres texturals: àrea superficial i volum de microporus amb valors entre 842 i 1171 m².g⁻¹ i 0,36 i 0,47 cm³.g⁻¹ respectivament. Es determinen entalpies de immersió dels carbons activats en benzè amb valors entre -73,87 i -143,80 J.g⁻¹; els resultats mostren que es produeixen carbons activats amb porus en la franja dels microporus la qual cosa facilitaria l'entrada dels ions metàl·lics a l'estructura carbonosa. Es determinen la densitat de grups àcids i bàsics totals, el pH en el punt de càrrega zero, el pHPCC, els espectres infrarojos (DR-FTIR) i els anàlisis per a cada un dels carbons activats modificats. A més es determina l'adsorció en fase aquosa dels ions Ni(II), Cd(II) i Co(II) per a solucions de 500 mg.L⁻¹, obtenint valors per a les quantitats adsorbides entre 22,8 i 30,4 mg.g⁻¹ per al Ni(II); entre 22,9 i 33,9 mg.g⁻¹ per el Cd(II) i 35,5 i 41,2 mg.g⁻¹ i per el Co(II).

Paraules clau: Carbó activat; agent quelant; ions Ni(II), Cd(II) i Co(II); adsorció; entalpia d'immersió.

INTRODUCCIÓN

Los residuos acuosos que contienen disueltos iones metálicos constituyen un problema en el manejo de las emisiones industriales debido a que suelen ser tóxicos en mínimas cantidades, se acumulan en sedimentos, organismos vivos y llegan incluso a incorporarse a ciclos naturales y biológicos, contaminando suelos, cuerpos de agua y sistemas aéreos, con perjuicio de la vida vegetal, animal y comprometiendo la misma vida humana¹.

El uso de carbón activado para la adsorción de iones metálicos desde solución acuosa ha sido extensamente reportado debido a su bajo costo, disponibilidad, variadas formas de preparación y a la capacidad de modificar y/o diseñar sus propiedades por tratamientos de pre y post preparación. En el marco de desarrollo de tecnologías para la depuración de sistemas acuosos, la línea de desarrollo de materiales avanzados para dicho propósito adquiere importancia, de manera particular la modificación de la química superficial que permite la obtención de sólidos adsorbentes más específicos, eficaces en aplicaciones en fase líquida o en fase gas; dado que la capacidad de adsorción de un

carbón activado no depende únicamente de sus características texturales sino también de su química superficial^{2,4}. La química superficial de los carbones activados es una propiedad que influye en la adsorción cuando el adsorbato es una especie cargada, como en el caso de los iones Ni(II), Cd(II) y Co(II) elegidos en esta investigación. Existen técnicas de caracterización física que permiten estudiar la textura de los materiales obtenidos, como la fisisorción de nitrógeno y dióxido de carbono, que llevan a la determinación del área superficial y volumen de microporo. En la caracterización química se usan otro tipo de técnicas como las titulaciones Boehm, determinación del pH en el punto de carga cero y espectroscopía infrarroja (FTIR)⁵.

En este trabajo se preparan carbones activados modificados empleando agentes quelantes que interactúan con iones metálicos desde solución acuosa, debido a que tal interacción entre los solutos disueltos en solución y el carbón activado son específicas.

Se realizó la caracterización textural y química de los carbones activados y se evaluó la capacidad de adsorción de los mismos para los iones Ni(II), Cd(II) y Co(II), se relacionó la entalpía de inmersión de los carbones activados en benceno con la capacidad de adsorción de los iones metálicos presentes en una solución acuosa de 500 mg.L⁻¹ de cada uno de estos⁶.

MATERIALES Y MÉTODOS

Modificación del Carbón Activado

El carbón activado de partida se obtiene de cáscara de coco mediante activación física (CAG), este material se modifica por impregnación con tres agentes quelantes en solución: ácido cítrico, ácido tartárico y ácido etilen-diamino-tetra-acético (EDTA). El proceso de impregnación se lleva a cabo de la siguiente manera: el carbón activado se lava con agua desionizada para eliminar el carbón activado en polvo adherido a las partículas granulares y a continuación, se seca en un horno a 383 K durante 2 horas; posteriormente el carbón activado se divide en tres porciones que se colocan en contacto con las soluciones de impregnación: la primera una solución de ácido cítrico 1 M, la segunda una solución de ácido tartárico 1 M y la tercera una solución de EDTA 1 M, todas en una proporción de 4 g de carbón activado en 25 mL de la solución correspondiente, cada mezcla se agita durante 30 minutos en un sonicador (Cole-Parmer 8852) y se seca a 323 K durante un periodo de 12 horas. El carbón modificado, se lava con agua desionizada hasta que no se observe turbidez en las aguas de lavado al añadir dos gotas de una solución 0,1 M de nitrato de plomo. Finalmente, los carbones activados se secan a 383 K durante 2 horas y se almacenan en envases plásticos en atmósfera de nitrógeno.

La nomenclatura de los carbones activados es la siguiente: CAG, carbón activado granular de partida y CAGCIT, CAGTAR, CAGEDTA los carbones activados impregnados con ácido cítrico, ácido tartárico y ácido etilen-diamino-tetra-acético respectivamente.

Caracterización Físicoquímica

Fisiorción de Gases

El área superficial, volumen de poro y microporosidad estrecha se determinan por fisiorción de N_2 a 77 K y CO_2 a 273 K en un equipo automático Autosorb 3B Quantachrome mediante la aplicación de los modelos BET y Dubinin- Radushkevich respectivamente.

Análisis próximo

El análisis próximo de los carbones activados se lleva a cabo de acuerdo a las normas ASTM, para cada proceso: determinación de humedad norma ASTM 2867 (2004); determinación del contenido de materia volátil norma ASTM 5832 (2003); determinación del contenido total de cenizas norma ASTM 2866 (2004); determinación del contenido de carbono fijo por diferencia respecto a los demás ensayos del análisis próximo.

Espectroscopia FTIR

La región del infrarrojo permite observar las bandas de vibración de grupos superficiales presentes en la superficie del carbón activado. La muestra se prepara, pulverizándola y conformando una pastilla con KBr, que se analiza en un equipo Nicolet Impact 410 FT-IR.

Titulación Boehm

La determinación de la acidez y basicidad total se lleva a cabo por el método de Boehm. Se pesan 0,500 g del carbón activado granular y se mezclan con 50 mL de solución de NaOH 0,1 M y con 50 mL de solución de HCl 0,1 M, respectivamente. Las soluciones se mantienen en agitación y temperatura constante durante cinco días. Se titula una alícuota de 10 mL de cada solución en contacto con el carbón activado, con las soluciones de ácido o base estandarizadas correspondientes⁸.

Determinación del pH en el punto de carga cero.

Método de Titulación de Masas

Se pesa cada uno de los carbones activados preparados en un rango entre 0,010 a 0,600 g y se colocan en frascos de vidrio de 50 mL con 20 mL de solución de cloruro de sodio, NaCl 0,1 M. Los frascos se tapan, se agitan y se mantienen a temperatura constante de 298 K durante 48 horas, posteriormente se mide el pH de cada una de las soluciones. El punto de carga cero se determina como el pH al cual tiende la curva de pH en función de la masa de la muestra⁹.

Determinación de la entalpía de inmersión

Se determinan las entalpías de inmersión de los carbones activados en benceno mediante el uso de un micro calorímetro de conducción calor¹⁰. Para las determinaciones se toma 0,100 g de carbón activado y se depositan en una ampolleta de vidrio que se acopla en el interior de la celda del equipo. Se colocan 10 mL del líquido en una celda de acero inoxidable, se estabiliza la temperatura y se comienza el registro térmico por medio de una señal de potencial eléctrico de salida de los sensores, luego se realiza la inmersión de la muestra en el líquido, se registran los cambios térmicos resultantes y por último se registra un post-período durante 20 minutos al final del cual se realiza la experiencia de calibración eléctrica^{10,12}.

Adsorción de iones Ni (II), Co (II) y Cd (II)

Se determina la adsorción de los iones metálicos en los carbones activados de partida y modificados para soluciones de los iones Ni (II), Cd (II) y Co (II) de 500 mg.L⁻¹,

¹, que se preparan con reactivos grado analítico marca Merck®, para el níquel a partir de $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, para el cadmio a partir de $CdSO_4 \cdot 8H_2O$ y para el cobalto a partir de $CoCl_2$ utilizando agua doblemente destilada. La lectura de las concentraciones de los iones una vez se lleva a cabo la adsorción se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer, ANALYST 300.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Figuras 1 y 2 se presentan las isotermas de adsorción de N_2 y CO_2 respectivamente, como se observa los carbones activados exhiben isotermas de adsorción de N_2 tipo IVa, en estas isotermas la condensación capilar se observa por la presencia de un pequeño bucle de histeresis, esta comienza a ocurrir para los poros más anchos aproximadamente de 4 nm; denotando una baja proporción de mesoporosidad acompañado de una microporosidad amplia en todos los carbones activados. Los valores del volumen de microporo son obtenidos mediante la aplicación del modelo de Dubinin Raduskevich¹³. Para las isotermas de adsorción de CO_2 se observa, para el rango de presiones relativas, que estas presentan la forma típica de sólidos microporosos

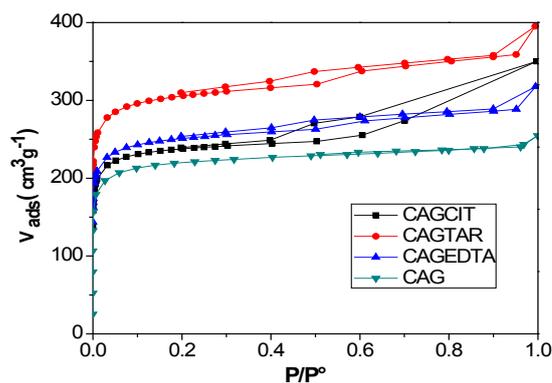


Figura 1. Isotermas de adsorción de nitrógeno a 77 K de los carbones activados modificados y el carbón activado sin modificación.

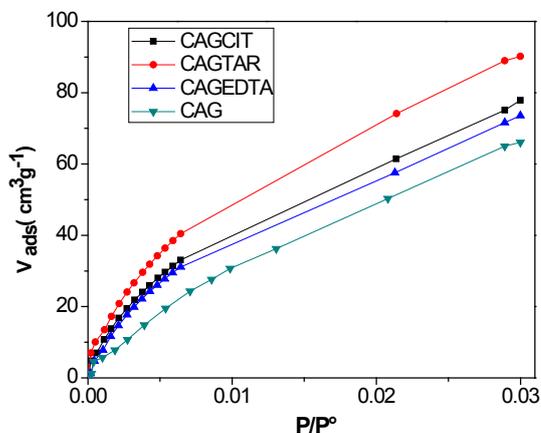


Figura 2. Isotermas de adsorción de CO_2 a 273K de los carbones activados modificados y el carbón activado sin modificación.

Tabla 1. Parámetros texturales de los carbones activados determinados a partir de las isotermas de N₂ y CO₂ a 77 K y 273 K.

Muestra	N ₂					CO ₂
	Área BET (m ² g ⁻¹)	V ₀ (cm ³ g ⁻¹)	V _{Meso} (cm ³ g ⁻¹)	V _t (cm ³ g ⁻¹)	E ₀ (kJmol ⁻¹)	V _n (cm ³ g ⁻¹)
CAG	842	0,36	0,04	0,38	7,10	0,33
CAGCIT	913	0,37	0,17	0,54	7,33	0,23
CAGTAR	1171	0,47	0,14	0,61	7,64	0,34
CAGEDTA	960	0,39	0,10	0,49	7,55	0,25

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos para la caracterización textural a partir de los datos experimentales de la adsorción de N₂ y CO₂, estos son: área superficial calculado por el modelo BET, el volumen de microporo (V₀) estimado por el modelo DR, volumen de mesoporo (V_{Meso}), volumen total de poro (V_t) calculado a la presión de relativa de 0,99 y la microporosidad estrecha (V_n) de los materiales que fue evaluada por aplicación del modelo DR a los datos experimentales de adsorción de CO₂; la densidad usada para el N₂ líquido a 77 K y CO₂ a 273 K fueron 0,808 y 1,023 g.mL⁻¹ respectivamente.

Los valores de área superficial BET para el carbón activado granular y los carbones activados modificados se encuentran entre 842-1171 m²g⁻¹. El volumen de microporo y de microporosidad estrecha se encuentran entre 0,36-0,47 cm³g⁻¹ y 0,23-0,34 cm³g⁻¹, respectivamente. Los resultados de los parámetros texturales son comparables con los reportados para carbones activados obtenidos a partir de residuos lignocelulósicos que pueden alcanzar valores de área superficial hasta de 2400 m²g⁻¹ y volumen de poro 1,4 cm³g⁻¹ 14-18. Además se presentan las energías características de adsorción (E₀) de las cuatro muestras las cuales fueron calculadas empleando el método de DR, se observan diferencias en un rango entre 3,2-7,6 % (7,33-7,64 kJmol⁻¹) con respecto al CAG sin modificar (7,10 kJmol⁻¹). Es decir, las impregnaciones con los ácidos orgánicos producen un cambio en la afinidad del adsorbato-adsorbente. Los valores obtenidos para E₀ se correlacionan de manera directamente proporcional con los parámetros texturales área superficial BET, V₀ y V_n.

En los carbones activados modificados con los tres agentes quelantes se observa un aumento en el área superficial con respecto a la muestra del carbón activado granular sin modificación ya que sumado a la incorporación de grupos superficiales oxigenados también se introducen cadenas de carbono que interactúan con el N₂ y el CO₂ que se emplean en la caracterización de los carbones activados¹⁹; el proceso de sonicación que se usa para la impregnación del carbón activado con los agentes quelantes favorece el contacto entre el sólido y las soluciones para que las moléculas de dichos agentes se incorporen a la estructura del carbón activado; el equilibrio entre estos procesos determina finalmente el efecto sobre el área superficial de los sólidos²⁰⁻²², el carbón activado que presenta los mayores valores de área superficial, volumen de microporo y microporosidad estrecha corresponde a la muestra CAGTAR con valores de 1171 m²g⁻¹, 0,47 cm³g⁻¹ y 0,34 cm³g⁻¹, respectivamente. En todos los materiales se observa concor-

dancia con respecto a los volúmenes de microporo y microporosidad estrecha obtenidas.

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos del análisis próximo de cada uno de los carbones activados. Se observa que el porcentaje de humedad de las muestras se encuentra entre 14,8 a 16,0 %, siendo mayor en las muestras modificadas, tomando en cuenta que las muestras modificadas presentan mayor número de sitios con los cuales interactúan las moléculas de agua, incrementando el carácter hidrofílico de la superficie del carbón activado.

El porcentaje de materia volátil está entre 14,5 y 25,9 %, se observa que este parámetro aumenta, con respecto al carbón activado de partida CAG, en las muestras que fueron modificadas superficialmente con los agentes quelantes, ya que su incorporación promueve la presencia de grupos químicos con oxígeno sobre la superficie del sólido, específicamente para el caso del CAGTAR²³ que se descomponen como materia volátil. El carbono fijo de los sólidos disminuye conforme aumenta el material volátil.

Tabla 2. Análisis próximo de los carbones activados

Muestra	% Humedad	% Materia Volátil	% Cenizas	% Carbono Fijo
CAG	14,8	14,5	2,96	67,6
CAGCIT	16,0	24,2	1,29	58,8
CAGTAR	15,7	25,9	2,24	56,0
CAGEDTA	15,4	21,8	2,23	60,6

La Figura 3, muestra los espectros infrarrojos obtenidos para el carbón activado de partida y las muestras modificadas. Se observa que después del proceso de modificación con los agentes quelantes existe un aumento de las intensidades de los picos que son característicos de grupos funcionales oxigenados y de materiales tipo carbonosos.

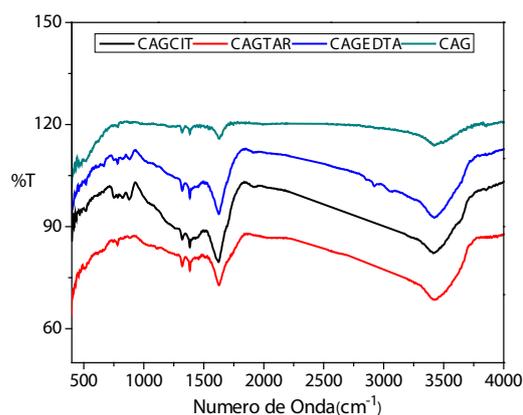


Figura 3. Espectros FTIR de los tres carbones modificados y el carbón de partida.

Los espectros IR de los carbones activados presentan cuatro bandas de interés: una ubicada entre a 3200 a 3600 cm⁻¹ asociada a vibraciones de estiramiento O-H en alcoholes y ácidos carboxílicos, otra alrededor de 2900 cm⁻¹, en el CAGEDTA, asociado con grupos de ácidos carboxílicos y carbonilos, una

tercera a 1530 cm^{-1} asociada a grupos quinonas y a 1700 cm^{-1} asociada vibraciones de estiramientos C-OH de grupos alcoholes^{24,25}.

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos para la acidez y basicidad total mediante titulaciones Boehm y la determinación del pH en el punto de carga cero de los carbones activados. Los resultados de las titulaciones Boehm se presentan como densidad de grupos por unidad de área. A partir de los resultados obtenidos se evaluaron los cambios producidos en la química superficial del carbón activado de acuerdo con la modificación a la que fue sometido.

Tabla 3. Densidad de grupos ácidos y básicos y pH en el punto de carga cero.

Muestra	Acidez Total (moléculas/nm ²)	Basicidad Total (moléculas/nm ²)	pH _{PCC}
CAG	0,141	0,065	5,40
CAGCIT	0,199	0,078	5,98
CAGTAR	0,177	0,090	6,21
CAGEDTA	0,168	0,096	6,22

El carbón activado de partida CAG presenta en sus grupos superficiales, una acidez total mayor con respecto a la basicidad total, por lo que el carácter de la superficie es ácida lo que se evidencia por un valor en el pH_{PCC} de 5,40. Las modificaciones que ocurren en la superficie del carbón activado de acuerdo al agente quelante de impregnación, se reflejan tanto en la cantidad de grupos ácidos y básicos como en los valores del pH en el punto de carga cero, pH_{PCC}.

Para los carbones activados modificados se observa un aumento en el pH_{PCC} que puede atribuirse a la incorporación de los agentes quelantes sobre los grupos ya existentes en la superficie del carbón activado lo que produce un cambio en los balances de carga y un incremento en los electrones π desapareados que se manifiesta en un aumento en la basicidad total como se muestra en la Tabla 3²⁶.

Con respecto a la determinación de las entalpías de inmersión de los carbones activados modificados en benceno, la Figura 4 presenta las curvas de potencial eléctrico en función del tiempo para el proceso de inmersión. Se observa que el pico que se produce por la interacción entre el carbón activado y el solvente es mayor para el carbón activado que se modifica con ácido tartárico, CAGTAR y menor para carbón que se impregna con EDTA, CAGEDTA.

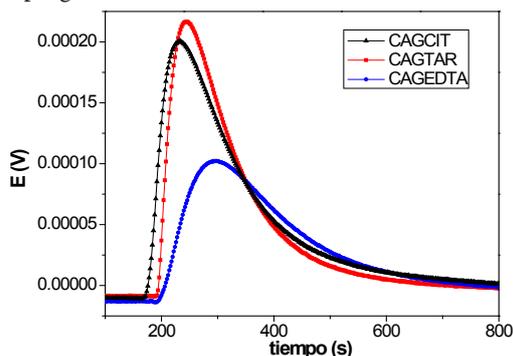


Figura 4. Termogramas de inmersión en benceno de los tres carbones activados modificados

En la Figura 5 se muestran las isotermas en solución acuosa de la muestra CAGEDTA, en diferentes soluciones a distintas concentraciones de los tres iones metálicos de este estudio; mostrando una mayor cantidad adsorbida para los iones de Cobalto, con una adsorción intermedia para iones de Níquel y por último se observa una menor cantidad adsorbida para los iones Cadmio cuya isoterma muestra un comportamiento diferente al de los iones Ni(II) y Co(II). Las isotermas muestran que el proceso de modificación superficial de los carbones activados con los agentes quelantes tiene influencia sobre el proceso de adsorción de estos iones.

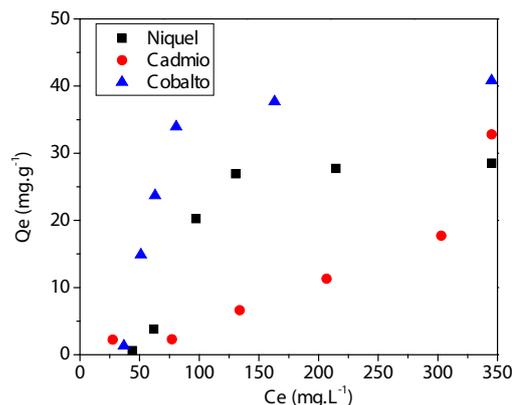


Figura 5. Isotermas en solución acuosa del carbón activado modificado con EDTA, en diferentes soluciones de Ni(II), Cd(II) y Co(II).

En la Tabla 4 se presentan los resultados de las entalpías de inmersión de los carbones activados en benceno con las cantidades adsorbidas de los iones metálicos, Qe, desde una solución con concentración de 500 mg.L^{-1} de cada uno de estos. Las entalpías de inmersión son de carácter exotérmico y se relacionan con el proceso superficial que se lleva a cabo entre el sólido y el líquido. Se obtienen entalpías de inmersión en benceno con valores entre $-73,87$ y $-143,80\text{ Jg}^{-1}$, estos valores evidencian una correlación con el área superficial de los sólidos, evidenciando cambios en las características químicas y texturales del carbón activado de partida por la impregnación con los ácidos orgánicos.

Tabla 4. Entalpías de inmersión de los carbones activados en benceno y cantidad adsorbida de los iones metálicos desde una solución acuosa de 500 mg.L^{-1}

Carbón activado	ΔH_{im} C ₆ H ₆ (Jg ⁻¹)	Qe		
		Ni(II) (mg.g ⁻¹)	Cd(II) (mg.g ⁻¹)	Co(II) (mg.g ⁻¹)
CAG	-106,4	22,8	22,9	35,5
CAGCIT	-137,6	30,4	32,5	41,2
CAGTAR	-143,8	26,4	33,9	40,9
CAGEDTA	-73,87	28,5	32,8	40,8

En la Figura 6 se relacionan la cantidad adsorbida de cada uno de los iones metálicos, Qe, y el área superficial BET de los carbones activados, se observa que al aumentar el valor del área superficial, en los carbones activados modificados, la capacidad de ad-

sorción aumenta y se mantiene alrededor de un valor, lo que indica que el área superficial no es el factor que más afecta la adsorción de los iones metálicos, para el Ni(II) se observa inicialmente un aumento en la capacidad de adsorción para el carbón activado CAGCIT y para los otros dos carbones activados una disminución en la adsorción.

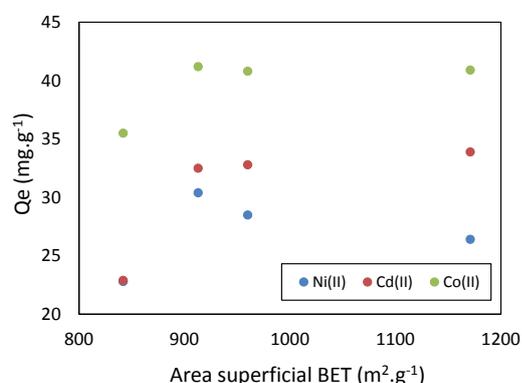


Figura 6. Relación entre el área superficial BET y la cantidad adsorbida, Q_e , de los iones metálicos sobre los carbones activados.

En la Figura 7 se presenta la relación entre la entalpía de inmersión de los carbones activados en benceno y la cantidad adsorbida de los iones metálicos en los sólidos.

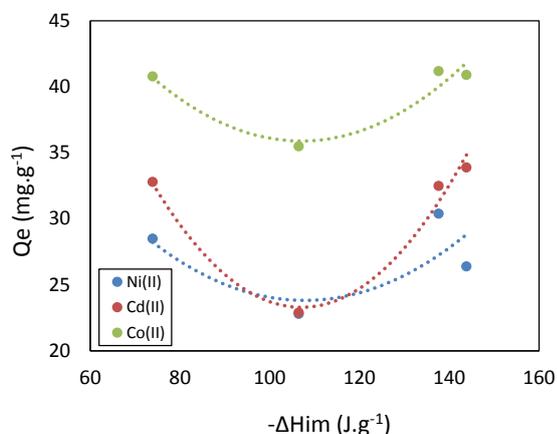


Figura 7. Relación entre las entalpías de inmersión en benceno y el Q_e de los carbones activados en los diferentes metales.

La entalpía de inmersión de sólidos porosos, como los carbones activados, en líquidos apolares es proporcional al área superficial de los sólidos y refleja las interacciones no específicas entre el sólido y el líquido; sin embargo los resultados que se encuentran en este trabajo muestran que el carbón activado modificado con EDTA muestra un comportamiento distinto ya que presenta el valor de entalpía de inmersión más bajo del conjunto de sólidos sin ser el que presenta menor valor de área superficial, lo que indica que se produce un tipo de interacción diferente que genera menos energía total en el proceso de inmersión. La Figura 7

muestra que al reaccionar la entalpía de inmersión de los carbones activados en benceno y las cantidades adsorbidas de los iones (se señala la tendencia mediante líneas punteadas), el carbón activado de partida presenta un mínimo en las gráficas que indican la influencia de las modificaciones superficiales en la adsorción de los iones Ni(II), Cd(II) y Co(II).

CONCLUSIONES

Se obtienen carbones activados con diferentes características texturales, que presentan valores de área superficial BET entre 842 y 1171 m².g⁻¹, el volumen de microporo y de microporidad estrecha presentan valores entre 0,36-0,47 cm³.g⁻¹ y 0,23-0,34 cm³.g⁻¹, respectivamente.

El carbón activado que presenta los mayores valores de área superficial, volumen de microporo y microporidad estrecha corresponde a la muestra CAGTAR con valores de 1171 m².g⁻¹, 0,47 cm³.g⁻¹ y 0,34 cm³.g⁻¹, respectivamente.

La caracterización entálpica de los carbones activados en benceno muestra un aumento en los valores de la entalpía de inmersión con el aumento en los valores del área superficial BET y con el aumento en el valor del volumen de microporos, con excepción del carbón activado modificado con EDTA, que presenta el menor valor de entalpía de inmersión de -73,9 J.g⁻¹.

Los iones Ni(II) y Co(II) presentan mayor adsorción en el carbón activado modificado con ácido cítrico, CAGCIT, en tanto que los iones Cd(II) se adsorben en mayor cantidad en el carbón activado modificado con ácido tartárico, CAGTAR, lo que indica que el proceso para este ion se realiza por medio de un tipo de interacción diferente con respecto a los otros dos iones.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Colombia, Dirección de Investigación de la Sede Bogotá (DIB) y al Programa de Jóvenes Investigadores de Colciencias Convocatoria 617 del 2013. Además, al Convenio Marco entre la Universidad de los Andes y la Universidad Nacional de Colombia y al Acta de Acuerdo entre los Departamentos de Química de las dos universidades.

REFERENCIAS

1. Rivas, G.T. Caracterización de la biosorción de cromo con hueso de aceituna. *Tesis Doctoral. Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Granada. España.* 2006, pp 11-39.
2. Madrid, L. "Heavy metals": Reminding a long-standing and sometimes forgotten controversy. *Geoderma.* **2010**, 155, 128-129.
3. Silvestre-Albero, A.; Gonçalves, M.; Itoh, T.; Kaneko, K.; Endo, M.; Thommes, M. Rodríguez-Reinoso, F.; Silvestre-Albero, J. Well-defined me-

- soporosity on lignocellulosic-derived activated carbons. *Carbon*. **2012**, 50, 66–72.
4. Rodríguez-Reinoso F. El carbón activado como adsorbente universal, en: Sólidos porosos preparación, caracterización y aplicaciones. Bogotá. Ediciones Uniandes. **2007**, 1-42
 5. Rodríguez-Reinoso, M. Molina Sabio. Textural and chemical characterization of microporous carbons. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1998**. 76, 271-294.
 6. Giraldo L.; Moreno J.C. Determinación de la entalpía de inmersión y capacidad de adsorción de un carbón activado en soluciones acuosas de plomo. *Revista Colombiana de Química*. **2004**, 33, 87-97.
 7. Chen, J.; Wu, S.; Chong, K. Surface modification of a granular activated carbon by citric acid for enhancement of copper adsorption. *Carbon*. **2003**, 1, 1979–1986
 8. Boehm, H. P. Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon*. **1994**, 32, 759-769.
 9. Kosmulski, M. pH-dependent surface charging and points of zero charge. II. Update. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, 275, 214–224.
 10. Rodríguez, G.; Giraldo, L.; Moreno, J.C. Evaluación de la señal generada en un calorímetro de conducción de calor en la determinación de entalpías de inmersión para caracterización de sólidos porosos. *Afinidad*. **2009**, 66, 1-9.
 11. Menendez, J. A. On the use of calorimetric techniques for the characterization of carbons: A brief review. *Thermochim Acta*. **1998**, 312, 79-86.
 12. Giraldo, L.; Moreno, J.C. Determination of the Immersion Enthalpy of activated carbon by Microcalorimetry of the Heat Conduction. *Instrum. Sci. Technol.* **2000**, 28, 171-178.
 13. Thommes, M.; Kaneko, K.; Neimark, A.V.; Olivier, J.P.; Rodríguez-Reinoso, F.; Rouquerol, J.; Kenneth S.W. Sing Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* 2015.
 14. Ioannidou, O.; Zabaniotou, A. Agricultural residues as precursors for activated carbon production – A review. *Renew Sust Energ Rev.* **2007**, 9, 1966-2005
 15. Jagtoyen, M.; McEnaney, B.; Stencel, J. Activated Carbons from Bituminous Coals by Reaction with H₃P₀4: Influence of Coal Cleaning. *Fuel Process Technol.* **1993**, 2, 85–96.
 16. Md. Zahangir, Alam.; Suleyman, A. M.; Noraini, K. Production of activated carbon from oil palm empty Fruit bunches for removal of Zinc. Twelfth International Water Technology Conference, IWTC12 Alexandria, Egypt. 2009, pp 373-383
 17. Molina-Sabio, M.; Rodríguez-Reinoso, F.; Caturla, F.; Sellys, M. J. Development of porosity in combined Phosphoric acid- carbon dioxide activation. *Carbon*. **1996**, 4, 457-462.
 18. Zuo, S.; Yang, J.; Liu, J.; Cai, X. Significance of the carbonization of volatile pyrolytic products on the properties of activated carbons from phosphoric acid activation of lignocellulosic material. *Fuel Process Technol.* **2009**, 7–8, 994–1001
 19. Daud W.; Houshamnd A. Textural characteristics, surface chemistry and oxidation of activated carbon. *Journal of Natural Gas Chemistry*. **2010**, 19, 267–279.
 20. Silvestre-Albero, A.; Silvestre-Albero, J.; Sepúlveda-Escribano, A.; Rodríguez-Reinoso F. Ethanol removal using activated carbon: Effect of porous structure and surface chemistry. *Microporous and Mesoporous Materials*. **2009**, 120, 62–68.
 21. Radovic, L.; Moreno-Castilla, C.; Rivera-Utrilla. J. Carbon Materials as Adsorbents in Aqueous Solutions. En *Chemistry and Physics of Carbon*. A Serie of Advances. New York: Ed Marcel Dekker. 2000; pp 293-297.
 22. Yin, C.; Aroua, M.; Daud, W. Review of modifications of activated carbon for enhancing contaminant uptakes from aqueous solutions. *Separation and Purification Technology*. **2007**, 52, 403-411
 23. Daud, W. M. A. W.; Houshamnd, A. Textural characteristics, surface chemistry and oxidation of activated carbon. *Journal of Natural Gas Chemistry*. **2010**, 19, 267-279.
 24. Salame, I.; Bandosz, T. Study of Water Adsorption on Activated Carbons with Different Degrees of Surface Oxidation. *J Colloid Interf Sci.* **1999**, 210, 367–374.)
 25. Sun, Ch.; Berg, J. A review of different techniques for solid surface acid-base characterization. *Adv Colloid Interfac.* **2010**, 105, 151-175.
 26. Bandosz, J.T. Surface chemistry of activated carbons and its characterization. Elsevier Science. New York. 2006. pp. 159-185.

Kinetic study of spontaneous deposition process of molybdenum oxides

^aP.A. Lazo and ^bA. P. Lazo.

^aInstituto de Química y Bioquímica, Universidad de Valparaíso, Av. Gran Bretaña 1111, Valparaíso, Chile. ^bDepartamento de Ingeniería Química y Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María, Av. España 1680, Valparaíso, Chile.

Estudio cinético del proceso espontáneo de deposición de los óxidos de molibdeno

Estudi cinètic del procés espontani de deposició de òxids de molibdè

RECEIVED: 11 JANUARY 2016; REVISED: 27 SEPTEMBER 2016; ACCEPTED: 5 OCTOBER 2016

SUMMARY

A study of the rate of spontaneous deposition of molybdenum oxides on zinc in ammonia solutions was carried out. Effects of solution pH, disk rotational speed, molybdenum concentration and temperature were evaluated. The process was divided in two stages. The rate of stage 2 was lower than the rate of stage 1, this was attributed to the nature of the film formed on zinc surface. The unreacted core model indicates a mixed control, controlled by diffusion through the liquid film and chemical reaction, nevertheless, the results were inconsistent with the diffusion of MoO_4^{-2} because of the rate of the process increases with the decrease in the concentration of molybdate.

Keywords: Molybdenum; zinc; spontaneous; deposition; oxide.

RESUMEN

Se ha llevado a cabo un estudio de la velocidad de deposición espontánea de los óxidos de molibdeno sobre zinc en soluciones de amoníaco. Se han evaluado los efectos del pH de la solución, de la velocidad rotacional del disco, de la concentración de molibdeno y de la temperatura. El proceso se ha dividido en dos etapas. La velocidad de la etapa 2 era menor que la velocidad de la etapa 1, lo que se atribuía a la naturaleza de la película formada en la superficie de zinc. El modelo del núcleo sin reaccionar indica un control mixto, controlado por la difusión a través de la película líquida y

la reacción química. Sin embargo, los resultados son incompatibles con la difusión del MoO_4^{-2} debido a que la velocidad del proceso aumenta con el descenso de la concentración de molibdato.

Palabras clave: Molibdeno; zinc; espontáneo; deposición; óxido.

RESUM

S'ha portat a terme un estudi de velocitat de deposició espontània dels òxids de molibdè sobre zinc en solucions de l'amoníac. S'han evaluat els efectes del pH de la solució, els efectes de la velocitat rotacional del disc, de la concentració de molibdè i de la temperatura. El procés s'ha dividit en dues etapes. La velocitat de la etapa 2 era inferior a la velocitat de la etapa 1, i això s'atribuïa a la naturalesa de la pel·lícula formada sobre la superfície de zinc. El model del nucli sense reaccionar indica un control mixte, controlat per la difusió travessant la pel·lícula líquida i per la reacció química. No obstant això, els resultats són incompatibles amb la difusió del MoO_4^{-2} degut a que la velocitat del procés augmenta amb el descens de la concentració de molibdat.

Paraules clau: Molibdè; zinc; espontani; deposició; òxid.

*Corresponding author: ^apamela.lazo@uv.cl;
^bandrea.lazo@usm.cl

INTRODUCTION

Several publications have dealt with the spontaneous deposition of Mo compounds on Zn by molybdate conversion¹⁻⁵. Most of these researches are focussed on the anti-corrosion properties of the deposits in acidic media.

This work presents a kinetic study of spontaneous deposition of molybdenum on zinc in ammonia solutions using a rotating disk system in order to obtain a better understanding of the process and the effect of experimental conditions such as pH, temperature, rotational speed of the disk and concentration of molybdenum on the kinetics, morphology and composition of the deposits.

MATERIALS AND METHODS

Tests were carried out using disks of Zn of 99.9% purity of 2.2 cm in diameter and 0.22 cm in thickness, attached to a Stuart Scientific SS3 stirrer. The stirrer allows the regulation of revolutions per minute between 0 and 2500. All areas, except work area, were covered with epoxy and Teflon.

Before the tests, the disks of Zn were polished with sandpaper N°400, 600 and 1200, and washed with acetone and deionized water.

A double-jacket glass cell connected to a Techne thermostatic bath was used.

For each experiment a volume of 200 cm³ was used. The studied solutions were 0.63 mol L⁻¹ MoO₃ in 2.55 mol L⁻¹ NH₄OH and 0.15 mol L⁻¹ MoO₃ in 2.55 mol L⁻¹ NH₄OH, these solutions were deaerated by oxygen-free nitrogen bubbling. Samples of 3 cm³ were taken every five minutes and their molybdenum content was analyzed.

The analysis for Mo was carried out by means of UV-visible spectrophotometry using an Agilent 8453 unit. Scanning electron microscopes (SEM) JEOL 5410 and a LEO 1429VP were used to examine the obtained deposits. Their compositions were obtained by energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) attached to both SEM units. The studied conditions are presented in Table 1.

Table 1. Experimental parameters, kinetic study 1

No	Mo mol L ⁻¹	T °C	Ω rpm	pH _{initial}	pH _{final}
1	0.15	25	250	10.6	10.4
2	0.15	25	1000	10.5	10.3
3	0.15	45	250	10.6	10.1
4	0.15	25	250	7.7	7.5
5	0.15	35	250	10.5	10.2
6	0.15	25	600	10.4	10.3
7	0.15	25	250	8.6	8.4
8	0.05	25	250	11.0	10.8

RESULTS AND DISCUSSION

The results of speciation made with Phreeqc 2.15.0 indicate the predominance of molybdenum in solution as molybdate ion MoO₄⁻⁴. Thus, the initial molybdate concentration was assumed to be equal to the dissolved Mo trioxide concentration.

The reduction reaction (1) proposes the molybdate ion reduction in cathodic areas.



And, the most probable oxidation reactions for zinc are the following two, (2) and (3):

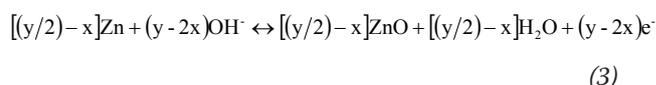
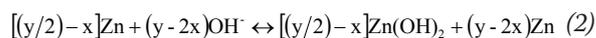


Table 2 shows the composition of the deposits obtained by EDS.

Table 2. Composition of obtained deposits (total of measurements)

No		Mo	O	Zn	O/Mo
1	mole %	45.33	27.21	27.46	0.60
	weight %	66.10	6.62	27.29	
2	mole %	38.88	21.24	38.99	0.55
	weight %	55.86	5.09	39.05	
3	mole %	44.74	40.21	15.06	0.90
	weight %	72.50	10.87	16.63	
4	mole %	42.22	26.55	31.23	0.63
	weight %	62.15	6.52	31.33	

Experimental results indicate a process with a first order heterogeneous kinetics with two clear stages: a) the first, faster one, characterized by a rapid molybdenum removal from solution and, b) the second one, with a lower speed than stage 1.

Figures 1 to 4 shown with subscript "e" the experimental results for different values of the solution pH, rotational speed, molybdenum concentration and temperature, the corrected results by the least squares method are presented with subscript "c". Also, a procedure proposed by Choo et al.⁶ to correct molybdenum concentrations by sampling was used. The data are presented as X_{molybdate} versus time, where X_{molybdate} is the conversion and it represents the fraction of molybdenum that comes out of solution to be deposited on zinc plate.

Effect of the solution pH: The conversion rate in stage 1 increases with decreasing solution pH, this is shown in Tables 1 and 2, and Fig. 1.

During stage 2, the variation of the conversion rate was negligible and the duration of the stage increased with decreasing pH.

The total removal of molybdenum from solution, including both stages, was 16.1% at pH = 7.7, 15.6% at

pH = 8.6 and 14.0% at pH = 10.6. This variation may be associated with the increase in the corrosion of the Zn disk and, therefore, to an increase in the available surface area of zinc with lower pH values. An increase in H^+ that would favor molybdate reduction according to reaction 1 could also be related.

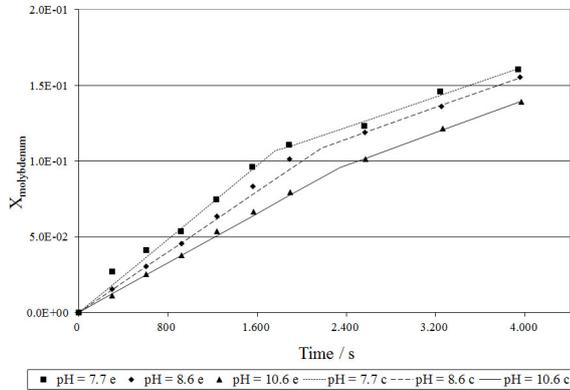


Fig. 1. Mo conversion for different values of solution pH.

Effect of rotational speed of the disk: Fig 2 and Tables 1 and 2 show the increase of conversion rate for stage 1 by increasing rotational speed. It is still unclear the behavior of the stage 2. Taking into account both stages, the amount of removed molybdenum increased along with the increase of rotational speed. The morphology of the deposits suggests that an increase in the rotational speed causes a higher density of cracks, exposing a larger area. The larger available area would favor an increase in Mo removal rate. The abrupt decrease in the removal rate observed in the stage 2 could be related to the passivating features of the formed deposit.

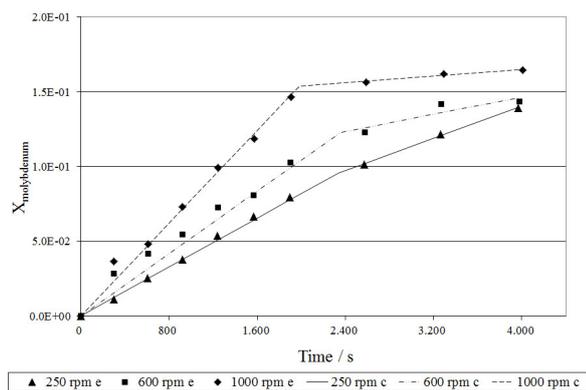


Fig. 2. Mo conversion for different values of rotational speed.

Effect of molybdenum concentration: It can be seen from Fig. 3 the change in conversion rate with time for two different values of molybdenum concentration in solution. The conversion rate of stage 1 increased with decreasing Mo concentration, but also, the duration of the stage 1 decreased with decreasing Mo concentration.

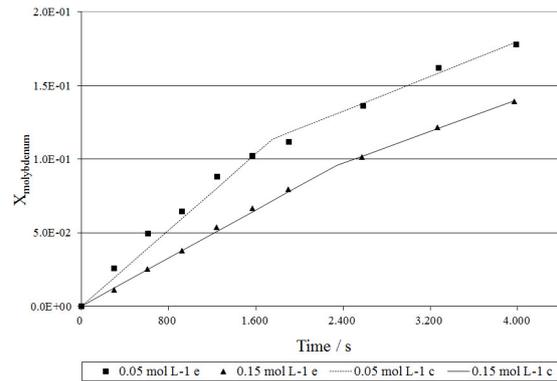


Fig. 3. Mo conversion for different molybdenum concentrations.

There are no differences in the conversion rate of stage 2, nevertheless, decreasing molybdenum concentration increased the duration of this stage.

Considering stages 1 and 2, a higher quantity of molybdenum was removed from 0.05 mol L⁻¹ solution.

Effect of temperature: Fig. 4 shows the results of experiments carried out at 25, 35 and 45°C. In all cases, both stages exhibited different duration, but the results indicated that a higher mass of molybdenum was removed from solution with increasing bath temperature.

Stage 1 showed an increase in conversion rate with increasing temperature. There were no changes in removal rate during stage 2, however, the different duration of this stage resulted in an increase in Mo mass removal with increasing temperature.

As already mentioned, increasing temperature causes a higher rate of Mo removal, but also it produces an increase in the oxygen content of the deposit. The latter could be linked to the oxidation of the zinc surface and/or to the fact that the stoichiometry of the Mo oxides is highly dependent on experimental conditions.

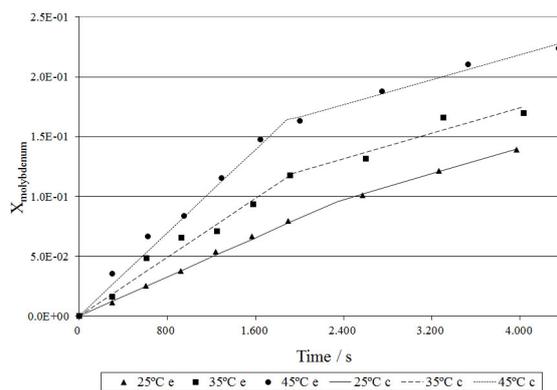


Fig. 4. Mo conversion for different temperatures.

Summarizing, the quantity of removed molybdenum in stage 1 increased with increasing disk rotational speed, decreasing bath pH, increasing temperature and decreasing Mo concentration. On the other side, during stage 2, more molybdenum was removed with decreasing Mo concentration, with decreasing pH, with increasing temperature and with decreasing disk rotational speed.

In all experiments, the removal of molybdenum during stage 1 was higher than during stage 2. The lower removal rate of molybdenum in stage 2 can be attributed to the surface blockage by the formation of a coherent, smooth, bright and impervious deposit and/or due to the passivation of the Zn surface.

An unreacted core model was used in order to verify the control mechanism for stage 1. A geometry of a sheet was used.

The data were adjusted to each kind of control: MoO_4^{2-} diffusion through the liquid film, MoO_4^{2-} diffusion through the ash and MoO_4^{2-} reaction with Zn. Regression coefficients for stage 1 can be seen in Table 3.

Table 3. Correlation coefficients (R2) for stage 1

N°	Film	Ash	Chemical
1	0.99	0.87	0.99
2	0.99	0.88	0.99
3	0.99	0.89	0.99
4	0.99	0.90	0.99
5	0.99	0.87	0.99
6	0.99	0.87	0.99
7	0.99	0.87	0.99
8	0.99	0.91	0.99

The values obtained for the rate constant of stage 1 are presented in Table 4. The data can be adjusted to a straight line only for a diffusion controlled process or a reaction controlled process. Accordingly, stage 1 could be controlled by diffusion through the liquid film or by chemical (activation) control at the Zn surface.

The obtained results suggest a mixed control for stage 1, controlled by chemical reaction and diffusion through the liquid film, but the increase of the process rate with decreasing MoO_4^{2-} concentration indicates that diffusion of MoO_4^{2-} could be not the limiting step in the process and is probably the proton diffusion towards the deposit surface. It is then necessary to test the hypothesis of mixed control.

Table 4. Rate constant for each experiment. Stage 1

N°	Film	Ash
1	4.10-10-5	2.14-10-3
2	7.76-10-5	4.04-10-3
3	8.71-10-5	4.41-10-3
4	6.05-10-5	3.17-10-3
5	6.16-10-5	3.19-10-3
6	5.23-10-5	2.73-10-3
7	4.99-10-5	2.61-10-3
8	6.48-10-5	3.38-10-3

CONCLUSIONS

The studied process corresponds to a spontaneous deposition of non-stoichiometric compounds of mo-

lybdenum oxides on metallic zinc in ammonia solutions.

Experimental results pointed to first order heterogeneous kinetics with two clear stages: a) the first, faster one, characterized by rapid molybdenum removal from solution and, b) the second one, which was slower probably due to the change in the mechanism of the process, the formation of a coherent, smooth and bright deposit and/or the passivation of the exposed zinc surface.

It is clear that by decreasing concentration of molybdenum trioxide in solution in the 0.05 – 0.15 mol L⁻¹ range the process rate increases, the same change is shown by increasing pH in the 7.7 – 10.6 range, with increasing rotation speed of the zinc disk between 250 and 1000 rpm and with increasing temperature in the 25 – 45°C range.

The unreacted core model was used to fit the data. The model indicates a mixed control for stage 1.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the CONICYT Chilean government's science and technology agency which funded this work through FONDECYT project 1061160, headed by Prof. Luis Cifuentes. We would like to thank the Mining Engineering Dept, Universidad de Chile, for its continued support.

REFERENCES

1. Da Silva, C. G.; Margarit-Mattos, I. C. P.; Mattos, O. R.; Perrot, H.; Tribollet Vivier, V.; *Corros. Sci.* **2009**, *51*, 151.
2. Liu, D. L.; Yang, Z. G.; Wang Z. Q.; Zhang, C.; *Surf. Coat. Technol.* **2010**, *205*, 2329.
3. Magalhaes, A. A. O.; Margarit, I. C. P.; Mattos, O. R.; *J. Electroanal. Chem.* **2004**, *572*, 433.
4. Walker, D. E.; Wilcox, G. D; *Transactions of the IMF.* **2008**, *86*, 251.
5. Wharton, J. A.; Ross, D. H.; Treacy, G. M.; Wilcox, G. D.; Baldwin, K. R.; *J. Appl. Electrochem.* **2003**, *33*, 553.
6. Choo, W. L.; Jeffrey, M. I.; Robertson, S. G.; *Hydrometallurgy.* **2006**, *82*, 110.

Remoción de fenol, *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol desde carbones activados químicamente con ácido sulfúrico desde material lignocelulosico de desecho: Efecto de la concentración del agente activante

N.G. Rincon-Silva¹, J.C. Moreno-Piraján^{1*} y L. Giraldo²

¹Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Grupo de Investigación en Sólidos Porosos y Calorimetría, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. ²Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Removal of phenol, p-nitrophenol and p-chlorophenol from activated carbon chemically with sulfuric acid from lignocellulosic waste material: Effect of the concentration of activating agent

Avaluació d'alternatives fotomètriques per a l'anàlisi de diòxid de clor en aigües: amarant i vermell de clorofenol

RECEIVED: 26 JANUARY 2016. REVISED: 27 MARCH 2016. ACCEPTED: 30 MAY 2016

SUMMARY

Activated carbons were prepared from shell (*Eucalyptus globulus*), by chemically activated by impregnation with sulfuric acid solutions at different concentrations (10, 25, 40 and 60% V / V), followed a process of carbonization was performed and finally the samples were washed until constant pH. For the characterization of samples different techniques were calculated; the apparent surface area and micropore volume using N₂ physisorption was evaluated, the sample increased surface area provided was more activated acid concentration which presents values of area of 513 m² g⁻¹ solid and also has greater with micropore volume 0.340 cm³ g⁻¹. The surface chemistry of the activated carbon was characterized by Boehm method, where it is evident that the values of concentrations of acidic groups are high; up to 0.364 meq g⁻¹, which was confirmed by the low values in the pH_{pzc} aspect of the nature of the activating agent used, plus immersion calorimetry was used for further characterization of the surface chemistry which is continuous with the trend indicated.

After the characterization of samples proceeded to application from aqueous solution which was adsorbed: phenol *p*-chlorophenol, *p*-nitrophenol and highly polluting compounds showing results in the adsorption capacity of the carbon to 2500.00 mg g⁻¹. Likewise, a study of immersion calorimetry phenols were carried out where is observed high correlation

between the energetic values and the adsorption capacity of ACs and textural properties of these.

Keywords: Activated carbon; sulfuric acid; phenol; *p*-nitrophenol; *p*-chlorophenol; adsorption isotherm; adsorption; apparent surface area; immersion calorimetry; surface acidity and basicity.

RESUMEN

Se prepararon carbones activados, a partir de cáscara de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), por activación química mediante impregnación con soluciones de ácido sulfúrico a diferentes concentraciones (10, 25, 40 y 60 % V/V), seguido se realizó un proceso de carbonización y finalmente las muestras se lavaron hasta pH constante. Para la caracterización de las muestras se emplearon diferentes técnicas, por ejemplo; el área superficial aparente y el volumen de microporos se evaluaron empleando fisisorción de N₂, la muestra que mayor área superficial presentó fue el sólido activado con mayor concentración de ácido la cual presenta valores de área de 513 m² g⁻¹, así como también exhibe mayor volumen de microporos con 0,340 cm³ g⁻¹. La química superficial de los carbones activados fue caracterizada por el método Boehm, donde se evidencia

*Corresponding author: jumoreno@uniandes.edu.co

que los valores de concentraciones de grupos ácidos son altos; hasta $0,364 \text{ meq g}^{-1}$, lo que se confirmó con los bajos valores en el pH_{pcc} aspecto relacionado con la naturaleza del agente activante empleado, además se empleó calorimetría de inmersión para una caracterización más completa de la química superficial donde se continuo con la tendencia indicada. Posterior a la caracterización de las muestras se procedió a la aplicación desde solución acuosa donde se adsorbió: fenol, *p*-clorofenol y *p*-nitrofenol, compuestos altamente contaminantes, donde se obtuvieron resultados en la capacidad de adsorción de los carbones de hasta de $2500,00 \text{ mg g}^{-1}$. Así mismo se realizó un estudio de calorimetría de inmersión con los fenoles donde se aprecia evidente correlación entre los valores energéticos con la capacidad de adsorción de los CAs así como con las propiedades texturales de estos.

Palabras clave: Carbón activado; ácido sulfúrico; fenol, *p*-nitrofenol; *p*-clorofenol; isoterma de adsorción; adsorción; área superficial aparente; calorimetría de inmersión; acidez y basicidad superficial.

RESUM

Es van preparar carbons activats, a partir de closca d'eucaliptus (*Eucalyptus globulus*), per activació química mitjançant impregnació amb solucions d'àcid sulfúric a diferents concentracions (10, 25, 40 i 60% V / V), seguit es va realitzar un procés de carbonització i finalment les mostres es van rentar fins a pH constant. Per a la caracterització de les mostres es van emprar diferents tècniques, per exemple; l'àrea superficial aparent i el volum de microporus es van avaluar emprant fisiorció de N_2 , la mostra que major àrea superficial va presentar va ser el sòlid activat amb més concentració d'àcid la qual presenta valors d'àrea de $513 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, així com també exhibeix major volum de microporus amb $0,340 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$. La química superficial dels carbons activats va ser caracteritzada pel mètode Boehm, on s'evidencia que els valors de concentracions de grups àcids són alts; fins $0,364 \text{ meq g}^{-1}$, el que es va confirmar amb els baixos valors en el pH_{pcc} aspecte relacionat amb la naturalesa de l'agent activant empleat, a més es va emprar calorimetria d'immersió per a una caracterització més completa de la química superficial on es continu amb la tendència indicada. Posterior a la caracterització de les mostres es va procedir a l'aplicació des solució aquosa on es va adsorbir: fenol, *p*-clorofenol i *p*-nitrofenol, compostos altament contaminants, on es van obtenir resultats en la capacitat d'adsorció dels carbons de fins de $2500,00 \text{ mg g}^{-1}$. Així mateix es va realitzar un estudi de calorimetria d'immersió amb els fenols on s'aprecia evident correlació entre els valors energètics amb la capacitat d'adsorció dels CA així com amb les propietats texturals d'aquests.

Paraules clau: Carbó activat; àcid sulfúric; fenol, *p*-nitrofenol; *p*-clorofenol; isoterma d'adsorció; adsor-

ció; àrea superficial aparent; calorimetria d'immersió; acidesa i basicitat superficial.

INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua es uno de los principales problemas ambientales en la actualidad, este proceso se le denomina a cualquier alteración en las características organolépticas, físicas, químicas y microbiológicas de este recurso, como resultado de las actividades humanas o procesos naturales que conducen al rechazo, enfermedad o muerte al consumidor^(1,2). La contaminación hídrica es causada por vertidos, derrames y depósitos directos o indirectos de toda clase de materiales, desechos y en general toda acción susceptible de provocar un incremento de la degradación del agua, modificando sus características^(1,2). El origen de la contaminación hídrica está asociado directamente a actividades antropogénicas, dado que el hombre genera aguas residuales que pueden ser clasificadas de origen doméstico, industrial o agrícola. Además a este tipo de residuos se suman las aguas lluvias, asociados con la escorrentía superficial y que pueden clasificarse como agua residual dependiendo de la zona donde se origine^{1,2}.

Dentro de los principales agentes contaminantes del agua y variables que la afectan se encuentran^{2,3}:

- Agentes patógenos: Bacterias, virus, protozoos y parásitos que entran al agua, provenientes de desechos orgánicos.
- Desechos que requieren oxígeno: Por desechos orgánicos pueden ser descompuestos por bacterias que usan oxígeno para biodegradarlos. Si hay poblaciones grandes de estas bacterias pueden consumir el oxígeno del agua, afectando la vida acuática.
- Sedimentos o materia suspendida: Por sustancias insolubles del suelo que enturbian el agua y que son la principal fuente de contaminación.
- Por sustancias radiactivas: Provenientes de desechos de centrales radioactivas, pueden causar daños congénitos, cáncer y la muerte de diversos organismos.
- Por sustancias que causan incremento de temperatura: Puede disminuir el contenido de oxígeno y afectar los organismos
- Sustancias inorgánicas: Por ácidos, compuestos con metales pesados como óxidos que son altamente tóxicos y peligrosos y algunos altamente cancerígenos por ejemplo, cadmio, arsénico, mercurio, plomo, etc.
- Sustancias orgánicas: por hidrocarburos, plaguicidas, algunos solventes y compuestos fenólicos.

Como se evidenció, entre las sustancias orgánicas se encuentran los fenoles, los cuales son considerados contaminantes prioritarios por la organización mundial de la salud (*World Health Organization*) y por la EPA (*Environmental Protection Agency*) debido a su toxicidad sobre los organismos incluso a bajas concentraciones debido a sus efectos negativos en el am-

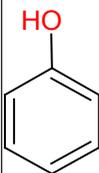
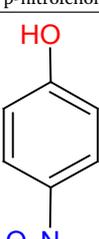
biente y los inconvenientes generados en el equilibrio biológico como la muerte de la vida en habitas acuáticos, la inhibición de las actividades normales de microorganismos y los efectos carcinógenos en varios animales^{1,4-6}. El fenol y sus derivados se utilizan en un gran número de industrias como la farmacéutica, química y petroquímica, además en procesos donde se sintetiza: papel, madera, caucho, colorantes, plaguicidas, etc.⁷. Por tal razón hay presencia de grandes cantidades de subproductos químicos con presencia de fenoles que son arrojados a fuentes hídricas y en algunas ocasiones este proceso se realiza sin ningún tipo de vigilancia y control⁷.

Las advertencias de toxicidad específicas en animales para los fenoles utilizados en este estudio indican:

- El fenol al contacto con los ojos y la piel puede causar irritación, si se ingiere puede causar náuseas, vértigo, sofocación, dolor de cabeza, delirio y colapso, adicionalmente puede causar daño en las células y modificar su normal funcionamiento⁸.
- El *p*-nitrofenol es fatal si se ingiere, irrita la piel y pulmones, afecta el sistema nervioso central, la sangre, el hígado y los riñones⁹.
- El *p*-clorofenol es fuertemente irritante de los ojos, la piel y el tracto respiratorio, si es ingerido produce un aumento en la presión sanguínea y retarda el pulso, además, aumenta la concentración del azúcar en la sangre, adicionalmente se ha demostrado que causa daños en el ADN, colapso vascular y puede causar la muerte¹⁰.

En la Tabla 1 se evidencian las principales propiedades fisicoquímicas y la estructura de los compuestos empleados en esta investigación⁶.

Tabla 1. Estructura y propiedades fisicoquímicas de fenol, *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol. Imágenes editadas por autores.

Compuesto fenolico	fenol	<i>p</i> -clorofenol	<i>p</i> -nitrofenol
Estructura			
Peso molecular (g mol ⁻¹)	94.1	128.6	139.1
Tamaño molecular (Å)	5.76 x 4.17	6.47 x 4.17	6.84 x 4.17
Solubilidad a 25 °C (g L ⁻¹)	93	27	1,70
pK _a	9,89	9,37	7,15

En vista de la gran toxicidad de estos compuestos orgánicos, de su presencia permanente en cuerpos hídricos y la gran cantidad de industrias que los producen como subproductos en diferentes procesos, en esta investigación se ha propuesto sintetizar car-

bones activados (CAs) a partir de un residuos lignocelulosico (semilla de Eucalipto) activados mediante tratamiento químico con ácido sulfúrico a diferentes concentraciones, con su respectiva caracterización, con la intención de aplicarlos en la remoción de los compuestos prioritarios analizados previamente: fenol, *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol, presentes en cuerpos agua naturales y de almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los carbones activados

Los carbones activados obtenidos en esta investigación se sintetizaron a partir de un residuo lignocelulosico abundante en bosques y parques de Bogotá (Colombia): Por la semilla de eucalipto, la cual se ha identificado según reportes en literatura como un residuo que se acumula en diversos parques y bosques generando deshidratación de los suelos, remoción de algunos minerales del suelo causando su intoxicación y acidificación, entre otros problemas¹¹⁻¹³, por lo cual que propone plantear como solución a estos inconvenientes usar la semilla para la obtención de carbones que además pueden ser aplicados ambientalmente para la remoción de diversos contaminantes de carácter orgánico¹¹⁻¹³.

Las semillas de eucalipto fueron colectadas en el parque de la Independencia (Bogotá – Colombia) estas fueron secadas por 7 días a temperatura ambiente y luego a 80 °C por 24 horas, seguido se molieron y tamizaron en un intervalo de 2.5 a 3.5 mm (Figura 1).



Figura 1. Cascara de semilla de eucalipto partida y tamizada. Fuente: Nelson Giovanni Rincon-Silva

A continuación, este material se dividió en varias porciones, se impregnó por separado con soluciones de ácido sulfúrico al 10, 25, 40 y 60 % v/v durante 12 horas. La relación de agente activante y precursor fue 2:1 manteniendo agitación constante. Posteriormente las muestras fueron carbonizadas en un horno horizontal a una temperatura final de 550 °C. Se utilizó flujo de nitrógeno de 100 cm³ min⁻¹ y velocidad del calentamiento lineal de 5 °C min⁻¹ durante un tiempo de residencia de 2 horas. Finalmente las muestras fueron lavadas con agua destilada hasta pH contante con agua destilada³.

Caracterización textural y química

Para la evaluación de las áreas superficiales de los CAs se analizaron los datos experimentales de adsor-

ción de N_2 a $-196^\circ C$, en esta caracterización la cantidad adsorbida se mide por cambios de presión de la fase que se adsorbe hasta la obtención de una monocapa a partir del cual se calcula el área superficial si se conoce el área ocupada por cada molécula^(14, 15). Experimentalmente, se desorbieron 100,00 mg de cada uno de los CAs durante 3 h hasta alcanzar una presión de vacío específica. Posteriormente, se tomaron isotermas de adsorción de nitrógeno en un equipo *Autosorb 3B, Quantachrome Co.* A partir de los resultados obtenidos, se calcularon algunas propiedades texturales como el área superficial aparente aplicando el modelo *B.E.T.* el volumen de microporos, usando el modelo de *Dubinin-Radushkevich* y por ajustes se calculó, el volumen total de poros, el diámetro de poro y la superficie de microporos⁽¹⁶⁾. Igualmente, se realizó un estudio de caracterización por microscopía electrónica de barrido (SEM). Las micrografías se obtuvieron en un microscopio *JEOL Modelo 6490-LV*. El procedimiento consiste en colocar pequeños fragmentos de la muestra previamente metalizada sobre una lámina limpia y plana para obtener el máximo contraste en la fotografía. Las muestras fueron entonces trasladada a la cámara del SEM y fueron analizadas a un voltaje de aceleración de 20 KV a diferentes ampliaciones entre 100 y 10,000 X^(17, 18). Además, se determinó la cantidad de grupos ácidos y básicos en la superficie de los CAs por el método de titulación ácido-base de Boehm^(19, 20) y el punto de carga cero por el método de titulación de masas⁽²¹⁾.

Isotermas de Adsorción

La cantidad adsorbida en equilibrio ($mg\ g^{-1}$) fue calculada mediante la siguiente ecuación⁴⁻⁷:

$$Q_e = V * \frac{C_0 - C_e}{w} \quad (1)$$

Donde C_0 y C_e son las concentraciones inicial y en equilibrio, respectivamente en $mg\ L^{-1}$, V es el volumen de solución (L) y w la masa del carbón activado⁴⁻⁷.

Equilibrio de Adsorción

En la literatura sobre adsorción en fase líquida se han reportado varios modelos matemáticos para representar las isotermas de adsorción. Los modelos que se usan con mayor frecuencia son los propuestos por Freundlich y Langmuir^{22, 23}. El modelo propuesto por Langmuir se desarrollo teóricamente y tiene como base las siguientes suposiciones: i.) La adsorción ocurre exclusivamente en sitios específicos localizados sobre la superficie del adsorbente, ii.) Únicamente una molécula del adsorbato se adsorbe o une sobre cada sitio, iii.) No existe interacción entre moléculas adyacentes y iv.) El calor de adsorción es el mismo para todos los sitios. Este modelo se representa matemáticamente para adsorción en solución como^{22, 23}:

$$Q_e = \frac{Q_{max} k_L C_e}{1 + k_L C_e} \quad (2)$$

En la cual C_e se refiere a la concentración de soluto en el equilibrio, Q_e es la masa de soluto adsorbido por unidad de masa del adsorbente, $Q_{m\acute{a}x}$ es la máxima cantidad de soluto que se adsorbe sobre el adsorben-

te, k_L es la constante de la isoterma de adsorción de Langmuir relacionada con el calor de adsorción^(1, 5 11, 13). Otra característica del módelo de Langmuir es el factor de separación, que ha sido definido como: $R_L: 1 / 1 + C_0$ (donde C_0 es la concentración inicial del adsorbato y k_L es la constante de Langmuir), este parámetro indica la naturaleza de la siguiente manera: $R_L > 1$: Favorable, $0 < R_L < 1$: Desfavorable y $R_L = 0$: Irreversible^(22, 23).

La isoterma de adsorción de Freundlich se obtuvo empíricamente y se ha demostrado que se puede aplicar a adsorbentes que tienen superficies energéticamente heterogéneas. El modelo de Freundlich se expresa matemáticamente para adsorción en solución como^{22, 23}:

$$Q_e = k_f (C_e)^{1/n} \quad (3)$$

Donde, k_f es la constante de la isoterma de Freundlich que se relaciona con la capacidad de adsorción, n es la intensidad de la adsorción^{22, 23}.

Adicionalmente el equilibrio de adsorción de los compuestos fenolicos fue estudiado mediante el modelo de *Dubinin-Raduskevich-Kaganer* representado linealmente por la ecuación 4⁽²²⁻²⁴⁾:

$$Q_e = Q_{mDRK} \exp \left[- \frac{RT \text{Ln} \left(\frac{C_s}{C_e} \right)}{E_s} \right]^n \quad (4)$$

Para soluciones acuosas, $RT \text{Ln} (C_s/C_e)$ es el potencial termodinámico, donde C_s y C_e son las concentraciones de saturación y de equilibrio del adsorbato respectivamente, Q_e es la cantidad adsorbida, Q_{mDRK} representa la cantidad adsorbida del soluto en la monocapa; E_s es la energía característica del proceso, y n es un número entero que se relaciona con las variaciones de heterogeneidad del adsorbente microporoso, para este estudio es 4 dado que ajusta muy bien para electrolitos orgánicos en solución acuosa²²⁻²⁴.

Calorimetría de inmersión

La calorimetría de inmersión, es una técnica en la que se miden los efectos térmicos resultantes de sumergir un sólido en un solvente con el cual generalmente el sólido no presenta interacciones químicas²⁵. Los líquidos de mojado que se utilizaron para la caracterización calorimétrica fueron: agua y benceno para cuantificar el carácter hidrófobo/hidrófilo y soluciones de HCl y NaOH 0,1 M y soluciones de los respectivos compuestos fenolicos. Para la determinación de las entalpías de inmersión, se pesaron alrededor de 100,0 mg de carbón activado y se colocan en una ampollita de vidrio acoplada a la celda calorimétrica. Seguido, se adicionan 10,0 mL de los líquidos mencionados. La celda se coloca en el depósito principal de calor; a continuación se deja estabilizar la temperatura del conjunto calorimétrico durante aproximadamente media hora, o el tiempo necesario para la estabilización del calorímetro, luego se realiza la inmersión de la muestra en la solución y se registran los cambios térmicos resultantes hasta que se estabilice nuevamente la línea de base. Finalmente se efectúa una calibración eléctrica²⁶. En este proceso

se obtiene una grafica denominada termograma, el cual contiene dos picos, el primer pico corresponde al calor generado por la inmersión del sólido en el respectivo líquido de inmersión, el segundo corresponde al pico de calibración eléctrica que se obtiene mediante el calentamiento del sistema con una resistencia de $100 \Omega^{26}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades texturales de los Carbones Activados

En la Figura 2 se observa las isotermas de adsorción de nitrógeno para los carbones activados con ácido sulfúrico a diferentes concentraciones.

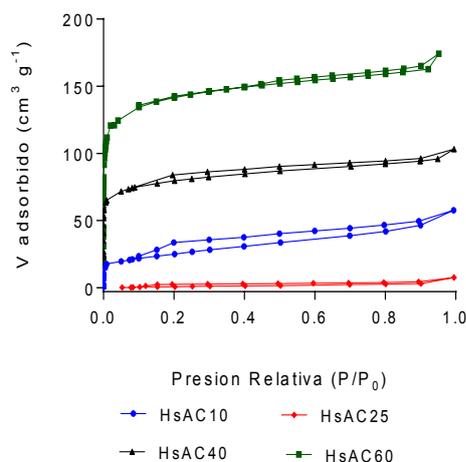


Figura 2. Isoterma de adsorción de N_2 a $-196^\circ C$ para los carbones activados con ácido sulfúrico.

En esta figura, se evidencia un comportamiento tipo III para la isoterma del carbón HsAC10 de acuerdo a la clasificación de la I.U.P.A.C. (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) en donde la interacción entre el sólido y el adsorbente es limitada y por tanto hay bajo contenido de nitrógeno adsorbido^{14,27,28}. La isoterma de adsorción para HsAC25 se comporta según el tipo II el cual es característico de sólidos macroporosos, se presenta el caso típico de adsorción por monocapa y multicapa, adicionalmente se evidencia una curva de histéresis indicando el llenado de monocapa, lo que confirma la presencia de mesoporidad. De esta manera se evidencia que a concentraciones intermedias el ácido sulfúrico desarrolla cierto grado de mesoporidad en la preparación de carbones activados desde materiales lignocelulosicos^{27,28}. En las muestras HsAC40 y HsAC60 se observan isotermas tipo I, clásicas de sólidos microporosos, aunque en la primera de estas se observa un grado de mesoporidad^{14,27,28}. En la Tabla 2 se describen las principales características texturales de los carbones activados con ácido sulfúrico.

Se presenta el área superficial aparente calculada por el método B.E.T. y los valores del tamaño de los poro, es decir: el volumen de microporos, mesoporos y volumen total de poros, calculados por el método *Dubinin-Radushkevich*, de donde también se calcula la energía característica, el diámetro de poros y la superficie de microporos. Los resultados denotan que las muestras

activadas con ácido sulfúrico a diferentes concentraciones presentan amplios cambios en las características texturales de los materiales. Se observa que el carbón con mayor área superficial aparente es HsAC60 del orden de $513 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, comportamiento relacionado con la concentración de agente activante, ya que esta es la más alta concentración en relación con los otros sólidos y esta afecta la estructura de la matriz lignocelulosica de una manera más directa produciendo mayor porosidad. Para el material HsAC40 el área es de $287 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ aspecto relacionado también con la concentración del activante. Para los carbones HsAC10 y HsAC25 las áreas superficiales son relativamente limitadas con valores de 150 y $80 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, respectivamente, este valor en las áreas superficiales se ostenta por la poca concentración de agente activante empleada durante la síntesis de estos dos materiales, ya que la baja cantidad de ácido no podrá disolver todas las especies inorgánicas presentes en la matriz lignocelulosica, lo que limita la generación de poros en la superficie y esto se verá reflejado en la disminución del área superficial y por tanto en la fisisorción de nitrógeno. Los resultados de volumen de microporo obtenidos por la ecuación *D.R.* indican la misma tendencia para las muestras carbonosas, ya que HsAC60 denota un volumen mayor de microporos con $0,340 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, y para HsAC25 el valor obtenido fue de $0,005 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, la misma tendencia se evidencia para la superficie de microporos dado que para la muestra HsAC60 es de $334 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Por otro lado, el volumen de mesoporos aumenta para HsAC10 con un valor de $0,511 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, comportamiento que se atribuye a la disminución de la concentración de H_2SO_4 , lo que conduce a un ensanchamiento de los microporos y desarrollo de mesoporidad tal como se evidencia en los valores en la Tabla¹⁴⁻¹⁶. Por otra parte, el sólido HsAC40 presenta el valor más bajo de mesoporos con una magnitud de $0,045 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, este comportamiento puede atribuirse a que la alta concentración del ácido sulfúrico empleada en el carbón favorece el desarrollo de microporosidad, tal y como también ocurre en HsAC60¹⁴⁻¹⁶. Finalmente, la energía de adsorción es mayor para HsAC40 y HsAC60, aspecto relacionado directamente con la cantidad de nitrógeno adsorbida y por tanto con el área superficial aparente desarrollada por estos materiales^{14,15}.

Tabla 2. Propiedades texturales de los carbones activados con ácido sulfúrico.

Carbon activado	HsAC10	HsAC25	HsAC40	HsAC60
$S_{B.E.T.} (\text{m}^2 \text{ g}^{-1})$	150	80	287	513
$S_{\text{micro}} (\text{m}^2 \text{ g}^{-1})$	84	61	188	334
$S_{\text{meso}} (\text{m}^2 \text{ g}^{-1})$	66	19	99	179
$V_{\text{microporo}} (\text{cm}^3 \text{ g}^{-1})$	0,084	0,005	0,140	0,340
$V_{\text{mesoporo}} (\text{cm}^3 \text{ g}^{-1})$	0,511	0,215	0,045	0,141
$V_{\text{total}} (\text{cm}^3 \text{ g}^{-1})$	0,595	0,220	0,185	0,481
$D_p (\text{nm})$	2,532	2,186	2,414	2,144
$E_0 (\text{kJ mol}^{-1})$	6,920	2,301	10,446	10,862

Microscopía electrónica de barrido SEM

En la Figura 3 (a), (b), (c) y (d)), se presentan las micrografías para los carbones activados con ácido sulfúrico

co a bajas concentraciones 10 % V/V para la a) y b) y 25 % V/V para las dos restantes. Las figuras a) y b) son para ampliaciones de 1000 y 10000, respectivamente. Se observa que para este carbón hay un ataque del ácido a la matriz de hemicelulosa y lignina, pero no se aprecia desarrollo de porosidad, por esta razón el área superficial es baja como se mencionó en la Tabla 2. Para la muestra HsAC25 en las figuras c) y d) se observa un comportamiento similar a HsAC10, pero un poco más atacada por el ácido^{17, 18, 29}.

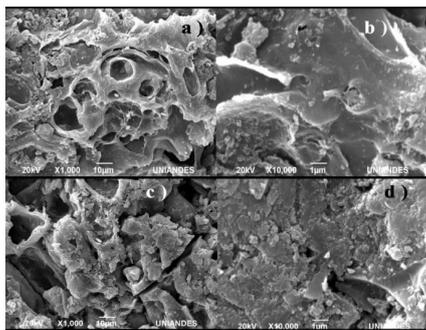


Figura 3. Micrografías SEM de los carbones activados HsAC10 a) y b); HsAC25 c) y d).

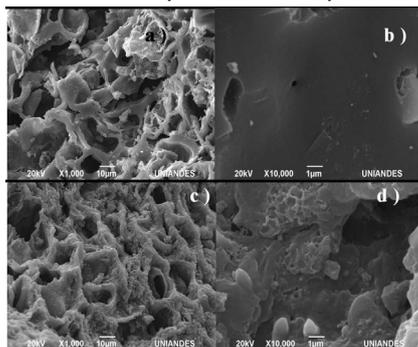


Figura 4. Micrografías SEM de los carbones activados HsAC40 a) y b) y HsAC60 c) y d).

En la Figura 4 se observan las micrografías para HsAC40 y HsAC60. Las imágenes a) y b) corresponden a la concentración de 40 % V/V del ácido, para la ampliación de 1000x se perciben huecos los cuales son poros de transporte en la superficie del carbón, en la figura b) ampliada a 10000x se observa en algunas secciones desarrollo de porosidad, además se denota una superficie lisa conocida como *smooth areas*. En las figuras c) y d) se observa con mayor claridad presencia de huecos y una mayor heterogeneidad lo que evidencia más desarrollo de porosidad comportamiento que concuerda con los resultados de la Tabla 2. Finalmente, se observa que en general los CAs son en general de tipo *rough area* zonas ásperas con algunos bordes bien diferenciados^{17, 18, 29}.

Análisis próximo y elemental de los carbones

En la Tabla 3 se presenta el análisis próximo para cada uno de los carbones. Se observa que los carbones activados que presentan mayor materia volátil son los activados a altas concentraciones (hasta 22,452 para HsAC60), este comportamiento se evidencia porque el ácido aumenta el contenido de especies oxigenadas,

adicionalmente, el contenido de carbono disminuye al aumentar la concentración por la misma causa. También se observa que los carbones presentan bajo contenido de cenizas, esto se debe a que este ácido fuerte disuelve las especies inorgánicas que se retiran durante el lavado del material. Se evidencia que el carbón que reporta mayor contenido de cenizas de esta serie es el que menor área superficial presenta, como ya se había supuesto, pues estos compuestos inorgánicos afectan la fisiorción y además impiden el desarrollo de porosidad. Finalmente, en general se evidencia bajo contenido de humedad hasta un máximo de 10,341 para los CAs ya que el agente activante actúa como agente deshidratante durante la etapa de impregnación en la activación química^{30, 31}.

Tabla 3. Análisis próximo para las muestras de carbón activado

CAs	Análisis Próximo (% en peso)			
	Humedad ^(a)	Materia Volátil ^(a)	Cenizas ^(a)	Carbono Fijo ^(b)
HsAC10	10,341	11,605	4,654	73,400
HsAC25	9,542	14,562	4,024	71,872
HsAC40	8,856	18,256	2,256	70,632
HsAC60	8,023	22,452	1,025	68,500

El análisis elemental para cada carbón es reportado en la Tabla 4, este denota que para los CAs el contenido de carbono está entre 68,191 y 71,518. Además el contenido de oxígeno es superior al 24,837 % en estas muestras lo que indica que tiene gran contenido de grupos oxigenados como carbonilo, carboxilo, fenol, éter, cromeno, etc., en su estructura, debido a la activación con el ácido. Para los carbones activados al 10 y 25 % V/V la presencia de azufre proveniente del agente activante es prácticamente nula mientras que para los activados al 40 y 60 % presentan un contenido bajo de este elemento (0,143 y 0,361, respectivamente), la presencia de este contenido se debe principalmente a la alta concentración con la que se activaron estas muestras. Sin embargo, se percibe que no es un contenido significativo que pueda interferir en la caracterización y en las aplicaciones de estos carbones en los procesos de adsorción^{31, 32}.

Tabla 4. Análisis elemental para las muestras de carbón activado

CAs	Análisis Elemental (% en peso)				
	C	N	H	S	O
HsAC10	70,955	0,319	0,819	0,002	27,907
HsAC25	70,634	0,938	2,364	0,002	26,064
HsAC40	71,518	0,815	2,687	0,143	24,837
HsAC60	68,191	0,587	1,958	0,361	28,903

Finalmente, se destaca la gran correlación entre el análisis próximo y el análisis elemental de todas las muestras obtenidas, ya que se observan tendencias similares.

Titulación Boehm y pH en el punto de carga cero

En la Tabla 5 se presentan los resultados obtenidos en la determinación de los sitios ácidos y básicos totales y el pH en el punto de carga cero para las muestras carbonosas.

Tabla 5. Grupos superficiales totales ácidos y básicos y pH_{PCC} para los carbones activados

Carbón Activado	Acidez Total (meq g ⁻¹)	Basicidad Total (meq g ⁻¹)	Grupos Superficiales Totales (meq g ⁻¹)	pH_{PCC}
HsAC10	0,158	0,126	0,284	6,50
HsAC25	0,162	0,108	0,270	6,70
HsAC40	0,234	0,196	0,430	5,90
HsAC60	0,364	0,218	0,582	5,60

Los carbones sumergidos en NaOH, permiten determinar la concentración de sitios ácidos totales, se revela que el carbón HsAC60 presenta el mayor contenido de estos grupos con 0,364 meq g⁻¹, aspecto relacionado directamente con el agente activante ya que es un ácido fuerte y además en este se utilizó la mayor concentración, en general en esta serie de muestras el contenido de grupos ácidos es mayor respecto al contenido de grupos básicos por la misma razón. El pH_{PCC} para estas muestras está entre 5,60 y 6,70 por debajo de la naturalidad (7,00) pero tampoco se evidencia un carácter ácido lo que indica que el agente activante se removió adecuadamente en el proceso de lavado, tal y como se ha sustentado por las técnicas presentadas anteriormente^{20, 24}. Los carbones sumergidos en HCl determinan la cantidad de sitios básicos totales, encontrando que la muestra HsAC60 también presentan mayor concentración de estos con un valor de 0,218 meq g⁻¹. En toda la serie de estos carbones se evidencian bajos valores en el contenido de grupos superficiales básicos. Finalmente, se observa mayor contenido de grupos oxigenados superficiales con el incremento de la concentración del agente activante, esto se debe a que mayor cantidad del reactivo afecta la superficie del carbón, adicionando grupos oxigenados en la estructura de las capas de grafeno^{20, 30}.

Calorimetría de inmersión

En la Tabla 6 se presentan los valores de entalpías de inmersión de todos los carbones activados obtenidos en agua, benceno, NaOH y HCl. Adicionalmente se presenta el factor hidrofóbico de las muestras.

Todas las entalpías de inmersión en benceno y agua son de carácter exotérmico, en concordancia con el proceso superficial que se lleva a cabo entre el sólido y el líquido²⁵. Las entalpías en benceno, para el conjunto de carbones obtenidos, se encuentran entre -18,23 y -46,21 J g⁻¹ y en agua están entre -7,54 y -18,24 J g⁻¹. En todas las series se observa que los valores entálpicos en benceno exponen una relación directa con el área superficial de los carbones activados, tal y como se indica en la Figura 5. En este punto es importante resaltar que dicho comportamiento ha sido reportado en diferentes estudios como los de Denoyel³³, Molina-Sabiol³⁴ y Stoeckli²⁵.

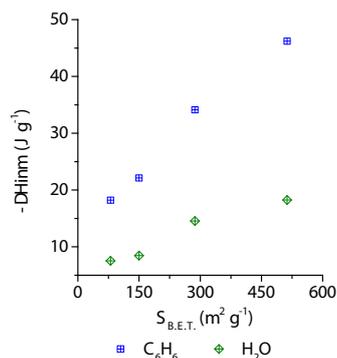


Figura 5. Relación entre las entalpías de inmersión en benceno y agua con el área B.E.T. de los CAs

En la Tabla 6 también se observa que los valores de entalpía de inmersión son mayores en contacto con hidróxido de sodio en comparación con los valores de inmersión en ácido clorhídrico, en donde se exhiben valores de hasta de 54,25 J g⁻¹ para el carbón HsAC60 en contacto con la base, aspecto que concuerda con el estudiado en el método Boehm ya que hay mayor cantidad de grupos ácidos en la superficie de los carbones que van a interactuar con NaOH. Así mismo, se observa que dichos valores aumentan con el aumento en la cantidad de grupos ácidos y con la concentración de agente activante empleada. Por otra parte, el factor hidrofóbico calculado como el cociente entre la entalpía de inmersión en benceno y la entalpía de inmersión en agua, oscila entre 2,34y 2,62 J g⁻¹, siendo mayor para HsAC10 lo que podría indicar mayor rechazo por el agua en este carbón durante el proceso de adsorción. Además, en la Tabla 6 se revela que las entalpías de inmersión en benceno y agua de las muestras, varían proporcionalmente con el aumento en la concentración del agente activante, evidenciando cambios en las características texturales y químicas de los carbones, tal como lo han demostrado las otras técnicas de caracterización empleadas y descritas anteriormente.

Isotermas de Adsorción de fenol

La Figura 6 representa las isotermas de adsorción de fenol experimentales para los carbones activados mediante ácido sulfúrico, se aprecia mayor capacidad de adsorción en la muestra HsAC60 seguido por la muestra HsAC40, se evidencia relación directa con las propiedades texturales ya que estas son las muestras con mayor área superficial aparente. También se demuestra mayor capacidad de adsorción en la muestra activada al 10 % V/V respecto a la activada al 25% V/V, dado que esta muestra presenta mayor desarrollo en el área superficial aparente posiblemente por inte-

Tabla 6. Entalpías de inmersión en benceno, agua, ácido y base de los carbones activados.

Carbón Activado	$-\Delta H_{imm, C_6H_6}$ (J g ⁻¹)	$-\Delta H_{imm, H_2O}$ (J g ⁻¹)	Factor Hidrofóbico ($-\Delta H_{imm, C_6H_6} / -\Delta H_{imm, H_2O}$)	$-\Delta H_{imm, HCl}$ (J g ⁻¹)	$-\Delta H_{imm, NaOH}$ (J g ⁻¹)
HsAC10	22,14	8,45	2,62	12,24	22,32
HsAC25	18,23	7,54	2,41	13,45	26,32
HsAC40	34,12	14,54	2,34	14,52	46,25
HsAC60	46,21	18,24	2,53	16,32	54,25

raciones más complejas ya que a esta concentración no se espera que el ácido ataque significativamente la matriz lignocelulosica como se evidencio en el análisis SEM. Se observa además que la mayoría de las isothermas se ajustan a un comportamiento tipo Langmuir ya que se hace asintótica a altas concentraciones^{4-6, 12, 25}.

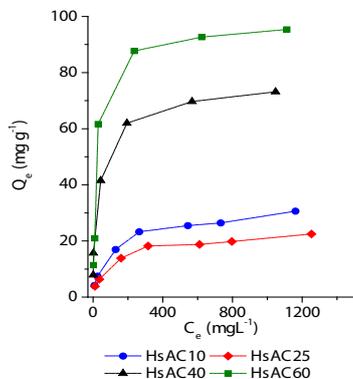


Figura 6. Isothermas de adsorción de fenol sobre los carbones de la serie HsAC

En la Figura 7 se muestran las isothermas de adsorción experimental para el *p*-nitrofenol un comportamiento similar al descrito en la adsorción de fenol, en donde los carbones activados con las más altas concentraciones tienen mayor capacidad de adsorción, en este caso prevalecen nuevamente las propiedades texturales de los sólidos sobre las propiedades químicas.

En la Figura 8 se presentan las isothermas de adsorción de *p*-clorofenol para los carbones activados con ácido sulfúrico. En estas figuras se denota la gran capacidad de adsorción de la muestra HsAC60, este resultado es significativo ya que esta muestra presenta un valor del área superficial aparente discreto y además exhibe mayor contenido de grupos ácidos lo que implicaría una disminución en la capacidad de adsorción. Este comportamiento puede explicarse por el tamaño del derivado fenólico dado que el fenol y el *p*-nitrofenol pueden presentar algunos inconvenientes relacionados con este aspecto, como el fenol tiene un tamaño molecular menor que los otros fenoles $5.76 \times 4.17 \text{ \AA}$ (Tabla 1) implica que sólo una pequeña parte de los microporos se llena en la adsorción y el fenómeno de llenado de microporos es más evidente para los fenoles sustituidos, para el *p*-nitrofenol el resultado es el opuesto ya que este es el más grande de los tres adsorbatos con un tamaño molecular de $6.84 \times 4.17 \text{ \AA}$ (Tabla 1), lo que podría conducir a un impedimento estérico en el proceso de adsorción por el grupo nitro^{4-6, 12, 25}.

Estudio del equilibrio de Adsorción

En la Tabla 7 se presenta el ajuste de las isothermas de adsorción de fenol experimentales en los CAs a los modelos Langmuir, Freundlich y *Dubinín-Raduskevich-Kaganer*. Según el modelo Langmuir. Se evidencia que la muestra con mayor capacidad de adsorción entre todas la serie es HsAC60 como lo representa la Figura 6, con un valor Q_{max} de $100,000 \text{ mg g}^{-1}$, dato que concuerda con el valor de Q_{mDRK} obtenido desde

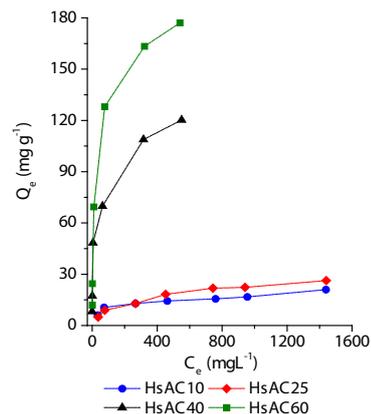


Figura 7. Isothermas de adsorción de *p*-nitrofenol sobre los CAs

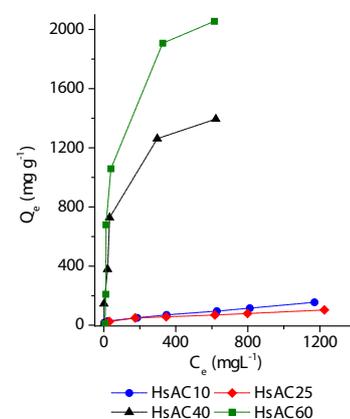


Figura 8. Isothermas de adsorción de *p*-clorofenol sobre los CAs ácido sulfúrico

el modelo *D.R.K* con una magnitud de $82,242 \text{ mg g}^{-1}$. Adicionalmente se observa que este parámetro incrementa a medida que aumenta la concentración del ácido sulfúrico para toda la serie de CAs así como también se evidencia un aumento en la constante K_L aspecto relacionado con la capacidad de adsorción y por tanto en el desarrollo textural de los carbones. En el ajuste al modelo Freundlich se observa que la constante k_f aumenta al aumentar la capacidad de adsorción de las muestras lo que concuerda adecuadamente ya que esta constante se relaciona con la capacidad de adsorción de los carbones activados, donde se han encontrado valores de $2,620$ y $3,645 \text{ mg}^{-1/n} \text{ L}^{1/n} \text{ g}^{-1}$ para las muestras que presentan mayor capacidad de adsorción de fenol, es decir: HsAC40 y HsAC60. Por último, en el ajuste al modelo *Dubinín-Raduskevich-Kaganer* los mayores valores para la energía de adsorción se presentan para los sólidos activados que presentan mayor capacidad de adsorción.

Así mismo, en la Tabla 7 se presentan los resultados del ajuste de las isothermas de *p*-nitrofenol, se evidencia en el modelo de Langmuir que hay mayor capacidad de adsorción en la muestra activada con mayor concentración de ácido, con una magnitud de $200,000 \text{ mg g}^{-1}$, tendencias similares se exhiben en el ajuste al modelo Freundlich donde la constante k_f es mayor para el mismo sólido es decir HsAC60 con un valor de $45,068 \text{ mg}^{-1/n} \text{ L}^{1/n} \text{ g}^{-1}$. En el ajuste al modelo *Du-*

binin-Radushkevich-Kaganer se aprecia nuevamente una clara concordancia entre los valores de capacidad máxima de adsorción Q_{mDRK} y los valores $Q_{máx}$ obtenidos mediante el modelo Langmuir, de la misma forma, los valores de energía de adsorción aumentan conforme aumenta la capacidad de adsorción determinado por este modelo, no obstante es necesario mencionar que estos valores disminuyen en comparación a los valores determinados en la adsorción fenol, esto se presenta ya que este valor ha sido relacionado con la solubilidad de los compuestos adsorbidos y como se aprecia en la Tabla 1 el fenol es más soluble que el *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol con valores de 93,0 g L⁻¹ y 1,7 g L⁻¹ respectivamente, comportamiento que también ha sido reportado en la literatura^{4-6, 12, 24}.

Finalmente, en la Tabla 7 también se presentaron los ajustes de los modelos utilizados en el estudio de equilibrio de adsorción para el *p*-clorofenol. Se evidencian tendencias similares a los modelos anteriores, pero se resalta un comportamiento especial exhibido en las muestras HsAC40 y HsAC60 ya que presentan valores extensamente altos en capacidad de adsorción de *p*-clorofenol con valores de 1666,667 y 2500,000 mg g⁻¹ en el mismo orden, este comportamiento posiblemente se debe como ya se ha mencionado al tamaño intermedio del clorofenol respecto al fenol y nitrofenol y a las propiedades texturales y químicas propias de estos sólidos lo que hace posible que se desarrolle un ambiente adecuado en la interface solido-liquido para este sistema. El ajuste al modelo Freundlich también comprueba lo anteriormente señalado, ya que los mayores valores de la constante son para los sólidos activados con ácido al 40 y 60 % V/V. Los valores de *n* también comprueban la favorabilidad del proceso ya que son menores a 1. Igualmente el modelo *D.R.K* comprueba lo expuesto para la muestra HsAC40 y HsAC60 pero con mayores valores de Q_{mDRK} (1571,837 y 3869,962 mg g⁻¹, respectivamente)³⁵⁻³⁷. Adicionalmente, se evidencia un incremento de E_s respecto al *p*-nitrofenol dado porque el clorofenol es más soluble y además en los **sólidos se retiene más** clorofenol que nitrofenol. En general, se percibe mejor ajuste de los datos experimentales hacia el modelo Langmuir ya que presenta lo mayores valores de coeficientes de correlación lineal entre 0,976 y 0,999 y los valores de porcentaje de desviación no exceden el 3.4 % (valores

omitidos en las tablas anteriores). Lo que significa que los adsorbentes denotan superficies energéticamente heterogéneas. Por esta razón varias isothermas exhibidas en las figuras 6-8 manifiestan un comportamiento tipo Langmuir. Adicionalmente, todos los valores R_L para el modelo Langmuir están por debajo de 1, indicando favorabilidad del sistema de adsorción^{35, 36, 38}.

En los segmentos anteriores se analizó el equilibrio de adsorción de fenol, *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol desde los carbones activados, donde se evidencia que el orden de capacidad de adsorción según los parámetros determinados en las tablas anteriores es el siguiente: fenol < nitrofenol < clorofenol, lo que demuestra mayor capacidad de adsorción en los fenoles sustituidos respecto al fenol, y esto se produce por diversas causas, entre estas: 1.) la presencia de grupos sustituyentes en el anillo aromático del fenol, debido a que el grupo cloro y el grupo nitro son desactivadores del anillo aromático, ya que le retiran electrones debido a efectos inductivos y de resonancia, para el caso del nitro la sustracción de electrones se da por resonancia a través de un enlace π debido al traslape de un orbital π en el sustituyente con un orbital π del anillo aromático y para el caso del cloro como es halógeno puede donar electrones al anillo por resonancia de forma débil, no obstante también retira electrones del anillo por efecto inductivo de una forma más eficaz convirtiéndose en desactivante del anillo, por lo tanto los dos grupos pueden reducir densidad de electrones π disminuyendo la repulsión electrostática entre los anillos aromáticos y mejorando la interacción entre los derivados fenólicos y las capas grafénicas del carbón activado^{4-6, 12, 24, 35}, en general el grupo nitro tiene mayor potencial desactivador del anillo y es más hidrofóbico de ahí que muchos carbones prefieran la remoción de este contaminante pero además este compuesto es preferido por los CAs con mayor grupos básicos totales dado que el grupo nitro actúa como el ácido más fuerte entre los fenoles usados en esta investigación, tal y como lo evidencia su pK_a en la Tabla 1 con un valor de 7,15 (esto a su vez se da porque el grupo nitro contiene nitrógeno con hibridación sp^2 que lo hace más electronegativo y pueda retirar densidad electrónica del medio lo que causa que su base conjugada (nitrofenoxi) sea muy estable y de baja basicidad)^{6, 24, 35}. Por lo anterior, el grupo nitro al ser el más electro-atractor aumenta su carácter ácido

Tabla 7. Parámetros de los modelos Langmuir, Freundlich, Dubinin-Radushkevich-Kaganer en la adsorción de fenol, *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol sobre carbón activado

CAs	Langmuir			Freundlich			Dubinin-Radushkevich-Kaganer		
	$Q_{máx}$ (mg g ⁻¹)	K_L (L/mg)	R ²	k_f (mg ^{1-1/n} L ^{1/n} g ⁻¹)	1/n	R ²	Q_{mDRK} (mg g ⁻¹)	E_s (kJ mol ⁻¹)	R ²
Adsorción de fenol									
HsAC10	29,412	0,015	0,997	1,797	0,442	0,984	30,447	10,562	0,980
HsAC25	21,739	0,014	0,997	1,765	0,369	0,951	22,242	12,354	0,974
HsAC40	76,923	0,046	0,998	2,620	0,977	0,951	32,242	16,560	0,974
HsAC60	100,000	0,048	0,999	3,645	0,387	0,951	82,242	20,321	0,974
Adsorción de <i>p</i> -nitrofenol									
HsAC10	17,544	0,014	0,995	4,923	0,175	0,992	15,104	10,000	0,960
HsAC25	27,027	0,005	0,992	8,068	0,453	0,974	18,532	8,758	0,902
HsAC40	125,000	0,061	0,992	26,068	0,453	0,974	100,532	11,058	0,902
HsAC60	200,000	0,052	0,992	45,068	0,453	0,974	148,532	11,758	0,902
Adsorción de <i>p</i> -clorofenol									
HsAC10	76,923	0,016	0,983	13,290	0,244	0,993	56,486	21,147	0,903
HsAC25	83,333	0,011	0,976	6,980	0,367	0,992	75,264	17,783	0,952
HsAC40	1666,667	0,012	0,976	128,895	0,398	0,948	1571,837	32,783	0,879
HsAC60	2500,000	0,015	0,976	143,309	0,440	0,764	3869,962	35,512	0,755

por efecto inductivo y de resonancia produciendo una mayor interacción con los grupos básicos de los carbonos pero como en esta investigación los CAs tienen bajos contenidos de grupos básicos entonces la capacidad de adsorción aumentó para el *p*-clorofenol, pues este grupo es menos ácido en comparación al nitrofenol (pK_a clorofenol = 9,38, Tabla 1) y por tanto interactúa de forma más favorable con las muestras con mayor contenido de grupos ácidos (HsAC40 y HsAC60)^{6, 24, 35, 2.} como se ha resaltado antes, los derivados fenólicos son más hidrofóbicos que el fenol como se puede evidenciar en la Tabla 1 ya que el fenol es el más soluble, así los grupos nitro y cloro que tienen solubilidad limitada en el agua prefieren la superficie del carbón donde pueden interactuar con grupos superficiales^{35,36} y 3.) como se ha señalado anteriormente, se favorece la adsorción de clorofenol en comparación a la del nitrofenol, porque este último es más grande con dimensiones de 6.84 x 4.17 Å, lo que origina impedimentos estéricos en la interfase sólido-líquido y es preferido el *p*-clorofenol porque es más pequeño y puede entrar en los poros con mayor facilidad^{5, 6, 14, 24.}

Calorimetría de inmersión de fenoles sobre carbón activado

Finalmente, en la Tabla 8 se presentan los valores de entalpías de inmersión de todos los CAs obtenidos en fenol y los derivados usados en este estudio: *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol.

Tabla 8. Calorimetría de inmersión y de adsorción de fenol, *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol en los carbonos activados obtenidos

Carbon Activado	$-\Delta H_{\text{imm}}$ fenol (J g ⁻¹)	$-\Delta H_{\text{imm}}$ <i>p</i> -nitrofenol (J g ⁻¹)	$-\Delta H_{\text{imm}}$ <i>p</i> -clorofenol (J g ⁻¹)
HsAC10	79,192	54,406	62,628
HsAC25	30,352	29,654	36,174
HsAC40	92,337	88,892	381,998
HsAC60	109,086	112,525	406,182

Se evidencian mayores calores de inmersión en las muestras tratadas con ácido a mayores concentraciones. Así mismo, hay una relación visible en el aumento de la calorimetría de inmersión y en la capacidad de adsorción de los CAs como se evidencia en la Figura 9, y esto sucede debido a que al haber mayor cantidad de moléculas de los fenoles retenidas en la superficie de los carbonos o en el interior de los poros se va a presentar una mayor interacción energética en la interfase^{20, 24.}

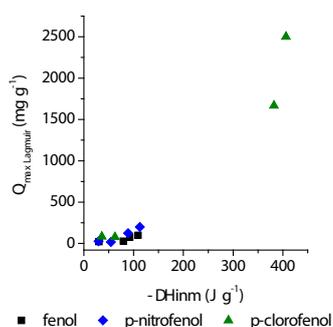


Figura 9. Relación entre las entalpías de inmersión en los fenoles con la capacidad de adsorción en monocapa de los CAs desde el modelo Langmuir

En la Figura 10 se presenta la relación de la entalpía de inmersión de los carbonos en la solución de los fenoles en relación al área superficial de cada sólido.

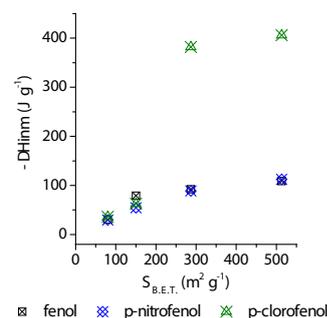


Figura 10. Relación entre las entalpías de inmersión en los fenoles con la capacidad de adsorción en monocapa de los CAs desde el modelo Langmuir

Es evidente que durante el proceso de adsorción el área superficial juega un papel importante, como ya se ha señalado anteriormente, este comportamiento se presenta porque los compuestos fenólicos tienen mayores áreas de acceso durante el fenómeno de transporte por lo que se moverá con mayor libertad en aquellos sólidos que tengan mayor área superficial y mayor volumen de poros (HsAC40 y HsAC60), así como también se favorece que no se den impedimentos estéricos con los grupos nitro y cloro en el interior de los carbonos, por tal motivo la entalpía de inmersión será mayor para estos sólidos^{35-38.}

Finalmente, una variable muy importante en la adsorción de fenoles sobre carbón activado es el pH del sistema acuoso. En esta investigación, el proceso de adsorción de fenol, *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol se realizó a valores de pH inferiores a las magnitudes de pK_a de los fenoles reportados en la Tabla 1 predominando la forma molecular sobre la forma iónica^{35-38.} En estas condiciones, el proceso de adsorción se lleva a cabo por interacciones dispersivas favoreciendo el proceso de adsorción, ya que si se diera el caso de $pH > pK_a$ predominaría la forma iónica sobre la forma molecular y las interacciones electrostáticas serían las que llevan a cabo el proceso de adsorción, disminuyendo la capacidad de adsorción de los fenoles mediante los sólidos obtenidos^{5, 6, 12, 24.}

CONCLUSIONES

A partir de las isothermas de adsorción experimentales de fenoles sobre CAs se evidencia la gran capacidad de adsorción de estos sólidos frente a fenol, *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol, así mismo fue posible ajustar estos resultados experimentales a modelos de equilibrio, donde se evidencia gran correlación al ajuste del modelo Langmuir, aspecto relacionado además con la tendencia de las isothermas.

Se observó que los carbonos activados a altas concentraciones presentan menor contenido de carbono y a su vez mayor materia volátil, comportamiento sustentado por el ataque directo del ácido fuerte sobre la matriz lignocelulósica, lo que origina una pérdida apreciable

de carbono y mayor adhesión de complejos oxigenados a la estructura de la matriz. Así mismo, este comportamiento se respaldó por la gran correlación del estudio de análisis elemental y análisis próximo.

Se ha determinado que la remoción de fenol y *p*-nitrofenol y *p*-clorofenol son mayores para las muestras activadas a altas concentraciones, aspecto relacionado con las propiedades texturales de estos sólidos. No obstante para el *p*-clorofenol es evidente la mayor capacidad de adsorción. Al elucidar el mecanismo de este sistema se exhibe que este comportamiento es explicado por el tamaño del clorofenol y por el carácter menos ácido de este compuesto en comparación con el nitrofenol forjándolo a ser más favorecido por los sólidos debido a que estos presentan mayor contenido de grupos superficiales ácidos.

Es posible concluir que los resultado del estudio de equilibrio de adsorción de fenol, *p*-clorofenol y *p*-nitrofenol concuerdan con el comportamiento evidenciado en el estudio de calorimetría de inmersión, donde las magnitudes energéticas se relacionan proporcionalmente con los valores de la capacidad de adsorción de los sólidos, así como con las propiedades texturales y químicas de estos.

Se evidenció el efecto del grupo nitro y cloro en la capacidad de adsorción sobre carbones activados, donde se resalta la gran interacción de estos, sobre la superficie química en los CAs. En este sentido, se resalta el carácter electroattractor de estos grupos por efectos inductivos y de resonancia, su tamaño molecular, fortaleza ácida, solubilidad y el pH del medio, aspectos que se relacionaron conexamente con las propiedades texturales y químicas de los carbones activos empleados en este estudio.

Finalmente se evidencia claramente la viabilidad de sintetizar carbón activado mediante semillas de eucalipto, contribuyendo al estudio de materiales carbonosos, con la presentación de este material como una adecuada alternativa para la síntesis de carbón y su posible aplicación en escala industrial, ya que los métodos descritos en esta investigación son de fácil acceso y relativamente económicos, con bajos consumos energéticos, y dándole un valor agregado a materiales lignocelulosicos sin valor comercial, cuyo exceso y acumulación puede desencadenar en problemas ambientales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al convenio institucional entre la Universidad de los Andes y la Universidad Nacional de Colombia. Así mismo, los autores agradecen al programa de apoyo financiero de la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes para proyectos en la modalidad de estudiantes de posgrado.

REFERENCIAS

1. Quiquinta W.M., Suárez Rueda N., García Terrazas C. Contaminación del agua e impactos por actividad hidrocarburífera, Edición fortaleza. Bolivia, La Paz, **2003**.
2. Segura-Triana L. Estudio de antecedentes sobre contaminación hídrica en Colombia, Tesis en administración pública, Posgrados en Ciencias políticas y Administrativas, Colombia, Bogotá, **2007**.
3. Echarri L. Contaminación del agua. Editorial Universidad de Navarra. pp 15-55. España, Pamplona, **2010**.
4. Kunwar S.; Amrita M.; Sarita S.; Priyanka O. Liquid-phase adsorption of phenols using activated carbons derived from agricultural waste material. *J. Hazard. Mater.* **2008**, *150*, 626-641.
5. Kumar A., Kumar S., Kumar Su., Gupta D.; Adsorption of phenol and 4-nitrofenol on granular activated carbon in basal salt medium: Equilibrium and kinetics. *J. Hazard. Mater.* **2007**, *147*, 155-166.
6. Qing-Song, L.; Tong, Z.; Peng, W.; Ji-Ping, J. Nan, L. Adsorption isotherm, kinetic and mechanism studies of some substituted phenols on activated carbon fibers. *Chem. Eng. J.* **2010**, *157* (3), 348-356.
7. Ahmaruzzaman M.; Sharma D. Adsorption of phenols from wastewater. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *287* (4), 14-24.
8. Resumen de salud pública de fenol.; Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades, departamento de salud y servicios humanos de EE. UU. pp. 01-09. Servicio de Salud Pública, **2008**.
9. Hoja informativa sobre sustancias peligrosas: 4-Nitrofenol, Department of health and senior Services, pp. 01-06. New Jersey, **2004**.
10. Toxicological profile for chlorophenols. Department of Health and Human Services. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. pp. 01-60, **2000**.
11. Tancredi, N., Medero, N., Moller, F., Piritz J., Plada, C. Cordero, T.; Phenol adsorption onto powdered and granular activated carbon, prepared from Eucalyptus wood. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *279*, 357-363.
12. Rincon-Silva N.G.; Moreno-Piraján J.C.; Giraldo L. Preparación de carbón activado a partir de semilla de Eucalipto para la adsorción de compuestos fenólicos monosustituídos. *Afinidad*, **2015**, *572*, 01-06.
13. Rincon-Silva N.G.; Moreno-Piraján J.C.; Giraldo L. Uso de semillas de eucalipto para descontaminar aguas residuales. *Hipótesis*. **2015**, *18*, 11-13.
14. Martín Martínez, J. Generalidades sobre adsorción física de gases y vapores en carbones. In J. Martín Martínez, Adsorción Física de Gases y Vapores por Carbones. pp. 5-40. Alicante, España: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Alicante, **1990**.
15. Lovera Garcia, R. Caracterización Textural de Adsorbentes. *Revista chilena de ingeniería*. **2003**, *6*, 24-28.

16. Rodríguez Reinoso, F.; Moreno-Pirajan, J.C. El Carbón Activado como Adsorbente Universal En Sólidos Porosos: preparación, Caracterización y Aplicaciones. pp. 1-43. Colombia, Bogotá: Ediciones Uniandes, **2007**.
17. Egerton R. Physical Principles of Electron Microscopy: An Introduction to TEM, SEM, and AEM, Alberta, Canada pp. 125-172. Springer, **2005**.
18. Tansel B.; Nagarajan, P. SEM study of phenolphthalein adsorption on granular activated Carbon. *Advances in Environmental Research*. **2004**, *8*, 411-415.
19. Boehm, H. P. Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon*. **1994**, *5*, 759-769.
20. Boehm, H. P.; Surface oxides on carbon and their analysis: a critical assessment. *Carbon*. **2002**, *40*, 145-149.
21. Babic, B.M.; Milonjic, S.K.; Polovina, M.J.; Kaludierovic, B.V. Point of zero charge and intrinsic equilibrium constants of activated carbon. *Carbon*. **1999**, *37*, 477-481.
22. Moreno-Castilla, C. Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon material. *Carbon*. **2004**, *42*, 83-94.
23. Mourao, P.A.M.; Carrott, P.J.M.; Ribeiro, M.M.L. Application of different equations to adsorption isotherms of phenolic compounds on activated carbons prepared from cork. *Carbon*. **2006**, *44*, 2422-2429.
24. Rincon-Silva, N.G.; Moreno-Piraján, J. C.; Giraldo, L. Thermodynamic study of adsorption of phenol, 4-chlorophenol and 4-nitrophenol on activated carbon obtained from eucalyptus seed. *J. Chem.* **2015**, *2015*, 01-12.
25. Stoeckli F.; Centeno T.A.; Donnet J.B.; Pusset N.; Papirer E. Characterization of industrial activated carbons by adsorption and immersion techniques and by STM. *Fuel*. **1995**, *74* (11), 1582-1588.
26. Menendez J. A.; On the use of calorimetric techniques for the characterization of carbons: A brief review. *Thermochim. Acta*. **1998**, *312* (1), 79-86.
27. Radovic L. R.; Moreno-Castilla C.; Rivera-Utrilla J. Carbon Materials as Adsorbents in Aqueous Solutions, Chemistry and Physics of Carbon. A Series of Advances, New York: Ed Marcel Dekker. pp. 293-297, **2000**.
28. Stoeckli F. Microporous carbons and their characterization: The present state of the art. *Carbon*. **1990**, *28* (1), 1-6.
29. Brasquet C.; Rousseau B.; Estrade-Szwarckopf, H; Cloirec P. Le. Observation of activated carbon fibers with SEM and AFM correlation with adsorption data in aqueous solution. *Carbon*, **2000**, *38*, 407-422.
30. Mojica-Sanchez, L.C., Ramirez-Gomez, W.M., Rincon-Silva, N.G., Blanco-Martinez, D.A., Giraldo, L.; Moreno-Pirajan J.C. Síntesis de carbón activado proveniente de semillas de Eucalipto por activación física y química. *Afinidad*, **2012**, *559*, 203-210.
31. Karagoz S.; Tay T.; Ucar S.; Erdem M. Activated carbons from waste biomass by sulfuric acid activation and their use on methylene blue adsorption. *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 6214-6222.
32. Olivares-Marina, M.; Fernandez-Gonzalez, C.; Macias-Garcia, A.; Gomez-Serrano V. Preparation of activated carbon from cherry stones by physical activation in air. Influence of the chemical carbonisation with H₂SO₄. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*. **2012**, *94*, 131-137.
33. Denoyel R.; Fernandez-Colinas J.; Grillet Y.; Rouquerol J. Assessment of the surface area and microporosity of activated charcoals from immersion calorimetry and nitrogen adsorption data. *Langmuir*. **1993**, *9* (2), 515-518.
34. Molina-Sabio M.; Nakagawa Y.; Rodríguez-Reinoso F. Possible errors in microporosity in chemically activated carbon deduced from immersion calorimetry. *Carbon*, **2008**, *46* (2), 329-334.
35. Carey, F.A. Advanced Organic Chemistry Part A: Structure and Mechanisms, Fifth Edition, University of Virginia: pp. 339-447, Springer Science Business Media **2007**.
36. Rincon-Silva N.G.; Moreno-Piraján J.C.; Giraldo L. Equilibrium, kinetics and thermodynamics study of phenols adsorption onto activated carbon obtained from lignocellulosic material (Eucalyptus Globulus labill seed). *J. International Adsorption Society*. **2016**, *22* (3), 33-48.
37. Adewuyi A.; Göpfert A.; Adewuyi O.A.; Wolff T. Adsorption of 2-chlorophenol onto the surface of underutilized seed of *Adenopus breviflorus*: A potential means of treating waste water. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. **2016**, *4*, 664-672
38. Lorenc-Grabowska E.; Diez M.A.; Gryglewicz G. Influence of pore size distribution on the adsorption of phenol on PET-based activated carbons. *J. Colloid Interface Sci.* **2016**, *469*, 205-212.

Multiclasificadores basados en aprendizaje automático como herramienta para la evaluación del perfil neurotóxico de líquidos iónicos

R. Domínguez-López¹, L.C. Avila-de-la-Cruz¹, F. Borges², M.N.D.S. Cordeiro³, C. Paz-y-Miño⁴, E. Tejera⁴, Y. Pérez-Castillo⁵, A. Sánchez-Rodríguez⁶, Y. Perera-Sardiña⁷, M. Cruz-Monteagudo^{2,4*}

¹Dpto. Computación, Univ. de Las Tunas, Cuba. ²CIQUP ³REQUIMTE Dpto. Quím. e Bioquímica, Fac. Ciências, Univ. do Porto, Portugal. ⁴IIB, Univ. de Las Américas, Quito, Ecuador. ⁵Sec. Físico Quím. y Matemáticas, Dpto. Quím., Univ. Técnica Particular de Loja, Ecuador. ⁶Dpto. Ciencias Nat., Univ. Técnica Particular de Loja, Ecuador. ⁷Dpto. Ciencias Quím., Fac. Ciencias Exactas, Univ. Andres Bello, Santiago de Chile, Chile.

Machine learning based multiclassifiers as a neurotoxicity estimation tool for ionic liquids

Multiclassificadors basats en l'aprenentatge automàtic com a eina per a l'avaluació del perfil neurotòxic de líquids iònics

RECEIVED: 11 MAY 2016. REVISED: 6 JUNE 2016. ACCEPTED: 6 JUNE 2016

SUMMARY

Ionic liquids (ILs) possess a unique physicochemical profile providing a wide range of applications. Their almost limitless structural possibilities allow the design of task-specific ILs. However, their “greenness,” specifically their claimed relative nontoxicity has been frequently questioned, hindering their REACH registration processes and, so, their final application. Since the most of ionic liquids has yet to be synthesized, the development of chemoinformatic tools allowing the efficient profiling of the hazardous potential of these compounds becomes critical. In this sense, the combined use of multiple base classifiers (ensembles or multiclassifiers) have proved to overcome the classification performance limitations associated to the use of single classifiers. In the present work we report two ensembles models with good predictive capabilities in a validation set of ionic liquids never used in the learning process. These models were obtained as part of Quantitative Structure Activity Relationship's studies (QSAR) applied to the characterization of neurotoxic profile of ionic liquids based on its inhibition of the Acetyl cholinesterase enzyme (AChE) as neurotoxicity indicator. The results obtained show that one can expect that at least 96% of a set of news

ionic liquids can be correctly classified using these ensembles models. Consequently, these chemoinformatics models provides efficient decision making tools in the design and development of new “green” ionic liquids.

Key words: Acetylcholinesterase; ionic liquids; QSAR; multiclassifiers; diversity measures; AdaboostM.1; stacking.

RESUMEN

Los líquidos iónicos poseen un perfil físicoquímico único, el cual los provee de un amplio rango de aplicaciones. Su variabilidad estructural casi ilimitada permite su diseño para tareas específicas. Sin embargo, su sustentabilidad, específicamente su seguridad desde el punto de vista toxicológico, ha sido frecuentemente cuestionada. Este último aspecto limita significativamente el cumplimiento de las regulaciones establecidas por la Unión Europea para el registro,

*Corresponding author: gmailkelcm@yahoo.es

evaluación, autorización y restricción de compuestos químicos (REACH), así como su aplicación final. Debido a que la mayoría de los líquidos iónicos no han sido sintetizados, se hace evidente la importancia del desarrollo de herramientas quimioinformáticas que, de forma eficiente, permitan evaluar el potencial toxicológico de estos compuestos. En este sentido, el uso combinado de múltiples clasificadores ha demostrado superar las limitaciones de desempeño asociadas al uso de clasificadores individuales. En el presente trabajo fueron evaluadas varias estrategias alternativas de multclasificadores basados en técnicas de aprendizaje automático supervisado, como herramientas para la evaluación del perfil neurotóxico de líquidos iónicos basado en la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, como indicador de neurotoxicidad. Se obtuvieron dos multclasificadores con una alta capacidad predictiva sobre un conjunto de validación externa (no utilizado en el proceso de aprendizaje de los modelos). De acuerdo a los resultados obtenidos el 96% de un conjunto de nuevos líquidos iónicos podrá ser correctamente clasificado con la utilización de estos multclasificadores, los cuales constituyen herramientas de toma de decisión útiles en el campo del diseño y desarrollo de nuevos líquidos iónicos sustentables.

Palabras clave: Acetilcolinesterasa; líquidos iónicos; QSAR; multclasificadores; medidas de diversidad; AdaboostM.1; Stacking.

RESUM

Els líquids iònics posseeixen un perfil fisicoquímic únic, el qual els proveeix d'un ampli rang d'aplicacions. La seva variabilitat estructural quasi il·limitada permet el seu disseny per a tasques específiques. No obstant, la seva sostenibilitat, específicament la seva seguretat des del punt de vista toxicològic, ha estat freqüentment qüestionat. Aquest darrer limita significativament el compliment de les regulacions establertes per la Unió Europea pel registre, avaluació, autorització i restricció de compostos químics (REACH), així com la seva aplicació final. Degut a que la majoria dels líquids iònics no han estat sintetitzats, es fa evident la importància del desenvolupament d'eines quimioinformàtiques que, de manera eficient, permeten avaluar el potencial toxicològic d'aquests compostos. En aquest sentit, l'ús combinat de múltiples classificadors ha demostrat superar les limitacions d'acompliment associades l'ús de classificadors individuals. En el present treball van ser avaluades diverses estratègies alternatives de multclasificadors basats en tècniques d'aprenentatge automàtic supervisat, com a eines per a l'avaluació del perfil neurotóxic de líquids iònics basat en la inhibició de l'enzim acetilcolinesterasa, com a indicador de neurotoxicitat. Es van obtenir 2 multclasificadors amb una alta capacitat predictiva sobre un conjunt de validació externa (no utilitzat en el procés d'aprenentatge dels models). D'acord als resultats obtinguts el 96% d'un conjunt de nous líquids iònics

podrà ser correctament classificat amb la utilització d'aquests multclasificadors, els quals constitueixen eines de presa de decisió útils en el camp del disseny i desenvolupament de nous líquids iònics sostenibles.

Paraules clau: Acetilcolinesterasa; líquids iònics; QSAR; multclasificadors; mesures de diversitat; AdaboostM.1; Stacking.

INTRODUCCIÓN

Los líquidos iónicos (LI) constituyen un área de las ciencias químicas que actualmente atrae la atención entre la comunidad científica. Las investigaciones en torno a ese campo están motivadas por las características físico-químicas únicas de estos compuestos que proveen un amplio rango de aplicaciones¹. El número de posibles combinaciones de aniones y cationes que pudieran componer un LI está por el orden de los 10^{18} ². Los LI son denominados “verdes” o sustentables y la razón por la que son llamados de esta forma consiste generalmente en tres argumentos: i) poseen una presión de vapor muy baja que proporciona una reducción de la exposición por inhalación en el personal que trabaja con él en comparación con solventes moleculares convencionales; ii) baja inflamabilidad, que reduce significativamente el riesgo de oxidaciones exotérmicas rápidas y iii) son relativamente no tóxicos³⁻⁵.

Existen investigadores que están de acuerdo con las primeras características pero otros expresan su desacuerdo con la última característica y la justificación de su discrepancia se encuentra plasmada en varios artículos⁶. Un creciente número de estudios, que analizan el riesgo de diferentes LI, han sido realizados y determinados en diferentes sistemas de pruebas biológicas⁷⁻⁹.

A partir de estas investigaciones se pudo demostrar que los LI son potencialmente peligrosos tanto para el hombre como para el medioambiente. Como resultado fueron identificados LI con niveles que van desde bajo peligro potencial hasta aquellos que son potencialmente muy tóxicos. Dentro del sistema de ensayos utilizadas en estas investigaciones se encuentra la evaluación de la inhibición de la enzima Acetilcolinesterasa (AChE)” realizado a partir de la enzima purificada proveniente de la manta eléctrica “*Electrophorus electricus*”, apoyados en estudios QSAR. Dicha enzima es parte esencial del sistema nervioso central de los organismos complejos y por tanto puede ser usada como un indicador del potencial neurotóxico de aquellas sustancias capaces de inhibirla (10). Los resultados de este estudio permitieron determinar que los LI pueden inhibir la enzima y por consecuencia provocar efectos no deseados en los organismos afectados. Los resultados de los ensayos “*in vivo*” son un indicador de que la AChE de otros organismos también puede ser inhibida¹⁰. Como resultado de las investigaciones sobre el efecto inhibitorio de los LI sobre la AChE ha sido generado un volumen de registros donde se describen las características

estructurales de los LI ya sintetizados y su actividad sobre la AChE. A partir de que la gran mayoría de LI aún no han sido sintetizados es necesario desarrollar métodos capaces de predecir el peligro potencial de LI desconocidos con el objetivo de facilitar el diseño de nuevos materiales seguros y reducir la necesidad de realizar la síntesis de LI basados en el método de prueba y error, lo que permite disminuir los costos y el tiempo de su producción.

El uso de herramientas computacionales ha demostrado ser un factor fundamental en investigaciones realizadas en múltiples especialidades debido a que ha sido utilizada como herramienta para realizar simulaciones matemáticas y de otras índoles con el objetivo de realizar experimentos más certeros y cercanos a la realidad. La computación, como herramienta, complementa la realización de estudios que utilizan simulaciones o procesamiento de grandes volúmenes de datos que de forma manual sería inviable realizar. El aprendizaje automático es un área de la inteligencia artificial que ha demostrado ser de gran utilidad para el procesamiento de grandes volúmenes de información en las ciencias biológicas y químicas. En este sentido, se han reportado varios artículos relacionados con de herramientas computacionales para la predicción de la toxicidad de los LI¹¹⁻²². Específicamente, la predicción del potencial inhibitorio de los LI sobre la enzima AChE, como un problema de clasificación ha sido poco explorada. En este sentido los resultados reportados se limitan a la utilización de técnicas de clasificación o regresión, con un escaso reporte del uso de multclasificadores. Basados en lo anteriormente expuesto proponemos en este trabajo la identificación de varios modelos basados en multclasificadores que permitan predecir eficientemente la capacidad inhibitoria de LI sobre la enzima AChE y de esta forma poder estimar su potencial neurotóxico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo del trabajo se aplicó un enfoque de minería de datos. Se aplicaron las etapas del proceso de extracción del conocimiento en base de datos, con el objetivo de encontrar modelos que permitan la identificación de patrones a partir de la información actual y con su utilización poder predecir el peligro potencial de LI desconocidos.

Recolección y estandarización de los datos

Los datos utilizados fueron obtenidos de la Base de datos de efectos biológicos de LI pertenecientes a la UFT/Merck^{10,11,23}. Tropsha y colaboradores²⁴ proponen una metodología para preprocesar la información relacionada con la estructura de moléculas químicas que serán objeto de la realización de estudios QSAR. Esta metodología propone eliminar todas aquellas moléculas que poseen elementos metálicos u organometálicos, de manera que sean descartadas aquellas moléculas que contienen elementos que no son manejados por las herramientas para el cálculo de descriptores moleculares, así como elementos poco representados que pu-

dieran constituir ruidos en la fase de aprendizaje. Los elementos poco representados son determinados con la utilización del software JChem for Excel²⁵.

La estructura química de cada molécula, que se encuentra codificada mediante el correspondiente código SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry Specification*), debe ser estandarizada debido a que, en ocasiones, un mismo grupo funcional puede ser representado por diferentes patrones estructurales en un conjunto de datos dado. Para los estudios QSAR esta situación conduce a serios problemas debido a que los descriptores moleculares calculados a partir de estas representaciones diferentes del mismo grupo funcional pueden ser significativamente distintos²⁴.

Para la estandarización estructural de las moléculas se utilizó la herramienta ChemAxon's Standarizer²⁶. Seguidamente se procedió a identificar duplicados de una molécula con el objetivo de removerlas. Los duplicados pueden afectar la frecuencia observada de una molécula y la distribución de los compuestos acorde a su similitud estructural. Como consecuencia los duplicados deben ser eliminados antes de realizar cualquier estudio de modelación. Para la eliminación de duplicados se utilizó el software EdiSDF²⁷. A continuación se procedió a realizar el cálculo de los descriptores moleculares mediante la utilización de la herramienta ISIDA^{27,28}, lo que permitió la obtención de un vector numérico que representa la ocurrencia de fragmentos presentes en la molécula tal y como se describe en²⁹. Finalmente se evaluaron varios clasificadores y multclasificadores implementados en la herramienta de minería de datos Weka³⁰.

Diseño del experimento

El conjunto de datos resultante recoge la información de 261 moléculas, donde cada molécula está representada por 693 descriptores moleculares. Las moléculas se clasifican en dos grupos: 226 LI con una capacidad inhibitoria sobre la enzima AChE de mediana a muy alta y clasificados como potencialmente neurotóxicos y 35 LI con una baja capacidad inhibitoria sobre la enzima AChE y clasificados como potencialmente no neurotóxicos o seguros. Para el diseño del experimento de clasificación mediante la aplicación de la metodología QSAR, se seleccionó el 75% de las instancias de cada clase para ser utilizada como conjunto de entrenamiento y se reservó el 25% restante de cada clase para evaluar la capacidad de generalización de los modelos obtenidos (conjunto de evaluación externa). Consecuentemente, el conjunto de entrenamiento inicial queda conformado por 169 LI clasificados como potencialmente neurotóxicos y 25 LI clasificados como potencialmente no neurotóxicos o seguros. Por su parte el conjunto de evaluación externa queda conformado por 57 LI clasificados como potencialmente neurotóxicos y 10 LI clasificados como potencialmente no neurotóxicos o seguros. En este caso se empleó la opción *Create Subset / Random Sampling* implementada en el software STATISTICA 8.0³¹ para realizar un muestreo aleatorio y de esta forma conformar el conjunto de datos de entrenamiento y el conjunto de datos de prueba.

El conjunto de datos a utilizar para el entrenamiento posee dos características que hacen necesario un pre-procesamiento adicional. El conjunto de datos poseen una alta dimensionalidad con respecto a la cantidad de instancias que posee, lo que propicia problemas de sobreajuste en la clasificación y además presenta un desbalance entre la cantidad de instancias que conforman las clases en las que se clasifican estos compuestos, presentado un índice de desbalance (IR) = 6.45, el cual puede ser determinado mediante la razón entre la ocurrencia de las instancias pertenecientes a la clase mayoritaria (226) y la ocurrencia de las instancias pertenecientes a la clase minoritaria³⁵. La realización de un entrenamiento con tal conjunto de datos provoca que el criterio de los clasificadores sea parcializado a favor de las instancias más representadas³².

Selección de atributos, balance de clases y modelación

Los softwares para el cálculo de descriptores moleculares generan de cientos a miles de estos descriptores. En muchas ocasiones una gran parte de estos descriptores es información redundante y poco útil en el proceso de extracción del conocimiento. Por tal razón se hace necesario seleccionar aquellos atributos que son relevantes para el problema en cuestión y de esta forma se evita el riesgo de que los clasificadores se vean afectados por el sobreajuste. La selección de atributos relevantes, en la actualidad, se realiza mediante 3 enfoques: i) algoritmos filtros, ii) algoritmos envolventes, iii) algoritmos híbridos. En³³ se explican las características de los algoritmos que pertenecen a estas tres categorías.

Para la selección de aquellos rasgos relevantes para la clase se utilizó el software mRMR³⁴, el cual implementa una selección de atributos basada en el criterio de máxima dependencia estadística basado en información mutua. El software es capaz de encontrar un subconjunto de atributos que poseen máxima relevancia con respecto al atributo dependiente (clase) y a la vez mínima redundancia entre ellos.

La configuración de los parámetros para alcanzar estos resultados se logró especificando el tamaño del subconjunto a obtener, el criterio de selección, el valor de corte de discretización (0.0, 0.5, 1.0) y el método de selección para la combinación de relevancia y redundancia. Los parámetros específicos fueron: 50 atributos como tamaño del subconjunto, mRMR como criterio de selección, 0.0 como valor de corte de discretización (sin discretización) y MIQ como método de combinación de relevancia y redundancia.

Una vez realizada la selección de los atributos relevantes se procede a realizar el balance de las clases con el objetivo de modificar la distribución de estas y garantizar que los resultados de los clasificadores no sean influenciados por el desbalance³⁵. Como resultado, estos problemas han sido identificados como desafíos actuales de la minería de datos. Los algoritmos de clasificación con frecuencia muestran un alto desempeño de clasificación respecto a la clase mayoritaria mientras lo opuesto ocurre en la clase menos representada.

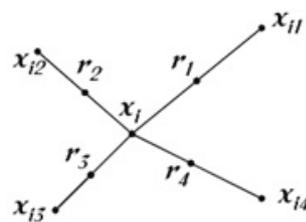


Figura 1. Proceso de generación de instancias sintéticas.

En conjuntos de entrenamientos desbalanceados la información de interés se encuentra en la clase minoritaria, muchos clasificadores consideran los datos poco representados como ruido o rarezas³⁵. En este trabajo se utilizó una técnica bien conocida y ampliamente usada para balancear las clases llamada *Synthetic Minority Oversampling Technique* (SMOTE)³⁶. SMOTE utiliza cada instancia de la clase minoritaria e introduce instancias sintéticas en el segmento que une a una/todas las k instancias más cercanas pertenecientes a la clase minoritaria. En la Figura 1, X_i representan la instancia seleccionada, X_{i1}, \dots, X_{i4} son los vecinos más cercanos seleccionados y r_1, \dots, r_4 las instancias sintéticas creadas por una interpolación aleatoria. En dependencia de la cantidad de nuevas instancias requeridas, los vecinos utilizados que pertenecen a los k vecinos más cercanos son seleccionados aleatoriamente. Para la aplicación de este algoritmo se utilizó la implementación que está presente en la herramienta Weka³⁷. Una vez obtenido el conjunto de datos de entrenamiento definitivo se procede a obtener modelos basados en multclasificadores. Para la obtención de los modelos, en una primera etapa, se emplearon ocho clasificadores, los cuales se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificadores evaluados en la primera etapa.

Grupo	Clasificador	ID
Árboles de decisión	<i>ExtraTree</i>	ET
Red bayesiana	<i>NaiveBayes</i>	NB
Basado en instancias	<i>KStar</i>	K
Reglas	<i>Jrip</i>	J
Análisis discriminante	<i>FDLA</i>	AD
Regresión logística	<i>Logistic</i>	L
Red neuronal	<i>Multilayer Perceptron</i>	MLP
Máquina de soporte vectorial	<i>SMO</i>	SMO

A continuación se determinó el clasificador individual que mejor desempeño presentó para ser utilizado como mecanismo de comparación en la evaluación de los multclasificadores a utilizar en la experimentación. Este será utilizado para descartar aquellos modelos multclasificadores que presenten un desempeño igual o inferior. En una segunda etapa se hace necesario obtener modelos multclasificadores con la utilización de varos esquemas de agregación (*Bagging*, *Boosting*, *Stacking* y *Vote*), todos implementados en la herramienta Weka.

*Bagging*³⁸ y *Boosting*³⁹ son algoritmos que garantizan diversidad en su aprendizaje debido a la estrategia utilizada para realizar el entrenamiento. Bagging divide el conjunto de entrenamiento en varios subconjuntos, donde la selección de las instancias que conforman cada subconjunto de casos se realiza de forma aleatoria con reemplazo, de forma tal que una instancia puede formar parte en más de un subconjunto de entrenamiento. Este método utiliza un clasificador base para entrenarlo con cada subconjunto de datos generados y el método de combinación de las salidas emitidas es mediante el voto mayoritario. Por su parte, *Boosting* utiliza el mismo principio de creación de subconjuntos de entrenamiento que *Bagging* y la utilización de un solo clasificador, pero la diferencia radica en que a medida que se realiza el entrenamiento se garantiza que las instancias mal clasificadas en un subconjunto pertenezcan al próximo conjunto de entrenamiento a utilizar, de forma que permite al clasificador concentrarse en las instancias que son difíciles de clasificar. El método de combinación de las salidas generadas es mediante el voto mayoritario. En este trabajo se utilizó el algoritmo *Adaboost.M.1* como multclasificador *Boosting*. *Stacking*⁴⁰ y *Vote*⁴¹. A diferencia de los algoritmos mencionados con anterioridad, este no garantiza la diversidad en su aprendizaje, por lo que es responsabilidad del investigador garantizarla apoyándose en los criterios reportados en la literatura dedicada al tema.

Estos algoritmos, para la emisión de un criterio sobre la clase de una instancia, se basan en las salidas emitidas por los clasificadores utilizados en la construcción del modelo. En⁴² se especifican los mecanismos para garantizar "diversidad" en la combinación de clasificadores a utilizar en la construcción de un multclasificador, denominados "medidas de diversidad". En la realización de este trabajo se utilizaron cinco medidas de diversidad: i) coeficiente de correlación (p), ii) estadístico Q, iii) medida de diferencia (D), iiiii) medida de doble fallo (DF) y iiiiii) razón entre D y DF denominado como (R) las cuales son descritas en^{42,43}. Para la determinación de estas medidas de diversidad en⁴² se explica el procedimiento a realizar para calcularlas. Primeramente se determinaron las posibles combinaciones de clasificadores a utilizar, mediante la aplicación de la combinatoria mostrada en (2). La determinación de las combinaciones de clasificadores más "diversos" se realizó mediante el cálculo de las medidas de diversidad sobre las 248 posibles combinaciones de clasificadores a utilizar.

$$\text{comb} = \binom{8}{2} + \binom{8}{3} + \dots + \binom{8}{8} = 248 \quad (\text{Eq.1})$$

Esta operación permitió determinar que un total de 32 combinaciones mostraban mayor diversidad ante las restantes 216 combinaciones. Las combinaciones diversas se organizaron de forma tal que permitiera realizar una experimentación con aquellas combinaciones diversas en las cinco medidas calculadas y otra experimentación con aquellas combinaciones diversas solo en cuatro de las cinco medidas utilizadas.

Una vez en este punto se procede a continuar la experimentación. El algoritmo *Stacking* utiliza como método de combinación de las salidas de los clasificadores un clasificador, llamado "metaclasificador", que se entrena con un conjunto de instancias que el algoritmo genera, donde los componentes de cada instancia es la salida que emite cada clasificador individual utilizado en la construcción del modelo y donde el atributo dependiente continua siendo la clase original. En este caso se utilizó como metaclasificador el clasificador individual que mejor desempeño presentó en la evaluación individual realizada. El algoritmo *Vote* propone cinco métodos de combinación de las salidas de los clasificadores individuales, tales como: i) voto mayoritario, ii) promedio de probabilidades, iii) máximo de probabilidades, iiiii) mínimo de probabilidades y iiiiii) mediana de probabilidades. En este caso se utilizaron los métodos: voto mayoritario y promedio de probabilidades, métodos utilizados en la solución de un trabajo similar⁴³. La experimentación fue realizada sobre cada uno de los dos grupos de combinaciones de clasificadores determinados anteriormente como diversos. Finalmente fueron evaluados los modelos obtenidos e identificados aquellos modelos que superaron el desempeño del mejor clasificador individual. Esto demuestra que se obtuvo una mejora en el desempeño respecto a los desempeños obtenidos con los clasificadores individuales evaluados. Para la evaluación del desempeño de un clasificador se deben tener en cuenta la existencia de métricas que permiten evaluar cuan bien se comporta un modelo frente a una situación desconocida, es decir, permite evaluar la capacidad de generalización de esos modelos. Existen diversas métricas tales como la exactitud o *Accuracy* (ACC), el estadístico *Kappa* (KAPPA), la razón de verdaderos positivos (TP_{rate}), la razón de verdaderos negativos (TN_{rate}), la precisión o *Precision*, la recuperación o *Recall*, F y el área bajo la curva (AUC)^{32, 35, 44-47}. En este trabajo se emplearon métricas que miden el desempeño global de los clasificadores tales como ACC, AUC y KAPPA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de aplicar las indicaciones propuestas por Tropsha y colaboradores²⁴ fueron identificadas las moléculas que poseían los siguientes elementos poco representados en el conjunto de entrenamiento: Sodio (Na), Litio (Li), Potasio (K), Hierro (Fe) y Antimonio (Sb). Las moléculas que presentaron estos compuestos fueron eliminadas del conjunto de datos de forma manual, eliminándose así 28 compuestos que podrían introducir ruido a la hora del entrenamiento de los modelos. A continuación fue utilizado el módulo Standarizer del software ChemAxon para realizar la estandarización de las moléculas. Mediante el empleo del programa EdiSDF se pudo comprobar que no existen moléculas duplicadas en el conjunto de datos. A continuación se utilizó el software ISIDA como herramienta para el cálculo de los descriptores moleculares a partir de los cuales se procedió a realizar la

experimentación. Como resultado se obtuvieron un total de 693 descriptores moleculares por cada instancia del conjunto de datos.

Selección de atributos, balance de datos y modelación

Dado que el conjunto de datos obtenido para realizar el entrenamiento posee 693 atributos y solo 195 instancias existe la posibilidad de que los clasificadores sufran de sobreajuste. Como consecuencia el clasificador será tan específico que en lugar de “aprender” de los casos “memorizará” los mismos y por tanto no será capaz de generalizar el patrón identificado para nuevos casos. Para llevar a cabo la selección de atributos se utilizó el software mRMR, que permitió la obtención de un subconjunto de atributos que son los más relevantes respecto al atributo dependiente y que poseen la menor redundancia posible entre ellos.

Luego de aplicada la configuración especificada y de ejecutado el algoritmo de selección de atributos se identificaron 50 atributos que permitieron maximizar la diferencia entre la relevancia de los atributos y la redundancia entre ellos.

A continuación se procedió a realizar el balance entre las clases. Para esto se utilizó el algoritmo SMO-TE, incluido en la herramienta Weka, el cual permitió la generación de 143 instancias artificiales pertenecientes a la clase minoritaria del conjunto de datos de entrenamiento. Consecuentemente, el conjunto de entrenamiento final queda conformado por 169 LI clasificados como potencialmente neurotóxicos y 168 LI clasificados como potencialmente no neurotóxicos o seguros (25 LI potencialmente neurotóxicos + 143 instancias artificiales generadas con SMOTE).

Una vez que se logra balancear los datos en el conjunto de entrenamiento se está en condiciones de proceder con la obtención de los modelos de clasificación. Como se explicó con anterioridad se realizó una evaluación con ocho clasificadores individuales (Ver Tabla 1). En la Tabla 2 se muestra el desempeño alcanzado por cada clasificador individual en los conjuntos de entrenamiento y de evaluación externa. Como se puede apreciar el clasificador *ExtraTree* (ET) fue el de mejor desempeño y por lo tanto será utilizado para la evaluación de los modelos multclasificadores determinados en el proceso que sigue a continuación.

Tabla 2. Desempeño de los clasificadores individuales.

Clasificador	ACC		AUC		Kappa	
	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.
ET	0.98	0.95	0.99	0.92	0.97	0.77
NB	0.83	0.92	0.93	0.92	0.66	0.71
K	0.98	0.95	0.99	0.91	0.97	0.79
J	0.97	0.93	0.98	0.82	0.95	0.71
AD	0.94	0.92	0.97	0.93	0.88	0.71
L	0.96	0.90	0.99	0.92	0.92	0.64
MLP	0.96	0.93	0.98	0.95	0.92	0.76
SMO	0.94	0.92	0.94	0.90	0.89	0.71

Se prosiguió con la evaluación de los multclasificadores *Bagging* y *Boosting* cuyos resultados pueden ser consultados en las Tablas 3 y 4. Luego de un análisis realizado se determinó un modelo *Boosting* basado

en la red neuronal *MultiLayerPerceptron* (MLP) que supera al mejor clasificador individual evaluado y por lo tanto útil para la solución requerida. Seguidamente los multclasificadores *Stacking* y *Vote* fueron evaluados, tal como se especificó con anterioridad. Estos multclasificadores a diferencia de los anteriores no garantizan la diversidad en su aprendizaje por lo que es necesario que se garantice la diversidad en la combinación de clasificadores base que son utilizados en la obtención de los modelos multclasificadores.

Tabla 3. Desempeño de los modelos *Bagging*.

Clasificador	ACC		AUC		Kappa	
	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.
ET	0.98	0.95	0.99	0.91	0.97	0.94
NB	0.85	0.92	0.96	0.96	0.71	0.95
K	0.97	0.95	0.99	0.96	0.95	0.96
J	0.97	0.92	0.99	0.97	0.95	0.96
AD	0.94	0.92	0.97	0.94	0.88	0.94
L	0.95	0.89	0.99	0.93	0.91	0.93
MLP	0.96	0.93	0.99	0.98	0.93	0.98
SMO	0.95	0.92	0.97	0.95	0.91	0.94

Tabla 4. Desempeño de los modelos *Boosting*.

Clasificador	ACC		AUC		Kappa	
	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.
ET	0.98	0.95	0.99	0.97	0.97	0.98
NB	0.89	0.95	0.97	0.98	0.79	0.98
K	0.98	0.95	0.99	0.97	0.97	0.97
J	0.98	0.95	0.99	0.98	0.97	0.98
AD	0.95	0.90	0.99	0.95	0.90	0.96
L	0.97	0.90	0.99	0.95	0.94	0.96
MLP	0.98	0.96	0.99	0.99	0.97	0.98
SMO	0.96	0.90	0.99	0.96	0.92	0.96

Se procedió a determinar las combinaciones posibles a obtener con los ocho clasificadores lo cual arrojó 248 combinaciones posibles a evaluar. Las medidas de diversidad fueron calculadas y con esta información pudo ser determinado que 31 combinaciones de clasificadores eran las más diversas y por tanto las indicadas para realizar la experimentación. Estas combinaciones de clasificadores se agruparon en dos grupos, i) 20 combinaciones de clasificadores diversas en todas las medidas de diversidad calculadas y ii) 11 combinaciones diversas en cuatro de las cinco medidas de diversidad utilizadas. Información sobre los grupos conformados de combinaciones diversas a utilizar en la evaluación de los multclasificadores puede ser consultada en las Tablas 5 y 6.

Tabla 5. Combinaciones más diversas en las cinco medidas de diversidad.

R	p	D	Q	DF	Subconjunto de Clasificadores
2.00	0.47	0.06	0.94	0.03	J-MLP
2.00	0.49	0.06	0.95	0.03	ET-SMO
2.00	0.49	0.06	0.95	0.03	AD-K
2.00	0.49	0.06	0.95	0.03	ET-AD
2.00	0.49	0.06	0.95	0.03	ET-NB
2.50	0.41	0.07	0.91	0.03	J-SMO
2.50	0.41	0.07	0.91	0.03	AD-J
2.50	0.41	0.07	0.91	0.03	J-NB
2.00	0.49	0.06	0.95	0.03	K-NB

2.00	0.49	0.06	0.95	0.03	K-SMO
1.61	0.59	0.05	0.95	0.03	ET-J-SMO
1.61	0.59	0.05	0.95	0.03	ET-J-NB
1.61	0.59	0.05	0.95	0.03	ET-AD-J
1.61	0.59	0.05	0.95	0.03	AD-J-K
1.61	0.59	0.05	0.95	0.03	J-K-SMO
1.61	0.59	0.05	0.95	0.03	J-K-NB
1.64	0.57	0.05	0.95	0.04	ET-AD-J-NB
1.64	0.57	0.05	0.95	0.04	AD-J-K-NB
1.64	0.57	0.05	0.95	0.04	ET-J-NB-SMO
1.64	0.57	0.05	0.95	0.04	J-K-NB-SMO

Tabla 6. Combinaciones más diversas en cuatro de las cinco medidas de diversidad.

R	p	D	Q	DF	Subconjunto de Clasificadores
1.83	0.53	0.06	0.94	0.04	J-NB-SMO
1.83	0.53	0.06	0.94	0.04	AD-J-NB
1.53	0.57	0.06	0.95	0.04	J-L-NB
1.58	0.59	0.05	0.95	0.04	AD-J-MLP
1.67	0.61	0.05	0.94	0.04	AD-J-SMO
1.58	0.59	0.05	0.95	0.04	J-MLP-SMO
1.58	0.59	0.05	0.95	0.04	J-MLP-NB
1.56	0.61	0.05	0.95	0.04	ET-AD-J-SMO
1.56	0.61	0.05	0.95	0.04	AD-J-K-SMO
1.48	0.61	0.05	0.96	0.04	AD-J-K-NB-SMO
1.48	0.61	0.05	0.96	0.04	ET-AD-J-NB-SMO

Una vez determinada las combinaciones de clasificadores diversas se aplicó el algoritmo *Stacking* con los dos grupos de combinaciones de clasificadores. Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 7 y 8.

Tabla 7. Resultados del desempeño de los modelos obtenidos con el multclasificador *Stacking* sobre las combinaciones de clasificadores diversas en las cinco medidas de diversidad calculadas.

Subconjunto de Clasificadores	ACC		AUC		Kappa	
	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.
J-MLP	0.93	0.92	0.93	0.90	0.87	0.71
ET-SMO	0.97	0.92	0.98	0.87	0.94	0.71
AD-K	0.97	0.90	0.97	0.85	0.95	0.64
ET-AD	0.96	0.93	0.96	0.91	0.92	0.76
ET-NB	0.97	0.95	0.97	0.88	0.95	0.79
J-SMO	0.97	0.92	0.96	0.80	0.95	0.69
AD-J	0.86	0.90	0.86	0.85	0.72	0.64
J-NB	0.97	0.92	0.97	0.90	0.94	0.71
K-NB	0.97	0.90	0.97	0.85	0.94	0.64
K-SMO	0.98	0.93	0.98	0.87	0.96	0.74
ET-J-SMO	0.93	0.90	0.95	0.85	0.86	0.61
ET-J-NB	0.98	0.89	0.98	0.84	0.97	0.60
ET-AD-J	0.97	0.92	0.97	0.86	0.95	0.69
AD--J-K	0.97	0.95	0.97	0.88	0.95	0.79
J-K-SMO	0.96	0.92	0.97	0.90	0.93	0.71
J--K-NB	0.98	0.92	0.98	0.86	0.96	0.69
ET-AD-J-NB	0.97	0.90	0.97	0.85	0.95	0.64
AD-J-K-NB	0.97	0.93	0.97	0.87	0.94	0.74
ET-J-NB-SMO	0.91	0.87	0.91	0.88	0.82	0.59
J-K-NB-SMO	0.97	0.95	0.97	0.92	0.95	0.81

Como se puede apreciar en la Tabla 7 ninguna de las combinaciones garantiza alcanzar un desempeño superior al alcanzado por mejor clasificador individual determinado con anterioridad, por tal razón no serán tenidas en cuenta para la selección del mejor modelo

multclasificador ya que en este caso el mejor resultado iguala al desempeño del mejor clasificador individual. Al realizar un análisis sobre los resultados registrados en la Tabla 8 se determinó una combinación que superó en desempeño al mejor clasificador individual, por lo que estamos en presencia del segundo modelo a utilizar como solución al problema. Esta combinación está formada por los algoritmos FDLA (AD), Jrip (J), KStar (K), NaiveBayes (NB) y SMO (SMO).

Se procedió a realizar la experimentación ahora con el algoritmo *Vote* con la utilización de los dos métodos de combinación de las salidas de los clasificadores individuales previamente especificados.

A continuación se muestran los resultados de la experimentación realizada con el multclasificador *Vote* para ambos grupos de combinaciones de clasificadores diversos registrados en las Tablas 9-12.

Tabla 8. Resultados del desempeño de los modelos obtenidos con el multclasificador *Stacking* sobre las combinaciones de clasificadores diversas en cuatro de las cinco medidas de diversidad calculadas.

Subconjunto de Clasificadores	ACC		AUC		Kappa	
	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.
J-NB-SMO	0.92	0.86	0.92	0.92	0.84	0.91
AD-J-NB	0.91	0.90	0.91	0.90	0.83	0.91
J-L-NB	0.97	0.86	0.97	0.87	0.94	0.89
AD-J-MLP	0.95	0.89	0.95	0.84	0.91	0.88
AD-J-SMO	0.96	0.90	0.96	0.85	0.92	0.89
J-MLP-SMO	0.97	0.90	0.97	0.85	0.95	0.89
J-MLP-NB	0.94	0.90	0.94	0.85	0.88	0.89
ET-AD-J-SMO	0.94	0.89	0.94	0.84	0.89	0.89
AD-J-K-SMO	0.97	0.92	0.97	0.90	0.94	0.92
AD-J-K-NB-SMO	0.98	0.96	0.98	0.93	0.97	0.95
ET-AD-J-NB-SMO	0.90	0.86	0.90	0.87	0.80	0.89

Tabla 9. Resultados del desempeño de los modelos obtenidos con el multclasificador *Vote* sobre de las combinaciones de clasificadores diversas en las cinco medidas de diversidad calculadas utilizando el promedio de probabilidades como método de combinación.

Método de combinación: Promedio de probabilidades						
Subconjunto de Clasificadores	ACC		AUC		Kappa	
	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.
J-MLP	0.97	0.92	0.99	0.97	0.95	0.76
ET-SMO	0.96	0.93	0.99	0.98	0.92	0.74
AD-K	0.97	0.92	0.99	0.96	0.95	0.69
ET-AD	0.98	0.95	0.99	0.96	0.97	0.79
ET-NB	0.94	0.95	0.99	0.98	0.88	0.79
J-SMO	0.94	0.92	0.99	0.92	0.89	0.71
AD-J	0.97	0.93	0.99	0.96	0.95	0.71
J-NB	0.91	0.92	0.97	0.92	0.83	0.71
K-NB	0.83	0.92	0.98	0.97	0.66	0.71
K-SMO	0.94	0.92	0.99	0.97	0.89	0.71
ET-J-SMO	0.98	0.95	0.99	0.97	0.97	0.79
ET-J-NB	0.98	0.95	0.99	0.97	0.97	0.79
ET-AD-J	0.98	0.95	0.99	0.96	0.97	0.79
AD-J-K	0.98	0.93	0.99	0.96	0.97	0.71
J-K-SMO	0.97	0.92	0.99	0.97	0.95	0.69
J-K-NB	0.97	0.92	0.99	0.97	0.95	0.69
ET-AD-J-NB	0.98	0.95	0.99	0.97	0.97	0.79
AD-J-K-NB	0.97	0.92	0.99	0.97	0.95	0.69
ET-J-NB-SMO	0.95	0.93	0.99	0.97	0.91	0.76
J-K-NB-SMO	0.95	0.93	0.99	0.97	0.91	0.76

Tabla 10. Resultados del desempeño de los modelos obtenidos con el multclasificador Vote sobre las combinaciones de clasificadores diversas en las cinco medidas de diversidad calculadas utilizando el voto mayoritario como método de combinación.

Método de combinación: Voto mayoritario						
Subconjunto de Clasificadores	ACC		AUC		Kappa	
	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.
J-MLP	0.97	0.92	0.97	0.81	0.94	0.66
ET-SMO	0.96	0.92	0.96	0.86	0.93	0.69
AD-K	0.96	0.92	0.96	0.86	0.93	0.69
ET-AD	0.96	0.92	0.96	0.86	0.93	0.69
ET-NB	0.92	0.92	0.92	0.98	0.84	0.79
J-SMO	0.96	0.90	0.96	0.80	0.92	0.61
AD-J	0.96	0.90	0.96	0.80	0.92	0.61
J-NB	0.91	0.90	0.91	0.80	0.83	0.61
K-NB	0.92	0.92	0.92	0.86	0.84	0.69
K-SMO	0.96	0.92	0.96	0.86	0.93	0.69
ET-J-SMO	0.99	0.95	0.99	0.88	0.98	0.79
ET-J-NB	0.99	0.95	0.99	0.88	0.98	0.79
ET-AD-J	0.99	0.95	0.99	0.88	0.98	0.79
AD-J-K	0.98	0.95	0.98	0.88	0.97	0.79
J-K-SMO	0.98	0.95	0.98	0.88	0.97	0.79
J-K-NB	0.98	0.95	0.98	0.88	0.97	0.79
ET-AD-J-NB	0.97	0.93	0.97	0.87	0.94	0.74
AD-J-K-NB	0.97	0.93	0.97	0.87	0.94	0.74
ET-J-NB-SMO	0.97	0.93	0.97	0.87	0.94	0.74
J-K-NB-SMO	0.97	0.93	0.97	0.87	0.94	0.74

Tabla 11. Resultados del desempeño de los modelos obtenidos con el multclasificador Vote sobre las combinaciones de clasificadores diversas en cuatro de las cinco medidas de diversidad calculadas utilizando el promedio de probabilidades como método de combinación.

Método de combinación: Promedio de probabilidades						
Subconjunto de Clasificadores	ACC		AUC		Kappa	
	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.
J-NB-SMO	0.95	0.93	0.98	0.92	0.91	0.76
AD-J-NB	0.94	0.93	0.98	0.97	0.89	0.76
J-L-NB	0.96	0.92	0.99	0.97	0.92	0.69
AD-J-MLP	0.97	0.93	0.99	0.97	0.95	0.76
AD-J-SMO	0.94	0.92	0.99	0.96	0.89	0.71
J-MLP-SMO	0.96	0.93	0.99	0.97	0.92	0.76
J-MLP-NB	0.96	0.93	0.99	0.97	0.93	0.76
ET-AD-J-SMO	0.98	0.95	0.99	0.97	0.97	0.98
AD-J-K-SMO	0.97	0.92	0.99	0.97	0.95	0.69
AD-J-K-NB-SMO	0.95	0.93	0.99	0.97	0.91	0.76
ET-AD-J-NB-SMO	0.95	0.93	0.99	0.97	0.91	0.76

Tabla 12. Resultados del desempeño de los modelos obtenidos con el multclasificador Vote sobre las combinaciones de clasificadores diversas en cuatro de las cinco medidas de diversidad calculadas utilizando el voto mayoritario como método de combinación.

Método de combinación: Voto mayoritario						
Subconjunto de Clasificadores	ACC		AUC		Kappa	
	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.
J-NB-SMO	0.95	0.93	0.95	0.91	0.91	0.76
AD-J-NB	0.95	0.93	0.95	0.91	0.91	0.76
J-L-NB	0.96	0.92	0.96	0.96	0.92	0.69
AD-J-MLP	0.96	0.93	0.96	0.91	0.92	0.76
AD-J-SMO	0.94	0.92	0.94	0.90	0.89	0.71
J-MLP-SMO	0.96	0.93	0.96	0.91	0.92	0.76
J-MLP-NB	0.96	0.93	0.96	0.91	0.93	0.76

ET-AD-J-SMO	0.96	0.92	0.96	0.86	0.93	0.69
AD-J-K-SMO	0.96	0.93	0.96	0.86	0.93	0.69
AD-J-K-NB-SMO	0.95	0.93	0.95	0.91	0.91	0.76
ET-AD-J-NB-SMO	0.95	0.93	0.95	0.76	0.91	0.91

Como resultado del análisis de la información registrada en las Tablas 9-12 no se identificó ninguna combinación que superara al desempeño del mejor clasificador individual, por tal razón no son soluciones que serán tenidas en cuenta para la solución del problema.

Selección de los modelos aptos para la solución del problema

Al realizar un análisis de los resultados obtenidos a partir de los multclasificadores se identificaron dos modelos multclasificadores que mostraron un desempeño en el conjunto de evaluación externa superior al desempeño logrado por el algoritmo *ExtraTree* (ver Tabla 13). A partir del análisis realizado con los multclasificadores de mejor desempeño se pudo determinar que, los modelos no presentan diferencias significativas en su desempeño, ya que poseen el mismo valor de la exactitud (ACC) y una diferencia no significativa en los parámetros referentes al área bajo la curva ROC y el estadístico Kappa.

En la modelación clásica estadística donde normalmente se emplean modelos lineales, la capacidad generalizadora de estos es seriamente afectada por la relación entre instancias y variables descriptivas. Sin embargo, el empleo de algoritmos de aprendizaje automático tiene la ventaja, además de explorar relaciones no lineales, de ser mucho menos sensible a esta relación. El hecho de que todos los modelos base y multclasificadores generados muestren un desempeño muy similar en ambos conjuntos (entrenamiento y evaluación externa) demuestra que efectivamente, el empleo de estos algoritmos permite generar modelos sin sobreajuste, independientemente de la relación entre casos y variables descriptivas (ver Tablas 2 – 4 y 7 -13).

Así mismo, si consideramos los requerimientos según la Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OECD) para el uso de modelos QSAR como herramientas alternativas para la evaluación del peligro potencial de sustancias y compuestos químico^{48,49}, podemos afirmar que los modelos generados cumplen con la mayoría de estos requerimientos. La obtención de los modelos propuestos (Tabla 13) está descrita detalladamente por lo que cumple con el criterio de ser un algoritmo no ambiguo. Así mismo están destinados a una aplicación bien específica: la evaluación del potencial neurotóxico de LI a través de la estimación de su capacidad inhibitoria sobre la enzima AChE. Por tanto, cumple con los requerimientos de tener un objetivo bien definido y un dominio de aplicación establecido. Aunque este último no es determinado explícitamente, la aplicación de cortes de similitud arbitrarios usando como espacio de referencia el vector reducido de 50 fragmentos generados con ISIDA, puede ayudar a decidir que nuevos LI están o no dentro del dominio de aplicación de los modelos propuestos.

En las Tablas 2 – 4 y 7 -13 es claro que los modelos descritos en cada una de las tablas muestran ex-

celentes valores de exactitud y predictividad, por lo que cumple con uno de los principales requerimientos encaminados a asegurar la capacidad generalizadora de los modelos QSAR. Finalmente, nuestros modelos (sobre todo los multclasificadores) al ser “cajas negras” carecen que la interpretación mecanística requerida en el quinto principio de la OECD. No obstante, este principio no es de obligatorio cumplimiento, de acuerdo con la OECD.

Todo lo anterior sugiere que ambos modelos son idóneos en la solución del problema, por lo que constituyen las propuestas a utilizar para la evaluación del perfil neurotóxico de los LI (seguros o tóxicos) basado en inhibición de la enzima AChE.

Tabla 13. Resultados de los mejores multclasificadores y el mejor clasificador individual.

	ACC		AUC		Kappa	
	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.	Entren.	Eval.
Mejor clasificador individual (ET)	0.98	0.95	0.99	0.92	0.97	0.77
Multclasificador AdaBoostM1	0.98	0.96	0.99	0.99	0.97	0.98
Multclasificador Stacking	0.98	0.96	0.98	0.93	0.97	0.95

CONCLUSIONES

En el trabajo fueron obtenidos dos modelos, basados en multclasificadores, que permitieron predecir el potencial neurotóxico de nuevas moléculas de líquidos iónicos basado en el grado de inhibición de la enzima Acetilcolinesterasa. Para la obtención del primer modelo se empleó el algoritmo *AdaBoostM.1* usando como clasificador base una red neuronal *Multilayer-Perceptron*. Para el segundo modelo se empleó el algoritmo *Stacking* y la combinación de cinco clasificadores base (*FDLA*, *Jrip*, *Kstar*, *NaiveBayes* y *SMO*). Esta combinación de clasificadores fue seleccionada mediante la aplicación del cálculo de medidas de diversidad.

Del análisis del desempeño de los modelos obtenidos es posible esperar que al menos el 96% de las instancias que conforman un nuevo conjunto de líquidos iónicos será clasificado correctamente. Dichos modelos constituyen herramientas útiles para la predicción temprana del perfil neurotóxico de nuevos líquidos iónicos.

AGRADECIMIENTOS

Bolsa de Postdoctorado [SFRH/BPD/90673/2012] financiada por la FCT - Fundación para la Ciencia y la Tecnología, Portugal, cofinanciada por el Fondo Social Europeo.

BIBLIOGRAFIA

1. Kokorin, A. Editor. Ionic Liquids: Theory, Properties, New Approaches. Rijeka, Croatia: *InTech*. 2011.

2. Holbrey, J.D.; Seddon, K.R. Ionic liquids. *Clean. Prod. Proces.* **1999**, *1*, 223-237.
3. Welton, T. Room-temperature ionic liquids. Solvents for synthesis and catalysis. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2071-2084.
4. Wasserscheid, P.; Welton, T. Ionic liquids in synthesis. *Weinheim: Wiley-VCH*. **2003**.
5. Rogers, R.D.; Seddon, K.R. Ionic liquids as green solvents: Progress and prospects. *American Chemical Society (ACS)*. **2003**, 620
6. Ranke, J.; Stolte, S.; Stormann, R.; Arning, J.; Jastorff, B. Design of sustainable chemical products - the example of ionic liquids. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2183-2206.
7. Pham, T.P.; Cho, C.W.; Yun, Y.S. Environmental fate and toxicity of ionic liquids: a review. *Water. Res.* **2010**, *44*, 352-372.
8. Frade, R.F.; Afonso, C.A. Impact of ionic liquids in environment and humans: an overview. *Hum. Exp. Toxicol.* **2010**, *29*, 1038-1054.
9. Zhao, D.; Liao, Y.; Zhang, Z. Toxicity of ionic liquids. *Clean.* **2007**, *35*, 42-48.
10. Stock, F.; Hoffmann, J.; Ranke, J.; Stormann, R.; Ondruschka, B.; Jastorff, B. Effects of ionic liquids on the acetylcholinesterase -A structure-activity relationship consideration. *Green Chem.* **2004**, *6*.
11. Arning, J.; Stolte, S.; Boschen, A.; Stock, F.; Pitner, W.; Welz, U.; et al. Qualitative and quantitative structure activity relationship for the inhibitory effects of cationic head groups, functionalised side chains and anions of ionic liquids on acetylcholinesterase. *Green Chem.* **2008**, *10*, 11.
12. García, A.; Tojo, E.; Tojo, J.; Teijeira, M.; Rodríguez, F.J.; González, M.P.; et al. Cytotoxicity of selected imidazolium-derived ionic liquids in the human Caco-2 cell line. Sub-structural toxicological interpretation through a QSAR study. *Green Chem.* **2008**, *10*, 8.
13. Torrecilla, J.; Palomar, J.; Lemus, J.; Rodríguez, F. A quantum-chemical-based guide to analyze/quantify the cytotoxicity of ionic liquids. *Green Chem.* **2010**, *12*, 11.
14. Couling, D.; Bernot, R.J.; Docherty, K.M.; Dixon, J.K.; Maginn, E.J. Assessing the factors responsible for ionic liquid toxicity to aquatic organisms via quantitative structure-property relationship modeling. *Green Chem.* **2006**, *8*.
15. Luis P.; Ortiz, I.; Aldaco, R.; Irabien, A. A novel group contribution method in the development of a QSAR for predicting the toxicity (*Vibrio fischeri* EC50) of ionic liquids. *Ecotox. Environ. Safe.* **2007**, *67*, 6.
16. Lacrama, A.; Putz, M.; Ostafe, V. A Spectral-SAR model for the anionic-cationic interaction in ionic liquids: Application to *vibrio fischeri* ecotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* **2007**, *8*, 21.
17. Putz, M.; Lacrama, A.; Ostafe, V. Spectral SAR ecotoxicology of ionic liquids: The daphnia magna case. *Int. J. Ecology.* **2007**, *7*.
18. Mohammad, H.; Fatemi, A.; Izadiyan, P. Cytotoxicity estimation of ionic liquids based on their

- effective structural features. *Chemosphere*. **2011**, 84, 10.
19. Luis, P.; Garea, A.; Irabien, A. Quantitative structure – activity relationships (QSARs) to estimate ionic liquids ecotoxicity EC50 (*Vibrio fischeri*). *J. Mol. Liq.* **2010**, 152, 5.
 20. Hossain, M.; Belhaouari, B.; El-Harbawi, M.; Nusaibah, A.; Abdul, M.I.; Hefter, G.; et al. Development of a novel mathematical model using a group contribution method for prediction of ionic liquid toxicities. *Chemosphere*. **2011**, 85, 4.
 21. Mohammad, H.; Fatemi, A.; Izadiyan, P. In silico cytotoxicity estimation of ionic liquids based on their two- and three-dimensional structural descriptors. *Monatsh Chem.* **2011**, 142, 8.
 22. Frade, R.F.; Afonso, C.A. Impact of ionic liquids in environment and humans: an overview. *Human and Experimental Toxicology (HET)*. **2010**, 29, 1038–1054.
 23. Störmann, R.; Arning, J.; Stolte, S.; Matzke, M.; Jastorff, B.; Thöming, J. UFT Merck Ionic Liquids Biological Effects Database **2014** [cited 2014]. Available from: <http://www.il-eco.uft.uni-bremen.de>.
 24. Tropsha, A.; Fourche, D.; Muratov, E. Trust, but verify: On importance of chemical structure curation in cheminformatic and QSAR modeling research. *J. Chem. Inf. Model.* **2010**, 50, 1189–1204.
 25. ChemAxon. JChem for Excel. version 5.10.2.725 ed**2012**.
 26. ChemAxon. Standardizer. version 5.10.2 ed**2012**.
 27. Varnek, A.; Fourche, D.; Horvath, D.; Klimchuk, O.; Gaudin, C.; Vayer, P. et al. ISIDA-platform for virtual screening based on fragment and pharmacophore descriptors. *Curr. Comput. Aided Drug Des.* **2008**, 4.
 28. Ruggiu, F.; Marcou, G.; Solov'ev, V.; Horvath, D.; Varnek, A. ISIDA Fragmentor 2013. Laboratoire de Chémoinformatique, Université de Strasbourg, France.2013. p. Tools for the calculation of molecular fragment count descriptors from a Structure-Data File (SDF).
 29. Cruz-Monteagudo, M.; Ancede-Gallardo, E.; Jorge, M.; Dias, S.; Cordeiro, M.N. Chemoinformatics profiling of ionic liquids--automatic and chemically interpretable cytotoxicity profiling, virtual screening, and cytotoxicophore identification. *Toxicol Sci.* **2013**, 136, 548-565.
 30. WEKA. Waikato Environment for Knowledge Analysis (WEKA). 3.7.11 ed. New Zealand: University of Waikato; 2014.
 31. StatSoft. STATISTICA. version 8.0 ed2007. p. (data analysis software system).
 32. Guo, H.; Viktor, H.L. Learning from Imbalanced Data Sets with Boosting and Data Generation: The DataBoost-IM Approach. *Sigkdd Explorations*. **2004**, 6, 30.
 33. Aguiar, V.; Gestal, M.; Cruz-Monteagudo, M.; Rabuñal, J.R.; Dorado, J.; Munteanu, C.R. Evolutionary computation and QSAR research. *Curr. Comput. Aided Drug Des.* **2013**, 9, 19.
 34. Peng, H.; Long, F.; Ding, C. Feature selection based on mutual information: Criteria of Max-Dependency, Max-Relevance and Min-Redundancy. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* **2005**, 27.
 35. Ramentol, E.; Caballero, Y.; Bello, R.; Herrera, F. SMOTE-RS B*: a hybrid preprocessing approach based on oversampling and undersampling for high imbalanced data-sets using SMOTE and rough sets theory. *Knowl. Inf. Syst.* **2012**, 33, 20.
 36. Chawla, N.; Bowyer, K.; Hall, L.; Kegelmeyer, W.P. SMOTE: Synthetic Minority Over-sampling Technique. *J. Artif. Intell. Res.* **2002**, 16.
 37. Hall, M.; Frank, H.; Holmes, H.; Pfahringer, B.; Reutemann, P.; Witten, I.H. The WEKA Data Mining Software: An Update. *ACM SIGKDD explorations newsletter*. **2009**, 11.
 38. Breiman, L.; Bagging predictors. *Machine Learning*. **1996**, 24, 17.
 39. Freund, Y.; SCHAPIRE RE. A Short Introduction to Boosting. *Trans. Jpn. Soc. Artif. Intell.* **1999**, 14, 9.
 40. Wolper, D.H. Stacked Generalization. *Neural Networks*. **1992**; 5, 18.
 41. Casas, G.; Morales, J.L.; Denoda, L.; Cabrera, L.; Arguelles, L.; Gonzalez, E. High cardiovascular risk models for a city in the central region of Cuba. *Age*. **2013**, 18.
 42. Kuncheva, L.I. Combining Pattern Classifiers: Methods and Algorithms: *John Wiley & Sons*. **2004**, 964.
 43. Bonet, I.; Franco-Montero, P.; Rivero, V.; Tejeira, M.; Borges, F.; Uriarte, E., et al. Classifier ensemble based on feature selection and diversity measures for predicting de affinity of A2B Adenosine Receptor Antagonist. *J. Chem. Inf. Model.* **2013**, 53, 16.
 44. García, S.; Fernández, A.; Luengo, L.; Herrera, F. A study of statistical techniques and performance measures for genetics-based machine learning: accuracy and interpretability. *Soft Comput.* **2009**, 13.
 45. Witten, I.H.; Frank, E.; Data Mining. A practical machine learning tools and techniques. Segunda edición ed2005 **2005**, 558.
 46. Billsus, D.; Pazzani, M.J. Learning Collaborative Information Filters. **1998**.
 47. Richert, W.; Coelho, L.P. Building machine learning systems with Python. *Packt Publishing Ltd*. **2013**.
 48. Zeeman, M.; Auer, C.M.; Clements, R.G.; Nabholtz, J.V.; Boethling, R.S. U.S. EPA regulatory perspectives on the use of QSAR for new and existing chemical evaluations. *SAR QSAR Environ. Res.* **1995**, 3, 179-201.
 49. Worth, A.P.; Van Leeuwen, C.J.; Hartung ,T. The prospects for using (Q)SARs in a changing political environment--high expectations and a key role for the European Commission's joint research centre. *SAR QSAR Environ. Res.* **2004**, 15, 331-343.

Análisis exergético de escenarios integrados de producción de etanol y otros productos a partir de la caña de azúcar

M. González Cortés¹, S. Herrera Álvarez¹, Y. Martínez Martínez¹, Y. Albornas Carvajal¹, M. Morales Zamora¹ y V.M. González Morales²

¹Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química y Farmacia. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5 ½, Santa Clara, Villa Clara. Cuba ²Empresa Azucarera Antonio Sánchez. Cienfuegos, Cuba.

Exergy analysis of integrated sceneries to ethanol and other products production from sugar cane
Anàlisi exergètic d'escenaris integrats de producció d'etanol i altres productes a partir de la canya de sucre

RECEIVED: 15 JULY 2016; REVISED: 30 SEPTEMBER 2016; ACCEPTED: 17 OCTOBER 2016

SUMMARY

The exergy analysis of six scenarios of integrated schemes for the production of alcohol and other products derived from sugar cane, in order to identify and locate the main sources of irreversibility in these schemes is done. In integrated schemes it is considered sugar cane as the main raw material for the generation of products and co-products. The six scenarios of integration evaluated include the production of sugar, alcohol and first and second generation coproducts such as furfural and lignin, torula yeast obtaining and recovery of CO₂. The mass and energy balances for each process were conducted, determining the stream flows involved in the exergetic analysis. Exergy analysis for the integrated scheme was divided into 10 subsystems. Subsystems juice extraction, crystallization and cooking, fermentation and distillation were higher generators exergy losses. Total exergy efficiency of integrated schemes was between 71-80% for scenarios 1 to 5 and 59% for the scenarios that represent not harvest season.

Keywords: Exergy analysis; sugarcane; sugar; ethanol; torula yeast.

RESUMEN

Se realiza el análisis exergético de seis escenarios para la producción conjunta de alcohol y otros productos derivados de la caña de azúcar, con el objetivo de identificar y localizar las principales fuentes generadoras de irreversibilidades en estos esquemas. En los esquemas integrados se considera la caña de azúcar como materia prima principal para la generación de productos y coproductos. Los seis escenarios de integración evaluados incluyen la producción de azúcar, alcohol de primera y segunda generación y coproductos tales como: furfural

y lignina, la obtención de levadura torula y la recuperación del CO₂. Se realizaron los balances de masa y energía para cada proceso, determinando los flujos de las corrientes que intervienen en el análisis exergético. Para el análisis exergético el esquema integrado fue dividido en diez subsistemas. Los subsistemas extracción de jugo, cristalización y cocción, fermentación y destilación resultaron los mayores generadores de pérdidas exergéticas. Para los primeros cinco escenarios la eficiencia exergética total se encuentra entre 71-80% y para el escenario de tiempo de no zafra en un 59%.

Palabras clave: Análisis exergético; caña de azúcar; azúcar; alcohol; torula.

RESUM

Se realitza l'anàlisi exergètic de sis escenaris per la producció conjunta d'alcohol i altres productes derivats de la canya de sucre, amb l'objectiu d'identificar i localitzar les principals fonts generadores d'irreversibilitat en aquests esquemes. En els esquemes integrats es considera la canya de sucre com matèria primera principal per la generació de productes i coproductes. Els sis escenaris de integració avaluats influeixen la producció de sucre, alcohol de primera i segona generació i coproductes com ara: furfural i lignina, l'obtenció de llevat de torula i la recuperació del CO₂. Es van realitzar els balanços de massa i energia per cada procés, determinant els fluxos de les corrents que intervenen a l'anàlisi exergètic. Per l'anàlisi exergètic l'esquema integrat va ser dividit en deu subsistemes. Els subsistemes d'extracció de suc, cristal·lització i cocció, fermentació i destil·lació

*Corresponding autor: mgonzalez@uclv.edu.cu

van resultar ser els majors generadors de pèrdues exergètiques. Pels primers cinc escenaris l'eficiència exergètica total es troba entre 71-80% i un 59% pels escenaris que no representen a la temporada de collita.

Paraules clau: Anàlisi exergètic; canya de sucre; sucre; alcohol; torula.

INTRODUCCIÓ

El proceso de producción de alcohol tiene potencialidades para trabajar de forma integrada a otros procesos ya que para su producción se pueden emplear diferentes sustratos azucarados, tales como mieles y jugos del proceso azucarero e hidrolizado de bagazo. El uso de diferentes sustratos en la producción de alcohol genera variantes tecnológicas para su conducción, como son estas dos que se refieren a continuación: método convencional o alcohol de primera generación en el que se emplean como sustratos miel y jugos del proceso de fabricación de azúcar; alcohol de segunda generación que es el que se obtiene del hidrolizado de bagazo o la operación conjunta de estas dos tecnologías como lo abordan¹. Si la integración de estas tecnologías se realiza considerando un aprovechamiento e intercambio de los recursos materiales y energéticos comunes en estos procesos como son: el agua, la energía, la electricidad y las corrientes residuales del proceso; puede resultar un complejo productivo con mayor eficiencia técnica, económica y ambiental donde también pueden estar integrados otros procesos como son la producción de levadura torula, CO₂, lignina, furfural, entre otros.

Independientemente de las potencialidades que esta integración ofrece a primera vista, no puede obviarse que la selección de los sustratos azucarados, los productos y las tecnologías para producirlos, se traduce en un problema combinatorio del cual se generan múltiples escenarios con diferentes índices de desempeño que pueden ser evaluados en términos de su sustentabilidad y el uso de los recursos energéticos². En este contexto, el análisis exergético constituye una herramienta efectiva y unificada para evaluar la eficiencia global de los procesos y en este trabajo se aplica a escenarios integrados de producción de etanol y otros productos a partir de la caña de azúcar.

El análisis exergético es capaz de localizar las fuentes donde se generan las mayores pérdidas y en base a ello analizar sus causas y proponer mejoras para su minimización. En la literatura se reportan varios estudios que aplican el análisis exergético en procesos que operan de manera individual y otros que operan integrados a través del intercambio de corrientes materiales y energéticas. Entre estos estudios se encuentran los reportados por ^{5, 6, 9, 11, 12, 13 y 19}, entre otros. En ⁵, los autores realizan un estudio para la reducción de irreversibilidades en los procesos de producción de azúcar y alcohol, para ello dividen el proceso en 8 subsistemas e identifican los que mayores irreversibilidades generan y proponen modificaciones para atenuarlas. Por otro lado ^{11 y 12}, aplican el análisis exergético a la producción de etanol a partir de bagazo evaluando tres tecnologías de producción y muestran

cómo a través del análisis exergético se valoran alternativas de diseño que conducen a identificar aquellas con un menor impacto ambiental y por último¹³, realiza el análisis exergético de las producciones integradas de etanol de primera y segunda generación, donde el alcohol de segunda generación se integra al proceso convencional de obtención de alcohol. En ese trabajo se evaluaron siete casos que operan en diferentes condiciones, entre estos, producción convencional de alcohol sin la planta de hidrólisis, una planta convencional combinada con hidrólisis y concentración del hidrolizado por evaporación y por sistema de membranas. En este contexto se inserta el estudio que se presenta en este artículo cuyo objetivo principal es evaluar las ineficiencias termodinámicas en términos de destrucción y pérdidas de exergía de escenarios de integración de tecnologías de producción de etanol y otros productos a partir de la caña de azúcar.

MATERIALES Y MÉTODOS

El análisis exergético está relacionado con la sostenibilidad debido a que, al incrementar la sostenibilidad en el uso de la energía, se deben considerar no sólo las pérdidas de energía sino también las pérdidas de exergía. Una de las principales ventajas del análisis exergético sobre el análisis energético es que la exergía contenida en los flujos de un proceso es mejor evaluada que la energía, ya que la exergía indica la fracción de energía útil y que es realmente usada ^{10 y 18}. La exergía tiene dos componentes, la llamada exergía física y la exergía química.

La aplicación del análisis exergético a un componente, proceso o sector puede guiar sobre cómo mejorar la sostenibilidad reduciendo las pérdidas exergéticas. En este trabajo para evaluar exergéticamente el proceso se realizan los siguientes pasos:

1. Balances de masa y energía en los procesos de producción de azúcar, alcohol de primera y segunda generación, levadura torula y recuperación de los coproductos CO₂, lignina y furfural.
2. Síntesis de escenarios de funcionamiento integrado.
3. Definición de subsistemas para el análisis exergético en el esquema integrado.
4. Determinación de las ineficiencias termodinámicas en términos de eficiencia y pérdidas de exergía en cada subsistema.
5. Análisis de resultados.

En el estudio se considera a la caña de azúcar como insumo básico, teniendo en cuenta que a partir de su procesamiento se obtiene azúcar como producto principal, pero también se producen otros subproductos tales como miel, jugo diluido y bagazo. La miel y el jugo son enviados a la destilería y el bagazo se utiliza para la cogeneración. Es importante hacer notar que el bagazo también se puede utilizar para la producción de alcohol, para ello el mismo es sometido a un pretratamiento en dos etapas donde se generan residuales líquidos de los cuales se recuperan como coproductos la lignina y el furfural, productos de alto valor agregado que tienen múltiples usos y contribuyen a la rentabilidad de ese proceso, tal como se aborda en ¹. En el presente trabajo, el hidrolizado de bagazo se emplea mezclado

con los sustratos miel y jugo para la obtención de alcohol, es por ello que en la definición de los escenarios no aparece la producción de alcohol sólo con el mismo. Por otro lado, de la destilación del vino fermentado se obtienen el alcohol y las vinazas; estas últimas se utilizan en la obtención de la levadura torula.

Atendiendo a lo que se ha explicado se definen seis escenarios de procesos integrados. Cada escenario incluye determinados procesos y productos: el escenario 1 incluye los procesos tecnológicos para la producción de azúcar, alcohol a partir de miel y levadura torula; el escenario 5 constituye el de mayor complejidad tecnológica ya que considera los procesos para la producción de azúcar, alcohol a partir de los tres sustratos: miel, jugo e hidrolizado de bagazo, levadura torula, coproductos furfural y lignina y la recuperación de CO₂. En los escenarios 2 y 3 básicamente se evalúan variantes tecnológicas para la obtención de alcohol en dependencia de los sustratos que se utilizan y se mantiene la producción de azúcar y levadura Torula; el escenario 4 es similar al 3 sólo con la diferencia de que se considera la recuperación de CO₂.

Por último, el escenario 6 representa un esquema que opera en período de no zafra, no se produce azúcar, pero se obtiene alcohol de miel e hidrolizado de bagazo, levadura torula, los coproductos mencionados y también se recupera CO₂. En la tabla 1, se especifican los procesos que se incluyen en cada escenario.

Tabla 1. Escenarios de integración evaluados

Procesos	Escenarios					
	1	2	3	4	5	6
Azúcar	X	X	X	X	X	
Alcohol a partir de miel	X					
Alcohol a partir miel y jugo (1G)		X				
Alcohol miel y bagazo (2G)						X
Alcohol (3 sustratos azucarados)			X	X	X	
Torula	X	X	X	X	X	X
Furfural					X	X
Lignina					X	X
CO ₂				X	X	X

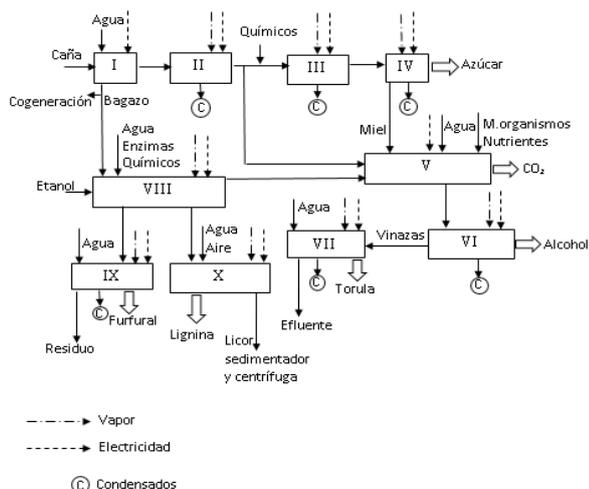


Figura 1. Esquema general de funcionamiento integrado de fábricas de azúcar y derivados.

A partir de los balances de masa y energía se obtienen los parámetros que caracterizan la obtención

de los productos señalados. Se determinan los flujos y características de temperatura y composición de las materias primas, productos y corrientes intermedias del esquema integrado.

En la figura 1, se muestra el esquema general de funcionamiento integrado, en el mismo se representan los procesos, corrientes de entrada, salida e intermedias principales. A partir de este esquema se definen 6 escenarios de funcionamiento integrado.

Para el análisis exergético el esquema integrado se divide en 10 subsistemas, estos se describen a continuación.

Subsistema I: Extracción de jugo: representa la etapa de molienda, donde el jugo contenido en la caña de azúcar es extraído y separado de la fibra con la adición de agua de imbibición y la utilización de molinos impulsados por electricidad. La fibra separada constituye el bagazo que puede ser utilizado para la obtención de etanol y/o para la cogeneración. En este trabajo se fija una cantidad de bagazo para su empleo en la obtención de alcohol, el resto se destina a la cogeneración.

Subsistema II: Tratamiento y calentamiento del jugo: el jugo es tratado con hidróxido de calcio y separado de las impurezas presentes en este por un proceso de decantación, el jugo es calentado con vapor hasta 100 oC (373,15 K). En esta etapa se destina parte del jugo a la obtención de alcohol y el jugo que se destina a la producción de alcohol no es alcalizado.

Subsistema III: Evaporación del jugo: en esta etapa se evapora parte del agua presente en el jugo para llevarlo a una concentración desde 15 oBrix hasta 65 oBrix, con la utilización de vapor como medio de calentamiento.

Subsistema IV: Cristalización y cocción: en esta etapa se continúa la evaporación ahora más lenta hasta obtener el grano de azúcar cristalizado mediante vapor de escape, seguidamente es separado el cristal de azúcar del licor madre en el que se encuentra.

Subsistema V: Fermentación: Las fábricas de azúcar y alcohol integradas usan una mezcla de jugos, hidrolizado de bagazo y miel para la preparación del mosto a fermentar, a estos se les adiciona la levadura y nutrientes para que ocurra la fermentación y la miel es diluida para alcanzar los grados Brix requeridos para la fermentación alcohólica. En esta etapa se obtiene un líquido rico en alcohol conocido como vino con una concentración de 6 °GL y desprendimiento de CO₂ productos de la reacción de fermentación.

Subsistema VI: Destilación de alcohol: el flujo de vino proveniente de la fermentación es destilado hasta la obtención de alcohol extrafino con una concentración de 96,3 °GL y se obtiene además como residuo altamente contaminante las vinazas que en este estudio se destinan a la producción de levadura torula.

Subsistema VII: Producción de levadura torula: en esta etapa se utilizan las vinazas residuo de la destilación de alcohol para la producción de levadura torula. Se considera como volumen de control la planta completa para lo cual se identifican las corrientes de entrada y salida principales.

Subsistema VIII: Pretratamiento e hidrólisis enzimática del bagazo: En esta etapa el bagazo pasa por un tratamiento con ácido sulfúrico, hidróxido de sodio y etanol, inyectado con vapor a 175 °C (448,15 K) y

9 atm (882,60 kPa), luego es hidrolizado mediante la acción de enzimas celulasas. En este subsistema también se generan residuales líquidos que contienen furfural y lignina como productos de interés, además se obtiene un sólido residual.

Subsistema IX: Obtención de Furfural: El condensado de furfural, proveniente del pretratamiento ácido del bagazo, se enfría y seguido se destila para obtener furfural en una concentración del 94%.

Subsistema X: Obtención de Lignina: En esta etapa se aprovecha el líquido rico en lignina, proveniente del pretratamiento básico del bagazo, para separar la lignina, esto se logra con una etapa de destilación.

Cálculo de la exergía

La exergía de cada corriente en el sistema se calcula como la suma de la exergía física y química:

$$e = e^{PH} + e^{CH} \quad (1)$$

Si se desprecian los componentes cinéticos y potenciales, la exergía física se calcula por la siguiente expresión:

$$e^{PH} = (h - h_0) - T_0(s - s_0) \quad (2)$$

La exergía física depende de la temperatura entre la materia y el medio ambiente, lo que se denomina exergía térmica.

La exergía química se define como el máximo trabajo que se obtiene cuando se lleva una sustancia del estado ambiental al estado muerto por un proceso, involucrando transferencia de calor e intercambio de sustancia solamente con el medio ambiente.¹³

La exergía química coincide con la disminución de la función de Gibbs en el valor y como estado coincide con el cambio del estado ambiental al estado muerto o de referencia.

Las condiciones estándar para el cálculo de la exergía en el estado de referencia son 25°C (298,15 K) y 1 bar (100 kPa).

Para las corrientes que constituyen soluciones, la exergía química se calcula mediante la siguiente expresión:

$$e^{CH} = \left(\frac{1}{M_{sol}}\right) \left[\sum_{i=1}^n y_i \cdot \varepsilon_i^{-0} + RT_0 \sum_{i=1}^n y_i \cdot \ln a_i \right] \quad (3)$$

Donde el primer término representa la exergía estándar química de los componentes puros y el segundo la destrucción de exergía del proceso de disolución. Las exergías de las soluciones de sacarosa y glucosa se determinan de acuerdo a lo reportado en las referencias, 1, 10, 13. Las exergías de las soluciones etanol-agua, tales como etanol hidratado y etanol extrafino se calculan de acuerdo a los procedimientos descritos en 5, 6, 8. Para el cálculo de las exergías químicas de corrientes tales como el vino a fermentar, vinazas y flemazas de la destilación y licores producto de la hidrólisis del bagazo; se consideran como soluciones ideales y en la ecuación 3 en lugar del coeficiente de actividad se emplea la concentración molar, el resto de los términos se calculan de la misma forma. Esta consideración puede hacerse porque se trata de soluciones muy diluidas y los datos de coeficiente de actividad no se encuentran disponibles en la literatura, además, la exergía de la fracción diluida es muy pequeña en comparación con la exergía química estándar de la fracción del componente puro. La exergía química estándar de los componentes puros fueron obtenidas de 18 y la exergía del bagazo fue determinada de acuerdo al

procedimiento reportado en 5, 6 y 17. Las exergías calculadas se compararon con las reportadas en diferentes bibliografías, 1, 2, 5, 6 y 17. Los trabajos tomados como referencia los procesos evaluados se encontraban en similares condiciones a las tratadas en este.

Aunque el análisis exergético minimiza las ineficiencias de un sistema o proceso, no considera la economía de las alternativas evaluadas, por lo que existe la posibilidad de obtener soluciones que son termodinámicamente eficaces, pero económicamente impracticables, esto conduce a la importancia de realizar un análisis exergo-económico, lo que será abordado en un trabajo posterior.

En el caso de la levadura torula, no se encontró ninguna referencia que reportara el valor de la exergía de este producto para tecnologías similares a la estudiada en este trabajo y se calcula como se describe a continuación.

De acuerdo a⁷, la exergía estándar de un compuesto orgánico o inorgánico identificable, e^{0}_{CH} , puede estimarse a partir de los valores de la energía libre de formación de Gibbs, $\Delta G^0_{f,298}$, del compuesto y de las exergías químicas estándar de los elementos que lo integran, según la ecuación siguiente:

$$e^{0}_{CH} = \Delta G^0_{f,298} + \sum ni * e^0_i \quad (4)$$

Donde ni y e^0_i representan el número de moles y la exergía química estándar de los elementos que lo constituyen, respectivamente. La exergía estándar de la levadura torula se determinó mediante este método.

Para el cálculo de la eficiencia y las pérdidas exergéticas en cada subsistema y en los escenarios se utilizan las ecuaciones 5 y 6 respectivamente.

$$I = \sum e_{ent} - \sum e_{sal} \quad (5)$$

$$\eta = \frac{\sum e_{sal}}{\sum e_{ent}} \quad (6)$$

RESULTADOS Y DISCUSION

Como se explicó anteriormente para el análisis exergético se dividió el esquema integrado en diez subsistemas. Se determinaron las eficiencias y las pérdidas generadas en cada uno y en los seis escenarios definidos previamente.

En la tabla 2 se reportan los valores de exergía de todas las corrientes del esquema integrado; el análisis de los procesos que incluye cada uno es lo que determina las corrientes de entrada y salida a cada subsistema.

Según¹⁵, la fórmula química de la levadura torula es $CH_{1,82}O_{0,47}N_{0,19}$. Teniendo en cuenta los componentes de la fórmula química se buscan los datos requeridos para el cálculo de la exergía de la levadura torula. Los datos fueron tomados de¹⁶ y se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Exergía estándar de cada componente presente en la levadura torula

Componentes	$E^0_{x_{ch}}$ (kJ/kmol)	M.M (kg/kmol)
C	410,26	12,1
H	118,05	1
O	1,985	16
N	0,36	14

$$\Delta G^0_{torula} = 541 \frac{\text{kJ}}{\text{kmol}} \quad MM = 24 \text{ kg/kmol}$$

Tabla 2. Corrientes involucradas en el análisis exergético.

Corrientes	Flujo [kg/s]	T [0C] (K)	P [atm] (kPa)	ex [kJ/kg]	Referencia	Ex [kJ/s]
Caña de azúcar	53,2	25 (298,15)	1 (98,07)	5300	2, 3	281938
Agua Imbibición	11,08	72 (345,15)	1 (98,07)	82	5,6	908,18
Agua de lavado	283	70 (343,15)	1(98,07)	54	5,6	15282
Electricidad subsistema I	-	-	-	-	2	1456
Bagazo Salida	16,12	30 (303,15)	1 (98,07)	9500	2	153113
Bagazo para Hidrolizado	0,28	30 (303,15)	1 (98,07)	9500	2	2638,89
Jugo Mezclado	47,87	35 (308,15)	1 (98,07)	2362	5,6	113083,7
Jugo a fábrica de Azúcar	46,11	35 (308,15)	1 (98,07)	2362	5,6	22108,32
Lechada de cal	0,63	25 (298,15)	1 (98,07)	1965	5,6	1239,94
Ácido fosfórico	2,1	25 (298,15)	1 (98,07)	1061	5,6	2333,22
Vapor calentamiento jugo	5,64	115 (388,15)	1,69 (165,73)	668	5,6	3772,901
Electricidad subsistema II	-	-	-	-	5,6	1250
Condensado calentamiento de jugo	5,65	115 (388,15)	1,69 (165,73)	111	13	626,93
Jugo fabricación de alcohol	9,36	35 (308,15)	1 (98,07)	2362	5,6	22108,32
Vapor de escape Múltiple efecto	5,54	115 (388,15)	1,69 (165,73)	668	13	3700,72
Electricidad subsistema III	-	-	-	-	5,6	750
Meladura	9,39	57 (330,15)	0,16 (15,69)	10090	2	94745,1
Condensado a caldera	3,35	101 (374,15)	1,69 (165,73)	53,82	5,6	180,325
Condensado MEE	3,95	101 (374,15)	1,69 (165,73)	53,08	5,6	209,66
Vapor cristalización y cocción	16,61	98 (371,15)	0,9 (88,26)	668	5,6	47205,6
Electricidad subsistema IV	-	-	-	-	5,6	375
Azúcar	3,37	25 (298,15)	1 (98,07)	17664	2	59527,7
Miel	2,47	57 (330,15)	1 (98,07)	12824	5,6	31675,3
Condensado de subsistema IV a caldera	16,61	98 (371,15)	0,9 (88,26)	111	13	1843,71
Agua dilución miel	4,64	25 (298,15)	1 (98,07)	50	5,6	232
Microorganismo	2,29E-05	25 (298,15)	1 (98,07)	82,7	Calculado	0,0019
Nutrientes	0,008	25 (298,15)	1 (98,07)	1294,07	Calculado	10,78
Hidrolizado bagazo	1,468	25 (298,15)	1 (98,07)	322	Calculado	472,7
Electricidad subsistema V	-	-	-	-	5,6	375
Vino Fermentado	16,27	30 (303,15)	1 (98,07)	2375	5,6	38641,3
CO2	0,578	30 (303,15)	1 (98,07)	0,84	Calculado	0,486
Vapor subsistema VI	4,59	115 (388,15)	1,69 (165,73)	668	13	3071,93
Electricidad subsistema VI	-	-	-	-	5,6	375
Alcohol 96oGL	0,806	25 (298,15)	1 (98,07)	29550	5,6	23825,4
Condensado a caldera	4,59	115 (388,15)	1,69 (165,73)	111	5,6	510,455
Vinazas	16,87	82 (355,15)	1 (98,07)	443	13	7475,88
Agua sistema de enfriamiento	20,6	25 (298,15)	1 (98,07)	50	5,6	1029
Vapor intercambiador de calor	0,23	100 (373,15)	1 (98,07)	169,16	Calculado	39,71
Vapor Evaporador subsistema VII	0,67	120 (393,15)	2 (196,13)	237,05	Calculado	158,95
Torula seca	0,17	30 (303,15)	1 (98,07)	32,65	Calculado	5,66
Cond Intercambiador de calor	0,23	100 (373,15)	1 (98,07)	111	13	26,06
Condensado Evaporador	0,67	120 (393,15)	2 (196,13)	200	Calculado	134,1
Efluente de separación crema levadura	0,019	30 (303,15)	1 (98,07)	55	5,6	0,6
Enzima	0,05	29 (302,15)	1 (98,07)	23,73	13	1,2
H2SO4	0,0036	29 (302,15)	1 (98,07)	1666	Calculado	5,78
NaOH	0,0063	30 (303,15)	1 (98,07)	410,71	Calculado	2,57
Etanol hidratado	0,44	30 (303,15)	1 (98,07)	4,49	Calculado	1,96
Agua	1,63	30 (303,15)	1 (98,07)	42,92	Calculado	70,31
Condensado furfural	0,00069	115 (388,15)	1 (98,07)	298,51	Calculado	0,207
Líquido de lignina	0,65	30 (303,15)	1 (98,07)	183	Calculado	119
Sólido residual	0,17	37 (340,15)	1 (98,07)	0,00026	Calculado	4,30E-05
Agua Enfriamiento furfural	16,5	30 (303,15)	1 (98,07)	50	5,6	957
Furfural	0,015	30 (303,15)	1 (98,07)	298	Calculado	4,43
Agua Enfriamiento furfural	16,5	60 (333,15)	1 (98,07)	54,81	5,6	904,4
Condensado	0,037	30 (303,15)	1 (98,07)	50	5,6	1,863
Residuo	0,67	30 (303,15)	1 (98,07)	50	5,6	33,89
Agua Enfriamiento lignina	0,922	30 (303,15)	1 (98,07)	50	5,6	53,52
Licor claro sale sedimentador	0,61	30 (303,15)	1 (98,07)	51	Calculado	34,1571
Licor claro sale centrifuga	0,016	30 (303,15)	1 (98,07)	51	Calculado	0,88
Lignina seca	0,0026	30 (303,15)	1 (98,07)	184	Calculado	0,48
Agua Enfriamiento	0,922	50 (323,15)	1 (98,07)	54,81	5,6	50,57

$$E^{\circ}\text{torula} = \Delta G^{\circ}\text{torula} + \sum y_i * E^{\circ}\text{ch} = 743,42 \frac{\text{kJ}}{\text{kmol}} = 30,97 \text{kJ/kg}$$

$$c_{pm} = 0,13 * c_{p\text{levadura}} + (1 - 0,13) * c_{p\text{agua}}$$

$$c_{pm} = 3,84 \text{ kJ/kgK}$$

$$c_{p\text{agua}} = 4,18 \text{ kJ/kgK}$$

$$c_{p\text{levadura}} = 1,58 \text{ kJ/kgK} \text{ Atendiendo a que:}$$

$$\Delta H = c_{pm} * \Delta T / \Delta S = c_{pm} * \ln \frac{T}{T_0} / e^{PH} = 1,69 \text{ kJ/kg}$$

Por tanto, la exergía total para la levadura torula es 32,67 kJ/kg.

En las tablas 4 y 5 se reportan las eficiencias y las pérdidas de cada subsistema. Además, por escenario se muestra la contribución de cada subsistema a la eficiencia y pérdidas totales del esquema integrado.

Tabla 4. Eficiencia Exergética

Subsistema	Escenarios					
	1	2	3	4	5	6
	Eficiencia %					
I	90	90	90	90	90	-
II	95	98	98	98	98	-
III	98	98	98	98	98	-
IV	88	65	65	65	65	-
V	74	85	93	93	93	81
VI	76	76	76	76	76	76
VII	88	88	88	88	88	88
VIII	-	-	30	30	30	30
IX	-	-	-	-	96	96
X	-	-	-	-	50	50
Total	80	76	78	78	71	59

Tabla 5. Pérdidas exergéticas

Subsistema	Escenarios					
	1	2	3	4	5	6
	Pérdidas %					
I	46	31	56	55	30	-
II	9	2,1	4	4	1,8	-
III	2	2	2	2	1,3	-
IV	23	49	90	88	48	-
V	20	7	5	5	2,9	40
VI	15	10	18	18	10	44
VII	1	1	2	1	1	4,3
VIII	-	-	3	4	1,9	8,1
IX	-	-	-	-	0,03	0,1
X	-	-	-	-	0,08	0,4
Total	100	100	100	100	100	100

El análisis exergético muestra que los subsistemas I y IV generan las mayores irreversibilidades. En el subsistema I (extracción de jugo), se tiene para todos los escenarios un 90% de eficiencia y de un 30 - 56% de pérdidas exergéticas, lo que puede estar relacionado con pérdidas de azúcar en la etapa de extracción, así como a los altos consumos de energía eléctrica de los motores que mueven los molinos y las esteras.

Los altos consumos de electricidad son índices tradicionales y característicos para molinos electrificados de acuerdo a lo que plantea^{5 y 6}. En el caso de las pérdidas de azúcar, para disminuirlas hay que lograr una mayor relación de recobrado, en la fábrica en estudio se tenía un 90%, valor bajo atendiendo que en los molinos la recuperación de sacarosa puede ser de hasta

un 97%. En^{5 y 6}, se reporta que si se emplean difusores se puede alcanzar un 99% de extracción de sacarosa.

En el subsistema IV (cristalización y cocción), las pérdidas se deben al consumo de vapor de escape utilizado como fuente de calor para la concentración de la meladura en los tachos ya que en el proceso de producción de azúcar evaluado el esquema no está integrado energéticamente.

Por otro lado, las pérdidas de azúcar que tienen lugar en la separación de la miel final también influyen en la generación de las irreversibilidades del subsistema IV, para el mismo se puede apreciar en la tabla 5, una dispersión en los resultados de por ciento de pérdidas exergéticas teniéndose valores de 23, 49 y 48% para los escenarios 1, 2 y 5 respectivamente y de 88 y 90% para los escenarios 3 y 4.

En los escenarios 3 y 4, se incluye la obtención de etanol a partir de los sustratos miel, jugo e hidrolizado de bagazo, de manera que se tiene un mayor consumo de recursos, tanto materiales como energéticos en el esquema integrado que significan en nuevas demandas de calor, agua y generación de residuales con materiales que pudieran ser recuperados. A lo anterior, se suma que en este trabajo los procesos de los escenarios evaluados operan sin integración energética, por lo que el consumo de vapor de escape aumenta y no hay aprovechamiento de corrientes que son desechadas al medio con calidad térmica, lo que conduce a que las mayores pérdidas se concentren en los escenarios 3 y 4.

Siguiendo con este análisis para el subsistema IV, también se puede apreciar que en el escenario 5 se reducen las pérdidas hasta 48% debido a que en este se recuperan los coproductos furfural y lignina de los licores que se generan en las etapas de pretratamiento del bagazo, mostrando este resultado las ventajas de la integración de procesos y la valorización de las corrientes residuales.

Por otro lado, los subsistemas V y VI, fermentación y destilación respectivamente, siguen en orden decreciente en cuanto a las pérdidas exergéticas a los subsistemas I y IV. En este caso las pérdidas se deben a ineficiencias en el proceso de fermentación dadas por las reacciones químicas y la disipación de calor por la naturaleza exotérmica de las reacciones, así como problemas en la transferencia de calor y masa en la etapa de destilación. En ese sentido otros autores han reportado que se pueden lograr mejoras en estas etapas si se incrementa la concentración de etanol en el vino fermentado, lo que reducirá los requerimientos térmicos de esa etapa y eso puede lograrse con un mejor control en los fermentadores³. A esto último se atribuye la reducción en las pérdidas que se tiene para los escenarios del 2 al 5, en los que se fermenta con otros sustratos además de la miel, para los que se han reportado valores de hasta 6% alcohólico en el vino. Otra de las mejoras que se reportan para esta etapa es el uso de la fermentación extractiva.¹³ En la literatura se reporta que, en el caso de la destilación, pueden lograrse mejoras con una mejor integración térmica en el proceso tecnológico como es el caso de esquemas de destilación doble efecto^{5 y 6} y el empleo de sistemas de pervaporación³.

En el escenario seis sólo están representados los subsistemas del V al X, ya que los relacionados con el proceso de fabricación de azúcar no tienen lugar, este escenario se

tiene en el período de no zafra. En este caso las mayores pérdidas se encuentran en los subsistemas de fermentación y destilación de alcohol y se debe a las ineficiencias que se tienen en estas etapas del proceso y que fueron descritas anteriormente.

Debe señalarse también en este análisis que la eficiencia exergética total se encuentra entre 71-80% para los escenarios del 1 al 5 y en 59% para el escenario de tiempo de no zafra.

CONCLUSIONES

1. El análisis de los subsistemas mostró que las mayores pérdidas exergéticas se tienen en el subsistema I, extracción del jugo, generando pérdidas entre 30-56%; el subsistema IV, cocción y cristalización con pérdidas entre 23-49% y el subsistema V, fermentación en el que para el escenario 1 se tienen pérdidas que representan el 20% de las pérdidas totales.
2. El análisis exergético mostró que no existen diferencias significativas en las eficiencias exergéticas en los escenarios del 1-4 estando entre valores del 78-80%, lo que es favorable para integrar la fábrica de azúcar a otros procesos tales como alcohol a partir de jugo, miel e hidrolizado de bagazo y producción de torula a partir de las vinazas; tecnologías evaluadas en los escenarios señalados.
3. Cuando se incluyen nuevos productos tales como el furfural y la lignina, escenario 5, se tiene un esquema de mayor complejidad tecnológica y la eficiencia exergética disminuye hasta 71%, debido a que se incurren en mayores pérdidas por la inclusión de etapas en las que tiene un rol fundamental las reacciones químicas y la transferencia de calor y masa.
4. En el escenario 6 los subsistemas que generan las mayores pérdidas por irreversibilidad son la fermentación y la destilación debido a ineficiencias en la fermentación y la transferencia de masa y calor en la destilación.

REFERENCIAS

1. Albernas-Carvajal, Y.; Corsano, G.; Morales, Z. M.; González-Cortés, M.; Santos, H. R.; González, S. E. Optimal design for an ethanol plant combining first and second-generation *Technologies*. *Ciencia Tecnología y Futuro (ct&f)*. **2014**, 5, 97-120.
2. Cabrera, H. J.; Casas, L. Y.; de la Cruz, S. L.; Arteaga, L. E. Análisis Exergético del proceso de producción de Azúcar Crudo. *Centro Azúcar*. **2014**, 41, 1-13.
3. De Oliveira, Jr.S. Exergy, Green Energy and Technology. DOI: 10.1007/978-1-4471-4165-5_1, Springer-Verlag: London, 2013.
4. Ensinas, A.; Nebra, S.; Lozano, M.; Serra, L.; Analysis of process steam demand reduction and electricity generation in sugar and ethanol production from sugarcane. *Energy Conversion Management*. **2007**, 48, 2978-2987.
5. Ensinas, A.; Modesto, M.; Nebra, S.; Serra L. Reduction of irreversibility generation in sugar and ethanol production from sugarcane. *Energy*. **2009**, 34, 680– 688.
6. Ensinas, V.; Nebra, S. Exergy analysis as a tool for sugar and ethanol process. In: *Handbook of exergy, hydrogen energy and hydropower research*; Péliissier, G., Calvet, A., Ed.; New York: 2009; p 125-160.
7. Kotas, T. J. The exergy method of thermal plant analysis. Krieger Publishing Company. Butterworths, London: 1995.
8. Modesto, M.; Nebra, S.; Zemp, J. A proposal to calculate the exergy of non ideal mixtures ethanol and water using properties of excess. In: *Proceedings of 14th European biomass conference and exhibition*; Biomass for energy, industry and climate protection, (Paris), France, October 17-21, 2005.
9. Mosqueira, K. Water use and exergetic analysis in the integrated production of first and second generation ethanol from sugarcane. Master thesis. Mechanical Engineering School, University of Campinas, 2012.
10. Nebra, S.; Fernández-Parra, M. The exergy of sucrose and water solutions: proposal of a calculation method. In: *Proceedings of ECOS 2005 18th international conference on efficiency, cost, optimization, simulation and environmental impact of energy systems*, Trondheim, Norway, June 20-22, 2005.
11. Ojeda, K.; Kafarov, V.; Exergy analysis of enzymatic hydrolysis reactors for transformation of lignocellulosic biomass to bioethanol. *Chemical Engineering Journal*. **2009**, 154, 390 - 395.
12. Ojeda, K.; Sánchez, E.; Kafarov, V. Sustainable ethanol production from lignocellulosic biomass and application of exergy analysis. *Energy*. **2011**, 36, 2119-2128.
13. Palacios-Bereche, R.; Mosqueira-Salazar, K.; Modesto, M.; Ensinas, A.; Nebra, S.; Serra, L.; Lozano, M. A. Exergetic analysis of the integrated first- and second-generation ethanol production from sugarcane. *Energy*. **2013**, 62, 46-61.
14. Pham, V.; El-Halwagi, M. Process synthesis and optimization of biorefinery configurations. *AIChE Journal*. **2011**, 58, 1234-1243.
15. Saura, G.; Otero, M. A.; Martínez, J. A.; Fundora, N.; Reyes, E.; Vasallo, M. C.; Almazán, O. A. Propagation of yeast biomass from distillery wastes. Process and product evaluation. *Int. Sugar J.* **2003**, 105, 36-46.
16. Snkaranarayanan, K.; Van Der Kooi, H.; Arons, J. D. Efficiency and Sustainability in the Energy and Chemical Industries. Scientific Principles and Case Studies, 2nd ed.; Green Chemistry and Chemical Engineering, CRC Press, Boca Raton, FL: 2010.
17. Sosa-Arno, J.; Nebra, S. Exergy of sugar cane bagasse. In: *Proceedings of 14th European biomass conference and exhibition*. Biomass for energy, industry and climate protection, Paris, France, October 17-21, 2005.
18. Szargut, J.; Morris D.; Steward F. Exergy analysis of thermal, chemical, and metallurgical processes. Hemisphere Publishing Corporation: New York, 1988.
19. Velásquez-Arredondo, H.; De Oliveira, Jr S.; Benjumea P. Exergy efficiency analysis of chemical and biochemical stages involved in liquid biofuels production processes. *Energy*. **2012**, 41, 138-145.

A new hybrid: Artesunate-Tumacona B

M. B. Niebles^{*a}, J. G. Arroyave^a, S. T. Blair^a and N. Restrepo-Sánchez^b

^aGrupo de Investigación Malaria, Sede de Investigaciones Universitarias ^bGrupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares (GIEM), Instituto de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Antioquia, Calle 70 No 52-21, Medellín, Colombia

Nuevo híbrido Artesunato-Tumacona B

Nou híbrid Artesunat-Tumacona B

RECEIVED: 15 JULY 2016; ACCEPTED: 18 NOVEMBER 2016

SUMMARY

In recent years, the emergence of Plasmodium strains resistant to artemisinin derivatives, such as the commercial antimalarial Artesunate, has been detected. For this reason, in the search for new strategies to malaria control, we used the antiplasmodial activity of natural products from plant *Solanum nudum*, such as Tumacona B (SN2), to synthesize a new hybrid Artesunate-Tumacona B. The antiplasmodial activity and cytotoxicity of this hybrid was evaluated *in vitro*. We found a potent activity with $IC_{50} = 0.0044 \mu M$ in the strain 3D7 (chloroquine sensitive) and $IC_{50} = 0.0059 \mu M$ for the strain FCR3 (chloroquine resistant) and low cytotoxicity in HepG2 human liver cells with a $CC_{50} = 12.6 \mu M$. This makes the hybrid a new and promising compound.

Keywords: Hybrid; antimalarial; sterols; artemisinins; *Plasmodium falciparum*.

RESUMEN

Se ha detectado en los últimos años la aparición de cepas de Plasmodium resistentes a derivados de artemisininas como el antimalárico comercial Artesunato, es por esto, que en la búsqueda de nuevas estrategias para el control de la malaria se aprovechó la actividad antiplasmodial de productos naturales obtenidos de la planta *Solanum nudum*, como la Tumacona B (SN2), para sintetizar un nuevo híbrido Artesunato-Tumacona B. A este híbrido se le evaluó *in vitro* su actividad antiplasmodial y citotoxicidad. Se encontró una potente actividad con $IC_{50} = 0.0044 \mu M$ en la cepa 3D7 (Sensible a cloroquina) e $IC_{50} = 0.0059 \mu M$ para la cepa FCR3 (Resistente a cloroquina) y baja citotoxicidad en células hepáticas humanas HepG2 con $CC_{50} = 12.6 \mu M$ convirtiéndose en un nuevo y prometedor compuesto.

Palabras clave: Híbrido; antimalárico; esteroides; artemisininas; *Plasmodium falciparum*.

RESUM

S'ha detectat en els darrers anys l'aparició de soques de Plasmodium resistentes a derivats d'artemisinines com l'antimalàric comercial Artesunat, és per aquest a raó que a la recerca de noves estratègies pel control de la malaria es va aprofitat l'activitat antiplasmodial de productes naturals obtinguts de la planta *Solanum nudum*, com la Tumacona B (SN2), per sintetitzar un nou híbrid Artesunat-Tumacona B. L'activitat antiplasmodial i la citotoxicitat d'aquest híbrid es va avaluar *in vitro*. Es va trobar una potent activitat amb $IC_{50} = 0.0044 \mu M$ a la soca 3D7 (resistent a la cloroquina) i $IC_{50} = 0.0059 \mu M$ per a la soca FCR3 (resistent a la cloroquina) i baixa citotoxicitat en cèl·lules hepàtiques humanes HepG2 amb $CC_{50} = 12.6 \mu M$. Convertint l'híbrid en un nou i prometedor compost.

Paraules clau: Híbrid, antimalàric; esterols; artemisinina; *Plasmodium falciparum*.

HIGHLIGHTS

- We synthesized a new hybrid Artesunate-Tumacona B with *in vitro* antiplasmodial activity in sensitive (3D7) and resistant (FCR3) *P. falciparum* strains.
- A new derivative of Tumacona B (SN2-YAM) with *in vitro* antiplasmodial activity in *P. falciparum* strains was obtained.
- The tested hybrid compounds were more active than their corresponding combinations in chloroquine-sensitive (3D7) and chloroquine-resistant (FCR3) strains of *P. falciparum*.
- The Artesunate-Tumacona B hybrid was 23.4 times more active than chloroquine in a resistant (FCR3) strain of *P. falciparum*.

*Corresponding autor: mayra.niebles@udea.edu.co

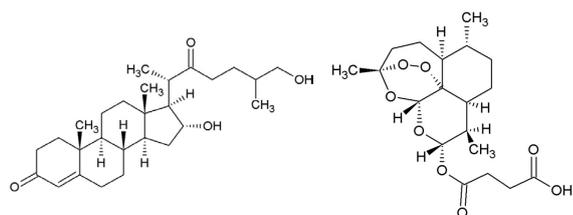
INTRODUCTION

Malaria is a potentially fatal disease caused by parasites of the genus *Plasmodium*, which are transmitted to humans by the bite of infected Anopheles mosquitoes. The species of *Plasmodium* that cause the largest number of cases in the world are *P. vivax* and *P. falciparum*, the latter being the most deadly¹.

The World Health Organization estimates that there were about 214 million cases of the disease worldwide in 2015 that killed 438,000 people¹. One of the reasons of these figures is the difficulty in controlling the emergence and spread of strains of *Plasmodium Spp* resistant to antimalarial therapy. In the case of *P. falciparum* malaria, combined therapy based in artemisinin derivatives has been used in an attempt to overcome this obstacle. However, in recent years, resistance to this treatment option has been detected and resistance of *P. falciparum* to artemisinin-type drugs in regions such as Cambodia, Myanmar, Thailand and Vietnam, with great potential for global spread, has been reported^{2, 3, 4, 5, 6}. The problem of resistance, in addition to the absence of an effective vaccine for the control of the disease, require the search for new treatments.

Currently, several studies have shown that molecules composed of two chemically linked structures, with two different pharmacophores and dual function, have become an important alternative for the treatment of diseases that share the problem of resistance. These molecules are called hybrids and potentiate the activity compared to the molecules used separately, in *Plasmodium* strains resistant to them⁷, as is the case with ferroquine⁸ and some trioxaquine derivatives⁹.

In this work, we synthesized a hybrid by covalently binding Artesunate (artemisinin derivative) with Tumacona B (SN2) (Figure 1), a steroid isolated from plant *S. nudum* (HUA, Voucher 179201-Catalog of Colombian Flora). This steroid has antiplasmodial activity (IC₅₀ 19,55 μM) in strain 7G8 CQ-resistant¹⁰ and its structure includes reactive hydroxyls moieties^{11,12}, which allows the formation of a hybrid. Additionally, its A cycle has an α, β-unsaturated carbonyl group which has been related by studies of structure-activity relationship (SAR) with the promising antiplasmodial activity of Diosgenone¹³, a natural compound also found in *S. nudum*. In our case, this α, β-unsaturated carbonyl group fulfills the role one of the two pharmacophores for the hybrid's formation. (See Figure 4)

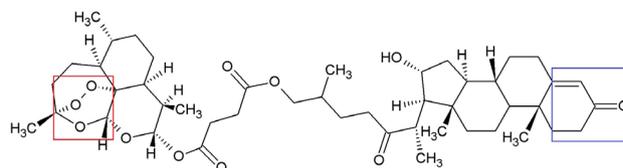


Compound 1. Artesunate (1) Compound 2. Tumacona B (SN2) (2)

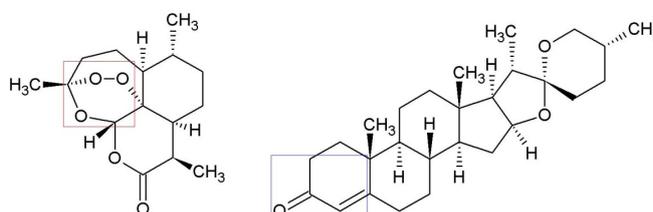
Figure 1. Chemical structures of molecular entities that formed the hybrid Artesunate-Tumacona B (3)



Compound 3. Arteether



Compound 4. Hybrid (ART-SN2) (3)



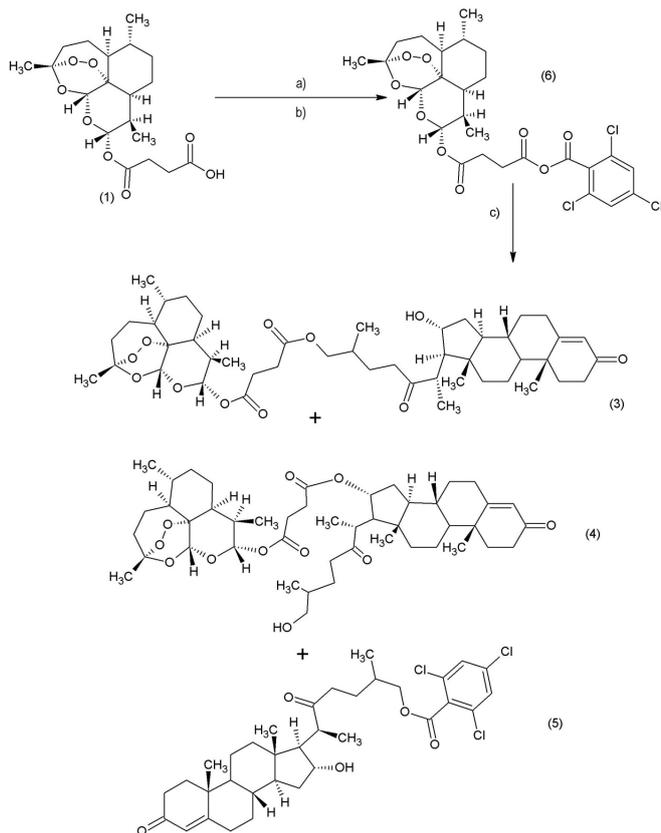
Compound 5. Artemisinin Compound 6. Diosgenone

Figure 2. Hybrid design based on antiplasmodial pharmacophores found in artemisinin (1, 2, 4-trioxanes) and sterols (α,β-unsaturated system in A ring).

RESULTS AND DISCUSSION CHEMISTRY

Synthesis of the hybrid Artesunate-Tumacona B (ART-SN2) 3 was developed in one step as shown in scheme 1, where the starting materials were Artesunate (Sigma®) and pure Tumacona B (2) extracted from the plant *S. nudum*. Esterification between the carboxyl group of Artesunate and the two hydroxyl groups of Tumacona B was set in order to obtain two different hybrids (compounds 3 and 4) in which pharmacophores are held. To do this, the Yamaguchi-type esterification procedure was followed¹⁴ where compound 2, 4, 6- trichlorobenzoyl chloride, known as Yamaguchi reagent, was coupled to Artesunate (1), which facilitated the primary alcohol nucleophilic attack (the most exposed and more reactive) of natural compound Tumacona B (2) for the formation of an ester-type hydrolyzable connector.

Compound 3 is hydrolyzable, so it becomes a dual prodrug and its individual molecules, after metabolized, could be considered as the active substances. The expected compound 4 was not obtained, possibly due to steric hindrance in the region of the secondary hydroxyl of Tumacona B or the low reactivity this hydroxyl has with respect to the primary hydroxyl. However, we obtained compound 5, as an unexpected product resulting from the nucleophilic attack of the primary alcohol of Tumacona B to the Yamaguchi reagent acyl chloride, which is found in excess in the reaction mixture.



Scheme 1. Synthesis of Artesunate - Tumacona B hybrid 3. a.) THF at 0°C b) TEA, 2,4,6- trichlorobenzoyl chloride, rt, 2 h. (c) Tumacona B (2), DCM, DMAP, 24 h, rt.

Biological Assays

In vitro antiparasmodial assays were performed to hybrid 3 (SN2-ART and derivative 5 (SN2-YAM) in 3D7 (chloroquine-sensitive) and FCR3 (chloroquine-resistant) *P. falciparum* strains following the protocol adapted according to the methodologies described by Bravo and collaborators [15], and Desjardins and collaborators¹⁶. The same procedure was used to perform antiparasmodial assays a to molecules Tumacona B, Artesunate and its combination. In addition Mosmann method¹⁷ was followed to determine the cytotoxicity of compounds and the HepG2 cell line was employed.

In Table 1, we can observe that hybrid 3 (ART-SN2) showed an IC_{50} of 0.0059 μM for the FCR3 strain. For individual molecules in this same strain, an IC_{50} of 0.0025 μM for Artesunate (1) and 60.6 μM for Tumacona B (SN2) was obtained. The hybrid 3 antiparasmodial activity is in the same order of magnitude as the potent antimalarial Artesunate and is much better than the natural starting compound Tumacona B (2). It is important to note that the IC_{50} of hybrid 3, is approximately 23.4 times more potent than the one shown by chloroquine in resistant strains. Hybrid 3 was less toxic (12.6 μM) than Artesunate (1) (8.5 μM), exhibiting a SI of 2135.6, a high value that indicates its high selectivity for erythrocytes parasit-

ized with *P. falciparum*. This allows us to state that this compound has very low cytotoxicity.

Table 1. *In vitro* antiparasmodial activity and cytotoxicity of molecules obtained and of starting compounds.

Compound	^a $IC_{50} \pm SD$ (μM)		^b $CC_{50} \pm SD$ (μM)	^c SI
	FCR3	3D7	HepG2	
Artesunate (1)	0.0025 \pm 0.0007	0.0020 \pm 0.0002	8.5 \pm 4.1	3400
Tumacona B (2)	60.6 \pm 11.7	53.9 \pm 9,8	464.4 \pm 20,0	7.7
ART-SN2 (3)	0.0059 \pm 0.0011	0.0044 \pm 0.0006	12.60 \pm 2.03	2135.6
ART-SN2 (4)	--	--	--	--
SN2-YAM (5)	0.0445 \pm 0.0289	0.0410 \pm 0.0021	3.87 \pm 0.21	87.0
Chloroquine	0.138 \pm 0.016	0.0111 \pm 0.0018	NA	NA

^a IC_{50} (μM): Concentration corresponding to the 50% inhibition of parasite growth; ^b CC_{50} (μM): Concentration corresponding to the 50% cytotoxic dose in HepG2 cells; ^c Selectivity Index (SI) : HepG2 CC_{50} / FCR3 IC_{50} ; Antiparasmodial assay control. SD: standard deviation. FCR3: chloroquine resistant strain, 3D7: chloroquine sensitive strain.

Ester 5 (SN2-YAM) formed between SN2 and the Yamaguchi reagent presented an IC_{50} of 0.0445 μM in FCR3, and 0.041 μM in 3D7, showing that the derivatization with the chlorinated compound dramatically increased the antiparasmodial activity with respect to SN2 (IC_{50} : 60.6 μM FCR3, 53.9 μM 3D7), resulting more potent than chloroquine. This IC_{50} exhibited by the derivative was 3 times higher than that of chloroquine. Despite the fact that compound 5 presented a higher cytotoxicity with a 3.87 μM CC_{50} in HepG2, the SI was 87, which tells us that this is a selective compound towards the red blood cells parasitized with *P. falciparum*; that is, it shows very low cytotoxicity.

The results from antiparasmodial activity in **table 1** indicate that the activity of hybrid 3 is greater than that of natural compound SN2; i.e., the covalent binding with Artesunate (1) increases its individual antiparasmodial activity and favors the formation of a new artemisinin type derivative with an IC_{50} value of the same order as the Artesunate IC_{50} . This result may become relevant in studies related to malaria episodes caused by parasites of *P.falciparum* artemisinin-resistant strains, since the hybrid could be a good alternative due to its potent activity, comparable to the Artemisinin derivatives currently used¹⁸.

The antiparasmodial activity of combinations between the starting molecules can be calculated from the FICs (fractional inhibitory concentrations); this index allows us to know the effect of the interaction between two molecules. In table 2, FICs for strains 3D7 and FCR3 were indifferent (3D7 FIC: 1.8; FCR3 FIC: 1.58), indicating that the molecules in combination do not exert any effect (synergistic or antagonistic) on each other, since it is established that a value between 0.51 to 4 is considered indifferent¹⁹. However, a molecule with an IC_{50} in the same order as Artesunate is obtained when they are chemically linked.

Table 2. Antiplasmodial activity of combinations of starting molecules.

Strain	Compound and Combinations	IC ₅₀ (μM)	^a SD	^b FICs
3D7	^c ART	0.0039	0.0011	1.8
	ART+ ^e IC ₁₀ SN2	0.0037	0.0006	
	^d SN2	29.85	0.01	
	SN2+IC ₁₀ ART	28.39	0.46	
FCR3	ART	0.0066	0.0013	1.58
	ART+IC ₁₀ SN2	0.0058	0.0012	
	SN2	50.35	6.89	
	SN2+IC ₁₀ ART	35.35	2.74	

^aSD: Standard Deviation; ^bFICs: Fractional inhibitory concentrations; ^cART: Artesunate; ^dSN2: Tumacona B ; ^eIC₁₀: Inhibitory concentration of 10% parasite growth. IC₁₀ SN2: 7.250 mM; IC₁₀ ART: 2.0x10⁻³ mM

CONCLUSIONS

We obtained a promising Artesunate-Tumacona B hybrid (3) (ART- SN2) that exhibits potent antiplasmodial activity *in vitro* in chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant strains, and also has a low cytotoxicity. This antiplasmodial activity was 23.4 times more potent than chloroquine for the resistant strain. The best therapeutic option from the starting compounds is the formation of a hybrid because they do not potentiate between each other when are tested as a combination. (3D7 FIC: 1.8; FCR3 FIC: 1.58).

Although the hybrid displays the Artesunate pharmacophore, this is a new molecule and it is possible to think that it has antiplasmodial effect in strains resistant to artemisinin, which could represent an alternative for artemisinin combination therapies.

The derivative SN2-YAM (5), obtained from the esterification reaction with the coupling reagent, showed greater activity and selectivity than the starting natural compound SN2; that is, a new compound was synthesized with interesting physicochemical and biological characteristics.

The two compounds, obtained synthetically, are new and were analyzed by nuclear magnetic resonance and mass analysis to verify their structure and molecular composition.

The results obtained in this study confirm the importance of hybrids as a therapeutic alternative for the treatment of malaria and could be useful to guide future efforts to discover new antiplasmodial compounds of this type.

EXPERIMENTAL METHODS

General information

We used Artesunate, 2, 4, 6-trichlorobenzoyl chloride (Yamaguchi reagent), triethylamine (TEA), 4-di-

methylaminopyridine (DMAP) and sodium borohydride (SBH) from Sigma; and tetrahydrofuran (THF) and Dichloromethane from Merck. Methanol, hexane and ethyl acetate were commercial grade. The progress of the reactions was monitored by thin layer chromatography (TLC), silica gel 60 F254 (Merck). The plates were developed in a mix of acetic acid, sulfuric acid and water, as well as sublimated iodine and ultraviolet light. Chromatographic columns were made using a matrix of silica gel 60 (0.063-0.200 mm) Merck. The IR spectrum was obtained in a 100 Spectrum (Perkin Elmer) and the software used to interpret the results was the Spectrum v5.3.1. We utilized a Bruker spectrometer for the spectroscopic analysis of ¹H-NMR and ¹³C-NMR, 300 MHz for ¹H and 75 MHz for ¹³C, using trimethylsilane as internal standard, and deuterated methanol (DME) and deuterated chloroform (DCCl₃) from Merck as solvents. The mass spectrum of hybrid 3 was obtained in a 6300 LC/MSD Trap SL mass spectrometer (Agilent Technologies).

Procedure for the synthesis of the SN2-ART hybrid (3)

Hybrid 3 was synthesized from an esterification reaction via Yamaguchi. The following methodology was developed: 89.2 mg (0.23 mmol) of Artesunate 1 were diluted with 2.0 mL of THF, 0°C, then 57.5 μL of TEA and 54.4 μL of Yamaguchi reagent (0.34 mmol) were added, then stirred in inert atmosphere and room temperature for two hours. Subsequently, 100 mg (0.23 mmol) of Tumacona B 2 and 44.25 mg (0.36 mmol) of DMAP were dissolved with 3.0 mL of DCM, which were slowly added to the solution and allowed to react for 24 hours (scheme 1). The reaction was stopped adding to the mixture a solution of distilled water saturated with ammonium chloride.

Two products were detected by TLC in the reaction mixture. Subsequently, a liquid-liquid extraction was performed using three washes of 15 mL of dichloromethane. Then the organic phase was separated and concentrated to dryness and transferred to a chromatographic column where separation and purification of compounds was obtained by gradient elution (hexane: ethyl acetate). Two white solids were obtained and identified after characterization as pure compounds 3 and 5. These are new compounds, obtained synthetically. Both the Artesunate-Tumacona B hybrid 3 and compound 5, a chlorinated derivative of Tumacona B, were analyzed by nuclear magnetic resonance and mass analysis to verify their structure and molecular composition.

Compound 3, white solid, showed a molecular ion [M+Na⁺] at m/z 819.6 (calculated for C₄₆H₆₈O₁₁Na) in the spectrum of ESI-API-MS, corresponding to the molecular formula C₄₆H₆₈O₁₁. Melting point (°C): 176.34. IR (KBr, cm⁻¹): 1735 (COOR), 1671 (C=O), 1014 (C-O), 3492 (C-OH). The ¹H NMR spectrum (300 MHz, DME) showed characteristic singlets attributed to three methyl groups δ 0.826 (s, 3H), 1.245 (s, 3H), 1.368 (s, 3H), two doublets at δ 0.87 (d, 3H, J: 9Hz), 1.189 (d, 3H, J:6 Hz), one triplet δ 0.964 (t br, 6H, J: 9Hz, 3 Hz) and signal for one olefinic proton at δ 5.530 (s, 1H); also one doublet is observed at δ 5.772 (d, 1H, J: 9 Hz) and a markedly displaced singlet at δ 5.730 (s,1H), belonging to the structural entity of Ar-

tesunate and aliphatic protons between δ 1.0 y 2.4, typical of a steroid skeleton. The ^{13}C NMR spectrum (75MHz, DME) showed 46 signals, including the four carbonyls, one for α , β -unsaturated ketone at δ 20.8, another for ketone at δ 216.13 and signals for two esters at δ 172.5 and δ 171.43. This demonstrates the covalent binding between Artesunate and the natural molecule Tumacona B (SN2). The rest of the chemical shifts for carbon were δ : 173.57, 122.80, 103.73, 92.12, 91.14, 79.90, 75.25, 68.66, 62.35, 53.77, 52.70, 51.57, 47.87, 45.18, 43.77, 39.45, 38.54, 37.91, 36.90, 35.87, 35.67, 35.26, 34.85, 33.91, 33.28, 32.44, 31.97, 31.84, 31.66, 28.67, 28.35, 26.67, 24.49, 24.40, 21.46, 20.33, 19.18, 16.23, 15.89, 15.51, 12.41, 11.02. Compound **3** was obtained in a 47% yield.

Compound **5** is a white solid with a molecular formula $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{Cl}_3\text{O}_5$, established by ESI-API-MS, showing a molecular ion $[\text{M}+\text{Na}^+]$ at m/z 659.3 (calculated for $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{Cl}_3\text{O}_5\text{Na}$). Melting point ($^\circ\text{C}$): 172.5. IR (KBr, cm^{-1}): 1736 (COOR), 1670 (C=O), 1578 (C=C), 3422 (C-OH). The ^1H NMR spectrum (300 MHz, CDCl_3) showed the characteristic singlets of the steroidal part attributed to methyl groups in δ 0.78 (s, 3H) and δ 1.21 (s, 3H), as well as δ 5.63 corresponding to the olefinic proton of the α , β unsaturated system and one singlet at δ 7.39 corresponding to the two aromatic protons (s, 2H). One doublet is observed at δ 1.05 (d, 4H, J: 6Hz). One triplet can also be observed in δ 3.80 (t br, 1H, J: 3Hz) and one multiplet δ 4.27 (m, 2H, J: 4.27). There are also aliphatic protons between δ 1.38 and 3.32 typical of the steroidal skeleton. The ^{13}C NMR spectrum (75MHz, CDCl_3) showed 34 signals in total, including 3 carbonyls, one for α , β -unsaturated ketone at δ 199.4 and one ester type in the region δ 164.2, signal that suggests the binding between the entity of Artesunate and the Yamaguchi reagent (2,4,6-trichlorobenzoyl chloride). The olefinic carbon was also observed at δ 171.0 and the hydroxylated secondary carbon, belonging to the structural entity of Tumacona B, at δ 76.6. The other chemical shifts for carbon were δ : 136.18, 132.57 (2C), 128.08 (2C), 124.0, 70.78, 62.58, 53.48, 52.42, 48.63, 44.09, 30.72, 38.77, 38.54, 35.62, 35.54, 34.97, 33.95, 32.79, 32.08, 31.85, 27.09, 20.71, 17.33, 17.11, 17.06, 16.81, 13.75. Compound **5** was obtained in an 18% yield.

Biological Assays

In vitro antiplasmodial assays compounds **1**, **2**, **3**, **5**, were subjected to *in vitro* antiplasmodial activity assays in *P. falciparum* strains 3D7 (sensitive to chloroquine) and FCR3 (resistant to chloroquine) at 1% parasitemia and 2% hematocrit, following the protocol described by Bravo and collaborators in 1999 and Desjardins and collaborators in 1979. The following concentrations were evaluated: **1** (0.00098 to 0.065 μM), **2** (3.62 to 232 μM) **3** (0.00047 to 0.031 μM) and **5** (0.0061 to 0.39 μM), all dissolved in pure DMSO. Chloroquine was used as a positive control from 0.15 to 0.00234 μM for the sensitive strain and 2.0 to 0.31 μM for the resistant strain, all dissolved in distilled water. All experiments were performed in triplicate, independently, and the final concentration of the DMSO was always less than 0.1%. Antiplasmodial activity was done using radiolabeled hypoxanthine as follows: 96-well flat-bottom plates, containing the concentrations to be evaluated, were treated with 200 μL of parasitized erythrocytes

(1% parasitemia and 2% hematocrit) and 1 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$ of ^3H -hypoxanthine (MP Biomedicals, Santa Ana). The plates were incubated for 48 hours at 37°C in a 5% O_2 , 5% CO_2 atmosphere (balanced nitrogen). DNA of parasites was collected with the help of a semi-automatic harvester and radioactivity in μCi was measured on a scintillation counter (Merck). An experiment was considered valid when reading of untreated control (culture media) wells was superior to 2000 cpm. Results were expressed as the average of the 50% inhibition concentration. Moreover, an IC_{50} , for each compound, less than 1 μM^{20} was considered a promising activity or hit molecules, good from 1 to 20 μM^{21} , moderate 20 to 100 μM^{21} , low activity 100 to 200 μM^{21} and not active when greater than 200 μM^{21} .

To determine the type of drug interaction between the Tumacona B (**2**) and Artesunate (**1**), we calculated the combination IC_{50} with a fixed concentration of Artesunate in the case of Tumacona B (SN2), and a fixed concentration of Tumacona B (SN2) in the case of Artesunate. The fixed concentration used was the IC_{10} of the maximum antiplasmodial effect.

The combination IC_{50} values were employed to calculate the fractional inhibitory concentrations (FICs) using equation 1.

$$\text{FIC} = \frac{\ln \text{combination Drug A IC}_{50}}{\text{Single drug A IC}_{50}} + \frac{\ln \text{combination Drug B IC}_{50}}{\text{Single drug B IC}_{50}} \quad (1)$$

FICs: If the combination IC_{50} is less than that obtained with the single molecule, it is considered a synergistic effect ($\text{FIC} < 0.5$); if it is greater, an antagonistic ($\text{FIC} > 4$) or an indifferent effect when the FIC is ($0.51 < \text{FIC} < 4$).

Cytotoxicity assays

Mosmann method¹⁷ was followed to determine the cytotoxicity of compounds. The HepG2 cell line was employed and cultivated in 96-well flat-bottom plates at a concentration of 2×10^5 cells/well in 100 μL of DMEM/F12 medium supplemented with 10% fetal bovine serum. The cells were incubated at 37°C with 5% CO_2 for 30 hours to allow monolayer formation. After that, 100 μL of each compound was added to each well in serial concentrations as follows: 520.26 to 8.13 μM for Artesunate (**1**), 464.4 to 7.257 μM for Tumacona B (**2**), 250.93 to 3.92 μM for compound **3** and 313.45 to 2.82 μM for compound **5**, and were solubilized in pure dimethyl sulfoxide. The plates were incubated for 48 hours at 37°C . Afterwards, the MTT reagent was added and the absorbance of each well read at 595nm. The toxicity of Artesunate (**1**) in combination with Tumacona B (**2**) was evaluated using the CC_{10} of Artesunate (**1**) and different concentrations of Tumacona B (**2**) (464.4 to 7.257 μM). DMEM/F12 medium with 10% fetal bovine serum was employed as control of cell growth. The Tumacona B (**2**) and 2,4,6-trichlorobenzoyl chloride compounds could not be assessed in combination because chloride decomposed immediately after it was added to the assay culture medium due to easy hydrolysis of acid chloride.

The toxicity of a molecule was considered according to the following ranges: $\text{CC}_{50} < 1.0$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ (highly cytotoxic), 1.0-10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (moderately cytotoxic), 10.0 -30.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (medium toxicity) and > 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (non-toxic)²².

Regarding the selectivity index for classifying toxic

molecules, which is obtained from the ratio between the 50% toxic concentration (CC_{50}) and the 50% antiplasmodial concentration (IC_{50}), it is considered a medium toxicity when this index is less than 10^{22} .

Statistical analysis. A non-linear regression analysis was performed to estimate the antiplasmodial activity. These results correspond to means plus or minus standard deviations, which were obtained from three independent experiments. Statistical analyses were obtained in the Prism 5.0 (GraphPad) program.

A non-linear regression analysis was performed to estimate the cytotoxicity. The results correspond to means plus or minus standard deviations, obtained from two independent experiments. Statistical analyses were obtained in the Prism 5.0 (GraphPad) program.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded by Colciencias (Convenio 111552128447, RC 422-2011) and the Universidad de Antioquia, Colombia (CODI-Sustainability Strategy 2014-2015 UdeA). The authors wish to thank Alexandra Rios for performing the antiplasmodial activity assays, Briegel de las Salas for performing the cytotoxicity analyses and Carlos Uribe and Cesar Segura for the mass spectrometry analyses.

REFERENCES

1. WHO: World Health Organization, 2014. <http://www.who.int/topics/malaria/es/>
2. World Malaria Report, 2013. http://www.who.int/iris/bitstream/10665/97008/1/9789241564694_eng.pdf
3. Arieu, F., Witkowski, B., Amaratunga, C., Beghain, J., Langlois, A. C., Khim, N. Ménard, D. A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* **2014**, 505(7481), 50-55.
4. Phyto, A. P., Nkhoma, S., Stepniewska, K., Ashley, E. A., Nair, S., McGready, R., Nosten, F. Emergence of artemisinin-resistant malaria on the western border of Thailand: a longitudinal study. *The Lancet*. **2012**, 379(9830), 1960-1966.
5. Amaratunga, C., Sreng, S., Suon, S., Phelps, E. S., Stepniewska, K., Lim, P., ... & Fairhurst, R. M. Artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in Pursat province, western Cambodia: a parasite clearance rate study. *The Lancet infectious diseases*. **2012**, 12(11), 851-858.
6. Fairhurst, R. M., Nayyar, G. M., Breman, J. G., Hallett, R., Vennerstrom, J. L., Duong, S., ... & Dondorp, A. M. Artemisinin-resistant malaria: research challenges, opportunities, and public health implications. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. **2012**, 87(2), 231-241.
7. Meunier, B. Hybrid Molecules with a Dual Mode of Action: Dream or Reality?. *Accounts of chemical research*. **2007**, 41(1), 69-77.
8. Dubar, F., Egan, T. J., Pradines, B., Kuter, D., Ncokazi, K. K., Forge, D., ... & Biot, C.. The antimalarial ferroquine: role of the metal and intramolecular hydrogen bond in activity and resistance. *ACS chemical biology*. **2011**, 6(3), 275-287.
9. Benoit-Vical, F., Lelièvre, J., Berry, A., Deymier, C., Dechy-Cabaret, O., Cazelles, J., & Meunier, B. Trioxaquinones are new antimalarial agents active on all erythrocytic forms, including gametocytes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. **2007**, 51(4), 1463-1472.
10. López, M. L., Vommaro, R., Zalis, M., de Souza, W., Blair, S., & Segura, C. Induction of cell death on *Plasmodium falciparum* asexual blood stages by *Solanum nudum* steroids. *Parasitology international*. **2010**, 59(2), 217-225.
11. Saez, J., Cardona, W., Espinal, D., Blair, S., Mesa, J., Bocar, M., & Jossang, A. Five new steroids from *Solanum nudum*. *Tetrahedron*. **1998**, 54(36), 10771-10778.
12. Pabón, A., Carmona, J., Maestre, A., Camargo, M., & Blair, S. Inhibition of *P. falciparum* by steroids isolated from *Solanum nudum*. *Phytotherapy Research*. **2002**, 16(1), 59-62.
13. Pabón, A., Escobar, G., Vargas, E., Cruz, V., Notario, R., Blair, S., & Echeverri, F. Diosgenone Synthesis, Anti-Malarial Activity and QSAR of Analogues of This Natural Product. *Molecules*. **2013**, 18(3), 3356-3378.
14. Dhimitruka, I., & SantaLucia, J. Investigation of the Yamaguchi esterification mechanism. Synthesis of a Lux-S enzyme inhibitor using an improved esterification method. *Organic letters*. **2006**, 8(1), 47-50.
15. Bravo, B., Sauvain M., Gimenez T., Muñoz O., Callapa J., Le Men O., et al. Bioactive phenolic glycosides from *Amburana cearensis*. *Phytochemistry*. **1999**, 50(1), 71-74.
16. Desjardins, R. E., Canfield, C. J., Haynes, J. D., & Chulay, J. D. Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semiautomated microdilution technique. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. **1979**, 16(6), 710-718.
17. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*. **1983**, 65(1), 55-63. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
18. Mita, T., & Tanabe, K. Evolution of *Plasmodium falciparum* drug resistance: implications for the development and containment of artemisinin resistance. *Japanese journal of infectious diseases*. **2012**, 65(6), 465-475.
19. Odds, F. C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **2003**, 52(1), 1-1.
20. Saadeh H, Mosleh I, Mubarak M. Synthesis of novel hybrid molecules from precursors with known antiparasitic activity. *Molecules*. **2009** Abr 2; 14, 1483-1494.
21. WHO, 2001. The use of antimalarial drugs. Texto redactado por Poole, S. Consultado el 29 de septiembre de 2010.
22. Phillips, M. A., Gujjar, R., Malmquist, N. A., White, J., El Mazouni, F., Baldwin, J., & Rathod, P. K. Triazolopyrimidine-based dihydroorotate dehydrogenase inhibitors with potent and selective activity against the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Journal of medicinal chemistry*. **2008**, 51(12), 3649-3653.

Tensile properties of LDPE/electrical cable waste blends prepared by melt extrusion process

E.A. Franco-Urquiza*¹, N. Camacho¹ and M.LI. Maspoch²

¹National Council of Science and Technology CONACyT, Center for Engineering and Industrial Development. Playa Pie de la Cuesta 702, Desarrollo San Pablo, Queretaro, Mexico. 76125. ²Centre Català del Plàstic, Universitat Politècnica de Catalunya. Edifici Vapor Universitari de Terrassa, Colom 114, 08222 Terrassa, Barcelona, Spain

Propiedades de resistencia a la tracción de las mezclas de residuos de LDPE/cables eléctricos, preparadas mediante el proceso de extrusión por fusión

Propietats de resistència a la tracció de mescles de residus de LDPE/cables elèctrics, preparats per mitja del procés de extrusió per fusió

RECEIVED: 19 JULY 2016; RECEIVED: 22 OCTOBER 2016; ACCEPTED: 16 NOVEMBER 2016

SUMMARY

In this study low density poly-ethylene (LDPE)/electrical cable waste blends were prepared using a single-screw extruder at pilot plant level. The cable waste was mainly composed of LDPE, synthetic rubbers, flexible poly-vinyl chloride (PVC) and traces of conductive metal. Recycled LDPE was recovered by using the gravimetric separation approach. Heterogeneous extruded filaments were obtained because of the presence of not-melted waste particles that caused the interruption of the extrusion process. In order to improve the mixing and the homogeneity of the extruded filaments, LDPE waste was collected using nest sieves with opening mesh of 1.68 and 0.59 mm. The mechanical properties of the blends were related to the LDPE waste content and processing. In general, the mechanical parameters corresponding to the heterogeneous extruded filaments were notoriously lower than the LDPE because of large and not-melted waste particles caused the premature failure of the material. The blends containing sieved LDPE waste particles showed higher values in stiffness and ductility with respect to the rest of the blends.

Keywords: Recycling; mechanical properties; processing.

RESUMEN

En este estudio, las mezclas de residuos de polietileno de baja densidad (LDPE)/cable eléctrico se han preparado usando un extrusor de rosca única a nivel de planta piloto. Los residuos de cables estaban compuestos básicamente de LDPE, goma sintética, cloruro de polivinilo flexible (PVC) y trazas de metal

conductor. El LDPE reciclado se recubría usando el método de separación gravimétrico. Se obtenían filamentos extruidos heterogéneos debido a la presencia de partículas residuales no fundidas que causaban la interrupción del proceso de extrusión. Para mejorar la mezcla y homogeneidad de los filamentos extruidos, se recogían residuos de LDPE usando tamices o cribas con una abertura de malla de 1.68 y 0.59 mm. Las propiedades mecánicas de las mezclas se relacionaban con el contenido residual y el procesamiento del LDPE. En general, los parámetros mecánicos correspondientes a los filamentos extruidos heterogéneos eran bastante inferiores a los del LDPE debido a que las partículas residuales grandes y no fundidas causaban el fallo prematuro del material. Las mezclas que contenían partículas residuales de LDPE tamizadas mostraban valores superiores en rigidez y ductilidad con respecto al resto de las mezclas.

Palabras clave: Reciclado; propiedades mecánicas; procesamiento.

RESUM

En aquest estudi, les mescles de residus de polietilè de baixa densitat (LDPE)/cable elèctric s'han preparat fent servir un extrusor de rosca única a nivell de planta pilot. Els residus de cables estaven composts bàsicament per LDPE, goma sintètica, clorur de polivinil flexible (PVC) i traces de metall conductor. El LDPE reciclat es recobria fent servir el mètode de separació gravimètric. La obtenció de filaments extruïts hetero-

*Corresponding author: edgar.franco@cidesi.edu.mx

genis era deguda a la presència de partícules residuals no fosos que provocaven la interrupció del procés de extrusió. Per millorar la mescla i homogeneïtat dels filaments extruïts es recollien residus de LDPE mitjançant tamisos o garbells amb una obertura de malla de 1.68 i 0.59 mm. Les propietats mecàniques de les mescles es relacionaven amb el contingut residual i el processament de LDPE. En general, els paràmetres mecànics corresponents als filaments extruïts heterogenis eren bastant inferiors als de LDPE degut a que les partícules residuals grans i no fosos provocaven la fallada prematura del material. Les mescles que contenien partícules residuals de LDPE tamisades mostren valors superiors en rigidesa i ductilitat respecte la resta de mescles.

Paraules clau: Reciclat; propietats mecàniques; processament.

INTRODUCTION

It is well known that urbanisation, industrialisation and population growth affect the plastic generation. The global plastics production has grown continuously for more than 50 years. Thus, the worldwide production in 2014 rose to 311 million tonnes, meaning a 3.9% increase compared to 2013, and approximately 28% respect to 2004. China (26%), Europe (20%) and the North American Free Trade Agreement NAFTA (19%) are top of the rankings for global plastics production¹.

Plastic materials are used in an expanding range of products with diverse uses in packaging, construction, medicine, electronics, automotive, appliances and consumer products². According to the Association of Plastics Manufacturers in Europe¹, the Building & Construction segment represents the 20.1% of the total plastic demand and, within this segment, the 18% is demanded for manufacturing electrical cables, which makes it of interest and potentially attractive to the plastic recycling sector.

Electrical cables are constituted of a core conductor material like copper or aluminium, and an insulation material composed of PVC, LDPE and elastomers. In the past, the market for wire recycling from electrical cable waste was entirely based on the high commercial value of the conducting metal, while plastic materials were often neglected. Currently, the potential to increase the recycling of plastics from electrical cable waste is really high because of significant environmental impacts and economic savings³.

It is well studied that the plastic materials can be recovered by using several methods like chemical recycling, energy recovery and mechanical recycling⁴⁻¹³. However, the later method is widely used since it is relatively easy, economical and possible to scale to industrial processes. It refers to operations that aim at recovering plastic waste via mechanical processes like the melt extrusion process, which is a continuous process that includes mixing, cooling, pelletizing and, depending on the final product, forming.

In general, the recycled materials are typically used in applications with mechanical requirements low-

er than virgin polymers because of the mechanical properties of the recyclates are not spectacular, since polymers can suffer degradation from heat, mechanical stress, oxidation or ultraviolet radiation during their lifetime and reprocessing^{8,14,15}.

The aim of this work is to evaluate the influence of the plastic cable waste concentrations on the tensile properties of the LDPE blends, which were obtained by means of the melt extrusion process. The results section of this manuscript is divided in three parts related to the mechanical performance: the first one analyses the effect of the residual waste content; the second part evaluates the influence of a second reprocessing of extrusion and the third part studies and compares the mechanical parameters by using sieved waste particles.

MATERIALS

In this work LDPE Lupolen 1800H from Lyondell-Basell with a density of 0.919 g/cm³ and a melt flow index (MFI) (190°C/2.16 kg) of 1.5 g/10 min was used. The LDPE has a tensile modulus and yield strength of 200 and 9 MPa respectively, with an elongation at break higher than 50%.

The electrical cable waste was supplied by a certified company for the waste management of electrical cables located in Catalonia, Spain. According to this company, the composition by weight of the cable waste provided should be: 60% PVC (1.4 g/cm³), 30% LDPE (0.92 g/cm³), 9% synthetic rubber (1.2 g/cm³) and 1% metal fraction.

EXPERIMENTAL

Metal-free cable plastic waste

The metal fraction contained into the cable plastic waste was removed before the extrusion process, which resulted in a tremendous effort and patient since the very small metallic wires were separated manually from the cable waste.

LDPE recovery

Once the metal fraction was removed, PVC and LDPE were separated each other by using the gravimetric separation technique, which is relatively easy, economical and simple to do. First of all, the metal-free cable waste was placed in a beaker with water, which was used as the suspending medium because of its density ($\rho = 1$ g/cm³). The floating portion was considered as the residual LDPE waste and labelled as R in this work. The non-floating portion was discarded because it was assumed to be composed of PVC and synthetic rubbers.

Melt-extrusion process

Blends of virgin LDPE and R (LDPE/R) were mixed in a pilot-scale extrusion line using a single-screw extruder (IQAP-LAP) with a screw diameter of 30 mm and an L/D ratio of 25. The screw rotation speed was set at 30 rpm and the processing temperatures were

between 100°C in the feed section and 160°C in the extrusion die. At the end of the extruder, the extruded filament was cooled in a water bath and pelletized in a granulating cutting machine (Figure 1).

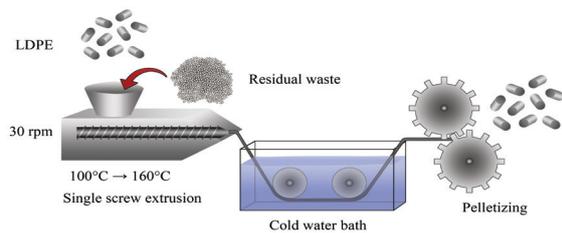


Figure 1. Schematic representation of the single-screw extrusion process line used to prepare the LDPE/electrical cables waste blends.

It is worth noticing that both virgin LDPE and R were dried previous to the extrusion process in an oven with forced air circulation (JP Selecta) at 80°C for 24 h.

Specimens and mechanical properties

ASTM tensile test dog-bone specimens of virgin LDPE and LDPE/R blends were obtained in an injection moulding machine (Mateu Solè METEOR 70/22) with a clamping force of 22 tons. The injection temperature profile of 185 to 160°C from hopper to nozzle was employed. The wall temperature of the mould was kept at 30°C. The material was injected into the mould at an injection speed of 45 mm³/s with a maintenance pressure of 50 bar and a holding time of 11 s. The cooling cycle was kept constant at 45 s.

Uniaxial tensile tests (ASTM D-638 standard) were carried out in a universal testing machine (Galdabini Sun 2500) equipped with a 5 kN load cell. The tests were performed at a crosshead rate of 50 mm/min and at room temperature (23 ± 2°C). Young's modulus (E), yield strength (σ_y) and tensile at break (σ_b) were obtained from the engineering stress versus strain curves, and the elastic deformation (ϵ_b) was measured using a video extensometer (Mintron OS-65D).

The broken surfaces were observed in a stereo microscope (Carton) and the optical images were captured using an adapted digital camera (ProgRes CT3).

RESULTS AND DISCUSSIONS

LDPE recovery

The metal fraction removed from the electrical cable waste was approximately 0.8 wt.%, which is very close to the value stated by the supplier. On the other hand, by applying the gravimetric separation technique it was found the cable waste contained 23 wt.% of LDPE, represented by the floating portion (R), and 77 wt.% of PVC and synthetic rubbers represented by the non-floating portion. The results are not in concordance with the information provided by the supplier. Nevertheless, the gravimetric separation method is highly useful and currently used for industrial purposes, which is the main address of this work.

Mechanical properties: one-step of extrusion process

For the first part of this work, three LDPE/R blends were prepared after mixing virgin LDPE with 7.5, 15 and 25 wt.% of R (LDPE/7.5R1, LDPE/15R1 and LDPE/25R1) in a single-screw extruder. The code R1 indicates the blends were extruded once, as presented in Table 1.

The materials were not difficult to mix with different concentrations of R because the control panel sensors of the extruder did not show variations in the values of internal pressure, maintaining the pressure in approximately 8 MPa for all the blends. However, the major drawback was presented at the outside of the extruder, where the extruded filament constantly broke, causing the extrusion line to stop. The previous was attributed to the presence of immiscible particles that caused heterogeneities into the extruded filament and promoted its breaking during the collecting at the outside of the extruder. The heterogeneities were physically evident and shorter extruded filaments (**Figure 2a**) were collected as the R content increased.

Table 1. Mechanical properties of the virgin LDPE, LDPE/R1 and LDPE/R2 blends

	Material	E (MPa)	σ_y (MPa)	σ_{max} (MPa)	σ_b (MPa)	ϵ_b (%)
one-step of extrusion	LDPE	145.20 ± 1.82	8.65 ± 0.32	14.19 ± 0.14	13.92 ± 0.13	173.73 ± 14.93
	LDPE/7.5R1	78.60 ± 1.68	7.36 ± 0.14	11.96 ± 0.14	11.65 ± 0.16	142.65 ± 8.52
	LDPE/15R1	78.32 ± 1.41	7.25 ± 0.26	11.34 ± 0.21	11.12 ± 0.36	123.41 ± 12.31
	LDPE/25R1	78.96 ± 1.23	7.18 ± 0.37	10.69 ± 0.28	10.52 ± 0.31	114.85 ± 16.35
Two-steps of extrusion	LDPE/7.5R2	69.53 ± 1.35	7.55 ± 0.23	12.04 ± 0.62	11.73 ± 0.50	124.75 ± 5.70
	LDPE/15R2	65.10 ± 1.60	7.31 ± 0.41	11.02 ± 0.33	10.75 ± 0.24	80.87 ± 6.60

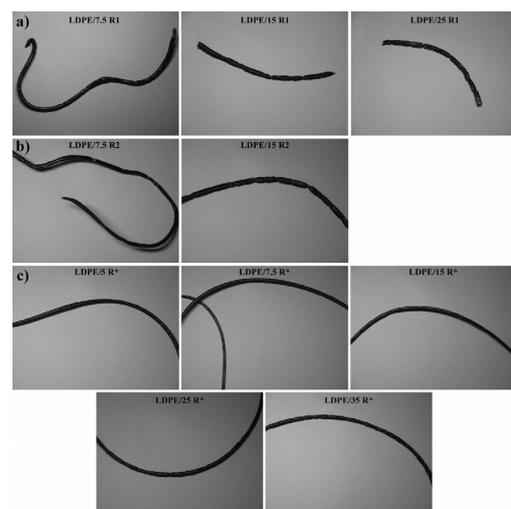


Figure 2. Photographs of the extruded filaments at the outside of the extruder: a) LDPE/R1, b) LDPE/R2 and c) LDPE/R* blends

Figure 3 shows the representative engineering stress – strain curves obtained during the tensile tests of LDPE and LDPE/R1 blends.

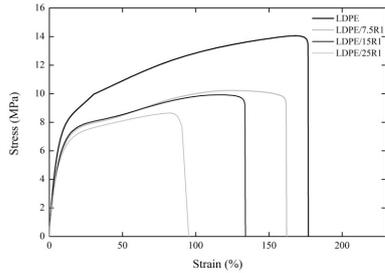


Figure 3. Stress – strain curves of the virgin LDPE and LDPE/R1 blends.

All the curves exhibited an initial linear elastic region followed by a diffuse yielding, which was attributed physically to a not well-defined necking on the specimens during the tensile tests. During the plastic deformation, the stress – strain curves showed a continuous increase in strain at low stress values (more evident for the blends) followed by the failure of the specimen. Both the maximum stress and the maximum strain were reduced with the addition of R; hence, the area under the curve of the virgin LDPE is clearly higher than the LDPE/R1 blends.

The representative broken specimens corresponding to the virgin LDPE and the LDPE/R1 blends are shown in Figure 4. For all specimens, large plastic elongation was not developed and the necking or localized deformation was not really noticeable. The diffuse necking was ascribed to the injection moulding conditions that induced changes in the microstructure of the LDPE in terms of crystallinity¹⁶. Other traces of plastic deformation mechanisms like whitening were not observed during the tensile tests.

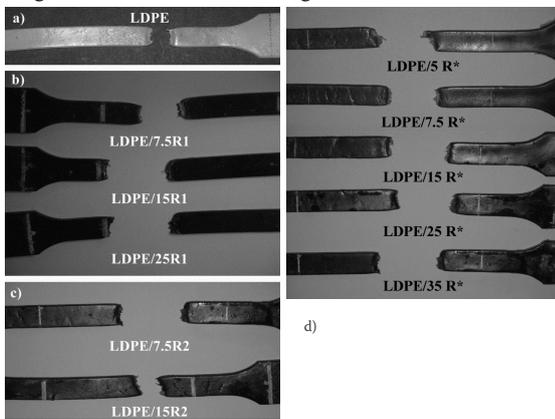


Figure 4. Photographs of the broken specimens after the tensile test: a) virgin LDPE, b) LDPE/R1, c) LDPE/R2 and d) LDPE/R* blends.

According to the Table 1, the mechanical parameters such as Young's modulus, tensile strength and ductility of the LDPE/R1 blends were significantly lower respect the virgin LDPE, which was an expected behaviour due to the presence of recycled material that limits the performance of the LDPE. However, respect to the R content, both the stiffness and the strength of the LDPE/R1 blends did not show significant variations at higher contents of R. The most notorious differences were found for the tensile and elongation at break. Both parameters tended to decrease gradually as the R content increases. Thus, the blends with the minimum and

the maximum R content (LDPE/7.5R1 and LDPE/25R1 respectively) showed a reduction of S_b close to 16 and 25% respectively compared to the virgin LDPE. Similarly, the ductility of the blends dropped down up to approximately 33% respect to the LDPE.

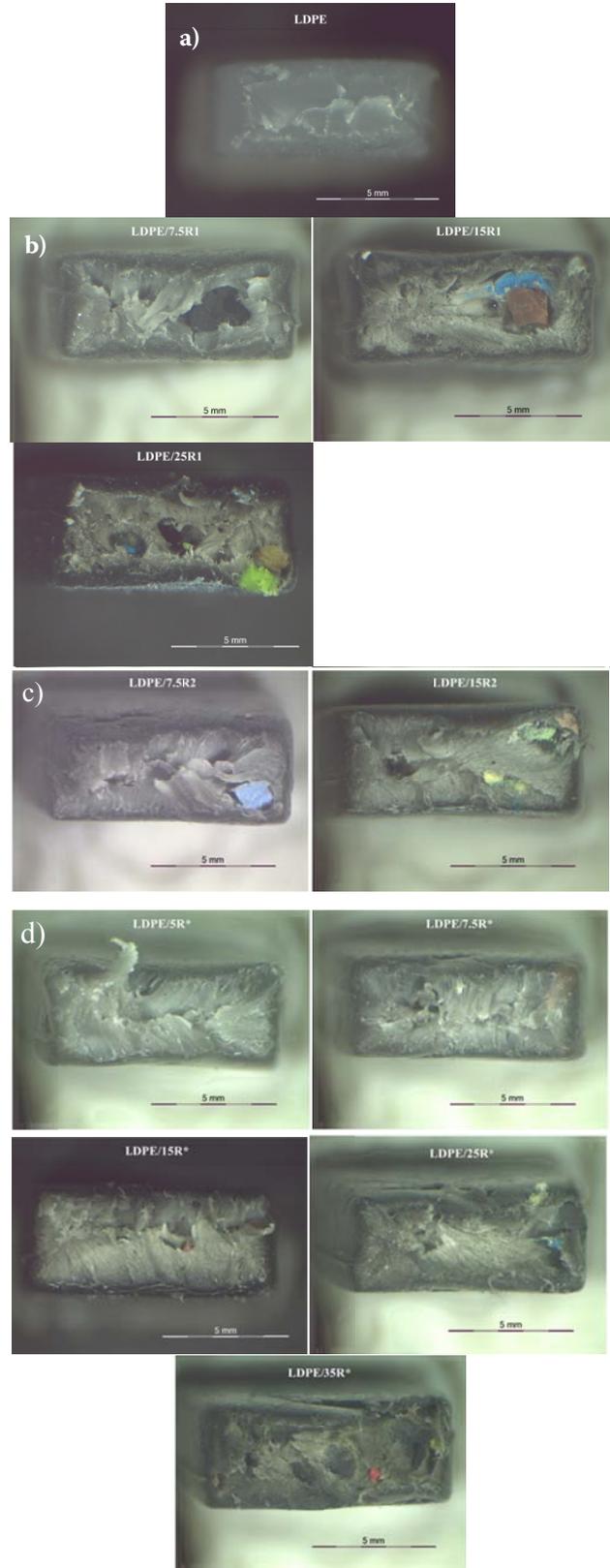


Figure 5. Pictures taken from the failure surfaces of: a) virgin LDPE, b) LDPE/R1, c) LDPE/R2 and d) LDPE/R* blends.

In order to explain the tendencies observed, the failure surfaces of the broken specimens were taken into consideration. **Figure 5** shows the failure surfaces of the virgin LDPE and the LDPE/R1 blends.

LDPE (**Figure 5a**) showed some traces of ductile tearing on the broken surface typical of semi-crystalline polymers. On the other hand, the broken surfaces of the LDPE/R1 blends revealed interesting features (**Figure 5b**). In the first instance, several not-melted waste particles with diverse dimensions were easily to observe. The presence of not-melted particles is attributed to the heterogeneity of distinct materials with different densities that compose the electrical cable wastes. As expected, the higher content of R, the higher the number of not-melted particles. Moreover, a considerable number of voids of different sizes were also observed on the failure surfaces of the specimens. The voids were certainly a result to the decohesion of the unmelted particles from the LDPE during the tensile test.

Mechanical properties: second-step of extrusion process

It is well known that the single-screw extrusion is not an efficient mixing process. However, it is relevant to find some alternatives to obtain blends with higher quality in mixing using single-screw extrusion. In this section, two additional blends were prepared by processing for a second time the surplus LDPE/7.5R1 and LDPE/15R1 extrudates; hence, each extrudate was pelletized and reprocessed following the same processing parameters and conditioning explained in section 3.3.

The new blends were labelled as LDPE/7.5R2 and LDPE/15R2 (**Table 1**) and were prepared in order to clarify if more uniform extruded filaments are possible to obtain through a second extrusion process and its influence on the mechanical properties of the blends. **Figure 6** shows the representative σ vs ϵ curves for the LDPE and the LDPE/R2. It is possible to appreciate a considerable change in the shape of the tensile curves respect to the LDPE/R1. In first instance, the strength at break is notorious higher with a hardening-like behaviour. The most notorious is the reduction on ductility that the LDPE/R2 present in comparison with the LDPE/R1 blends.

The LDPE/R2 extrudates (**Figure 2b**) showed similar heterogeneities than the LDPE/R1 blends at the outside of the extruder. The heterogeneities were more evident by increasing the content of R, promoting the interruption of the extrusion line.

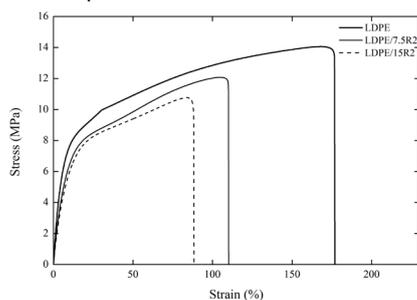


Figure 6. Stress – strain curves of the virgin LDPE and LDPE/R2 blends.

Figure 5c shows representative pictures of the failure surfaces from the broken LDPE/R2 specimens. As can be seen, the second extrusion process does not seem to modify the size of the unmelted waste particles.

During the tensile tests, the LDPE/R2 specimens showed fairly similar failure mechanisms than the LDPE/R1 (**Figure 4c**); hence, the shape of the stress-strain curves was similar as well.

The mechanical properties of the LDPE/R2 are listed in **Table 1**, and it is easy to appreciate that the Young's modulus shows a dramatic reduction respect to the virgin LDPE and LDPE/R1 blends, which was attributed to the thermo-mechanical degradation causing chain scission^{17,18}.

An unexpected result was obtained in the tensile stress of the LDPE/R2 blends, which does not exhibit significant changes with respect to their corresponding LDPE/R1 blends. The previous could be attributed to the not-melted and larger waste particles can be composed of not only LDPE but also PVC and rubbers, where the recycled LDPE should be interacting with the virgin LDPE because of the affinity between each other, acting more like composite materials than blends.

The elongation at break of the LDPE/R2 blends decreases by increasing the content of R, showing similar tendencies to that observed by the LDPE/R1 blends. However, the most notorious changes on ductility were observed in the LDPE/15R2 by decreasing close to 35% with respect to the LDPE/15R1 and up to 53% in reference to the virgin LDPE. The combination of thermal degradation and the presence of unmelted particles of diverse sizes led to the dramatic reduction in the ductility shown by the LDPE/R2 blends⁸ by gel permeation chromatography (GPC).

Mechanical properties: Effect of the sieved waste particles

In order to obtain homogeneous particle size distribution, portions of R were selected by using nest sieves with opening mesh of 1.68 and 0.59 mm. R was put on the sieves and shaken by hand in order to select smaller particles than 2 mm and eliminate dust. The collecting of residual particles that remained between the sieves was labelled as R*. These homogeneous particles were dried at the same conditions indicated in the section 3.3 and mixed with virgin LDPE in the single-extruder in order to prepare LDPE/R* blends with concentrations of 5, 7.5, 15, 25 and 35 wt. % of R*. The parameters during the extrusion process and conditioning were the same as presented in section 3.3.

During the extrusion process, large and homogeneous extruded filaments of LDPE/R* blends were possible to extrude without interruptions, even with the blend having 35 wt.% of R*, which means the sieved waste particles do not hinder the extrusion of the LDPE/R*, as presented in **Figure 2c**. In this manner, the extruded filaments were water-cooled and pelletized continuously through the extrusion line.

Figure 6 shows the engineering stress – strain curves developed for the virgin LDPE and the LDPE/R* blends during the uniaxial tensile tests.

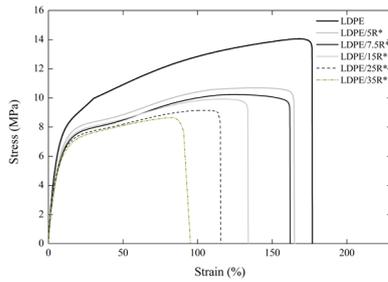


Figure 6. Stress – strain curves of the virgin LDPE and LDPE/R* blends.

The shape of the stress – strain curves of the LDPE/R* blends did not show relevant differences with respect to the corresponding curves developed by the LDPE/R1 blends.

The LDPE/R* specimens showed a diffuse necking during the tensile tests similar to the LDPE/R1 and LDPE/R2 blends, without any other traces of plastic deformation mechanism, as compared in **Figure 4d**. As expected, higher contents of R* represented lower areas under the stress – strain curves, that resulted in lower mechanical performance of the sieved blends. **Table 2** summarises the mechanical properties of the LDPE/R* blends obtained through the tensile curves. Notoriously, the Young’s modulus was not so affected by the addition of R*, since the reduction in stiffness of the LDPE/R* was only up to 18% lower than the virgin LDPE. This result contrasts to those obtained for the LDPE/R1 and LDPE/R2 blends, and it could be associated to the sieved particles are mainly composed of recycled LDPE.

Table 2. Mechanical properties of the virgin LDPE and LDPE/R* blends

	Material	E (MPa)	σ_y (MPa)	σ_{max} (MPa)	σ_b (MPa)	ϵ_b (%)
	LDPE	145.20 ± 1.82	8.65 ± 0.32	14.19 ± 0.14	13.92 ± 0.13	173.73 ± 14.93
one-step of extrusion	LDPE/5R*	123.47 ± 1.85	7.72 ± 0.63	10.69 ± 0.18	10.37 ± 0.21	162.17 ± 9.85
	LDPE/7.5R*	121.50 ± 2.18	7.67 ± 0.89	10.23 ± 0.13	9.69 ± 0.87	158.72 ± 13.56
	LDPE/15R*	122.12 ± 2.56	7.30 ± 0.64	9.92 ± 0.16	9.26 ± 0.93	132.92 ± 6.27
	LDPE/25R*	120.22 ± 2.14	7.04 ± 0.97	9.15 ± 0.28	8.80 ± 0.67	125.29 ± 7.26
	LDPE/35R*	120.18 ± 1.89	6.75 ± 0.83	8.65 ± 0.35	8.46 ± 0.48	92.26 ± 4.96

Respect to the R* content into the LDPE/R* blends, the Young’s modulus did not offer relevant variations. However, the stress at yield as well as the tensile and elongation at break decreased continuously by increasing R*. The reduction on ductility was more evident for the LDPE/35R* blend.

The broken surfaces of the LDPE/R* blends are compared in **Figure 5d**. The observations revealed that relatively large particles were not appreciable in comparison with the previous blends (**Figures 5b** and **5c**), even with the highest R* content (25 and 35 wt.%). On the other hand, comparing the broken surfaces of the sieved blends in relation to the R* content, a ductile tearing similar to the observed in the neat LDPE surface was revealed for the LDPE/5R* blend. For this

blend, very small and well-dispersed black points were observed at higher magnifications. By increasing the R* content, different features on the broken surfaces like the less evident ductile tearing, the presence of slightly larger particles and the development of several micro voids were observed.

When comparing the mechanical properties of the LDPE/R* with the rest of the blends (**Figure 7**), it is easy to appreciate that the stiffness of the sieved residual blends are close to the virgin LDPE, in contrast to the LDPE/R1 and LDPE/R2 blends (**Figure 7a**). It is important considering that R could be formed by PVC, synthetic rubbers and LDPE. The portions of non-rigid PVC and rubbers contained into the larger particles R should be promoting the reduction in stiffness. In contrast, the sieved particles are relatively easy to separate by using the gravimetric separation technique; hence R* seems containing basically just recycled LDPE, with high affinity and ready to melt with virgin LDPE, allowing better mixing and more homogeneity than the LDPE/R1 and LDPE/R2 blends, according to the observations performed in **Figure 5**.

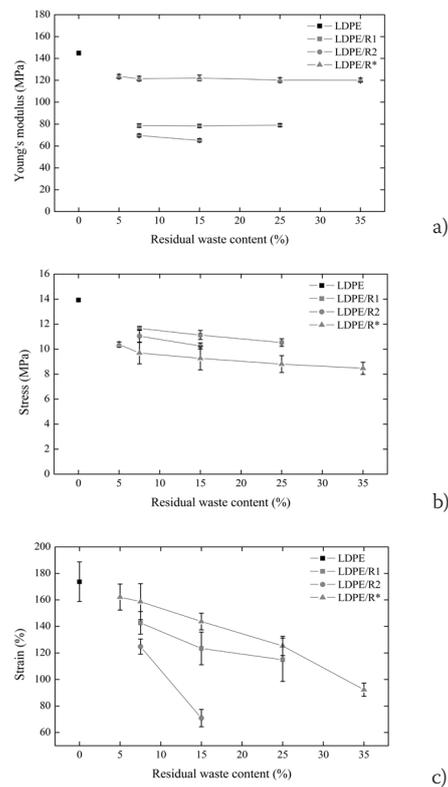


Figure 7. Mechanical properties of the virgin LDPE and the blends: a) Young’s modulus, b) tensile stress and c) strain.

Figure 7b shows that the maximum stress of the LDPE/R* was notoriously lower than the LDPE/R1 and LDPE/R2 blends, which could be attributed to the larger particles are acting as fillers because they contain not only different materials but also portions of recycled LDPE that favour their cohesion with the virgin LDPE.

With respect to the plastic deformation of the blends (**Figure 7c**), it was expected the ductility decreases as

the residual waste content increases. However, the differences in ductility between the LDPE/R* respect to the LDPE/R1 and LDPE/R2 blends are clearly evident. The larger and heterogeneous not-well melted particles should be acting as defects into the LDPE/R1 blends, causing the failure of the specimens. Meanwhile, the second step of single-screw extrusion causes the degradation of the LDPE/R2 blends; hence the combination of polymer degradation and larger not-melted particles promote the suddenly failure of the LDPE/R2 specimens respect to LDPE/R1 and LDPE/R* blends.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the MICINN of Spain for the financing of the MAT201340730-P project.

CONCLUSIONS

Blends of LDPE/electrical cable waste particles were prepared by means of the melt-extrusion process in order to evaluate and compare the mechanical performance respect to the waste particles content.

During the processing of the blends, it was observed the addition of the waste particles promoted the interruption of the extrusion line because of heterogeneities developed by the presence of larger and not-well melted waste particles. In contrast, sieved waste particles allowed the extrusion of homogeneous filaments, irrespectively of the waste content, and avoided the extrusion line to stop.

Larger waste particles are composed by portions of non-rigid PVC, synthetic rubbers and recycled LDPE that promoted the notorious reduction in stiffness of the blends. Nevertheless, the affinity of the recycled LDPE portion with the virgin LDPE favoured the cohesion of the waste particles, which acted as fillers inside the virgin LDPE. The presence of the waste material led to the reduction in ductility, and the re-processing, through a second-step of extrusion process, resulted in the degradation of the blends.

The collected sieved waste particles were composed of recycled LDPE and were well-mixed with the virgin LDPE. Stiffness of the blends was not so affected by the presence of the sieved particles and the reduction on ductility of these blends was not dramatic as compared with the rest of the blends analysed. Strength was lower in the blends with sieved particles because of the absence of larger particles with affinity portions that reinforced virgin LDPE.

REFERENCES

1. Manufacturers, A. of plastic. *Plastics-The facts*; Brussels, 2015.
2. Hopewell, J.; Dvorak, R.; Kosior, E. Plastics recycling: challenges and opportunities.
3. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **2009**, *364* (1526), 2115–2126.

- Achilias, D. S.; Roupakias, C.; Megalokonomos, P.; Lappas, A. Recycling techniques of polyolefins from plastic wastes. *Glob. NEST J.* **2008**, *10* (1), 114–122.
4. Achilias, D. S.; Roupakias, C.; Megalokonomos, P.; Lappas, a. a.; Antonakou, V. Chemical recycling of plastic wastes made from polyethylene (LDPE and HDPE) and polypropylene (PP). *J. Hazard. Mater.* **2007**, *149* (3), 536–542.
5. Andrade, F. A.; Al-Qureshi, H. A.; Hotza, D. Measuring the plasticity of clays: A review. *Appl. Clay Sci.* **2011**, *51* (1-2), 1–7.
6. Goto, M. Chemical recycling of plastics using sub- and supercritical fluids. *J. Supercrit. Fluids* **2009**, *47* (3), 500–507.
7. Gao, F. *Handbook of plastics recycling*; F La Mantia, Ed.; John Wiley & Sons, Ltd., 2004; Vol. 53.
8. Jin, H.; Gonzalez-Gutierrez, J.; Oblak, P.; Zupančič, B.; Emri, I. The effect of extensive mechanical recycling on the properties of low density polyethylene. *Polym. Degrad. Stab.* **2012**, *97* (11), 2262–2272.
9. Kalfoglou, N. K.; Chaffey, C. E. Effects of extrusion on the structure and properties of high-impact polystyrene. *Polym. Eng. Sci.* **1979**, *19* (8), 552–557.
10. Liu, X.; Bertilsson, H. Recycling of ABS and ABS/PC Blends. *J Appl Polym Sci* **1999**, *74*, 510–515.
11. Merrington, A. Recycling of Plastics. In *Applied Plastics Engineering Handbook*; Kutz, M., Ed.; William Andrew Publishing, 2011; pp 177–192.
12. Sánchez, C.; Hortal, M.; Aliaga, C.; Devis, A.; Cloquell-Ballester, V. A. Recyclability assessment of nano-reinforced plastic packaging. *Waste Manag.* **2014**, *34* (12), 2647–2655.
13. Qin, L.; Ding, Y.-M.; Zhu, G.-C.; Yu, H.-C.; Yang, W.-M. Heat Flow Analysis and Efficiency Optimization of Rotational Molding Equipment for Large Plastic Products. *Int. Polym. Process.* **2015**, *30* (2), 194–201.
14. Navarro, R.; Ferrándiz, S.; López, J.; Seguí, V. J. The influence of polyethylene in the mechanical recycling of polyethylene terephthalate. *J. Mater. Process. Technol.* **2008**, *195* (1-3), 110–116.
15. Shen, L. *Plastic recycling*; Elsevier, 2014.
16. Leyva-Porras, C.; Esneider-Alcalá, M. A.; Toxqui-Terán, A.; Márquez-Lucero, A.; Aguilar-Martínez, J. A. Effect of Molding Parameters on Young's Modulus of an Injection Molded Low-Density Polyethylene (LDPE). *Ind. Eng. Chem. Res.* **2013**, *52* (16), 5666–5671.
17. Martín-Alfonso, J. E.; Franco, J. M. Influence of polymer reprocessing cycles on the microstructure and rheological behavior of polypropylene/mineral oil oleogels. *Polym. Test.* **2015**, *45*, 12–19.
18. Kulshreshtha, A. K.; Vasile, C. *Handbook of Polymer Blends and Composites*, 3rd ed.; Anand K. Kulshreshtha, C. V., Ed.; Handbook of Polymer Blends and Composites; Rapra Technology, 2003.

GENERAL INFORMATION

COURSES, CONGRESSES, SYMPOSIUMS

ADHESIVES

EUROCOAT 2018
MARCH 27-29, PARIS EXPO PORTE DE VER-
SAILLES, FRANCE

International Exhibition and Congress for the paint, printing ink, varnish, glue and adhesive industries.

In conjunction with the Exhibition, the International Scientific Congress will provide a privileged forum of exchanges between academics and industrials in the field of research, development and production. This major event for the paints, varnishes, inks, glues and adhesives is organized by the French Association AFTPVA. During 3 days, the EUROCOAT Congress will review latest innovations and evolutions in the technologies rallying producers, suppliers and end-use customers.

More information:

<http://www.eurocoat-expo.com/>

CHEMISTRY

EXPOQUIMIA 2017
THE INTERNATIONAL CHEMISTRY EVENT
OCTOBER 2-6, 2017, GRAN VIA EXHIBITION
CENTRE, AVINGUDA DE JOAN CARLES I,
L'HOSPITALET DE LLOBREGAT, BARCELONA

The show presents the latest innovations in the field of applied chemistry.

Expoquimia will showcase all the potential of the chemical sector with Smart Chemistry Smart Future.

The eighteenth edition of Expoquimia, the International Chemistry Event organised by Fira de Barcelona, will showcase the Spanish chemical sector with the corporate project Smart Chemistry Smart Future, which will highlight the many contributions that chemicals have made to our socioeconomic development. Halls 2 and 3 at the Gran Via exhibition centre will bring together the leading companies in the Spanish chemicals sector, showcasing the latest innovations in their production processes and their tremendous innovative potential as an industry that

offers solutions aimed at improving the lives of individuals in particular and society in general.

WORLD CONGRESS OF CHEMICAL EN-
GINEERING

OCTOBER 1-5, 2017, GRAN VIA EXHIBITION
CENTRE, AVINGUDA DE JOAN CARLES I,
L'HOSPITALET DE LLOBREGAT, BARCELONA

The 18th Expoquimia, Fira de Barcelona's International Chemistry Show, which will held from the 2nd to the 6th of October 2017, will host the tenth **World Congress of Chemical Engineering**. With the theme "**Chemical Engineering in a global world: a tool for cooperation and development**".

The congress will cover a wide range of topics from the development of new products and processes, the management of resources and health to energy and bioengineering. This event is held every four years.

More information:

<http://www.expoquimia.com/en/home> and <http://www.wcce10.org/>

ENVIRONMENT

IFAT 2018
MAY 14-18, 2018, MESSE MÜNCHEN, MUNICH,
GERMANY

World's Leading Trade Fair for Water, Sewage, Waste and Raw Materials Management.

The latest facts and figures from IFAT resources, innovations, solutions. The World's Leading Trade Fair for Environmental Technologies boasts a high international presence and an impressive number of exhibitors and visitors. A fixed date in the diaries for businesses in the water, sewage, waste and raw materials industry, IFAT provides you with everything you need to make your trade fair appearance a success.

More information:

<http://www.ifat.de/index-2.html>

TECHNOLOGY

NANO TECH 2018 FEBRUARY 14-18, 2018, TOKYO BIG SIGHT, EAST HALLS 4-6 & CONFERENCE TOWER

International Nanotechnology Exhibition and Conference. Provide your technology solutions for the world's industry needs

Nano tech's audience comprises talented individuals from a variety of industries: organic materials, electric / magnetic / metal / inorganic materials, medicine, cosmetics, precision instruments / machinery, semiconductors, electronics, automotive, environment /energy, and more.

More information:

<http://www.nanotechexpo.jp/index.html>

TECHNICAL NEWS

ROTARY JOINTS SERIES 7950 FOR EXTRUDER CONSTRUCTION

The slender rotary joints from the HAAG + ZEISSLER 7900 series have proven themselves over a period of many years. At the request of our customers with the 7950 series a compact rotary joint has now been designed especially for cramped mounting spaces in extruder construction.

Extruders are screw presses that homogenise solid to viscous masses under high pressure and high temperature and press them out of a specially shaped opening. Apart from the food industry, the main sales market for extruders is the plastics industry. For example: pipes, profiles, bottles and much more can be manufactured from plastic by means of extrusion. The plastic granulate or powder is melted by means of heating in the screw cylinder; so called plasticized. In order for the plasticized plastic to solidify again after moulding, it must be cooled. This can take place by means of cooling channels integrated in the extruder cylinder, through which a cooling medium flows – for example water under pressure. The cooling medium is fed in through a rotary joint, through which the medium flows into the rotating cylinder.

In extruder construction the rotary joints are normally integrated in cramped installation situations.

For that reason slender and compact sizes are called for.

On the basis of the proven sealing system of its 7900 series, HAAG + ZEISSLER has now developed a compact rotary joint, taking into account economic aspects. In its robust, vibration-proof sealing cartridge system CD-Cartridge-Design the rotor, bearings and the stationary and rotating sealing parts are combined in a pre-assembled unit.

This quick-change cartridge system can be individually and easily exchanged. In this way the machine downtimes can be minimised.

The housing of this rotary joint is made of anodised aluminium. The weight of the housing has been reduced by 60% through the choice of this material. This minimises the oscillating mass at the shaft end and the service life of the rotary joint is prolonged.

HAAG + ZEISSLER consistently manufactures the 7950 series only in Germany. The rotary joints - made in Germany - are developed in the factory in Hanau with the goal of individually optimising the product for the complex requirements of the machine user.

More information:

<http://www.haag-zeissler.com>

NEWS ENTERPRISES

SASOL BEGINS CONSTRUCTION OF NEW ALKOXYLATION PLANT IN NANJING, CHINA

South Africa-based chemicals and energy company Sasol has started construction of its new alkoxylation plant in Nanjing, Jiangsu Province, China.

The upcoming unit will modernise and expand Sasol's current alkoxylation capacity, research and development facility and technical support capability in Nanjing.

In addition, the new facility is expected to strengthen Sasol's position in China, while allowing the company to meet growing demand for specialty chemicals.

Scope of work under the project will include the construction of an alkoxylation plant with a capacity of around 150 kilo tonnes per annum (ktpa), using either branched or linear alcohols to meet customer requirements in applications.

The applications include detergent, personal care, textiles and leather, metal working and lubrication, paper inks and coatings and the oil and gas recovery.

To be located at the Nanjing Chemical Industrial Park (NCIP), the new site covers 35 acres and expands the existing footprint of the company. The company noted that the plant is scheduled to be fully operational in early 2019.

More information:

<http://www.sasol.com/>

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

AFINIDAD accepts review articles, original papers (experimental reports as well as theoretical studies) and short communications on all aspects of chemical engineering, process engineering, chemistry and biotechnology.

TYPES OF PAPER

1. Full Papers should include a summary of 100-200 words and 3-6 keywords.
They should be divided into sections: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Acknowledgements and References. The Results and Discussion sections can be merged if needed.
Full papers should normally not exceed 5000 words, excluding tables, figures and references. Each manuscript should have a maximum of 10 original (figures and tables). Figures, tables and schemes should be presented in numeric order.
2. Review Papers and articles of general interest related to chemistry are written and presented by scientists invited by the Editorial Board. The length of these articles will depend on the subject.
3. Short Communications should provide a concise statement of a preliminary report or significant research contribution. They should include a summary of not more than 50 words and 3-6 keywords.
They should be divided into: Brief Experimental Method Description, Results, Acknowledgements and References.
Short Communications should normally not exceed 2500 words excluding tables, figures captions and references. They should contain no more than 2 figures or tables. They will have publication priority.
4. Letters to the Editor should either be on a topic of scientific concern or comment on recently published articles. They should not exceed 2 printed pages.

SUBMISSION OF MANUSCRIPT

The original manuscript should be sent to the Editor of AFINIDAD by e-mail: afinidad@aiqs.eu.

Authors will receive, by e-mail, an immediate acknowledgement of receipt. Within 6 months they will be notified of acceptance or rejection after peer evaluation.

Galley proofs will be sent to the author for correspondence (marked on the manuscript with an asterisk) by e-mail. These should be returned within the requested return dates to avoid publication delays.

Offprints will be sent to authors by e-mail in PDF format.

GUIDELINES FOR MANUSCRIPT PREPARATION

Articles must be written in English, Spanish or Catalan, typed in Times New Roman 12 point size, double-spaced throughout on DIN A4 pages, leaving a margin of 2.5 cm on each side. All pages must be numbered. Authors who are less familiar with the English language should seek assistance from proficient colleagues in order to produce manuscripts that are grammatically and linguistically correct.

Title: The title should head the manuscript. Abbreviations and trade names should be avoided.

Authors: Both first names and surnames of the authors should be written entirely, with their address. The author to whom correspondence should be addressed should be indicated with an asterisk (*).

Abstract and keywords: The abstract should summarize the contents of the paper should state the major findings and conclusions of the article. Any of the three official languages can be used. A list of keywords in alphabetical order should be added in order to assist in abstract listing and index production.

Description: The main text should contain the following items in the sequence given:

Introduction: It should describe the importance of the work in relation to the field, remaining problems, working hypothesis and objective of the study.

Materials and Methods: This section should provide sufficient information to enable replications of the work by other investigators.

Results: This section should include all tables, graphs and illustrations necessary to understand the study.

Discussion: It should describe the interpretation of the results in the context of previously published work and the hypotheses of the study.

Conclusion: It should state the importance and relevance of the work done.

Acknowledgements: Acknowledgements of financial support, advice or other kinds of assistance should be indicated at the end of the paper. They should be kept to a minimum.

References: References should be listed, in the order in which they are cited in the text, at the end of the article. They should be referred into the text between square brackets [number]. Abbreviations should conform to the CAS Source Index (CAS-SI). Papers that are unpublished but have been accepted by a journal may be cited with the journal's name followed by "in press". In all other cases the references must indicate he was made to "unpublished work" or "personal communication".

Units, nomenclature, formulae, graphs and mathematical equations: The use of the Système International d'Unités (SI) is recommended. IUPAC standards should be observed. Known and accepted scientific abbreviations may be used. Special abbreviations should be defined when first mentioned. Equations, formulae and graphs may be marked with Arabic numerals in parentheses.

Figures and tables: Figures and tables should have legends or footnotes. Figure files should be sent separately in 300 ppi resolution. The numbers and letters should be legible after the reduction.

AUTHOR'S RIGHTS

AFINIDAD will undertake that the author indicated in the article holds the intellectual property rights concerning the article sent to be published in AFINIDAD, except when the author indicates the opposite in writing. AFINIDAD holds the rights or authorization to disseminate figures, tables, plots and other materials complementing the text, and uses them according to the right of citation. In this later case, the source will be indicated at the bottom of each cited text, image, table or plot.

In a work submission, the author yields to AFINIDAD the rights of reproduction and distribution either in electronic or paper form of the published paper. This transfer of rights is not affected by territorial limits and is exclusive for one year period after publication of the concerned AFINIDAD issue.

After this term the author will be able to freely dispose of his text. On its side, AFINIDAD will be able to disseminate the work in electronic form. Likewise, AFINIDAD keeps the right to disseminate the article in monographic or special issues of AFINIDAD or other related editorial products (in printed or electronic edition). In relation to this later use, AFINIDAD will offer the authors the opportunity to review or update their article.

Dissemination and accessibility of the work through the Internet will be made from the webpage of RACO (Catalan Journals in Open Access, www.raco.cat/afinidad), a cooperative repository of Catalan scientific journals. To foster the diffusion of its contents, AFINIDAD will be able to make use of its own repository or those managed by institutions or publishing companies specialized in the provision of publishing services and in the diffusion of scientific magazines. With this aim, abstracts and published articles can be included in databases of private or public organisms with which AIQS has standing agreements.

AFINIDAD will appreciate that in second publication or dissemination of any article, a reference to the first publication in AFINIDAD is made, including the reference of the www.aiqs.eu address.

