

Afinidad

REVISTA DE QUÍMICA TEÓRICA Y APLICADA

SECCIONES

Legislación	168
Artículos Generales	172
Información General	239
Novedades Técnicas	243
Noticias de Empresas	244

Nº 567



ASOCIACIÓN DE QUÍMICOS E INGENIEROS
DEL INSTITUTO QUÍMICO DE SARRIÁ

ÍNDICE DE ANUNCIANTES

MONGAY, S.A. I.P.



® **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
Telf. 93 337 06 43 Fax. 93 337 29 23
www.mongay.net
mongay@mongay.net

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

Son un ejemplo de marcas registradas de prestigio internacional



AFINIDAD

REVISTA DE QUIMICA TEORICA Y APLICADA
EDITADA POR
LA ASOCIACION DE QUIMICOS E INGENIEROS
DEL INSTITUTO QUIMICO DE SARRIA

Vía Augusta, 390
Tel. 93 267 20 12 - Fax 93 280 42 76
e-mail: afin@iqs.ur.es - <http://www.aiqs.es>
08017 Barcelona

INSTITUTO QUIMICO DE SARRIA

SERVICIO DE DOCUMENTACION

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

- *BUSQUEDAS BIBLIOGRAFICAS RETROSPECTIVAS*
- *DIFUSION SELECTIVA DE LA INFORMACION*
- *SINTESIS BIBLIOGRAFICAS*
- *SUMINISTROS DE DOCUMENTOS ORIGINALES*

AFINIDAD

REVISTA DE QUÍMICA TEÓRICA Y APLICADA
EDITADA POR
LA ASOCIACIÓN DE QUÍMICOS E INGENIEROS
DEL INSTITUTO QUÍMICO DE SARRIÀ

EDITA

Asociación de Químicos e Ingenieros
del Instituto Químico de Sarrià
N.I.F. G-08392128
© Asociación de Químicos e Ingenieros
del Instituto Químico de Sarrià, 2014

DIRECTOR

Jaume Árboles Muntadas

DIRECTOR ADJUNTO

Rafael Queralt Teixidó, S.I.

CONSEJO DIRECTIVO

José M^a Castelló Mestanza
Jaume Árboles Muntadas

COMITÉ DE REDACCIÓN

Antoni Ginebreda Martí
Joan Grimalt Obrador
Laia Ros Blanco
Jordi Teixidó Closa

REDACCIÓN, ADMINISTRACIÓN

Y PUBLICIDAD

Vía Augusta, 390
08017 Barcelona
Tel. 93 267 20 12
Fax 93 280 42 76
afin@iqs.es
http://www.aiqs.eu

ISSN versión electrónica 2339-9686

Título clave: Afinidad

Título abreviado: Afinidad

PERIODICIDAD

4 números año

DISEÑO E IMPRESIÓN

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

SUMARIO

Legislación Española y Comunitaria, publicada en el B.O.E. y en el D.O.U.E. de Marzo a Junio de 2014, D.B.

Sánchez de Rojas 168-171

Sistemas de dos componentes de Mycobacterium tuberculosis como objetivos potenciales para el desarrollo de fármacos, Marta Marszalek, Antoni Planas y Teresa Pellicer

172-178

Determinación de las relaciones isotópicas de uranio (U-235/-U238) para la caracterización de ósmosis inversa en comparación con el tratamiento de agua de consumo convencional con el fin de determinar el origen de una fuga de agua, Alfredo Díaz, Ricard Devesa y Jordi Martín-Alonso

179-184

Viabilidad del reaprovechamiento de residuos de PVC provenientes de cables eléctricos: propiedades mecánicas, E. Franco-Urquiza y M.L.I. MasPOCH

185-191

Estudio de viabilidad económica de la implantación de bioceldas en una planta de tratamiento de aguas residuales, Justo Lobato, P. Cañizares, M.A. Rodrigo, Laura Horcajada, F.J. Fernández, Araceli González del Campo y Juan R. Trapero

192-201

Conversión de hexosas y pentosas en furanos empleando un líquido iónico, Susana Peleteiro, Gil Garrote, Valentín Santos y Juan Carlos Parajó

202-206

Estudio cinético de la adsorción de Ni²⁺ desde solución acuosa sobre carbones activados obtenidos de residuos de tuza de maíz (Zea mays), Rafael A. Fonseca, Liliana Giraldo y Juan Carlos Moreno-Piraján

207-213

Efecto de viscosidad en la porosidad de materiales granulares en procesos de lavado en lecho móvil, Lizet Rodríguez-Machín, Bernhard Hoffner, Werner Stahl, Raúl Alberto Pérez-Bermúdez, Luis Gómez-Rodríguez y Luis Ernesto Arteaga-Pérez

214-218

Las técnicas de aprendizaje automático en la predicción de estructura de proteínas: un enfoque desde la bioinformática , Cosme E. Santiesteban-Toca, Gerardo M. Casañola-Martin y Jesús S. Aguilar-Ruiz	219-227	Un nuevo procedimiento mejorado para la síntesis del fármaco antihipertensivo irbesartán , Jugalkishor Pandya, Jitendra Verdia y Narendra Joshi	234-238
Síntesis y caracterización de un material criogénico a partir de quitosano y celulosa , Rafael García-González, Rosa Elvira Zavala-Arce, Pedro Ávila-Pérez, Beatriz García-Gaitán, José Luz González-Chávez, Claudia Muro-Urista y Gabriel Luna-Bárceñas	228-233	Información General	239-242
		Novedades Técnicas	243
		Novedades de Empresa	244

SUMMARY

Spanish and EU Law published at B.O.E. and D.O.U.E. from March to June 2014 , D.B. Sánchez de Rojas	168-171	Kinetic study of the adsorption of Ni²⁺ from aqueous solution on activated carbons derived from corn residues tuza (Zea mays) , Rafael A. Fonseca, Liliana Giraldo and Juan Carlos Moreno-Piraján	207-213
Two-Component Systems of Mycobacterium tuberculosis as potential targets for drug development , Marta Marszałek, Antoni Planas and Teresa Pellicer	172-178	Effect of viscosity in the porosity of granular materials in the moving bed washing process , Lizet Rodríguez-Machín, Bernhard Hoffner, Werner Stahl, Raúl Alberto Pérez-Bermúdez, Luis Gómez-Rodríguez and Luis Ernesto Arteaga-Pérez	214-218
Determination of isotopic ratios of uranium (U-235/-U238) for the characterization of reverse osmosis compared with conventional tap water treatment in order to determine the source of a water leak , Alfredo Diaz, Ricard Devesa and Jordi Martin-Alonso	179-184	The machine learning techniques in the protein structure prediction: an approach from bioinformatics , Cosme E. Santiesteban-Toca, Gerardo M. Casañola-Martin and Jesús S. Aguilar-Ruiz	219-227
Feasibility of reusing waste PVC from electric cables: mechanical properties , E. Franco-Urquiza and M.L.I. MasPOCH	185-191	Synthesis and characterization of a cryogel from chitosan and cellulose , Rafael García-González, Rosa Elvira Zavala-Arce, Pedro Ávila-Pérez, Beatriz García-Gaitán, José Luz González-Chávez, Claudia Muro-Urista and Gabriel Luna-Bárceñas	228-233
Economic assessment of microbial fuel cells for wastewater treatment and energy production. A juice industry case study , Justo Lobato, P. Cañizares, M.A. Rodrigo, Laura Horcajada, F.J. Fernández, Araceli González del Campo and Juan R. Trapero	192-201	An improved novel process for the synthesis of anti-hypertensive drug, Irbesartan , Jugalkishor Pandya, Jitendra Verdia and Narendra Joshi	234-238
Conversion of hexoses and pentoses into furans in an ionic liquid , Susana Peleteiro, Gil Garrote, Valentín Santos and Juan Carlos Parajó	202-206	General Information	239-242
		New Techniques	243
		News Enterprises	244

SUMARI

Legislació Espanyola i Comunitària, publicada al B.O.E. i D.O.U.E. de Març a Juny 2014 , D.B. Sánchez de Rojas	168-171	Viabilitat del reaprofitament de residus de PVC provinents de cables elèctrics: propietats mecàniques , E. Franco-Urquiza i M.L.I. MasPOCH	185-191
Sistemas de dos componentes de Mycobacterium tuberculosis com objectius potencials pel desenvolupament de fàrmacs , Marta Marszałek, Antoni Planas i Teresa Pellicer	172-178	Estudi de viabilitat econòmica de la implantació de biocel·les en una planta de tractament d'aigües residuals , Justo Lobato, P. Cañizares, M.A. Rodrigo, Laura Horcajada, F.J. Fernández, Araceli González del Campo i Juan R. Trapero	192-201
Determinació de les relacions isotòpiques d'urani (U-235/-U238) per a la caracterització d'osmosi inversa en comparació amb el tractament d'aigua de consum convencional per tal de determinar l'origen d'una fuga d'aigua , Alfredo Diaz, Ricard Devesa i Jordi Martin-Alonso	179-184	Conversió de hexoses i pentoses en furans emprant un líquid iònic , Susana Peleteiro, Gil Garrote, Valentín Santos i Juan Carlos Parajó	202-206

Estudi cinètic de l'adsorció de Ni²⁺ en solució aquosa sobre carbons activats obtinguts de residus de tuza de blat de moro (<i>Zea mays</i>), Rafael A. Fonseca, Liliana Giraldo i Juan Carlos Moreno-Piraján	207-213	Síntesi i caracterització d'un material criogènic a partir de quitosan i cel·lulosa, Rafael García-González, Rosa Elvira Zavala-Arce, Pedro Ávila-Pérez, Beatriz García-Gaitán, José Luz González-Chávez, Claudia Muro-Urista i Gabriel Luna-Bárcenas	228-233
Efecte de viscositat en la porositat de materials granulats en processos de rentat en llit mòbil, Lizet Rodríguez-Machín, Bernhard Hoffner, Werner Stahl, Raúl Alberto Pérez-Bermúdez, Luis Gómez-Rodríguez i Luis Ernesto Arteaga-Pérez	214-218	Nou procediment millorat per a la síntesi del fàrmac antihipertensiu Irbesartán, Jugalkishor Pandya, Jitendra Verdia i Narendra Joshi	234-238
Les tècniques d'aprenentatge automàtic en la predicció d'estructura de proteïnes: un enfoc des de la bioinformàtica, Cosme E. Santiesteban-Toca, Gerardo M. Casañola-Martin i Jesús S. Aguilar-Ruiz	219-227	Informació general	239-242
		Novetats tècniques	243
		Notícies d'empresa	244

Legislación Española y Comunitaria, publicada en el B.O.E. y en el D.O.U.E. de Marzo a Junio de 2014

D.B. Sánchez de Rojas
Ingeniero Forestal

Spanish and EU Law published at B.O.E. and D.O.U.E. from March to June 2014

Legislació Espanyola i Comunitària, publicada al B.O.E. i D.O.U.E. de Març a Juny 2014

ADITIVOS

DOUE Nº 145 de 15/05/14 p. 6-13

Reglamento (UE) nº 497/2014 de la Comisión, de 14 de mayo de 2014, por el que se modifican el anexo II del Reglamento (CE) nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo y el anexo del Reglamento (UE) nº 231/2012 de la Comisión por lo que se refiere al uso de Advantame como edulcorante

DOUE Nº 166 de 05/06/14 p. 11-21

Reglamento (UE) nº 601/2014 de la Comisión, de 4 de junio de 2014, por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a las categorías de carnes y a la utilización de aditivos alimentarios en preparados de carne.

DOUE Nº 145 de 16/05/14 p. 32-34

Reglamento (UE) nº 505/2014 de la Comisión, de 15 de mayo de 2014, por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo al uso de los colorantes de caramelo (E 150a-d) en la cerveza y las bebidas a base de malta.

DOUE Nº 145 de 16/05/14 p. 35-37

Reglamento (UE) nº 506/2014 de la Comisión, de 15 de mayo de 2014, por el que se modifican el anexo II del Reglamento (CE) nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo y el anexo del Reglamento (UE) nº 231/2012 de la Comisión por lo que se refiere al uso del etil lauroil arginato como conservante en determinados productos cárnicos tratados térmicamente.

DOUE Nº 182 de 21/06/14 p. 23-26

Reglamento (UE) nº 685/2014 de la Comisión, de 20 de junio de 2014, por el que se modifican el anexo II del Reglamento (CE) nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo y el anexo del Reglamento (UE) nº 231/2012 de la Comisión por lo que se refiere al uso de copolímero de injerto de glicol de polietileno de alcohol polivinílico en complementos alimenticios sólidos

ALIMENTACION

DOUE L-104 de 08/04/14 p. 80-81

Recomendación de la Comisión, de 4 de abril de 2014, sobre la reducción de la presencia de cadmio en los productos alimenticios

DOUE L-107 de 10/04/14 p. 56

Reglamento (UE) nº 362/2014 de la Comisión, de 9 de abril de 2014, que corrige la versión en lengua española del Reglamento (CE) nº 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.

DOUE Nº 138 de 13/05/14 p. 75-79

Reglamento (UE) nº 488/2014 de la Comisión, de 12 de mayo de 2014, que modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de cadmio en los productos alimenticios

DOUE Nº 164 de 03/06/14 p. 1-5

Directiva 2014/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de mayo de 2014, por la que se modifica la Directiva 2001/110/CE relativa a la miel

ALIMENTACIÓN ANIMAL

DOUE Nº 119 de 23/04/14 p. 40-43

Reglamento de Ejecución (UE) nº 399/2014 de la Comisión, de 22 de abril de 2014, relativo a la autorización de los preparados de *Lactobacillus brevis* DSM 23231, *Lactobacillus brevis* DSMZ 16680, *Lactobacillus plantarum* CECT 4528 y *Lactobacillus fermentum* NCIMB 30169 como aditivos en los piensos para todas las especies animales.

DOUE Nº 179 de 19/06/14 p. 62-65

Reglamento de Ejecución (UE) nº 669/2014 de la Comisión, de 18 de junio de 2014, relativo a la autorización del D-pantotenato cálcico y del D-pantenol como aditivos en piensos para todas las especies animales.

DOUE Nº 164 de 03/06/14 p. 18-40

Reglamento (UE) nº 589/2014 de la Comisión, de 2 de junio de 2014, por el que se establecen métodos de muestreo y de análisis para el control de los niveles de dioxinas,

PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas en determinados productos alimenticios y por el que se deroga el Reglamento (UE) n° 252/2012.

DOUE N° 182 de 21/06/14 p. 20-22

Reglamento de Ejecución (UE) n° 684/2014 de la Comisión, de 20 de junio de 2014, relativo a la autorización de la cantaxantina como aditivo en piensos para gallinas reproductoras (titular de la autorización: DSM Nutritional Products Ltd)

DOUE N° 188 de 27/06/14 p. 1-18

Reglamento (UE) n° 709/2014 de la Comisión, de 20 de junio de 2014, por el que se modifica el Reglamento (CE) n° 152/2009 en lo que respecta a la determinación de los contenidos de dioxinas y de bifenilos policlorados

ALIMENTACIÓN HUMANA

BOE n° 147 de 18/06/14 p. 46058-78

Real Decreto 474/2014, de 13 de junio, por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos.

DOUE N° 186 DE 26/06/14 P. 108-111

Decisión de Ejecución de la Comisión, de 24 de junio de 2014, por la que se autoriza la comercialización de levadura de panadería (*Saccharomyces cerevisiae*) tratada con radiación ultravioleta (UV) como nuevo ingrediente alimentario con arreglo al Reglamento (CE) no 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo [notificada con el número C(2014) 4114].

BIOCIDAS

DOUE L-103 de 05/04/14 p. 22-32

Reglamento (UE) n° 334/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 11 de marzo de 2014, por el que se modifica el Reglamento (UE) n° 528/2012, relativo a la comercialización y el uso de los biocidas, en relación con determinadas condiciones de acceso al mercado.

DOUE N° 121 de 24/04/14 p. 8-10

Reglamento de Ejecución (UE) n° 405/2014 de la Comisión, de 23 de abril de 2014, por el que se aprueba el uso de ácido láurico como sustancia activa existente en biocidas del tipo de producto 19.

DOUE N° 121 de 24/04/14 p. 11-13

Reglamento de Ejecución (UE) n° 406/2014 de la Comisión, de 23 de abril de 2014, por el que se aprueba el uso del butilacetilaminopropionato de etilo como sustancia activa existente en biocidas del tipo de producto 19.

DOUE N° 121 de 24/04/14 p. 14-16

Reglamento de Ejecución (UE) n° 407/2014 de la Comisión, de 23 de abril de 2014, por el que se aprueba el uso de la transflutrina como sustancia activa existente en biocidas del tipo de producto 18.

DOUE N° 121 de 24/04/14 p. 17-19

Reglamento de Ejecución (UE) n° 408/2014 de la Comisión, de 23 de abril de 2014, por el que se aprueba el uso del dióxido de silicio amorfo sintético como sustancia activa existente en biocidas del tipo de producto 18.

DOUE N° 128 de 30/04/14 p. 64-67

Reglamento de Ejecución (UE) n° 437/2014 de la Comisión, de 29 de abril de 2014, por el que se aprueba el uso de la 4,5-dicloro-2-octil-2*H*-isotiazol-3-ona como sustancia activa existente en biocidas del tipo de producto 21.

DOUE N° 128 de 30/04/14 p. 68-72

Reglamento de Ejecución (UE) no 438/2014 de la Comisión, de 29 de abril de 2014, por el que se aprueba el uso del ciproconazol como sustancia activa existente en biocidas del tipo de producto 8.

DOUE N° 186 DE 26/06/14 P. 103-105

Decisión de la Comisión, de 24 de junio de 2014, relativa a la comercialización para usos esenciales de biocidas que contengan cobre.

DOUE N° 186 DE 26/06/14 P. 111-112

Decisión de Ejecución de la Comisión, de 25 de junio de 2014, por la que se retrasa la fecha de expiración de la aprobación de la difetialona y del difenácum para su uso en biocidas del tipo de producto 14.

DOUE N° 188 de 27/06/14 p. 85-87

Decisión de Ejecución de la Comisión, de 25 de junio de 2014, relativa a las limitaciones a las autorizaciones de biocidas que contengan IPBC notificadas por Alemania de conformidad con la Directiva 98/8/CE del Parlamento Europeo y del Consejo [notificada con el número C(2014) 4167]

CALENDARIO DE FIESTAS LOCALES EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE CATALUÑA PARA EL AÑO 2014.

DOGC N° 6632 de 28/05/14

ORDEN EMO/160/2014, de 16 de mayo, de modificación de la Orden EMO/324/2013, de 16 de diciembre, por la que se establece el calendario de fiestas locales en la Comunidad Autónoma de Cataluña para el año 2014.

CALENDARIO OFICIAL DE FIESTAS LABORALES PARA EL AÑO 2015

DOGC n° 6613 de 30/04/14

ORDEN EMO/133/2014, de 14 de abril, por la que se establece el calendario oficial de fiestas laborales para año 2015.

CALIDAD DE LOS PRODUCTOS AGRÍCOLAS Y ALIMENTICIOS

DOUE N° 179 de 19/06/14 p. 36-61

Reglamento de Ejecución (UE) n° 668/2014 de la Comisión, de 13 de junio de 2014, que establece las normas de desarrollo del Reglamento (UE) n° 1151/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre los regímenes de calidad de los productos agrícolas y alimenticios.

CLASIFICACIÓN, ETIQUETADO Y ENVASADO

DOUE N° 167 de 06/06/14 p. 36-49

Reglamento (UE) n° 605/2014 de la Comisión, de 5 de junio de 2014, que modifica, a efectos de la inclusión de indicaciones de peligro y consejos de prudencia en lengua croata y su adaptación al progreso técnico y científico, el Reglamento (CE) n° 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.

DOUE N° 170 de 11/06/14 p. 67

Corrección de errores del Reglamento (CE) n° 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas, y por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) n° 1907/2006 (DO L 353 de 31.12.2008).

ETIQUETA ECOLÓGICA

DOUE N° 164 de 03/06/14 p. 74-82

DECISIÓN DE LA COMISIÓN de 28 de mayo de 2014 por la que se modifican las Decisiones 2011/263/UE, 2011/264/UE, 2011/382/UE, 2011/383/UE, 2012/720/UE y 2012/721/UE a fin de tener en cuenta la evolución de la clasificación de las sustancias.

ETIQUETADO Y PROTECCIÓN DE LA INDICACIÓN GEOGRÁFICA DE BEBIDAS ESPIRITUOSAS

DOUE N° 125 de 26/04/14 p. 55-56

Reglamento (UE) n° 426/2014 de la Comisión, de 25 de abril de 2014, que modifica el anexo II del Reglamento (CE) n° 110/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo a la definición, designación, presentación, etiquetado y protección de las indicaciones geográficas de bebidas espirituosas.

LÍMITES MÁXIMOS DE RESIDUOS

DOUE L-112 de 15/04/14 p. 1-34

Reglamento (UE) n° 364/2014 de la Comisión, de 4 de abril de 2014, que modifica los anexos II y III del Reglamento (CE) n° 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a los límites máximos de residuos de fenpiroximato, flubendiamida, isopirazam, cresoxim metilo, espirotetramat y tiacloprid en determinados productos.

DOUE N° 119 de 23/04/14 p. 3-39

Reglamento (UE) n° 398/2014 de la Comisión, de 22 de abril de 2014, que modifica los anexos II y III del Reglamento (CE) n° 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo por lo que respecta a los límites máximos de residuos de bentiavalicarbo, ciazofamida, cihalofop-butilo, forclorfenurón, pimetrozina y siltiofam en determinados productos.

DOUE N° 119 de 23/04/14 p. 44-56

Reglamento de Ejecución (UE) n° 400/2014 de la Comisión, de 22 de abril de 2014, relativo a un programa plurianual coordinado de control de la Unión para 2015, 2016

y 2017 destinado a garantizar el respeto de los límites máximos de residuos de plaguicidas en los alimentos de origen vegetal y animal y a evaluar el grado de exposición de los consumidores a estos residuos.

DOUE N° 124 de 25/04/14 p. 19-21

Reglamento de Ejecución (UE) n° 418/2014 de la Comisión, de 24 de abril de 2014, que modifica, por lo que respecta a la sustancia ivermectina, el anexo del Reglamento (UE) n° 37/2010, relativo a las sustancias farmacológicamente activas y su clasificación por lo que se refiere a los límites máximos de residuos en los productos alimenticios de origen animal.

DOUE N° 126 de 29/04/14 p. 58

Corrección de errores del Reglamento (UE) n° 212/2013 de la Comisión, de 11 de marzo de 2013, por el que se sustituye el anexo I del Reglamento (CE) n° 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que se refiere a las adiciones y las modificaciones con respecto a los productos regulados por dicho anexo (DO L 68 de 12.3.2013).

DOUE N° 146 de 16/05/14 P. 1-91

Reglamento (UE) n° 491/2014 de la Comisión, de 5 de mayo de 2014, que modifica los anexos II y III del Reglamento (CE) n° 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a los límites máximos de residuos de ametocrodina, azoxistrobina, cicloxidim, ciflutrina, dinotefurán, fenbuconazol, fenvalerato, fludioxonil, fluopiram, flutriafol, fluxapiroxad, glufosinato de amonio, imidacloprid, indoxacarb, MCPA, metoxifenoazida, pentiopirad, espinetoram y trifloxistrobina en determinados productos.

DOUE N° 164 de 03/06/14 p. 16-17

Reglamento (UE) n° 588/2014 de la Comisión, de 2 de junio de 2014, por el que se modifican los anexos III y IV del Reglamento (CE) n° 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a los límites máximos de residuos de aceite de naranja, de *Phlebiopsis gigante*, de ácido giberélico, de *Paecilomyces fumosoroseus* cepa FE 9901, de nucleopoliedrovirus de *Spodoptera littoralis*, de virus de la poliedrosis nuclear de la *Spodoptera exigua*, de *Bacillus firmus* I-1582, de ácido S-abscísico, de ácido L-ascórbico y de nucleopoliedrovirus de *Helicoverpa armigera* en el interior o en la superficie de determinados productos.

DOUE N° 171 de 12/06/14 p. 1-40

Reglamento (UE) n° 617/2014 de la Comisión, de 3 de junio de 2014, por el que se modifican los anexos II y III del Reglamento (CE) n° 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo por lo que respecta a los límites máximos de residuos de etoxisulfurón, metsulfurón metilo, nicosulfurón, prosulfurón, rimsulfurón, sulfosulfurón y tifensulfurón metilo en determinados productos.

DOUE N° 186 de 26/06/14 p. 1-48

Reglamento (UE) n° 703/2014 de la Comisión, de 19 de junio de 2014, por el que se modifican los anexos II, III y V del Reglamento (CE) n° 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a los límites máximos de residuos de acibenzolar-S-metilo, etoxiquina, flusilazol, isoxaflutol, molinato, propoxicarbazona, pirafufenilo-etilo, quinoclamina y warfarina en determinados productos.

MODIFICACIÓN NOMENCLATURA ARANCELARIA Y ESTADÍSTICA Y AL ARANCEL ADUANERO COMÚN

DOUE N° 174 de 13/06/14 p. 26-27

Reglamento de Ejecución (UE) n° 626/2014 de la Comisión, de 10 de junio de 2014, por el que se modifica el anexo I del Reglamento (CEE) n° 2658/87 del Consejo relativo a la nomenclatura arancelaria y estadística y al arancel aduanero común.

NORMA DE CALIDAD PARA EL YOGUR O YOGHOURT

BOE n° 112 de 08/05/14 p. 35163

Corrección de erratas del Real Decreto 271/2014, de 11 de abril, por el que se aprueba la Norma de Calidad para el yogur o yoghurt.

NORMAS UNE

BOE n° 116 de 13/05/14 p. 37589-93

Resolución de 9 de abril de 2014, de la Dirección General de Industria y de la

Pequeña y Mediana Empresa, por la que se publica la relación de normas

UNE aprobadas por AENOR durante el mes de marzo de 2014.

PRODUCTOS COSMÉTICOS

DOUE L-107 de 10/04/14 p. 5-9

Reglamento (UE) n° 358/2014 de la Comisión, de 9 de abril de 2014, que modifica los anexos II y V del Reglamento (CE) n° 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre los productos cosméticos.

PRODUCTOS VITÍCOLAS

DOUE L-102 de 05/04/14 p. 9-10

Reglamento de Ejecución (UE) n° 347/2014 de la Comisión, de 4 de abril de 2014, que modifica el Reglamento (CE) n° 606/2009 en lo que atañe al aumento del contenido máximo total de anhídrido sulfuroso cuando las condiciones climáticas lo requieran.

DOUE L-105 de 08/04/14 p. 12

Corrección de errores del Reglamento (UE) n° 251/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 26 de febrero de 2014, sobre la definición, descripción, presentación, etiquetado y protección de las indicaciones geográficas de los productos vitivinícolas aromatizados, y por el que se deroga el Reglamento (CEE) n° 1601/91 del Consejo (DO L 84 de 20.3.2014).

PRODUCTOS FITOSANITARIOS

DOUE L- 156 de 24/05/14 p. 5-15

REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) N° 563/2014 DE LA COMISIÓN de 23 de mayo de 2014 por el que se aprueba la sustancia activa clorhidrato de quitosano con arreglo al

Reglamento (CE) n° 1107/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo a la comercialización de productos fitosanitarios, y se modifica el anexo del Reglamento de Ejecución (UE) n° 540/2011.

DOUE L-157 de 27/05/14 p. 96-103

REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) N° 571/2014 DE LA COMISIÓN

de 26 de mayo de 2014 por el que se aprueba la sustancia activa ipconazol, con arreglo al Reglamento (CE) n° 1107/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo a la comercialización de productos fitosanitarios, y se modifica el anexo del Reglamento de Ejecución (UE) n° 540/2011 de la Comisión.

REACH

DOUE N° 136 de 09/05/14 p. 19-22

Reglamento (UE) n° 474/2014 de la Comisión, de 8 de mayo de 2014, que modifica el anexo XVII del Reglamento (CE) n° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), por lo que respecta al 1,4-diclorobenceno.

SEGURIDAD DE LOS JUGUETES

DOUE N° 182 de 21/06/14 p. 49-51

Directiva 2014/79/UE de la Comisión, de 20 de junio de 2014, por la que se modifica, en lo que respecta al TCEP, el TCPP y el TDCP, el apéndice C del anexo II de la Directiva 2009/48/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, relativa a la seguridad de los juguetes.

DOUE N° 183 de 24/06/14 p. 49-51

Directiva 2014/81/UE de la Comisión, de 23 de junio de 2014, por la que se modifica el apéndice C del anexo II de la Directiva 2009/48/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre la seguridad de los juguetes, en lo que respecta al bisfenol A.

TRANSPORTE DE MERCANCÍAS PELIGROSAS

BOE n° 94 de 18/04/14 p. 31461-3

Acuerdo Multilateral M-268 en aplicación de la sección 1.5.1 del Anexo A del

Acuerdo Europeo sobre transporte internacional de mercancías peligrosas por carretera (ADR), relativo al transporte de embalajes desechados, vacíos, sin limpiar (n.º ONU 3509), hecho en Madrid el 20 de diciembre de 2013.

BOE n° 109 de 05/05/14 p. 34726-8

Resolución de 11 de abril de 2014, de la Dirección General de Ferrocarriles, por la que se convocan exámenes para la obtención y para la renovación de los certificados de consejeros de seguridad para el transporte de mercancías peligrosas por ferrocarril.

Two-Component Systems of *Mycobacterium tuberculosis* as potential targets for drug development

Marta Marszalek^{1,2}, Antoni Planas^{1,*}, Teresa Pellicer^{2,*}

¹Laboratory of Biochemistry, Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull. Via Augusta 390, 08017-Barcelona, Spain; ² R&D Department, Interquim. Joan Buscalla 10, 08173-Sant Cugat del Valles (Barcelona), Spain

Sistemas de dos componentes de Mycobacterium tuberculosis como objetivos potenciales para el desarrollo de fármacos

Sistemes de dos components de Mycobacterium tuberculosis com objectius potencials pel desenvolupament de fàrmacs

Recibido: 5 de mayo de 2014; revisado: 26 de junio de 2014; aceptado: 27 de junio de 2014

RESUMEN

La tuberculosis, infección causada por *Mycobacterium tuberculosis*, es un problema global de salud que causa aproximadamente dos millones de muertes anuales. Además, se estima que un tercio de la población mundial está infectada con la forma latente de este bacilo. Las terapias existentes contra la tuberculosis están dirigidas contra bacterias que se replican activamente, mientras que no hay actualmente ningún tratamiento específico para la infección latente de tuberculosis. Los sistemas de dos componentes (*two-component systems*, TCSs) bacterianos juegan un papel central en la adaptación de las bacterias patógenas al medio ambiente que prevalece en los tejidos del huésped. Los TCSs permiten a los microorganismos detectar y responder a los cambios en diferentes condiciones ambientales, y como tales se consideran posibles dianas terapéuticas para el diseño de nuevos fármacos antimicobacterianos. En esta revisión, se describe el conocimiento actual de los TCS de *Mycobacterium tuberculosis*. Se discute el papel que desempeñan en la patogénesis bacteriana y en la virulencia, destacando el sistema DosS/DosT/DosR por su papel en el desarrollo de la tuberculosis latente.

Palabras clave: Tuberculosis, sistema de dos componentes, dianas terapéuticas, latencia.

SUMMARY

Tuberculosis, caused by *Mycobacterium tuberculosis*, is a global health problem with approximately two million deaths every year. Furthermore, up to one-third of the world population is infected with latent form of this bacterium. Existing anti-tuberculosis therapies are directed against actively replicating bacteria, while there is no particular treatment for latent tuberculosis infection. Bacterial two-component systems (TCSs) are pleiotropic and play a central role in the adaptation of pathogenic bacteria to the environment prevailing within host tissues. TCS allow microorganisms to sense and respond to changes in

many different environmental conditions therefore are considered potential pharmacological targets for the development of novel antimycobacterial drugs.

In this work, we review the current knowledge of the TCSs of *Mycobacterium tuberculosis*. We discuss their role in bacterial pathogenesis and virulence. We pay special attention to the DosS/DosT/DosR TCS, emphasizing its importance in latent tuberculosis development.

Keywords: Tuberculosis, two-component system, drug targets, latency

RESUM

La tuberculosi, infecció causada per *Mycobacterium tuberculosis*, és un problema global de salut que causa aproximadament dos milions de morts anuals. A més un terç de la població mundial està infectada amb la forma latent d'aquest bacil. Les teràpies existents contra la tuberculosi estan dirigides contra els bacteris que es repliquen activament, mentre que no hi ha tractament específic per a la infecció latent. Els sistemes de dos components (*two-component systems*, TCSs) bacterians tenen un paper central en l'adaptació dels bacteris patògens al medi ambient que preval dins dels teixits de l'hoste. Els TCS permeten als microorganismes detectar i respondre als canvis en moltes condicions ambientals diferents, i com a tals es consideren potencials dianes farmacològiques per al disseny de nous fàrmacs antimicobacterians. En aquest treball, es revisa el coneixement actual dels TCSs de *Mycobacterium tuberculosis*. Es discuteix el paper que tenen en la patogènesi bacteriana i virulència, amb particular atenció al TCS DosS/DosT/DosR pel seu paper en el desenvolupament de la tuberculosi latent.

Mots clau: Tuberculosi, sistema de dos components, dianes terapèutiques, latència.

* Corresponding authors: tpellicer@ferrer.com, antoni.planas@iqs.edu

INTRODUCTION

Tuberculosis (TB), the infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*, is currently one of the major health problems worldwide. The World Health Organization (WHO) estimates that one third of world's population is currently infected with *M. tuberculosis* and approximately 10% of these people are expected to develop active TB at some point in their lifetime. The development of multi-drug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis (MDR-, XDR-TB), together with the spread of risk factors such as human immunodeficiency virus (HIV) and diabetes (Corbett *et al.*, 2003; Restrepo *et al.*, 2007), strengthen the necessity to develop new therapeutic interventions against tuberculosis. The current development of new antibiotics is not keeping pace with the rapid evolution of resistance to almost all clinically available drugs so alternative strategies are required to fight against mycobacterial infections. Amongst these new therapeutic interventions, bacterial two-component systems (TCSs), stimulus-response coupling mechanisms that allow bacteria to sense and respond to changes in many different environmental conditions, appear as promising new targets.

TWO-COMPONENT SYSTEMS IN MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Every living organism senses changes in environmental and intracellular signals and responds accordingly to adapt to and survive in these new conditions. For this purpose, bacteria have evolved surface-exposed signal transduction systems, typically comprised of transmembrane proteins that channel the input from sensory modules to intracellular responses. These signaling systems include chemotaxis receptors, serine/threonine protein kinases, and two-component systems.

Bacterial two-component systems (TCSs) are known to respond to a wide variety of environmental conditions, for example starvation, cold/heat shock or the presence of antimicrobial compounds (Aguilar *et al.*, 2001; Jordan *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 1996). These extracellular signals are transduced into the cell predominantly by TCSs, allowing bacteria to adapt to these new conditions (Hoch, 2000; Stock *et al.*, 2000; Mascher *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2007).

TCSs can regulate a wide variety of cellular processes, including motility and chemotaxis, sporulation, biofilm formation and quorum sensing (Jiang *et al.*, 2000; López *et al.*, 2009; Lyon & Novick, 2004; Szurmant & Ordal, 2004). TCSs have also been shown to play a crucial role in bacterial virulence (Hoch & Silhavy, 1995; Atkinson & Ninfa, 1999).

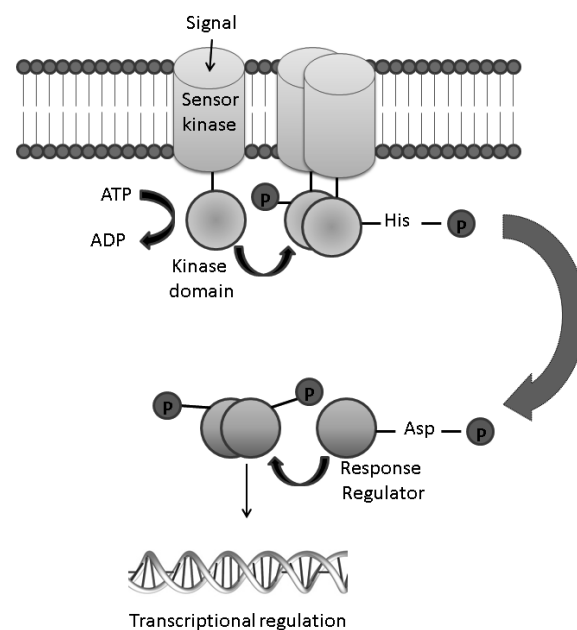


Figure 1. Illustration of TCS signalling pathway.

The prototypical TCS consists of a sensor histidine kinase (HK) that responds to a specific signal by modifying the phosphorylated state of its cognate response regulator (RR) (Figure 1). First, upon the perception of environmental or intracellular signal, HK undergoes conformational changes that result in autophosphorylation (using ATP as the phosphate source) within a single, conserved histidine residue in the carboxyl-terminal region of its receiver domain. Subsequently the phosphoryl group is transferred in a magnesium-dependent manner to an aspartate residue in the amino-terminal region of the partner RR protein. Phosphorylation of a RR induces structural changes of its

Table 1. Complete two-component systems of *M. tuberculosis* (Bretl *et al.*, 2011).

TCS (HK/RR)	ORF annotation	Regulation or Effect of inactivation	Reference
SenX3/RegX3	Rv0490/Rv0491	Regulation of phosphate dependent gene expression	(Himpens <i>et al.</i> , 2000)
U/U/TcrA	Rv0600c/Rv0601c/ Rv0602c	Unknown	(Hayden & Clark-Curtiss, 2004)
PhoP/PhoR	Rv0757/Rv0758	Implication in regulating production of complex cell wall lipids	(Ludwiczak <i>et al.</i> , 2002; Zahrt & Deretic, 2001)
NarL/NarS	Rv0844c/Rv0845	Unknown	(Parish <i>et al.</i> , 2003)
PrrB/PrrA	Rv0902c/Rv0903c	Involvement in early intracellular multiplication during macrophage infection	(Ewann <i>et al.</i> , 2002, 2004)
MprA/MprB	Rv0981/Rv0982	Regulation of different genes engaged in physiology and pathogenesis	(Zahrt <i>et al.</i> , 2003)
KdpE/KdpD	Rv1027c/Rv1028c	Involvement in virulence	(Parish <i>et al.</i> , 2003)
TrcS/TrcR	Rv1032c/Rv1033c	Unknown	(Haydel <i>et al.</i> , 1999)
DosS-DosT/ DosR	Rv3132c/Rv3133c	Involvement in hypoxic adaptation	(Saini <i>et al.</i> , 2004a)
MtrB/MtrA	Rv3245c/Rv3246c	Proliferation in macrophages; essential for <i>Mtb</i> viability	(Zahrt & Deretic, 2001)
TcrY/TcrX	Rv3764c/Rv3765c	Involvement in virulence	(Parish <i>et al.</i> , 2003)

output domain, which can participate in DNA binding and transcriptional control, catalyse enzymatic reactions, bind RNA, or participate in protein-protein interactions (Gao *et al.*, 2007; Stock *et al.*, 2000; Galperin *et al.*, 2001; Hoch, 1995, 2000).

The *M. tuberculosis* (*Mtb*) genome encodes about two hundred regulatory proteins, which include over one hundred putative transcriptional regulators, eleven complete TCSs (Table 1), six orphan RRs, and two orphan HKs (Cole *et al.*, 1998; Tekaiia *et al.*, 1999). The number of TCSs in *Mtb* is rather low compared with other bacteria, e.g. *E. coli*, which has more than thirty. This relatively small number of TCS probably reflects the intracellular lifestyle of *Mtb*, as the cell environment is less variable than that confronted by soil bacteria or gut microbiota, or a certain degree of overlap in signal processing (Cimino *et al.*, 2012). Comparative genomic analyses of TCSs in *Mtb* indicate that homologues of these genes exist in other representatives of *Mycobacterium* species, including *M. bovis*, *M. avium*, *M. leprae*, and *M. smegmatis* (Cole *et al.*, 1998; Zahrt *et al.*, 2003). All of *Mtb* TCSs are conserved in their genetic arrangement and location within the closely related *M. bovis* bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccine strain.

Evidence suggests that many of the TCSs are engaged in sensing the host environment and adjusting bacterial transcription to adapt to the new environment, including PrrB/PrrA (Ewann *et al.*, 2002), DosRST (Malhotra *et al.*, 2004; Roberts *et al.*, 2004), SenX3/RegX3 (Parish *et al.*, 2003), MprA/B (Zahrt *et al.*, 2003), MtrB/A (Fol *et al.*, 2006), and PhoP/PhoR (Perez *et al.*, 2001).

Constitutive expression of *pdtaR* (coding for an orphaned RR, described as potential phosphorylation-dependent transcriptional antitermination regulator), *dosT*, and *mtrA* during intracellular growth indicates that these genes are likely to be involved in *Mtb* adaptation to life within macrophages. Several studies have analysed the expression profiles during *Mtb* growth in human macrophages (Haydel & Clark-Curtiss, 2004; Zahrt & Deretic, 2001) and mice suggesting the biological role for these signal transduction systems in host-pathogen interactions.

The mutagenesis studies support the role of TCS in growth and survival (Sassetti *et al.*, 2001), indicating that the *senX3*, *kdpD* and *mtrA* (Sassetti *et al.*, 2003a) gene products are required for survival in mice and that the response regulators PhoP, KdpE, PdatR, and MtrA, as well as the sensor kinases MprB, DosS and Mtr B (Sassetti *et al.*, 2003b) are required for optimal growth *in vitro*.

A large number of experiments have pointed out at several TCS proteins as important regulatory elements for virulence of the tubercle bacillus. This applies to DosR (Malhotra *et al.*, 2004), RegX 3 (Parish *et al.*, 2003), PhoP (Perez *et al.*, 2001), SenX3 (Rickman *et al.*, 2004), MprA (Zahrt and Deretic, 2001) and PrrA (Ewann *et al.*, 2002). The most relevant features of *Mtb* TCSs related to virulence, pathogenesis and host-pathogen interactions are discussed here.

a) RegX3 regulates a large and functionally diverse regulon comprised of 100 genes. Several of these genes are involved in important physiological activities, including energy metabolism, cell envelope maintenance, and regulatory functions (Parish *et al.*, 2003). In *Mtb*, the system is required for virulence, with mutant strains showing attenuation in macrophage and murine infection models (Parish *et al.*, 2003; Rickman *et al.*, 2004; Rifat *et al.*, 2009).

- b) PhoP/PhoR is involved in diverse aspects of metabolic physiology and is required for virulence in *Mtb*. This TCS regulates genes associated with the ESX-1 secretion system and synthesis of virulence associated lipids (Frigui *et al.*, 2008; Gonzalo-Asensio *et al.*, 2008). Inactivation of *phoP* results in high attenuation of *Mtb*. The mutant is impaired to grow in macrophages and BALB/c mice; however, it is not completely eliminated and persists in *in vitro* cultured-macrophages and also in mice organs. This mutation, together with a deletion in *fadD26*, essential for the synthesis of one of the major mycobacterial virulence factors, has led to the construction of the first live-attenuated *M. tuberculosis*-based vaccine to enter clinical trials (Martin *et al.*, 2006).
- c) PrrB/PrrA TCS has been shown to be expressed during growth in human macrophages and is required for early intracellular multiplication (Ewann *et al.*, 2002; Graham & Clark-Curtiss, 1999; Haydel & Clark-Curtiss, 2004) and mycobacterial viability (Haydel *et al.*, 2012).
- d) MprA/MprB TCS was originally described as being necessary for the establishment and maintenance of persistent infection by *Mtb* in mice and was consequently named *mpr* for mycobacterium persistence regulator (Zahrt & Deretic, 2001). This TCS regulates adaptation programs in response to several environmental stimuli and plays a role in virulence. It has been reported recently that MprAB modulates ESX-1 function (Pang *et al.*, 2013). ESX-1 is the prototype of type VII secretion systems found in some Gram-positive bacteria, and the ESX-1 substrate ESAT-6 is a major virulence factor, implicated in different host-pathogen interactions (Mishra *et al.*, 2010; Samten *et al.*, 2011).
- e) *kdpD* is induced in *Mtb* under conditions of starvation (Betts *et al.*, 2002). KdpE/KdpD TCS plays a role in *Mtb* virulence and regulates turgor pressure and potassium homeostasis.
- f) Dos (also known as Dev) TCS is composed of two soluble, full-length histidine kinases, DosS and DosT and a single response regulator DosR (Figure 2). Dev TCS proteins were originally identified as DevR (Rv3133c) and DevS (Rv3132c) in a screen for genes differentially expressed in the virulent strain (*dev*) H37Rv compared to the avirulent H37Ra strain (Dasgupta *et al.*, 2000). Subsequent studies demonstrated that Rv3133c was induced in the tubercle bacillus by hypoxia indicating that DevR is a key protein for adaptation of the bacillus to non-replicating survival in hypoxic environments. For this reason the gene was named *dosR* as a regulator of dormancy survival (*dos*) (Boon & Dick, 2012). Both gene designations remain in use today.
- g) MtrA/MtrB TCS regulates essential physiological processes, including DNA replication and cell wall integrity. The *mtrA* gene is constitutively expressed (Haydel and Clark-Curtiss, 2004) and MtrA/MtrB TCS is the only essential system in *Mtb* (Via *et al.*, 1996; Zahrt & Deretic, 2000), while others are required under specific growth conditions. Therefore this TCS may represent a novel therapeutic target (Bretl *et al.*, 2011).

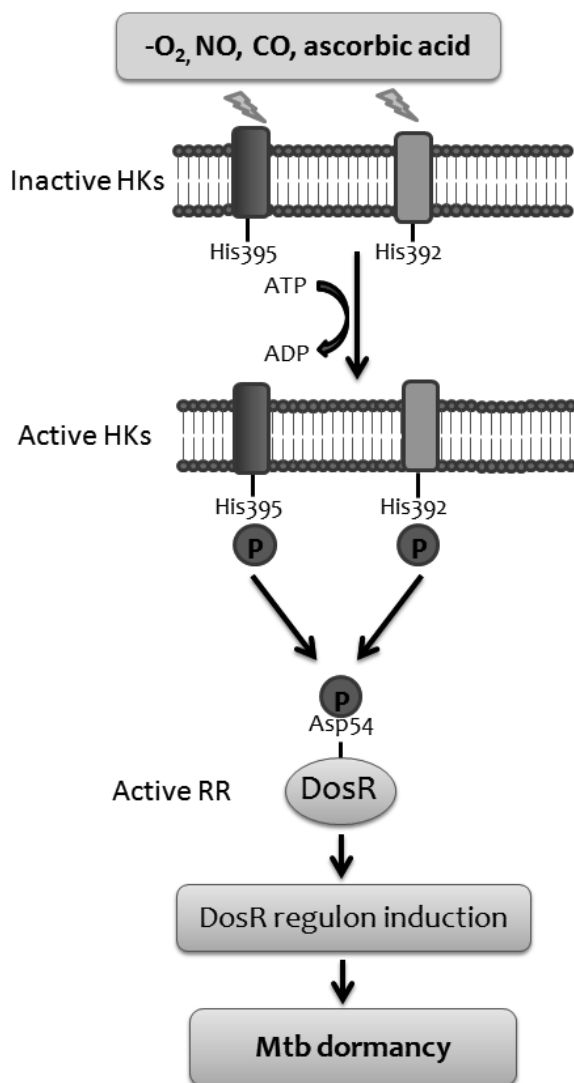


Figure 2. *Mtb* dormancy response to hypoxic conditions.

LATENT TUBERCULOSIS INFECTION: TARGETING DosRST TWO-COMPONENT SYSTEM

Many features make TCSs attractive targets for the development of novel antimicrobial agents. Significant homology is shared among kinase and response regulator proteins of different bacterial species (Parkinson *et al.*, 1992), which could facilitate the design of broad-spectrum antimicrobials. Elucidated crystal structures of several RRs and HKs, which are available in public databases, are a very valuable asset to sustain a platform for structural-based drug development projects.

Pathogenic bacteria, *M. tuberculosis* being a clear example, use TCS signal transduction to regulate expression of virulence factors that are required for survival inside the host (Dziejman & Mekalanos, 1995; Groisman & Heffron, 1995). The inhibition of virulence factors offers an opportunity for specific intervention at the level of host-pathogen interactions (Miller *et al.*, 1989).

In *Mtb*, *dosR* and *dosS* are genetically linked and transcriptionally coupled with each other, as well as with upstream Rv3134c gene (Dasgupta *et al.*, 2000). In contrast, *dosT* does not belong to the core of DosR regulon and is located at the end of a highly induced cluster of genes

regulated by DosR (Gerasimova *et al.*, 2011). Genes *dosR* and *dosS* are conserved and tandemly arranged in many mycobacterial species (except *M. leprae* and *M. ulcerans*), while *dosT* appears to be less well conserved. DosS and DosT are capable of autophosphorylating at conserved histidine residues (His-395 and His-392, respectively), and both proteins can transfer the phospho-moiety to Asp-54 of DosR (Roupie *et al.*, 2007; Saini *et al.*, 2004a, 2004b). DosR upregulates a well-defined regulon of 48 genes in *Mtb* following exposure to hypoxia, nitric oxide (NO), carbon monoxide (CO), and ascorbic acid (Honaker *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2008, 2010; Voskuil *et al.*, 2003). The DosR regulon controls survival of the bacilli in an anaerobically-induced state of dormancy and is necessary for optimal transition of *Mtb* back to aerobic growth from an anaerobic or nitric oxide-induced non-respiring state (Leistikow *et al.*, 2010; Rustad *et al.*, 2009).

Existing anti-TB therapies are directed against actively replicating bacteria, while there is no particular treatment for LTBI (latent TB infection). It is believed that the study of the DosRST signaling pathway will improve the understanding of the dormancy response in *M. tuberculosis*. DosRST two-component system was proposed as an attractive target for the development of inhibitors against dormant organisms in different studies (Murphy & Brown, 2007; Lamichhane, 2010; Saini *et al.*, 2005; Vohra, 2006.). Murphy & Brown identified several genome wide trends and used them to guide the selection of targets for therapeutic development. The significant up-regulation of genes controlled by *dosR* was included. They speculated that targeting DosRST TCS may not induce *M. tuberculosis* death directly, but by forcing them to leave the non-replicative state, bacilli would be made susceptible to currently available antimycobacterial treatments.

A homology-based model of DosR was generated and used for the rational design of inhibitors (Gupta *et al.*, 2009). A phenylcoumarin derivative was identified by *in silico* screening and established to be a pathway specific inhibitor that appears to act by locking DosR in an inactive conformation. It is tempting to speculate that this compound is a good starting point for the development of novel compounds targeting DosR with the potentiality of becoming adjuvants of current antimycobacterial drugs.

CONCLUDING REMARKS

Two-component systems of *Mtb* play essential roles in the virulence and pathogenesis of tuberculosis. These signalling transduction systems show structural features and biochemical activities that make them susceptible to inhibition and amenable to high-throughput screening campaigns for the development of new antimycobacterial drugs. In particular, the inhibition of the DosRST TCS could lead to the development of a novel class of “anti-latent *Mtb*” drugs.

ACKNOWLEDGEMENTS

M. Marszalek is recipient of a fellowship from the FP7-PEOPLE-ITN-2008 Marie Curie Action “Initial Training Networks” STARS.

REFERENCES

1. Aguilar P.S., Hernandez-Arriaga A.M., Cybulski L.E., Erazo A.C., and de Mendoza D. (2001) Molecular basis of thermosensing: a two-component signal transduction thermometer in *Bacillus subtilis*. *Embo J.* 20: 1681-1691.
2. Atkinson M. R. and Ninfa A. J. (1999) Two-component systems. In S. Baumberg, editor, *Prokaryotic Gene Expression*, pages 194-228. Oxford University Press, Oxford, UK.
3. Betts J. C., Lukey P. T., Robb L. C., McAdam R. A., and Duncan K. (2002) Evaluation of a nutrient starvation model of *Mycobacterium tuberculosis* persistence by gene and protein expression profiling. *Mol. Microbiol.* 43: 717-731.
4. Boon C. and Dick T. (2012) How *Mycobacterium tuberculosis* goes to sleep: the dormancy survival regulator DosR a decade later. *Future Microbiol.* 7:513-518.
5. Bretl D.J., Demetriadou C., and Zahrt T.C. (2011) Adaptation to environmental stimuli within the host: two-component signal transduction systems of *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 75:566-82.
6. Cimino M., Thomas C., Namouchi A., Dubrac S., Gicquel B., and Gopaul D.N. (2012) Identification of DNA Binding Motifs of the *Mycobacterium tuberculosis* PhoP/PhoR Two-Component Signal Transduction System. *PLoS ONE* 7:e42876.
7. Chakraborti P.K., Matange N., Nandicoori V.K., Singh Y., Tyagi J.S., and Visweswariah S.S. (2011) Signalling mechanisms in *Mycobacteria*. *Tuberculosis (Edinb)*. 91:432-40.
8. Cole S.T., Brosch R., Parkhill J., Garnier T., Churcher C., Harris D., et al. (1998) Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 393: 537-544.
9. Corbett, E. L., Watt C.J., Walker N., Maher D., Williams B.G., Raviglione M.C., and Dye C. (2003) The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. *Arch. Intern. Med.* 163: 1009-1021.
10. Dasgupta N., Kapur V., Singh K.K., Das T.K., Sachdeva S., Jyothisri K., and Tyagi JS. (2000) Characterization of a two-component system, devR-devS, of *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuber. Lung. Dis.* 80:141-159.
11. Dziejman M. and Mekalanos N. (1995) Two-component signal transduction and its role in the expression of bacterial virulence factors. In *Two-component signal transduction*, ed. JA Hoch, TJ Silhavy: ASM 305-17.
12. Ewann F., Jackson M., Pethe K., Cooper A., Mielcarek N., Ensergueix D., Gicquel B., Locht C., and Supply P. (2002) Transient requirement of the PrrA-PrrB two-component system for early intracellular multiplication of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 70:2256-2263.
13. Ewann F., Loch C. and Supply P. (2004) Intracellular autoregulation of the *Mycobacterium tuberculosis* PrrA response regulator. *Microbiology* 150: 241-246.
14. Frigui W. et al., (2008) Control of *M. tuberculosis* ESAT-6 secretion and specific T cell recognition by PhoP. *PLoS pathogens*, 4: e33.
15. Fol M., Chauhan A., Nair N. K., Maloney E., Moomey M., Jagannath C., Madiraju M. V., and Rajagopalan M. (2006) Modulation of *Mycobacterium tuberculosis* proliferation by MtrA, an essential two-component response regulator. *Mol. Microbiol.* 60:643-657.
16. Galperin M.Y., Nikolskaya A.N., and Koonin E.V. (2001) Novel domains of the prokaryotic two-component signal transduction systems. *FEMS Microbiol. Lett.* 203: 11-21.
17. Gao R., Mack T.R., and Stock A.M. (2007) Bacterial response regulators: Versatile regulatory strategies from common domains. *Trends Biochem. Sci.* 32: 225-234.
18. Gerasimova A., Kazakov A.E., Arkin A.P., Dubchak I., and Gelfand M.S. (2011) Comparative genomics of the dormancy regulons in mycobacteria. *J Bacteriol.* 193: 3446-3452.
19. Gonzalo-Asensio J., Mostowy S., Harders-Westerveen J., Huygen K., Hernandez-Pando R., et al. (2008) PhoP: a missing piece in the intricate puzzle of *Mycobacterium tuberculosis* virulence. *PLoS ONE* 3: e3496.
20. Graham J.E. and Clark-Curtiss J.E. (1999) Identification of *Mycobacterium tuberculosis* RNAs synthesized in response to phagocytosis by human macrophages by selective capture of transcribed sequences (SCOTS). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96: 11554-11559.
21. Groisman, E. A. and Heffron, F. (1995) in *Two-Component Signal Transduction*, eds. Hoch, J. A. & Silhavy, T. J. (Am. Soc. Microbiol., Washington, DC), pp. 319-332.
22. Gupta R.K., Thakur T.S., Desiraju G.R., and Tyagi J.S. (2009) Structure-based design of DevR inhibitor active against nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Med. Chem.* 52: 6324-34.
23. Haydel S. E., Dunlap N. E., and Benjamin W. H., Jr. (1999) In vitro evidence of the twocomponent system phosphorylation between the *Mycobacterium tuberculosis* TrcR/TrcS proteins. *Microb. Pathog.* 26: 195-206.
24. Haydel S.E. and Clark-Curtiss J.E. (2004) Global expression analysis of two-component system regulator genes during *Mycobacterium tuberculosis* growth in human macrophages. *FEMS Microbiol. Lett.* 236:341-347.
25. Haydel S. E., Malhotra V., Cornelison G. L., and Clark-Curtiss J. E., (2012) The prrAB two-component system is essential for *Mycobacterium tuberculosis* viability and is induced under nitrogen-limiting conditions," *J. Bacteriol.*, 194: 354-361.
26. Himpens S., Locht C., and Supply P. (2000) Molecular characterization of the mycobacterial SenX3-RegX3 two-component systems: Evidence for autoregulation. *Microbiology* 146: 3091-3098.
27. Hoch J.A. (2000) Two-component and phosphorelay signal transduction. *Curr. Opin. Microbiol.* 3: 165-170.
28. Hoch J. A. and Silhavy T. J. (1995) *Two-Component Signal Transduction*. American Society for Microbiology, Washington, DC, USA.
29. Honaker R.W., Leistikow R.L., Bartek I.L., and Voskuil M.I. (2009) Unique roles of DosT and DosS in DosR regulon induction and *Mycobacterium tuberculosis* dormancy. *Infect Immun.*; 77:3258-3263.

30. Jiang M., Shao W., Perego M., and Hoch J.A. (2000) Multiple histidine kinases regulate entry into stationary phase and sporulation in *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 38: 535-542.
31. Jordan S., Hutchings M.I., and Mascher T. (2008) Cell envelope stress response in Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 32: 107-146.
32. Kumar A., Deshane J.S., Crossman D.K., Bolisetty S., Yan B.S., Kramnik I., Agarwal A., and Steyn A.J. (2008) Heme oxygenase-1-derived carbon monoxide induces the *Mycobacterium tuberculosis* dormancy regulon. *J. Biol. Chem.*, 283: 18032-18039.
33. Lamichhane G. (2010) Novel targets in *M. tuberculosis*: search for new drugs. *Trends Mol. Med.* 17:25-33.
34. Leistikow R.L., Morton R.A., Bartek I.L., Frimpong I., Wagner K., and Voskuil M.I. (2009) The *Mycobacterium tuberculosis* DosR regulon assists in metabolic homeostasis and enables rapid recovery from nonre-spiring dormancy. *J. Bacteriol.* 192: 1662-1670.
35. Leistikow R.L., Morton R.A., Bartek I.L., Frimpong I., Wagner K., and Voskuil M.I. (2010) The *Mycobacterium tuberculosis* DosR regulon assists in metabolic homeostasis and enables rapid recovery from nonre-spiring dormancy. *J. Bacteriol.* 192:1662-1670.
36. López D., Vlamakis H., and Kolter R. (2009) Generation of multiple cell types in *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiol. Rev.* 33: 152-163.
37. Ludwiczak P., Gilleron M., Bordat Y., Martin C., Gicquel B., and Puzo G. (2002) *Mycobacterium tuberculosis* phoP mutant: lipoarabinomannan molecular structure. *Microbiology* 148: 3029-3037.
38. Lyon G.J., and Novick R.P. (2004) Peptide signaling in *Staphylococcus aureus* and other Gram-positive bacteria. *Peptides* 25: 1389-1403.
39. Malhotra V., Sharma D., Ramanathan V. D., Shakila H., Saini D. K., Chakravorty S., Das T. K., Li Q., Silver R. F., Narayanan P. R., and Tyagi J. S. (2004) Disruption of response regulator gene, devR, leads to attenuation in virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 231: 237-245.
40. Martin C., Williams A., Hernandez-Pando R., Cardona P.J., Gormley E., et al. (2006) The live *Mycobacterium tuberculosis* phoP mutant strain is more attenuated than BCG and confers protective immunity against tuberculosis in mice and guinea pigs. *Vaccine* 24: 3408-3419.
41. Mascher T., Helmann J.D., and Uuden G. (2006) Stimulus perception in bacterial signal-transducing histidine kinases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70: 910-938.
42. Miller, J. F., Mekalanos, J. J. and Falkow, S. (1989) Coordinate regulation and sensory transduction in the control of bacterial virulence. *Science* 243: 916-922.
43. Mishra B.B., Moura-Alves P., Sonawane A., Hacohen N., Griffiths G., Moita L.F., and Anes E. (2010) *Mycobacterium tuberculosis* protein ESAT-6 is a potent activator of the NLRP3/ASC inflammasome. *Cell. Microbiol.* 12: 1046-1063.
44. Murphy D. J. and Brown J. R. (2007) Identification of gene targets against dormant phase *Mycobacterium tuberculosis* infections. *BMC Infect. Dis.* 7: 84.
45. Pang X., Samten B., Cao G., Wang X., Tvinnereim A.R., Chen X.L., and Howard S.T. (2013) MprAB Regulates the espA operon in *Mycobacterium tuberculosis* and modulates ESX-1 function and host cytokine response. *J. Bacteriol* 195: 66-75.
46. Parish T., Smith D. A., Kendall S., Casali N., Bancroft G. J., and Stoker N. G. (2003) Deletion of two-component regulatory systems increases the virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect. Immun.* 71: 1134-1140.
47. Parkinson J. S. and Kofoed E. C. (1992) Communication modules in bacterial signaling proteins. *Ann. Rev. Genet.*, 26: 71-112.
48. Perez E., Samper S., Bordas Y., Guilhot C., Gicquel B., and Martin C. (2001) An essential role for phoP in *Mycobacterium tuberculosis* virulence. *Mol. Microbiol.* 41:179-187.
49. Restrepo B. I. (2007) Convergence of the tuberculosis and diabetes epidemics: renewal of old acquaintances. *Clin. Infect. Dis.* 45: 436-438.
50. Rickman L., Saldanha J. W., Hunt D. M., Hoar D. N., Colston M. J., Millar J. B. A., and Buxton R. S. (2004) A two-component signal transduction system with a PAS domain-containing sensor is required for virulence of *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 314: 259-267.
51. Rifat D., Bishai W. R., and Karakousis P. C. (2009) Phosphate depletion: a novel trigger for *Mycobacterium tuberculosis* persistence. *J. Infect. Dis.* 200: 1126-1135.
52. Roberts D. M., Liao R. P., Wisedchaisri G., Hol W. G., and Sherman D. R. (2004) Two sensor kinases contribute to the hypoxic response of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Biol. Chem.* 279: 23082-23087.
53. Roupie V., Romano M., Zhang L., Korf H., Lin M.Y., et al. (2007) Immunogenicity of eight dormancy regulon-encoded proteins of *Mycobacterium tuberculosis* in DNA-vaccinated and tuberculosis-infected mice. *Infect Immun.* 75: 941-949.
54. Rustad T.R., Sherrid A.M., Minch K.J., Sherman D.R. (2009) Hypoxia: a window into *Mycobacterium tuberculosis* latency. *Cell Microbiol.* 11: 1151-1159.
55. Saini D.K., Malhotra V., Dey D., Pant N., Das T.K., and Tyagi J.S. (2004a) DevR-DevS is a bona fide two component system of *Mycobacterium tuberculosis* that is hypoxia-responsive in the absence of the DNA-binding domain of DevR. *Microbiology.* 150: 865-875.
56. Saini D. K., Malhotra V., and Tyagi J. S.. (2004b). Cross talk between DevS sensor kinase homologue, Rv2027c, and DevR response regulator of *Mycobacterium tuberculosis*. *FEBS Lett.* 565: 75-80.
57. Saini D.K., and Tyagi J.S. (2005) High-throughput microplate phosphorylation assays based on DevR-DevS/Rv2027c 2-component signal transduction pathway to screen for novel antitubercular compounds. *J. Biomol. Screen.* 10: 215-224.
58. Samten B., Wang X., and Barnes P.F. (2011) Immune regulatory activities of early secreted antigenic target of 6-kD protein of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis vaccine design. *Tuberculosis (Edinb.)* 91(Suppl 1): S114-S118.
59. Sassetti C. M., Boyd D. H., and Rubin E. J. (2001) Comprehensive identification of conditionally essential genes in mycobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 12712-12717.
60. Sassetti C. M., Boyd D. H., and Rubin E. J. (2003a) Genetic requirements for mycobacterial survival during infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 12989-12994.

-
61. Sassetti C. M., Boyd D. H., and Rubin E. J. (2003b) Genes required for mycobacterial growth defined by high density mutagenesis. *Mol. Microbiol.* 41: 179–187.
 62. Stock A. M., Robinson V. L. and Goudreau P. N. (2000) Two-component signal transduction. *Annu. Rev. Biochem.* 69: 183–215.
 63. Sun G., Birkey S.M., and Hulet, F.M. (1996) Three two-component signal-transduction systems interact for Pho regulation in *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 19: 941–948.
 64. Szurmant H., and Ordal G.W. (2004) Diversity in chemotaxis mechanisms among the bacteria and archaea. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68: 301–319.
 65. Taneja N.K., Dhingra S., Mittal A., Naresh M., and Tyagi J.S. (2010) *Mycobacterium tuberculosis* transcriptional adaptation, growth arrest and dormancy phenotype development is triggered by vitamin C. *PLoS One*, 5, e10860.
 66. Tekaiia F., Gordon S.V., Garnier T., Brosch R., Barrell B.G. and Cole S.T. (1999) Analysis of the proteome of *Mycobacterium tuberculosis* in silico. *Tuber. Lung Dis.* 79: 329–342.
 67. Via L.E., Curcic R., Mudd M.H., Dhandayuthapani S., Ulmer R.J., and Deretic V. (1996) Elements of signal transduction in *Mycobacterium tuberculosis*: *in vitro* phosphorylation and *in vivo* expression of the response regulator MtrA. *J. Bacteriol.* 178: 3314–3321.
 68. Vohra R., Gupta M., Chaturvedi R., and Singh. Y. (2006) Attack on the scourge of tuberculosis: patented drug targets. *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.* 1: 95–106.
 69. Voskuil M.I., Schnappinger D., Visconti K.C., Harrell M.I., Dolganov G.M., Sherman D.R., and Schoolnik G.K.. (2003) Inhibition of respiration by nitric oxide induces a *Mycobacterium tuberculosis* dormancy program. *J Exp Med.* 198: 705–713.
 70. Zahrt T.C. and Deretic V. (2001) *Mycobacterium tuberculosis* signal transduction system required for persistent infections. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 12706–12711.
 71. Zahrt T. C., Wozniak C., Jones D., and Trevett A. (2003) Functional analysis of the *Mycobacterium tuberculosis* MprAB two-component signal transduction system. *Infect. Immun.* 71: 6962–6970.

Determination of isotopic ratios of uranium (U-235/-U238) for the characterization of reverse osmosis compared with conventional tap water treatment in order to determine the source of a water leak

Alfredo Diaz *, Ricard Devesa, Jordi Martin-Alonso
Aigües de Barcelona, Empresa Metropolitana de Gestió del Cicle Integral de l'Aigua
Laboratory. General Batet, 5-7. 08028 Barcelona, Spain.

Determinación de las relaciones isotópicas de uranio (U-235/-U238) para la caracterización de ósmosis inversa en comparación con el tratamiento de agua de consumo convencional con el fin de determinar el origen de una fuga de agua

Determinació de les relacions isotòpiques d'urani (U-235/-U238) per a la caracterització d'osmosi inversa en comparació amb el tractament d'aigua de consum convencional per tal de determinar l'origen d'una fuga d'aigua

Recibido: 19 de noviembre de 2013; revisado: 20 de febrero de 2014; aceptado: 22 de febrero de 2014

RESUMEN

La adecuación de la técnica analítica ICP-MS (plasma acoplado inductivamente con determinación por espectrometría de masas de cuadrupolo) se ha llevado a cabo para la determinación y caracterización de la relación isotópica mayoritaria del uranio, U-235/U-238 en las aguas de consumo. La metodología desarrollada se ha validado obteniéndose una elevada precisión ($RSD \leq 0,3 \%$) necesaria en la realización de este tipo de estudios. Los resultados obtenidos confirman un leve aumento en la proporción isotópica del uranio U-235/U-238 para el agua tratada mediante ósmosis inversa con respecto al agua tratada con tecnología convencional. Esta metodología de análisis y los resultados obtenidos para el agua osmotizada fueron utilizados para caracterizar los distintos orígenes de agua tratada en la red de distribución de la ciudad de Barcelona y su área metropolitana con el fin de determinar el origen de una importante fuga de agua sospechosa de provenir de la red de distribución, siendo la primera vez que esta aplicación isotópica es utilizada por una compañía de distribución de agua para resolver este tipo de problema.

Palabras clave: agua potable, determinación isotópica del uranio, tratamiento por osmosis inversa, identificación de una fuga de agua, agua subterránea.

SUMMARY

An analytical technique for the determination of the isotopic ratio of U-235/U-238 in waters by a classical technique based on a quadrupole ICP-MS has been implemented. A high precision ($RSD \leq 0.3 \%$) has been obtained, which is strictly necessary in these circumstances. The methodology developed was validated and the results obtained

confirmed a slight increase in the uranium isotopic ratio U-235/U-238 for the treated water using reverse osmosis with respect to conventionally treated water. This analytical methodology was applied to characterize different origins of treated water in the Barcelona Area in order to determine the origin of an important water leak. To the best of our knowledge, it is the first time that this isotopic application is used by a tap water distribution company to solve this kind of problem.

Key words: Drinking water; uranium isotopic determination; reverse osmosis; water leak identification; groundwater.

RESUM

L'adequació de la tècnica analítica ICP-MS (plasma acoblat inductivament amb determinació per espectrometria de masses de quadrupol) s'ha portat a terme per a la determinació i caracterització de la relació isotòpica majoritària de l'urani U-235/U-238 a les aigües de consum. La metodologia desenvolupada s'ha validat obtenint-se una elevada precisió ($RSD \leq 0,3 \%$) necessària per a la realització d'aquests estudis. Els resultats obtinguts confirmen un lleu augment a la proporció isotòpica del urani U-235/U-238 per a l'aigua tractada mitjançant osmosis inversa respecte a l'aigua tractada amb tecnologia convencional. Aquesta metodologia d'anàlisis i els resultats obtinguts per l'aigua osmotitzada van ser aplicats per caracteritzar els diferents orígens de agua tractada a la xarxa d'abastament de la ciutat de Barcelona i la seva àrea metropolitana amb la finalitat de determinar l'origen de una important fuga d'aigua sospitosa de provenir de la xarxa

* Corresponding author: adiazbanos@agbar.es;
Fax (34) 93 342 26 66

de distribució, sent la primera vegada que aquesta aplicació isotòpica es utilitzada per una companyia de distribució d'aigua per resoldre aquest tipus de problema.

Mots clau: aigua potable, determinació isotòpica del urani, tractament per osmosis inversa, identificació d'una fuita d'aigua, aigua subterrània

1. INTRODUCTION

The Drinking Water Distribution System of Barcelona and its Metropolitan Area (Spain, NE) has more than 40,000 km of pipelines, being one of the largest water supply networks in Southern Europe, with an overall consumption of about 850,000 m³ of drinking water per day. In such a huge system leaks of all kind are frequent, and the Laboratory carries out analyses in order to determine the origin of a water sample suspicious of being a water leak from our water distribution system. Frequent causes for the leaks are natural or modified groundwater, leaching from sewers or other natural or anthropogenic causes (1). Indeed, a precise methodology is required to identify the most likely origin of flooded water and for its characterization.

There are a number of methodologies to confront this analytical problem, such as the determination of the characteristic metals or the ionic concentration ratios of major elements present in the sample (1, 2). However, in most cases the results obtained are not conclusive for the final identification of water origin, especially when the sample shows a chemical pattern compatible with a mixture of different origins, changing the concentration of characteristic metals and ionic ratios of major elements (1, 2, 3).

The isotopic studies using different isotopic ratios showed good results in similar environmental problems, due to their great stability over time which allows the univocal characterization of an environmental sample (3, 4).

Most of the isotopic analytical techniques in water samples involve the determination of stable isotopes of both components of water, oxygen and hydrogen (3, 5, 6, 7), or also the determination of a common element, such as isotopes of nitrogen (2). These elements are very difficult to determine because they are very sensitive to contamination, so very specific laboratory conditions in addition to complex and expensive techniques are necessary for their quantification. In the ICP-MS field, other stable isotopes, such as B-10/B-11 (4), S-32/S-34 (6), Sr-86/ Sr-87 (8), and Pb isotopes (9), have also been used successfully. However, in the majority of publications the technology applied, high resolution ICP-MS, is unaffordable for most environmental laboratories. Moreover, the results achieved in many of these investigations involving isotopic ratios showed a very high similarity in the final value obtained for most environmental samples around the world, this limitation being the main reason for the extensive use of high resolution equipment, which is capable of achieving very high accuracy and especially a very high precision of the isotopic ratio measurement, given that in most cases it is necessary to compare different environmental samples (10-13).

There are actually a few publications dealing with a simple and lower cost technique, such as single quadrupole ICP-MS, with or without reaction cell (14,15).

Among the different isotopes studied, uranium isotopes are one of the most frequently evaluated, principally taking advantage of their different radioactivity properties and working with their activity determination (16-21). In the ICP-MS field, there are many publications focusing on this element. Despite the radioactivity environmental problems, this element has also been studied in regular water samples with very promising results (12, 13, 15).

Working with water samples, the study with uranium isotopes presents two important advantages with respect to other elements: uranium can be quantified in a reasonable concentration range and, in case of using low resolution ICP-MS, all isotopes of this element are free from matrix interferences. In addition, other distortion effects, such as repulsion by major elements present in the sample in the low mass isotopic elements, such as boron, are avoided. (22-24). The main disadvantage is the different proportion of major isotope U-238 with respect to the second one, U-235; an exhaustive control of background noise is thus recommended, mainly working with low resolution quadrupole ICP-MS equipment.

Therefore, following the advice previously published by M. Resano *et al* (14) with some modifications, a methodology to evaluate the isotopic ratio of U-235/U-238 from the different water origins has been applied in the most important water leak occurred in Barcelona's tap water distribution system on 2012, in order to characterizededuce its possible source. Different samples from the tap water system near anearby the water leak waswere analysed every 15 days for 5 months. T and the results obtained, with a high precision (RSD $\leq$ 0.3 %) necessary in these studies and working with a classical technique based on quadrupole ICP-MS (7500 cICP-MS Agilent), showed a slight but significantce difference in the isotopic ratio of U-235/U-238 between the different water origins studied; reverse osmosis origin and conventional treatment , with that allowed to resolve the most probable origin of thea water leak. To the best of our knowledge, it is the first time that the determination of uranium isotopic ratio for membrane treated water has been performed and used for its characterization.

2. EXPERIMENTAL

Chemicals

Standard solutions for quantitative determination of uranium concentration U (depleted uranyl nitrate hexahydrate) 1000 mg L⁻¹ HNO₃ 1 % were purchased from Inorganic Ventures (Christiansburg, VA). Other reagents, such as concentrated nitric acid and some of individual standard 1000 mg L⁻¹ such as Na, Mg, Ca, K, Si were obtained from Carlo Erba (Rodano, Italy), and Merck (Darmstadt, Germany), respectively. The internal standard used for quantitative determination of uranium concentration was terbium, Tb (1000 mg L⁻¹ HNO₃ 2 %) and it was also purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Water from the Milli-Q® purification system (Millipore Corp., Bedford, MA) was used.

Sampling

Samples were collected from all origins of treated water in the Barcelona Area (Spain) as shown in Figure 1. The different origins were: **WTP 1**, San Joan Despi Water treat-

ment Plant (WTP; partial treatment by Reverse osmosis (25) ; RO); **WTP 2**, Cardedeu WTP with conventional treatment; **FT**: Fontsa Tank, Blend treated water from Abrera plant (WTP 3, partial treatment by electrodialysis reversal, EDR) and El Prat reverse osmosis sea water plant (WTP 4). WTP 1 and FT are located on the Llobregat River Zone (Llobregat Zone) whereas WTP 2 are located on the Ter River Zone (Ter Zone). For details and location see Figure 1A.

For the study and characterization of flood water, the samples were collected from different points inside the tap water distribution system near the flooded water, suspicious of being a water leak from the tap water distribution system. For details and location see Figure 1B.

Water samples were always taken after a 5-minute purge, acidified, and in 250 mL high density polyethylene (HDPE) containers. The samples were analysed at the laboratory and maintained refrigerated until their analytical determination.



Figure 1; Sampling collection;

A) The Different Origins of the Water Distribution System of Barcelona and its Metropolitan Area

WTP 1: San Joan Despi Water Treatment Plant (partial treatment by Reverse Osmosis; RO). Llobregat River Zone

WTP 2: Cardedeu Water Treatment Plant with conventional treatment. Ter River Zone

FT: Fontsa Tank. Blend treated water of Abrera plant; WTP 3 (partial treatment by Electrodialysis Reversal; EDR) and El Prat Reverse Osmosis Sea Water Plant WTP 4. Llobregat River Zone

B) Different possible origins of the water leak

Black: Natural Origin (Rainfall infiltration or groundwater upwelling)

Red: Tap water leak from "Ter Zone" (Origin WTP2 provides less than 10% of tap water in the affected zone)

Yellow: Tap water leak from "Llobregat Zone" (Origins WTP 1 and FT provide more than 90% in the affected zone)

Instrumentation and Methodology

The determination of the uranium concentrations and their isotopic ratios in the different samples was analysed with an ICP-MS 7500cx fitted with collision-reaction cell (helium and hydrogen system). The system configuration for uranium isotopic ratio determination was established following the advice previously published (14) and applying the modification inherent to the different equipment used.

Helium (4 ml/min) as collision gas was used in order to optimize background noise. The nebulization was performed with concentric nebulizer and the analytical parameters selected for uranium ratio determination are presented in Table 1.

Table 1. Instrumental setting for uranium isotopic ratios determination by cICP-MS

Instrument Agilent 7500cx		He mode	
RF power	1500 W	Cell gas	4 mL/min He
Analyzer pressure	3.33 x 10 ⁻³ Pa	Cell entrance	-30 V
Carrier argon	0.9 L/min	QP focus	-10 V
Makeup argon	0.1 L/min	Cell exit	-42 V
Plasma argon	15 L/min	OctP bias	-18 V
Auxiliary argon	0.9 L/min	QP bias	-16 V
Ion optics and collision/reaction cell		Sample introduction	
Extract 1	0.0 V	Concentric nebulizer	0.3 mL/min
Extract 2	-170 V	Quartz spray chamber	10 °C
Omega bias	-16 V	Peristaltic pump	0.1 r.p.m
OctP RF	170 V	Sampling depth	8 mm
Data acquisition conditions			
Number of acquisition point		1	
Acquisition time per mass		20s (U-234, U-235, m/z233, m/z=236) 5s (U-238)	
Replicate measurements		12	

The total uranium concentration was determined using a standard calibration regression curve (depleted uranyl nitrate hexahydrate; 1000 mg L⁻¹ HNO₃ 1 %) with internal standard correction of terbium (I.S. m/z 159; Tb 1000 mg L⁻¹ HNO₃ 2 %), whereas the U-235/ U-238 ratios were determined directly from total accounts obtained by every mass scanned for a determined volume of sample introduced in the plasma, so the results are presented as % in mass (not as % atom number)(26,27)

Additionally to the U-235 and U-238 determination, other m/z, such as minor uranium isotope U-234 and m/z = 233 and m/z = 236, were also scanned as background noise control, in order to apply a correction as described in formula (1)

$$U235/U238 (\% \text{ in mass}) = 100 \cdot ((U235-F)/(U238-F)) \quad (1)$$

Where *F* is a correction factor to diminish the effect of background noise as described in formula (2)

$$F = (m/z233 + m/z236)/2 \quad (2)$$

Most of the times differences between both 233 and 236m/z scanned were less than 30%. In the few cases where difference was greater than 30%, *F* value was discarded and uranium ratio determination was repeated.

Working in these conditions, as explained in Table 1 and applying the correction factor *F*, a very high precision, equal to or lower than 0.3 % (RSD), was achieved in U-235/ U-238 ratio evaluation, necessary in these studies.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The objective of this work was to characterize different treated water origins to identify the source of a water leak

in the distribution area. One of the best analytical methodologies for unambiguous characterization is the determination of the isotopic ratios of one or more elements present in the samples. The applicability of this method would depend on whether its accuracy and principally its precision are good enough to be successfully applied. Indeed, previous quality parameters, such as precision, and a further validation of the data obtained, have to be performed to confirm the usefulness of the method.

Study of the Precision and Evaluation of the Methodology
Given the aim of the study, the most important quality parameter of the method was its precision, which was evaluated using the conditions explained above. Therefore, four replicates of Llobregat Zone treated water (WTP 1; partially RO treated) were analysed consecutively for three days, obtaining an RSD = 0.3%, which is an acceptable value necessary for our purpose and working with quadrupole ICP-MS. Results are presented in Table 2.

Table 2. Evaluation of the precision obtained for U-235/U-238 ratio (% in mass) working in reproducibility conditions (n=4 x 3 different days)

n	Osmosis treated water from Llobregat River; WTP 1 (U = 0.5 µg/L)
1	0,71453191
2	0,71365461
3	0,71263641
4	0,71758441
5	0,71765035
6	0,71358437
7	0,71750340
8	0,71534652
9	0,71443590
10	0,71281914
11	0,71913550
12	0,71452401
Mean value	0.715
RSD (%)	0.31
Standard Deviation	0.0019

WTP: Water Treatment Plant. WTP location in Fig. 1

Additionally, to evaluate the feasibility of the procedure in other real samples, a comparison with different treated water origins was performed working in the same conditions of repeatability. The different mean and RSD% values obtained are given in Table 3. To compare these results, mean values of uranium ratios from different treated water origins were statistically evaluated using the Student's *t*-test and were compared with the international mean accepted

value of U-235/U-238 ratio = 0.711% in mass (26,27). The significance values (P) are given in Table 3.

As was expected, for conventional treated water from WTP 1 and WTP 2 the uranium ratios obtained were not significantly different, with respect to the reference value and between the results obtained with both conventional treated waters, with a P value >0.05 in all cases. However, a statistical difference (P<0.05) was shown in uranium ratios obtained for RO treated water from the Llobregat Zone, demonstrating a very slight increase in U-235/U-238 ratios when the membrane treatment was used, an increase sufficient to be statistically distinguished from conventional waterworks treated water. The results obtained demonstrated the feasibility of the methodology and the possibility of its use to identify different treated water origins.

Uranium Ratios (U-235/ U-238) Obtained for Different Treated Waters. Comparison of Results

Once the feasibility of the method had been established, different treated water origins were measured to be characterized. For this purpose, different grab samples for every origin were analysed every 15 days from September to December 2012. Mean results of uranium concentration and isotopic ratios obtained are presented in Table 4.

Table 4. Characterization of the different origins of the Water Distribution System of Barcelona and its Metropolitan Area using the U²³⁵/U²³⁸ ratio evaluation

Origin	Mean Concentration (µg/L) ^a	Isotopic ratio U-235/ U-238 (% in mass) ^a
WTP1 (60 % reverse osmosis)	0.5	0.715
WTP1 (conventional treatment)	1.0	0.710
FT (70 % desalinized water)	0.4	0.717
WTP2 (conventional treatment)	0.9	0.711

^a Mean values obtained from different grab samples analyzed every 15 days from September to December 2012.

WTP: Water Treatment Plant. WTP location in Fig. 1

WTP 1: San Joan Despí WTP (partial treatment by RO). Llobregat River Zone.

FT: Font Santa Tank. Blend treated water of Abrera plant; WTP 3 (partial treatment by EDR) and El Prat Reverse Osmosis Sea Water Plant (WTP 4). Llobregat River Zone.

WTP 2: Cardedeu Water Treatment Plant (conventional treatment). Ter River Zone

Table 3. Validation of the methodology with respect to the mean value accepted for U-235/U-238 ratio (% in mass) ^a

Treated Water Origin	Mean	RSD(%) n=4 x3	Significant differences between mean values and reference value ^a (P-value) ^b	Significant differences between mean values of different treatments (P-value) ^b
Llobregat River (conventional treatment from WTP 1)	0.710	0.28	0.053	0.259
Ter River Origin (conventional treatment from WTP 2)	0.711	0.30	0.801	0.259
Llobregat River (60% Reverse osmosis from WTP 1)	0.715	0.31	0.00003	0.004

^a U-235/U-238=0.711 % in mass (0.720% in atomic number) [

^b Estimated at 95% confidence value

WTP: Water Treatment Plant. WTP location in Fig. 1

The results obtained show that membrane treatments in the Llobregat Area (WTP1 and FT) produce a slight but significant increase in the U-235/U-238 ratio. This effect was also previously described with respect to other elements, such as boron (22, 24) and also has been also observed in our samples, due to the different isotopic stability in the geometries of two major species, borate (main species in the rejection effluent) and boric acid (main species found in the permeate) (4, 22, 298. For uranium, it is difficult to explain a possible mechanism of this effect. Thus, J. Farrell *et al* (29) studied the different species of uranium in water with two main species, reduced U (IV) and oxidized form U (VI), which is more soluble, and their equilibrium with soluble carbonates. Two main carbonated species with different chemical structure, neutral UO_2CO_3 and anionic $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2^{-2}$ species, at neutral-acidic conditions (pH = 6-7), could help to explain (at least partially) the different uranium isotope ratios observed in the membrane treatment. In fact, the slight solubility increase of U-235 with respect to U-238 (30) is well known for oxidized uranyl forms in water (U (VI) forms), which is the major soluble species under working conditions in water treatment by membranes.

Therefore, the uranium isotopic ratio U-235/U-238 is shown to be a very useful tool to distinguish between different water treatment origins.

Application to a Real Case. Study of a Water Leak.

Once all treated water origins had been characterized, the results obtained were applied to discern an important water leak in the north of the city of Barcelona. The zone is principally fed with treated water from the Llobregat Zone (above 90%, see figure 1 B).

For the study of the water leak, several grab samples were collected from September to December 2012 from specific points of the drinking water system near the zone of the water leak location. The isotopic uranium ratios were determined and were compared with those obtained from the water leak and with the other different origins previously characterized. Additional groundwater from every origin zone (Llobregat and Ter Areas) was collected to compare with the leak. The results are shown in Figure 2.

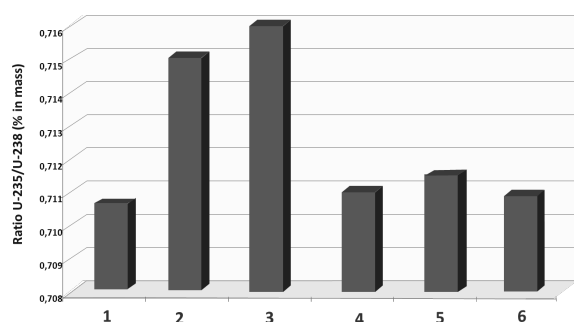


Figure 2: Uranium ratios (U -235/ U-238) obtained in flooded water zone. Comparison from different origins

1) Groundwater from Llobregat Zone; **2)** Treated water from Llobregat Zone (WTP1); **3)** Tap water near water leak; **4)** Water leak; **5)** Treated water from Ter Zone (WTP 2); **6)** Groundwater from Ter Zone.

The results obtained show that the water leak has the typical values from natural groundwater as well as conventional treated water from the Ter Zone (WTP 2). In fact, the water leak presented a high silicon content of about 8 mg/L, which indicates that the water experienced a long underground transit before the appearance point. As expected, the uranium isotopic ratios found for the treated water near the flooded water were from the Llobregat Zone, from Font-santa Tank (FT), with a high proportion of desalinated sea water. Therefore, the results obtained for all samples studied show that the leak was not coming from the nearby drinking water system, which was mostly fed by water treated from the Llobregat Zone.

4. CONCLUSIONS

A high precision methodology ($\text{RSD} \leq 0.3\%$) for the determination of the isotopic ratio U-235/U-238 using classical quadrupole technique with collision cell was successfully used for characterization of waters and identification of their origin. Uranium isotopic ratios (U-238/U-235) in waters from the two main distribution areas in Metropolitan Barcelona are statistically different: about 0.716 in the Llobregat Zone after partial membrane treatment, and about 0.711 in the Ter Zone once conventional treatment has been used for water potabilization.

The results obtained for U-235/U-238 in the different water distribution areas allows the identification of the most probable origin of important flooded water suspicious of being a network water leak.

The results obtained allow it to be concluded that the methodology presented can be a helpful tool for environmental or technical problems, such as the identification of the origin of a water leak.

REFERENCES.

1. M. Schirmer, S. Leschick, A. Musloff. *Current research in urban hydrogeology – A review*. Advances in Water Resources 51 (2013) 280-291
2. M. H. Barret, K. M. Hiscock, S. Pedley, D. N. Lerner, J. H. Tellam, M. French. *Marker species for identifying urban groundwater recharge sources: a review and case study in Nottingham, UK*. Water Research 33 (1999) 3083-3097
3. V. M. Edmunds, A. H. Guendouz, Al Mamou, Al Moulla, Pl Shand, K. Zouari. *Groundwater evolution in the Continental Intercalaire aquifer of southern Algeria and Tunisia: trace element and isotopic indicators*. Applied Geochemistry 18 (2003) 805-822
4. W. Kloppmann, E. Van Houtte, G. Picot, A. Vandendehede, L. Lebbe, C. Guerrot, R. Millot, I. Gaus, T. Wintgens. *Monitoring reverse osmosis treated wastewater recharge into a coastal aquifer by environmental isotopes (B, Li, O, H)*. Environmental Sciences & Technology 42 (2008) 8759-8765
5. G. Hoffmann, J. Jouzel, V. Masson. *Stable water isotopes in atmospheric general circulation models*. Hydrological Processes. 14(8) (2000) 1385-1406
6. J. Houhou, B. S. Lartiges, C. France-Lanord, C. Guilmette, S. Poix, C. Mustin. *Isotopic tracing of clear water sources in an urban sewer: A combined water*

- and dissolved sulfate stable isotope approach. *Water Research* 44 (2010) 256-266
7. G. Qinghai. *Hydrogeochemistry of high-temperature geothermal systems in China: A review*. *Applied Geochemistry* 27 (2012) 1887-1898
 8. A. Díaz, R. Devesa, J. Martín-Alonso; *Determination of Cesium Traces and Evaluation of Isotopic Ratios Sr87/Sr86 and U235/U238 to Identify the Salinity Sources from the Llobregat Aquifer in Barcelona (Spain)*. European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry. February 2011 Zaragoza, Spain
 9. A. C. Norrström, G. Knutsson. *Stable lead isotopes as tracers of groundwater pollution in the water supply for a small village*. *Environmental Earth Sciences* 67(4) (2012) 1085-1095
 10. G. A. Brennecke, L. E. Borg, I. D. Hutcheon, A. S. Michael, A. D. Anbar. *Natural variations in uranium isotope ratios of uranium ore concentrates: Understanding the $^{238}\text{U}/^{235}\text{U}$ fractionation mechanism*. *Earth and Planetary Science Letters* 291 (2010) 228-233
 11. K. Mathew, P. Mason, A. Voeks, U. Narayanan. *Uranium isotope abundance ratios in natural uranium metal certified reference material 112-A*. *International Journal of Mass Spectrometry* 315 (2012) 8-14
 12. Z. Karpas, A. Lorber, H. Sela, O. Paz-Tal, Y. Hagag, P. Kurtio, L. Salonen. *Measurement of the $^{234}\text{U}/^{238}\text{U}$ ratio by MC-ICPMS in drinking water, hair, nails, and urine as an indicator of uranium exposure source*. *Health Physics* 89 (4) (2005) 315-321
 13. P. J. Gray, L. Zhang, H. Xu, M. McDiarmid, K. Squibb, J. A. Centeno. *Determination of $^{236}\text{U}/^{238}\text{U}$ and $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ isotope ratios in human urine by inductively coupled plasma mass spectrometry*. *Microchemical Journal* 105 (2012) 94-100
 14. M. Resano, P. Marzo, J. Pérez-Arantequi, M. Aramendía, C. Cloquet, F. Vanhaecke. *Laser ablation-inductively coupled plasma-dynamic reaction cell-mass spectrometry for the determination of lead isotope ratios in ancient glazed ceramics for discriminating purposes*. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 23 (2008) 1182-1191
 15. K. Tagami, S. Uchida. *Rapid uranium preconcentration and separation method from fresh water samples for total U and $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ isotope ratio measurements by ICP-MS*. *Analytica Chimica Acta* 592 (2007) 101-105
 16. A. Borylo. *Determination of uranium isotopes in environmental samples*. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 295 (1) (2013) 621-631
 17. A. I. Malov. *The Use of Even Uranium Isotopes as Hydrogeological Tracers*. *Water Resources* 39(4) (2012) 415-419
 18. P. Grabowski, H. Bem. *Uranium isotopes as a tracer of groundwater transport studies*. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 291(3) (2012) 1043-1048
 19. F. Gharbi, S. Baccouche, W. Abdelli, M. Samaali, M. Oueslati, A. Trabelsi. *Uranium isotopes in Tunisian bottled mineral waters*. *Journal of Environmental Radioactivity* 101 (2010) 589-590
 20. F. H. Ammar, N. Chkir, K. Zouari, Z. Azzouz-Berriche. *Uranium isotopes in groundwater from the "Jeffara coastal aquifer" (southeastern Tunisia)*. *Journal of Environmental Radioactivity* 101 (2010) 681-691
 21. A. Camacho, R. Devesa, I. Vallés, I. Serrano, J. Soler, S. Blázquez, X. Ortega, L. Matia. *Distribution of uranium isotopes in surface water of the Llobregat river basin (Northeast Spain)*. *Journal of Environmental Radioactivity* 101 (2010) 1048-1054
 22. W. Kloppmann, A. Vengosh, C. Guerrot, R. Millot, I. Pankratov. *Isotope and Ion Selectivity in Reverse Osmosis Desalination: Geochemical Tracers for Man-made Freshwater*. *Environmental Sciences & Technology* 42 (2008) 4723-4731
 23. A. Vengosh, A. Starinsky, Y. Kolodny, A. R. Chivas. *Boron isotope geochemistry of thermal springs from the northern Rift Valley, Israel*. *Journal of Hydrology* 162 (1-2) (1994) 155-169
 24. Farhat, F. Ahmad, H. Arafat. *Analytical techniques for boron quantification supporting desalination processes: A review*. *Desalination* 310 (2013) 9-17
 25. M. Montaña, A. Camacho, I. Serrano, R. Devesa, L. Matia, I. Vallés. *Removal of radionuclides in drinking water by membrane treatment using ultrafiltration, reverse osmosis and electrodialysis reversal*. *Journal of Environmental Radioactivity* 125 (2013) 86-92.
 26. David Bodansky (2004). *Nuclear energy; principles, practices and prospects* 2nd Ed. 2004. 1996, Springer-Verlag, New York, LLC, page 199; note 10
 27. *Isotopic Compositions of the Elements 1989* Pure & Applied Chemistry, 63(7) (1991) 991-1002, 1991 IUPAC
 28. M. Pagani, D. Lemarchand, A. Spivack, J. Gaillardet. *A critical evaluation of the boron isotope-pH proxy: The accuracy of ancient ocean pH estimates*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 69(4) (2005) 953-961
 29. J. Farrell, W. D. Bostick, R. J. Jarabek, J. N. Fiedor. *Uranium Removal from Ground Water Using Zero Valent Iron Media*. *Groundwater* 37(4) (1999) 618-624
 30. S. M. Badawy. *Uranium isotope enrichment by complexation with chelating polymer adsorbent*. *Radiation Physics and Chemistry* 66 (2003) 67-71

Viabilidad del reaprovechamiento de residuos de PVC provenientes de cables eléctricos: propiedades mecánicas

E. Franco-Urquiza*, M.Ll. Maspoch
Centre Català del Plàstic. Universitat Politècnica de Catalunya.
C/Colom 114, 08222 Terrassa, España

Feasibility of reusing waste PVC from electric cables: mechanical properties

Viabilitat del reaprofitament de residus de PVC provinents de cables elèctrics: propietats mecàniques

Recibido: 4 de diciembre de 2013; revisado: 27 de enero de 2014; aceptado: 29 de enero de 2014

RESUMEN

En este trabajo se han evaluado las propiedades mecánicas de desechos de cloruro de polivinilo (PVC) provenientes de cables eléctricos. El residuo contenía 60% de PVC, 30% de polietileno, 7% de goma y 3% de fracción metálica. La fracción metálica fue separada de forma manual. La recuperación de PVC se realizó mediante el método de flotación. Se prepararon 6 mezclas de PVC con residuo (R). El PVC y las mezclas se ensayaron a tracción, obteniendo una reducción de la resistencia y la ductilidad al incrementar el contenido de residuo. Esta reducción en las propiedades mecánicas se halla relacionada con la heterogeneidad de los componentes de la mezcla.

Palabras clave: Cloruro de polivinilo; propiedades mecánicas; reciclado mecánico de PVC.

SUMMARY

In this work, the mechanical properties of poly-vinyl chloride (PVC) from waste electrical wires were evaluated. The waste was composed of 60 wt% PVC, 30 wt% PE, 7 wt% rubber and 3 wt% metallic fraction. The metal was removed manually. PVC was recovered using flotation method. Six PVC/waste blends were prepared. Tensile tests were performed on PVC and blends. Both strength and ductility were reduced as the waste content increased. The reduction in mechanical properties was caused by several heterogeneities present in the blends.

Keywords: poly-vinyl chloride, mechanical properties, mechanical recycling of PVC

RESUM

En aquest treball s'han avaluat les propietats mecàniques de deixalles de clorur de polivinil (PVC) provinents de cables elèctrics. El residu contenia 60% de PVC, 30% de polietilè, 7% de goma i 3% de fracció metàl·lica. La fracció metàl·lica va ser separada manualment. La recuperació de PVC es va realitzar mitjançant el mètode de flotació. Es van preparar 6 mescleres de PVC amb residu (R). El PVC i les mescleres es van assajar a tracció, obtenint una reducció de la resistència i la ductilitat en incrementar el contingut de residu. Aquesta reducció en les propietats mecàniques es troba relacionada amb l'heterogeneïtat dels components de la mescla.

Mots clau: Clorur de polivinil; propietats mecàniques; reciclatge mecànic de PVC.

*Autor para la correspondencia: edgar.adrian.franco@upc.edu

1. INTRODUCCIÓN

El PVC es un material que posee una combinación química de carbono, hidrógeno y cloro. Sus componentes provienen de la sal (57%) y del petróleo o gas natural (43%) principalmente, lo que le convierte en uno de los materiales poliméricos menos dependiente de combustibles fósiles ¹⁻³. Dentro de las características generales del PVC se pueden destacar tanto su elevada resistencia y baja densidad (aproximadamente 1.4 g/cm³) como su versatilidad en diversas aplicaciones gracias al uso de aditivos que le confieren rigidez o flexibilidad. Otra característica a resaltar es que el PVC es estable e inerte, por lo que se utiliza en productos sanitarios y tuberías de agua potable. También, el PVC destaca por sus propiedades ignífugas, y es ampliamente utilizado como aislante eléctrico. Su bajo coste y elevada rentabilidad, combinado con la amplia gama de productos que pueden ser obtenidos a partir de diferentes técnicas y condiciones de procesamiento hacen que el PVC se convierta en uno de los termoplásticos mayormente utilizados ^{1,2}. De hecho, el consumo de PVC ha llegado a superar los 35 millones de toneladas al año ^{1,3-6}. No obstante, esta enorme producción de PVC ha traído como consecuencia una gran expansión de residuos, por lo que su reciclaje ha adquirido una creciente importancia en la industria transformadora del plástico.

Hasta hace unos años, los desechos de PVC eran enviados a los vertederos. No obstante, esta alternativa ha comenzado a ser cada vez menos viable debido a la disminución de las áreas disponibles y del coste que genera. Otra alternativa es la incineración, la cual se lleva cabo junto con otros residuos sólidos urbanos. Esta última vía ha sido tema de controversia, ya que mientras algunos estudios señalan que la combustión de residuos de PVC no conlleva daños al medio ambiente, otros estudios indican que no siempre se puede controlar las emisiones, incrementando la posibilidad de riesgos ambientales asociados con el cloruro de hidrógeno ^{2,7-9}.

A pesar de que en la actualidad existen numerosos métodos y técnicas para el reciclado de plásticos, algunas de estas técnicas de reciclaje no llegan a ser del todo favorables para el reciclado de PVC, debido principalmente a la presencia del cloro en su estructura ⁷. En particular, el vertido y el compostaje no son los métodos más adecuados debido a los riesgos que podría suponer la degradación oxidativa del PVC para el medio ambiente ³. La incineración y la pirolisis también pueden llegar a ser contraproducentes a causa de las grandes cantidades de cloruro de hidrógeno y otros productos tóxicos que se liberan durante la calcinación del PVC ¹⁰. Por lo anterior, los métodos de reciclado químico y mecánico son lo que han dado hasta el momento los mejores resultados ¹.

El método de reciclado químico se basa en la descomposición del material para obtener monómeros con los cuales, a partir de un proceso de polimerización, se obtienen nuevos materiales y/o productos ^{7,10-12}.

El método de reciclado mecánico es un proceso físico que, por lo general, se lleva a cabo cuando se conoce la formulación del material (generalmente en un proceso petroquímico), y cuando se conoce la procedencia de los residuos sólidos urbanos (materiales post-consumo), muy importante en el caso del PVC.

Los procesos convencionales de reciclado mecánico implican la limpieza, la separación, la molienda y la transformación, y no conllevan ningún cambio en la composición

química del material. En el caso que se conozca la formulación del material, las etapas de limpieza y separación no suelen ser necesarias.

El volumen de los residuos de PVC a reciclar, la calidad y el costo de la ordenación y separación de los materiales, son algunos de los factores más importantes que determinan el costo final del PVC reciclado mecánicamente. Es sabido que la falta de homogeneidad, debido a la presencia de otros materiales termoplásticos y aditivos que contienen los residuos de PVC, es uno de los problemas a considerar dentro del reciclado mecánico, ya que da lugar a un material difícil de procesar y con fases no miscibles que conllevan complicaciones ya sea al momento del re-procesado o bien durante el proceso de transformación. Por lo anterior, surge la idea de realizar un trabajo de investigación cuyo objetivo general sea analizar el reaprovechamiento del reciclaje mecánico del PVC, utilizando como residuo material procedente de cables eléctricos. El objetivo particular del presente trabajo es evaluar la viabilidad de reciclaje del PVC para la fabricación de nuevos productos, en función de las propiedades mecánicas obtenidas a tracción.

2. MATERIALES

En este trabajo se utilizó el PVC comercial BENVIC® EPA-0100900AA, suministrado por Solvay Benvic, el cual es un PVC plastificado con una densidad de 1.38 g/cm³, una tensión a la rotura de 10 MPa y una deformación a la rotura de 225 %. Para las mezclas se utilizó un residuo (R) proveniente de cables eléctricos, el cual fue suministrado por una empresa autorizada de gestión de residuos de cable eléctrico con sede en Catalunya, España. Según esta empresa, la composición en peso de éste residuo puede llegar a ser de: 60% PVC, 30% polietileno, 7% goma y 3% fracción metálica.

3. MÉTODOS EXPERIMENTALES

Los cables eléctricos se constituyen básicamente de un alma conductora (alambre de cobre o aluminio) y un aislante (mezcla de PVC, polietileno y elastómeros). Durante el proceso de reciclado, lo primero que se retira es el material conductor debido a su valor comercial. No obstante, siempre quedan restos de metal que deben ser eliminados del residuo previo al reciclado.

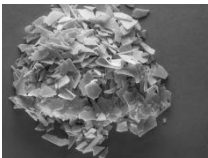
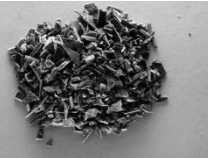
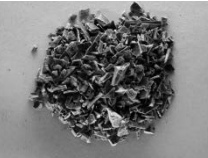
3.1. Preparación de las muestras

En este trabajo, la separación de la fracción metálica contenida en el residuo se llevó a cabo de forma manual, por lotes de aproximadamente 100 gr. Una vez retirado el metal, la recuperación de PVC se realizó mediante el método de separación por diferencia de densidades (conocido también como proceso de selección por flotación). Para ello, el residuo libre de metal se colocó dentro de un vaso de precipitado y se utilizó agua ($\rho = 1 \text{ gr/cm}^3$) como medio de suspensión. Posteriormente, el residuo de PVC recuperado se colocó dentro de una estufa con circulación forzada de aire (J.P. Selecta®) a 80°C durante 24 h.

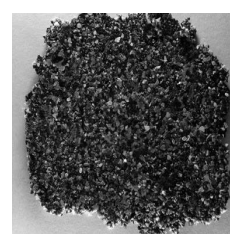
Las mezclas PVC/R se realizaron en una mezcladora de rodillos contrarotantes IQAP-LAP modelo RL-110. La temperatura de los rodillos fue de 210°C, y tanto la velocidad como la distancia entre los rodillos tuvieron que ser mo-

dificadas a conveniencia. A pesar de que la mezcladora de rodillos no proporciona un elevado grado de mezclado, es bastante eficaz para intentar evitar la degradación del PVC, el cual puede liberar ácido clorhídrico durante su descomposición. El procedimiento de mezclado es bastante simple, primero se coloca la mezcla PVC/R sobre los rodillos atemperados, haciéndola pasar poco a poco, y se aumenta la distancia entre los rodillos con la finalidad de obtener una película cada vez más gruesa. Posteriormente, la película obtenida se tritura para poder transformar el material. Es importante resaltar que el mismo procedimiento se aplicó al PVC virgen para poder comparar el efecto del contenido de residuo bajo un mismo tratamiento de mezclado. La **Tabla 1** muestra la nomenclatura y composición de los materiales analizados en este trabajo. Tanto el PVC como las mezclas PVC/R fueron transformadas mediante el proceso de compresión, utilizando una prensa de platos calientes IQAP-LAP modelo PL-15. Es importante resaltar que la preparación de placas, con un espesor homogéneo y una buena calidad superficial, conllevó un gran esfuerzo. En un principio se pensó en preparar placas sin hacer pasar el material a través de la mezcladora de rodillos. Así, utilizando solamente el residuo, al aplicar una temperatura de 210 °C y 11 bares de presión durante 1 minuto, se obtuvo una placa de 4 mm de espesor con muy poca homogeneidad y una gran cantidad de material no fundido (**Figura 2a**). La calidad de las placas no presentó variaciones significativas al aumentar la presión de compresión a 15 bares y la temperatura hasta 250°C, tal como se puede apreciar en la **Figura 2**.

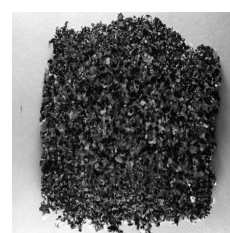
Tabla 1. Nomenclatura, composición nominal y apariencia física de los materiales empelados

Nomenclatura	Composición nominal en peso	Apariencia de la mezcla triturada
PVC	100 % PVC	
PVC/7R	93 % de PVC virgen + 7,5 % de residuo	
PVC/15R	85 % de PVC virgen + 15 % de residuo	
PVC/25R	75 % de PVC virgen + 25 % de residuo	

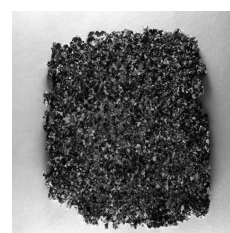
PVC/50R	50 % de PVC virgen + 50 % de residuo	
PVC/75R	25 % de PVC virgen + 75 % de residuo	
R	100 % residuo	



a)



b)



c)

Figura 2. Fotografías correspondientes a las placas de 100 % residuo, obtenidas mediante el método de compresión: a) compresión bajo las condiciones expuestas en métodos experimentales, b) compresión aumentando la temperatura (250°C) y c) compresión incrementando la temperatura (250°C) y la presión (15bares).

Debido a los resultados obtenidos, se decidió realizar dos pasos de compresión. Así, a la placa de la **Figura 2a**, se le aplicó nuevamente el proceso de compresión (bajo las mismas condiciones de presión y temperatura) pero utilizando ahora un marco de 1 mm de espesor, el resultado puede apreciarse claramente en la **Figura 3a**. A pesar de que ésta placa presentó una sustancial mejora superficial,

el material presentó poca adherencia entre sí, con lo cual la placa se rompía fácilmente sólo con ser doblada con las propias manos.

En base a lo anterior, se decidió pasar el residuo por la mezcladora de rodillos IQAP-LAP, y realizar dos pasos de compresión. De esta forma, el material ya mezclado y triturado se comprimió dos veces a una temperatura de 210 °C y una presión aplicada de 11 bares durante 1 min, obteniéndose finalmente una placa homogénea. El cambio visual es bastante notorio según se puede apreciar en la **Figura 3b**.

Este mismo procedimiento se aplicó tanto al PVC como a las mezclas PVC/R utilizando las concentraciones de residuo presentadas en la **Tabla 1**. Visualmente, las placas correspondientes a las mezclas PVC/R variaron de tonalidad en función del contenido de residuo, según se aprecia en la **Figura 4**.

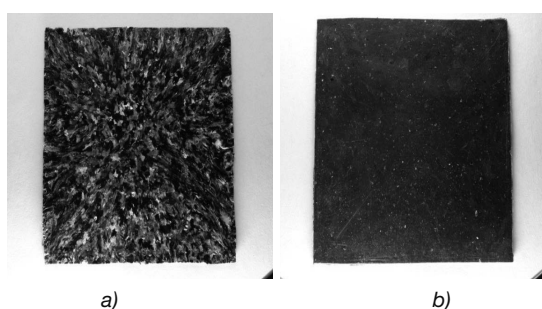


Figura 3. Fotografías correspondientes a las placas de 100 % residuo obtenidas mediante: a) mezclado manual y comprimida dos veces, y b) previamente mezclado mediante rodillos y comprimida dos veces.

A partir de las placas obtenidas se troquelaron probetas halterio tipo IV, utilizando una troqueladora CEAST modelo 6051. Las probetas fueron utilizadas para la caracterización mecánica de los materiales (**Figura 4**).

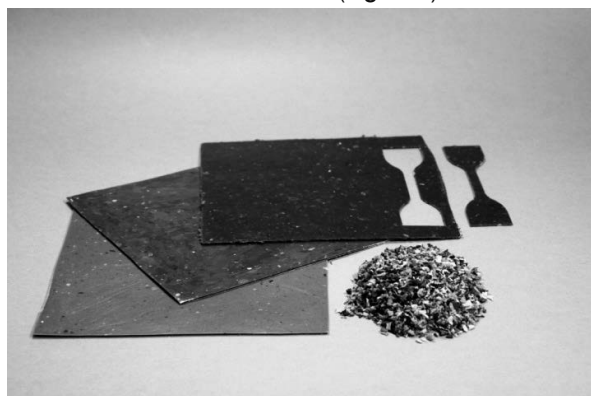


Figura 4. Fotografía correspondiente a la evolución de la tonalidad del color en las placas conforme se aumenta el contenido de residuo. Se aprecia también una probeta de tracción troquelada directamente de una de las placas.

3.2. Caracterización mecánica

La caracterización mecánica se llevó a cabo mediante ensayos a tracción uniaxial (siguiendo lo establecido por la norma ISO 527), utilizando una máquina de ensayos universal modelo Galdabini Sun 2500, equipada con una célula de carga de 5kN y un videoextensómetro Mintron OS-65D. Las probetas se ensayaron a una velocidad de separación de mordazas de 10 mm/min y temperatura

ambiente ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), y se obtuvieron las correspondientes curvas esfuerzo vs deformación. A partir de dichas curvas se determinó el esfuerzo máximo (σ_m) y la deformación a rotura (ϵ_p). Los valores presentados en este trabajo corresponden al promedio de al menos 8 ensayos válidos.

La observación de la superficie de rotura se realizó en una lupa microscópica modelo Carton.

3. RESULTADOS

3.1. Obtención de residuo

La selección por flotación permitió determinar la cantidad en peso de dos porciones de mezclas: una fracción ligera (en su mayoría compuesta de polietileno y goma, con densidades inferiores a la del agua), y una fracción pesada (no flotante) que correspondió mayoritariamente al PVC. La **Tabla 2** muestra los resultados de separación obtenidos. Según los resultados presentados en la **Tabla 2**, el residuo contenía aproximadamente un 77 % en peso de PVC.

Tabla 2. Composición promedio del residuo mediante separación por flotación

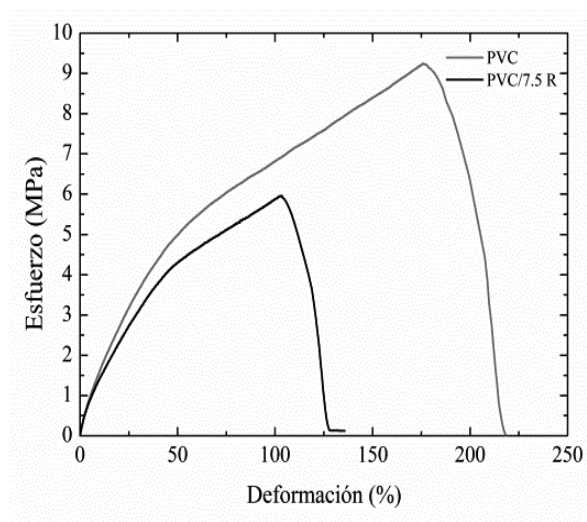
Muestra (100 g)	Fracción ligera (gr)	Fracción pesada (gr)
1	23.7	76
2	25.5	74.2
3	22.8	76.9
4	18.4	79.4
5	23	76.7

Contenido (%)	23 ± 0.03	77 ± 0.02
---------------	------------------	------------------

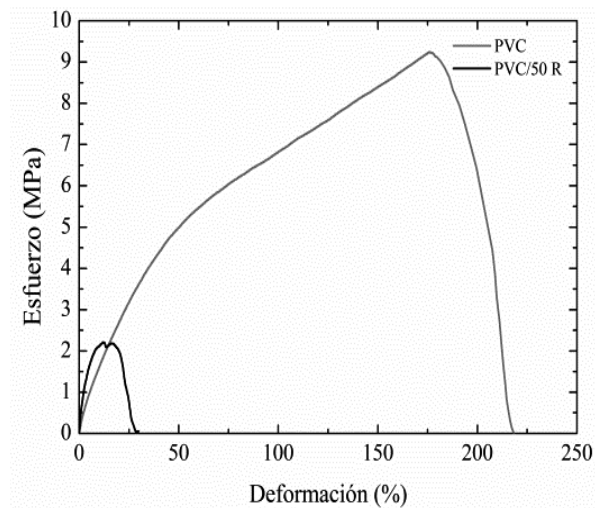
3.2 Propiedades mecánicas

La **Figura 5** muestra las curvas esfuerzo vs deformación correspondientes al PVC, al residuo y a las mezclas PVC/R.

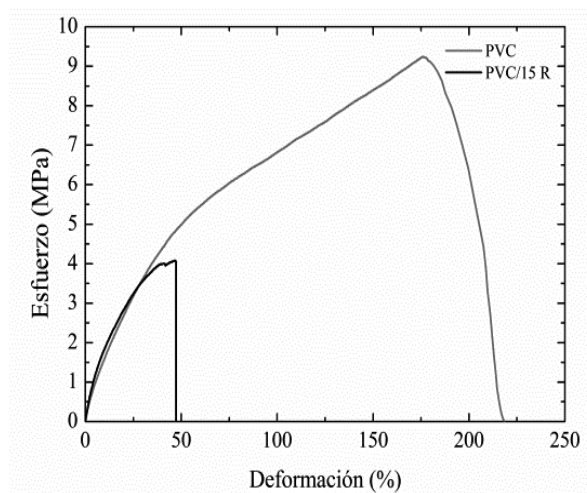
Todos los materiales ensayados rompieron de manera similar, sin evidenciar un claro punto de fluencia y alcanzando un valor de tensión máximo previo a la rotura. Físicamente, las probetas no presentaron una deformación localizada o cuello, estirándose homogéneamente hasta la rotura. La diferencia mayor se puede apreciar en la **Figura 5f**, donde el área bajo la curva del residuo disminuye drásticamente en comparación con la del PVC.



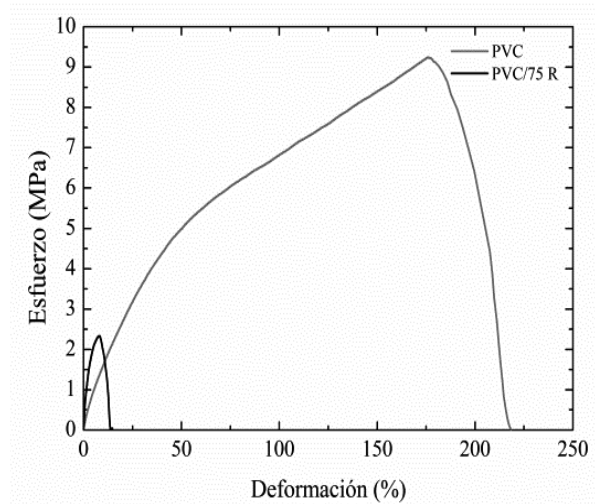
a)



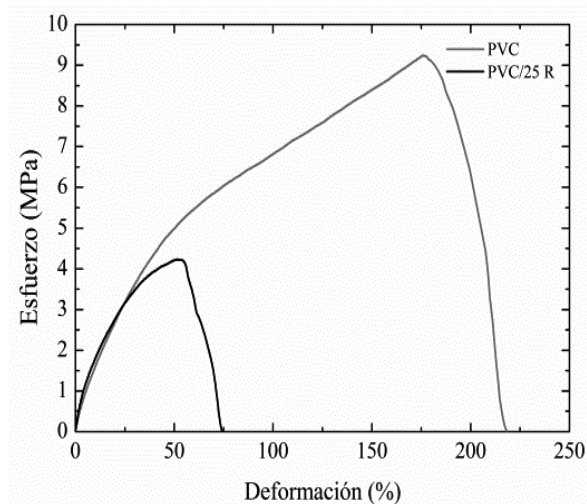
d)



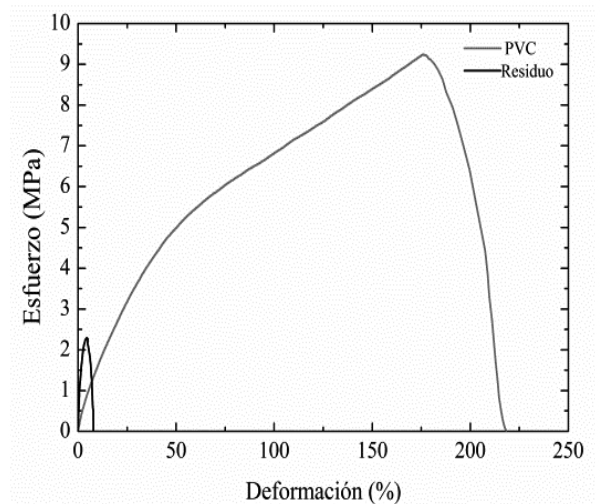
b)



e)



c)



f)

Figura 5. Curvas esfuerzo vs deformación representativas de: a) PVC/7.5R, b) PVC/15R, c) PVC/25R, d) PVC/50R, e) PVC/75R y f) PVC y 100 % residuo.

La **Tabla 3** presenta los parámetros mecánicos ($\sigma_{\text{máx}}$ y ϵ_b) obtenidos a partir de las curvas esfuerzo vs deformación.

Tabla 3. Parámetros mecánicos obtenidos en función del contenido de residuo

Contenido de residuo (%)	$\sigma_{\text{máx}}$ (MPa)	ϵ_b (%)
0	9.23 ± 1.03	268.4 ± 55.25
7.5	5.91 ± 0.73	155.4 ± 30.06
15	4.02 ± 0.35	85.32 ± 21.13
25	4.07 ± 0.57	77.21 ± 23.74
50	2.36 ± 0.35	28.78 ± 8.41
75	2.43 ± 0.096	14.4 ± 1.35
100	2.51 ± 0.33	7.27 ± 1.55

Tal como cabría de esperar, la tensión máxima y la deformación disminuyen drásticamente al incrementar el contenido de residuo. Lo anterior se podría atribuir principalmente a la heterogeneidad que presenta el residuo, con tamaños diversos de partículas no fundidas, tal como se puede apreciar en las imágenes correspondientes a la superficie de rotura de las probetas de tracción mostradas en la **Figura 6**.

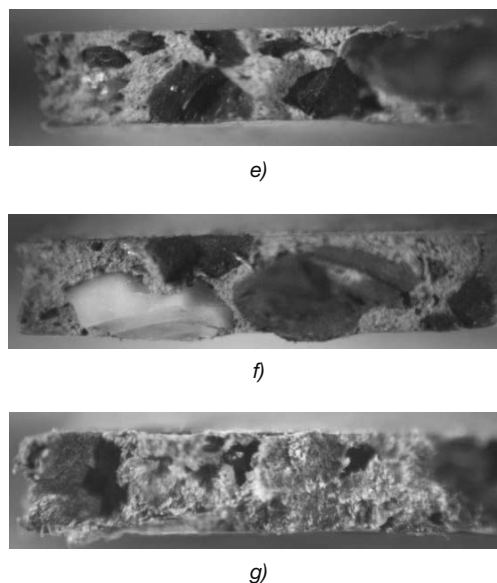
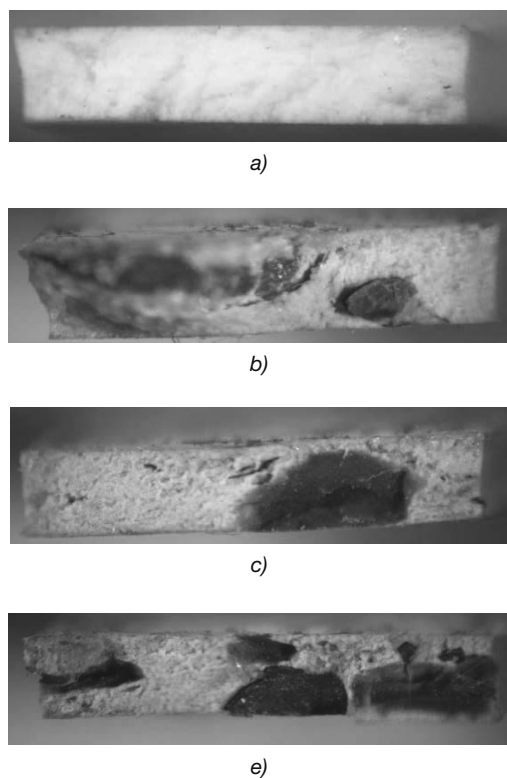
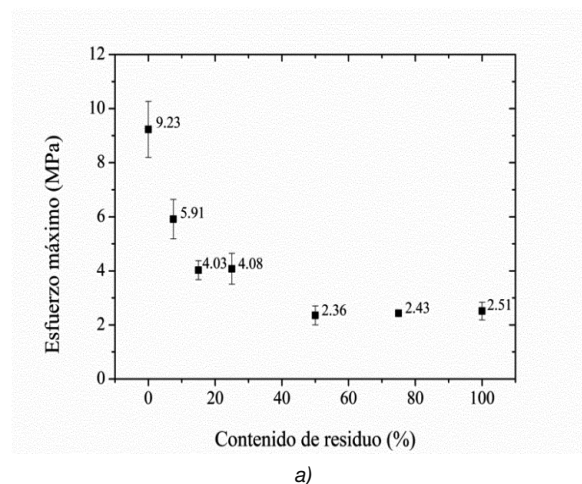


Figura 6. Fotografías correspondientes a la superficie de rotura del: a) PVC, b) PVC/7.5R, c) PVC/15R, d) PVC/25R, e) PVC/50R, f) PVC/75R y g) 100 % residuo.

EL PVC muestra una superficie de rotura muy homogénea y aparentemente sin cavitaciones (**Figura 6a**), mientras que la superficie de rotura de las mezclas PVC/R (**Figura 6b-g**) presentaron cavitaciones y varias partículas no fundidas de diversos tamaños. En la **Figura 6**, se puede apreciar que al aumentar el contenido de residuo, el número de partículas sin fundir aumenta notoriamente. En base a lo anterior, es posible asumir que éstas partículas no se encuentran completamente adheridas al PVC, con lo cual la resistencia disminuye, favoreciendo la rotura prematura del material, justificando así el bajo valor de resistencia y ductilidad obtenidos en las mezclas PVC/R.

La presencia de material no fundido podría deberse a que la mezcladora de rodillos no proporciona un adecuado mezclado del material. Además, durante la compresión, parte del material no llega a fluir completamente debido a la heterogeneidad del material, ya que al ser material reciclado, resulta muy difícil controlar la procedencia y composición exacta del residuo.

La **Figura 7** muestra la evolución de los parámetros mecánicos ($\sigma_{\text{máx}}$ y ϵ_b) obtenidos respecto al contenido de residuo.



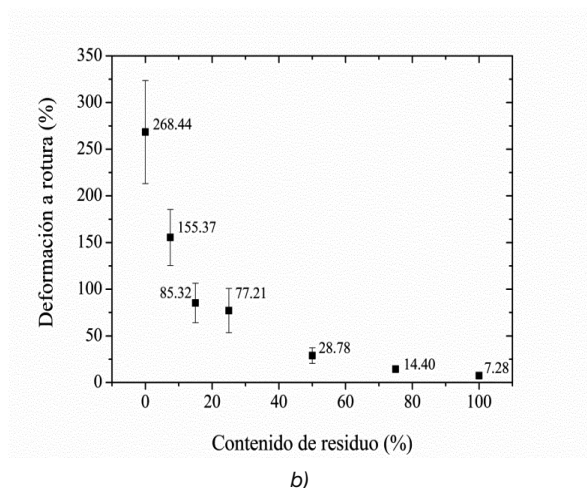


Figura 7. Efecto del contenido de residuo sobre: a) el esfuerzo máximo y b) la deformación a rotura.

Tal como se ha mencionado, al añadir el residuo al PVC, la resistencia disminuye. No obstante esta reducción no llega a ser continua, tal como se puede apreciar en la **Figura 7a**. Con un 7.5 % de residuo, la resistencia llega a disminuir aproximadamente un 36 %, mientras que con un contenido de residuo comprendido entre un 15-25 % en peso, la resistencia máxima disminuye hasta un 57 %; y finalmente, a partir de un 50 % de residuo, la resistencia disminuye un 74 % respecto a la del PVC.

A diferencia de lo observado en las tendencias obtenidas para el esfuerzo máximo, la deformación a rotura de las mezclas PVC/R tiende a disminuir continuamente al aumentar el contenido de residuo (**Figura 7b**). Así, con un 7% de contenido de residuo, la deformación disminuye un 42% respecto al PVC y hasta un 97% utilizando sólo residuo.

Es importante resaltar que al aumentar el contenido de residuo, la desviación estándar obtenida se reduce considerablemente debido a la poca dispersión de los resultados, lo cual se ha atribuido a la heterogeneidad del mezclado, ya que al aumentar el contenido de residuo se incrementa también el número de partículas no fundidas, las cuales impiden que el material alcance los valores de esfuerzo y deformación esperados.

4. CONCLUSIONES

En este trabajo se analizó el comportamiento mecánico de mezclas de PVC con el residuo proveniente de cables eléctricos.

La separación por flotación reveló que el residuo contenía aproximadamente un porcentaje promedio del 77 % en peso de PVC.

El residuo y las mezclas PVC/R necesitaron de dos pasos de moldeo por compresión para obtener placas con un espesor homogéneo y una buena calidad superficial. El PVC también fue sometido al mismo proceso de compresión para comparar adecuadamente los resultados.

El comportamiento mecánico mostró que tanto la resistencia como la ductilidad disminuyen al aumentar el contenido de residuo, y se atribuyó a la heterogeneidad de las mezclas y a la presencia de partículas no fundidas.

Los resultados experimentales obtenidos señalan que las mezclas de PVC/R poseen un rendimiento muy limitado en aplicaciones donde el material esté sometido a esfuerzos o cargas bajo tracción.

A pesar del pobre rendimiento mecánico obtenido, los autores consideran este trabajo un primer paso en la mejora de las propiedades mecánicas de mezclas PVC/R, y se encuentran aplicando nuevas rutas de mejora, dentro de las cuales se podrían destacar el uso de extrusoras que permitan obtener un adecuado mezclado de los materiales o bien, reducir y homogeneizar el tamaño del residuo a través de tamices.

5. REFERENCIAS

1. D. Braun, *Journal of Vinyl and Additive Technology* **7**, (4), 168-176 (2001).
2. B. A. Hegberg, W. H. Hallenbeck, and G. R. Brenni-man, *Resources, Conservation and Recycling* **9**, (1-2), 89-107 (1993).
3. N. Yarahmadi, I. Jakubowicz, and L. Martinsson, *Polymer Degradation and Stability* **79**, (3), 439-448 (2003).
4. D. Garcia, R. Balart, J. E. Crespo, and J. Lopez, *Journal of Applied Polymer Science* **101**, (4), 2464-2471 (2006).
5. M. Sadat-Shojai, and G.-R. Bakhshandeh, *Polymer Degradation and Stability* **96**, (4), 404-415
6. M. Wenguan, and F. P. L. Mantia, *Journal of Applied Polymer Science* **59**, (5), 759-767 (1996).
7. F. Burat, A. Güney, and M. Olgaç Kangal, *Waste Management* **29**, (6), 1807-1813 (2009).
8. A. S. Ditta, A. J. Wilkinson, G. M. McNally, and W. R. Murphy, *Journal of Vinyl and Additive Technology* **10**, (4), 174-178 (2004).
9. V. Matthews, *Plastics, Rubber and Composites Processing and Applications* **19**, (4), 197-204 (1993).
10. M. K. Patel, E. Jochem, P. Radgen, and E. Worrell, *Resources, Conservation and Recycling* **24**, (3-4), 191-215 (1998).
11. J. C. Arnold, and B. Maund, *Polymer Engineering & Science* **39**, (7), 1234-1241 (1999).
12. F. P. La Mantia, *Polymer Degradation and Stability* **37**, (2), 145-148 (1992).

Estudio de viabilidad económica de la implantación de bioceldas en una planta de tratamiento de aguas residuales

Justo Lobato^{a*}, P. Cañizares^a, M.A. Rodrigo^a, Laura Horcajada^a, F.J.

Fernández^b, Araceli González del Campo^b y Juan R. Trapero^c

^aDepartamento de Ingeniería Química. Universidad de Castilla-La Mancha. Edif. Enrique Costa Novella, Avda. Camilo Jose Cela n 12, 13071, Ciudad Real, España. ^b Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Castilla-La Mancha. ITQUIMA, Avda. Camilo Jose Cela s/n, 13071, Ciudad Real, España. ^c Departamento de Administración de Empresas. Universidad de Castilla-La Mancha. Edif. Iparraguirre, Avda. Camilo Jose Cela s/n, 13071, Ciudad Real, España

Economic assessment of microbial fuel cells for wastewater treatment and energy production. A juice industry case study

Estudi de viabilitat econòmica de la implantació de biocel·les en una planta de tractament d'aigües residuals

Recibido: 2 de octubre de 2013; revisado: 27 de enero de 2014; aceptado: 29 de enero de 2014

RESUMEN

Las aguas residuales generadas en la industria de los zumos se caracterizan entre otras cosas por presentar altas concentraciones de materia orgánica, la cual es muy costosa de eliminar con los tratamientos que existen actualmente. En los últimos años están surgiendo numerosos estudios en torno al uso de celdas de combustible microbiológicas o bioceldas como método de tratamiento de aguas residuales. En este artículo se ha realizado un estudio de viabilidad económica de la implantación de 10 bioceldas para tratar las aguas residuales generadas en una industria de este tipo. Para ello, se analizaron tres posibles escenarios que podrían darse utilizando estos sistemas y se compararon los resultados obtenidos con el uso de un reactor convencional de fangos activos. Los resultados obtenidos para el VAN mostraron que la utilización de bioceldas podría proporcionar un ahorro comprendido entre un 10 y 20 % aproximadamente dependiendo de si es un escenario pesimista u optimista, respectivamente, teniendo en cuenta un tiempo de vida de la planta de 15 años. El área de electrodo por celda considerada en este estudio fue de 0,36 m², la cual dio lugar a densidades de potencia algo más altas que las encontradas en la bibliografía. Por ello, se decidió realizar un análisis de sensibilidad considerando áreas de electrodo de 0,5 m² y 0,8 m² en las bioceldas. Se encontró que aún utilizando áreas de 0,5 m² el VAN seguiría siendo positivo en todos los escenarios considerados y para el valor de 0,8 m² se obtuvieron también resultados favorables en el escenario optimista. Estos resultados muestran que siempre que se cumplan los criterios establecidos en este estudio, la depuración mediante bioceldas en una industria de este tipo podría ser una alternativa más rentable que la depuración convencional mediante fangos activos.

Palabras claves: Aguas residuales; biocelda; economía; energía; VAN

SUMMARY

The juice industry wastewater is characterized by a high organic load concentration, which requires an expensive treatment. Recent investigations propose microbial fuel cells as a wastewater treatment alternative. This article reports an economic assessment of the implementation of 10 microbial fuel cells to deal with wastewaters in a juice industry. The proposed method was compared with the standard activated sludge treatment, where different scenarios were considered. The results show that the investment Net Present Value obtained by the bio cells could provide significant savings around 10 % and 20 % depending whether the scenario was either pessimistic or optimistic, respectively, for a plant lifetime of 15 years. The electrode area considered was set to 0.36 m², what resulted in power densities higher than previous results in the literature. In order to verify our results, a sensitivity analysis was carried out by varying the electrode area to 0.5 m² and 0.8 m². In summary, even for relatively high areas of 0.5 m² the Net Present Value was still positive for every scenario and for the area of 0.8 m², the optimistic scenario provided positive values. These results corroborate that the wastewater treatment based on microbial fuel cells may provide a profitable alternative with regards to the conventional activated sludge process.

Keywords: Wastewater; Microbial fuel cell; Investment Economics; Energy; Net Present Value

RESUM

Les aigües residuals generades en la indústria dels sucres es caracteritzen entre altres coses per presentar altes con-

*Autor para la correspondencia: Tel. +34 926 295 300; Fax: +34 926 295 318; Justo.Lobato@uclm.es; Juanramon.trapero@uclm.es

centracions de matèria orgànica, la qual és molt costosa d'eliminar amb els tractaments que existeixen actualment. En els últims anys estan sorgint nombrosos estudis entorn de l'ús de cel·les de combustible microbiològiques o biocel·les com a mètode de tractament d'aigües residuals. En aquest article s'ha realitzat un estudi de viabilitat econòmica de la implantació de 10 biocel·les per tractar les aigües residuals generades en una indústria d'aquest tipus. Per a això, es van analitzar tres possibles escenaris que podrien donar-se utilitzant aquests sistemes i es van comparar els resultats obtinguts amb l'ús d'un reactor convencional de fangs actius. Els resultats obtinguts per al VAN mostraren que la utilització de biocel·les podrien proporcionar un estalvi comprès entre un 10 i 20% aproximadament, depenent de si és un escenari pessimista o optimista, respectivament, tenint en compte un temps de vida de la planta de 15 anys. L'àrea d'elèctrode per cel·la considerada en aquest estudi va ser de 0,36 m², la qual va donar lloc a densitats de potència una mica més altes que les trobades en la bibliografia. Per això, es va decidir realitzar una anàlisi de sensibilitat considerant àrees d'elèctrode de 0,5 m² i 0,8 m² en les biocel·les. Es va trobar que encara utilitzant àrees de 0,5 m² el VAN seguiria sent positiu en tots els escenaris considerats i per al valor de 0,8 m² es van obtenir també resultats favorables a l'escenari optimista. Aquests resultats mostren que sempre que es compleixin els criteris establerts en aquest estudi, la depuració mitjançant biocel·les en una indústria d'aquest tipus podria ser una alternativa més rendible que la depuració convencional mitjançant fangs actius.

Mots clau: Aigües residuals; biocel·la; economia; energia; VAN

1. INTRODUCCIÓN.

La mayoría de los procesos de tratamiento de aguas residuales suelen requerir una gran cantidad de gasto energético. Por ello, hay una necesidad urgente de nuevos métodos sostenibles, asequibles, seguros y robustos para depurar el agua. Las celdas de combustible microbiológicas o bioceldas (*Microbial Fuel Cells*, *MFCs* en inglés) se presentan como una excelente opción a tener en cuenta para el tratamiento de aguas residuales, ya que, además de reducir la materia orgánica, la utilizan para generar energía y hacer así el proceso más sostenible. Las aguas residuales contienen energía en forma de materia orgánica biodegradable, la cual, con los tratamientos actuales se pierde con el fin de eliminar dicha materia orgánica, en lugar de tratar de recuperarla. Por ejemplo, en una estación de depuración de aguas en Toronto (Canadá), se estimó que en el agua residual había 9,3 veces más energía de la necesaria para el tratamiento de dicha agua (Shizas y Bangle, 2004).

Las celdas de combustible microbiológicas son sistemas bioelectroquímicos capaces de depurar un amplio rango de sustancias orgánicas, incluyendo distintos tipos de aguas residuales, y generar energía eléctrica en ese proceso de depuración. En el caso de aguas residuales esto equivale a decir que las MFCs son capaces de reducir la demanda química de oxígeno del agua al mismo tiempo que producen electricidad a partir de esa materia contaminante eliminada. En una celda de combustible microbiológica, un sustrato (generalmente materia orgánica)

es oxidado mediante un proceso biológico en el que los microorganismos liberan electrones a una superficie anódica. Los electrones fluyen a través de una carga externa, generando corriente eléctrica, y llegan hasta el cátodo, donde son liberados y son capaces de reducir un oxidante como es el oxígeno (Logan, 2008; Rabaey y col., 2005). De este modo, el oxígeno, en el compartimento catódico actúa como aceptor terminal de electrones y se transforma en agua cuando reacciona con los protones generados durante la oxidación de la materia orgánica contenida en el compartimento anódico. Por otro lado, existen varias formas de separar los dos compartimentos anódico y catódico, bien mediante un puente salino (Rodrigo y col., 2007), placas de grafito (Lobato y col., 2012) o mediante membranas poliméricas de intercambio protónico (González del Campo y col., 2013). En la bibliografía se pueden encontrar esquemas detallados del funcionamiento de estos sistemas (Cañizares y col., 2009).

Los ahorros de energía más significativos asociados al uso de estos sistemas para el tratamiento de aguas, además de la generación de electricidad, resultan de los gastos para la aireación y el manejo de sólidos. Los mayores costes de operación en el tratamiento de aguas residuales, residen en la aireación, el tratamiento del fango y el bombeo del agua. Sólo la aireación puede suponer la mitad de los costes de operación en una planta de tratamiento de aguas residuales (Logan, 2008). Eliminar estos costes puede suponer el ahorro de una cantidad apreciable de energía. La producción de fangos en un proceso anaerobio es aproximadamente un 20% menos que para los procesos aerobios. Así, usando celdas de combustible microbiológicas (proceso anaerobio), podría reducirse drásticamente la producción de sólidos en una planta de tratamiento de aguas residuales, reduciendo de esta forma, sustancialmente, los costes de operación para el tratamiento del fango.

En España, la industria de productos de alimentación y bebidas es la primera rama industrial, según la última Encuesta Industrial de Empresas del *INE*, a 31 de diciembre de 2011, representando el 19,66% de las ventas netas de producto, el 17,48% del empleo industrial, el 16,96% de las inversiones en activos materiales y el 15,29% del valor añadido. Debido a su importancia, parece interesante estudiar el tratamiento de las aguas residuales relativas a una industria de este tipo (web Magrama, 2013).

La generación de aguas residuales en las industrias productoras de zumos es de especial relevancia, dado su elevado consumo de agua. Aproximadamente, el 70-80% del consumo de agua se vierte en forma de aguas residuales. Los procesos anaerobios son factibles cuando las aguas presentan altas concentraciones de materia orgánica. Los efluentes contaminados de las industrias de zumos de frutas contienen altas concentraciones de materia orgánica (principalmente azúcares y grasas). Es interesante, entonces, llevar a cabo la degradación de la materia orgánica presente en las aguas residuales por una parte y, por otra, generar electricidad.

Desde este punto de vista, la instalación de un sistema de bioceldas, MFCs podría dar lugar a una disminución drástica de gran parte de los costes operativos de una planta de tratamiento de aguas residuales, proporcionando además, un beneficio extra, tanto económico como medioambiental, ya que:

- La energía eléctrica generada puede usarse para el movimiento de bombas y soplantes presentes en

la instalación, disminuyendo aún más los costes de electricidad en la planta.

- Se genera energía de forma limpia, sin perjudicar al medio ambiente.

Por todo lo expuesto hasta ahora, el objetivo principal del presente trabajo es analizar si sería viable económicamente instalar este tipo de sistema como tratamiento biológico en el proceso de depuración de las aguas residuales generadas en una industria de zumos.

El artículo se estructura de la siguiente forma: la sección 2 formula el problema y describe el caso de estudio; la sección 3 expone los principales resultados y finalmente, la sección 4 resume las conclusiones del trabajo.

2. PLANTEAMIENTO DEL CASO.

El propósito de la utilización de celdas de combustible microbiológicas para el tratamiento de las aguas residuales de una industria de zumos radica en tratar el agua y obtener durante este proceso un producto de valor agregado como es la electricidad. Es decir, ver el tratamiento del agua no sólo como algo necesario para la sustentabilidad, sino también como un proceso que valoriza la materia orgánica presente.

Normalmente, el proceso de tratamiento típico del agua residual instalado en una industria de zumos consta de las etapas que se mencionan a continuación (El-Kamah y col., 2010).

Etapas de pretratamiento. El primer paso consiste en eliminar los residuos sólidos y las partículas procedentes del lavado de la fruta (desbaste). Tras ello, el efluente se bombea hasta un tanque de homogeneización que servirá para almacenar y a la vez mezclar los efluentes procedentes del proceso de producción de los distintos zumos para obtener un único efluente que pueda ser enviado a la segunda etapa de depuración de aguas residuales, el reactor biológico.

Etapas de tratamiento biológico mediante fangos activos. Esta es la etapa principal y tiene como objetivo degradar la materia orgánica disuelta en el efluente homogeneizado. Es la etapa en la que se va a eliminar la mayor parte de la carga contaminante del efluente y se realiza mediante el uso de microorganismos, proceso comúnmente conocido como fangos activos. Tras llevar a cabo esta etapa se comprueba que el efluente obtenido ya cumple con los límites de vertido a la red de alcantarillado. Este proceso es de tipo aerobio por lo que precisa de aireación prolongada proporcionada por soplares, lo que da lugar a una cantidad importante de gastos eléctricos para mantener esta aireación.

Decantador secundario. En este punto, se procede a la clarificación del efluente mediante la separación del fango, se obtienen dos corrientes:

- Corriente de fango: éste sedimentará en la parte de abajo del decantador. Una parte de este fango será recirculado de nuevo al reactor biológico con el fin de mantener la concentración de microorganismos presentes y la otra se conducirá a un proceso de tratamiento con el fin de deshidratarlo y poder gestionarlo.
- Corriente efluente final: que corresponde con el agua tratada y cumple los límites de vertido a la red de saneamiento público.

Espesado del fango y deshidratación. Estos dos pasos corresponden con los procesos de tratamiento del fango con el fin de poder gestionarlo y consta de dos pasos:

- Espesado: se tiene un espesador por gravedad con el objetivo de reducir el volumen del fango a tratar antes de llevarlo a deshidratación.
- Deshidratación: mediante una máquina centrífuga se consigue deshidratar un porcentaje importante del fango para poder ser gestionado correctamente. Una parte de éste es recirculado al inicio del proceso de tratamiento.

Tras todo el proceso de tratamiento se obtiene un efluente final de calidad apta para vertido a la red de alcantarillado y, como único residuo, un fango biológico que ha de ser enviado a un gestor de residuos.

En la planta que se ha tomado como base para realizar el estudio económico únicamente se ha sustituido la etapa de tratamiento biológico mediante fangos activos por un sistema de celdas de combustible microbiológicas, que lleven a cabo la eliminación de la mayor parte de la carga orgánica contenida en el agua residual, igualmente, mediante la utilización de microorganismos, pero en este caso anaerobios. De esta forma el esquema de la planta quedaría como se muestra en la Figura 1, siendo un sistema más sostenible con un valor agregado y ahorro de energía.

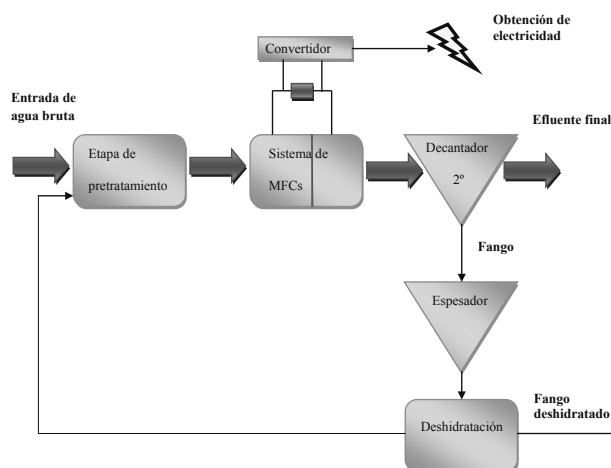


Figura 1: Diagrama de flujo del sistema de depuración de aguas residuales en una industria de zumos utilizando celdas de combustible microbiológicas.

En cuanto a la arquitectura del sistema de celdas de combustible microbiológicas, se decidió seleccionar un total de 10 MFCs conectadas en serie, con unas dimensiones de 2,25 m³ para el ánodo y 1,125 m³ para el cátodo cada una de ellas.

Cada una de las celdas consiste en un depósito de metacrilato de 20 mm de espesor con una ventana en la pared que separa ambos compartimentos, donde se instala la correspondiente membrana de intercambio protónico (llamada PEM debido a sus iniciales en inglés).

En cuanto a los electrodos, tanto los ánodos como los cátodos son de tela de carbón con una superficie de 0,36 m² cada uno de ellos. La membrana de intercambio protónico se sitúa en la pared que separa el compartimento anódico y catódico, en su parte central y permite el tránsito de protones del ánodo al cátodo. Cada una de las PEM tiene una superficie de 0,49 m².

Para definir el sistema que se propone hay que tener en cuenta un parámetro importante como es el tiempo de residencia. El tiempo de residencia representa el tiempo promedio que los reactivos permanecen en el interior del reactor y se calcula mediante la Ecuación 1.

$$t_{\text{residencia}} = \frac{V}{Q} \quad [1]$$

Siendo V (m^3) el volumen del reactor y Q (m^3/h) el caudal de alimentación a tratar.

Se ha tomado como base de cálculo un caudal de aguas residuales a tratar de $54 m^3/\text{día}$ y sabiendo que el volumen del reactor se corresponde con el volumen total del compartimento anódico, se aplicó la Ecuación 1 para conocer el tiempo de residencia. El valor que se obtuvo es de 10 horas. Este valor coincide con otros estudios realizados. El grupo de El-Kamah utilizó el mismo valor (El-Kamah y col., 2010), mientras que el grupo de Fornero utilizó un tiempo de residencia de 8 horas (Fornero y col., 2010).

Otra variable importante a tener en cuenta es la potencia producida en una celda de combustible microbiológica, que no sólo depende del diseño de la misma sino también de otros factores, entre los que cabe destacar por su importancia, el catalizador utilizado en el cátodo (Morris y col., 2007). En el cátodo se produce la reducción del oxígeno la cual es muy lenta a temperatura ambiente e influye directamente en la corriente eléctrica producida por el circuito externo. Así, dependiendo de si se usa o no catalizador en el cátodo se obtiene un valor determinado de voltaje que afecta a la potencia generada según la Ecuación 2.

$$P = V \cdot I \quad [2]$$

Uno de los catalizadores más efectivos y más utilizados en las celdas de combustible microbiológicas es el platino (Logan y col., 2006). Por ello, el presente estudio se llevó a cabo considerando cátodos con platino. Por lo tanto se definen dos casos:

- CASO A. Depuración del agua residual utilizando celdas de combustible microbiológicas con catalizador de platino en los cátodos.
- CASO B. Depuración convencional mediante un reactor de fangos activos.

A continuación, se procede a detallar los cálculos necesarios para obtener el valor de la potencia teórica generada en el Caso A.

Será necesario definir en primer lugar el término de eficiencia culómbica. Se define como el porcentaje de electrones que se consiguen obtener en forma de corriente eléctrica a partir de la materia orgánica. La eficiencia culómbica (CE) se podría expresar mediante la siguiente relación:

$$CE = \frac{\text{culombios recuperados como energía}}{\text{culombios totales en el sustrato}} \quad [3]$$

A partir de la Ecuación 3, integrando el valor de la corriente obtenida al cabo de un tiempo conocido y operando la expresión, se obtiene el número de culombios totales transferidos en nuestro sistema (Logan y col., 2006; Cheng y col., 2006). Así, puede calcularse la eficiencia culómbica de una celda de combustible microbiológica mediante la Ecuación 4.

$$CE = \frac{8 \cdot I}{F \cdot Q \cdot \Delta DQO} \quad [4]$$

Los términos que intervienen en la Ecuación 4 son los siguientes: La DQO es la demanda química de oxígeno. Es un parámetro que mide la cantidad de sustancias susceptibles de ser oxidadas (concentración de materia orgánica) por medios químicos en una muestra de agua. Se utiliza para medir el grado de contaminación y se expresa en miligramos de oxígeno por litro (mgO_2/L); 8 es una constante usada para la DQO , basada en el peso molecular del oxígeno y los electrones intercambiados ($M_{O_2}=32$ y 4 electrones intercambiados por mol de oxígeno), dividiendo ambos términos se obtiene este valor; I (A) es la intensidad de corriente que circula a través del sistema; F es la constante de Faraday cuyo valor corresponde con $96.500 C/mol$; el término Q es el caudal volumétrico (L/s) e ΔDQO es la cantidad de DQO eliminada.

Una vez definida la eficiencia culómbica, se puede calcular el valor de la intensidad de corriente que se tiene. Despejando la intensidad de la Ecuación 4, se llega a la Ecuación 5.

$$I = \frac{CE \cdot F \cdot Q \cdot \Delta DQO}{8} \quad [5]$$

Como se puede observar en la Ecuación 5, la intensidad de corriente I (A) que circula por el sistema es función de: la eficiencia culómbica que se alcance, CE ; la constante de Faraday, F , cuyo valor se corresponde con $96.500 C/mol$; el caudal volumétrico, Q , que se tiene en el sistema (L/s); y la cantidad de DQO eliminada, ΔDQO (g/L).

En el presente estudio, se consideró que las aguas residuales procedentes de la industria de zumos suelen tener una DQO inicial de 15.000 ppm aproximadamente. Teniendo en cuenta que la calidad final del agua debe ser apta para su vertido a la red de saneamiento público, se asumió que el porcentaje de eliminación de DQO alcanzado con las celdas de combustible microbiológicas es de un 90%. Se comparó este dato con los de la bibliografía para verificar que en diferentes experimentos similares realizados a escala de laboratorio se alcanzaron resultados parecidos. Se comprobó que el grupo de Shimoyama llegó a un 95% de eliminación de DQO (Shimoyama y col., 2008), mientras que el grupo de Liu alcanzó un 80% con un tiempo de retención de 6 horas (Liu y col., 2004), y el grupo de He consiguió alcanzar un 90% de eliminación de DQO (He y col., 2005).

Se consideraron valores de eficiencia culómbica entre un 2 y un 30%. No se consideraron valores mayores debido a que los microorganismos necesitan utilizar parte de la energía para realizar sus funciones vitales (Rodrigo y col., 2007).

En la Tabla 1 se presentan los resultados que se obtuvieron en el cálculo de la intensidad de corriente suponiendo distintos valores de eficiencia culómbica.

Tabla 1: Resultados de intensidad de corriente y densidad de corriente en función de la eficiencia culómbica.

CE (%)	Intensidad de corriente (A)	Densidad de corriente (A/m^3)
2	203,5	90,47
5	508,9	226,17
10	1.017,8	452,34
15	1.526,7	678,52
20	2.035,5	904,68
30	3.053,3	1.357,03

Como se puede observar en la Tabla 1, al aumentar la eficiencia culómbica, aumenta también la intensidad de corriente. Esta tendencia es lógica porque un valor de eficiencia culómbica mayor significa que los microorganismos utilizan mayor cantidad de energía en la producción de electricidad, es decir, se recupera mayor cantidad de culombios como energía, según muestra la Ecuación 3. Se han mostrado los valores de intensidad también en términos de densidad de corriente para poder comparar los resultados obtenidos con los de la bibliografía. El grupo de Fan (Fan y col., 2012) alcanzó una densidad de corriente de 7.600 A/m³, mientras que el grupo de Dekker (Dekker y col., 2009) obtuvo 30A/m³, por lo que se comprueba que los valores teóricos obtenidos se encuentran dentro del rango alcanzado por otros autores.

En función de los resultados obtenidos se seleccionaron tres posibles escenarios de análisis para el Caso A:

- Escenario optimista: Se consideró una eficiencia culómbica del 20%.
- Escenario medio: Se escogió un valor de eficiencia culómbica del 10%.
- Escenario pesimista: Se seleccionó una eficiencia culómbica del 5%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Valores de densidad de potencia.

Con el fin de que el procedimiento seguido quede claro se muestran los cálculos realizados para el escenario optimista a modo de ejemplo. Para ello, se parte de los datos que aparecen en la Tabla 1, que para el escenario optimista se corresponden con un valor de eficiencia culómbica (CE) del 20 % y una intensidad de corriente (I) de 2035,5 A. Se supuso un valor de 0,7V/celda (Morris y col., 2007), que es un valor típico cuando se utilizan cátodos con platino, siendo el valor total de 7V para las 10 celdas, ya que al estar dispuestas en serie, el valor del voltaje se suma. Siguiendo con el ejemplo de cálculo, se sustituye el valor de intensidad de corriente (I) para el escenario optimista y el voltaje considerado (V) en la Ecuación 2, obteniéndose así el valor de la potencia (P) para este escenario. Es importante destacar que se consideró un valor de pérdidas energéticas del 10% al realizar el cálculo de la potencia (P), por ello se multiplica por 0,9. Esta acción se llevó a cabo para compensar pérdidas tanto de la caída de tensión como las asociadas al convertidor DC-AC. Por tanto, el cálculo queda de la siguiente forma:

$$P_{\text{optimista}} = 7V \cdot 2035,5A \cdot 0,9 = 12823,9W$$

Por último, una vez se obtuvo el valor de la potencia para cada escenario, únicamente fue necesario calcular la densidad volumétrica de potencia (W/m³) mediante la ecuación 6, dividiendo la potencia (P) entre el volumen del ánodo (V), con objeto de normalizar los valores obtenidos y poder compararlos con la bibliografía para confirmar que coinciden.

$$\text{Densidad de potencia} = \frac{P}{V} \quad [6]$$

Se recuerda que el volumen del compartimento anódico de cada celda es de 2,25m³ y que se han considerado 10 celdas, por lo que el volumen total del ánodo es de 22,5m³

Sustituyendo los valores del escenario optimista en la ecuación 6 se tiene:

$$\text{Densidad de potencia}_{\text{optimista}} = \frac{12823,9W}{22,5m^3} = 569,9 \frac{W}{m^3}$$

En la Figura 2 se puede observar cómo varía la densidad de potencia en función de la eficiencia culómbica para cada porcentaje de eliminación de DQO. Se han marcado mediante tres líneas horizontales los escenarios que se seleccionaron para realizar el análisis económico.

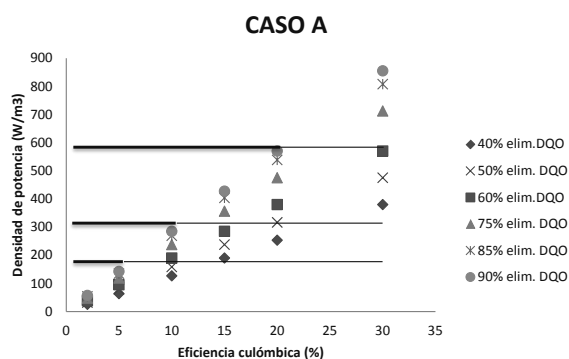


Figura 2: Variación de la densidad de potencia frente a la eficiencia culómbica en el Caso A.

En cuanto a la cantidad de DQO eliminada, a la vista de los resultados obtenidos, se puede explicar fácilmente su tendencia, ya que al aumentar el porcentaje de eliminación de DQO la intensidad obtenida es mayor también (Ecuación 5), aumentando así la potencia según la Ecuación 2, ya que el voltaje permanece constante. Al aumentar la densidad de potencia se produce mayor cantidad de electricidad por m³ de agua residual tratada.

En la Figura 2, puede apreciarse también cómo el escenario medio se puede alcanzar también con una eficiencia culómbica del 15% y un 60% de eliminación de DQO. A pesar de generar la misma cantidad de electricidad, en esta situación no se conseguiría verter el agua por debajo de los límites permitidos. De igual manera ocurre con el escenario optimista, que también se podría alcanzar con una eficiencia culómbica del 30% y un 60% de eliminación de DQO pero sucedería lo mismo que en el escenario medio. En la Tabla 2 se resumen los valores de diferentes parámetros energéticos obtenidos para cada escenario en el Caso A. Se compararon los resultados mostrados en la Tabla 2 con los de la bibliografía, y se comprobó que se encuentran dentro del rango obtenido por otros autores. Así, el grupo de Fan consiguió alcanzar 1,01 kW/m³ en el año 2007 y en el año 2012 llegaron a obtener 2,08 kW/m³ (Fan y col., 2007; Fan y col., 2012). Por otro lado, también se recogen valores más pequeños como los 0,011 kW/m³ que obtuvo el grupo de Dekker (Dekker y col., 2009).

Tabla 2: Valores de Intensidad (I), potencia (P_{total}) y densidad de potencia (P_{dens}) volumétrica, en función del volumen de ánodo, en kW/m³ o geométrica, en función del área de los electrodos, en kW/m² obtenidos para cada escenario en el Caso A.

	CASO A			
	I (A)	P _{total} (kW)	P _{dens} (kW/m ³)	P _{dens} (kW/m ²)
Escenario optimista	2035,5	12,8	0,57	3,56
Escenario medio	1017,8	6,4	0,29	1,78
Escenario pesimista	508,9	3,2	0,14	0,89

3.2. Criterio de viabilidad económica.

El criterio de viabilidad económica que se utilizó con el fin de determinar cuál de las opciones sería la más adecuada (Caso A o Caso B) fue el Valor Actual Neto (VAN) y la Tasa Interna de Rentabilidad (TIR) (Trapero y col., 2013). El VAN se puede calcular a partir de la Ecuación 7.

$$VAN_k = -A + \sum_{i=0}^n \frac{Q_i}{(1+k)^i(1+\lambda)^i} \quad [7]$$

Donde: A es el capital requerido o desembolso inicial; Q_i es el valor del flujo de caja obtenido en el año i ; k es la tasa de descuento, que en la Ecuación 7 se establece como la rentabilidad mínima, la cual se ha supuesto constante; n es el número de años de vida útil que se espera del proceso y λ se corresponde con el valor de la inflación anual. De acuerdo con la Ecuación 7, si el valor del VAN es mayor que cero el proyecto se considera rentable, en cambio si el VAN es menor que cero el proyecto no será rentable. Además del VAN, otro criterio comúnmente empleado para analizar la viabilidad económica de una inversión es la TIR, el cual se define como la tasa de descuento (k) que hace que el VAN sea igual a cero, como muestra la Ecuación 8:

$$-A + \sum_{i=0}^n \frac{Q_i}{(1+TIR)^i(1+\lambda)^i} = 0 \quad [8]$$

Aplicando esta ecuación, un proyecto se considera rentable si la TIR es mayor que la rentabilidad mínima.

La primera variable que se analizó a la hora de realizar el cálculo del VAN fue el **Desembolso Inicial (A)** para cada una de las alternativas. Únicamente se tuvo en cuenta el coste de los equipos y materiales asociados al tratamiento biológico en cada caso, ya que el resto de los costes se consideró igual tanto para el Caso A como para el Caso B. Las partidas consideradas para el cálculo del desembolso inicial en el Caso A fueron las siguientes:

- **Depósitos de metacrilato.** Utilizados en la construcción de las celdas de combustible microbiológicas.
- **Electrodos.** Incluyendo tanto a los ánodos como a los cátodos. Al utilizar platino en los cátodos el precio de éstos es más elevado que de los ánodos.
- **Membranas PEM.** Situadas en cada una de las celdas para permitir el paso del ánodo hacia el cátodo de los iones H^+ necesarios para que se produzca la reacción de reducción.
- **Convertidor DC-AC.** Se utilizó para transformar la corriente eléctrica producida por las celdas de corriente continua a corriente alterna.
- **Bombas.** Se consideró instalar dos, una de ellas de reserva. Existiendo una única bomba en funcionamiento cuya potencia es de 0,75 kW que sería capaz de bombear el agua residual a las 10 celdas.
- **Soplante.** Proporciona oxígeno en el compartimento catódico necesario para llevar a cabo la reacción redox y formar agua. La potencia del motor es de 5,5 kW mientras que la potencia absorbida se corresponde con un valor de 4,6 kW. Igualmente, se concluyó que una única soplante sería necesaria para proporcionar el oxígeno al compartimento catódico de cada una de las 10 celdas de combustible microbiológicas instaladas.

Las partidas que se tuvieron en cuenta en el Caso B son las que se muestran a continuación:

- **Bombas.** Al igual que en el Caso A se consideró instalar dos, siendo una de ellas de reserva, con las mismas características. En este caso la bomba impulsaría el agua residual para su tratamiento en el reactor biológico de fangos activos convencional.
- **Soplante.** Proporciona oxígeno en todo el volumen del reactor biológico de fangos activos y las características que presenta son las mismas que en el Caso A.
- **Reactor de fangos activados.** Se refiere al coste del reactor aerobio en sí utilizado como tratamiento biológico del agua residual en este caso. Tras consultar con expertos en el tema, se consideró disponer de un reactor biológico de fangos activos con un volumen de 100 m³ por ser el más comúnmente utilizado.

En la Tabla 3 se presenta el desembolso inicial que se calculó para cada caso. Concretamente, se estimó que el desembolso inicial del Caso A es un 24 % superior al Caso B. El precio de las distintas partidas se obtuvo consultando a diferentes empresas especializadas en el sector.

Tabla 3: Costes de los equipos para el cálculo del desembolso inicial (€).

	CASO A	CASO B
Depósitos	34.300	-
Electrodos (Ánodos)	1.500	-
Electrodos (Cátodos)	3.300	-
Membranas PEM	4.200	-
Convertidor DC-AC	500	-
Bombas	500	500
Soplante	500	500
Reactor convencional	-	35.000
Desembolso inicial (A)	44.800	36.000

3.2.1. Cálculo de los flujos de caja.

El siguiente paso que se siguió con el fin de obtener el valor del VAN fue llevar a cabo el cálculo de los **Flujos de Caja (Q)** obtenidos en cada año de vida de la planta.

En el caso particular de este estudio, no se obtiene beneficio económico anual alguno, ya que la energía que se produce no se vende, sino que se destina a abastecer el sistema y por ende, a reducir el consumo energético total. Para poder realizar el cálculo de los flujos de caja se supuso que los pagos coinciden con la suma de los gastos operativos y los gastos extra que se pudieran producir debido a repuestos de alguno de los equipos o materiales utilizados cuando finalizara su tiempo de vida útil, como por ejemplo, cambio de los electrodos o las membranas de intercambio protónico en el caso de las celdas de combustible.

• Cálculo de los flujos de caja para el Caso B.

En primer lugar, se procedió al cálculo de los gastos operativos anuales correspondientes con esta opción.

En una planta de depuración de aguas residuales los gastos operativos se pueden desglosar en distintas partidas, y cada una de ellas se corresponde con un porcentaje de los gastos operativos totales. En la Tabla 4 se muestran las distintas partidas a tener en cuenta así como el porcentaje que suponen cada una de ellas respecto a los gastos ope-

rativos totales cuando se utiliza un reactor biológico de fangos activos (Escapa, 2012).

Tabla 4: Porcentajes que corresponden a cada una de las partidas de los gastos operativos para el tratamiento de aguas residuales cuando se utiliza un reactor de fangos activos.

Gastos operativos (partidas)	% Gastos operativos totales
Laboral	35,4
Mantenimiento	10
Formación	0,6
Seguros	1
Gestión de Fangos	19
Electricidad consumida	34

Mediante este método de porcentajes se calcularon los gastos operativos que se tendrían si se elige la opción del tratamiento biológico convencional (Caso B). Conocido el consumo eléctrico se calcularon los gastos operativos totales y a partir de éstos se calcularon el resto de las partidas.

La partida relativa a la electricidad consumida se obtuvo a partir del consumo eléctrico diario de cada uno de los equipos que intervienen en la planta depuradora, siendo el valor total de 96,05 kWh/día. El precio de la electricidad, incluyendo también el coste fijo de electricidad e impuestos se estimó en 0,09 €/kWh.

Así, aplicando los porcentajes que aparecen en la Tabla 4 se tienen los gastos operativos para las diferentes partidas del Caso B. Éstos se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5: Resultados para las diferentes partidas de los gastos operativos del Caso B.

CASO B	
Partidas	Gastos operativos (€/año)
Laboral	3.285
Mantenimiento	928
Formación	56
Seguros	93
Gestión de Fangos	1.763
Electricidad consumida	3.155
Total	9.280

Para calcular los flujos de caja en el Caso B se asume que los pagos correspondientes a cada año coinciden con los gastos operativos y una inflación anual del 2%, además se considera un tiempo de vida de la planta de 15 años. La Tabla 6 muestra los flujos de caja para el Caso B, así como para el Caso A, los cuales se detallan a continuación.

• Cálculo de los flujos de caja para el Caso A.

Para obtener en este caso el valor de las distintas partidas correspondientes a gastos operativos, se consideró que se mantendrían constantes respecto del Caso B los gastos operativos relativos a las partidas: Laboral, Mantenimiento, Formación y Seguros. Si se aprecian cambios en las partidas de Gestión de Fangos y Electricidad consumida.

Para obtener los gastos de operación relativos a la gestión de fangos se tuvo en cuenta que los fangos en procesos anaerobios, como el que se está estudiando, se reducen en un 20% respecto de los procesos aerobios. Se asumió de esta forma que los gastos correspondientes a la gestión de los mismos se reducen igualmente en un 20%.

Así, en el Caso A los gastos de gestión de fangos se consideraron un 80% del resultado obtenido para el Caso B. La electricidad total consumida en la planta puede dividirse en tres partidas:

- Gastos fijos de electricidad: bombeo, consumo de luz en la planta, etc. Este valor fijo coincide en ambos casos de estudio (A y B).
- Electricidad consumida en aireación. Se refiere al consumo eléctrico de la soplante. En el Caso B es mayor debido a que se corresponde con la electricidad necesaria para airear el reactor de fangos activos en su totalidad. En el Caso A es menor, ya que únicamente se airean los cátodos cuyo volumen es más pequeño.
- Electricidad generada por las celdas. Ésta depende de la densidad de potencia producida en cada escenario. En el Caso B al tratarse del tratamiento convencional, la electricidad generada será cero.

Así, la electricidad total consumida, es decir, la electricidad que se compra, se expresa según la Ecuación 9.

$$Electricidad\ consumida = G.Fijos + G.aireación - E.generada \quad [9]$$

Se sabe que el consumo eléctrico diario de la soplante es de 55,2 kWh/día para un reactor biológico con un volumen de 100 m³ como el del Caso B. Teniendo en cuenta esto y el precio de la electricidad se pueden calcular los gastos anuales de aireación para el Caso B. Así, a partir de éstos y de la electricidad consumida en el Caso B, se obtuvo el valor de los gastos fijos utilizando la Ecuación 9.

Para calcular los gastos de electricidad correspondientes a la aireación para el Caso A se utilizó la Ecuación 10.

$$G.Aireación \left(\frac{€}{año} \right) = V_{aireación} \cdot Pe \cdot C_{soplante} \cdot 365 \frac{días}{año} \quad [10]$$

Donde: $V_{aireación}$ (m³) se corresponde con el volumen a airear, que en el Caso A corresponde al de los compartimentos catódicos; Pe (€/kWh) es el precio de la electricidad; y $C_{soplante}$ (kWh/m³) se refiere a la electricidad que consume la soplante por cada m³ de agua residual que se airea (0,552 kWh/m³).

La única variable que queda por determinar para conocer la electricidad consumida en el Caso A se corresponde con la electricidad generada por las celdas. Ésta se calculó a partir de la Ecuación 11.

$$E.Generada \left(\frac{€}{año} \right) = Q \cdot 365 \frac{días}{año} \cdot Pe \cdot P_{dens.} \quad [11]$$

Como se puede observar, la Ecuación 11 depende de: el caudal de agua tratada, Q (m³/día), que se corresponde con 54 m³/día en todos los casos de estudio; el precio de la electricidad, Pe (€/kWh); y la densidad de potencia, $P_{dens.}$ (kW/m³) cuyo valor depende del escenario que se presente.

Tabla 6: Resultados obtenidos para los Flujos de Caja y el VAN en cada Caso y Escenario considerado. (O = Escenario optimista; M = Escenario medio; P = Escenario pesimista).

AÑOS	FLUJOS DE CAJA (€/año)			
	CASO A			CASO B
	O	M	P	
1	-1.907	-2.403	-2.651	-4.822
2	-1.870	-2.356	-2.599	-4.727
3	-1.833	-2.310	-2.548	-4.635
4	-1.797	-2.264	-2.498	-4.544
5	-1.762	-2.220	-2.449	-4.455
6	-8.387	-8.836	-9.061	-4.367
7	-1.694	-2.134	-2.354	-4.282
8	-1.660	-2.092	-2.308	-4.198
9	-1.628	-2.051	-2.262	-4.115
10	-1.596	-2.011	-2.218	-4.035
11	-7.597	-8.003	-8.206	-3.956
12	-1.534	-1.933	-2.132	-3.878
13	-1.504	-1.895	-2.090	-3.802
14	-1.475	-1.857	-2.049	-3.728
15	-1.445	-1.821	-2.009	-3.654
VAN _{3%} (€)	-74.897	-80.123	-82.736	-86.846

Una vez calculada la electricidad consumida, se conocieron los gastos operativos para todas las situaciones propuestas. En la Tabla 7 se resumen los resultados obtenidos para las partidas que componen los gastos operativos y los gastos operativos totales para el Caso A con sus respectivos escenarios.

Tabla 7: Gastos operativos totales y Gastos operativos por partidas según el escenario considerado para el Caso A. Los datos mostrados presentan unidades de €/año. (O = Escenario optimista; M = Escenario medio; P = Escenario pesimista).

CASO A			
Laboral	3.285		
Mantenimiento	928		
Formación	56		
Seguros	93		
Gestión de Fangos	1.411		
Escenario	O	M	P
Electricidad consumida	535	1.040	1.293
Total gastos operativos	6.308	6.813	7.066

Como se puede observar en la Tabla 7, la única partida que hace variar el total de los gastos operativos en cada escenario es la electricidad consumida. Esto es razonable ya que es el único parámetro que depende de la densidad de potencia alcanzada (parámetro que marca cada uno de los escenarios). Al aumentar la densidad de potencia alcanzada, se genera más electricidad por lo que la energía que es necesario comprar es menor, reduciéndose así los gastos operativos totales.

Para calcular los flujos de caja anuales en el Caso A, se tuvo en cuenta que para los electrodos (ánodos y cátodos) y las membranas de intercambio protónico, el tiempo de vida útil se corresponde con 5 años, por lo que tanto en el año 6 como en el año 11 deben reponerse.

Por lo tanto, se calcularon los flujos de caja correspondientes teniendo en cuenta que el valor de los pagos en cada año coincide con la suma de los gastos operativos y el gasto en los repuestos, si procede, en el año considerado. Al igual que en el Caso B, se supuso una inflación anual del 2%, y se consideró un tiempo de vida de la planta de 15 años.

A continuación, se procedió a calcular el VAN para cada una de las situaciones propuestas utilizando la Ecuación 7 y suponiendo una tasa de rentabilidad mínima (k) igual al 3% (Escapa, 2012). Los resultados obtenidos para los flujos de caja así como para el VAN quedan recogidos en la última fila de la Tabla 6.

Como se puede observar en la Tabla 6 todas las situaciones consideradas presentan un valor del VAN negativo, lo cual era de esperar, ya que no se obtiene ingreso alguno por ventas. El caso es que la legislación obliga a verter el agua con una cantidad de materia orgánica que no supere la permitida.

Para poder analizar los resultados obtenidos con más claridad se decidió calcular un nuevo valor del VAN a partir de los resultados anteriores. Para ello, se calculó la diferencia existente tanto en el desembolso inicial como en los flujos de caja entre la utilización de MFCs y el uso de un reactor convencional de fangos activos. Se obtuvo así el VAN del Caso A respecto del Caso B, que de aquí en adelante lo denotaremos como VAN relativo. De esta forma, se puede apreciar el excedente económico que se tiene, es decir, el ahorro que generan las MFCs en el caso de ser el valor positivo o gasto extra si el valor es negativo. Se obtuvo también la TIR. En la Tabla 8 se muestran los resultados obtenidos en esta comparativa.

Tabla 8: Comparativa de resultados obtenidos utilizando MFCs con respecto a la opción convencional. (O = Escenario optimista; M = Escenario medio; P = Escenario pesimista). Resultados expresados en €.

A (€)	Q (CASO A/CASO B)		
	8.800		
AÑOS	O	M	P
1	2.915	2.419	2.171
2	2.858	2.372	2.129
3	2.801	2.325	2.087
4	2.747	2.280	2.046
5	2.693	2.235	2.006
6	-4.020	-4.469	-4.693
7	2.588	2.148	1.928
8	2.537	2.106	1.890
9	2.488	2.065	1.853
10	2.439	2.024	1.817
11	-3.641	-4.047	-4.251
12	2.344	1.946	1.746
13	2.298	1.907	1.712
14	2.253	1.870	1.678
15	2.209	1.833	1.646
VAN _{3%}	11.949	6.724	4.111
TIR (%)	23	15	11

Si se observa la Tabla 8 puede apreciarse que el VAN relativo que se obtuvo fue positivo en todos los escenarios considerados para una tasa de descuento (k) del 3%. De esta forma se comprueba que a pesar de que la diferencia entre los desembolsos iniciales sea de 8.800 €, en 15 años se obtiene un ahorro respecto del tratamiento convencio-

nal que se refleja en el valor del VAN. Esto demuestra que, bajo unas condiciones de contorno similares a las analizadas en este estudio, la utilización de celdas de combustible microbiológicas para la depuración de las aguas residuales de una industria de zumos puede ser una alternativa más rentable que un proceso de depuración mediante fangos activos.

En cuanto a la *TIR* los resultados obtenidos en todas las situaciones planteadas fueron mayores del 3% considerado para la tasa de rentabilidad mínima en el cálculo del VAN relativo, lo que indica también que este proceso sería más beneficioso que el tratamiento convencional.

3.3. Análisis de sensibilidad. Variación del área de electrodo.

Se decidió estudiar la influencia del área de los electrodos utilizados en las celdas de combustible microbiológicas debido a que los resultados que se obtuvieron para la densidad de potencia geométrica (kW/m^2) en los escenarios seleccionados resultaron ser algo más elevados que los datos recogidos en la bibliografía. El grupo de Fan obtuvo $1,80 \text{ W/m}^2$ en 2007 mientras que en 2012 alcanzó $4,30 \text{ W/m}^2$ (Fan y col., 2007; Fan y col., 2012). Se realizó por ello, un análisis de sensibilidad de la rentabilidad con la variación del área de los electrodos.

Teniendo en cuenta que el área de cada electrodo que se utilizó para realizar este estudio fueron $0,36 \text{ m}^2$ y que el precio que se consideró para los mismos fue alrededor de 417 €/m^2 para los electrodos de tela de carbón y 917 €/m^2 para los electrodos con platino, se calculó el VAN que se alcanzaría en cada situación si se utilizaran electrodos de $0,5 \text{ m}^2$ y de $0,8 \text{ m}^2$. En la Figura 3 se representan los resultados que se obtuvieron respecto al cálculo del VAN relativo con la variación del área de los electrodos para el Caso A.

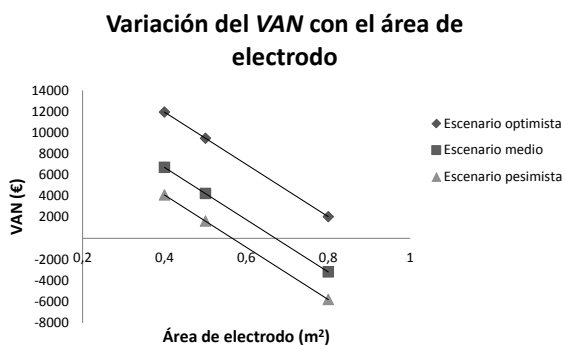


Figura 3: Rentabilidad obtenida con la variación del área de electrodo para los escenarios del Caso A.

Atendiendo a la Figura 3 se puede observar cómo al aumentar el área de los electrodos, el VAN relativo disminuye llegando incluso a adoptar valores negativos para el área de $0,8 \text{ m}^2$ en los escenarios medio y pesimista. Esta tendencia es lógica ya que al aumentar el área de los electrodos, se incrementa el valor del desembolso inicial para las MFCs, haciendo este proceso menos rentable. Por otro lado, se observa que en el caso del escenario optimista se podrían trabajar con electrodos de mayor tamaño y el VAN relativo sería positivo. Los valores negativos del VAN relativo indican que si se utiliza el área de electrodo que corresponde a dichos valores será más rentable económicamente la depuración convencional que la utilización de MFCs.

Así por ejemplo, para el caso del escenario medio ($6,4 \text{ kW}$), las MFCs serían aun rentables utilizando electrodos en cada celda de tamaño más grande ($0,6 \text{ m}^2$) que el planteado en el caso base ($0,36 \text{ m}^2$), lo que indicaría que la densidad de potencia necesaria sería de $1,01 \text{ kW/m}^2$, que es un valor más fácil de obtener.

4. CONCLUSIONES.

En este trabajo se han realizado y explicado los pasos a seguir para llevar a cabo la evaluación económica de la implantación de bioceldas para tratar las aguas residuales generadas en una industria de zumos. A partir de los resultados obtenidos se pueden extraer una serie de conclusiones.

1. Se ha demostrado que las celdas de combustible microbiológicas proporcionarían un ahorro en electricidad considerable. Éste se debe, por un lado, a que el volumen que es necesario airear es mucho menor que en el caso de un reactor biológico de fangos activos; y por otro lado, a que la energía producida por las MFCs puede ser aprovechada para consumo propio en la planta.
2. Los resultados obtenidos han demostrado que, a pesar de suponer un desembolso inicial mayor, la opción de utilizar bioceldas para tratar las aguas residuales (Caso A) proporciona, en teoría, un ahorro económico respecto de un reactor biológico de fangos activos (Caso B), siempre y cuando se cumplan los criterios que se han establecido para seleccionar los escenarios y los costes.
3. En cuanto al análisis de sensibilidad realizado, se ha demostrado que aún considerando un área de electrodo de $0,5 \text{ m}^2$, la utilización de bioceldas como método de depuración seguiría siendo más beneficiosa económicamente que el uso de un reactor convencional de fangos activos en cualquiera de los tres escenarios que se han planteado. Además, si el escenario presentado fuera el optimista seguirían obteniéndose beneficios incluso con áreas de electrodo de $0,8 \text{ m}^2$.
4. A pesar de los buenos resultados obtenidos en el presente estudio, hay que destacar que algunos de los datos que se han utilizado han sido obtenidos a partir de experimentos realizados a escala de laboratorio. Esto se debe a que la utilización de MFCs para el tratamiento de aguas residuales aún no ha sido estudiada experimentalmente a gran escala, ya que se trata de una opción bastante novedosa. No obstante, están surgiendo numerosos estudios a escala de planta piloto en los últimos años. Por lo que parece que esta tecnología goza de buena salud y sus perspectivas de futuro son bastante halagüeñas.
5. Por último, cabe señalar que este caso de estudio posee también una naturaleza didáctica ya que pone de manifiesto la necesidad de aunar decisiones multidisciplinarias tanto técnicas como financieras y, aunque ambos enfoques, se suelen estudiar de forma aislada en numerosos grados y masters asociados a la ingeniería química, no es habitual encontrar casos de estudio que los conjuguen eficientemente, como el caso aquí presentado.

5. AGRADECIMIENTOS.

Los autores agradecen a la Junta de comunidades de Castilla-La Mancha la financiación prestada para realizar este estudio a través de la concesión del Proyecto de investigación de referencia POII 10-0329-5194.

6. BIBLIOGRAFÍA.

1. Cañizares, P.; Rodrigo, M.A.; Lobato, J. Celdas de combustible microbiológicas: producción de energía eléctrica a partir de la depuración de aguas residuales. *Info enviro*. Enero 2009, 1-5.
2. Cheng, S.; Liu, H.; Logan, B.E. Increased power generation in a continuous flow MFC with advective flow through the porous anode and reduced electrode spacing. *Environ. Sci. Technol.* 2006, 40, 2426-2432.
3. Dekker, A.; Ter Heijne, A.; Saakes, M.; Hamelers, H.V.M.; Buisman, C.J.N. Analysis and Improvement of a Scaled-Up and Stacked Microbial Fuel Cell. *Environ. Sci. Technol.* 2009, 43, 9038-9042.
4. El-Kamah, H.; Tawfik, A.; Mahmoud, M.; Abdel-Halim, H. Treatment of high strength wastewater from fruit juice industry using integrated anaerobic/aerobic system. *Desalination*. 2010, 253, 158-163.
5. Escapa, A. Biocatalyzed electrolysis for wastewater treatment and hydrogen production. 2012.
6. Fan, Y.; Hu, H.; Liu, H. Enhanced Coulombic efficiency and power density of air-cathode microbial fuel cells with an improved cell configuration. *J. Power Sources* 2007, 171, 348-354.
7. Fan, Y.; Han, S.K.; Liu, H. Improved Performance of CEA Microbial Fuel Cells with Increased Reactor Size. *Energy and Environmental Science*. 2012, 5, 8273-8280.
8. Fornero, J.J.; Rosenbaum, M.; Angenent, L.T. Electric power generation from municipal, food and animal wastewaters using microbial fuel cells. *Electroanalysis*. 2010, 22, 832-843.
9. González del Campo, A.; Cañizares, P.; Rodrigo, M.A.; Fernández, F.J.; Lobato J. Microbial fuel cell with an algae-assisted cathode: A preliminary assessment, *J. Power Sources*, 2013, 242, 638-645.
10. He, Z.; Minteer, S.D.; Angenent, L.T. Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39, 5262-5267.
11. Liu, H.; Ramnarayanan, R.; Logan, B.E. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 2004, 38, 2281-2285.
12. Lobato, J.; Cañizares, P.; Fernández, F.J.; Rodrigo, M.A. An evaluation of aerobic and anaerobic sludge as start-up material for microbial fuel cell systems. *New Biotechnology*. 2012, 29, 415-420.
13. Logan, B.E.; Aelterman, P.; Hamelers, B.; Rozendal, R.; Schröder, U.; Keller, J.; Freguia, S.; Verstraete, W.; Rabaey, K. Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environ. Sci. Technol.* 2006, 40(17), 5181-5192.
14. Logan, B.E. Microbial Fuel Cells. *John Wiley & Sons*, New Jersey. 2008. ISBN: 9780470239483.
15. http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/industria-agroalimentaria/Informe_11_12_ok_tcm7-270397.pdf (Magrama. Consultado Septiembre, 2013)
16. Morris, J.M.; Jin, S.; Wang, J.; Zhu, C.; Urynowicz, M.A. Lead dioxide as an alternative catalyst to platinum in microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*. 2007, 9, 1730-1734.
17. Rabaey, K.; Ossieur, W.; Verhaege, M.; Verstraete W. Continuous microbial fuel cells convert carbohydrates to electricity. *Water Sci. Technol.* 2005, 52, 515-523.
18. Rodrigo, M.A.; Cañizares, P.; Lobato, J.; Paz, R.; Sáez, C.; Linares, J.J. Production of electricity from the treatment of urban waste water using a microbial fuel cell. *J. of Power Sources*. 2007, 169, 198-204.
19. Shimoyama, T.; Komukai, S.; Yamazawa, A.; Ueno, Y.; Logan, B.E.; Watanabe, K. Electricity generation from model organic wastewater in a cassette-electrode microbial fuel cell. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008, 80, 325-330.
20. Shizas, I.; Bangle, D.M.; Experimental determination of energy content of unknown organics in municipal wastewater streams. *J. Energy Engin.* 2004, 130(2), 45-53.
21. Trapero Arenas, J.R.; García Márquez, F.P.; Pedregal Tercero, D.J. Dirección y Gestión Empresarial. *McGraw-Hill Education*, Madrid. 2013. ISBN: 978-84-481-9038-5.

Conversion of hexoses and pentoses into furans in an ionic liquid

Susana Peleteiro,^{1,2} Gil Garrote,^{1,2} Valentín Santos,^{1,2} and Juan Carlos Parajó^{1,2,*}

¹ Chemical Engineering Department. University of Vigo (Campus Ourense). Faculty

of Science. Polytechnical Building, As Lagoas, 32004 Ourense, Spain.

²CITI. Tecnopole, San Cibrao das Viñas, 32901 Ourense, Spain.

Conversión de hexosas y pentosas en furanos empleando un líquido iónico

Conversió de hexoses i pentoses en furans emprant un líquid iònic

Recibido: 3 de enero de 2014; aceptado: 10 de febrero de 2014

RESUMEN

Se estudia la reacción de azúcares que aparecen como unidades estructurales de las hemicelulosas de maderas resinosas (manosa, glucosa, galactosa, xilosa y arabinosa) en un medio conteniendo el líquido iónico cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio ([Bmim]Cl) y el catalizador CrCl_3 . La reacción se orientó hacia la producción de furanos (hidroximetilfurfural a partir de hexosas y furfural a partir de pentosas). La reacción se llevó a cabo empleando una proporción de sustrato fija (10 g /100 g [Bmim]Cl) y una limitada cantidad de catalizador (0.5 g $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ /100 g [Bmim]Cl). Se establecieron los efectos de la temperatura y del tiempo de reacción sobre la producción de los compuestos deseados. Se identificaron las condiciones óptimas para la producción de furanos a partir de los distintos sustratos, y se comparan los resultados con datos bibliográficos de estudios relacionados.

Palabras clave: furfural, hexosas, hidroximetilfurfural, líquido iónico, pentosas.

SUMMARY

Sugars appearing as structural units in softwood hemicelluloses (mannose, glucose, galactose, xylose and arabinose) were processed in media containing the ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ([Bmim]Cl) and CrCl_3 as a catalyst. Experiments were directed to the production of furans (hydroxymethylfurfural and furfural from hexoses and pentoses, respectively). Operation was performed at a fixed substrate loading (10 g /100 g [Bmim]Cl) using a low catalyst charge (0.5 g $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ /100 g [Bmim]Cl). The effects of temperature and reaction time on the production of the target products were assessed. The optimal conditions for furan production were identified, and the furan yields were evaluated comparatively to the ones reported in related studies.

Keywords: Furfural; hexoses; hydroxymethylfurfural; ionic liquid; pentoses.

RESUM

S'estudia la reacció de sucres que apareixen com a unitats estructurals de les hemicel·luloses de fustes resinosa (manosa, glucosa, galactosa, xilosa i arabinosa) en un medi que conté el líquid iònic clorur de butil -3 - metilimidazoli ([Bmim] Cl) i el catalitzador CrCl_3 . La reacció es va orientar cap a la producció de furans (hidroximetilfurfural a partir de hexoses i furfural a partir de pentoses). La reacció es va dur a terme emprant una proporció de substrat fixa (10 g/100 g [Bmim]Cl) i una limitada quantitat de catalitzador (0.05 g $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ /100 g [Bmim]Cl). Es van establir els efectes de la temperatura i del temps de reacció sobre la producció dels compostos desitjats. Es van identificar les condicions òptimes per a la producció de furans a partir dels diferents substrats, i es van comparar els resultats amb dades bibliogràfiques d'estudis relacionats.

Mots clau: furfural, hexoses, hidroximetilfurfural, líquid iònic, pentoses.

*Corresponding author: jcparajo@uvigo.es

INTRODUCTION

Softwood hemicelluloses are mainly made up of two types of polysaccharides: acetylated glucomannan containing galactose substituents (in which mannose, glucose and galactose appear as structural units), and heteroxylan (mainly made up of xylose and arabinose structural units). When softwoods are subjected to appropriate hydrolysis treatments (for example, prehydrolysis or autohydrolysis-prehydrolysis), the hemicelluloses present in the raw materials can be converted into a mixture of hemicellulose-derived sugars (mannose, glucose, galactose, xylose and arabinose).⁽¹⁾ Among other possible applications, these hemicellulose-derived sugars are potential starting materials for the manufacture of furans (hydroxymethylfurfural from hexoses and furfural from pentoses).

Hydroxymethylfurfural (HMF) and furfural are platform chemicals for the manufacture of a number of intermediates and chemicals. HMF has been identified as a promising platform compound serving as a bridge between carbohydrate chemistry and petroleum-based chemistry,⁽²⁾ whereas furfural has been considered as one of the top value added chemicals from biomass.⁽³⁾

Ionic liquids (ILs) are considered "green chemicals" owing to their physical, chemical, and technological properties. A number of ILs can be employed for furan manufacture from sugars, including 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ([Bmim]Cl).⁽⁴⁾ ILs-based transformation of hexoses into hydroxymethylfurfural (HMF) has been reported using a numbers of substrates, including fructose (the most favourable one), glucose and mannose. Oppositely, galactose was reported not to be a suitable source of HMF when operating in media containing chloride ions.⁽⁵⁾ On the other hand, furfural has been produced from xylose in media containing ILs.

This work deals with the production of furans (furfural or HMF) from model compounds (including hexoses and pentoses) that could be obtained from softwood hemicelluloses by selective hydrolysis. Reaction was carried out in media made up of an ionic liquid ([Bmim]Cl) in the presence of a catalyst (CrCl_3). The effects of temperature and time on both substrate consumption and product distribution were assessed, in order to quantify the maximum achievable furan yields. This information is of basic importance to assess the possible manufacture of furans from softwood hemicellulose hydrolyzates.

MATERIALS AND METHODS

Materials

1-Butyl-3-methylimidazolium chloride, xylose, arabinose, galactose, glucose, mannose, furfural and HMF were purchased from Sigma-Aldrich. Chromium (III) chloride 6-hydrate was purchased from Panreac (Barcelona, Spain).

Reaction in [Bmim]Cl- CrCl_3 media

[Bmim]Cl was molten, dried, heated to the target temperature (in the range 100 - 160 °C) and mixed with $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ at a charge of 0.5 g /100 g [Bmim]Cl. The catalyst loading was fixed in this value based on preliminary experiments (data not shown) performed to identify the minimum catalyst loading enabling sugar consumption and furan generation at acceptable rates. Once the catalyst was dissolved, the considered sugar was added to the medium

at a loading of 10 g/100 g [Bmim]Cl under stirring. Zero time corresponded to substrate addition. At preset reaction times, samples from the reaction media were withdrawn, diluted immediately with distilled water (at a mass ratio of 20 g water/g sample), homogenized, and assayed for composition.

Analytical methods

Individual monosaccharides (glucose, xylose, mannose, galactose, and arabinose) and furans (furfural and HMF) in the reaction media were quantitated using an Agilent 1100 instrument fitted with Refractive Index (RI) and Diode Array (DA) detectors (wavelength, 280 nm), as well as with an Aminex HPX-87H column.

RESULTS AND DISCUSSION

Conversion of commercial hexoses

Experiments were performed to assess the production of HMF from hexoses making part of softwood hemicelluloses (galactose, glucose and mannose) in the presence of a chromium catalyst, which has been found suitable for causing the dehydration of selected aldohexoses.^(5,6)

Preliminary experimental results (data not shown) proved that galactose was not a suitable substrate for HMF production in [Bmim]Cl- CrCl_3 media under the range of conditions tested. This finding is in agreement with the scarce conversion reported in a study carried out with [Emim]Cl - $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,⁽⁵⁾ which was justified by the formation of an intermediate (tagatose) that is not efficiently dehydrated into HMF. On this basis, the only suitable HMF sources in softwood hemicellulose hydrolyzates are glucose and mannose.

Glucose conversion into HMF in [Bmim]Cl- CrCl_3 media has been carried out in literature,⁽⁷⁾ operating with 10 g glucose/100 g [Bmim]Cl supplemented with 25 mol $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ /100 mol glucose. The maximum HMF conversion achieved in this study was near 65%. In this work, we have considered a much more reduced catalyst loading, an idea already applied by Li et al.⁽⁸⁾ to the conversion of fructose in acid-catalyzed [Bmim]Cl media. Figures 1a and 1b show the experimental concentration profiles determined for glucose and HMF at 100-160 °C. Glucose was totally consumed after 20-30 min at 140 or 160 °C, whereas about 30 min were needed to convert 90% of the initial glucose in the experiment at 120 °C. Under the mildest conditions assayed, about 16% of the initial glucose was still present in the reaction medium after 180 min. Following a typical mechanism, HMF behaved as a reaction intermediate: in the first reaction stages, the HMF concentration increased markedly with the reaction time, and then decreased. This variation pattern was evident at reaction times shorter than 180 min in experiments performed at 140 or 160 °C (see Figure 1b), and was confirmed in the experiment carried out at 120 °C by extending the reaction time up to 600 min. In comparison, the maximum HMF concentration was achieved after 600 min at 100 °C. These findings are compatible with a typical mechanism involving consecutive reactions of glucose dehydration into HMF and HMF consumption by parasitic reactions (including HMF rehydration). The maximum HMF concentrations were 43.1 - 44.3 g/L (corresponding to 65.0 - 66.8% glucose conversion into HMF), and were achieved at 120 or 140 °C after 120 or 10 min, respectively (see Figure 1b).

Even though the conversion of mannose into HMF in ILs such as [Emim]Cl and [Bmim]Cl has been considered in literature,^(5,9) to our knowledge, no data have been reported for the same reaction in [Bmim]Cl-CrCl₃ media.

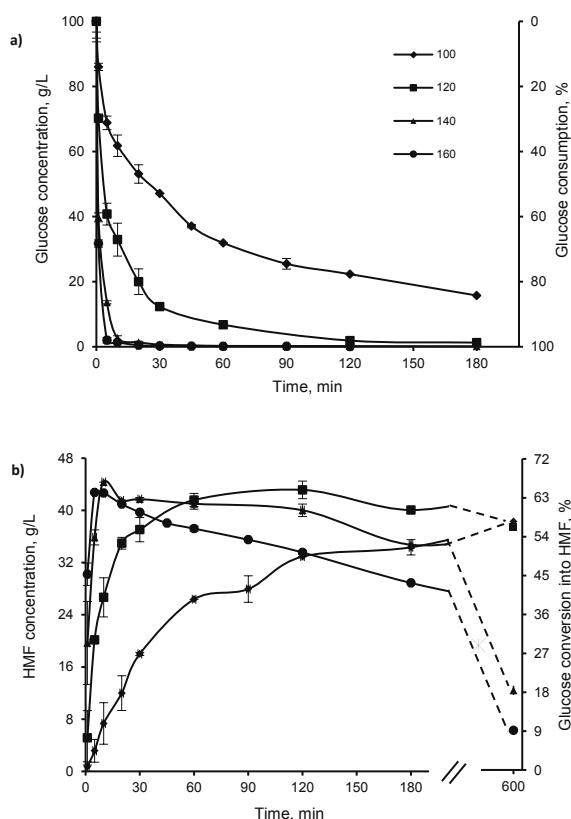


Figure 1. a) Effects of temperature and time on glucose consumption; b) HMF concentration profiles obtained using glucose as a substrate.

Since the structural features of the ILs play a significant role on the dehydration rates of monosaccharides,⁽⁹⁾ selected experiments were performed to assess the maximum HMF yield achievable from mannose, covering the operational range of practical interest (temperatures in the range 100 - 160 °C and reaction times up to 10 h) operating in media containing 0.5 g CrCl₃/100 g [Bmim]Cl. Complete mannose conversion was achieved after 2 h, 60 min or 10 min operating at 120, 140 or 160 °C, respectively (see Figure 2a). Figure 2b shows the HMF concentrations and the corresponding conversions achieved in the various experiments. The general variation pattern observed in Figures 2a and 2b is similar to the one previously described for glucose, and consistent with the typical mechanism for hexose decomposition. The maximum HMF average concentration (41.4 g/L, corresponding to 62.4% mannose conversion) was obtained at 120 °C after 2 h. In comparison, HMF concentrations near 37 g/L (about 55% mannose conversion into HMF) were achieved operating at 140 or 160 °C for 10 - 30 min. Harsher conditions resulted in the generation of humins, as it was evidenced by the development of a brownish color⁽¹⁰⁾ and by the formation of solids. These results are in the range reported for HMF production from mannose in [Emim]Cl-CrCl₃ media (56% conversion).⁽⁵⁾ In comparison, the mannose conversion into HMF achieved using [Bmim]Cl-H₂SO₄ media was below 5%.⁽⁹⁾

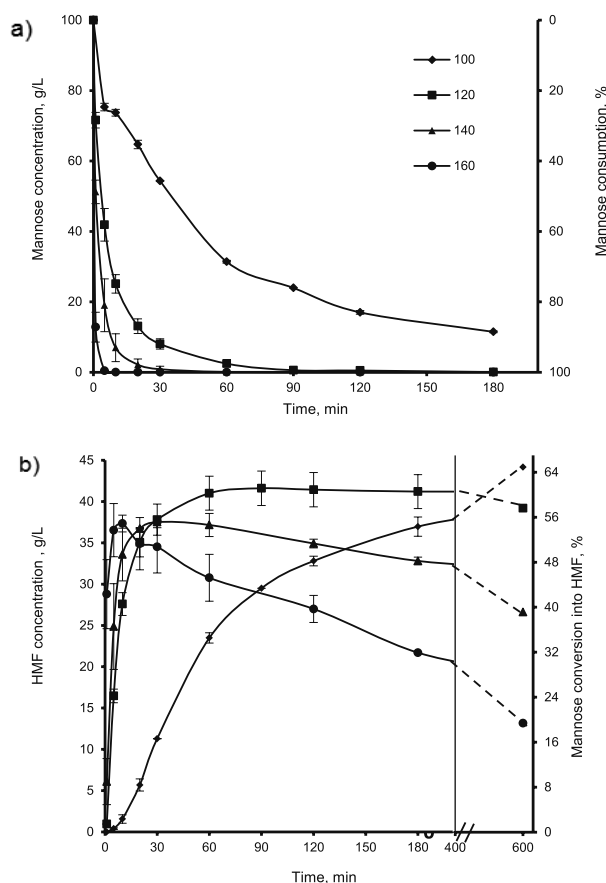


Figure 2. a) Effects of temperature and time on mannose consumption; b) HMF concentration profiles obtained using mannose as a substrate.

Conversion of commercial pentoses

Xylose, the structural unit present in xylan, is known to yield furfural upon dehydration, following a mechanism closely related to the one described for hexoses. However, scarce information is available on the utilization of ILs for this purpose. [Bmim]Cl media have been used for furfural production from xylose,⁽¹¹⁾ but the catalyst type (AlCl₃), the substrate concentration (lower than in our case) and the heating method (microwave irradiation) were different from the ones employed in this study.

The concentration profiles determined for xylose (see Figure 3a) confirmed the higher comparative susceptibility to dehydration respect to glucose or mannose. According to the variation patterns observed in Figure 3b, furfural behaved as a reaction intermediate, which was generated from xylose, and was consumed by parasitic reactions. This reaction scheme led to the formation of both soluble degradation products and black insoluble solids.⁽¹²⁾ In the experiment at 100 °C, some furfural generation was still taking place after 180 min; whereas the furfural concentration profiles determined at 120 - 160 °C presented well defined maxima at reaction times in the range 5 - 45 min. The highest average furfural concentrations (29.6 - 29.8 g/L, corresponding to about 50% xylose conversion into furfural) were achieved operating at 120-160 °C for 5 - 30 min. Higher xylose conversions into furfural (up to 82.2%) were achieved in [Bmim]Cl-AlCl₃ media operating with microwave heating at low substrate loadings, which improved the furfural yield; whereas Sievers et al.⁽⁹⁾ reported 13% xylose conversion into furfural operating in [Bmim]Cl-H₂SO₄ at 120 °C for 90 min with 5 g substrate/100 g [Bmim]Cl.

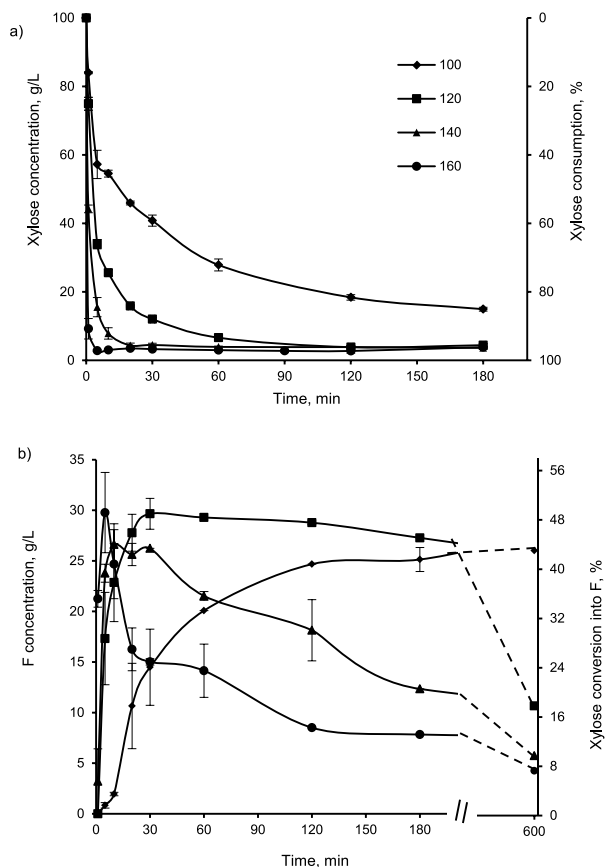


Figure 3. a) Effects of temperature and time on xylose consumption; b) Furfural concentration profiles obtained using xylose as a substrate.

Softwood hemicelluloses contain arabinose units, which are potential substrates for furfural production. To our knowledge, no studies have been reported on the dehydration of arabinose into furfural. The experimental data in Figure 4a show that 59.3 - 100% of arabinose was consumed after 180 min at the considered temperatures. Total arabinose consumption was achieved after 30 min at 160 °C and 120 min at 140 °C, whereas more than 600 min were needed to deplete the substrate at lower temperatures. The furfural concentration profiles followed the same general pattern (generation and further decomposition) discussed for xylose (see Figure 4b). In comparative terms, the furfural conversions determined for arabinose were poorer than the ones observed for xylose. The maximum arabinose conversion into furfural (15.5%, corresponding to an average concentration of 9.40 g/L) was obtained at 160 °C after 5 min.

Furan yields achievable from pine wood hemicellulose hydrolyzates

Assuming that mixtures of hemicellulose-derived sugars could be converted in furans in amounts corresponding to the sum of the individual contributions of the various monosaccharides (neglecting interactions), the data obtained in this work allow the direct calculation of the furan yields that could be achievable from hydrolysis media of defined composition. As an example, the data reported for the composition of hydrolyzates obtained by autohydrolysis-posthydrolysis of *Pinus pinaster* wood (González-Muñoz et al., 2012), can be first converted in hexose yields (11.68,

3.39, and 2.54 kg/100 kg oven-dry wood for mannose, glucose, and galactose, respectively), and in pentose yields (4.71 and 1.29 kg/100 kg oven-dry wood for xylose and arabinose, respectively). Choosing suitable operational conditions for furan production in the [Bmim]Cl-CrCl₃ medium, the yields of HMF and furfural can be obtained from Figures 1 – 4, and the furan yields can be calculated on the basis of the individual contributions of the various sugars after stoichiometric conversion (0.70 g HMF/g hexose and 0.64 g furfural/g pentose). For example, working under the optimal conditions for HMF production from mannose and glucose (120 °C, 2h), the HMF yield from pine hemicelluloses would be 6.69 kg/100 kg oven-dry wood. These operational conditions would also result in furfural production, but at a poorer yield owing to the lower proportions of the potential substrates (xylose and arabinose) and to their comparatively high lability.

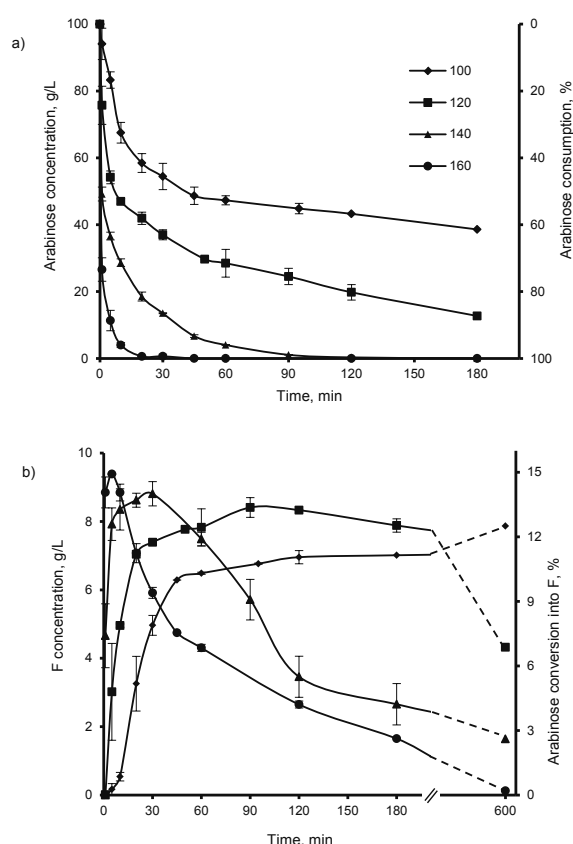


Figure 4. a) Effects of temperature and time on arabinose consumption; b) Furfural concentration profiles obtained using arabinose as a substrate.

CONCLUSION

The potential of commercial hexoses and pentoses as substrates for furan production was assessed in media containing the ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ([Bmim]Cl) in the presence of a catalyst. Galactose did not behave as a suitable substrate for HMF production, whereas the effects of temperature and time on the HMF yields from glucose and mannose were assessed. Under optimal operational conditions, the HMF was obtained from glucose and mannose accounted for 66.8%

and 62.4% of the stoichiometric amounts, respectively. On the other hand, the production of furfural from xylose and arabinose in the same reaction media was studied. In comparative terms, the furfural yield from xylose about 50% of the stoichiometric value) was higher than the one from arabinose (15.5%). On the basis of the experimental results, it was concluded that pine hemicelluloses could be converted into HMF at a maximum yield of 6.69 kg/100 kg oven-dry wood.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Spanish “Ministry of Science and Innovation” for supporting this study, in the framework of the research Project “Development and evaluation of processing methods for biorefineries” (reference CTQ2011-22972), partially funded by the FEDER program of the European Union. Ms. Susana Peleteiro thanks the Ministry for her predoctoral grant.

REFERENCES

1. González-Muñoz, M. J.; Alvarez, R.; Santos, V. and Parajó, J. C. *Wood Sci. Technol.*, **46**: 271 (2012).
2. Zhu, S.; Tong, Y.; Lu, Y. and Wu, Y. *Bioresources* **7**: 3 (2012).
3. Werpy T. and Petersen, G. Eds. Volume I - Results of Screening for Potential Candidates from Sugars and Synthesis Gas, T.A. U.S. Department of Energy (DOE), Golden, CO; Rep. DOE/GO-102004-1992 (2004)
4. Maki-Arvela, P.; Anugwom, I.; Virtanen, P.; Sjöholm, R. and Mikkola, J. P. *Ind. Crops Prod.* **32**:175 (2010)
5. Binder, J. B.; Cefali, A.V.; Blank J. J. and Raines, R. T. *Energy Environ. Sci.* **3**:765 (2010)
6. Zhao, H.; Holladay, J. E.; Brown, H. and Zhang, Z. C. *Science* **316**:1597 (2007).
7. Cao, Q.; Guo, X.; Yao, S.; Guan, J.; Wang, X.; Mu, X. and Zhang, D. *Carbohydr. Res.* **346**:956 (2011).
8. Li, C.; Zhao, Z. K.; Wang A.; Zheng, M. and Zhang, T. *Carbohydr. Res.* **345**:1846 (2010).
9. Sievers, C.; Musin, I.; Marzalletti, T.; Olarte, M. B.; Agrawal, P. K. and Jones, C. W. *ChemSusChem* **2**:665 (2009).
10. Kuster, B. F. M. *Starch/Stärke* **42**:314 (1990).
11. Zhang, L.; Yu, H.; Wang, P.; Dong, H. and Peng, X. *Bioresour. Technol.* **130**:110 (2013).
12. Zhang, L.; Yu, H. and Wang, P. *Bioresour. Technol.* **136**:515 (2013).

*Estudio cinético de la adsorción de Ni^{2+} desde solución acuosa sobre carbones activados obtenidos de residuos de tuza de maíz (*Zea mays*)*

Rafael A. Fonseca², Liliana Giraldo¹, Juan Carlos Moreno-Piraján²

¹ Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Carrera 30 No 45-03, Bogotá Colombia. ² Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad de los Andes. Carrera 1 este No 18A-10, Bogotá, Colombia.

*Kinetic study of the adsorption of Ni^{2+} from aqueous solution on activated carbons derived from corn residues tuza (*Zea mays*)*

*Estudi cinètic de l'adsorció de Ni^{2+} en solució aquosa sobre carbons activats obtinguts de residus de tuza de blat de moro (*Zea mays*)*

Recibido: 3 de enero de 2013; revisado: 27 de enero de 2014; aceptado: 28 de enero de 2014

RESUMEN

Se preparan carbones activados a partir de tuza de maíz por activación térmica con CO_2 a diferentes tiempos de activación 2, 4 y 8 horas y se emplean en la adsorción de Ni^{2+} desde solución acuosa, comparando la capacidad de adsorción con la que se obtiene para el material natural que presenta propiedades adsorbentes.

Los materiales carbonosos se caracterizan texturalmente por la adsorción de N_2 y se obtienen valores de área superficial entre 327 y 1120 m^2g^{-1} , con una distribución de poro entre microporos y mesoporos, que favorece la adsorción del ion Ni^{2+} .

Se realiza la adsorción del ion metálico desde solución acuosa a un pH de 5 y los resultados experimentales de la adsorción se ajustan a los modelos de Freundlich y Langmuir, se presenta un mejor ajuste para el segundo modelo, con valores para la capacidad máxima de adsorción entre 32,88 y 43,65 mgg^{-1} .

Se determinó la adsorción del Ni^{2+} sobre los carbones activados desde solución acuosa, en función del tiempo, y se ajustaron los resultados de la adsorción para el estudio de la cinética por los modelos de seudo primer y seudo segundo orden; se observa que los datos cinéticos experimentales tienen mayor correlación con el modelo de seudo segundo orden.

Se determinan entalpías de inmersión de los carbones activados en soluciones con diferentes concentraciones de Ni^{2+} y se obtienen resultados entre 11 y 39 Jg^{-1} , que indican la variación de la entalpía con la presencia del ion metálico en la solución.

Palabras clave: tuza de maíz; níquel; carbón activado; isothermas de adsorción; entalpías de inmersión

SUMMARY

Activated carbon from corn cob were prepared by thermal activation with CO_2 at different activation times 2, 4 and 8 hours and used in the Ni^{2+} adsorption from aqueous solution and comparing the adsorption capacity with that obtained for the natural material that have adsorbent properties.

The carbonaceous materials were texturally characterized by N_2 adsorption and surface area values obtained are between 327 and 1120 m^2g^{-1} , a pore distribution between micropores and mesopores, which favors the Ni^{2+} ion adsorption.

The metal ion adsorption from aqueous solution was realized at pH 5 and experimental results of the adsorption were compared to Freundlich and Langmuir models, obtaining a better correlation for the second model, with values for the adsorption capacity between 32.88 and 43.65 mgg^{-1} .

The Ni^{2+} adsorption on activated carbon from aqueous solution in function of time was determined, and the adsorption results for the kinetic study were adjusted to pseudo first and pseudo-second order models, it is noted that the kinetic data experimental have higher correlation with the pseudo second order model.

Immersion enthalpies were determined to the activated carbons in solutions with different Ni^{2+} concentration and were obtained values between 11 and 39 Jg^{-1} which indicate the enthalpy variation with the presence of the metal ion in solution.

Key words: Corn cob, níquel, activated carbon, adsorption isotherms, immersion enthalpy

RESUM

Es preparen carbons activats a partir de *tuza* de blat de moro per activació tèrmica amb CO_2 en diferents temps d'activació 2, 4 i 8 hores i s'empren en l'adsorció de Ni^{2+} en solució aquosa, comparant la capacitat d'adsorció amb la qual s'obté pel material natural que presenta propietats adsorbents. Els materials carbonosos es caracteritzen des de el punt de vista de la seva textura per l'adsorció de N_2 i s'obtenen valors d'àrea superficial entre 327 i 1120 m^2g^{-1} , amb una distribució de porus entre microporus i mesoporus, que afavoreix l'adsorció de l'ió Ni^{2+} . Es realitza l'adsorció de l'ió metàl·lic en solució aquosa a un pH de 5 i els resultats experimentals de l'adsorció s'ajusten als models de Freundlich i Langmuir, es presenta un millor ajust per al segon model, amb valors per a la capacitat màxima d'adsorció entre 32,88 i 43,65 mgg^{-1} . Es va determinar l'adsorció del Ni^{2+} sobre els carbons activats en solució aquosa, en funció del temps, i es van ajustar els resultats de l'adsorció per a l'estudi de la cinètica pels models de pseudo primer i pseudo segon ordre; s'observa que les dades cinètiques experimentals tenen més correlació amb el model de pseudo segon ordre. Es determinen entalpies d'immersió dels carbons activats en solucions amb diferents concentracions de Ni^{2+} i s'obtenen resultats entre 11 i 39 Jg^{-1} , que indiquen la variació de l'entalpia amb la presència de l'ió metàl·lic en la solució.

Mots clau: *Tuza* de blat de moro; níquel; carbó activat; isoterms d'adsorció; entalpies d'immersió

INTRODUCCIÓN

La contaminación en las fuentes de agua se establece por la presencia de compuestos que no estarían presentes de forma normal sin la intervención del hombre, o por un aumento o descenso en el contenido de las sustancias existentes por la acción humana. Entre los componentes químicos potencialmente más tóxicos se encuentran los metales pesados y entre estos el Ni, que se estudia en este trabajo, es un metal ferromagnético lustroso blanco, en la naturaleza se encuentra en cinco formas isotópicas: 58 (67,8%), 60 (26,2%), 61 (1,2%), 62 (3,7%) y 64 (1,2%), generalmente se presenta en forma divalente y en solución acuosa se pueden encontrar complejos hidroxilados como $\text{Ni}(\text{OH})^+$ y $\text{Ni}(\text{OH})_3^-$, cuya presencia depende del pH de la solución ⁽¹⁻³⁾.

La adsorción de diferentes contaminantes disueltos en solución acuosa sobre sólidos porosos es una técnica que se ha posicionado en la actualidad como una buena alternativa en los procesos de descontaminación de efluentes, por esto el estudio del proceso y de los materiales adsorbentes y sus características es amplio ⁽⁴⁻⁸⁾.

Los subproductos y residuos agrícolas se producen en grandes cantidades, y representan un serio problema en su disposición final, lo que generan un alto impacto medio ambiental por lo anterior una alternativa para generar un valor agregado en este tipo de desechos es su uso en la preparación de carbones activados de origen vegetal ^(7,8). La preparación industrial de carbones activados usa como precursores dichos subproductos agrícolas que son materiales lignocelulósicos; el estudio de las variables de

preparación de los carbones activados como velocidad de calentamiento, flujo de gas, temperatura y tiempo de tratamiento, en los procesos de carbonización y activación puede permitir una mejora en el rendimiento del proceso de activación y obtener el carbón activado adecuado al proceso en el que éste se requiere ⁽⁹⁾.

El maíz, *Zea mays*, es uno de los cultivos con mayor producción en el mundo, generando residuos agrícolas como *tuza* de maíz, hoja y bagazo de maíz, los cuales son incinerados en una gran proporción; la *tuza* de maíz es por tanto un subproducto agrícola renovable, ampliamente disponible y de bajo costo, para el cual se han reportado capacidades de adsorción de metales pesados tanto para el material nativo como para el modificado, que señalan su uso alternativo como potencial adsorbente ⁽¹⁰⁻¹⁴⁾.

El estudio de la cinética de adsorción en aguas residuales es importante porque permite entender mejor la ruta de reacción y el mecanismo por la cual se lleva a cabo el proceso de adsorción ⁽¹⁵⁾. Además, es importante para predecir el tiempo en que el adsorbato será removido de la solución acuosa y así poder diseñar una planta de tratamiento adecuada.

Las determinaciones de la entalpía de inmersión del carbón activado en diferentes líquidos, proporcionan una medida directa de la energía involucrada en el proceso, que no sólo se relaciona con el área de la superficie disponible al líquido, sino también a la interacción específica entre la superficie sólida y el líquido de inmersión, permitiendo conocer el valor de la entalpía como una propiedad termodinámica que caracteriza la interacción sólido-líquido ^(16, 17).

En este trabajo se preparan muestras de carbones activados obtenidos a partir de *tuza* de maíz por activación térmica con CO_2 a diferentes tiempos de activación; el sólido original (material crudo) y los carbones activados se caracterizan por adsorción de nitrógeno para obtener los valores de área superficial y volumen de poros. Los carbones activados se usan en la adsorción de Ni^{2+} desde solución acuosa, los datos experimentales se ajustan a los modelos de Freundlich y Langmuir y los resultados de la adsorción en función del tiempo se analizan por medio de los modelos de pseudo primer y pseudo segundo orden. Se determinan también las entalpías de inmersión de los carbones activados en soluciones de diferente concentración de Ni^{2+} para conocer la intensidad de la interacción energética de la superficie de los sólidos con la solución.

MATERIALES Y METODOS

Análisis Termogravimétrico TGA

Se determinaron las curvas TGA-DTA para evaluar el contenido de volátiles ligeros del material de partida y la temperatura a la cual se produce el rompimiento y la descomposición de las diferentes moléculas ⁽¹⁸⁾. Para realizar el análisis termogravimétrico de la *tuza* de maíz, se tomó una muestra de 20 mg del sólido sobre la que se hace pasar un flujo de nitrógeno de 100 mLmin^{-1} , a una velocidad de calentamiento de 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ y se llevó hasta una temperatura final de 1000 $^{\circ}\text{C}$. El análisis se realizó en un equipo TG-DSC Netzsch STA 409 PC.

Análisis proximal

Con respecto al análisis próximo de la *tuza* de maíz, la determinación de humedad del sólido se realiza de acuerdo con la norma ASTM 2867 revisión 2004. La determinación

del contenido de materia volátil de las muestras se realiza de acuerdo con la norma ASTM 5832 revisión 2003. El contenido total de cenizas se determina de acuerdo con la norma ASTM 2866 revisión 2004. El contenido de carbono fijo se determina por diferencia respecto a los otros ensayos del análisis próximo.

Preparación de los carbones activados

La tuza de maíz se muele hasta un tamaño de partícula de 3 mm, luego se seca a una temperatura de 110 °C durante 6 horas, esta muestra se denomina TM0. La tuza molida se carboniza en un horno tubular de acero inoxidable con un calentamiento progresivo de 5 °Cmin⁻¹ hasta 450 °C durante 4 horas en atmósfera de nitrógeno. Diferentes porciones del carbonizado se activan con CO₂ a temperatura de 850 °C por dos, cuatro y ocho horas, para obtener tres carbones activados con diferentes características texturales que se denominan TM2, TM4 y TM8 respectivamente.

Determinación de la Acidez Total

El parámetro de acidez total fue evaluado por el método de Boehm ⁽¹⁹⁾, para esto se pesaron 100 mg de cada muestra y se adicionaron a 50 mL de una solución 0,1 M de NaOH. Las mezclas se mantuvieron a una temperatura de 25 °C y agitación constantes durante 5 días, al finalizar este tiempo de equilibrio se toman tres alícuotas de 10 mL cada una de la solución sobrenadante y se titulan con una solución de HCl previamente estandarizada.

Determinación de isotermas de adsorción de Ni²⁺ desde solución acuosa

Los datos de las isotermas de adsorción del ion Ni²⁺ se obtienen al poner en contacto 100 mg de cada carbón activado y muestra cruda con un volumen de 25 mL de soluciones del ion metálico de concentraciones iniciales conocidas en un rango de 20 a 500 mgL⁻¹, con ajuste de pH a un valor de 5, en un recipiente de vidrio con capacidad de 50 mL con tapa esmerilada a 25 °C por 96 horas. La concentración de los iones en equilibrio se determina en un equipo de absorción atómica Analyst 300-Perking Elmer, previa curva de calibración ⁽²⁰⁾.

Determinación de la cinética de adsorción de Ni²⁺ desde solución acuosa

Con el propósito de investigar los mecanismos que controla el proceso de adsorción, tales como la transferencia de masa y la interacción química, se hace necesario establecer el modelo cinético adecuado, que se ajusta a los resultados obtenidos para la adsorción del Ni²⁺ sobre los carbones activados. Para evaluar la cinética de adsorción se puso en contacto una muestra de 100 mg de cada uno de los carbones activados con 250 mL de una solución de Ni²⁺ de 450 mgL⁻¹, y se realizó un seguimiento del cambio de concentración a diferentes intervalos de tiempo durante aproximadamente 6 h.. La concentración de los iones Ni²⁺ en equilibrio se determina en un equipo de absorción atómica Analyst 300-Perking Elmer, previa curva de calibración

Determinación de la entalpía de inmersión.

Para determinar las entalpías de inmersión de los carbones activados en soluciones de Ni²⁺, entre 10 y 100 mgL⁻¹, se usa un microcalorímetro de conducción de calor con una celda calorimétrica en acero inoxidable ⁽²¹⁾. Se colocan en la celda alrededor de 10 mL de la solución, que se ha

mantenido en un termostato a 25 °C ; se pesa una muestra del carbón activado del orden de 50 a 100 mg y se coloca dentro de la celda calorimétrica en una ampollita de vidrio, se ensambla el microcalorímetro. Cuando el equipo alcanza una temperatura de 25 °C, se inicia el registro de potencial de salida por un periodo de aproximadamente 15 minutos tomando lecturas de potencial cada 20 segundos, se procede a realizar el rompimiento de la ampollita de vidrio, se registra el efecto térmico generado y se continúa con las lecturas de potencial por aproximadamente 15 minutos más, finalmente se calibra eléctricamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tuza de maíz es un precursor adecuado para la preparación de carbones activados, ya que posee un alto contenido de materia volátil, de 75,6 %, y un contenido de carbono de alrededor de 8,5 %, el cual aumenta con los procesos de carbonización y activación; un y bajo contenido de cenizas de 3,5 %. Estos resultados aseguran una descomposición y reorganización del material una vez se someta a tratamientos térmicos para obtener carbones activados.

En la Figura 1 se presenta la curva obtenida en la determinación del análisis termogravimétrico, TGA, del material precursor.

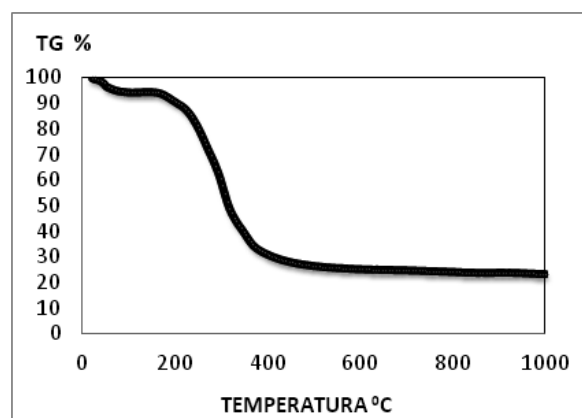


Figura 1. Curva del análisis termogravimétrico, TGA, de la tuza de maíz

En la curva TGA se observa que no hay cambio significativo en el peso del material hasta 200 °C excepto por pérdida de humedad adsorbida; a medida que aumenta la temperatura se produce la liberación de especies adsorbidas en la tuza de maíz, que produce una pérdida de peso de alrededor de 10 %, seguido por la descomposición de la hemicelulosa, entre 200 y 260 °C y la celulosa, entre 240 y 350 °C; se observa que se produce un cambio fuerte en el peso entre 200 y 430 °C, que corresponde a un cambio típico de materiales lignocelulósicos, y finalmente se descompone la lignina a temperaturas cercanas hasta los 500 °C. Con la información anterior se escogen las temperaturas para realizar la carbonización y activación del precursor y obtener los carbones activados.

Los materiales carbonosos que se caracterizan por medio de la determinación de isotermas de adsorción de N₂ a -196 °C son: TM0, que es el material natural, y los carbones activados TM2, TM4 y TM8, que muestran con respecto al precursor un aumento en la adsorción de N₂ que

evidencia el efecto de la activación con CO_2 a 850°C y del tiempo de activación. En la Figura 2 se presenta la relación entre el tiempo de activación y los valores obtenidos para el área superficial de los carbones activados, obtenidos por el modelo de BET.

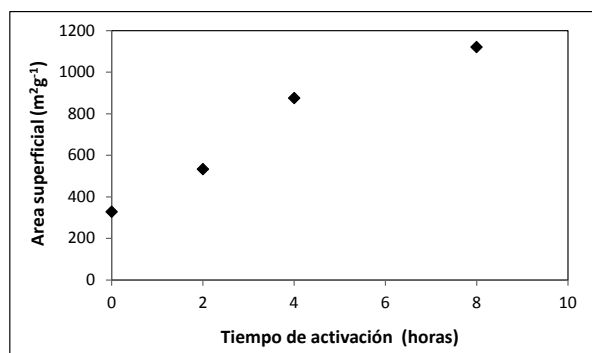


Figura 2. Área superficial de los carbones activados en función del tiempo de activación

Los resultados obtenidos muestran que el precursor (tuza natural) presenta un valor de área superficial de $327\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$, que lo hace un material con una capacidad moderada de adsorción de manera natural, sin haberlo sometido a ningún tratamiento. Cuando se carboniza y posteriormente se activa el material con CO_2 a diferentes tiempos se observa un aumento en los valores de área superficial y del volumen de poros, que lleva a la obtención de una muestra con el valor más alto de $1120\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$, que corresponde a la muestra que se activa durante 8 horas.

En la Figura 3 se muestran los valores del volumen de microporo y del volumen de mesoporo de los carbones activados en función del tiempo de activación.

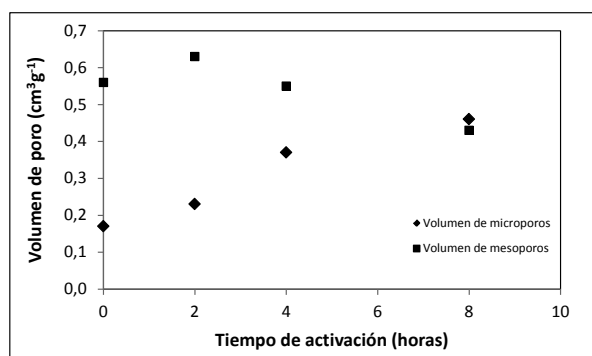


Figura 3. Volumen de microporo y mesoporo de los carbones activados en función del tiempo de activación

La Figura 3 muestra un resultado interesante de los carbones activados obtenidos, ya que presentan tanto microporos como mesoporos, el material original muestra un contenido de los dos tipos de poros y al someterlo a activación el contenido de microporos aumenta hasta un valor de $0,46\text{ cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$ cuando la activación se realiza durante 8 horas. En cuanto al volumen de mesoporos su valor se mantiene hasta las cuatro horas de activación y disminuye para el mayor tiempo de activación, dado que se aumenta la producción de microporos y estos últimos son los sitios que sirven de comunicación para que se lleve a cabo la adsorción del Ni^{2+} sobre los microporos; estos resultados son comparables con los obtenidos por Rodríguez-Reino en la preparación de carbones activados a partir de cáscara de almendra (22)

La química superficial de los carbones activados es otro factor importante en el proceso de adsorción desde solución acuosa, por esta razón se determina la acidez total de los sólidos cuyos valores se encuentran entre $1,36$ y $1,47\text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ que indican que los carbones activados son de carácter ácido, lo cual favorece la adsorción de los iones Ni^{2+} ; comportamiento que se compara con un trabajo de Moreno-Castilla (23) en el que se oxidan carbones activados.

Una vez se caracterizan los carbones activados, se emplean en la adsorción de Ni^{2+} desde solución acuosa, los ensayos se llevan a cabo a pH 5 de la solución porque de acuerdo al diagrama de especiación del níquel (24) a este pH la especie predominante es el Ni^{2+} y es dicha especie la que se busca adsorber

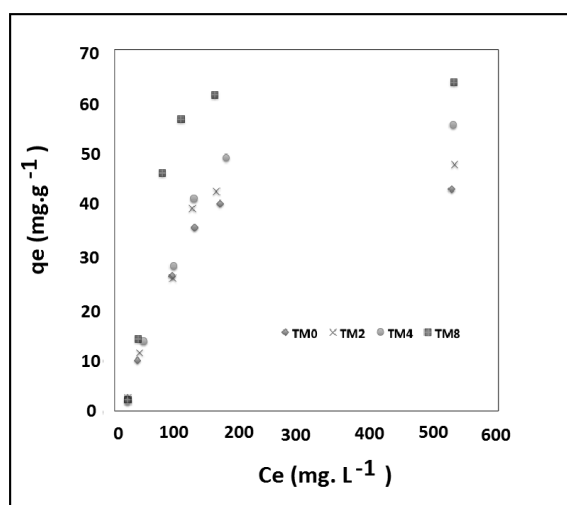


Figura 4. Isotermas de adsorción de Ni^{2+} desde solución acuosa. pH 5,0. y 25°C .

Las isotermas de adsorción del Ni^{2+} desde solución acuosa sobre las muestras carbonosas se presenta en la Figura 4, se observa que la adsorción es mayor para el carbón activado TM8 y menor para la tuza de maíz natural; es decir que el tiempo de activación modifica el sólido y favorece la adsorción del ion Ni^{2+} . Un resultado interesante se muestra en la adsorción que presenta el precursor de alrededor de $33\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ y que los carbones activados presentan valores del ion adsorbido mayores alrededor de $44\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ para TM8.

Los datos experimentales que se obtienen de las isotermas de adsorción para las soluciones acuosas de Ni^{2+} sobre las muestras de carbón activado, se ajustaron a los modelos de Langmuir y Freundlich, en las que se utilizan las expresiones matemáticas siguientes:

Modelo de Langmuir

$$Q_e = \frac{Q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (1)$$

Donde Q_e es la cantidad de Ni^{2+} adsorbido en condiciones de equilibrio en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, C_e la concentración en equilibrio en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Q_m es la máxima capacidad de adsorción en la monocapa y K_L es una constante de adsorción en el equilibrio.

Modelo de Freundlich

$$Q_e = K_F C_e^{\frac{1}{n}} \quad (2)$$

Donde K_F es una constante de la adsorción en equilibrio y n es una constante característica asociada grado de favorabilidad de la adsorción ⁽²⁵⁾.

En la Tabla 3 se encuentran resumidos los parámetros resultantes de la linealización de los datos de adsorción aplicando los modelos de Langmuir y Freundlich. Los parámetros de ajuste de los modelos se calculan por el método de mínimos cuadrados

Tabla 3. Parámetros de los modelos de Freundlich y Langmuir

Muestra	Modelo de Langmuir			Modelo de Freundlich		
	Q_m (mg·g ⁻¹)	K_L (L·g ⁻¹)	R^2	K_F (L·g ⁻¹)	N	R^2
TM0	32,88	0,027	0,9994	6,09	1,895	0,9754
TM2	38,22	0,033	0,9987	10,9	1,994	0,9743
TM4	40,76	0,067	0,9988	21,0	2,541	0,9643
TM8	43,65	0,232	0,9985	38,8	2,946	0,9678

Al comparar los coeficientes de correlación, R^2 , de los dos modelos aplicados a los datos de adsorción se observa que el modelo que presenta el mayor ajuste es el de Langmuir; también se observa que las cantidades de capacidad máxima de adsorción, Q_m , aumentan con el aumento del tiempo de activación de los carbones activados con un valor de 43,65 mg·g⁻¹, para el carbón activado TM8, lo cual se confirma con los valores obtenidos de la constante del mismo modelo, K_L y el parámetro n del modelo de Freundlich que indica que la adsorción se favorece en dicho carbón activado.

El modelo cinético de pseudo primer orden se ha utilizado ampliamente para predecir la cinética de adsorción. El modelo dado por Lagergren se define como:

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_e - q) \quad (3)$$

Donde k_1 es la constante de velocidad de adsorción de Lagergren (min⁻¹); q y q_e son las cantidades adsorbidas a un tiempo t y en el equilibrio respectivamente, t es el tiempo. La ecuación de pseudo segundo orden se basa en la adsorción de equilibrio se expresa como:

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2 \quad (4)$$

En la que k_2 es la constante de velocidad de pseudo segundo orden (g mg⁻¹ min⁻¹)

Los parámetros calculados de la cinética de pseudo primer-orden, así como el modelo de pseudo-segundo orden se muestran en la Tabla 2 utilizando aquí los materiales TM2, TM4, TM8 y el material natural TM0. Los valores obtenidos de q_e y coeficiente de correlación correspondiente (R^2) a partir de la ecuación de pseudo primer-orden no mostraron ser los apropiados para ilustrar la relación cinética de adsorción de Ni²⁺ sobre los carbones activados provenientes de la tuza de maíz.

Tabla 2. Parámetros de la cinética de adsorción de Ni²⁺ sobre los carbones activados a 25 °C. C_0 (450 mgL⁻¹)

Muestra	Modelo de pseudo primer orden			Modelo de pseudo segundo orden		
	q_e (mg·g ⁻¹)	K_1 x10 ⁻³ (min ⁻¹)	R^2	q_e (mg·g ⁻¹)	K_s (mg·g ⁻¹ min ⁻¹)	R^2
TM0	27,87	0,86	0,82	30,76	0,0012	0,99
TM2	32,96	0,92	0,80	36,25	0,0015	0,99
TM4	36,76	0,94	0,87	38,54	0,0015	0,99
TM8	38,97	1,02	0,86	42,97	0,0017	0,99

De otra parte, los valores calculados de q_e para la cinética de pseudo segundo-orden se ajustan de acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 2. Los valores calculados de R^2 fueron de 0,99. Por lo tanto, los datos cinéticos de adsorción experimentales se correlacionaron bien para una cinética de pseudo segundo-orden

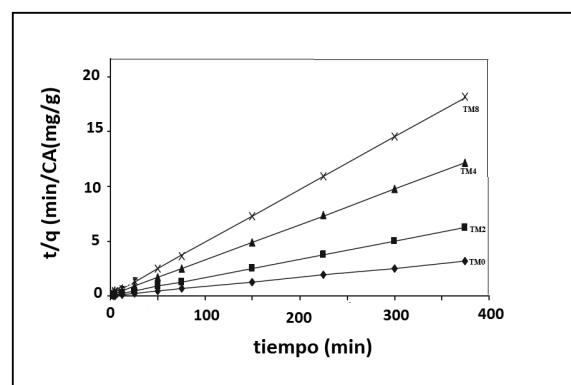


Figura 5. Cinética de pseudo segundo-orden de Ni²⁺ sobre los carbones activados preparados a partir de tuza de maíz

En la Figura 5 se presentan las líneas obtenidas para la cinética de adsorción al ajustar los datos experimentales al modelo de pseudo segundo orden, para las cuales se observan valores de coeficientes de correlación más altos.

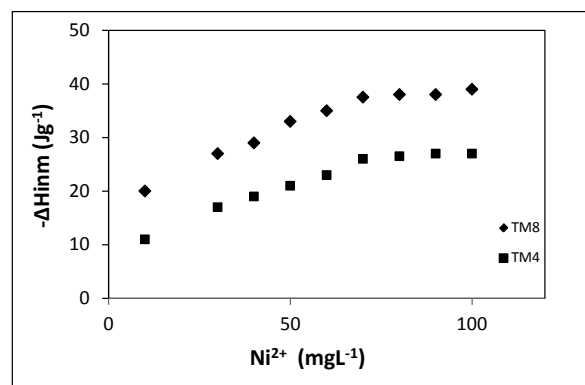


Figura 6. Entalpía de inmersión de los carbones activados TM4 y TM8 en función de la concentración de Ni²⁺.

Para los carbones activados que presentan las máximas adsorciones del ión metálicos se determinan las entalpías de inmersión en soluciones acuosas de diferente concentración del ión Ni²⁺, muestras TM4 y TM8, y soluciones acuosas del ión en un rango de concentración de 10 a 100 mgL⁻¹.

En la Figura 6 se presentan los valores de la entalpía de inmersión en función de la concentración de Ni²⁺; como

se observa para concentraciones superiores a 70 mg·L⁻¹, los valores de la entalpía de inmersión se mantienen constantes; este resultado es interesante porque muestra que al aumentar la concentración los valores de la entalpía de inmersión no aumentan, indicando que las interacciones entre el líquido y el sólido no se modifican y la forma de la curva se hace semejante a la que presentan las isotermas de adsorción en fase acuosa, entendiendo la saturación de adsorción de los carbones sobre el adsorbato.

CONCLUSIONES

Se preparan carbones activados por activación a diferentes tiempos con CO₂ a partir de tuza de maíz, se realiza la caracterización física y de acidez de los carbones activados que se emplean en la adsorción de iones de Ni²⁺ desde solución acuosa.

La adsorción de iones Ni²⁺ desde solución acuosa sobre carbón activado es dependiente del área superficial de los carbones activados que se encuentra entre 327 y 1120 m²·g⁻¹ y la acidez de los carbones, la adsorción del ion metálico se favorece para valores de pH entre 5 y 6

La determinación de acidez, con valores entre 1,47 y 1,36 mmol·g⁻¹, indica que los carbones activados poseen grupos que interactúan con el Ni²⁺ de la solución.

Los datos experimentales de las isotermas de adsorción del ion Ni²⁺ en solución se ajustan al modelo de Langmuir, para describir el proceso de adsorción, con valores para la capacidad máxima de adsorción entre 32,88 y 43,65 mg·g⁻¹. El proceso cinético de adsorción de Ni²⁺ sobre carbones activados de tuza de maíz se ajusta a un modelo de pseudo segundo orden.

De igual manera las entalpías de inmersión de los carbones activados en las soluciones, con valores entre 11 y 39 J·g⁻¹, muestran variación con respecto a la concentración del ion metálico, la calorimetría de inmersión mostro ser una técnica versátil para realizar el seguimiento e interpretación del proceso de adsorción adsorbato-adsorbente

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al convenio Marco entre la Universidad de Los Andes y la Universidad Nacional de Colombia y al acta de acuerdo establecido los departamentos de Química de ambas Universidades.

BIBLIOGRAFÍA

- Moreno, J.C.; Giraldo, L. Adsorción de Cr(VI) desde solución acuosa sobre carbones activados obtenidos a partir de carbón mineral y residuos lignocelulósicos. *Afinidad. Revista de Química Teórica y Aplicada*, **63**, 1-6 (2006)
- Loa, S.F.; Wangb, S.Y.; Tsaib, M.J.; Lin, L.D. Adsorption capacity and removal efficiency of heavy metal ions by Moso and Ma bamboo activated carbons. *Chem. Eng. Research and Design*, **90**, 1397-1406 (2012)
- M. Bernhard, E.E. Brinckman, P.J. Sadler, The importance of Chemical Speciation in Environmental Processes, Springer, New York, USA, 1986.
- Leyva, R. Importancia y Aplicaciones de la Adsorción En Fase Líquida. En: Sólidos porosos: preparación, caracterización y aplicaciones. Ediciones Uniandes. Bogotá. 2007
- Vargas, D. P.; Giraldo, L.; Moreno-Piraján, J.C. CO₂ Adsorption on Activated Carbon Honeycomb-Monoliths: A Comparison of Langmuir and Tóth Models. *Int. J. Mol. Sci.*, **13**, 8388-8397 (2012)
- Molina-Sabio, M.; Martínez-Escandell, M.; Rios, R.; Rodríguez-Reinoso, F. Carbonización de materiales lignocelulósicos para obtener espuma de carbono. En: VII reunión del grupo español del carbón. Universidad de Granada. 2005. 19-20.
- (7) Chang, C.F.; Chang, C.Y.; Tsai, W.T. Effects of burn-off and activation temperature on preparation of activated carbon from corn cob agrowaste by CO₂ and steam. *Journal of Colloid and Interface Science*, **232**, 45-49 (2000)
- Marco-Lozar, J.P.; Suárez-García, F.; Cazorla-Amorós, D.; Linares-Solano, A. Aumento del rendimiento del proceso de activación de precursores lignocelulósicos por modificación de la etapa de carbonización. En: VII reunión del grupo español del carbón. Universidad de Granada. 2005. 157-158.
- Rodríguez-Reinoso, F. Activated carbon: structure, characterization, preparation and applications. En: Introduction to carbon technologies. Universidad de Alicante (Publicaciones). Alicante 1997
- Tsai, W.T.; Chang, C.Y.; Wang, S.Y.; Chang, C.F.; Chien, S.F.; Sun, H.F. Preparation of activated carbons from corn cob catalyzed by potassium salts and subsequent gasification with CO₂. *Bioresource Technology*, **78**, 203-208 (2001)
- Vaughan, T.; Seo, C.W.; Marshall, W.E. Removal of selected metal ions from aqueous solution using modified corncobs. *Bioresource Technology*, **78**, 133-139 (2001)
- Marshall, W.E.; Wartelle, L.H.; Boler, D.E.; Toles, C.A. Metal Ion Adsorption by Soybean Hulls Modified with Citric Acid: A Comparative Study. *Environmental Technology*, **21**, 601-607 (2000)
- Bagheri, N.; Abedi, J. Adsorption of methane on corn cobs based activated carbon. *Chem. Eng. Res. Design*, **89**, 2038-2043 (2011)
- Buasria, A.; Chaityuta, N.; Tapanga, K.; Jaroensina, S.; Panphroma, S. Equilibrium and Kinetic Studies of Biosorption of Zn(II) Ions from Wastewater Using Modified Corn Cob. *APCBEE Procedia*, **3**, 60-64 (2012)
- Argun, M. E.; Dursun, S.; Ozdemir, C.; Karatas, M. Heavy metal adsorption by modified oak sawdust: Thermodynamics and kinetics. *Journal of Hazardous Materials*, **141**, 77-85 (2007)
- Rodríguez, G.A.; Giraldo, L.; Moreno J.C. Calorimetric study of the immersion enthalpies of activated carbon cloths in different solvents and aqueous solutions. *J. Therm. Anal. Cal.*, **96**, 547-552 (2009)
- Stoeckli, F.; Centeno, T.A. On the characterization of microporous carbons by immersion calorimetry alone. *Carbon*, **35** 1097-1100 (1997)
- Tsai, W. T.; Chang, C. Y.; Lee, S. L.; Wang, S. Y. Thermogravimetric Analysis of Corn Cob Impregnated with Zinc Chloride for Preparation of Activated Carbon. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **63**, 351-357 (2001)

-
19. Boehm, H.P. Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon*, **32**, 759-769 (1994)
 20. Rodríguez-Estupinan, P.; Moreno-Pirajan, J. C.; Giraldo, L. Oxidación de la superficie de carbón activado mediante HNO_3 y H_2O_2 : efecto sobre la remoción de níquel (II) en solución acuosa. *Revista Colombiana de Química*, **40**, 1-18 (2012)
 21. Betancourt, M.; Giraldo, L.; Moreno, S.; Molina, R.; Moreno, J.C. Relation between immersion enthalpy and the acidity of clay pillared minerals. *J. Therm. Anal. Cal.*, **92**, 899-904 (2008)
 22. Rodríguez-Reinoso, F. Production and applications of activated carbons. Editores: Schüth F, Sing KSW, Weitkamp J. Handbook of Porous Solids, Vol. 3, Weinheim, Wiley VCH, 2002
 23. Moreno-Castilla, C.; López-Ramón, M.V.; Carrasco-Marín, F. Changes in surface chemistry of activated carbons by wet oxidation. *Carbon*, **38**, 1995-2001 (2000)
 24. Srivastava, V.C.; Mall, I.D.; Mishra, I.M. Competitive adsorption of cadmium(II) and nickel(II) metal ions from aqueous solution onto rice husk ash. *Chem. Engineering and Processing*, **48**, 370-379 (2009)
 25. Leyva-Ramos, R.; Fuentes-Rubio, L.; Guerrero-Coronado, M.; Mendoza-Barron, J. Adsorption of trivalent chromium from aqueous solutions onto activated carbon. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* **62**, 64-67 (1995)

Effect of viscosity in the porosity of granular materials in the moving bed washing process

Lizet Rodríguez-Machín^{1*}, Bernhard Hoffner², Werner Stahl², Raúl Alberto Pérez-Bermúdez¹, Luis Gómez-Rodríguez³, Luis Ernesto Arteaga-Pérez⁴

¹Center for Energy and Environmental Technologies Assessments (CEETA), Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, C.P. 54830, Santa Clara, Cuba. ²Institut für Mechanische Verfahrenstechnik und Mechanik (MVM), Universität Karlsruhe (TH), D-76128 Karlsruhe, Germany ³Department of Chemical Engineering, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, C.P. 54830, Santa Clara, Cuba ⁴Unidad de Desarrollo Tecnológico - Universidad de Concepción, Chile.

Efecto de viscosidad en la porosidad de materiales granulares en procesos de lavado en lecho móvil

Efecte de viscositat en la porositat de materials granulars en processos de rentat en llit mòbil

Recibido: 17 de julio de 2013; revisado: 13 de febrero de 2014; aceptado: 19 de marzo de 2014

RESUMEN

Los procesos de lavado se caracterizan por el reemplazo de los líquidos iniciales por otro líquido (el líquido de lavado). En el artículo que se expone, los estudios experimentales se han realizado en un sedimentador de laboratorio. Se expone un incremento en la porosidad del lecho móvil con la velocidad vertical media a un ancho fijo de la cámara de lavado. Las diferencias oscilan entre 3-5% para las condiciones elegidas. Los resultados experimentales muestran que los valores de porosidad en cama móvil, para ambas fracciones de arena, son ligeramente superiores a los valores del lecho móvil con relación de viscosidad (η^*) igual a uno.

Palabras clave: Filtro; sedimentador; lavado; viscosidad.

SUMMARY

Washing processes are characterized by the replacement of the initial liquids by another liquid (the wash liquid). In the paper being presented, the experimental studies have been conducted in lab sedimentation equipment. It was exhibited an increment in the porosity of the moving bed with the average vertical velocity at a fixed width of the wash chamber. The experimental results show that the porosity values in the moving bed for both fractions of sand are slightly higher than the values of the moving bed with viscosity ratio (η^*) equal to one. The differences are in the range of 3-5 % at the chosen conditions.

Keywords: Filter; sedimenter; washing; viscosity.

RESUM

Els processos de rentat es caracteritzen pel reemplaçament dels líquids inicials per un altre líquid (el líquid de rentat). A l'article que es presenta, els estudis experimentals s'han fet en un sedimentador de laboratori. S'exposa un increment en la porositat del llit mòbil amb la velocitat vertical mitjana a un amplada fixa de la càmera de rentat. Les diferències oscil·len entre 3-5% per a les condicions escollides. Els resultats experimentals mostren que els valors de porositat en un llit mòbil, per a les dues fraccions de sorra, són lleugerament superiors als valors del llit mòbil amb relació de viscositat (η^*) igual a un.

Mots clau: Filtre; sedimentador; rentat; viscositat.

*Corresponding author: lizetr@uclv.edu.cu

1. INTRODUCTION

Washing processes are extended in various industrial applications and they are of great importance. Those operations are mainly focussed on the separation of valuable or undesired liquids or therein dissolved substances from a system of solid particles. These processes are characterized by the replacement of the initial liquids by another liquid (the wash liquid) [Franky et al. 2009]. Both liquids do not have to be necessarily miscible; the paper being presented is limited only to miscible liquids. There are several ways to carry out an efficient washing process; there are distinguished two basic procedures: washing by dilution and cake washing.

The separation of fluids containing soluble substances from sediments and filter cakes are one of the most important operations for various chemical processes either to treat raw materials or to purify products [Choua et al 2014]. The substances dissolved are present not only in the liquid that can be moved between the particles, but can also be located within the pores of more porous particles or at the boundary surface of liquid-solid phase.

Hoffner and colleagues worked several years in the study of washing process of quartz sand in the moving bed [Hoffner et al. 2001, 2003 and 2005]. The concept for a new washing process using a moving bed aims to combine advantageous characteristics of two well-known washing processes: displacement of mother liquor as the dominant transport mechanism avoiding disadvantages of a fixed bed structure (e.g. impenetrable regions and channelling) and the interaction with boundaries (e.g. maldistribution of the wash liquid feed, maldistribution of mother liquor due to a filter cloth and its support). The washing process described here is based on two requirements: first, a density difference between two solids and liquids; second, the solids form a free flowing bulk when immersed in the respective fluids/solutions. These requirements are fulfilled for various particulate products.

The moving bed shows bulk flow behaviour. It differs from the fixed bed structure due to the relative movement of the particles. The porosity of the moving bed increases with the average velocity of the moving bed at a fixed width of the wash chamber. This corresponds to observations of flowing, bulk materials [Rodríguez-Machín 2008; Hoffner et al. 2003]. The measured values for the porosity are all higher than the values of a corresponding filter cake ($\Delta p < 0.2$ bar), but not necessarily higher than the ones of gently formed sediments. In 2004, Hoffner and Stahl demonstrated that the relative movements of particles leads to a slight porosity increase compared to the porosity of a fixed bed. The porosity increase measured under these conditions ($\eta^*=1$) was in the range of 2-3 % absolute and is still in the range of a gently formed sediment.

Mineral building materials are among the most important materials in the construction industry. Quartz sand is used as a major component in industrial flooring but also opens up the full range of potential applications, ranging from indoor/outdoor plaster and render through polymer concrete and dry mortar to applications in construction chemistry. Therefore, the quartz sands demands high quality. The porosity of the sand is an important consideration when attempting to evaluate the potential volume of liquid it may contain or it is necessary to remove. Also in washing process, porosity measurements are needed to get information about the moving bed structure. The washing of

quartz sand in moving bed is especially affected by the material properties, particularly the viscosity of the liquids used. The objective is to study the effect of viscosity in the porosity of granular materials in the moving bed washing process.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Experimental setup

The experimental studies were conducted with a plain, single-stage lab Sedimeter described in Figure 1. Fully saturated sediment enters the wash chamber continuously from the top.

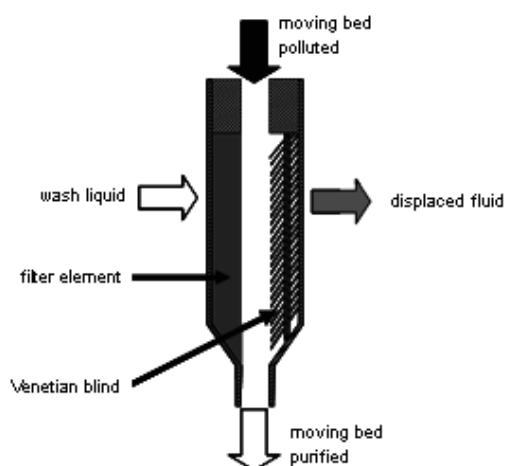


Figure 1. Single wash chamber of plane lab-Sedimeter.

The chamber consists of a filter element at the wash liquid entry and a “Venetian blind” type fitting at the mother liquor exit, a rear wall, and a glass front plate in order to observe the movement of solids and liquids. These boundaries form a rectangular channel for the moving bed. Solids and mother liquor enter on top. Having entered the wash chamber the moving bed is penetrated by the wash liquid and the mother liquor is displaced. Both fluids are pumped volumetrically with a double headed low pulsation peristaltic pump into and out of the wash chamber. The purified moving bed exits to a screw conveyor that transports the washed moving bed to the Sedimeter. In order to avoid an undesired vertical relative movement of the pore liquids with respect to the solids, three pressure indicators are placed between the exit of the wash chamber and the screw conveyor in this way the pressure drop is monitored along the device in order to ensure that the values corresponds to the expected hydrostatic pressure difference.

The use of filter media at the wash liquid exit in the wash chamber could cause serious disadvantages, e.g. blocking, wear, and a random distribution of the fluids due to impenetrable areas of the filter cloth and its support. Using a “Venetian blind” shaped fitting in order to guide the moving bed can reduce or even avoid the points mentioned. Additionally, the wash chamber can be depleted without any residues in the case of a product change.

The residual impurity content is obtained by a conductivity measurement at the inlet section of the screw conveyor where a small amount of interstitial water is continuously removed and recycled further up the screw conveyor. The salt concentration was monitored and used for the calcu-

lations only after it had been stationary for at least 30 minutes [Rodríguez-Machín 2008; Hoffner 2001].

2.2 Theoretical description of the washing process

In a washing process there are two important parameters: the wash ratio (W) and the remaining fraction of impurity (X^*).

2.2.1 Wash ratio

$$W = \frac{V_w}{V_p} \quad (1)$$

V_w = the volume of wash liquid (m^3)

V_p = the pore volume (m^3). The wash ratio is always ≥ 0 .

2.2.2 Remaining fraction of impurity

$$X^* = \frac{C_1 - C_w}{C_0 - C_w} \quad (2)$$

Here:

ε = the porosity (-) is constant at $0 \leq X^* \leq 1$

C_0 = the salt concentration of the total entering moving bed (g/l)

C_1 = the salt concentration of the total leaving moving bed (g/l)

C_w = the salt concentration of the wash liquid (g/l)

In the ranges explored the conductivity measurements exhibited a weak dependency on the temperature and on the concentration of the viscosity-increasing additive, both expressed with the coefficients, k_{TL} and k_{KL} as determined by Rodríguez - Machín 2008 and integrated in Eq. (3). Therefore, to calculate the concentration of NaCl Eq. (4) was used.

$$\kappa(T, C_{PVP}) = \kappa_0 (1 + k_{TL}(T - T_0))(1 + k_{KL}C_{PVP}) \quad (3)$$

κ_0 = to κ when the temperature is 25°C and $C_{PVP}=0$

k_{TL} = temperature coefficient

k_{KL} = concentration coefficient

κ_0 = the measured value of the conductivity

$$\kappa(T, C_{PVP}) = \kappa_0 (1 + 2,07(T - T_0))(1 - 0,22C_{PVP}) \quad (4)$$

In order to characterize the viscosity difference between the wash liquid and the mother liquor, the viscosity ratio (η^*) is defined.

$$\eta^* = \frac{\eta_{\text{wash liquid}}}{\eta_{\text{mother liquor}}} \quad (5)$$

$\eta_{\text{wash liquid}}$ = the viscosity of the wash liquid (mPa s)

$\eta_{\text{mother liquor}}$ = the viscosity of the mother liquor (mPa s)

To get information about the moving bed structure, porosity measurements are needed. A sampling point was placed at the discharge of the screw conveyor in order to determine the porosity at different times. The wet mass and dry mass were determined thermogravimetrically [Hoffner 2003; Hoffner 2005].

$$\varepsilon = \frac{V_l}{V_{\text{tot}}} = 1 - \frac{V_s}{V_{\text{tot}}} = 1 - \frac{\frac{m_s}{\rho_s}}{\frac{m_l}{\rho_l} + \frac{m_s}{\rho_s}} \quad (6)$$

Here:

V_l = volume of the fluid (m^3)

V_{tot} = total volume (m^3)

V_s = volume of the solid (m^3)

m_s = mass of the solid (kg)

ρ_s = density of the solid ($kg\ m^{-3}$)

m_l = mass of the fluid (kg)

ρ_l = density of the fluid ($kg\ m^{-3}$)

In order to minimize the wash liquid demand, the impure liquid has to be displaced to a great extent avoiding a mixing with wash liquid and especially a bypass flow of wash liquid. The up to now investigations for the purification of quartz sand in a Sedimenter showed very good wash results, as much in reference to the remaining impurity as to the necessary specific washing water volumes. Thereby in the research presented here, mother and wash fluids with negligible viscosity differences were always used. From the process engineering literature and a preceding work about filter cake washing it is well-known, that larger or else different viscosities of the washing liquid in relation with the mother liquor can decrease or favour the tendency to the formation of preferential flow channels (viscous fingering) [Bender 1983; Heuser 2003].

2.2.3 Course of the wash curve

The washing results are usually described by a washing curve where the remaining fraction of impurity (X^*) is plotted versus the wash ratio (W). The typical washing curve can be divided into three areas as shown in Figure 2.

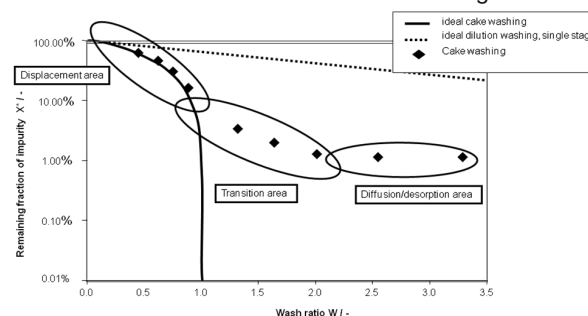


Figure 2. Remaining fraction of impurity (X^*) plotted versus the wash ratio (W).

- **Displacement area:** In this area, the condition of the ideal displacement applies with the addition of small quantities of washing liquid. Diffusion and desorption effects play a negligible role.
- **Transition area:** Additionally there is a flow induced mixture (dispersion) between the mother and wash fluids which can be caused by inhomogeneity of the pore structure. The deviation from the ideal curve, the pistons shaped displacement, begin in this area.
- **Diffusion/desorption area:** In this area the impurities are transported by diffusion/desorption mechanism into the wash liquid. The remaining fraction of impurity reaches its limit value and the remainder pollution cannot be removed substantially by increasing the amount of the wash liquid [Heuser 2003].

2.3 Washing modelling

Figure 3 shows two fractions of quartz sand used in the experiments being presented ($x_{50.3} = 337\ \mu m$ (Dorsilit 9H) and $160\ \mu m$ (Geba), $\rho_s = 2650\ kg\ m^{-3}$). Sodium chloride was used as impurity and therefore is the target substance to be removed during the washing process; which was dissolved in the mother liquor in a concentration of $C_{NaCl} = 12\ g/l$. The sodium chloride solution was prepared with demineralised water (conductivity of $0.8 - 9\ \mu S/cm$) and pure

sodium chloride. Polyvinylpyrrolidone (PVP) was used as viscosity-increasing additive. Both the viscosity and density deviation of the mother liquor are negligible at room temperature (20 -30 °C).

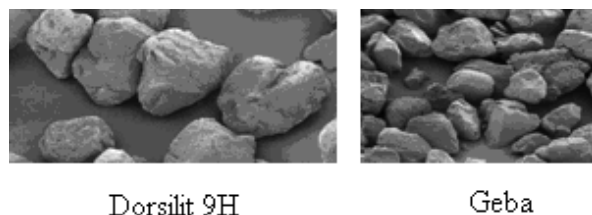


Figure 3. Fractions of quartz sand used in the course of the experiments.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Hoffner (2005) have also demonstrated that the relative movement of the particles in the moving bed leads to a slight porosity increase compared to the porosity of a fixed bed, specifically the case of the respective filter cakes. On the other hand, it does not show a suspension-like behavior as flow experiments through a discharge gap below the wash chamber. The porosity is increased under these conditions in the range of 2 - 3 % in respect to the filter cakes formed at fixed bed washing experiments (Table 1). Gently formed sediments show porosity values in the same range as the moving bed.

Table 1. Porosity values of a moving bed and a filter cake and the respective relative standard deviation with $\eta^* = 1$ [Hoffner 2005].

	moving bed	filter cake ($\Delta p < 0.2$ bar)
Dorsilit 9H sand	47.2 % $\pm$ 0.6 %	44.6 % $\pm$ 1 %
Geba sand	46.3 % $\pm$ 2.4 %	45.7 % $\pm$ 1 %

The porosity of the bed in the wash chamber is not constant but increases with the average velocity of the moving bed, and therefore with the shear rate in the shear zone, see Figure 4.

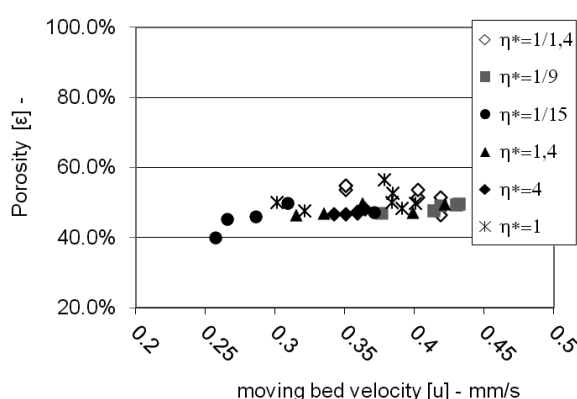


Figure 4. Porosity of the moving bed as a fraction of the vertical moving bed velocity (sand Dorsilit 9H).

In the case of the materials and conditions considered here, it grows by a few percentage points. The experimental results in this work show that the porosity values in the moving bed with the viscosity ratio ranging from 4 to 1/15 are slightly higher than the values of the moving bed with $\eta^* = 1$. The differences are in the range of 3 - 5 %. The

course of porosity values for sand Geba shows qualitatively the same behavior as sand Dorsilit, see Figure 5.

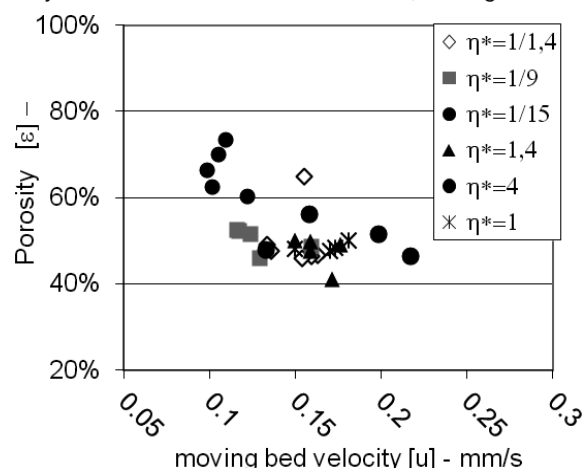


Figure 5. Porosity of the moving bed as a fraction of the vertical moving bed velocity (sand Geba).

In the case of the sand fraction with small size particles the increase in the porosity is higher due to the same volume of bed there is a greater number of particles causing an increase in empty spaces between them. The velocity of the fluid through the moving bed in the wash chamber undergoes an increase with decreasing porosity of the particles [Sandorini and Franzoni 2001]. The number of particles and therefore the interface area is higher when the size of particles in the same bed volume is smaller.

The results of investigations for the washing of the moving bed are covered with systematic deviations [Sandorini and Franzoni 2001]. The most important error sources are mentioned and quantified. First and foremost is the impact of systematic errors conveyors and concentration determination. In addition, also the errors due to the uncertainty in the determination of the adsorption isotherm influence [Isshi et al. 2009]. The following deviations of target and actual values were determined for respectively, assessed and introduced into a maximum error bill,

Washing fluid pump: 1.5%

Screw conveyor speed: 2%

Volume flow of the pressure compensation pump: 3%

Error of the conductivity measurement (mother liquor, entry): 1%

Error of the conductivity measurement (wash liquid, entry): 5%

Error of the conductivity measurement (mother liquor, exit): 5%

In addition there are other possible errors which are however difficult to quantify.

4. CONCLUSIONS

The experimental results of the washing processes used showed similar tendencies for both sand fractions when there are viscosity variations of mother liquor or wash liquid. The differences in respect to the values of the moving bed with $\eta^* = 1$ are in the range of 3 - 5 % at the chosen conditions. The velocity of the fluid through the moving bed in the wash chamber undergoes an increase with decreasing porosity of the particles. The number of particles

and therefore the interface area are higher when the size of particles in the same bed volume is smaller.

5. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge DAAD (German Academic Exchange Service) and Institut für Mechanische Verfahrenstechnik und Mechanik (MVM), University Karlsruhe (TH), Germany for financial and facilities support.

6. REFERENCES

1. Bender, W., Das Auswaschen von Filterkuchen. Chem. Ing. Tech., 1983. 55: p. 823-829.
2. Heuser, J., Filterkuchenwaschprozesse unter besonderer Berücksichtigung physikalisch-chemischer Einflüsse, in Dissertation. 2003, Institut für Mechanische Verfahrenstechnik und Mechanik, Universität Karlsruhe (TH) und Shaker Verlag: Aachen.
3. Hoffner, B. and W. Stahl, A new multistage washing process for granular materials. Advances in Filtration and Separation Technology 2001. 15.
4. Hoffner, B. and W. Stahl, Detached Particle Washing: A New Concept Combining Cake Washing and Dilution Washing Characteristics. Fluid/Particle Separation Journal, 2003. 15(2): p. 113.
5. Hoffner, B., Ein neuartiges Verfahren zur Feststoffwaschung-Die Anwendung des Wanderbetts zur hochgradigen Aufreinigung particular-disperser Systeme. 2005, Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik, Universität Fridericiana zu Karlsruhe: Karlsruhe. p. 233.
6. Rodríguez - Machín, L., et al., La conductividad como herramienta para evaluar el funcionamiento del proceso de lavado en cama móvil. Afinidad, 2008. 65(538): p. 457-462.
7. Franky R., Hoffner, B., Nirschl, H., Stahla, W. Evaluation of pathways for washing soluble solids. Chem. Eng. Research and Design. Volume 87, Issue 8, August 2009, Pages 1075–1084.
8. Choua, H.T. Choub, S.H. Hsiaub S.S. The effects of particle density and interstitial fluid viscosity on the dynamic properties of granular slurries in a rotating drum. Powder Tech. Vol. 252, (2014), 42–50
9. Sandrolini, F. Franzoni, E. Waste wash water recycling in ready-mixed concrete plants. Cement and Concrete Research. Vol 31, Issue 3, (2001), 485–489
10. Ishii, K., Furuichi, T., Tanikawa, N. Numerical model for a watering plan to wash out organic matter from the municipal solid waste incinerator bottom ash layer in closed system disposal facilities. Waste Management Vol. 29, Issue 2, (2009), 513–521

Las técnicas de aprendizaje automático en la predicción de estructura de proteínas: un enfoque desde la bioinformática

Cosme E. Santiesteban-Toca,^{1,2*} Gerardo M. Casañola-Martin,^{3,4,5} y Jesús S. Aguilar-Ruiz²

¹ Centro de Bioplasmas, Universidad de Ciego de Ávila, Cuba. ² Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España. ³ Centro de Información y Gestión Tecnológica, Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (CITMA), 65100, Ciego de Ávila, Cuba. ⁴ Unit of Computer-Aided Molecular Biosilico Discover and Bioinformatic Research (CAMD-BIR Unit), Facultad de Química y Farmacia, Universidad de Las Villas, Cuba. ⁵ Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Universitat de València, E-46100 Burjassot, Spain.

The machine learning techniques in the protein structure prediction: an approach from bioinformatics

Les tècniques d'aprenentatge automàtic en la predicció d'estructura de proteïnes: un enfoc des de la bioinformàtica

Recibido: 29 de julio de 2013; revisado y aceptado: 28 de febrero de 2014

RESUMEN

La predicción de la estructura de las proteínas continúa siendo un reto para la comunidad científica. Para la construcción de modelos apropiados, múltiples autores han venido explorando heurísticas complejas como redes neuronales recurrentes, máquinas de vectores de soporte de múltiples capas, algoritmos bio-inspirados o combinación de clasificadores, pero estos esfuerzos han resultado insuficientes. En el presente artículo se discuten los métodos de predicción de estructuras basados en aprendizaje automático. Estos métodos se clasifican en diferentes taxonomías y se provee una descripción detallada de cada paradigma, resaltando sus ventajas y desventajas. Finalmente, se muestran las tendencias actuales y los últimos avances en las investigaciones en la predicción de estructura de proteínas.

Palabras clave: Aprendizaje automático; predicción de estructura de proteína; bioinformática; inteligencia artificial.

SUMMARY

The prediction of protein structures remains as a challenge for the scientific community. For the construction of the adequate models, several authors has been explored complex heuristic like the recurrent neural networks, multi-layer support vector machines, bio-inspired algorithms or the combination of classifiers, but all these efforts are not enough. In the current manuscript the structure prediction methods based on machine learning are discussed. These methods are classified in different taxonomies and

also a detailed description of each paradigm is provided, highlighting its advantages and disadvantages. Finally, the current tendencies and the last advances in the research of protein structure prediction are showed.

Keywords: Machine learning; protein structure prediction; bioinformatics; artificial intelligence.

RESUM

La predicció de l'estructura de les proteïnes continua sent un repte per a la comunitat científica. Per a la construcció de models apropiats, múltiples autors han estat explorant heurístiques complexes com xarxes neuronals recurrents, màquines de vectors de suport de múltiples capes, algorismes bio-inspirats o combinació de classificadors, però aquests esforços han resultat insuficients. En el present article es discuteixen els mètodes de predicció d'estructures basats en aprenentatge automàtic. Aquests mètodes es classifiquen en diferents taxonomies i es presenta una descripció detallada de cada paradigma, ressaltant els seus avantatges i desavantatges. Finalment, es mostren les tendències actuals i els últims avenços en les investigacions en la predicció d'estructura de proteïnes.

Mots clau: Aprenentatge automàtic; predicció d'estructura de proteïna; bioinformàtica; intel·ligència artificial.

*Autor para la correspondencia: Phone: 53-33-224026 ; 53-33-209201; cosme@bioplasmas.cu ; santiestebantoca@gmail.com

1. INTRODUCCIÓN

Las proteínas ocupan un lugar de máxima importancia entre las moléculas constituyentes de los seres vivos (biomoléculas). Prácticamente todos los procesos biológicos dependen de la presencia y/o actividad de este tipo de sustancias. La estructura terciaria determina la función que realiza la proteína, la cual puede ser muy variada. Las proteínas regulan la totalidad de los procesos celulares, incluso su propia síntesis [1].

En los últimos tiempos aunque las técnicas experimentales para proporcionar modelos aproximados de la estructura y la dinámica de las proteínas (cristalografía de rayos X o resonancia magnética nuclear tridimensional), han alcanzado un gran avance, la diferencia entre el número de secuencias y el de estructuras conocidas se incrementa diariamente. Por ello, en la actualidad, la predicción de estructuras de proteínas, se ha convertido en uno de los principales objetivos de la Bioinformática y, la Química Teórica, entre otras disciplinas, [2–5]. Este proceso implica predecir las estructuras secundaria y terciaria de la proteína desde su estructura primaria. Estos estudios tienen grandes implicaciones debido a su importancia en la Medicina, para el diseño de fármacos, y en la Biotecnología, para el diseño de nuevas enzimas [6–13].

La predicción de estructura de proteínas, se ha abordado empleando dos enfoques fundamentales: los métodos *ab initio* y los métodos de modelado por comparación (homología molecular). Los métodos *ab initio* tratan de predecir el plegamiento sin tener en cuenta la información evolutiva de las proteínas. Estos métodos exploran la energía hipersuperficial para establecer una conformación de energía mínima, la cual se cree se corresponda con el estado nativo de la proteína [10–12], [14], [15]. Por otra parte, los métodos de homología molecular tratan el problema de la predicción a partir de la información que implica la caracterización de múltiples secuencias alineadas basadas en la conservación de las secuencias y las mutaciones correlacionadas [16–20].

El uso de las técnicas de aprendizaje automático en la predicción de estructuras de proteínas ha experimentado un crecimiento acelerado en los últimos tiempos, alcanzando el 87% del total de las técnicas usadas hasta el momento. Esto se debe, fundamentalmente, al alto nivel de adaptabilidad de estos algoritmos. Dentro de las técnicas de aprendizaje automático las más empleadas son los sistemas de combinación de clasificadores con un 27% y las redes neuronales artificiales con un 25%. Mientras, las máquinas de vectores de soporte y los algoritmos bioinspirados han logrado el interés de los investigadores con un 17% y un 16%, respectivamente. Es por ello que este estudio está enfocado a estas técnicas. Se muestran además las nuevas perspectivas y tendencias en el campo de la predicción de estructuras de proteínas.

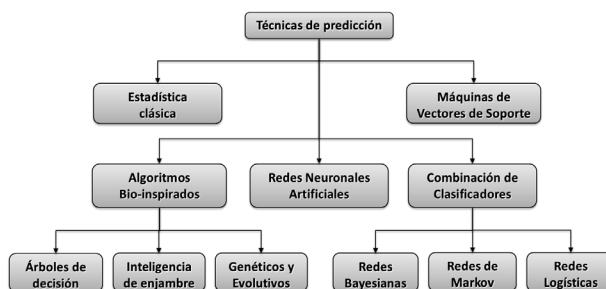
2. PREDICCIÓN DE ESTRUCTURA DE PROTEÍNAS.

La estadística clásica ha sido el soporte del análisis de datos biológicos durante muchos años. Sin embargo, los datos biológicos han cambiado en tamaño y estructura, impulsando la evolución de los algoritmos. Las técnicas de minería de datos, inteligencia artificial, heurísticas complejas, entre otros, han ocupado este espacio con el obje-

tivo de manejar estos grandes volúmenes de datos, lograr optimización y eficiencia [8], [21–23].

A pesar de la clasificación usual de las técnicas de predicción en *ab initio* o de modelado, en este trabajo se propone una nueva agrupación de éstas, teniendo en cuenta el paradigma a que pertenecen. La muestra una taxonomía que agrupa estas técnicas en métodos estadísticos, redes neuronales, máquinas de vectores de soporte, bio-inspirados y combinación de clasificadores.

Figura 1 Taxonomía de métodos de predicción de estructuras de proteínas.



2.1. Estadística clásica contra aprendizaje automático.

Los primeros modelos de predicción clasificaban los aminoácidos de forma cualitativa como: destructores de hélices, formadores de hélices, helicoidales y antihelicoidales. Además, realizaban el ajuste de fragmentos helicoidales de estructuras conocidas y ruedas helicoidales para localizar los arcos hidrofóbicos en la región helicoidal seleccionada [24].

En los métodos arriba indicados se tuvieron en cuenta los parámetros de iniciación de las hélices (σ) y el ancho de las hélices (s), así como los ángulos del centro del aminoácido para varias secuencias tripeptídicas en proteínas de estructura conocida (ϕ , ψ). Estos parámetros permitieron construir una tabla de 20x20 para todos los pares de aminoácidos en el centro de tripéptidos, mostrándose las frecuencias de ocurrencia en las regiones helicoidales y no helicoidales. Además, se pudo observar la no correlación debido a interacciones entre pares de residuos adyacentes en regiones helicoidales y no helicoidales. Teniendo esto en consideración, los autores llegaron a la conclusión de que la estructura secundaria de una cadena polipeptídica depende principalmente de las interacciones en la cadena principal con el núcleo (*backbone*) más que de las interacciones entre las cadenas laterales [25].

Para la identificación de las regiones de α hélices y las estructuras β en las proteínas globulares nativas, se propone un método basado en la teoría de la estructura secundaria de proteínas globulares solubles en agua, determinada mediante la técnica de difracción cristalográfica de rayos X. Se presenta un sistema de reglas, por medio de las cuales se puede localizar las regiones de α hélices y otras, 8 reglas específicas, para localizar las regiones en las estructuras β [26]. El uso de las propiedades hidrofóbicas de los aminoácidos de las proteínas es el aspecto más destacable de este método.

Más recientemente, se ha seguido incursionando en métodos como la predicción por regresión [27], desarrollado para los casos en que no sea encontrada una cadena homóloga a la cadena objetivo. La función de regresión se obtiene a partir del cálculo del orden absoluto de contactos. Esta ecuación surge de la observación de la co-

relación existente entre el orden de contactos (CO) y la combinación lineal del porcentaje de residuos en alfa hélices (p_{α}), el porcentaje de residuos en láminas beta (p_{β}) y la longitud de la proteína (L). Esta técnica tiene el mérito de generar una ecuación lineal simple que suplente la necesidad de búsqueda de cadenas homólogas. Sin embargo, tienen la desventaja de que supone la supuesta linealidad en la predicción de los contactos interresiduales lo que puede en determinadas ocasiones afectar la fiabilidad de las predicciones.

La implementación de los métodos estadísticos implica un bajo costo computacional, sobre todo debido a su simplicidad. Sin embargo, éstos presentan una serie de desventajas debido a que se basaban en pocas proteínas pequeñas (20) de estructura conocida, determinadas por cristalografía de rayos X [25], [26], en el análisis de secuencias homólogas [25–27], o suponen linealidad en la predicción de los contactos interresiduales [27]. Además, la aparición de un conjunto de reglas cualitativas, implica la necesidad del empleo de sentido común para realizar las predicciones [25–27]. Todo ello sugiere la necesidad de emplear técnicas más poderosas como las de aprendizaje automático.

2.2. Redes Neuronales Artificiales.

Con el objetivo de lograr predictores con mayor nivel de generalización y robustez, se comenzaron a emplear ampliamente las redes neuronales artificiales [28]. En este campo, ha aparecido una amplia gama de técnicas basadas en modelos Feed-Forward (ANN) [4], [5], [17], [29–33], modelos recurrentes (RNN) [2], [34–36], modelos que emplean funciones de base radial (RBFNN) [37–39], modelos de transiente caótico [40], entre otros [20].

Más recientemente, han sido empleadas las redes neuronales de campos condicionales (CNFs) y de campos aleatorios (CREs). En estos casos las CNFs han demostrado mayor efectividad que las CRFs, mostrando un mejor desempeño en la predicción de la mayor parte de las α -proteínas y pequeñas β -proteínas, no siendo así para las proteínas β más grandes [20].

2.2.1. Topologías

En la mayoría de los modelos se emplea una capa de entrada (variable según la codificación realizada). Una capa oculta con un número de neuronas que varía en dependencia del modelo y que oscila entre dos y 300 neuronas [4], [5], [16], [17], [29], [30], [34], [40]. Por último, una capa de salida, cuyo número de neuronas también varía en dependencia de la predicción que se realice: una neurona si lo que se predice es si hay o no contacto [16], [17], [34], [35]; de dos a tres neuronas en dependencia de la codificación, si lo que se predice son los motivos estructurales [4], [5], [29], [30]; otros casos emplean muchas más neuronas de salida para representar las estructuras 2D y 3D [37–39], [41].

También han sido propuestas arquitecturas de esquemas de combinación de redes neuronales por niveles. Donde, en un primer nivel, una RNA se encarga de la predicción secuencia – estructura, para predecir la estructura secundaria; en un segundo nivel otra RNA realiza la predicción estructura – estructura, para predecir la estructura terciaria a partir de la secundaria; y, un tercer nivel de RNA que se encarga del promediado de la predicción [31]. Estos esquemas emplean información derivada del alineamiento de múltiples secuencias, como la información evolutiva,

las mutaciones correlacionadas y la estructura 2D predicha. En general suelen ser complicados en cuanto a su implementación y alto costo computacional, pero ofrecen mejores soluciones al problema.

2.2.2. Codificación

La codificación de la información para el entrenamiento de las redes neuronales es un factor decisivo tanto por su influencia en el éxito final de la predicción como en la determinación de la estructura de la misma.

Una vertiente muy generalizada es la de tener en cuenta la vecindad del aminoácido para el cual se está realizando la predicción. En este caso la capa de entrada codifica a una ventana móvil en la secuencia de aminoácidos y la predicción es realizada para el residuo ubicado en el centro de la misma. El ancho de la ventana es obtenida experimentalmente y varía según los autores [4], [5], [29], [31], [41]. En algunos casos se plantea que ésta debe ser de 17 aminoácidos, basada en la evidencia de la correlación estadística entre la estructura secundaria de un residuo y los 8 residuos vecinos al punto de predicción hacia ambos lados [5].

Otro tipo de codificación, igualmente aceptado, implica la representación de la frecuencia de ocurrencia de contactos incluyendo el contexto de la secuencia para cada residuo, tomando una ventana centrada en el residuo objetivo, con una longitud de tres aminoácidos. Son considerados los pares paralelo y antiparalelo de los dos segmentos entrados en i y j . $\{i-1, j-1\}$, $\{i, j\}$, $\{i+1, j+1\}$ (pares paralelos), $\{i-1, j+1\}$, $\{i, j\}$, $\{i+1, j-1\}$ (pares antiparalelos). Se incluye, además, la longitud de la proteína y la separación de la secuencia y otro par asociado a la información de hidrofobicidad [16], [17]. La mayor dificultad de esta codificación está en su complejidad.

Otras codificaciones tienen en cuenta la información evolutiva, el contexto de la secuencia (una ventana de 3 residuos de longitud para los pares paralelos y antiparalelos) y la información relacionada con las mutaciones correlacionadas y la predicción de la estructura secundaria [17]. Como técnicas de pre-procesamiento de los datos, se ha tratado la reducción de la dimensionalidad de los rasgos con técnicas como el análisis de componentes principales (PCA) y los mapas auto-organizados (SOM). Por otra parte han sido empleadas algunas técnicas de procesamiento de imágenes y de estadística [42].

2.2.3. Algoritmos de Entrenamiento

Las técnicas de entrenamiento empleadas, varían en dependencia del nivel de complejidad de la RNA propuesta. Una de las técnicas de ajustes de los pesos más empleadas es el algoritmo *back-propagation* [4], [16], [17], [29]. Otra técnica usada es el empleo del gradiente descendente del total del error de salida. En este último caso, el entrenamiento se detiene cuando la reducción del gradiente se vuelve asintótica [5], [31].

También se han empleado algoritmos genéticos para optimizar los parámetros iniciales, los cuales se ajustan posteriormente con un algoritmo de aprendizaje híbrido para la predicción de los mapas de contacto [10], [39], [43]. El algoritmo de aprendizaje híbrido, combina el paradigma del gradiente y el paradigma del mínimo lineal cuadrático (LLS), y puede ser utilizado para ajustar los centros y los anchos. Este algoritmo incluye dos partes: 1) El paso hacia adelante (*forward*), donde los datos de entrada y las señales de la función son suministrados para calcular la fun-

ción de salida oculta, y posteriormente el método LLS modifica los anchos de la función encontrada. 2) En el paso hacia atrás (*backward*) el error se propaga de la salida a las entradas. En este paso, se mantienen los pesos fijos, y se modifican los centros y los anchos de las neuronas RBF. En sentido general, las RNA han aumentado el porcentaje de efectividad en la predicción de estructuras de proteínas. Esto se debe a su elevada capacidad de generalización y a que, junto con ellas, se ha combinado una gran cantidad de información sobre las proteínas como son: la información evolutiva, la conservación y las mutaciones correlacionadas de las secuencias alineadas; la combinación de la información de la secuencia de aminoácidos y su estructura secundaria; los pares paralelos y antiparalelos; entre otros aspectos. Estas técnicas presentan algunas desventajas como: la complejidad de implementación, el alto costo computacional, la complejidad en la codificación de los datos de entrada, la base de conocimientos no está formada por reglas o casos que permitan una explicación del funcionamiento del sistema, entre otras.

2.3. Máquina de Vectores de Soporte (SVM).

Dentro de las técnicas de reconocimiento de patrones empleadas para la predicción de estructura, se encuentran las máquinas de vectores de soporte [44], [45]. Éste es un método general para la solución de problemas de regresión, clasificación y estimación. Esta técnica ha sido utilizada para la predicción de estructuras secundarias basadas en máquinas de vectores de soporte de doble capa y matrices PSSMs (por sus siglas en inglés “*position-specific scoring matrices*”) [45–47].

Por otra parte, otro método de predicción basado en SVM, soportado en la teoría del aprendizaje estadístico y en su habilidad de generalización, emplea para el entrenamiento de la SVM los rasgos de cada lámina β de la secuencia de aminoácidos. En este método, para cada lámina en el conjunto de datos, se extraen seis atributos con el objetivo de que sean diversos en los dos tipos de láminas (centrales y de borde) [48].

Las SVM también han sido empleadas, como herramienta de clasificación a partir de varios rasgos basados en la secuencia primaria, la alineación de múltiples secuencias, la predicción de la estructura secundaria y el análisis de mutaciones correlacionadas [46], [49–51]. Aquí, para cada par de posiciones en la secuencia de la proteína, se identifican cinco grupos de rasgos que capturan diferentes aspectos de los aminoácidos en las posiciones seleccionadas: conservación de la secuencia (Con), separación en la secuencia (Sep), análisis de mutaciones correlacionadas (CMA), estructura secundaria predicha (PSS) y perfiles de la secuencia (SP). El predictor propuesto devuelve una puntuación para cada instancia de entrada, donde se supone como contacto cuando la puntuación es alta y no contacto cuando es baja [44], [45], [47], [52–58].

2.4. Algoritmos bio-inspirados

2.4.1. Árboles de decisión

Los árboles de decisión son otra técnica ampliamente explorada. Éstos son capaces de producir reglas entendibles por los especialistas, las que pueden ser empleadas para dar explicaciones sobre cómo se ha realizado la predicción [19], [48], [59–61].

Los árboles de decisión han sido utilizados en esquemas de clasificación para la predicción de mapas de contactos inter-residuales de proteínas [59], [60]. En otros casos los

árboles son empleados para clasificar láminas de borde en láminas centrales en un conjunto de proteínas. Este enfoque es muy útil debido a que permite detectar las zonas de interacción proteína – proteína [48].

2.4.2. Inteligencia de Enjambre

Las técnicas de optimización basadas en lógica de enjambre como colonia de hormigas [62], colonia de abejas [63], [64] y enjambre de partículas [65–67], han sido ampliamente empleadas.

Dentro del enjambre de partículas la optimización basada en quanta (QPSO) es uno de los modelos bio-inspirados más utilizado [67]. En este algoritmo los aminoácidos se separan en hidrofóbicos y no hidrofóbicos. Una de sus principales ventajas y que constituye su aporte fundamental es el empleo de una variante basada en múltiples capas que incluye mejoras en la localización de las partículas usando estrategias de ajuste de precisión y de exploración. Divide las partículas en tres sub-poblaciones separadas, la de élite, la de explotación y la de exploración. Con la formación de estas sub-poblaciones, son actualizadas las posiciones de las partículas en la estrategia de ajuste de precisión, QPSO y la estrategia de exploración, respectivamente.

2.4.3. Algoritmos evolutivos y genéticos

Los algoritmos evolutivos y genéticos (AGs) también han sido explorados en la predicción de estructuras de proteínas [12], [68–70]. Mansour y colaboradores [69] proponen un algoritmo genético basado en el modelo cúbico polar e hidrofóbico. Este tipo de algoritmo propone un nuevo método de cruzamiento y de mutación que asegura soluciones candidatas factibles para el tratamiento del problema. Los AGs también han sido empleados en la fase de pre-procesamiento como método de remuestreo [59], [70]. Así como, en la predicción *ab initio*, combinándolo con técnicas como el modelo de sustitución de los k-vecinos más similares [71]. En otros casos se ha empleado el AGs para extraer un conjunto de reglas de decisión para la predicción de los mapas de contactos de las proteínas [68].

2.4.4. Algoritmos de Estimación de Distribuciones

Las técnicas de estimación de distribuciones (EDAs), son algoritmos evolutivos que trabajan con una población de soluciones candidatas. Los EDAs han sido empleados para analizar la influencia de los factores que intervienen en la estabilidad de las proteínas, entre los que podemos mencionar: las interacciones electrostáticas, los enlaces de hidrógeno, las interacciones de Van der Waals, las propiedades intrínsecas de los aminoácidos que los hacen asumir ciertas estructuras, las interacciones hidrofóbicas y la contribución de la entropía conformacional [7].

Dependiendo del nivel de detalle del modelo, los EDAs han sido empleados en: modelos simplificados de predicción de estructuras de proteínas [72–74], reducción del alfabeto de aminoácidos para la predicción de estructuras de proteínas [72], diseño de proteínas mediante minimización de los potenciales de los contactos [73], diseño de ligandos de péptidos de proteínas [75], y posicionamiento de las cadenas laterales de la proteína [7].

La principal desventaja de los EDAs consiste en la imposibilidad de tener en cuenta las dependencias complejas entre los rasgos, incluso para modelos multivariados (con un orden estadístico mayor de dos). Otra desventaja que podemos mencionar es que un EDA multivariado implica

altos requerimientos computacionales, en cuanto a capacidad de cómputo y de memoria.

2.5. Combinación de clasificadores.

La principal motivación para el empleo de múltiples clasificadores es aumentar la efectividad en la clasificación, pues, diferentes algoritmos emplean diferentes formas de generalización y de representación del conocimiento. Es sabido que éstos, tienden a equivocarse en diferentes zonas del espacio de búsqueda, pero su combinación adecuada suele corregir los errores individuales no correlacionados. La combinación de la clasificación puede realizarse mediante los paradigmas de selección o de fusión. En el primer caso, se selecciona un único algoritmo para la clasificación de una nueva instancia, mientras que en el segundo caso, se fusiona la decisión de todos los algoritmos.

Diplaris y colaboradores [76], proponen el empleo de ambos paradigmas de combinación de clasificadores, empleando nueve algoritmos de aprendizaje diferentes. Entre los que se encuentran: árboles de decisión, reglas de asociación, vecinos más cercanos, redes bayesianas, máquinas de soporte vectorial y las redes neuronales artificiales. La principales desventajas del empleo de múltiples clasificadores radica en la complejidad de implementación del esquema de clasificación.

Otros autores también han empleado múltiples esquemas de multclasificación, entre los que se destaca el paralelo [76–79]. Abu-doleh y colaboradores [77] proponen un modelo de combinación de los resultados basado en un sistema neurodifuso (ANFIS) y un clasificador basado en el vecino más cercano (kNN). Recientemente se propuso un esquema de combinación que descompone el problema de predicción de contactos inter-residuales en 400 subproblemas, uno por cada pareja de aminoácidos [59], [60]. Esta solución tiene como ventaja fundamental que brinda un modelo interpretable con el objetivo de explicar el proceso de plegamiento de las proteínas en función de las parejas de aminoácidos y la subsecuencia entre ellos.

2.5.1. Redes Bayesianas

La teoría de las probabilidades de Bayes ha sido empleada en modelos de análisis de la información del plegamiento de las proteínas globulares. Este proceso se trata como una transferencia de mensajes entre la secuencia primaria y la secundaria donde el segundo se deriva del primero. El método está dirigido a buscar una aproximación más robusta para proteínas pequeñas y grandes. [80].

Las redes bayesianas tienen como ventaja fundamental que permiten la medición de la contribución de cada información por separado. Al estar basadas en el método de Bayes, emplean poca información y resultan un método más robusto que otras pruebas estadísticas. La principal desventaja que presenta es que el método es válido para su empleo en proteínas que mantengan una relación similar entre la secuencia y su estructura, o sea, familias o conglomerados de proteínas [81–87].

2.5.2. Redes de Markov

Los modelos ocultos de Markov (HMMs) también han sido ampliamente empleados en la predicción de estructuras de proteínas [88]. Frecuentemente, los HMMs son empleados en combinación con otras técnicas de aprendizaje como: algoritmos genéticos, difusión de partículas, redes neuronales artificiales, entre otras, con el fin de explorar

su espacio de topologías [89–91], o además, con funciones de partición, considerando la similitud de los aminoácidos, la estructura secundaria y la accesibilidad relativa al disolvente para el cálculo de las matrices de alineación [92]. Usualmente se tienen en cuenta las dependencias no solo entre aminoácidos (emisiones) adyacentes, sino también entre los segundos anteriores y siguientes [88–90], [93–97].

2.5.3. Redes de Regresión Logística

La regresión logística ha sido otra técnica estadística empleada en la predicción de estructuras de proteínas. Estas aproximaciones parten de la base de contar con las predicciones de un conjunto de predictores. Aquí, a diferencia de los esquemas de combinación como el promedio (las predicciones son promediadas) o la votación (se seleccionan las mejores λL predicciones y se emplean para votar por la solución), las predicciones se combinan empleando un análisis de regresión logística (LR) [98–101].

Uno de los principales inconvenientes del empleo de esta técnica es la calidad de las predicciones previas. Esto es debido a que depende directamente de la selección de los clasificadores a emplear y a que, en algunos casos, pudiera contarse con predicciones parciales falseando la información.

3. CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

En el presente artículo fue presentado un estudio extensivo de los métodos y técnicas de aprendizaje automático aplicado a la predicción de estructuras de proteínas. Se propone una nueva taxonomía basada en los paradigmas de aprendizaje automático. Para cada paradigma se muestran sus fortalezas y limitaciones. Desafortunadamente, los clasificadores más efectivos suelen ser no comprensibles y no presentan un mecanismo de interpretación adecuado, lo cual representa una ventaja para las tareas de clasificación, pero un impedimento para el entendimiento del proceso de plegamiento de las proteínas. Por otra parte, solo el 3% de las técnicas de predicción estudiadas abordan el problema de predicción de estructuras desde la perspectiva de la lógica difusa.

Como trabajo futuro se visualizan dos líneas fundamentales: 1) trabajar en mecanismos de interpretación adecuados para los modelos obtenidos; 2) abordar el problema de predicción incrementando el empleo de técnicas que empleen el análisis difuso. Estos puntos de vistas, en conjunción con un modelado adecuado del proceso de plegamiento, podrían ayudar a mejorar la efectividad en el estudio de la predicción de estructuras de proteínas.

4. RECONOCIMIENTO

Esta investigación está insertada en el programa doctoral en Soft Computing, desarrollado conjuntamente por la Universidad Central de Las Villas (UCLV) y las Universidades Andaluzas, bajo el auspicio de la AUIP. C-M. G. M agradece el programa '*Estades Temporals per a Investigadors Convitats*' para una estancia de investigación en la Universidad de Valencia (2013).

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. S. Wu and Y. Zhang, "Chapter 11. Protein Structure Prediction," in *Bioinformatics: Tools and Applications*, D. Edwards, Ed. Springer Science+Business Media, LLC, 2009, pp. 225–242.
2. I. Walsh, D. Bau, A. J. M. Martin, C. Mooney, A. Vullo, and G. Pollastri, "Ab initio and template-based prediction of multi-class distance maps by two-dimensional recursive neural networks," *BMC Structural Biology*, vol. 9, no. 5, pp. 1–38, 2009.
3. J. Garnier, D. J. Osguthorpe, and B. Robson, "Analysis of the Accuracy and Implications of Simple Methods for Predicting the Secondary Structure of Globular Proteins," *J. Mol. Biol.*, vol. 120, pp. 97–120, 1978.
4. N. Qian and T. J. Sejnowski, "Predicting the Secondary Structure of Globular Proteins Using Neural Network Models," *J. Mol. Biol.*, vol. 202, pp. 865–884, 1988.
5. L. H. Holley and M. Karplus, "Protein secondary structure prediction with a neural network," *Biophysics*, vol. 86, no. January, pp. 152–156, 1989.
6. Y. Marrero-ponce, G. M. Casañola-martín, M. Tareq, H. Khan, A. Rescigno, and C. Abad, "Ligand-Based Computer-Aided Discovery of Tyrosinase Inhibitors . Applications of the TOMOCOMD-CARDD Method to the Elucidation of New Compounds," *Current Pharmaceutical Design*, vol. 16, pp. 2601–2624, 2010.
7. R. Armañanzas, I. Inza, R. Santana, Y. Saeys, J. L. Flores, J. A. Lozano, Y. Van De Peer, R. Blanco, V. Robles, C. Bielza, and P. Larrañaga, "A review of estimation of distribution algorithms in bioinformatics," *BioData Mining*, vol. 1, no. 6, pp. 1–12, 2008.
8. S. Mitra, "Bioinformatics With Soft Computing," *IEEE TRANSACTIONS ON SYSTEMS, MAN, AND CYBERNETICS—PART C: APPLICATIONS AND REVIEWS*, vol. 36, no. 5, pp. 616–635, 2006.
9. C. A. Ouzounis and A. Valencia, "Early bioinformatics : the birth of a discipline — a personal view," *Bioinformatics*, vol. 19, no. 17, pp. 2176–2190, 2003.
10. Z. Zhang, "An Overview of Protein Structure Prediction : From Homology to Ab Initio," in *Bioc218*, 2002, pp. 1–10.
11. C. Hardin, T. V. Pogorelov, and Z. Luthey-schulten, "Ab initio protein structure prediction," *Current Opinion in Structural Biology*, vol. 12, pp. 176–181, 2002.
12. G. W. Greenwood, J.-M. Shin, B. Lee, and G. B. Fogel, "A survey of Recent Work on evolutionary approaches to the Protein Folding Problem," *IEEE*, vol. 99, pp. 488–495, 1999.
13. J. Cheng, A. N. Tegge, and P. Baldi, "Machine Learning Methods for Protein Structure Prediction," *IEEE REVIEWS IN BIOMEDICAL ENGINEERING*, vol. 1, pp. 41–49, 2008.
14. N. Krasnogor, B. P. Blackburne, E. K. Burke, and J. D. Hirst, "Multimeme Algorithms for Protein Structure Prediction," in *PPSN VII*, 2002, vol. *Lecture Notes in Computer Science* 2439, pp. 769–778.
15. Y. Arkun and B. Erman, "Prediction of Optimal Folding Routes of Proteins That Satisfy the Principle of Lowest Entropy Loss : Dynamic Contact Maps and Optimal Control," *PLoS ONE*, vol. 5, no. 10, pp. 1–11, 2010.
16. P. Fariselli and R. Casadio, "A neural network based predictor of residue contacts in proteins," *Protein Engineering*, vol. 12, no. 1, pp. 15–21, 1999.
17. P. Fariselli, O. Olmea, A. Valencia, and R. Casadio, "Prediction of contact maps with neural networks and correlated mutations," *Protein Engineering*, vol. 14, no. 11, pp. 835–843, 2001.
18. O. Olmea, B. Rost, and A. Valencia, "Effective Use of Sequence Correlation and Conservation in Fold Recognition," *J. Mol. Biol.*, vol. 295, pp. 1221–1239, 1999.
19. J. Peng and J. Xu, "Low-homology protein threading," *Bioinformatics*, vol. 26, pp. i294–i300, 2010.
20. F. Zhao, J. Peng, and J. Xu, "Fragment-free approach to protein folding using conditional neural fields," *Current Bioinformatics*, vol. 26, no. 2009, pp. 310–317, 2010.
21. J. S. Aguilar-ruiz, J. H. Moore, and M. D. Ritchie, "Filling the gap between biology and computer science," *BioData Mining*, vol. 1, no. 1, pp. 1–3, 2008.
22. S. Kropp, "Data Mining and Bioinformatics," Monash University Faculty of Information Technology Caulfield, VIC, 2004.
23. D. S. Marks, T. a Hopf, and C. Sander, "Protein structure prediction from sequence variation.," *Nature biotechnology*, vol. 30, no. 11, pp. 1072–80, Nov. 2012.
24. B. A. Wallace, M. Cascio, and D. L. Mielke, "Evaluation of methods for the prediction of membrane protein secondary structures," *Biochemistry*, vol. 83, no. December, pp. 9423–9427, 1986.
25. P. Y. Chou and G. D. Fasman, "Prediction of protein conformation," *Biochemistry*, vol. 13, no. May, pp. 222–245, 2002.
26. V. I. Lim, "Algorithms for Prediction of α -Helical and β -Structural Regions in Globular Proteins," *J. Mol. Biol.*, vol. 88, pp. 873–894, 1974.
27. Y. Shi, J. Zhou, D. Arndt, D. S. Wishart, and G. Lin, "Protein contact order prediction from primary sequences," *BMC Bioinformatics*, vol. 9, no. 255, pp. 1–21, 2008.
28. A. N. Tegge, Z. Wang, J. Eickholt, and J. Cheng, "NN-con : improved protein contact map prediction using 2D-recursive neural networks," *Nucleic Acids Research*, vol. 37, no. Web Server issue, pp. 515–518, 2009.
29. H. Bohr, J. Bohr, S. Brunak, R. M. J., Cotteril, and B. Lautrup, "Protein secondary structure and homology by neural networks," *Biomedical Division*, vol. 241, no. 1,2, pp. 223–228, 1988.
30. D. G. Kneller, F. E. Cohen, and R. Langridge, "Improvements in Protein Secondary Structure Prediction by An Enhanced Neural Network," *J. Mol. Biol.*, vol. 214, pp. 171–182, 1990.
31. B. Rost and C. Sander, "Prediction of Protein Secondary Structure at Better than 70% Accuracy," *J. Mol. Biol.*, vol. 232, pp. 584–599, 1993.
32. H. Mathkour and M. Ahmad, "An integrated approach for protein structure prediction using artificial neural network," in *2010 Second International Conference on Computer Engineering and Applications*, 2010, pp. 484–488.
33. A. Deka, H. Bordoloi, and K. K. R. Sarma, "TERTIARY PROTEIN STRUCTURE PREDICTION USING A SOFT COMPUTATIONAL FRAMEWORK," *IRNet Tran-*

- sactions on *Electrical and Electronics Engineering (ITEEE)*, vol. 1, no. 2, pp. 58–62, 2012.
34. G. Liu, C. Zhou, Y. Zhu, and W. Zhou, "Prediction of Contact Maps in Proteins Based on Recurrent Neural Network with Bias Units," *Lecture Notes in Computer Science*, vol. 3498, pp. 686–690, 2005.
 35. G. Pollastri and P. Baldi, "Prediction of Contact Maps by Recurrent Neural Propagation From All Four Cardinal Corners," *Bioinformatics*, vol. 1, no. 1, pp. 1–9, 2002.
 36. A. Vullo, I. Walsh, and G. Pollastri, "A two-stage approach for improved prediction of residue contact maps," *BMC Bioinformatics*, vol. 7, no. 180, pp. 1–12, 2006.
 37. G. Zhang and K. Han, "Hepatitis C virus contact map prediction based on binary encoding strategy," *Computational Biology and Chemistry*, vol. 31, pp. 233–238, 2007.
 38. G. Zhang, D. S. Huang, and Z. H. Quan, "Combining a binary input encoding scheme with RBFNN for globulin protein inter-residue contact map prediction," *Pattern Recognition Letters*, vol. 26, pp. 1543–1553, 2005.
 39. G.-Z. Zhang and D.-S. Huang, "Prediction of inter-residue contacts map based on genetic algorithm optimized radial basis function neural network and binary input encoding scheme," *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, vol. 18, pp. 797–810, 2004.
 40. G. Liu, Y. Zhu, and W. Zhou, "Prediction of Contact Maps Using Modified Transiently Chaotic Neural Network," *Lecture Notes in Computer Science*, vol. 3973, pp. 696 – 701, 2006.
 41. H. Bohr, J. Bohr, S. Brunak, R. M. J. Cotterill, H. Fretholm, B. Lautrup, and S. B. Petersen, "A novel approach to prediction of the 3-dimensional structures of protein backbones by neural networks," *FEBS Letters*, vol. 261, no. 1, pp. 43–46, 1990.
 42. S. Chetia and K. K. Sarma, "PROTEIN STRUCTURE PREDICTION USING CERTAIN DIMENSION REDUCTION TECHNIQUES AND ANN," *IRNet Transactions on Electrical and Electronics Engineering (ITEEE)*, vol. 1, no. 2, pp. 98–103, 2012.
 43. L. Guo, D. Huang, and W. Zhao, "Combining genetic optimisation with hybrid learning algorithm for radial basis function neural networks," *Electronics Letters*, vol. 39, no. 22, pp. 29–30, 2003.
 44. C. W. Howe and M. S. Mohamad, "Protein Residue Contact Prediction using Support Vector Machine," *World Academy of Science, Engineering and Technology*, vol. 60, pp. 1985–1990, 2011.
 45. A. K. Mandle, P. Jain, and S. K. Shrivastava, "Protein structure prediction using support vector machine," *International Journal on Soft Computing (IJSC)*, vol. 3, no. 1, pp. 67–78, 2012.
 46. J. Guo, H. Chen, Z. Sun, and Y. Lin, "A Novel Method for Protein Secondary Structure Prediction Using Dual-Layer SVM and Profiles," *Sciences-New York*, vol. 743, no. September 2003, pp. 738 –743, 2004.
 47. Y. Zhao and G. Karypis, "Prediction of Contact Maps Using Support Vector Machines *," *Department of Computer Science, University of Minnesota, Minneapolis*, pp. 1–8, 2002.
 48. J. A. Siepen, S. E. Radford, and D. R. Westhead, "B Edge strands in protein structure prediction and aggregation," *Protein Science*, vol. 12, pp. 2348–2359, 2003.
 49. Y. Chung, G. Kim, Y. Hwang, and H. Park, "Predicting Protein-Protein Interactions from One Feature Using SVM *," in *IEA/AIE*, 2004, vol. Lecture Notes in Artificial Intelligence 3029, pp. 50–55.
 50. C. Hsieh, H. Hsu, and M. Lu, "Protein Disordered Region Prediction by SVM with Post-Processing," in *International Conference on Complex, Intelligent and Software Intensive Systems*, 2008, pp. 693–698.
 51. J. Maudes, J. J. Rodríguez, and C. García-Osorio, "Disturbing neighbors ensembles for linear svm," *Lecture Notes in Computer Science*, vol. 5519, no. Multiple Classifier Systems, pp. 191–200, 2010.
 52. Y. Pan, "Protein Structure Prediction and Interpretation with Support Vector," in *The Fifth International Conference on Computer and Information Technology (CIT'05)*, 2005, pp. 7695–7695.
 53. H. Kim and H. Park, "Protein secondary structure prediction based on an improved support vector machines approach," *Protein Engineering*, vol. 16, no. 8, pp. 553–560, 2003.
 54. J. Song and K. Burrage, "Predicting residue-wise contact orders in proteins by support vector regression," *BMC Bioinformatics*, vol. 15, pp. 1–15, 2006.
 55. K. Shimizu1, S. Hirose, and T. Noguchi, "POODLE-S: web application for predicting protein disorder by using physicochemical features and reduced amino acid set of a position-specific scoring matrix," *BIOINFORMATICS APPLICATIONS NOTE*, vol. 23, no. 17, pp. 2337–2338, 2007.
 56. W. Zhong, C. Science, J. He, and Y. Pan, "Multiclass Fuzzy Clustering Support Vector Machines for Protein Local Structure Prediction," in *7th IEEE International Conference on Bioinformatics and Bioengineering, 2007. BIBE 2007.*, 2007, pp. 21–26.
 57. J. He, H. Hu, R. Harrison, P. C. Tai, Y. Pan, and S. Member, "Rule Generation for Protein Secondary Structure Prediction With Support Vector Machines and Decision Tree," *IEEE TRANSACTIONS ON NANOBIOSCIENCE*, vol. 5, no. 1, pp. 46–53, 2006.
 58. A. Reyaz-ahmed and Y. Zhang, "Protein Secondary Structure Prediction Using Genetic Neural Support Vector Machines," in *7th IEEE International Conference on Bioinformatics and Bioengineering, 2007. BIBE 2007.*, 2007, pp. 1355–1359.
 59. C. E. Santiesteban-Toca, M. García-Borroto, and J. S. Aguilar-Ruiz, "Using Short-Range Interactions and Simulated Genetic Strategy to Improve the Protein Contact Map Prediction," *Lecture Notes in Computer Science*, vol. 7329, no. MCPR 2012, pp. 166–175, 2012.
 60. C. E. Santiesteban-Toca, G. Asencio-Cortes, A. E. Márquez-Chamorro, and J. S. Aguilar-Ruiz, "Short-Range Interactions and Decision Tree-Based Protein Contact Map Predictor," *Lecture Notes in Computer Science*, vol. 7246, no. EvoBIO 2012, pp. 224–233, 2012.
 61. K. D. Kedarisetti, K. Chen, A. Kapoor, and L. Kurgan, "Prediction of the Number of Helices for the Twilight Zone Proteins," in *IEEE Symposium on Computational Intelligence and Bioinformatics and Computational Biology, 2006. CIBCB'06*, 2006, pp. 1–7.
 62. H. Guo, "Solving 2D HP Protein Folding Problem by Parallel Ant Colonies," in *2nd International Conferen-*

- ce on Biomedical Engineering and Informatics, 2009. BMEI'09, 2009, pp. 1–5.
63. H. A. A. Bahamish, R. Abdullah, and R. A. Salam, "Protein Conformational Search Using Bees Algorithm School of Computer Science," in *Second Asia International Conference on Modelling & Simulation*, 2008, pp. 911–916.
 64. H. A. A. Bahamish, R. Abdullah, and R. A. Salam, "Protein Tertiary Structure Prediction Using Artificial Bee Colony Algorithm," in *Third Asia International Conference on Modelling & Simulation*, 2009, pp. 258–263.
 65. H. Zhu, X. Lin, S. Zhang, C. Pu, J. Gu, and M. Su, "Protein Structure Prediction with EPSO in Toy Model," in *Second International Conference on Intelligent Networks and Intelligent Systems*, 2009, pp. 673–676.
 66. H. Firpi, E. Youn, and S. Mooney, "Comparative Study of Particle Swarm Approaches for the Prediction of Functionally Important Residues in Protein Structures," in *22nd International Conference on Advanced Information Networking and Applications - Workshops*, 2008, pp. 714–719.
 67. L. Cheng-yuan, D. Yan-rui, and X. Wen-bo, "Multiple-layer Quantum-behaved Particle Swarm Optimization and Toy Model for Protein Structure Prediction," in *Ninth International Symposium on Distributed Computing and Applications to Business, Engineering and Science*, 2010, pp. 92–96.
 68. A. E. Marquez-Chamorro, G. Asencio-Cortes, F. Divina, and J. S. Aguilar-Ruiz, "Evolutionary decision rules for predicting protein contact maps," *Pattern Analysis and Applications*, 2012.
 69. N. Mansour and F. Kanj, "Evolutionary Algorithm for Protein Structure Prediction," in *Sixth International Conference on Natural Computation (ICNC 2010)*, 2010, pp. 3974–3977.
 70. T. Higgs, B. Stantic, and A. Sattar, "Genetic Algorithm Feature-Based Resampling for Protein Structure Prediction," in *IEEE Congress on Evolutionary Computation (CEC)*, 2010, pp. 1–8.
 71. J. C. Barbosa and L. E. Dardenne, "Full-Atom Ab Initio Protein Structure Prediction with a Genetic Algorithm using a Similarity-based Surrogate Model," in *IEEE Congress on Evolutionary Computation (CEC)*, 2010, pp. 1–8.
 72. R. Santana, P. Larrañaga, and J. Lozano, "Protein folding in 2-dimensional lattices with estimation of distribution algorithms," *First International Symposium on Biological and Medical Data Analysis. Lecture Notes in Computer Science*, vol. 3337, pp. 388–398, 2004.
 73. R. Santana, "Advances in Probabilistic Graphical Models for Optimization and Learning Applications in Protein Modelling," Ph.D. Thesis University of the Basque Country, 2006.
 74. R. Santana, P. Larrañaga, and J. Lozano, "Protein folding in simplified models with estimation of distribution algorithms," *IEEE Transactions on Evolutionary Computation*, vol. 12, no. 4, pp. 418–438, 2008.
 75. I. Belda, S. Madurga, X. Llorà, M. Martinell, T. Tarragó, M. G. Piqueras, E. Nicolás, and E. Giral, "ENPDA: An evolutionary structure-based de novo peptide design algorithm," *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, vol. 19, no. 8, pp. 585–601, 2005.
 76. S. Diplaris, G. Tsoumakas, P. A. Mitkas, and I. Vlahavas, "Protein Classification with Multiple Algorithms," in *10th Panhellenic Conference on Informatics (PCI 2005)*, 2005, vol. 3746, pp. 448–456.
 77. A. A. Abu-doleh, O. M. Al-jarrah, and A. Alkhateeb, "Protein contact map prediction using multi-stage hybrid intelligence inference systems," *Journal of Biomedical Informatics*, vol. 45, no. 1, pp. 173–183, 2012.
 78. J. Bacardit, P. Widera, A. Márquez-Chamorro, F. Divina, J. Aguilar-Ruiz, and N. Krasnogor, "Contact map prediction using a large-scale ensemble of rule sets and the fusion of multiple predicted structural features," *Bioinformatics*, vol. 28, no. 19, pp. 2441–2448, 2012.
 79. J. Eickholt and J. Cheng, "Predicting protein residue-residue contacts using deep networks and boosting," *Bioinformatics*, vol. 28, no. 23, pp. 3066–3072, 2012.
 80. B. B. Robson, "Analysis of the Code Relating Sequence to Conformation in Globular Proteins," *Biochemistry Journal*, vol. 141, pp. 853–867, 1974.
 81. G. Yang, C. Zhou, C. Hu, and Z. Yu, "A Method Based on Improved Bayesian Inference Network Model and Hidden Markov Model for Prediction of Protein Secondary Structure," in *28th Annual International Computer Software and Applications Conference, 2004. COMPSAC 2004.*, 2004, vol. 2, pp. 134–137.
 82. W. Chu, Z. Ghahramani, A. Podtelezhnikov, and D. L. Wild, "Bayesian Segmental Models with Multiple Sequence Alignment Profiles for Protein Secondary Structure and Contact Map Prediction," *IEEE/ACM TRANSACTIONS ON COMPUTATIONAL BIOLOGY AND BIOINFORMATICS*, vol. 3, no. 2, pp. 98–113, 2006.
 83. P. Wang and D. Zhang, "Protein Secondary Structure Prediction with Bayesian Learning Method," in *Proceedings of the 14th IEEE International Conference on Tools with Artificial Intelligence (ICTAI'02)*, 2002, pp. 252–257.
 84. S. Akkaladevi and A. K. Katangur, "Protein Secondary Structure Prediction using Bayesian Inference method on Decision fusion algorithms," in *IEEE International Parallel and Distributed Processing Symposium*, 2007, pp. 1–8.
 85. Z. Aydin, Y. Altunbasak, and H. Erdogan, "Bayesian Protein Secondary Structure Prediction With Near-Optimal Segmentations," *IEEE TRANSACTIONS ON SIGNAL PROCESSING*, vol. 55, no. 7, pp. 3512–3525, 2007.
 86. S. C. SCHMIDLER, J. S. LIU, and D. L. BRUTLAG, "Bayesian Segmentation of Protein Secondary Structure," *Journal of Computational Biology*, vol. 7, no. 1/2, pp. 233–248, 2000.
 87. V. Robles, P. Larrañaga, J. M. Peña, E. Menasalvas, M. S. Pérez, V. Herves, and A. Wasilewska, "Bayesian network multi-classifiers for protein secondary structure prediction," *Artificial Intelligence in Medicine*, vol. 31, pp. 117–136, 2004.
 88. H. Pezeshk, S. Naghizadeh, S. A. Malekpour, C. Es-lahchi, and M. Sadeghi, "A Modified Bidirectional Hidden Markov Model and its Application in Protein Secondary Structure Prediction," in *2nd International Conference on Advanced Computer Control (ICACC)*, 2010, pp. 535–538.

89. Y. Kang and C. M. Fortmann, "Physical Markov Model for Protein Structure Prediction," in *IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine Workshop*, 2009, pp. 2006–2006.
90. K. Won, T. Hamelryck, A. Prugel-bennett, and A. Krogh, "Evolving Hidden Markov Models," in *The 2005 IEEE Congress on Evolutionary Computation*, 2005, vol. 1, pp. 33–40.
91. T. Aksel, "SuPred: Yapay Sinir Aglari ve Sakli Markov Model kullanarak Protein Ikincil Yapi Tahmin Yontemi," in *IEEE 14th Signal Processing and Communications Applications*, 2006, pp. 1–4.
92. X. Deng and J. Cheng, "MSACompro : protein multiple sequence alignment using predicted secondary structure , solvent accessibility , and residue-residue contacts," *BMC Bioinformatics*, vol. 12, no. 1, p. 472, 2011.
93. Z. Aydin, Y. Altunbasak, and M. Borodovsky, "PROTEIN SECONDARY STRUCTURE PREDICTION WITH SEMI MARKOV HMMS," in *IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP'04)*, 2004, vol. 5, pp. V–577–80.
94. M. Lippi, P. Frasconi, and S. Marta, "Prediction of protein β -residue contacts by Markov logic networks with grounding-specific weights," *Bioinformatics*, vol. 25, no. 18, pp. 2326–2333, 2009.
95. M. Madera, "Profile Comparer : a program for scoring and aligning profile hidden Markov models," *Bioinformatics*, vol. 24, no. 22, pp. 2630–2631, 2008.
96. A. Kumar and L. Cowen, "Recognition of beta-structural motifs using hidden Markov models trained with simulated evolution," *Bioinformatics*, vol. 26, pp. 287–293, 2010.
97. M. Li, X. Wang, L. E. I. Lin, and Y. I. Guan, "PROTEIN SECONDARY STRUCTURE PATTERN DISCOVERY AND ITS APPLICATION IN SECONDARY STRUCTURE PREDICTION *," in *Third International Conference on Machine Learning and Cybernetics*, 2004, vol. 3, no. August, pp. 1435–1440.
98. J. Yang and X. Chen, "A Consensus Approach to Predicting Protein Contact Map via Logistic Regression," *ISBRA 2011, Lecture Notes in Bioinformatics*, vol. 6674, pp. 136–147, 2011.
99. K. Sikorska, E. Lesaffre, P. F. J. Groenen, and P. H. C. Eilers, "GWAS on your notebook : fast semi-parallel linear and logistic regression for genome-wide association studies," *BMC Bioinformatics*, vol. 14, no. 166, 2013.
100. P. J. Munson, V. Di Francesco, and R. Porrelli, "Protein Secondary Structure Prediction using Periodic-Quadratic-Logistic Models: Statistical and Theoretical Issues," *Proceedings of the Twenty-Seventh Annual Hawaii International Conference on System Sciences*, 1994.
101. M. M. Gromiha, "Multiple Contact Network Is a Key Determinant to Protein Folding Rates," *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 49, no. 4, pp. 1130–1135, 2009.

Síntesis y caracterización de un material criogénico a partir de quitosano y celulosa

Rafael García-González¹, Rosa Elvira Zavala-Arce^{1*}, Pedro Ávila-Pérez^{1,2}, Beatriz García-Gaitán¹, José Luz González-Chávez³, Claudia Muro-Urista¹ y Gabriel Luna-Bárcenas⁴

¹División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Toluca, Av. Instituto Tecnológico s/n, Ex-Rancho La Virgen Metepec, México, C.P. 52140. ²Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Dirección de Investigación Tecnológica, Carretera México-Toluca s/n La Marquesa, Ocoyoacac, México, C.P.52750. ³División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM, Ciudad Universitaria, México D. F. C.P. 04510. ⁴Laboratorio de Procesamiento de Polímeros, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Unidad Querétaro. Libramiento Norponiente #2000, Fracc. Real de Juriquilla. C.P. 76230

Synthesis and characterization of a cryogel from chitosan and cellulose

Síntesi i caracterització d'un material criogènic a partir de quitosà i cel·lulosa

Recibido: 27 de septiembre de 2013; revisado: 11 de enero de 2014; aceptado: 15 de enero de 2014

RESUMEN

Los criogeles formados a partir de los polisacáridos quitosano y celulosa están conformados por una red macroporosa e interconectada con áreas superficiales altas. Dichos criogeles ofrecen un uso prometedor en la remoción de cobre a partir de soluciones acuosas. Este trabajo propone la ruta de síntesis del criogel quitosano-etilenglicol diglicidil éter-celulosa (Q-egde-C) y en él se presentan los resultados obtenidos de la caracterización de este material con la finalidad de evaluarlo en trabajos posteriores como adsorbente de iones Cu^{+2} . Las pruebas y técnicas de caracterización utilizadas fueron: solubilidad, porcentaje de hidratación, microscopía electrónica de barrido (MEB), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), área específica y potencial Z. El criogel obtenido es un biomaterial insoluble en agua, con un índice de hinchamiento de ca. 1921 %; su estructura macroporosa contiene grupos amino primarios ($-\text{NH}_2$) con un área superficial de 16 m^2/g . La síntesis presentada es sencilla con un buen control morfológico en la escala micro y nanométrica, así mismo el criogel mostró mediante la determinación del potencial Z que es capaz de interaccionar con el ión Cu^{+2} presente en agua.

Palabras claves: Celulosa; caracterización; criogel; ISISA; quitosano

SUMMARY

Cryogels based on chitosan and cellulose are formed by a macroporous interconnected network with high surface areas. Such cryogels are a promising material for heavy metal removal from aqueous solutions. This work proposes the synthesis and characterization of the cryogel chitosan-ethylene glycol diglycidyl ether-cellulose (Q-edge-C) to determine its potential use as sorbent of Cu^{+2} . We report the solubility, swelling, SEM imaging, FTIR, specific

area and Z-potential behaviors. Synthesized cryogels are water insoluble with swelling index of ca. 1921%; their macroporous structure possess primary amine groups with surfaces areas of 16 m^2/g . The synthesis presented here is a simple route to form macroporous materials with micro- and nanometric features; cryogels formed show strong interactions with Cu^{+2} in aqueous solution as resolved by Z-potential measurements.

Keywords: cryogels, chitosan, cellulose, ISISA, characterization

RESUM

Els criogels formats a partir dels polisacàrids quitosà i cel·lulosa estan conformats per una xarxa macroporosa i interconnectada amb àrees superficials altes. Aquests criogels ofereixen un ús prometedor en la remoció de coure a partir de solucions aquoses. Aquest treball proposa la ruta de síntesi del criogel quitosà-etilenglicol diglicidil éter - cel·lulosa (Q-EGDE-C) i en ell es presenten els resultats obtinguts de la caracterització d'aquest material amb la finalitat d'avaluar en treballs posteriors com adsorbent d'ions Cu^{+2} . Les proves i tècniques de caracterització utilitzades van ser: solubilitat, percentatge d'hidratació, microscòpia electrònica de rastreig (MER), espectroscòpia infraroja per transformada de Fourier (FTIR), àrea específica i potencial Z. El criogel obtingut és un biomaterial insoluble en aigua, amb un índex d'inflament de ca. 1.921 %, la seva estructura macroporosa conté grups amino primaris ($-\text{NH}_2$) amb una àrea superficial de 16 m^2/g . La síntesi presentada és senzilla amb un bon control morfològic en l'escala micro i nanomètrica, així mateix el criogel va mostrar mitjançant la

* Autor para la correspondencia: rzavalaa@ittoluca.edu.mx

determinació del potencial Z que és capaç d'interaccionar amb l'ió Cu^{+2} present en aigua.

Paraules clau: Cel·lulosa; caracterització; criogel; ISISA; quitosan.

INTRODUCCIÓ

La contaminació de los cuerpos de agua mediante metales pesados, tanto superficiales como subterráneos, es considerada un problema de salud mundial. Los metales se distinguen de otros contaminantes del agua debido a sus transformaciones químicas y a que no son biodegradables, por lo que tienden a bioacumularse causando grandes impactos ambientales, económicos y de salud pública [3]. El incremento de la concentración de metales pesados en cuerpos de agua superficiales se ha atribuido principalmente a actividades industriales y agrícolas [4], por tal motivo, se han creado estrictas regulaciones ambientales sobre las concentraciones máximas de metales pesados en las descargas de agua residual, haciendo necesario el desarrollo de tecnologías eficientes para su remoción [5]. La precipitación química, filtración por membranas, intercambio iónico y la sorción son procesos comúnmente usados [6], aunque su aplicación es limitada por cuestiones económicas o técnicas [7]. Particularmente, la sorción es el método más adecuado bajo las condiciones de campo debido a su fácil operación, a la poca o nula producción de lodos y a la alta eficiencia de remoción [8]. Dentro de la sorción, el uso de materiales naturales como sorbentes, (denominado como tal biosorción) ha adquirido gran importancia debido a su alta eficiencia y bajos costos de operación. Los materiales naturales que han sido investigados por sus bajos costos son las bacterias, los hongos, las levaduras, las microalgas, y el quitosano (Q), los cuales han mostrado una adecuada capacidad de sorción de los metales pesados [1, 7].

El Q es la forma desacetilada de la quitina (segundo material más abundante en la naturaleza), el cual cuenta con la presencia de grupos $-\text{NH}_2$ obtenidos tras la desacetilación y es uno de los pocos polielectrólitos catiónicos presentes en la naturaleza. El pKa del Q es 6.5, estas características proporcionan al Q excelentes propiedades para formar geles [9, 10] y un alto potencial de sorción de iones metálicos [11, 12]. Por otro lado, la celulosa (C) es considerada como la alternativa más prometedora de los recursos fósiles, sobre todo porque es abundante en la naturaleza y es renovable de manera natural. Las moléculas del Q y la C son muy similares, la única diferencia es el grupo funcional enlazado al carbono 2 de la estructura molecular del carbohidrato. El Q tiene al grupo amino (NH_2) y la C tiene al grupo hidroxilo (OH) [13]. Estos dos materiales ya han sido usados como materia prima para la síntesis de hidrogeles en forma de esferas, polvos y películas y han mostrado ser eficientes en la adsorción de metales [2, 13, 14, 15]. Sin embargo, presentan una limitante importante; tienen baja resistencia mecánica, siendo una de las posibilidades de mejora a través del entrecruzamiento. El entrecruzamiento involucra dos unidades estructurales, las cuales pueden o no pertenecer a la misma cadena polimérica y entre mayor sea el grado de entrecruzamiento tienden a predominar los enlaces covalentes. Según Gonçalves y colaboradores [16], el grado de entrecruzamiento es el principal pará-

metro que influye en las propiedades de resistencia mecánica. Existen procedimientos de reticulación de éteres de celulosa catiónicos utilizando etilen glicol diglicidil éter (egde), ya que los glicidiléteres cuentan con la ventaja de que presentan una toxicidad muy baja [17].

Cuando se congela una disolución, una suspensión acuosa o un hidrogel, la formación de hielo cristalino provoca que los solutos inicialmente dispersos en el medio acuoso sean exudados hacia las fronteras entre cristales adyacentes, formando una matriz alrededor de ellos [18]. Éste es el principio natural en el que se basa el procedimiento de auto ensamblado mediante moldeado en hielo.

En la obtención de los criogeles, se emplea un sistema de congelado unidireccional a velocidad controlada. De esta forma se consigue una estructura homogénea de cristales de hielo alineados en la dirección del congelado [18, 19, 20]. Del secado por liofilización de estas muestras, se obtienen estructuras macroporosas que reproducen patrones ordenados y definidos, genéricamente denominados criogeles o scaffolds (andamiajes). Este proceso de modelado con hielo es definido como proceso de autoensamblado inducido por segregación de hielo o ISISA (por sus siglas en inglés, *Ice Segregation Induced Self-Assembly*) (Williams, 1977, citado en Hortigüela, [21]) y [22]. La singularidad de los criogeles radica en el hecho de que el método para su producción es simple y limpio, conduciendo a la formación de una red macroporosa interconectada y con una considerable área superficial [23]. Estos materiales se empiezan a estudiar como sorbentes de iones metálicos [24, 25].

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue sintetizar un criogel a partir de un gel acuoso polimérico Q y C entrecruzado con egde (Q-egde-C) y determinar sus propiedades físicas, químicas y estructurales, mediante pruebas de solubilidad, determinación del porcentaje de hidratación, microscopía electrónica de barrido, espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier, área específica y potencial Z.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la síntesis del criogel quitosano-celulosa (Q-C) sin entrecruzar y entrecruzado (Q-egde-C) se empleó quitosano de peso molecular medio (ca. 350 kDa) y con un grado de desacetilación del 75 %, celulosa microgranular, etilenglicol-diglicidil-éter (egde) al 50 % v/v como agente entrecruzante (todos de Sigma Aldrich[®]) y agua desionizada (DI).

Síntesis del gel acuoso Q-egde-C. El método para la síntesis del gel acuoso de Q-C se basó en lo descrito por Li y Bai [2] con algunas modificaciones. Se preparó una disolución de Q al 2 % en peso disolviendo Q en ácido acético 0.4 M; se agitó a 65 °C; después, a temperatura ambiente se adicionó una cantidad de C en relación 1:1 con respecto del Q y se continuó con agitación a temperatura ambiente durante 24 horas, obteniendo el gel acuoso Q-C. Transcurrido este tiempo se calentó la disolución y se agregó el egde (para el criogel entrecruzado) y se continuó con agitación moderada durante 6 horas.

Preparación de criogeles Q-egde-C y Q-C. De acuerdo a lo especificado en la técnica ISISA se recolectó el gel acuoso Q-C y Q-egde-C en recipientes que se sumergieron unidireccionalmente a 6.0 mm/min en un baño criogénico. Las muestras congeladas fueron fracturadas para obtener piezas de 1.5 cm de longitud y 0.5 cm de diámetro, después se secaron por liofilización (0.025 mbar de vacío y -84 °C) y se procedió a acondicionar a los criogeles mediante lavados con DI hasta que el valor del pH de la solución de lavado fuera igual al pH del DI.

Caracterización del criogel Q-C y Q-egde-C. Se determinó si los criogeles eran insolubles en soluciones acuosas, el porcentaje de hidratación, su morfología, se identificaron los grupos funcionales característicos del material, el área específica. Finalmente se determinó el potencial Z del criogel sin sorber y una vez que sorbió Cu^{+2} .

Pruebas de solubilidad. Esta prueba se realizó por duplicado con el criogel Q-egde-C y Q-C tomando segmentos de cada uno de ellos y colocándolos en vasos de precipitado con DI a dos valores de pH (6.0 y 7.0) durante 24 h.

Porcentaje de hidratación. El porcentaje de hidratación del criogel Q-egde-C, se determinó a un pH de 6.0. Primero se registró el peso inicial de los criogeles. En seguida las muestras se colocaron en vasos de precipitado con DI al pH establecido y se colocaron en agitación a 150 rpm. Los criogeles de cada vaso se pesaron a diferentes tiempos desde 5 hasta 225 min. Por último se calculó el porcentaje de hidratación por medio de la siguiente ecuación:

$$W_p = \frac{P_h - P_s}{P_s} * 100 \quad (1)$$

Donde P_h es el peso húmedo del criogel, P_s es el peso seco del mismo y W_p es el porcentaje de hidratación. Finalmente, se trazó una gráfica de % de hidratación *versus* tiempo (min).

Caracterización morfológica por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Las micrografías se obtuvieron a través de un equipo JEOL JSM-6610 acoplado a un sistema de micro análisis EDS (Electron dispersive Spectroscopy). Se observaron secciones transversales (perpendiculares a la dirección de congelamiento) y longitudinales (paralelas a la dirección de congelamiento) de los criogeles, en modo de alto vacío (HV) con un voltaje de 20 Kv y una distancia de trabajo de 10 mm; las muestras se recubrieron con oro mediante un equipo de DENTON VACUUM DESKII (a 60 segundos y a una corriente de 20 miliamperios).

Caracterización mediante FTIR. Se analizó el criogel Q-egde-C y sus precursores, el Q y la C. Los análisis se hicieron en un equipo SpectrumTM GX 2000 de Perkin Elmer mediante reflectancia total atenuada (ATR por sus siglas en inglés) en la región del infrarrojo de 4000 a 400 cm^{-1} con 16 barridos y una resolución de 4 cm^{-1} .

Área específica (BET). Para determinar el área específica de los criogeles, Q-C y Q-egde-C se utilizó el método de BET (Brunauer, Emmett, y Teller) en un equipo Belsorp max de la marca Bel Japan inc., a una temperatura ca. -196 °C y una presión de 0.05-0.3 atm.

Potencial Z. Para determinar la carga superficial de los criogeles en función del pH se determinó el potencial Z. Esta medición se hizo tanto para el criogel Q-egde-C sin sorber y después de sorber iones de una solución acuosa, después de correr una prueba preliminar de sorción de Cu^{2+} con los criogeles sintetizados. Estas mediciones se hicieron en un equipo Zeta-Meter 3.0+, para lo cual los criogeles sin sorber y después de sorber iones Cu^{+2} fueron molidos en un mortero; se preparó una solución salina disolviendo NaCl en agua a la que se le adicionaron 100 mg del criogel molido y se agitó por 10 min. En seguida se tomaron 8 muestras de 50 mL en vasos de precipitados y se les ajustó el valor de pH de 3 a 10 por adición de HCl de 0.1 a 1.0 M y NaOH de 0.1 a 1.0 M según correspondiera y finalmente se realizó la determinación del potencial Z. Las condiciones de operación del equipo fueron: 100 voltios de diferencia de potencial entre los electrodos energizados, micrómetro ocular en escala completa y se realizaron 14 lecturas por cada muestra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis del criogel Q-edge-C y Q-C. A partir de los gels acuosos Q-C y Q-egde-C, así como mediante la técnica ISISA, se obtuvo un material con una estructura porosa denominado criogel Q-C y Q-egde-C. Los criogeles obtenidos mantuvieron la forma de los recipientes que los contenían como se observa en la Figura 1 y que a simple vista no presentan una diferencia significativa entre ellos.



Figura 1. Criogeles de Q-C y Q-egde-C.

Caracterización del criogel Q-C y Q-egde-C

Prueba de solubilidad. Durante la prueba de solubilidad el criogel Q-egde-C se hinchó de manera uniforme manteniendo su estructura homogénea, sin deformación aparente y sin alguna modificación que indicara que el criogel se estaba disolviendo. Por otro lado, el criogel Q-C desde el inicio de la prueba se hinchó de forma diferente; a los 30 minutos de la prueba la morfología del criogel Q-C se observó esponjosa y filamentosa; después de una hora de agitación se destruyó. Dados los resultados anteriores, se determinó que no era posible utilizar el criogel Q-C para pruebas donde se requiriera mantener la estructura del mismo. El comportamiento anterior se atribuye a la presencia del entrecruzante (egde) en el criogel Q-egde-C que según Berger y colaboradores [26], promueve uniones de tipo covalentes en este material, lo cual favorece la insolubilidad del criogel en el agua, a diferencia del criogel Q-C que no contiene el entrecruzante (egde).

Caracterización por microscopía electrónica de barrido (MEB). En la Figura 2 se muestran las micrografías obtenidas del criogel Q-egde-C y Q-C, que revelan en su sección transversal una estructura macroporosa y tri-dimensional, el tamaño de los poros varía entre 10 y 20 μm para ambos criogeles, y están interconectados en la dirección del avance del congelamiento.

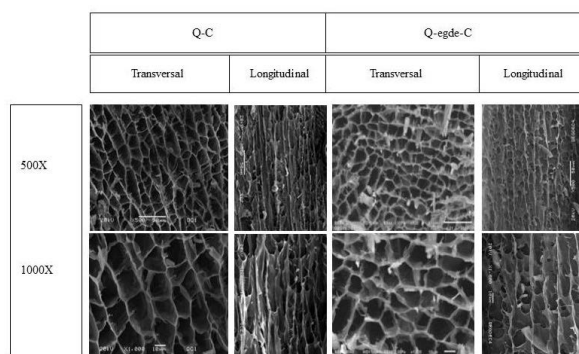


Figura 2. Micrografías de SEM Q-C y Q-egde-C.

Las micrografías de la sección longitudinal muestran una estructura de porosidad abierta e interconectada, reproduciendo la morfología del frente de hielo, con una macroestructura de canales o de láminas alineadas en paralelo, siguiendo la dirección del avance de congelamiento. Al comparar las micrografías del criogel entrecruzado y el que no lo está, se observa que mantienen una estructura porosa e interconectada con características semejantes en cuanto a tamaño de poro y canales interconectados en la dirección del frente de congelamiento.

Determinación del porcentaje de hidratación. Esta prueba se realizó a partir del criogel seco Q-egde-C. En la Figura 3 se observa que en los primeros 15 minutos se presenta un hinchamiento acelerado, el cual se mantiene estable a partir de los 35 minutos hasta alcanzar un porcentaje de hidratación máximo de ca. 1921 %.

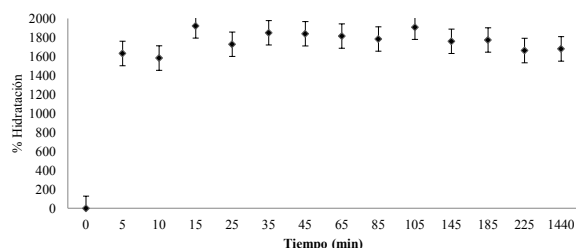


Figura 3. Cinética de hinchamiento del criogel Q-egde-C.

En el caso del criogel Q-C no fue posible determinar el porcentaje de hidratación, debido a que como se mencionó anteriormente éste se disuelve en agua.

Caracterización por FTIR. En la Figura 4 se muestra el espectro de infrarrojo del Q en polvo, de la celulosa y del criogel Q-egde-C.

Quitosano. El espectro del Q presentó una banda a 3348.6 cm^{-1} que se asigna a la vibración de estiramiento O-H del grupo hidroxilo que corresponde a alcoholes secundarios;

a 3282.6 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del grupo amino N-H que corresponde a una amina primaria (NH_2); a 2917.4 cm^{-1} se atribuye a la vibración de estiramiento C-H del grupo alifático de tipo metilidieno; a 2868.5 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento C-H del grupo metileno $-\text{CH}_2-$; a 1648.7 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del grupo carbonilo que corresponde a una amida (C-ONH); a 1420.2 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión del grupo amino N-H; a 1376.5 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión del hidroxilo $\text{CH}_2\text{O}-\text{H}$; a 1309.7 cm^{-1} corresponde a la vibración de flexión del grupo alifático de tipo metileno C-H en CH_2 ; a 1060.5 cm^{-1} se asigna a una vibración de estiramiento C-O y a 1022.7 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del grupo C-N.

Celulosa. El espectro obtenido, presenta una banda a 3416.2 cm^{-1} que se asigna a la vibración de estiramiento O-H del grupo hidroxilo que corresponde a alcoholes secundarios; a 2901.9 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento C-H correspondiente al metileno $-\text{CH}_2-$; a 1636.9 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del enlace O-C-O del carbón anomérico; a 1431.3, 1371.9 y 1318.7 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión de los diferentes tipos de los grupos $-\text{CH}-$ y $-\text{CH}_2-$; las bandas a 1164.7, 1113.7, 1058.3 y 1030.6 cm^{-1} se asignan a vibraciones de estiramiento del grupo C-O de los diferentes tipos de alcoholes, así como del carbón anomérico; a 667.9, 612.0 y 568.5 cm^{-1} se asignan a vibraciones de balanceo en el plano del grupo $-\text{CH}_2$.

Quitosano-egde-Celulosa. El espectro del Q-egde-C presenta una banda a 3341.7 cm^{-1} que se asigna a la vibración de estiramiento O-H del grupo hidroxilo y corresponde a alcoholes secundarios; a 3280.8 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento N-H que corresponde a una amida mono sustituida (CON-HR) debido al entrecruzamiento con el egde; a 2918.3 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento C-H del grupo alifático de tipo metilidieno; a 2847.0 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento alifático del enlace C-H que corresponde al grupo metileno $-\text{CH}_2-$; a 1642.6 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del grupo carbonilo C-N que corresponde a una amida ($\text{CO}-\text{NH}_2$); a 1549.6 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión de una amida mono sustituida $\text{CO}-\text{NH}$; a 1377.2 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión O-H del grupo hidroxilo; a 1313.1 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión C-H del grupo alifático de tipo metileno $-\text{CH}_2-$; a 1155.1 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión C-O-C correspondiente a ésteres alifáticos $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2$; a 1065.3 cm^{-1} se asigna a una vibración de estiramiento de C-O y a 1026.0 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del enlace C-N. El espectro del criogel Q-egde-C es similar al de sus precursores, por lo que los grupos amino $-\text{NH}_2$ y $-\text{OH}$ se encuentran disponibles en el criogel. Se sabe que el átomo de N es el principal sitio de adsorción de Cu^{+2} en las esferas que sintetizaron a partir de quitosano y celulosa, y que el átomo de oxígeno presente en el grupo hidroxilo del quitosano y la celulosa también podrían estar involucrados en la adsorción del Cu^{+2} [2]. Por lo tanto, el criogel Q-egde-C, al ser sintetizado a partir de estos polisacáridos también contiene grupos $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, lo cual resulta favorable para realizar posteriores estudios de sorción, ya que estos grupos –principalmente el $-\text{NH}_2$ – actúan como sitios de coordinación de iones divalentes [27, 28, 29].

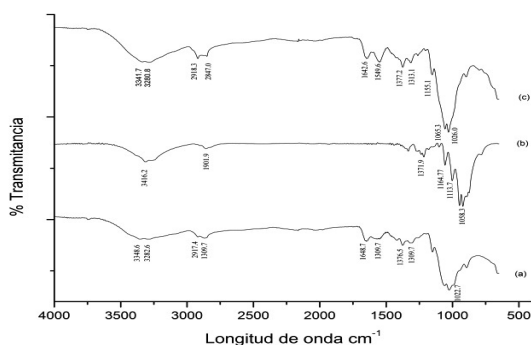


Figura 4. Espectro de infrarrojo del quitosano (a), de la celulosa (b) y del criogel Q-egde-C (c).

Área específica (BET multipunto). El área específica del criogel Q-egde-C obtenida mediante el método BET fue de 16 m²/g; este valor se encuentra por arriba del intervalo de valores reportados por otros investigadores que han utilizado biosorbentes, por ejemplo Guibal y colaboradores [11] trabajaron con quitosano en forma de escamas de 2 mm reportando un área superficial de 1-2 m²/g, Güzel y colaboradores [30] reportaron un área de 1.27 m²/g para zanahoria negra modificada con ácido acético y etanol, y García y colaboradores [31] reportaron un área específica de 0.68 m²/g para la cáscara de tomate verde.

Potencial Z. El potencial Z proporciona la carga superficial de un material y puede ser un parámetro frecuentemente usado para explicar la interacción electrostática superficial en adsorción. En la figura 5 se muestran las curvas de potencial zeta del criogel Q-egde-C sin sorber y de este mismo material puesto en contacto con una solución de Cu²⁺ con una concentración de 20.0 mg/L denominado Q-egde-C-Cu. En ambos casos se presentan valores positivos de potencial Z.

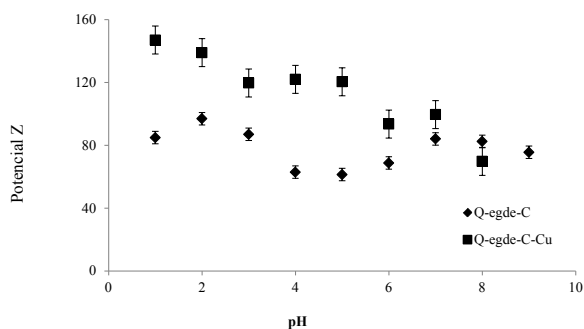


Figura 5. Valores de potencial Z a diferentes valores de pH, del criogel sin sorber (Q-egde-C), y después de la sorción de iones Cu²⁺ (Q-egde-C-Cu).

Al comparar la curva del criogel sin sorber Q-egde-C y la del criogel sorbido Q-egde-C-Cu se observa que la curva del Q-egde-C-Cu muestra un aumento en los valores de potencial Z. El potencial Z para el Q-egde-C es relativamente constante en función del pH. Esto indica que aun cuando el pH cambia de 1.0 a 9.0 no existe desprotonación del material. Cuando se agrega Cu²⁺, para el mismo intervalo de pH, el potencial Z aumenta casi al doble para un pH de 1.0 y disminuye de manera (cuasi-lineal) al aumentar el pH hasta 8 con casi el mismo valor de potencial Z para el mismo pH del material sin Cu²⁺. Esto indica la desprotonación promovida por el Cu²⁺. De modo que para

los mismos cambios de pH el Cu²⁺ hace que el medio tenga una fuerza iónica diferente (la fuerza iónica es: $I = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2$, donde C_i es la concentración molar del ión i y Z_i es la carga del ión i). Se observa que para el caso del Cu²⁺ la fuerza iónica de la solución acuosa es 4 veces más grande que sin presencia de Cu²⁺. El aumento en la magnitud de la carga positiva pudiera atribuirse a la presencia del cobre unido al criogel, donde los grupos amino protonados liberan el protón fijado en medios ácidos y en sustitución entra el cobre que tiene una carga positiva mayor a la del protón, de esta manera se removieron los iones de cobre presentes en la solución por medio del criogel Q-egde-C.

CONCLUSIÓN

Se sintetizaron un criogel entrecruzado y uno sin entrecruzar denominados Q-egde-C y Q-C, mediante la técnica de modelado en hielo. El Q-C sintetizado resultó ser soluble en agua. La reacción de entrecruzamiento incrementó la estabilidad del criogel Q-egde-C, el cual hinchó uniformemente con estructura homogénea y con un porcentaje de hidratación de hasta 1921%. Mediante MEB se observó que el criogel tiene una macroestructura porosa e interconectada por medio de canales alineados en paralelo y en la dirección en la que avanza el frente de congelamiento. Mediante FTIR se identificó grupos funcionales como el -NH₂ y -OH presentes en la cadena del criogel que pueden servir como puntos de coordinación de cationes metálicos; el área específica del criogel fue de 16 m²/g y este valor es superior a lo reportado por otros autores con otro tipo de biosorbentes. De la prueba preliminar de sorción, el criogel sorbido, muestra un mayor valor de potencial Z en comparación con el criogel sin sorber, este aumento de carga superficial se debe a la presencia del Cu²⁺ unido al criogel, lo cual indica que el criogel Q-egde-C puede remover Cu²⁺ de una solución acuosa. Por lo anteriormente expuesto, el criogel Q-egde-C es un biosorbente con buenas expectativas en la remoción de ciertos cationes metálicos, debido a su alto carácter hidrofílico, a que tiene una estructura macroporosa e interconectada y por tener en su estructura grupos funcionales como el -NH₂ y -OH. Por otro lado, este criogel tiene otra ventaja sobre otros materiales sorbentes, ya que su síntesis es sencilla y mediante un proceso limpio.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por la beca número 241364, otorgada a García-González, al COMECYT, a la DGEST por su apoyo través del proyecto con clave 2342.09-P. También al Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares por el apoyo de los laboratorios de química y de microscopía electrónica, a la M. en C. Araceli Mauricio del CINVESTAV, Qro., por el apoyo para el análisis por FTIR, así como G. Luna-Bárceñas agradece apoyo financiero del Proyecto Conacyt 181678.

REFERENCIAS

1. B. O. Opeolu1. Bamgbose O. Arowolo T. and Adetunji M. Utilization of biomaterials as adsorbents for heavy metals' removal from aqueous matrices. Scientific Research and Essays. 5 (14). 2010.

2. Li Nan y Bai Renbi. Copper adsorption on chitosan-cellulose hydrogel beads: behavior and mechanisms. *Separation and Purification Technology* .42. 2004.
3. Justi, K. C., Fávere, V. T., Laranjeira, M. C. M., Neves, A., Peralta, R. A. Kinetics and equilibrium adsorption of Cu(II), Cd(II), and Ni(II) ions by chitosan functionalized with 2[-bis-(pyridylmethyl)aminomethyl]-4-methyl-6-formylphenol. *Journal of Colloid and Interface Science*. 291 (2). 2005.
4. Prasad, M., Saxena, S., Amritphale, S. Adsorption models for sorption of zinc on francolite mineral. *Industrial Engineering Chemical Research*. 41. 2002.
5. Reddad, Z., Gerente, C., Andres, Y., Le Cloirec, P. Adsorption of several metal ions onto a low-cost biosorbent kinetics and equilibrium studies. *Environmental Science and Technology*. 36. (2002).
6. Basso M., Cerrella, E., Cukierman, A. Activated Carbons Developed from a Rapidly Renewable Biosource for Removal of Cadmium (II) and Nickel (II) Ions from Dilute Aqueous Solutions. *Industrial Engineering Chemical Research*. 41. 2002.
7. Vijayaraghavan, K., Palanivelu, K., Velan, M. Biosorption of copper (II) and cobalt (II) from aqueous solutions by crab and shell particles. *Bioresource Technology*. 97. 2006.
8. Kannan, N. y Rengasamy, G. Comparison of cadmium ion adsorption on various activated carbons. *Water, Air, and Soil Pollution*. 163. 2005.
9. Krajewska, B.; Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. *Enzyme and Microbial Technology*. 35. 2004.
10. Chenite, A.; Gori, S.; Shive, M.; Desrosiers, E.; Buschmann, M.D. Monolithic gelation of chitosan solutions via enzymatic hydrolysis of urea; *Carbohydrate Polymers*. 64. 2006.
11. Guibal, E., Milot, C. and Tobin, J. M. Metal-anion sorption by chitosan beads: equilibrium a kinetic studies. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 37 (4), 1998.
12. Ngah, W.S.W., Ghani, S.A., Hoon, L. L. Comparative adsorption of lead (II) on flake and bead-types of chitosan. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 49. 2002a.
13. Vázquez L. M. O. Tesis Incorporación de quitosano a polímeros compuestos para aplicación en ingeniería ambiental. Universidad de Guadalajara. 2009.
14. Jeon C., y Park K. H. Adsorption and desorption characteristics of mercury (II) ions using aminated chitosan bead. *Water Research*. 39. 2005.
15. Wang X., Chung S. C., Lyoo W. S. y Byug G. M. Preparation and properties of chitosan/polyvinyl alcohol blend foams for copper adsorption. *Polymer International*. 55. 2006.
16. Gonçalves, V. L., Laranjiera, M. C. y Fávere, V. T. Polímeros: Ciência e Tecnologia. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*. 2005.
17. Allinger N. L., Química Orgánica, 2ª Ed. Reverté, S.A., Barcelona, 1988.
18. Deville, S.; Saiz, E.; Tomsia, A. P. "Ice-templated porous alumina structures" *Acta Mater*. 27. 2007.
19. Deville, S.; Saiz, E.; Tomsia, A. P. "Freeze casting of hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering" *Biomaterials*. 27. 2006.
20. Mukai, S. R.; Nishihara, H.; Tamon, H. Formation of monolithic silica gel microhoneycombs (SMHs) using pseudosteady state growth of microstructural ice crystals. *Chem Commun*. 7. 2004.
21. Hortigüela G. M. J. Estructuras tridimensionales porosas de MWCNTs con aplicaciones en biomedicina y en biotecnología. Universidad de Burgos. Instituto de Ciencias de Materiales de Madrid. Facultad de Ciencias. 2009.
22. Quintero-Ortega, A. I., Mota-Morales, D. J., Elizalde-Peña, A. E., Zárate-Triviño, G. D., De Santiago, A. Y., Ortiz, A., García, G. B., Sánchez, C. I., Luna-Bárcenas, G. Cryogenic Process to Elaborate Poly(ethylene glycol) Scaffolds. *Experimental and Simulation Studies*. *Industrial y Engineering chemistry Research*. 52. 2013.
23. Kumar Ashok. Supermacroporous Cryogels. Indian Institute of Technology Kanpur. 2008.
24. Wang X. Min B. Cadmium sorption properties of poly(vinyl alcohol)/hydroxyapatite cryogels: I. kinetic and isotherm studies. *The Journal of Sol-Gel Science and Technology* 43. 2007
25. Wang X. Min B. Cadmium sorption properties of poly(vinyl alcohol)/hydroxyapatite cryogels: II. Effects of operating parameters. *The Journal of Sol-Gel Science and Technology*. 45. 2008.
26. Berger, J. Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., Peppas, N. A. y Gurny, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 57. 2004.
27. Paulino, A. T., Guilherme M R., Reis A. V., Tambourgi E. B., Nozaki J., Muniz E. C. Capacity of adsorption of Pb²⁺ and Ni²⁺ from aqueous solutions by chitosan produced from silkworm chrysalides in different degrees of deacetylation. *Journal of Hazardous Materials*. 147. 2007.
28. Vijaya, Y., Popuri, S. R., Boddu, V. M., Krishnaiah, A. Modified chitosan and calcium alginate biopolymer sorbents for removal of nickel (II) through adsorption. *Carbohydrate Polymers*, 72 (2). 2008.
29. Feng, C. W., Ru, L. T., Ruey, S. J. A review and experimental verification of using chitosan and its derivatives as adsorbents for selected heavy metals. *Journal of Environmental Management*. 91. 2010.
30. Güzel, F., Yakut, H., Topal, G. Determination of kinetic and equilibrium parameters of the batch adsorption of Mn (II), Co (II), Ni (II) and Cu (II) from aqueous solution by black carrot (*Daucus carota* L.) residues. *Journal of Hazardous Materials*. 153. 2008.
31. García-Mendieta, A. Características y propiedades de sorbentes naturales como materiales alternativos para disminuir las concentraciones de hierro y manganeso presentes en agua potable. División de Posgrado e Investigación (Instituto Tecnológico de Toluca). México, 2010. (Tesis doctoral).

An improved novel process for the synthesis of antihypertensive drug, Irbesartan

Jugalkishor Pandya**, Jitendra Verdia*, and Narendra Joshi

Amoli Organics Private Limited, Block Number 422, ECP Canal Road, Village: Luna, Padra, Vadodara-391440, Gujarat, India

Un nuevo procedimiento mejorado para la síntesis del fármaco antihipertensivo irbesartán

Nou procediment millorat per a la síntesi del fàrmac antihipertensiu Irbesartán

Recibido: 14 de agosto de 2013; aceptado: 13 de noviembre de 2013

RESUMEN

En general tetrazoles 5-sustituídos se prepararon a través de reacciones de azida de sodio con nitrilos en un disolvente aromático en presencia de una sal de amina. El presente trabajo describe el proceso para la preparación de la 2-butil-3-[[2'-(1H-tetrazol-5-il) [1,1'-bifenil]-4-il] metil]-1,3-diazaespiro [4.4] non-1-en-4-ona [Irbesartán] por reacción de la correspondiente 2-butil-3-[[2'-cianobifenil]-4-il] metil-1,3-diazaespiro [4.4] non-1-eno con una azida de sodio y clorhidrato de dimetilamina.

Palabras clave: Tetrazole; azida de sodio, sales de dimetilamina; bifenilo ciano; irbesartán.

SUMMARY

In general 5-substituted tetrazoles were prepared through the reactions of sodium azide with nitriles in an aromatic solvent in the presence of an amine salt. The present work describes process for the preparation of the 2-butyl-3-[[2'-(1H-tetrazol-5-yl) [1,1'-biphenyl]-4-yl]methyl]-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-en-4-one [Irbesartan] by reaction of the corresponding 2-butyl-3-[[2'-cyanobiphenyl]-4-yl] methyl-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-ene with an sodium azide and dimethylamine hydrochloride.

Key words: Tetrazole; sodium azide; dimethylamine salts; cyano biphenyl; Irbesartan.

RESUM

En general tetrazols 5-substituïts es van preparar mitjançant reaccions d'azida de sodi amb nitrils en un dissolvent aromàtic en presència d'una sal d'amina. Aquest treball descriu el procés per a la preparació de la 2-butil-3-[[2'-(1H-tetrazol-5-il) [1,1'-bifenil]-4-il] metil]-1,3-diazaespiro [4.4] non-1-en-4-ona [irbesartán] per reacció de la corresponent 2-butil-3-[[2'-cianobifenil]-4-il] metil-1,3-diazaespiro [4.4] non-1-è-4-ona amb una azida de sodi i clorhidrat de dimetilamina.

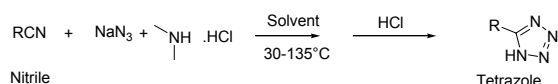
Mots clau: Tetrazol; azida de sodi, sals de dimetilamina, cianobifenil, irbesartan.

*Corresponding autor: jitendra.verdia@amoliindia.com,
jugal.pandya@amoliindia.com

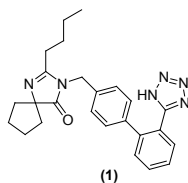
INTRODUCTION

Tetrazole derivatives have attracted much attention as raw materials for medicine, agricultural chemicals, foaming agents, and in the automobile inflator industry.¹⁻⁴ Several methods for the synthesis of tetrazoles have been reported, but these conventional methods for the synthesis of tetrazoles have several disadvantages. e.g. the synthetic method that uses amine salts in dimethylformamide (DMF)⁵⁻⁷ is laborious and due to the formation of byproducts; this method is applicable only to the synthesis of tetrazoles starting from simple nitriles. The synthetic method using NH_4Cl in DMF^{8,9} also has disadvantages, as the reaction is accompanied by the sublimation of highly dangerous explosive NH_4N_3 . Method that uses acid for the synthesis of tetrazole,¹⁰ the reaction proceeds relatively slow at room temperature and is also dangerous due to the production of poisonous and explosive HN_3 . Aromatic solvents and organostannane catalysts are often used for the preparation of tetrazole compounds having polyfunctional groups from the respective nitriles.¹¹⁻¹² Stannane compounds used in these reactions are generally highly toxic and it is often difficult to completely separate the desired tetrazole from the stannane compounds.

A versatile method for synthesizing many kinds of tetrazoles through safe and simple manipulation is shown below

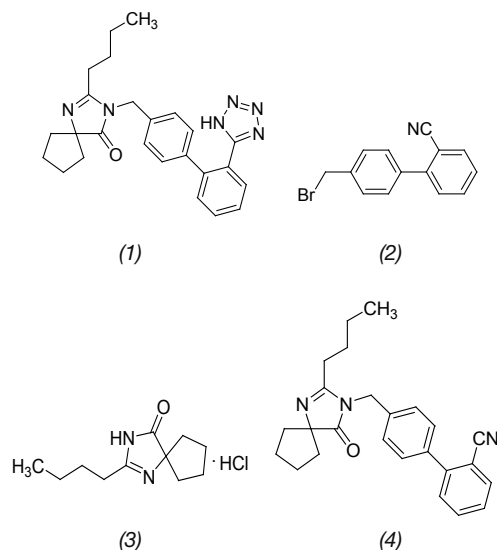


Irbesartan¹³ belongs to the class of drug called angiotensin II receptor antagonist antihypertensives. It is used to treat high blood pressure (hypertension), and it is also used to treat kidney problems caused by type 2 (non insulin-dependent) diabetes. The current pharmaceutical product containing this drug is being sold by Sanofi Synthelabo using the trade name AVAPRO, in the form of tablets. Irbesartan is a non-peptide compound, chemically described as a 2-butyl-3-[[[2'-(1*H*-tetrazol-5-yl) [1, 1'-biphenyl]-4-yl] methyl]-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-en-4-one. Its empirical formula is $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}$ and the structural formula:



Various processes for preparation of N-substituted heterocyclic derivatives and their salts was disclosed in U.S. Patent No. 5,270,317.¹⁴ These compounds are angiotensin II antagonist that is especially useful in the treatment of cardiovascular ailments such as hypertension and heart failure, as well as in preventing disorders of central nervous system, glaucoma, diabetic retinopathy, and diabetic nephropathy. As per the process described in the U.S. patent 5,270,317 Irbesartan is prepared by reaction of 2-n-butyl-1, 3-diazaspiro[4.4]non-1-en-4-one hydrochloride (**3**) with 4-bromomethyl-2'-cyanobiphenyl (**2**) in the presence of sodium hydroxide, followed by a column chromatography separation to produce 1-[[[2'-(1*H*-tetrazol-5-yl) [1, 1'-biphenyl]-4-yl] methyl]-2-n-butyl-4-spirocyclopentane-2-imidazo-

5-one (**4**), which upon reaction with tributyltin azide and trityl chloride followed by deprotection with HCl produce Irbesartan (**1**).



Irbesartan obtained by the process described in the 5,270,317 patent may not have satisfactory purity. Unacceptable amounts of impurities may be formed along with Irbesartan. The yield of Irbesartan obtained is very poor and the process involves column chromatographic purifications; which are generally undesirable for large-scale operations, thereby making the process commercially unfeasible.

A process for the preparation of Irbesartan is reported wherein 1-[[[2'-cyanobiphenyl-4-yl] methyl]-2-n-butyl-4-spirocyclopentane-2-imidazo-5-one is treated with sodium azide in the presence of triethylamine hydrochloride in an inert polar aprotic solvent such as 1-methylpyrrolidin-2-one at a temperature of 121-123°C.¹⁴ The solvent used is costly and not easily recovered thereby making the process unsuitable for commercial scale production. Isolation of Irbesartan from the reaction mixture is tedious and requires several critical layer separations and layer filtrations. Moreover, unacceptable amounts of impurities are formed along with Irbesartan, thus resulting in a poor product yield. Deshpande et.al.¹⁵ describes a process for the preparation of Irbesartan wherein 1-[[[2'-cyanobiphenyl-4-yl] methyl]-2-n-butyl-4-spirocyclopentane-2-imidazo-5-one is treated with sodium azide in the presence of triethylamine and acetic acid. In literature¹⁶ also disclosed the process for the preparation of tetrazole protected Irbesartan from aromatic nitrile derivative in the presence of a protecting group, trialkyltin azide and o-xylene. In all these processes Irbesartan synthesized using an organotin compound, which is difficult to remove and remains in the product as an impurity which is undesirable for Irbesartan. Several other synthetic routes have been described in the literature for the preparation of Irbesartan. Most of the routes comprise the reaction of a 4-bromomethyl-2'-cyanobiphenyl compound with 2-n-butyl-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-en-4-one hydrochloride.¹⁷⁻²⁰ The last step in most of the processes corresponds to the formation of the tetrazole ring from a cyano group employing an azide derivative. An improved method for synthesis of Irbesartan has been described by K.V.V. Prasad Rao.²¹ Koguro et.al.²² prepared variety of 5-substituted tetrazoles by reaction of nitriles

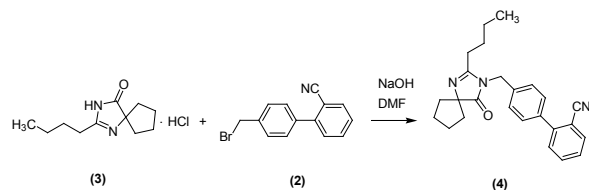
with sodium azide in an aromatic solvent in the presence of amine salt.

To resolve the problems associated with the processes described in the prior art, there remains need for an improved and commercially viable process of preparing a substantially pure Irbesartan, which will be suitable for large-scale preparation. For this reason processes which can afford Irbesartan, which must be free from any amount of tin content and its analogues which can be an environmental hazard when employed as a medicament, are highly desirable. Processes should include non-hazardous and environmental friendly reagents, reduces cost of manufacturing, greater simplicity, increase purity, and increases yield of the product.

RESULTS AND DISCUSSION

The present invention describes the process for preparation of the Irbesartan (**1**) from its penultimate intermediate (**4**) using dimethylamine hydrochloride and sodium azide. Said intermediate (**4**) is formed by the reaction between 4-bromomethyl-2'-cyanobiphenyl (**2**) and 2-n-butyl-1,3-diazaspiro[4,4]non-1-en-4-one hydrochloride (**3**).

Stage 1: Preparation of Intermediate for Irbesartan



Stage 2: Preparation of Irbesartan



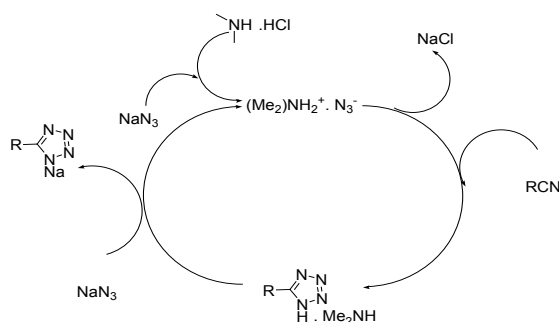
The above mentioned reaction is carried out in presence of suitable solvents and chemical reagents. The final product is substantially pure Irbesartan.

Various process parameters were optimized and the optimum parameters for synthesis of **stage-1 (4)** and **stage-2 (1)** are as:

For Stage-1: 4-bromomethyl-2'-cyanobiphenyl (**2**) – 1.05 Mole; 2-n-butyl-1,3-diazaspiro[4,4]non-1-en-4-one hydrochloride (**3**) – 1.0 Mole; DMF – 4.5 Volume; NaOH – 2.3 Mole; Temperature – 30-35°C

For Stage-2: 1-[(2'-cyanobiphenyl-4-yl) methyl]-2-n-butyl-4-spirocyclopentane-2-imidazo[1,2-a]pyridine-5-one (**4**) – 1 Mole; Xylene / n-Butanol – 3 Volume; NaN₃ – 2.5 Mole; Dimethylamine HCl – 3.5 Mole; Temperature – 115-120°C

The tentative mechanism for this reaction is shown below, in analogy with mechanism reported for tetrazole formation using triethyl amine²²



EXPERIMENTAL SECTION

Solvents and reagents were obtained from commercial sources and used without purification. Melting points were determined on a Veggo VMP-2 melting point apparatus. All the melting points were taken in an open capillary and uncorrected. The IR spectra were recorded in solid state as KBr dispersion using a Perkin-Elmer FT-IR spectrometer. The ¹H NMR and ¹³C NMR spectra were recorded on Bruker 300-MHz spectrometer. The chemical shifts are reported in δ parts per million (ppm) relative to TMS. The mass spectra were recorded on an API 2000 Perkin-Elmer PE-SCIEX mass spectrometer.

Preparation of 1-[(2'-cyanobiphenyl-4-yl) methyl]-2-n-butyl-4-spirocyclopentane-2-imidazo[1,2-a]pyridine-5-one (**4**)

In a 3 L 3-necked flask, equipped with stirrer, thermometer and reflux condenser, 2-n-butyl-1,3-diazaspiro[4,4]non-1-en-4-one hydrochloride (**3**) (100 g) was mixed with Dimethylformamide (500 mL) at temperature 30°C – 35°C. 40 g of NaOH is charged in single lot. Reaction mixture is stirred for 30 min. 4-bromomethyl-2'-cyanobiphenyl (**2**) (112 g) was added in to the reaction mixture and stirred for 12 h at the same temperature. To the mixture was added water (1120 mL) and toluene (560 mL) and stirred for 30 min. Layers were separated and toluene layer after water wash subject to distillation. After complete removal of solvent petroleum ether (50 mL) is added to residue and again distilled completely. Petroleum ether (342 mL) is added to residue and stirred for 1 h. Reaction mass was chilled at 0°C – 5°C and maintained for 2 h, filtered and washed. Wet-cake was dried at 50°C – 55°C for 10 – 12 h.

Dry weight of product: 150 g

Purification of Irbesartan intermediate (**4**)²³

In a 3 L 3-necked flask, equipped with stirrer, thermometer and reflux condenser, 1-[(2'-cyanobiphenyl-4-yl) methyl]-2-n-butyl-4-spirocyclopentane-2-imidazo[1,2-a]pyridine-5-one (**4**) (100 g) was charged with Isopropyl alcohol (150 mL) and DM water (225 mL) at 30°-32°C. Resultant mixture was stirred for 90 minutes. Cool to 0-5°C and stir for 30-45 minutes. Filter the solid and wash it with chilled isopropyl alcohol (38 mL) and DM water (56 mL). Suck dry for 15 minutes and dry the product under vacuum (about 10 mmHg) at 45-50°C.

Dry weight of product: 90 g

IR (KBr, cm⁻¹): 2220.72 (CN stretching), 1720.08 (C=O amide stretching), 1628.73 (C=N stretching); **Mass:** MS(EI)

calculated for $C_{25}H_{28}N_3O$ ($M^+ + 1$): 386.22, observed value : 386.22 ; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 7.77 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.65 (td, $J=1.1$, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.54 ($J=4.1$ Hz, 2H), 7.49 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J=8.10$ Hz, 2H), 4.75 (s, 2H), 2.35 (t, $J=7.8$ Hz, 2H), 2.06-1.93 (m, 6H), 1.88-1.84 (m, 2H), 1.60 (quintet, $J=7.4$ Hz, 2H), 1.34 (sextet, $J=7.4$ Hz, 2H), 0.88 (t, $J=7.3$ Hz, 3H); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$) 186.8, 161.5, 144.7, 137.7, 137.2, 133.8, 132.9, 132.0, 129.4, 127.7, 127.1, 118.6, 111.2, 76.6, 43.3, 37.5, 28.8, 27.8, 26.1, 22.3, 13.7.

Preparation of Irbesartan (1)

In a 3 L 3-necked flask, equipped with stirrer, thermometer and reflux condenser, charged n-Butanol (300 mL) and 1-[(2'-cyanobiphenyl-4-yl) methyl]-2-n-butyl-4-spirocyclopentane-2-imidazo-*lin*-5-one (4) (100 g). To the reaction mixture is added Dimethyl amine hydrochloride (74 g) and Sodium azide (42.5 g). Mixture was stirred for 30 minutes at a temperature of 30°C. Slowly temperature was raised to 115-120°C and maintained for 24 h. The reactant mass was cooled to 30-32°C and water (250 mL), 30% Sodium hydroxide and Sodium nitrite were added and stirred for 30 minutes. Aqueous layer was separated and washed with n-Butanol (50 mL). 25 mL Ethyl Acetate added to aqueous layer and adjusted pH 3.0 - 4.0 using 6N hydrochloric acid. Reaction mass filtered and wet-cake washed with water (300 mL). To wet cake was added 1500 mL Isopropyl alcohol and refluxed till clear reaction mass. After charcoalization filtrate was distilled to half volume under reduced pressure. Resultant mass was chilled at 0 - 5°C, Maintain for 2 h at same temperature and Filtered. Wet cake dried under vacuum of about 10 mmHg. HPLC purity - 99.0%; Dry weight of product: 70 g

Preparation of Irbesartan (1)

In a 3 L 3-necked flask, equipped with stirrer, thermometer and reflux condenser, charged Xylene (300 mL) and 1-[(2'-cyanobiphenyl-4-yl) methyl]-2-n-butyl-4-spirocyclopentane-2-imidazo-*lin*-5-one (4) (100 g). To the reaction mixture is added Dimethyl amine hydrochloride (74 g) and Sodium azide (42.5 g). Mixture was stirred for 30 minutes at a temperature of 30°C. Slowly temperature was raised to 115-120°C and maintained for 24 h. The reactant mass was cooled to 30-32°C and water (250 mL), 30% Sodium hydroxide (60 mL) and 30 % aqueous Sodium nitrite (60 mL) were added and stirred for 30 minutes. Aqueous layer was separated and washed with Xylene (50 mL). 25 mL Ethyl Acetate added to aqueous layer and adjusted pH 3.0 - 4.0 using 6N hydrochloric acid. Reaction mass filtered and wet-cake washed with water (300 mL). To wet cake was added 1500 mL Isopropyl alcohol and refluxed till clear reaction mass. After charcoalization filtrate was distilled to half volume under reduced pressure. Resultant mass was chilled at 0 - 5°C, Maintain for 2 h at same temperature and Filtered. Wet cake dried under vacuum of about 10 mmHg. HPLC purity - 99.0% ; Dry weight of Product: 70 g

Analysis Data:

Melting Point: 180-182°C;

IR Data: (KBr, cm^{-1}): NH 3447, CO 1733; **NMR Data:** 1H NMR : (DMSO d_6): δ ppm 0.7-0.9 (t, 3H, CH_3), 1.17-1.40 (sextet, 2H, CH_2), 1.40-1.60 (quintet, 2H, CH_2), 1.60-2.00 (m, 8H, cyclopentyl), 2.2-2.4 (t, 2H, CH_2), 4.60-4.80 (s, 2H,

Ar- CH_2), 7.32-7.95 (m, 8H, biphenyl); ^{13}C NMR: 14.5, 22.4, 26.3, 27.4, 28.3, 37.7, 43.1, 76.7, 124.3, 127.1, 128.7, 130.1, 131.4, 131.9, 137.2, 139.2, 141.9, 155.9, 162.0, 186.5; **Mass:** MS(EI) calculated for $C_{25}H_{28}N_3O$ ($M^+ + 1$) : 428.53, observed value : 429.53; **CHN Analysis** calculated for $C_{25}H_{28}N_3O$: 70.07, 6.59, 19.61. Found: 70.35, 6.61, 19.61.

Heavy metal: Less than 10 PPM

CONCLUSIONS

The present invention provides an improved process for the preparation of Irbesartan which is succinct, direct and industrially feasible. It also provides a process which eliminates the use of chromatographic purification at intermediate stages, which is not feasible for commercial scale production. Yield and purity of Irbesartan is significantly high. We have successfully avoided use of costly and environmentally hazardous solvent / chemical reagents. Finally Irbesartan produce from this process is free from tin content.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are thankful to the Management of Amoli Organics Pvt. Ltd. for providing all necessary research facilities. Thanks are also due to SICART for analytical support.

REFERENCES

1. Wittenberger, S. J. *Org. Prep. Proced. Int.* 1994, 26, 499; *Chem. Abst.* 1995, 122, 31359r.
2. Butler, R. N. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry 11*; Storr, R. C., Ed.; Elsevier: Oxford, UK, 1996; Vol. 4, pp 621-678.
3. Duncia, J. V.; Pierce, M. E.; Santella III, J. B. *J. Org. Chem.* 1991, 56, 2395.
4. Hirata, T.; Nomiya, J.; Sakae, N.; Nishimura, K.; Yokomoto, M.; Inoue, S.; Tamura, K.; Okuhira, M.; Amano, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996, 6, 1469.
5. Finnegan, W. G.; Henry, R. A.; Lorquist, R. *J. Am. Chem. Soc.* 1958, 80, 3908.
6. Lunn, W. H. W.; Schoepp, D. D.; Calligaro, D. O.; Vasi-
leff, R. T.; Heinz, L. J.; Salhoff, C. R.; O'Malley, P. K. *J. Med. Chem.* 1992, 35, 4608.
7. Orita, R.; Tanaka, H.; Miyashige, R.; Yamaguchi, S. *Jpn. Patent*, 0702,805, 1995; *Chem. Abst.* 1995, 122, 214079u.
8. Kees, K. L.; Cheeseman, R. S.; Prozialeak, D. H.; Steiner, K. E. *J. Med. Chem.* 1989, 32, 11.
9. Ried, W.; Tsiotis, G. *Chem.-Ztg.* 1988, 112, 385.
10. Herbest, R. M.; Wilson, K. R. *J. Org. Chem.* 1957, 22, 1142.
11. Yanagisawa, H.; Amamiya, Y.; Kanazaki, T. *Jpn. Patent*. 0753,489, 1995; *Chem. Abst.* 1995, 123, 227823c.
12. Wittenberger, S. J.; Donner, G. *J. Org. Chem.* 1993, 58, 4139.
13. Bernhart, C.; Breliere, J. C.; Clement, J.; Nisato, J.; Perreault, P.; Muneaux, C.; Muneaux, Y. *U.S. Patent* 5 270 317, 1993.
14. Caron, A.; Chantreux, D.; Bouloumie, C. *U. S. Patent* 5 629 331, 1997.

-
15. Deshpande, P. B.; Luthra, P.; Rathod, D. M.; Patel, H. K.; Parikh, P.T.; WO Patent WO 052301, 2007.
 16. (a) Bruno, F.; Christian, H.; San, K.; Mark, D. L.; Olivier, M.; Chenkou, W.; U.S. Patent 5541209, 1996. ; (b) Bruno, F.; Christian, H.; San, K.; Mark, D. L.; Olivier, M.; Chenkou, W.; U.S. Patent 6800761, 2004.
 17. (a) Breliere, J. C.; Jacques, B. J.; Dino, N.; Pierre, P.; Collines, L.D.; European Patent 454511, 1991. ; (b) Yatendra, K.; Mohan, P.; Asok, N.; Kumar, N.S.; WO Patent 051943; 2005; (c) Bertrand, C.; Jean-Robert, D.; Mateusz, M.; Mieczyslaw, M.; Jacek P.; WO Patent 06398, 1999.; (d) Gennady, N.; Igor, R.; Boris, P.; Julia, K.; Ben-zion, D.; WO Patent 007482, 2004.
 18. Gennady, N.; Igor, R.; Boris, P.; Julia, K.; Ben-zion, D.; WO Patent 065383A2, 2004.
 19. Gennady, N.; Igor, R.; Boris, P.; Julia, K.; Ben-zion, D.; WO Patent 072064A1, 2004.
 20. (a) Charugundia, K.; Vishwanath, B.V.; Rajappa, M.; Satish, M. A.; Manjunatha, S. G. WO Patent 013101, 2007. (b) Deshpande, P. B.; Luthra, P.; Rathod, D. M.; Patel, H. K.; Parikh, P.T.; WO Patent 049293, 2007
 21. Rao, K.V.V.; Dandala, R.; Handa, V.K.; Rao, S. V. ; Rani, A. ; Naidu, A.; Synthetic Communications 2007, 37: 2897–2905,
 22. Koguro, K; Oga, T; Mitsui, S and Orita, R; Synthesis, 1998, 910-914.
 23. Rao, N.S; Sitaramaiah, D.; Rao, N. C.; Rao, S. N.; Babu, S. K.; Rasanyan J. Chem. 2010, 3, 681-689.

INFORMACIÓN GENERAL

INFORMACIÓN DE CURSOS, CONGRESOS, SIMPOSIUMS

ALIMENTACIÓN Y BIOQUÍMICA

HYBRID METHODS IN STRUCTURAL BIOLOGY

4 - 8 MARCH 2015. GRANLIBAKKEN RESORT, TAHOE CITY, CALIFORNIA, USA

The purpose of this meeting is twofold: 1) to discuss innovative and potentially technologies and / or combinations thereof to be added to the toolbox of disturbing hybrid methods; and 2) To illustrate and discuss the application of hybrid methods to important biological systems. These objectives will be achieved not only by a range of exceptional oral presentations, but also by a prominently placed poster session, the format of panel discussions and tutorials that introduce new software algorithms

More information: <http://www.keystonesymposia.org/index.cfm?e=Web.Meeting.Summary&meetingid=1285&subTab=summary>

13TH.ANNUAL GLOBAL FOOD TECHNOLOGY & INNOVATION SUMMIT.

2 - 3 MARCH 2015. ETC.VENUES, ST. PAUL'S, LONDON.UK

Riding the future trend of nutrition with a big focus on health and wellness – Technologies to improve reformulation, regulation concerns, consumer perception and education, the great sugar and salt debate, creating more nutritional foods whilst maintaining price and taste, the growing demand for gluten-free foods

How we need to increase packaging visibility through labels .How can we maximise emphasis on nutrition, new food labelling laws and opportunities. Moving towards clean labels – stop talking start doing. Why consumers are demanding more natural and organic foods. Rethinking R&D and technology – looking beyond flavour, colour and intensity of taste, how 3D printing is changing the food industry, the future of packaging and innova-

tion in Europe. Protein, protein and more protein – why there's a trend of adding protein to everything. Biotechnology and how to feed the masses in the future – How to use technology for great yields. New ingredients and the popularity with large manufacturers. Innovation, marketing and consumer trends – connected and open innovation, disruptive technologies. Why brand recognition is our biggest problem. Consumer trends, perception and demographics

More information: <http://foodinnovate.com/>

ENERGÍAS RENOVABLES

2015 WFES. WORLD FUTURE ENERGY SUMMIT

19 - 22 January 2014. ADNEC ABU DHABI NATIONAL EXHIBITION CENTRE. UNITED ARAB EMIRATES

The World Future Energy Summit (WFES) is the world's foremost event dedicated to renewable energies, energy efficiency and clean technologies. Held under the patronage of His Highness Sheikh Mohammed Bin Zayed Al Nahyan, Crown Prince of Abu Dhabi and Deputy Supreme Commander of the UAE Armed Forces, WFES includes a world-class Conference, an international Exhibition, the Project & Finance Village, the Young Future Energy Leaders program, as well as a number of corporate meetings and concurrent social events.

Hosted by Masdar, Abu Dhabi's multi-faceted renewable energy company, and staged at the Abu Dhabi National Exhibition Centre, the WFES Conference attracts world leaders, international policy makers, industry experts, investors from the public and private sector and media, who gather in Abu Dhabi to discuss practical and sustainable solutions to future energy challenges.

The WFES Exhibition is an international business platform that connects project owners and solution providers

to investors and buyers from the public and private sector.

WFES 2015 will present energy sector stakeholders with a unique opportunity to meet with their peers, exchange technology, share best practice and form business partnerships that will further promote the global effort for a better future.

More information: <http://www.worldfutureenergysummit.com/Portal/about-wfes/overview/why-abu-dhabi.aspx>

EEW. E-WORD ENERGY & WATER

10 - 12 FEBRUARY 2015. MESSE ESSEN. ESSEN, ALEMANIA

As of this year, the "Smart energy" focus area has become the most popular and best attended industry gathering in Germany. This is partly thanks to the exhibitors themselves, who have helped to develop this area right from the start, but also to our continuous improvement of the way we address the whole topic of the "energy transition". The aim of the event is always to adapt the exhibition space to suit the current market situation and to thus keep it innovative and constantly developing.

In 2015, we will therefore again adapt the concept to suit the circumstances at the time, and for the first time also introduce focus areas in the fields of politics, business, technology and science. The challenges that are emerging from these key areas are heavily preoccupying the energy industry and will continue to impose new demands over the coming years. It is our objective to involve all the stakeholders and so provide the industry with a unique platform for communication and information.

The excellent feedback from our exhibitors, over 80% of whom confirmed their participation in 2015 immediately after this year's event, tells us that we are on the right path. We look forward to developing the focus area for "smart energy" still further at Europe's leading energy fair, and next year will increase the exhibition space with the addition

of another hall. This will mean that in 2015 smart energy will feature in Halls 4, 6 and 7 for the first time.
More information: <http://www.e-world-essen.com/de/messe>

FARMACIA Y COSMETICA

27ª EDICIÓN INFARMA 2015. CONGRESO EUROPEO DE OFICINA DE FARMACIA. SALÓN DE MEDICAMENTOS Y PARAFARMACIA. 24, 25 Y 26 DE MARZO 2015. FIRA BARCELONA GRAN VIA. L'HOSPITALET DE LLOBREGAT, BARCELONA.

El Salón de Medicamentos y Parafarmacia se constituye en el espacio ideal para conocer proveedores, productos, servicios y tecnologías y encontrar todas las novedades que se pueden incorporar a la Oficina de Farmacia.

El Congreso Europeo de Oficina de Farmacia es un punto de encuentro para tratar temas de actualidad. En un entorno globalizado, la farmacia es noticia al afrontar nuevos retos. Es preciso encontrar el equilibrio entre un modelo que ofrece un excelente servicio a los ciudadanos porque es ciertamente eficaz y las exigencias basadas en valores de economía y competencia.

INFARMA es el marco ideal para intercambiar experiencias profesionales, compartir conocimientos e ideas sobre la labor del día a día, debatir los nuevos roles de la profesión y, sobre todo, conocer las novedades que afectan directamente al ejercicio profesional.

Más información: <http://www.infarma.italialia.es/>

FIFTH RSC-BMCS FRAGMENT-BASED DRUG DISCOVERY MEETING 22 - 24 MARCH 2015. CHURCHILL COLLEGE, CAMBRIDGE, UK

The aim of the 5th RSC-BMCS Fragment-based Drug Discovery meeting will be to continue the focus on case studies in Fragment-based Drug Discovery that have delivered compounds to late stage medicinal chemistry, preclinical or clinical programmes. The Fragment series was started in 2007 and continues with the theme, having over three-quarters of the presentations focussed on case studies. The conference will include successful examples from all types of fragment-based approaches, including high

concentration, NMR, SPR and X-ray screening.

This conference is suitable for scientists interested in lead discovery and optimisation including medicinal chemists and biophysical, biochemical and structural biologists. This international meeting attracts delegates from the UK, several mainland European countries, as well as from the USA, Japan, China and South Korea. The organisers plan to hold a basic training course for those who are unfamiliar with FBDD.

More information: <http://www.maggi-churchousevents.co.uk/bmcs/>

COSMOPACK 2015. SOLUTIONS FOR THE BEAUTY INDUSTRY. 19- 22 MARCH 2015. FAIR DISTRICT. BOLOGNA, ITALY.

Cosmopack is the premier international show dedicated to the entire supply chain of the cosmetics industry.

Research, Innovation Creativity, Trends and Design of new products is unveiled every year at Cosmopack by suppliers from all over the world. A unique opportunity for all the major players of the beauty industry to develop new products, do business internationally and network with peers.

MAIN CATEGORIES:

Wrapping and Packaging. Packaging furniture, accessories and articles. Contract and Private Label manufacturer. Testing/Analytical services. Packaging equipment and Machinery. Promotional material and Material for point of sales. Services for the cosmetic industry. Raw materials.

More information: <http://www.cosmoprof.it/cosmopack/new-york-symposium/>

INGENIERIA INDUSTRIAL METAL AND STEEL 2015. METAL & STEEL MIDDLE EAST EXHIBITION. 19 - 21 FEBRUARY 2015. CAIRO INTERNATIONAL CONVENTION EXHIBITION CENTRE

Metal & Steel Middle East Exhibition, has firmly proved itself as the foremost exhibition for Steel, Steel Fabrication, Foundry and Metal works professionals in the Middle East & Africa (MENA), now in its 6th edition and continues to bring together the world's

leading manufacturers and suppliers of steel and metal industry to meet the growing requirements in the region.

Right around the region, there is rapid expansion as economies recover, and business attitudes change, showing positive signs of growth. The exhibition provides the only "one-stop" steel event in the entire Middle East, backed by media with a long term commitment to the region, and not just a "here today, gone tomorrow" approach.

The Regional steel industry is taking up the direction of reinforcing its strength and the new governments provide important opportunities for economic reform towards development of core infrastructure. It forecast a 20% gradual increase in business from this sector in 2015 versus 2011, due to the stable political situation in the MENA region.

Today, Metal & Steel has grown to be much more a pure exhibition. Situated at the centre of a thriving region, the event is recognized as the 'not-to-be-missed' professional networking platform for the regional trade as well as an interactive discussion forum for the latest trends, developments, challenges and requirements of the industry in the wider region.

Metal & Steel Middle East 2015 will be held concurrently with FABEX Middle East 2015, the International Exhibition for steel structure, sheet metal, tube and pipe, metal forming, finishing, assembling, welding and services, being co-located to be the centre of the largest steel industry event in the region and create an even better visitor and exhibitor experience. Make plans to attend now - it is definitely worth investing the time to re-fuel your business!

More information: <http://www.metals-teeleg.com/>

INGENIERÍA QUÍMICA

CHEMICAL REACTIONS AT SURFACES.

8 - 13 FEBRUARY 2015. VENTURA BEACH MARRIOTT. VENTURA, CA. USA

It will bring together an interdisciplinary group of world-recognized experts and young researchers from chemistry, physics, chemical engineering and materials science. The meeting addresses fundamental aspects

of surface chemical reactions, which are related to the grand challenges facing mankind. They range from environmental interfaces, solar energy conversion to chemical energy storage and CO₂ capture. Specific emphasis will be given to bridge the gap from model studies to complex real world systems, by discussing present and future challenges in experimental and theoretical investigations. After a very successful 2013 meeting, for the first time in Europe, the goal is to again attract many high caliber scientists and young researchers from Europe and other continents in addition to the traditionally high participation from the US. We seek an equal representation of speakers from the US and non-US countries. Funds supporting the conference will be used to assist participants, especially young scientists who otherwise would be unable to attend: junior faculty members, postdoctoral fellows and advanced graduate students. Participation by young researchers will add significant value to this conference and will foster communications among current and future leaders in a field that combines academic and industrial issues.

More information: <http://www.grc.org/programs.aspx?id=12396>

MEDIO AMBIENTE

IERC 2015.14TH INTERNATIONAL ELECTRONICS RECYCLING CONGRESS.

21 – 23 JANUARY 2015. SALZBURG CONGRESS. SALZBURG. SWITZERLAND

ERC is THE international platform in Europe regarding discussions on the latest developments and challenges facing WEEE worldwide. Here you will have the possibility to meet representatives within the industry as well as from authorities and academia.

Over 500 international experts use this platform to discuss the latest recycling technologies, regulations, manufacturing processes and value of raw materials. It will focus on:

E&E recycling standards, compliance and controls

Reports about strategic metals recycling (PGM, rare earth elements) and metal trading

Stop robbery of raw materials

Best available recycling technologies

Business opportunities in emerging markets

Worldwide take back schemes, quotes and challenges of systems and OEMs

The program includes also Tool Box Talks, Company Spotlight Talks and a Podium on "Moving towards circular economy".

A large exhibition area with over 60 booths is integrated into the conference facilities, where vendors can meet their clients. Cocktail receptions and a networking dinner create an excellent atmosphere to get in touch with business partners, friends and competitors.

The conference is also offering plant tours to leading recycling companies and various workshops.

More information: <http://www.icm.ch/ierc-2015>

ADVANCED MEMBRANE TECHNOLOGY VI: WATER, ENERGY, AND NEW FRONTIERS

8 – 13 FEBRUARY 2015. GRAND HOTEL MINARETO. SICILY, ITALY

Separation technology constitutes 50 to 75% of the capital investment in a chemical plant, according to a report of the National Research Council. Membrane technology is an important part of the separation technology. Its usage in the chemical industry is growing due to its versatility and low-energy consumption as compared with other separation processes, such as distillation. Because of the industrial needs for efficient separation technology and the advances in material science, many new membrane materials, processes, and applications are being commercialized.

This is the sixth conference in this long running ECI series begun by Dr. Norman Li and Professor Enrico Drioli. Previous conferences were held in 2001 (Barga, Italy), 2004 (Irsee, Germany), 2006 (Cetraro, Italy), 2009 (Trondheim, Norway), and 2012 (Singapore).

The 2015 conference will showcase the recent advancements of membrane research, development and applications related to water production, wastewater reclamation, gas and liquid separations and purifications, energy issues, the environment, special needs, etc. This ECI membrane conference will also address new frontiers of membranes, such as bio-

mimetic membranes, graphene membranes, CNT membranes, membranes for power generation, etc.

It will provide a forum for exchange of ideas and thoughts, and discussions for the global membrane community. It will also serve to build important professional networks.

More information: <http://www.engconf.org/conferences/materials-science-including-nanotechnology/advanced-membrane-technology/>

PLÁSTICOS Y POLÍMEROS

INTERPLÁSTICA 2015. 18TH INTERNATIONAL TRADE FAIR PLASTICS AND RUBBER.

27 - 30, JANUARY 2015. ZAO EXPOCENTRE EXHIBITION CENTER EN KRASNAYA PRESNYA, MOSCÚ, RUSIA.

Interplastica is the industry's most important trade fair for Russia and the region: almost 700 exhibitors from 28 countries. more than 20,000 visitors from Russia and the CIS states. net occupancy of 13,500 square metres.

93% of the exhibitors will participate in this fair in the future. 96% of the visitors are completely satisfied with reaching the objectives. held annually alongside UPAKOVKA / UPAK ITALIA. Machines and equipment for the plastics and rubber industries

Machines and equipment for preparation and recycling. Machines and equipment for finishing, decorating, printing and marking. Machines and plant for processing. Post-processing machines. Welding machines. Tools. Peripheral equipment. Measuring, control and testing equipment. Parts and components. Raw materials and auxiliaries. Plastics and rubber products. Logistics. Storage technology for the plastics and rubber industries. Services for the plastics and rubber industries

More information: http://www.interplastica.de/cipp/md_ww2/custom/pub/content,oid,27206/lang,2/ticket,g_u_e_s_t/~At_a_glance.html

PLASTINDIA 2015. 9TH INTERNATIONAL PLASTICS EXHIBITION & CONFERENCE.

5 – 10 FEBRUARY 2015. PRAGTIN MAIDAN. NEW DELHI. INDIA

Plastindia Foundation, the apex body for plastics in India and the federation of the most significant plastics industry bodies from the Indian sub-continent today formally announced the next edition of the Plastindia Exhibition in February 2015 (PI 2015) to be held at Pragati Maidan, New Delhi with the rousing tagline of 'Expanding Horizons'.

Every three years, the Plastindia exhibitions have acquired the stature of a huge global platform. They are arguably the most significant Plastics related events that showcase the opportunities in developing nations and therefore the future of plastics. This simply massive exhibition will showcase the latest in technology, innovation, processes, products, responsible plastics management, recycling and a whole host of related aspects of plastics.

In its 9th edition, Plastindia 2015 will be the biggest one till date and is expected to consolidate its position as one of the largest pure Plastics exhibitions on the global plastics scene. Expected to bring together about 150,000 business visitors and 2000 top class exhibitors from across 40 nations at a showcase extending across 125,000 sq. mts, this will truly be a staggering platform and opportunity for Indian plastics. Not just the main exhibition itself, there will be a stunning bouquet of associated offerings that make Plastindia exhibitions a 'must not miss' affair for global plastics honchos.

To be held at the iconic Pragati Maidan, New Delhi PI 2015, will also host the 4th PROPLAST Exhibition, which shows off the ever enhancing global standard capabilities of India's plastics processing fraternity and is a magnet for OEMs and retail chains. Also being held concurrently would be the 9th International Conference on Plastics, the 24th ASEAN Plastics Forum, the 6th Plasticon Awards, the Wiintech Technology Transfer initiative as well as numerous B2B meets on investment, finance, knowledge sharing etc.

Describing PI 2015 as the largest single business opportunity of 2015, Mr. Subhash Kadakia, President Plastin-

dia Foundation said that the exhibition would significantly expand the business horizons of all those who participate, regardless of their origin and business size, due to the sheer volume of opportunity that it would showcase and the quantum of learnings that would be available to one and all. All in all, PI 2015 promises opportunities for growth and success to anyone associated with or willing to associate with the wonderful world of plastics.

More information: <http://www.plastindia.org/UI/Pages/bggest-business-opportunity-of-2015-opens-its-doors.aspx>

QUÍMICA ANALÍTICA

**PITCON 2015. PITTCON IS THE WORLD'S LARGEST ANNUAL CONFERENCE AND EXPOSITION FOR LABORATORY SCIENCE.
8 - 12 MARCH, 2015. ERNEST N. MORIAL CONVENTION CENTER.
NEW ORLEANS, USA**

This dynamic global event offers a unique opportunity to get a hands-on look at the latest innovations and to find solutions to your all laboratory challenges. The robust technical program offers the latest research in more than 2,000 technical presentations covering a diverse selection of methodologies and applications. Pittcon also offers more than 100 short courses in a wide range of topics and the once-a-year chance to network with colleagues.

More information: <http://pittcon.org/>

**EWPCS 2015. EUROPEAN WINTER CONFERENCE ON PLASMA SPECTROCHEMISTRY
22 - 26 FEBRUARY 2015. NATURAL SCIENCE CAMPUS OF THE UNIVERSITY OF MÜNSTER. GERMANY.**

The highly stimulating scientific program features an exceptional format including plenary, keynote and submitted talks. Participants will also find poster sessions that spans multiple disciplines, but has plasma source detection, as its foundation. The 2015 European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry will feature a host of sessions, stimulating the discussion around the following topics: Fundamentals, instrumentation, and mechanisms. Plasma source instru-

mentation. Sample introduction and transport phenomena. Laser assisted plasma spectrochemistry. Laser-induced breakdown spectrometry. Elemental speciation, metallomics. Stable isotope analyses. Sample preparation for plasma spectrochemical analysis. Environmental and biological sciences. Earth, marine, and geological sciences. Advanced materials, surfaces, and interfaces. Nanomaterial analysis and characterization. Petroleum and semiconductor materials

More information: http://www.ewcps2015.org/Scientific_program.html

NOVEDADES TÉCNICAS

EL NUEVO INDICADOR DE COMPACTACIÓN EN LA PLACA REVERSIBLE ATLAS COPCO LG500 AHORRA TIEMPO Y DINERO. LA TECNOLOGÍA AYUDA A REDUCIR EL DESGASTE DE LA MÁQUINA Y EL EXCESO DE COMPACTACIÓN.

La complejidad de los diferentes tipos de suelo facilita la compactación de la calidad de un desafío. Muy poca compactación y el suelo pueden instalarse, causando insuficiencia estructura. El exceso de compactación conduce a un desgaste innecesario y el tiempo de inactividad de la máquina. El exceso de compactación también puede causar algunos suelos a "crack" bajo mayor presión. El indicador de compactación en los LG500 reversible Medidas de placa los patrones de vibración de la placa y demuestra lo bien que se compacta el suelo debajo de

la superficie. El indicador de compactación se monta en el centro del mango y el sistema se comunica a través de un sistema claro de luces indicadores. Las tres luces; verde amarillo y rojo, señal de las diferentes etapas de la compactación. Cuando la luz roja parpadea el tipo de suelo particular ha alcanzado la máxima compactación y es hora de parar.

Mas información: http://www.atlascopco.com/eses/news/product-news/140826_the_compaction_indicator_shows_when_the_job_is_done_---_20140826_09_14.aspx

DYSTAR'S NEW BLUE SHADES FOR DENIM

The DyStar Denim Team has developed new blues based on DyStar's pa-

tented Indigo Vat 40% Solution. The Denim team has a strong focus on environmentally friendly solutions and on providing the best service to their customer. But they also strive to inspire the denim industry with new shades and effects. Celebrating a "Festival of Blue" the company launches 4 new shades for fashionable denim.

Sky Blue is a bright blue that has a clear look after the wash-down process is applied

Ever Blue is a ring dyeing and keeps jeans after washing and fading forever blue

Full Blue is a core dyeing to make jeans appear bluish after wash down
Deep Blue is a very special process to provide an extremely dark shade and more resistance to fading.

More information: <http://www.dystar.com/Article.cfm?AID=111>

NOTICIAS DE EMPRESAS

CETEMET Y AENOR ORGANIZAN UNA JORNADA INFORMATIVA SOBRE LA NORMA UNE-EN 1090-1 PARA EL MARCADO CE DE ESTRUCTURAS METÁLICAS

El Centro Tecnológico Metalmecánico y del Transporte, CETEMET, en colaboración con AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación), organiza una jornada informativa gratuita el próximo jueves 17 de julio sobre la norma UNE-EN 1090-1 para el marcado CE de estructuras metálicas de acero y aluminio. Se trata de una nueva reglamentación que ha entrado en vigor de forma obligatoria este mes de julio, aunque llevaba en periodo de coexistencia desde septiembre de 2012, y cuya aplicación práctica es de gran complejidad, ya que cubre un elevado número de estructuras y componentes en los ámbitos de la edificación y obras de ingeniería civil. El reglamento europeo indica que, en el mercado interior de la Unión Europea, todos los productos fabricados para ser incorporados de forma permanente en obras de construcción que dispongan de la correspondiente Norma deben contar con el marcado CE. En este sentido, y en el caso de los fabricantes de estructuras metálicas, la Norma europea de aplicación es la UNE-EN 1090-1.

De esta manera, esta jornada está dirigida a las empresas y agentes interesados en la aplicación de esta Norma, como fabricantes, proyectistas, profesionales del sector y prescriptores, y se celebra desde las 11:00 horas hasta las 14:00 horas en las instalaciones del Centro Tecnológico en Linares (Jaén). En colaboración con CESOL (Asociación Española de Soldadura y Tecnologías de Unión), la sesión pretende dar a conocer el contenido de la Norma UNE-EN 1090-1 y el proceso para obtener el marcado CE, así como informar sobre sus implicaciones en el control de producción en fábrica y en la certificación de los procesos de soldadura asociados a este marcado.

Más información: http://www.cetemet.es/index.php?option=com_content&view=article&id=260%3Acetemet-y-aenor-organizan-una-jornada-informativa-sobre-la-norma-une-en-1090-1-para-el-marcado-ce-de-estructuras-metalicas&catid=63%3A2014&Itemid=117&lang=es

DUPONT PERFORMANCE POLYMERS NAMED FINALIST IN PIA SUPPLIER PARTNERSHIP AND BEST TRAINING & DEVELOPMENT PROGRAMME OF THE YEAR

DuPont Performance Polymers has been announced as a finalist in the Supplier Partnership and Training and Development Programme categories for this year's Plastics Industry Awards (PIAs). The 2014 event takes place on Friday, Oct. 24 at the London Hilton on Park Lane and will be hosted by comedian and TV presenter Al Murray.

With 16 categories covering materials usage, product design, manufacturing, training and environmental performance, the PIAs highlight and recognize the best that the innovative U.K. plastics industry has to offer. This year's event is set to attract around 800 guests including supplier companies, OEM manufacturers, plastics processors, consultants, trainees and designers.

More information: <http://www.dupont.com/industries/plastics/press-releases/plastics-industry-awards.html>

SABADELL MODERNIZA SU RECOGIDA DE RESIDUOS Y DE LIMPIEZA VIARIA CON PRODUCTOS ROS ROCA

La compañía suministrará 5.700 contenedores de carga lateral y 39 equipos de recogida y limpieza viaria. El Ayuntamiento de Sabadell hizo la presentación de su nuevo sistema de limpieza viaria y de recogida de residuos suministrado por Ros Roca. La compañía renovará la flota de vehículos de Sabadell con 39 equipos para recogida y limpieza.

Ros Roca suministrará nuevos vehículos de recogida de carga lateral, un sistema tecnológicamente más avanzado y limpio que permitirá realizar la recogida de una manera más rápida, evitando el tráfico excesivo de camiones y disminuyendo el gasto de combustible y las emisiones de CO2. También un lavacontenedor de carga lateral y recolectores de carga trasera así como equipos satélites.

Entre los equipos que se entregarán, además, habrá vehículos destinados a la limpieza viaria como cisternas y ba-

rredoras sobre camión y autopropulsadas con pértiga autoportante, que permitirán una mejora del servicio que se venía prestando hasta ahora, ya que los modelos escogidos mejoran técnicamente el equipamiento.

Ros Roca también aportará 5.700 contenedores, compatibles con el nuevo sistema de carga lateral y con más capacidad que los anteriores. El nuevo mobiliario dispondrá de una abertura adecuada a las personas con movilidad reducida. Los contenedores también integrarán sensores de radiofrecuencia que enviarán información a la central cuando estén llenos.

Más Información: <http://www.rosroca.com/espanol/sala-de-prensa/noticias.html>

EVONIK SE INICIE LA CONSTRUCCIÓN DE LA PRIMERA PLANTA DE PRODUCCIÓN DE METIONINA DIPÉPTIDO

Evonik Industries celebró una ceremonia de inauguración para celebrar el inicio en el calendario de construcción de la primera planta para la producción de AQUAVI® Met-Met en Amberes (Bélgica). El producto, un dipéptido compuesto por dos moléculas de metionina, es un aditivo para piensos desarrollado especialmente para el camarón y otros crustáceos en acuicultura. El volumen de inversión está en el rango de dos dígitos millones de euros inferior. cantidades comerciales del producto estarán disponibles cuando la nueva planta comience a funcionar en el segundo semestre de 2015. Ahora los clientes pueden solicitar muestras de Evonik para llevar a cabo estudios de alimentación conjuntos. Estudios se alimentan de cantidades de plantas piloto ya están en marcha en todo el mundo. AQUAVI® Met-Met reduce significativamente el consumo de harinas de pescado en la acuicultura del camarón.

Más información: http://corporate.evonik.com/en/media/press_releases/pages/news-details.aspx?newsid=46388

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 key words*. They should be divided into sections and should normally not exceed 10 printed pages. Each manuscript should have less than 10 original figures and tables.
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 this type of article will depend upon the subject.
3. Short Communications should provide a concise statement of a preliminary report or significant research contribution, should include a summary of *not more than 50 words* and should normally not exceed 4 printed pages, containing 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 give comment upon recently published articles and should not exceed 2 printed pages.

SUBMISSION OF MANUSCRIPT

The original manuscript should be sent to the Editor of AFINIDAD by e-mail: afin@iqs.es

The postal address is:

AFINIDAD

Asociación de Químicos e Ingenieros del Instituto Químico de Sarrià

Via Augusta, 390

08017 Barcelona, Spain

Authors will receive, by e-mail, an immediate acknowledgement of receipt of their paper, followed within 6 months by notification of acceptance or rejection after peer evaluation. Authors will be informed of the reasons should an article be turned down, but not be given the referee's name.

Galley proofs will be sent to the author to whom correspondence is to be directed (marked on the manuscript with an asterisk) by e-mail. These should be returned within the dates specified, otherwise publication might be delayed.

Offprints are sent to authors by email in PDF format.

GUIDELINES FOR MANUSCRIPT PREPARATION

Articles must be in English, Spanish or Catalan typed double-spaced throughout on pages of DIN A-4 size 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.

Full Papers and Short Communications should conform to the format found in international chemistry journals and include: Title and authors, Abstract, Key words, Description, Results, Acknowledgements and References.

Title and authors: The title should head the manuscript and should be concise and carefully formulated. Abbreviations and trade names should be avoided. The title should be followed by the first names and surnames of the authors, and address(es) of the laboratory where the work was carried out. Mark with an asterisk (*) the author to whom correspondence should be addressed.

Abstract and key words: The abstract should summarize the contents of the paper and should state the major findings and conclusions of the article. Any of the three official languages can be used. A list of key words 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: This brief statement should describe the importance of the work in relation to the field,

remaining problems, your hypothesis and the objective of the study. Indicate what has been achieved.

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

Results and Discussion: This section should include all tables, graphs and illustrations necessary to understand the study. Results should be presented as concisely as possible.

Conclusion: Authors must state the main conclusions of the research and give a clear explanation of their importance and relevance.

References: References should be listed, in the order in which they are cited in the text, at the end of the article. Abbreviations should conform to the Chemical Abstracts Source Index (CASSI). 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 reference must be made to "unpublished work" or "personal communication".

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

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

Figures and tables: Figures should be submitted on disc and hard copy, printed in black and white, and drawn in indian ink on good quality paper. Black and white photographs are accepted. Coloured photographs will be considered in exceptional cases. The numbers and letters should be legible after the reduction of the original paper. The figure legends and table footnotes should be typewritten on a separate sheet.

Authors should take care to assure the illustrations are received in good condition.

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. Also, 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.

When sending your work, the author yields to the AFINIDAD publisher the reproduction and distribution rights for the printed paper edition, as well as the right of public communication (accessibility) for the electronic version made accessible through the Internet web. This transfer of rights is not affected by territorial limits and it is exclusive for a one year period after the publication of the concerned AFINIDAD issue. After this term the author will be able to freely dispose of his text. On her 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 the article.

Dissemination and accessibility of the work through Internet will be made from the webpage of the Asociación de Químicos e Ingenieros del Instituto Químico de Sarrià (www.aiqs.eu). 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 the AIQS has standing agreements.

AFINIDAD will appreciate that in second publication or dissemination of any article, a reference of the first publication in AFINIDAD is made, including the reference of the www.aiqs.eu address.

