

ISSN 2523-6857

Volumen I, Número 2 – Octubre – Diciembre - 2017

Revista de Ingeniería
**Biomédica y
Biotecnología**

ECORFAN®



ECORFAN-Taiwán

Indización

-Research Gate

-Google Scholar

-Hispana

-Mendeley

ECORFAN-Taiwán

Directorio Principal

RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD.

Director Regional

VARGAS-DELGADO, Oscar. PhD.

Director de la Revista

PERALTA-CASTRO, Enrique. MsC.

Edición Tipográfica

FLORES-PIGUAVE, Eileen. BsC.

ROSALES-BORBOR, Eleana. BsC.

Edición de Logística

CORTES-MUÑOZ, Sleither. BsC.

Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología, Volumen 1, Número 2, de Octubre a Diciembre 2017, es una revista editada trimestralmente por ECORFAN-Taiwán. Taiwan, Taipei. YongHe district, ZhongXin, Street 69. Postcode: 23445. WEB: www.ecorfan.org/taiwan, revista@ecorfan.org. Editora en Jefe: RAMOS-ESCAMILLA, María. ISSN 2523-6857. Responsables de la última actualización de este número de la Unidad de Informática ECORFAN. ESCAMILLA-BOUCHÁN Imelda, LUNA-SOTO, Vladimir, actualizado al 30 de Diciembre 2017.

Las opiniones expresadas por los autores no reflejan necesariamente las opiniones del editor de la publicación.

Queda terminantemente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin permiso del Instituto Nacional de defensa de la competencia y protección de la propiedad intelectual.

Consejo Editorial

BELTRÁN-MIRANDA, Claudia. PhD
Universidad Industrial de Santander, Colombia

BELTRÁN-MORALES, Luis Felipe. PhD
Universidad de Concepción, Chile

RUIZ-AGUILAR, Graciela. PhD
University of Iowa, U.S.

SOLIS-SOTO, María. PhD
Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca, Bolivia

GOMEZ-MONGE, Rodrigo. PhD
Universidad de Santiago de Compostela, España

ORDÓÑEZ-GUTIÉRREZ, Sergio. PhD
Université Paris Diderot-Paris, Francia

ARAUJO-BURGOS, Tania. PhD
Universita Degli Studi Di Napoli Federico II, Italia

SORIA-FREIRE, Vladimir. PhD
Universidad de Guayaquil, Ecuador

Consejo Arbitral

VGPA. MsC
Universidad Nacional de Colombia, Colombia

EAO. MsC
Universidad Nacional de Colombia, Colombia

MMD. PhD
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

BRIIG. PhD
Bannerstone Capital Management, U.S.

EAO. MsC
Bannerstone Capital Management, U.S.

OAF. PhD
Universidad Panamericana, México

CAF. PhD
Universidad Panamericana, México

RBJC. MsC
Universidad Panamericana, México

Presentación

ECORFAN, es una revista de investigación que publica artículos en el área de: Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología

En Pro de la Investigación, Enseñando, y Entrenando los recursos humanos comprometidos con la Ciencia. El contenido de los artículos y opiniones que aparecen en cada número son de los autores y no necesariamente la opinión de la Editora en Jefe.

Como primer artículo está *Remoción de contaminantes microbiológicos presentes en agua de escorrentía urbana mediante pavimentos permeables fotocatalíticos* por ORTEGA-VILLAR, Rosangel, CORONEL-OLIVARES, Claudia, LIZÁRRAGA-MENDIOLA, Liliana, BELTRÁN-HERNÁNDEZ, Rosa Icela, LUCHO-CONSTANTINO, Carlos Alexander y VÁZQUEZ- RODRÍGUEZ Gabriela A, como siguiente artículo está *Evaluación del potencial de Opuntia sp. como sustrato para la obtención de azúcares fermentables para la generación de etanol* por PÉREZ-CADENA, Rogelio, ESPINOSA-SOLARES, Teodoro, MEDINA-MORENO, Sergio Alejandro, MARTÍNEZ, Alfredo, LIZARDI-JIMÉNEZ, Manuel Alejandro y TÉLLEZ-JURADO, Alejandro, como siguiente artículo está *Dispersión de nanoestructuras de ZnO en un lubricante automotriz obtenidas mediante extracto de Capsicum annum y sus propiedades tribológicas* por OLVERA-VENEGAS, Patricia, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, DE LA FUENTE-LÓPEZ, Carolina, MARTÍNEZ- PÉREZ, Irvin & FLORES-GONZÁLEZ, Marco, como siguiente artículo está *Cuantificación de la energía específica aplicada por un baño ultrasónico mediante el método de calorimetría y capacidad de disgregación de lodo anaerobio* por PINEDA-MUÑOZ, Cuauhtémoc Francisco, RAMÍREZ-VARGAS, María del Rocío, MEDINA-MORENO, Sergio Alejandro, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, LUCHO-CONSTANTINO, Carlos Alexander, TÉLLEZ-JURADO, Alejandro, TREJO-AGUILAR, Gloria Maribel & JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, Angélica.

Contenido

Artículo	Página
Remoción de contaminantes microbiológicos presentes en agua de escorrentía urbana mediante pavimentos permeables fotocatalíticos por ORTEGA-VILLAR, Rosangel CORONEL-OLIVARES, Claudia, LIZÁRRAGA-MENDIOLA, Liliana, BELTRÁN-HERNÁNDEZ, Rosa Icela, LUCHO-CONSTANTINO, Carlos Alexander y VÁZQUEZ- RODRÍGUEZ Gabriela A	1-7
Evaluación del potencial de <i>Opuntia</i> sp. como sustrato para la obtención de azúcares fermentables para la generación de etanol PÉREZ-CADENA, Rogelio, ESPINOSA-SOLARES, Teodoro, MEDINA-MORENO, Sergio Alejandro, MARTÍNEZ, Alfredo, LIZARDI-JIMÉNEZ, Manuel Alejandro y TÉLLEZ-JURADO, Alejandro	8-23
Dispersión de nanoestructuras de ZnO en un lubricante automotriz obtenidas mediante extracto de <i>Capsicum annuum</i> y sus propiedades tribológicas OLVERA-VENEGAS, Patricia, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, DE LA FUENTE-LÓPEZ, Carolina, MARTÍNEZ- PÉREZ, Irvin y FLORES-GONZÁLEZ, Marco	24-31
Cuantificación de la energía específica aplicada por un baño ultrasónico mediante el método de calorimetría y capacidad de disgregación de lodo anaerobio PINEDA-MUÑOZ, Cuauhtémoc Francisco, RAMÍREZ-VARGAS, María del Rocío, MEDINA-MORENO, Sergio Alejandro, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, LUCHO-CONSTANTINO, Carlos Alexander, TÉLLEZ-JURADO, Alejandro, TREJO-AGUILAR, Gloria Maribel y JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, Angélica	32-38

Instrucciones para Autores

Formato de Originalidad

Formato de Autorización

Remoción de contaminantes microbiológicos presentes en agua de escorrentía urbana mediante pavimentos permeables fotocatalíticos

ORTEGA-VILLAR, Rosangel†, CORONEL-OLIVARES, Claudia, LIZÁRRAGA-MENDIOLA, Liliana, BELTRÁN-HERNÁNDEZ, Rosa Icela, LUCHO-CONSTANTINO, Carlos Alexander y VÁZQUEZ-RODRÍGUEZ Gabriela A*.

Recibido 8 de Octubre, 2017; Aceptado 4 de Diciembre, 2017

Resumen

Los pavimentos permeables son tecnologías de bajo impacto que permiten mitigar los efectos negativos del agua de escorrentía urbana, ya que permiten su infiltración y le proporcionan un cierto tratamiento. En este estudio se evaluó la capacidad de remoción de contaminantes microbiológicos en pavimentos permeables provistos de una capa fotocatalítica de nanopartículas de Fe₂O₃. Se elaboraron especímenes de pavimentos permeables que presentaron una permeabilidad (677.9 L/m²·min) y una resistencia a la compresión (78.28 kg/cm²) adecuadas de acuerdo con el Instituto Mexicano del Cemento y del Concreto. Estos pavimentos se recubrieron con una capa de nanopartículas de Fe₂O₃ en dos diferentes concentraciones (3% y 5%), que recibieron agua de escorrentía sintética con uno de los siguientes indicadores microbiológicos en concentración conocida: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* o *Enterococcus faecalis*. Los pavimentos permeables removieron los contaminantes microbiológicos en este orden: *E. coli* > *P. aeruginosa* > *E. faecalis*. Aunque aún resta por elucidar si la presencia y la concentración de las NP son relevantes, los pavimentos permeables demostraron su potencial en la reducción de la carga microbiana del agua de escorrentía urbana.

Desinfección, Infiltración, Nanopartículas, Tecnologías de bajo impacto

Abstract

Pervious pavements are low-impact developments that allow the mitigation of the negative impacts of urban runoff, because they enable its infiltration and treatment. In this study we evaluated the microbial removal capacity of pervious pavements covered by a photocatalytic layer of Fe₂O₃ nanoparticles. Pervious concrete specimens were made, which presented a water permeability (677.9 L/m²·min) and a compressive strength (78.28 kg/cm²) complying with the Mexican standards. These pavements were covered by a photocatalytic layer of Fe₂O₃ nanoparticles at two concentrations (3% and 5%). After activation, the specimens received synthetic urban runoff with one microbial indicator (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* or *Enterococcus faecalis*) at known concentration. The specimens removed the indicator in the following order: *E. coli* > *P. aeruginosa* > *E. faecalis*. Although the role of the nanoparticles has to be elucidated yet, the pervious pavements demonstrated their potential in the reduction of the microbial pollution of urban runoff.

Disinfection, Infiltration, Low-impact development, Nanoparticles

Citación: ORTEGA-VILLAR, Rosangel†, CORONEL-OLIVARES, Claudia, LIZÁRRAGA-MENDIOLA, Liliana, BELTRÁN-HERNÁNDEZ, Rosa Icela, LUCHO-CONSTANTINO, Carlos Alexander, VÁZQUEZ-RODRÍGUEZ y Gabriela A., Remoción de contaminantes microbiológicos presentes en agua de escorrentía urbana mediante pavimentos permeables. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología, 2017, 1-2: 1-7

* Correspondencia al autor (email: gvazquez@uaeh.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

El agua de escorrentía urbana (AEU) es el componente del ciclo hidrológico que representa la acumulación de agua pluvial en áreas urbanizadas. Se le asocia con varios efectos ambientales negativos; en primer lugar, es la causa más frecuente de inundaciones en el medio urbano (Vázquez-Rodríguez e Iturbide, 2015). En segundo lugar, el AEU vehicula numerosos contaminantes, razón por la cual se le considera una fuente de contaminación difusa importante, quizás la más significativa en países industrializados. Para mitigar estos problemas, existen las tecnologías de bajo impacto (LID por sus siglas en inglés), que también permiten la prevención de la contaminación que representa el AEU y la mejora de ecosistemas urbanos (Baek *et al.*, 2015). Así, el objetivo de las técnicas LID es reducir *in situ* el volumen del agua de escorrentía reestableciendo la capacidad de infiltración de las superficies urbanas (Martin-Mikle *et al.*, 2015). Entre las tecnologías LID más comunes se encuentran las celdas de biorretención, las azoteas verdes y los pavimentos permeables (Ahiablame *et al.*, 2012). Un pavimento permeable típico consiste en una mezcla de concreto elaborado con poco o ningún agregado fino, lo que forma poros más grandes en su estructura que en un concreto convencional (Haselbach *et al.*, 2006). Estos poros son los que facilitan la infiltración del agua y por tanto la recarga de los acuíferos subyacentes (Bentz, 2008). Asimismo, son comparables a un filtro, y permiten mejorar la calidad del agua que reciben. Sin embargo, existen muy pocos reportes que señalen su eficacia en la remoción de los contaminantes típicos de las escorrentías urbanas.

Para potenciar su efectividad, recientemente se han desarrollado pavimentos permeables con una capa fotocatalítica en la superficie, por lo general a base de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂).

No obstante, el uso del TiO₂ se cuestiona cada vez más, ya que diversos estudios han sugerido daños potenciales a la salud humana y de los ecosistemas (Zhu *et al.*, 2012).

En este trabajo se exploró la posibilidad de remover los contaminantes microbiológicos presentes en un AEU sintética en pavimentos permeables provistos de una capa fotocatalítica de nanopartículas de Fe₂O₃.

Metodología

Se elaboraron los pavimentos permeables con los materiales especificados en Tabla 1, los cuales se introdujeron en una revolvedora mecánica de marca Gilson y se mezclaron por minuto y medio. La mezcla se vació en moldes de PVC de 15 cm de diámetro y 10 cm de altura. Transcurridas 24 h, los especímenes se introdujeron a una máquina de curado por 5.25 h ± 30 min (INVE-412-07).

Para 1m ³		Granulometría de la Grava	
Material	Porcentaje	No. De Tamiz	Porcentaje
Agua	140 Lt.	1/2"	40%
Arena	127.5 kg/m ³	3/8"	30%
Cemento	350 kg/m ³	1/4"	20%
Grava	1275 kg/m ³	No. 4	10%

Tabla 1. Proporción y granulometría de los materiales

Los especímenes se dejaron secar totalmente antes de que se les aplicara la capa fotocatalítica, para lo cual se emplearon nanopartículas (NP) de Fe₂O₃ en polvo (< 50 nm, Sigma Aldrich). Se probaron dos proporciones de NP en el recubrimiento (3% y 5% de NP de acuerdo al peso del cemento), que se mezclaron con 20 g de cemento y 10 mL de agua (Hassan *et al.*, 2012). Para el espécimen testigo, se sustituyeron las NP por suelo (la cantidad utilizada fue 3%, ya que si se adiciona más suelo pueden obstruirse los poros superficiales del pavimento permeable). La mezcla húmeda se aplicó con una brocha.

Los especímenes se analizaron por espectrometría de fotoelectrones con fuente de rayos X (XPS). Para las pruebas de resistencia a la compresión se elaboraron cilindros de 30 cm de alto y 15 cm de diámetro (siguiendo la granulometría indicada en la Tabla 1). Los cilindros se colocaron en la máquina de compresión (Controls modelo 50-C43C04) y se les aplicó presión hasta llegar a la falla; en ese momento la máquina señaló el valor de la carga resistida (IMCYC, 2011). Para las pruebas de permeabilidad se elaboró una losa de 7 cm de espesor y con un área de 15 cm x 15 cm (siguiendo la granulometría de la Tabla 1). Se vertieron 15 L de agua a la losa permeable y se tomó el tiempo de infiltración del agua a través de la losa.

En la preparación del agua sintética microbiológica se utilizaron *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*. Primero, estos se sembraron en agar de soya tripticaseína y se incubaron a 37°C por 24 h. Luego se tomó una asada y se sembró en caldo de soya tripticaseína, tras lo cual se midió la absorbancia a 550 nm. Con este valor se hizo una interpolación utilizando la escala de McFarland, para conocer la concentración bacteriana en el caldo nutritivo. El agua sintética microbiológica se preparó por separado para cada microorganismo.

Los pavimentos permeables fotocatalíticos se activaron utilizando una lámpara UV de la marca Entela® con una longitud de onda de 365 nm (Yu, 2013). La distancia entre el pavimento y la lámpara UV fue de 10 cm. Los especímenes se expusieron a la luz durante 60 min; para garantizar una activación homogénea, se giraron 180° a los 30 min. La activación se llevó a cabo en una caja que impidió el paso de la luz externa (Du *et al.*, 2016). Finalizada la activación se inició la alimentación del agua microbiológica sintética a través de los pavimentos permeables.

Los especímenes se alimentaron por la parte superior con un flujo de 500 mL/h de agua sintética microbiológica con una bomba peristáltica (Masterflex®, E.U.A.) y un motor de 12 V con hélices. Estas condiciones equivalen a la precipitación de 212 mm, que es comparable al máximo mensual reportado para el periodo 1981-2000 en la ciudad de Pachuca (SMN, 2017). El agua de salida de los especímenes se captó con un embudo de plástico y en matraces estériles. Posteriormente se hicieron tres diluciones de esta agua, de las que se sembraron 100 µL en cajas de con agar de soya tripticaseína. Se incubaron por 24 horas y luego se hizo el conteo de colonias. Se siguió el mismo procedimiento para el agua sintética microbiológica de entrada y salida.

Resultados y discusión

Los pavimentos permeables se obtuvieron de acuerdo a lo descrito anteriormente y se sometieron a análisis mineralógicos. En la Fig. 1 se observa que las NP de óxido de hierro sí se fijaron a la superficie de concreto, ya que en las micrografías se presentan pequeños cúmulos marrones que las ponen en evidencia. En la Fig. 2 se muestran los espectros XPS obtenidos para los pavimentos permeables fotocatalíticos. En ellos se observa que la interacción del Fe₂O₃ con el concreto modifica la superficie estudiada. Paradójicamente, se detectó una mayor intensidad de la señal en el concreto con 3% de NP que en el de 5%.

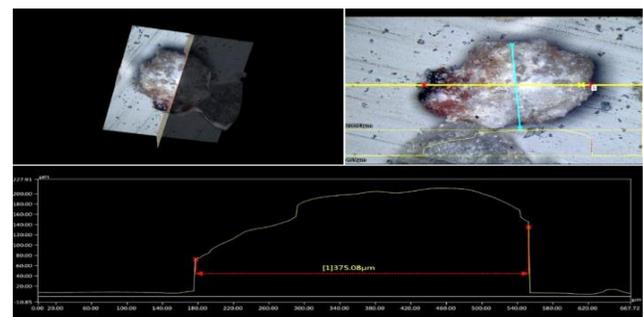


Figura 1. Perfil de profundidad a la altura máxima de la muestra de pavimento permeable con capa fotocatalítica (3% de NP).

Una mayor cantidad de Fe_2O_3 en la superficie del pavimento modifica considerablemente la composición y las propiedades de la superficie (Watts y Wolstenholme, 2003).

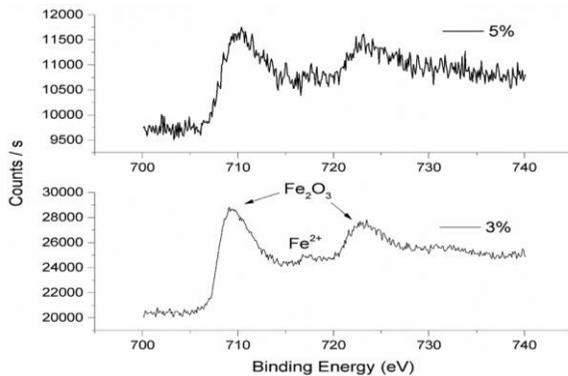


Figura 2. Espectros de XPS de los pavimentos permeables con capa fotocatalítica.

Se evaluó la resistencia a la compresión de dos especímenes, que fue 78.28 kg/cm^2 en promedio. Este valor permite denominar al pavimento construido como permeable, ya que según el Instituto Mexicano del Cemento y del Concreto (IMCYC, 2011) se consideran como aceptables valores comprendidos entre 35 y 280 kg/cm^2 . En cuanto a la permeabilidad, se midió un valor promedio de $677.9 \text{ L/m}^2 \cdot \text{min}$. De acuerdo al IMCYC, la velocidad de drenaje a través del pavimento permeable depende del tamaño de los agregados y de la densidad de la mezcla, y generalmente varía entre 81 a $730 \text{ L/min}^2 \cdot \text{min}$. Por lo tanto, puede concluirse que la permeabilidad del pavimento permeable elaborado es muy buena, ya que se acerca al límite superior establecido por el IMCYC (2011).

Se midió el potencial de remoción de contaminantes microbiológicos en los pavimentos permeables recubiertos con NP (3% y 5%) y en un espécimen testigo, desprovisto de recubrimiento de NP. La remoción de *E. coli* a través de los pavimentos permeables fotocatalíticos fue completa, ya que no se detectó a este organismo en los efluentes.

Esto equivale a la remoción de 3.5 - 3.7 Log UFC/mL (Fig. 3). Estos valores obtenidos son ligeramente parecidos a los reportados en estudios previos (Tota-Maharaj y Scholz, 2010), en los que se obtuvo una remoción entre 3.5 y 4.5 Log UFC/mL de las concentraciones de *E. coli*, coliformes fecales y estreptococos fecales en AEU luego de su paso por pavimentos permeables acoplados a bombas de calor subterráneas. Las remociones que medimos y las reportadas en el citado estudio (Tota-Maharaj y Scholz, 2010) son mayores a las reportadas para otras tecnologías LID (Li *et al.*, 2012).

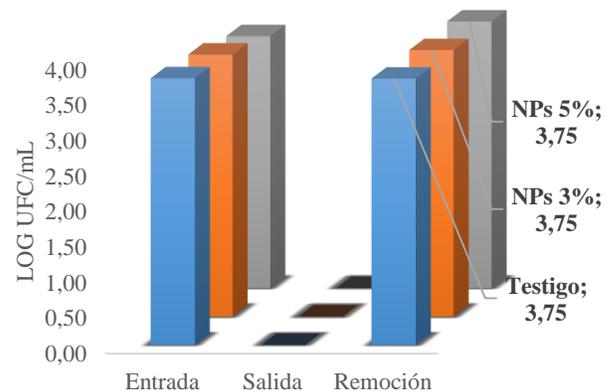


Figura 3. Remoción de *Escherichia coli* en los pavimentos permeables.

En estudios que han evaluado el transporte de microorganismos a través de medios porosos, se han mencionado varios factores que lo afectan, tales como la carga superficial, la hidrofobicidad, el tamaño, la movilidad y la forma de las células, así como su estado fisiológico y quizás su tipo de pared (*i.e.*, si se trata de organismos Gram positivos o negativos) (Smets *et al.*, 1999; Mitik-Dineva *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2010). Dado que estos factores varían de especie, la eficiencia de remoción microbiana en un pavimento permeable dependerá del tipo de indicador que se utilice.

Las bacterias Gram positivas poseen una pared celular gruesa, con capas de peptidoglicano y ácido teitoico, las cuales proveen protección hasta cierto punto ya que obstruyen la penetración de radicales libres (Binas *et al.*, 2017). Las bacterias Gram negativas como *E. coli* y *P. aeruginosa* no cuentan con esta protección; así, su pared más delgada sería más susceptible al ataque de los radicales libres producidos por las NP. La actividad fotocatalítica puede ocasionar alteraciones en la estructura celular, inactivación microbiana y posible destrucción (Binas *et al.*, 2017).

Sin embargo, en los experimentos que aquí se reportan no fue posible distinguir el papel de las NP en la remoción de *E. coli* alcanzada por los pavimentos permeables, puesto que en los dos especímenes recubiertos con ellas fue similar a la que mostró el testigo.

La eliminación de *P. aeruginosa* se muestra en la Fig. 4, en la cual se observan diferencias entre las contaminaciones conseguidas por los distintos pavimentos permeables. El espécimen con un recubrimiento de 3% de NP permitió remover 4.496 Log UFC/mL, mientras que el testigo y el pavimento con 5% de NP eliminaron 4.66 y 2.368 Log UFC/mL, respectivamente (Fig. 4). Estos resultados podrían indicar que la mayor adherencia de las NP en el recubrimiento al 3%, puesta en evidencia por los resultados del análisis de XPS descritos anteriormente, se tradujo en una mayor eficacia de eliminación de *P. aeruginosa*.

Esta bacteria posee algunas de las características ya mencionadas que favorecen la adhesión bacteriana a medios sólidos, tales como ser móvil, Gram negativa, y con forma bacilar (Smets *et al.*, 1999). A pesar de compartir estas características con *E. coli*, se removió en un menor grado.

Esta menor adherencia de *P. aeruginosa* a los pavimentos permeables con respecto a la de *E. coli* puede atribuirse a que es menos electronegativa (Mitik-Dineva *et al.*, 2009); si las superficies del pavimento permeable estuvieran cargadas positivamente (lo cual se desconoce), esto podría explicar la menor retención de *P. aeruginosa* en los pavimentos permeables.

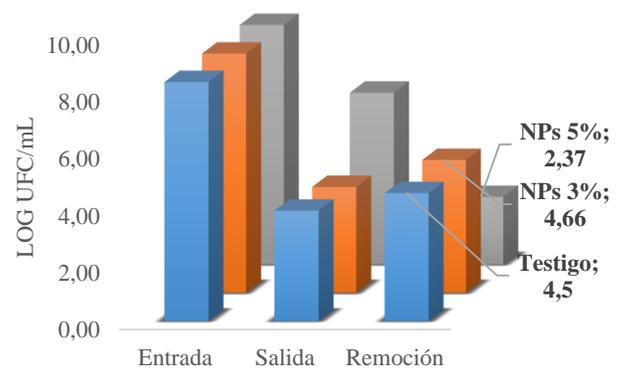


Figura 4. Remoción de *Pseudomonas aeruginosa* en los pavimentos permeables.

La eliminación de *Enterococcus faecalis* en los pavimentos permeables fue la menor entre las que se midieron para los organismos estudiados; su eficacia se muestra en la Fig. 5. *Enterococcus faecalis* posee rasgos que favorecen su transporte en medios porosos: no es móvil, es Gram positiva y tiene una forma esférica (Park *et al.*, 2010). Así, es de esperar que los pavimentos permeables sean poco eficaces para remover este indicador. Las remociones conseguidas de *Enterococcus faecalis* en los pavimentos permeables estuvieron comprendidas entre 0.3-0.39 Log UFC/mL; estos valores son comparables a la eliminación de enterococos alcanzada en un biofiltro de arena (Peng *et al.*, 2016). La escasa afinidad de *Enterococcus faecalis* por los medios porosos ha sido reportada por otros autores (Cheng *et al.*, 2012). El tipo de pared celular de *Enterococcus faecalis* podría, como ya se mencionó, brindarle una protección adicional frente a un fotocatalizador.

Sin embargo, el efecto de la capa de NP en la remoción de este indicador tampoco pudo ponerse en evidencia, ya que el testigo prácticamente mostró la misma eficacia que el espécimen recubierto con 5% de Fe₂O₃.

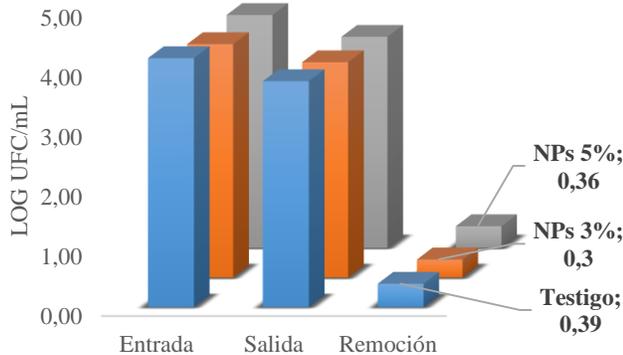


Figura 5. Remoción de *Enterococcus faecalis* en los pavimentos permeables fotocatalíticos.

Conclusiones

Se construyeron especímenes de pavimentos permeables con una resistencia a la compresión y una permeabilidad hídrica adecuados según los estándares del IMCYC. Estos especímenes se recubrieron con 3 y 5% de NP de Fe₂O₃ que se integraron correctamente a la mezcla de concreto, según lo reflejaron los análisis mineralógicos. Al evaluar la remoción de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *E. faecalis* en aguas de esorrentía sintéticas, se encontró que los especímenes construidos resultaron ser efectivos en cuanto a la eliminación de estos indicadores, pero en grado diferente para cada uno de ellos. Así, la eficacia de la remoción de los pavimentos permeables siguió este orden: *E. coli* > *P. aeruginosa* > *E. faecalis*. No se encontraron reportes de efectividad de pavimentos permeables fotocatalíticos con respecto a remoción de contaminantes microbiológicos.

Referencias

Ahiablame, L. M., Engel, B. A., Chaubey, I. (2012). Effectiveness of low impact development practices: literature review and suggestions for future research. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223(7), 4253-4273.

Baek, S. S., Choi, H. D., Jung, W. J., Lee, J. H., Lee, H., Yoon, S. K., Cho, H. K. (2015). Optimizing low impact development (LID) for stormwater runoff treatment in urban area, Korea: Experimental and modeling approach. *Water Research*, 86, 122-131.

Bentz, P. D. (2008). Virtual pervious concrete: Microstructure, percolation, and permeability. *ACI Material Journal*, 105, 1-3.

Binas V., Venieri, D., Kotzias, D., Kiriakidis, G. (2017). Modified TiO₂ based photocatalysts for improved air and health quality. *Journal of Materiomics*, 3, 3-16.

Chen, G., Walker, S. L. (2012). Fecal indicator bacteria transport and deposition in saturated and unsaturated porous media. *Environmental Science and Technology*, 46(16), 8782-8790.

Du, F., Zuo, X., Yang, Q., Yang, B., Li, G., Ding, Z., Zhu, K. (2016). Facile assembly of TiO₂ nanospheres/SnO₂ quantum dots composites with excellent photocatalyst activity for the degradation of methyl orange. *Ceramics International*, 42(11), 12778-12782.

Hasselbach, M. L., Valavala, S., Montes, F. (2006). Permeability predictions for sand-clogged Portland cement pervious concrete pavement systems. *Journal of Environmental Management*, 81, 42-49.

Hassan, M. M., Dylla, H., Mohammad, L. N., Rupnow, T. (2012). Methods for the application of titanium dioxide coatings to concrete pavement. *International Journal of Pavement Research and Technology*, 5(1), 12-20.

IMCYC (2011). Hacia una construcción sustentable. Construcción y Tecnología en concreto. Recuperado de <http://www.imcyc.com/revistacyt/jun11/arttecnologia.htm>

INVE 412-07. Ensayo de fabricación, curado acelerado y resistencia a la compresión de especímenes de concreto.

Li, Y. L., Deletic, A., Alcazar, L., Bratieres, K., Fletcher, T. D., McCarthy, D. T. (2012). Removal of *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* and F-RNA coliphages by stormwater biofilters. *Ecological Engineering*, 49, 137-145.

Martin-Mikle, J. C., de Berus, K., Julian, P. J., Mayer, M. P. (2015). Identifying priority sites for low impact development (LID) in a mixed-use watershed. *Landscape and Urban Planning*, 140, 29-41.

Mitik-Dineva, N., Wang, J., Truong, V. K., Stoddart, P., Malherbe, F., Crawford, R. J., Ivanova, E. P. (2009). *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* attachment patterns on glass surfaces with nanoscale roughness. *Current Microbiology*, 58(3), 268-273.

Park, S. J., Kim, S. B., Kim, K. W. (2010). Analysis of bacterial cell properties and transport in porous media. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 45(6), 682-691.

Peng, J., Cao, Y., Rippey, M. A., Afrooz, A. R. M., Grant, S. B. (2016). Indicator and Pathogen Removal by Low Impact Development Best Management Practices. *Water*, 8(12), 600.

Smets, B. F., Grasso, D., Engwall, M. A., Machinist, B. J. (1999). Surface physicochemical properties of *Pseudomonas fluorescens* and impact on adhesion and transport through porous media. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 14(1), 121-139.

SMN (2017). Normales Climatológicas 1981-2000, Estación Pachuca, Hgo. Servicio Meteorológico Nacional, Comisión Nacional del Agua, México.

Tota-Maharaj, K., Scholz, M. (2010). Efficiency of permeable pavement systems for the removal of urban runoff pollutants under varying environmental conditions. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 29, 358-369.

Vázquez-Rodríguez, G. A., Iturbe, U. (2015). Ciudades Permeables. ¿Cómo ves?, 183, 16-19.

Watts, F. J., Wolstenholme, J. (2003). An introduction to surface analysis by XPS and AES. Wiley, Londres.

Yu, J. C. (2003). Deactivation and regeneration of environmentally exposed titanium dioxide (TiO₂) based products. (Testing Report). Hong Kong, Environmental Protection Department, HKSAR.

Zhu, Y., Eaton, J. W., Li, C. (2012). Titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles preferentially induce cell death in transformed cells in a Bak/Bax-independent fashion. *PloS One*, 7(11), e50607.

Evaluación del potencial de *Opuntia* sp. como sustrato para la obtención de azúcares fermentables para la generación de etanol.

PÉREZ-CADENA, Rogelio*†, ESPINOSA-SOLARES, Teodoro, MEDINA-MORENO, Sergio Alejandro, MARTÍNEZ, Alfredo, LIZARDI-JIMÉNEZ, Manuel Alejandro y TÉLLEZ-JURADO, Alejandro

Recibido 14 de Octubre, 2017; Aceptado 18 de Diciembre, 2017

Resumen

El nopal es el nombre común que reciben las cactáceas del género *Opuntia*, en México *Opuntia ficus indica*, es ampliamente cultivada. De entre los principales componentes del nopal se encuentra las espinas, el mucílago y la fibra la cual aumenta con la edad, por ello se evaluó el efecto de la relación sólidos/ácido y el tiempo, sobre la edad y variedad de *Opuntia* para la obtención de azúcares fermentables. Se observó inicialmente que tanto la cantidad de sólidos como la edad, tuvieron un efecto sobre la liberación de azúcares, llegándose a obtener hasta 45 g/L con un 10 % de sólidos y 80 min, sin embargo; el proceso de rehidratación limitó su solubilidad. En las variedades Energy, Atlixco, Milpa Alta y Azul Gigante se obtuvieron 15 g/L de ART en cladodios de 12 meses, mientras que los de 6 meses se observó un promedio de 10 g/L. En cuanto a la cantidad de azúcares, se observó en la variedad Milpa Alta 10 g/L de glucosa. Mientras que en la variedad Milpa alta y Energy presentaron la mayor cantidad de azúcares fermentables con un 52.23 y 31.21 % representados principalmente como glucosa lo que representó 23.23 y 9.71 g/100 g de sólidos.

Opuntia, Variedad, Hidrólisis, Azúcares reductores.

Abstract

Nopal is the common name given to cacti from the genus *Opuntia*, in Mexico *Opuntia Ficus Indica*, is widely cultivated. Among the main components of nopal is the thorns, mucilage and fiber which increases with age, thus assessed the effect of the relationship solid/acid and time, on the age and variety of *Opuntia* for obtaining fermentable sugars. It was initially observed that both the amount of solids and age, had an effect on the release of sugars, reaching to obtain up to 45 g/L with 10% solids and 80 min, however; The rehydration process limited its solubility. In the varieties Energy, Atlixco, Milpa Alta and giant Blue were obtained 15 g/L of ART in Cladodes of 12 months, while those of 6 months was observed an average of 10 g/L. As for the quantity of sugars, it was observed in the Milpa variety High 10 g/L of glucose. While in the Milpa Alta and Energy Variety they presented the highest amount of fermentable sugars with a 52.23 and 31.21% represented mainly as glucose which represented 23.23 and 9.71 g/100 g of solids.

Opuntia, Variety, Hydrolysis, Reducing Sugars.

Citación: PÉREZ-CADENA, Rogelio*†, ESPINOSA-SOLARES, Teodoro, MEDINA-MORENO, Sergio Alejandro, MARTÍNEZ, Alfredo, LIZARDI-JIMÉNEZ, Manuel Alejandro & TÉLLEZ-JURADO, Alejandro. Evaluación del potencial de *Opuntia* sp. como sustrato para la obtención de azúcares fermentables para la generación de etanol. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología. 2017, 1-2: 8-23

* Correspondencia al autor (email: rogelioperez@upp.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

El nopal es el nombre común que reciben las cactáceas del genero *Opuntia*, de las cuales han sido reconocidas 377 especies, de estas; 48 especies son utilizadas por el hombre; 24 especies se usan para el consumo directo; 6 especies como nopal tunero; 15 especies como nopal para forraje y 3 especies como nopal verdulero. De todas las especies reconocidas, la más común y cultivada en distintas partes del mundo es *Opuntia ficus indica* (Ornelas, 2011). En México esta variedad es cultivada en 29 entidades federativas, existiendo 50,000 productores directos en 14 estados quienes producen alrededor de 723 000 toneladas en 12,500 hectáreas (CNSPNT, 2013).

De entre las muchas aplicaciones de *Opuntia* se encuentran algunos como hospedante del insecto cochinilla (*Dactylopius coccus*), los nopalitos se utilizan para elaborar preparaciones antidiabéticas, sus flores son usadas para preparar bebidas diuréticas y los frutos son utilizados para preparar jugos, jaleas, miel, mermeladas y pastas, además de la obtención de aceite de sus semillas (Reyes-Agüero, Aguirre R., and Valiente-Banuet 2006). Como alimento funcional, los frutos y los cladodios son una fuente importante de: fibra, hidrocoloides (mucílagos), pigmentos (betalaínas y carotenoides), Ca y K, y vitamina C; compuestos muy apreciados para una dieta saludable (Valencia-Sandoval, Brambila-Paz, and Mora-Flores 2010). La composición química del nopal es muy variable en función de la especie, edad de los cladodios y época del año. En base Humeda, presenta altos niveles de agua en su composición, con un 91.8 %; siguiéndole en porcentaje los carbohidratos con un 5.5 % y por ultimo las cenizas con un 1.58 % (Ornelas, 2011). De entre los principales componentes del nopal se encuentra el mucílago.

Este hidrocolóide, es un polisacárido cuyo peso molecular oscila en 13×10^6 g/mol y está compuesto por polisacáridos similares a las pectinas. El contenido de azúcares en estos polisacáridos se encuentra en proporciones aproximadas de 47 % de L-arabinosa, 18 % de D-galactosa, 7 % de L-ramnosa, y 23 % de D-xilosa como el principal azúcar además del 5% de ácido D-galacturónico (Cárdenas, Higuera-Ciapara, and Goycoolea 1997). La estructura primaria del mucílago del nopal sugiere una cadena lineal con cadenas repetidas de enlaces (1-4)- β -D-ácido galacturónico y enlaces α -(1-2)-L-ramnosa con cadenas laterales de trisacáridos formados por enlaces β -(1-6) D-galactosa unidas a residuos de L-ramnosa.

La presencia de residuos laterales a la cadena principal de galactosa presenta ramificaciones de composición compleja conteniendo residuos de L-arabinosa con enlaces (1-5) a residuos de grupos de oligosacáridos de D-xilosa (Cárdenas, Higuera-Ciapara, and Goycoolea 1997). Además del mucílago, el nopal es una fuente natural con un alto contenido de fibra compuesta por una red bilateral de residuos lignocelulósicos que con la edad se endurece y le proporcionan un constitución rígida, aumentando el grosor e intensificando el color (Aquino et al. 2012). Actualmente en México existen acciones concretas dirigidas a la obtención de biogás, en Michoacán opera un biodigestor industrial funcionando como empresa privada en proceso de alcanzar su optima escala comercial y rentabilidad económica. En el país, los estados competidores en materia de bioenergéticos a base de nopal para la producción de biogás se encuentran el estado de Zacatecas, Aguascalientes, Michoacán y Sinaloa (Ramírez, Sosa, and Santos 2012).

En cuanto a la producción de etanol, existen reportes encaminados a la fermentación del jugo obtenido a partir de la fruta de nopal (tuna) para la obtención de vino empleando para ello microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia fermentans* con un rendimiento de 8.73 % v/v de etanol (Castellar et al. 2008; Rodríguez-Lerma et al. 2011). Bollók, Réczey, & Zacchi, (2000), mencionan que es posible obtener 55.3 mL de etanol a partir de la fermentación con *S. cerevisiae*; pero es necesario establecer criterios de optimización para la fermentación, algunos criterios pueden ser: contenido de etanol, compuestos volátiles, ácidos orgánicos, y compuestos que producen color (Navarrete-Bolaños et al. 2013). En el presente trabajo se evaluó el efecto de variables como la relación sólidos/ácido y el tiempo de hidrólisis ácida sobre la edad y variedad de *Opuntia* como criterio de evaluación del potencial para la obtención de azúcares reductores y su posible uso como sustrato para la generación de etanol.

Materiales y Métodos

Preparación de la materia prima

Seis variedades de nopal, Copena VI; Azul Gigante; Goliat; Atlixco, Energy y Milpa Alta de 6 y 12 meses de edad fueron cortados en cubos de 2 cm y secados a 60 ° C durante 72 h, posteriormente fueron molidos utilizando un molino de cereales comercial. La harina obtenida fue almacenada en bolsas plásticas y mantenidas en un lugar seco y fresco hasta su uso.

A partir de dos variedades de cladodio de nopal, se evaluó el efecto de factores como el tiempo, y el porcentaje de sólidos en la obtención de azúcares reductores totales (ART) y azúcares totales; manteniendo la concentración del ácido sulfúrico al 1 % y la temperatura a 121 °C como condiciones constantes, mientras que la cantidad de sólidos y la temperatura fueron evaluados en 1, 5 y 10 % p/v y 40, 60 y 80 min respectivamente; Los resultados fueron evaluados usando metodología de superficie de respuesta (RSM) para estudiar la influencia de los factores evaluados en la hidrólisis con el programa Statgraphics Centurion XVII.I.

Identificación y caracterización proximal de la composición de los hidrolizados de cladodios de nopal.

A partir de la harina de las 6 variedades de nopal se realizó la determinación de extractos totales, de acuerdo a la norma TAPPI 204 om-8 y TAPPI 207 om-93; cenizas con la norma TAPPI 211 om-93, lignina insoluble en ácido Con la norma TAPPI 222 om-88 y Holocelulosa de acuerdo a Browning (1967), modificada por Hernández, (2008).

Técnicas analíticas

La concentración de azúcares reductores fue determinada usando el método de ácido dinitrosalicílico descrito por Miller, (1959) y usando glucosa como estándar. La determinación de fenólicos totales fue llevada a cabo usando el método Folin-Ciocalteu descrito por De Ascensao & Dubery, (2003) usando ácido gálico como estándar.

La concentración de glucosa, galactosa, manosa, y fructosa y oligosacáridos fue determinada por HPLC con inyección automática de 5 μ L por muestra, usando una columna Rezex RCM Ca⁺ monosacáridos para el análisis inicial (Phenomenex), equipado con horno de temperatura controlada a 80 °C, la fase móvil fue agua grado HPLC a 0.6 mL/min y 0.3 mL/min respectivamente, la cuantificación se realizó previa elaboración de curvas de calibración para cada uno de los azúcares.

Resultados y discusiones

Análisis proximal de las seis variedades de *Opuntia*.

A partir de las variedades de nopal, Copena VI; Azul Gigante; Goliat; Atlixco, Energy y Milpa Alta, se obtuvieron 400 g de harina previamente secado, de cladodios de entre 1.5 y 2 kg de cada variedad por triplicado. De las seis variedades, inicialmente se realizó un análisis proximal para determinar su composición promedio de cada tipo de *Opuntia*, para ello se emplearon las normas TAPPI para determinar la cantidad de extraíbles totales, lignina, holocelulosa y cenizas, los resultados obtenidos se muestra en la tabla 1.

De las seis variedades se pudo observar que los cladodios de 6 meses presentaron mayor cantidad de compuestos extraíbles en agua, mientras que en cladodios de 12 meses esta cantidad disminuyó, siendo la variedad Copena VI y Milpa alta las variedades que presentaron mayor cantidad de extraíbles en agua, con un 47.75 y 50.38 % respectivamente.

	Humedad	Extraíbles en agua	Extraíbles en solvente	Lignina	Holocelulosa	Cenizas		
6 meses	Copena VI	8.30 ± 0.27	47.75 ± 1.14	6.12 ± 0.65	3.85 ± 0.78	17.53 ± 3.01	27.5 ± 0.24	
	Azul Gigante	9.29 ± 0.89	46.73 ± 4.96	5.41 ± 0.28	6.76 ± 0.54	30.06 ± 2.83	5 ± 0.07	
	Goliat	8.95 ± 0.96	39.72 ± 1.82	6.47 ± 0.54	8.43 ± 0.15	16.90 ± 2.59	8 ± 0.23	
	Atlixco	8.81 ± 0.70	46.28 ± 1.95	7.58 ± 1.21	6.62 ± 1.22	19.28 ± 3.40	5 ± 0.01	
	Energy	8.01 ± 0.16	45.57 ± 0.42	6.43 ± 0.61	6.05 ± 0.60	21.19 ± 1.29	3 ± 0.69	
	Milpa alta	8.33 ± 0.06	50.38 ± 2.93	2.60 ± 0.24	2.58 ± 0.00	18.53 ± 1.76	7 ± 0.12	
	12 meses	Copena VI	8.40 ± 0.27	38.45 ± 2.49	5.80 ± 0.55	5.10 ± 0.45	13.60 ± 0.77	2 ± 0.50
		Azul Gigante	8.12 ± 0.89	43.48 ± 7.96	9.29 ± 1.14	10.02 ± 0.75	23.15 ± 2.96	5 ± 0.52
		Goliat	8.44 ± 0.96	40.91 ± 2.25	8.44 ± 1.01	10.84 ± 1.87	17.26 ± 1.48	7 ± 0.18
		Atlixco	7.17 ± 0.70	38.35 ± 3.23	8.78 ± 1.40	6.59 ± 0.28	15.68 ± 1.85	5 ± 0.25
		Energy	8.68 ± 0.16	40.84 ± 3.37	7.93 ± 1.54	8.84 ± 1.66	15.42 ± 0.27	4 ± 0.37
		Milpa alta	7.81 ± 0.06	43.49 ± 3.83	7.97 ± 0.57	12.46 ± 0.94	21.99 ± 1.36	2 ± 0.08

Tabla 1. Composición porcentual de seis variedades de *Opuntia* en base seca.

De acuerdo a Cai et al. (2008) en la extracción con agua de *Opuntia* variedad Milpa Alta, la principal sustancia extraíble son polisacáridos con pesos moleculares de 4 373 430, 63 366 y 1938 Da para tres fracciones obtenidas; con rendimientos observados de 0.654 %; de estos. Uno de los principales polisacáridos presentes en el género *Opuntia* es el mucílago el cual es una cadena compleja compuesta de diferentes tipos de oligosacáridos principalmente disacáridos y trisacáridos

(Cárdenas, Higuera-Ciapara, and Goycoolea 1997).

Otro de los componentes evaluados fue la cantidad de lignina presente, la cual se presentó en cantidades menores al 8 % para las variedades de seis meses de edad, mientras que, para las variedades de 12 meses, la cantidad de lignina fue <12 % con un ligero aumento entre los 6 y 12 meses lo que indicó que la edad es un factor determinante en la cantidad de lignina presente en la estructura de *Opuntia* (Tabla 1). Aquino et al. (2012) extrajeron la fibra de cladodios de nopal de un año de edad obteniendo hasta un 40 % de lignina en las fibras, demostrando que la cantidad presente de lignina cambia con la edad, factores edáficos, sitios de cultivo y época del año (Ginestra et al. 2009). Un aspecto importante en la composición de los cladodios de nopal de las variedades evaluadas fue el contenido de holocelulosa la cual comprende la cantidad de celulosa y hemicelulosa presente en la muestra, observándose que la cantidad de holocelulosa fue mayor en la variedad Azul Gigante con un 30 %, mientras que, a 12 meses, esta cantidad fue ligeramente menor con un 23.15 %, sin embargo; la cantidad de lignina mostró un aumento, de 6.72 a 10 %, lo que sugiere que con el incremento de la madurez de los cladodios, la cantidad de lignina aumenta así como la cantidad de holocelulosa debido probablemente a que el cladodio pasa a ser soporte de la planta aumentando su dureza (lignina) y cantidad de fibra (holocelulosa).

Del mismo modo se observó que las cenizas no tuvieron un aumento importante entre las dos edades, teniéndose un promedio de 20 % de cenizas en las variedades evaluadas. Malainine et al. (2003) encontraron que la cantidad de cenizas presentes en muestras de *O. ficus-indica* fue del 19 %, además de un 7.2 % de extraíbles en solventes y 3.6 % peso de lignina, estos resultados fueron similares a los reportados para las variedades de *Opuntia* evaluadas en este trabajo.

Por otro lado, Rodríguez-González et al. (2014) encontraron cantidades < 15% de cenizas en el mucílago obtenido de seis variedades de nopal, entre ellas se evaluaron; *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. ficus-indica*, *O. tomentosa*, *O. joconostle* y *O. atropes*, mientras que Aquino et al. (2012) encontraron hasta un 4 % de cenizas en las fibras obtenidas de los cladodios de *O. ficus-indica*, estos resultados sugieren que el mucílago es la principal fuente de cenizas se obtienen del mucílago y en menor proporción de la fibra, de tal forma que la suma de las dos cantidades son similares a los resultados mostrados en la tabla 1.

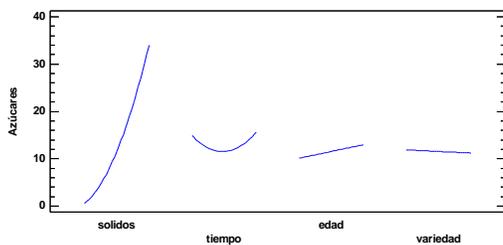
Efecto de la temperatura, sólidos, edad y variedad del cladodio de nopal sobre la obtención de azúcares.

Inicialmente se evaluó el efecto de la temperatura, y porcentaje de sólidos suspendidos en el proceso de hidrólisis ácida sobre las variedades Azul Gigante y Milpa Alta en el grado de obtención de azúcares reductores.

El análisis estadístico mostró que tanto la cantidad de sólidos como la edad, tuvieron un efecto sobre la liberación de azúcares ($p < 0.05$), lo que indicó que a medida que se aumentó la concentración de sólidos en el proceso de hidrólisis, se obtuvieron mayor cantidad de azúcares totales liberados llegando a obtener hasta 45 g/L con un 10 % de sólidos y 80 min.

Por otro lado, para cladodios de 12 meses de edad se observó un aumento en promedio de 5 g/L con respecto al obtenido con cladodios de 6 meses. Este efecto se observó de manera similar tanto para los cladodios de la variedad Azul Gigante como para la variedad Milpa Alta. Por lo tanto, no se observaron diferencias significativas entre la cantidad de azúcares totales liberados para las dos variedades estudiadas ($p < 0.05$) (Gráfica 1).

Este resultado indicó que el proceso de hidrólisis ácida, fue efectiva en ambas variedades de nopal (Gráfica 1); sin embargo, experimentalmente se observó que, a mayor cantidad de sólidos, el proceso de rehidratación de la harina de nopal limitó la solubilidad de estos lo que originó un bajo mezclado. Esto pudo deberse principalmente a que el mucílago presente en la harina de cladodio al rehidratarse mostró propiedades viscoelásticas, efecto que es dependiente de la concentración del mucílago en cada muestra (Medina-Torres 2000; León-Martínez et al. 2011), lo que origino a una limitación en la homogenización de la mezcla de reacción inicial para la hidrólisis ya que el mucílago forma agregados moleculares (Cárdenas, Higuera-Ciapara, and Goycoolea 1997). De acuerdo con Ginestra et al. (2009) el mucílago está presente tanto en las frutas como en los cladodios en al rededor de 14 % en peso seco, cuya función fisiológica principal es el de regular el contenido de agua en la célula y el flux de calcio en la planta (Nobel, Cavelier, and Andrade 1992).

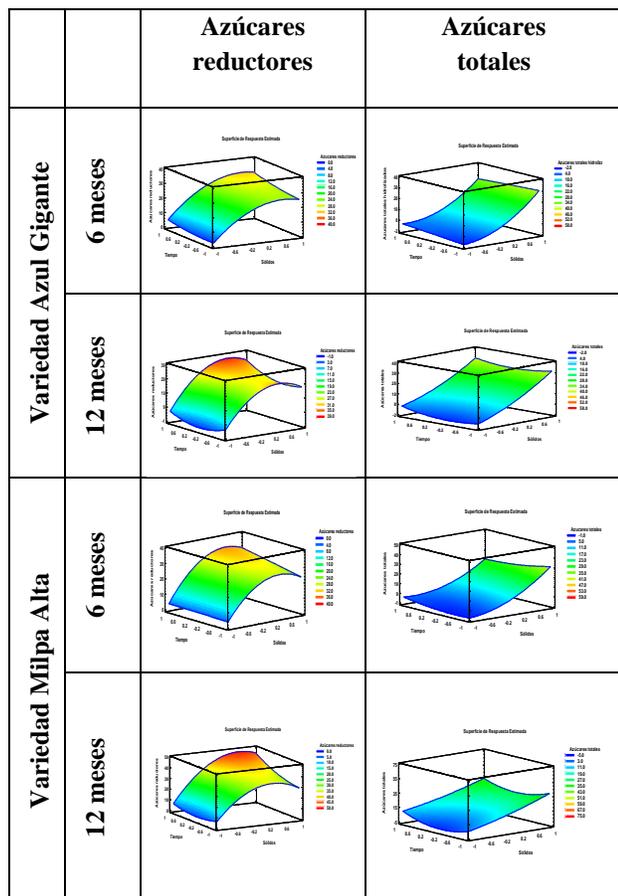


Gráfica 1. Gráfico de efectos principales para la obtención de azúcares totales.

Por otro lado, se observó que el tiempo de hidrólisis no tuvo un efecto en la obtención de azúcares, encontrándose que no existieron diferencias significativas entre los azúcares totales obtenidos a 40 y 80 min (Gráfica 1), adicionalmente se observó que existió una disminución en la cantidad de azucares totales a los 60 min de hidrólisis, obteniéndose hasta 30 g/L con un 10 % de sólidos y una edad de 12 meses en comparación con los obtenidos bajo las mismas condiciones, pero con 40 y 80 min, se observaron resultados similares al comparar las variedades estudiadas. Estos resultados coincidieron con los reportados por Idrees et al. (2014) quienes observaron que a altas temperaturas y bajos tiempos de residencia se obtenía un máximo en la hidrólisis, así mismo observaron que con una concentración de 1 y 2 % de ácido sulfúrico por tres horas a 121 ° C se alcanzaba 27.25 y 29.19 g/L respectivamente. Estos resultados fueron comparables con la cantidad de azúcares obtenidos a 5 % de solidos usados tanto para la variedad Azul Gigante y Milpa alta durante el tratamiento por 40 min de donde se obtuvieron 29 y 35 g/L respectivamente. Contrario al efecto de los factores evaluados Jeevan et al. (2011) mencionan que la concentración de ART se incrementa cuando son usadas altas temperaturas y altos tiempos de reacción, sin embargo; durante su trabajo experimental observaron que aunque la reacción se llevó a cabo por largo tiempo no se observó un incremento en la cantidad de azúcares pero si un ligero incremento en la cantidad de compuestos inhibitorios.

La disminución en la cantidad de carbohidratos liberados durante la hidrólisis en el tratamiento con 60 min puede deberse a la formación de compuestos inhibitorios posterior a la hidrólisis inicial del mucílago presente en la harina de los cladodios.

Motivo por el cual a mayor tiempo de reacción la cantidad de azúcares vuelve a aumentar, esto es debido posiblemente a una continua hidrólisis de la hemicelulosa y celulosa presente en las muestras de cladodios de nopal, sin embargo; dejar que el proceso se lleve a cabo durante más tiempo puede causar una sobre degradación de azúcares y lignina, originando compuestos inhibitorios tales como ácidos orgánicos furanos y fenoles (Shahbazi and Zhang 2010; Silvério 2013).

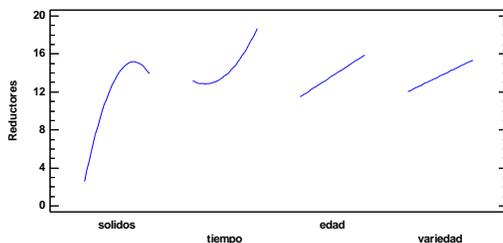


Gráfica 2. Efecto del % de sólidos y la temperatura de hidrólisis sobre la cantidad de azúcares totales y azúcares reductores liberados.

Al comparar el efecto de los factores estudiados sobre la cantidad de azúcares reductores totales (ART) (Gráfica 2) se observó que contrario a los azúcares totales, a mayor cantidad de sólidos existe una ligera disminución en la cantidad de azúcares reductores, esto pudo deberse principalmente a que durante el tratamiento ácido favoreció la destrucción de la estructura del material lignocelulósico, liberando únicamente los azúcares presentes en la hemicelulosa sin afectar directamente la lignina y la celulosa (Silvério 2013); de tal manera que únicamente la hemicelulosa y el mucílago son los principales azúcares hidrolizados y estos disminuyen ligeramente con un 10 % de sólidos. Los resultados mostraron que, tanto para las dos variedades estudiadas como para la edad de 12 meses de los cladodios, se obtuvieron 28.94 y 28.12 g/L a 5 y 10% de sólidos respectivamente para la variedad Azul Gigante, mientras que se obtuvo 35 y 29 g/L bajo las mismas condiciones para la variedad Milpa Alta. Estos resultados sugieren que con el uso de un 5% de sólidos se puede obtener una cantidad de azúcares reductores mayor en comparación a los obtenidos con un 10 % de sólidos (Gráfica 3), resultados similares fueron reportado por Idrees et al. (2014) quienes observaron que a medida que aumentó la concentración de sustrato (water hyacinth plants)

La cantidad de azúcares reductores incrementó mientras que el rendimiento en la hidrólisis disminuyó, de tal forma que la 40 g/L de sustrato el rendimiento de la hidrólisis fue del 74 % y a medida que la concentración de sólidos aumentó a 50 g/L el rendimiento de la hidrólisis disminuyó a 70 % esto puede deberse principalmente a limitaciones el proceso de transporte de masa en la matriz solida del sustrato aunado a la degradación de los azucares por el proceso de reacción.

Aunado a estos resultados y como se mencionó anteriormente; se observó que la edad y la variedad, es un factor importante en la cantidad de azúcares reductores liberados durante la hidrólisis química. Del análisis de resultados; se observó que en promedio aumentó de 20 a 30 g/L en las variedades estudiadas y de un 25 g/L hasta 35 g/L en las edades de 6 y 12 meses para ambas variedades, en este caso el efecto fue más notable que con los azúcares totales, debido que la cantidad de fibra contenido en los cladodios depende de algunos factores como la variedad, y la edad de la planta además del periodo de corte y tipo de clima en el cual se han cultivado (Ribeiro et al. 2010). Adicionalmente; Ribeiro et al. (2010) observaron que existió una diferencia significativa en la cantidad de azúcares para las variedades de cladodios analizados encontrando hasta el doble de azúcares presentes en cladodios cuaternarios obtenidos de periodos secos y lluviosos. Este efecto se debe principalmente a que la red bilateral de tejido lignocelulósico se incrementa conforme va madurando aumentando su constitución rígida e intensificando su color (Aquino et al. 2012).



Gráfica 3. Efecto de las variables sobre la cantidad de azúcares reductores liberados.

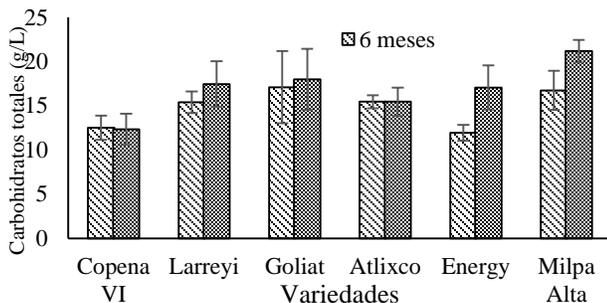
En general, los factores analizados en este experimento exploratorio permitieron identificar que además el ácido a concentraciones diluidas, la temperatura, la concentración de sólidos, variedad, edad y el tiempo empleado en el tratamiento son factores que permiten una disminución en el contenido de hemicelulosa residual maximizando la hidrólisis de los cladodios de nopal.

Efecto del proceso de hidrólisis sobre las seis variedades de nopal.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis exploratorio tanto de hidrólisis como de análisis de azúcares presentes en las muestras, las mejores condiciones para tener la mayor cantidad de azúcares liberados fueron utilizando el 5 % (p/v) de sólidos, con un tiempo de reacción de 40 min. Bajo estas condiciones se realizó el mismo tratamiento para las 6 variedades de cladodio de 6 y 12 meses de edad propuestas inicialmente.

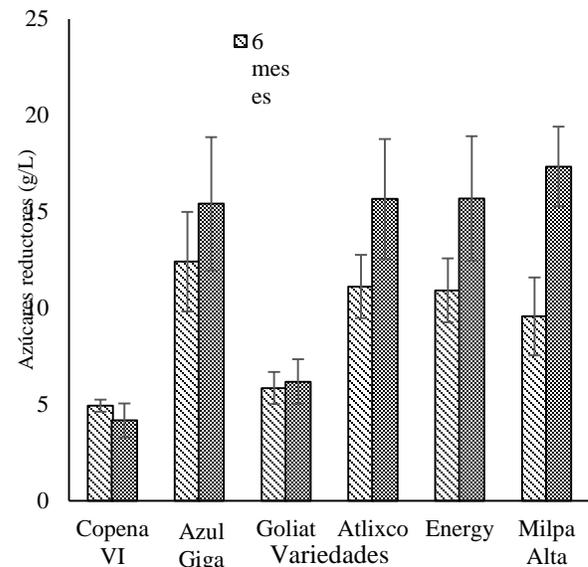
Al cuantificar la cantidad de azúcares totales en las 6 variedades bajo las condiciones seleccionadas previamente, se realizó un análisis de varianza que permitió identificar la variabilidad de azúcares debido a factores como la edad y variedad del cladodio. El análisis mostró que no existen diferencias significativas entre los azúcares totales liberados durante la hidrólisis para las dos edades de los cladodios ($p < 0.05$) las concentraciones medias globales fueron de 14.84 y 16.89 g/L para 6 y 12 meses de desarrollo respectivamente, lo que indicó que la variedad está relacionada fuertemente con la cantidad de azúcares totales que se pueden obtener en el tratamiento seleccionado.

Con el tratamiento ácido se pueden obtener hasta 21 g/L de carbohidratos totales para la variedad Milpa Alta, seguido de la variedad Goliat, Azul Gigante y Atlixco con concentraciones de 17.9, 17.45 y 17.05 g/L respectivamente (Gráfica 4), entre estas variedades de cladodio de nopal se observaron diferencias significativas (de acuerdo al método LSD). Por otro lado, la variedad que presentó menor cantidad de azúcares totales fue la variedad Copena VI y Energy con concentraciones menores a 17 g/L (Gráfica 4).



Gráfica 4. Carbohidratos totales libreados en el proceso de hidrólisis química a 5% de sólidos.

En cuanto a la cuantificación de los azúcares reductores analizados en las muestras hidrolizadas, el análisis de varianza, mostró que tanto la edad como la variedad de los cladodios mostró un efecto sobre los azúcares reductores, en este caso el análisis de ANOVA mostró que las variedades Energy, Atlixco, Milpa Alta y Azul Gigante no presentaron diferencias significativas entre ellas, obteniéndose 15 g/L en cladodios de 12 meses, mientras que con cladodios de 6 meses se observó un promedio de 10 g/L, por otro lado las variedades Copena VI y Goliat no presentaron diferencias significativas con 5 g/L. Los resultados en azúcares totales obtenidos para la variedad Copena VI fueron 5 g/L menores a la cantidad de azúcares reductores determinados por el método de DNS (Gráfica 5).

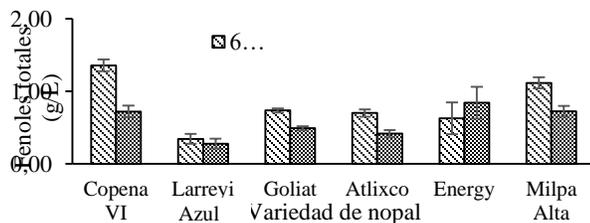


Gráfica 5. Azúcares reductores libreados en el proceso de hidrólisis química a 5 % de sólidos

De acuerdo a los resultados obtenidos se observó que los rendimientos obtenidos por hidrólisis ácida fueron de 30 % para todas las variedades, lo que sugiere que el proceso de hidrólisis degrada inicialmente los polisacáridos de los que está compuesto la biomasa, principalmente el mucílago que se encuentra formando parte importante de la composición de los cladodios de nopal. En un estudio realizado por Batista et al. (2003), evaluaron el proceso de degradación de tres variedades de cactáceas, observando que los azúcares solubles y los ácidos orgánicos son los compuestos de más fácil degradación mientras que los azúcares presentes en la fibra neutral se degradaron más lentamente.

Otro de los aspectos importantes a considerar en el proceso de extracción de azúcares por el proceso de hidrólisis ácida fue la cuantificación de compuestos fenólicos que se pueden obtener del proceso de degradación del material lignocelulósico.

De las seis variedades evaluadas se observó que la cantidad de compuestos fenólicos fue menor en las variedades con edad de 12 meses mientras que esta cantidad fue mayor en las seis variedades con una edad de 6 meses, de las primeras; la variedad Azul Gigante, seguido de la variedad Atlixco y Goliat no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) con un valor de 0.28, 0.41 y 0.41 g/L de equivalentes de Acido Gálico (EAG), mientras que; las variedades Energy, milpa Alta y Copena V1 presentaron 0.84, 0.72 y 0.72 g EAG/L respectivamente (Gráfica 6). De acuerdo a lo descrito por de Amorim et al. (2012), los compuestos fenólicos en plantas son de dos o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático producidos como metabolitos secundarios compuestos principalmente por taninos, flavonoides y cumarinas; estos son liberados parcialmente durante la degradación de la lignina por tratamiento ácido (Andary et al. 2013).



Gráfica 6. Compuestos fenólicos presentes en los hidrolizados obtenidos de las 6 diferentes variedades de Opuntia.

En base seca, se pudo determinar que la variedad Atlixco y Azul Gigante presentaron una disminución de compuestos fenólicos en el medio hidrolizado para cladodios de un año de edad con 0.89 y 0.59 mg por cada 100 g de biomasa seca, y para las variedades Copena V1 y Milpa alta estos compuestos fenólicos se presentaron en la misma cantidad que fue de 1.54 mg/100 g, por otro lado, se observó de igual forma que en la variedad Energy la cantidad de compuestos fenólicos aumento de 1.34 a 1.8 mg/100 g de biomasa entre las edades de 6 y 12 meses.

En un estudio realizado por Guevara-Figueroa et al. (2010) evaluaron el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de 12 variedades de *Opuntia*, comerciales y silvestres, encontrando para las variedades silvestre morado, tempranillo y cristalino las concentraciones fueron de 19.9; 19.4 y 17.8 mg EAG/g, estas cantidades son similares a las reportadas en este trabajo (Tabla 2), Es posible que estas diferencias se deban principalmente a que la temperatura de secado de los cladodios originaron una pérdida de compuestos fenólicos (Guevara-Figueroa et al. 2010).

Por otro lado, Santos-Zea et al. (2011), evaluaron el contenido de compuestos fenólicos en 9 variedades de *Opuntia*, obtenidos por un proceso de extracción seguido de una hidrólisis, observando que 5 variedades presentaron la misma cantidad de fenólicos en un valor de 905.1 μg EAG/g equivalente a una tercera parte de lo obtenido en las variedades estudiadas, esta diferencia puede deberse principalmente al proceso de obtención de los compuestos fenólicos. Algunos compuestos fenólicos como el ácido felúrico, ácido *p*-cumárico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido caféico, ácido salicílico y ácido gálico han sido identificados en muestras de nopal (Guevara-Figueroa et al. 2010), aunque han sido reportados algunos otros compuestos flavonoides y fenólicos (Stintzing and Carle 2005)

	mg EAG/100g	
	6 meses	12 meses
Copena VI	2.90	1.54
Azul Gigante	0.73	0.59
Goliat	1.57	1.05
Atlixco	1.50	0.89
Energy	1.34	1.80
Milpa Alta	2.39	1.54

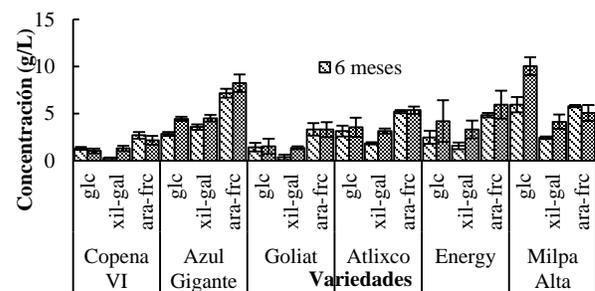
Tabla 2. Composición en base seca de compuestos fenólicos presentes en las seis variedades y dos edades de Opuntia

Se realizó un análisis por HPLC de las muestras obtenidas por hidrólisis bajo las condiciones previamente seleccionadas como un ensayo preliminar para determinar el perfil de azúcares presentes en cada muestra, los resultados obtenidos se muestran en la Gráfica 7. Se encontró que para la variedad Copena V1 se detectaron bajas cantidades de azúcares simples, seguido de la variedad Goliat con concentraciones de 1 y 1.5 g/L de glucosa, la variedad Atlixco presentó una cantidad de 3.54 g/L mientras que en las variedades Azul Gigante y Energy se observaron cantidades similares de 4.53 y 4.2 g/L respectivamente para este azúcar; adicionalmente, se observó en la variedad Milpa Alta una cantidad de 10 g/L, la cual fue mayor a la observada para las demás variedades evaluadas. Por otro lado, en menor cantidad se observó la presencia de la mezcla de xilosa y galactosa en 1.3 g/L para Copena VI y Goliat, 3.3 g/L en la variedad Goliat y Atlixco y 4.3 g/L para Milpa Alta y Azul Gigante.

La máxima cantidad de azúcares tales como la arabinosa y la fructosa se encontraron en la variedad Azul Gigante con 8.23 g/L, seguido de la variedad Energy, Atlixco y Milpa Alta con concentraciones de 5.95, 5.26 y 5.06 g/L respectivamente (Gráfica 7). Resultados similares fueron obtenidos por Kuloyo et al. (2014) quienes bajo condiciones similares a las aquí reportadas (1.5 % de H₂SO₄; 30 % p/v de sólidos, 120 °C, 50 min) encontraron por litro, 7.4 g glucosa, 3.9 g xilosa, 2.3 g galactosa, 4.0 g arabinosa y 5.0 g fructosa, los cuales fueron corroborados y reportados por Akanni et al. (2015) al obtener resultados similares. Se realizó un análisis por HPLC de las muestras obtenidas por hidrólisis bajo las condiciones previamente seleccionadas como un ensayo preliminar para determinar el perfil de azúcares presentes en cada muestra, los resultados obtenidos se muestran en la Gráfica 7.

Se encontró que para la variedad Copena V1 se detectaron bajas cantidades de azúcares simples, seguido de la variedad Goliat con concentraciones de 1 y 1.5 g/L de glucosa, la variedad Atlixco presentó una cantidad de 3.54 g/L mientras que en las variedades Azul Gigante y Energy se observaron cantidades similares de 4.53 y 4.2 g/L respectivamente para este azúcar; adicionalmente, se observó en la variedad Milpa Alta una cantidad de 10 g/L, la cual fue mayor a la observada para las demás variedades evaluadas. Por otro lado, en menor cantidad se observó la presencia de la mezcla de xilosa y galactosa en 1.3 g/L para Copena VI y Goliat, 3.3 g/L en la variedad Goliat y Atlixco y 4.3 g/L para Milpa Alta y Azul Gigante.

La máxima cantidad de azúcares tales como la arabinosa y la fructosa se encontraron en la variedad Azul Gigante con 8.23 g/L, seguido de la variedad Energy, Atlixco y Milpa Alta con concentraciones de 5.95, 5.26 y 5.06 g/L respectivamente (Gráfica 7). Resultados similares fueron obtenidos por Kuloyo et al. (2014) quienes bajo condiciones similares a las aquí reportadas (1.5 % de H₂SO₄; 30 % p/v de sólidos, 120 °C, 50 min) encontraron por litro, 7.4 g glucosa, 3.9 g xilosa, 2.3 g galactosa, 4.0 g arabinosa y 5.0 g fructosa, los cuales fueron corroborados y reportados por Akanni et al. (2015) al obtener resultados similares.



Gráfica 7. Determinación preliminar de azúcares obtenidos en los hidrolizados de los cladodios de nopal.

De los azúcares observados por HPLC se pudo determinar la cantidad de azúcares que se pueden obtener de los cladodios de las diversas variedades evaluadas en base seca, observándose que; de las 6 variedades estudiadas, la variedad Milpa alta y Energy presentaron la mayor cantidad de azúcares fermentables con un 52.23 y 31.21 % representados principalmente como glucosa lo que represento 23.23 y 9.71 g/100 g de sólidos del cladodio de nopal en base seca respectivamente. Por otra parte, de las variedades Azul Gigante y Goliat se pudieron obtener 20.78 y 18.74 g de azúcares fermentables y en menor proporción la variedad Milpa Alta (Tabla 3), mientras que para la variedad Atlixco se encontró que en la hidrólisis ácida se pueden obtener 8.2 g de glucosa por cada 100 g de sustrato, lo que equivale al 29.43 % de azúcares fermentables.

	Copena VI	Azul Gigante	Goliat	Atlixco	Energy	Milpa Alta	Extractos de Opuntia (Ginestra et al. 2009b)	Pulpa de nopal (Majdoub, Roudesli, and Babasana, 2011)	Opuntia ficus-indica (Kuloyo et al. 2014)	Cabada (García-Aparicio et al. 2011)
Glc*	2.39	10.27	3.50	8.20	9.71	23.23	15.3	1.9	23.1	37.1
Xil-Gal	3.01	10.40	3.15	7.25	7.62	9.55	5.3	20.1	10.3	22.5
Ara-Frc	4.99	19.05	7.62	12.40	13.77	11.70	4.074	15	8.6	3.8
Carbohidratos totales	10.39	39.72	14.27	27.85	31.10	44.48	24.67	37.00	42.0	63.40
% de azúcares fermentables	22.97	25.87	24.51	29.43	31.21	52.23	62.01	5.14	55.0	58.52

*azúcares fermentables

Tabla 3. Composición de azúcares en base seca g/100 g de biomasa en las variedades de cladodio de nopal evaluadas.

Resultados similares han sido reportados por Ginestra et al. (2009b) quienes obtuvieron a partir de muestras de cladodios, 36.3 g de azúcares totales por cada 100 g de muestra, encontrando principalmente azúcares como glucosa, xilosa, arabinosa, galactosa, manosa y ramnosa en cantidades de 15.3, 1.9, 4.0, 3.4, 1.4 y 0.7 g respectivamente. Por otra parte Majdoub et al. (2001) observó que la composición de azúcares en cladodios de nopal varía en función de la parte de nopal analizada y del método de obtención de los extractos de tal forma que una extracción acuosa produce en mayor cantidad ramnosa>arabinosa>galactosa>ácido galacturónico>galactosa>xilosa>manosa>glucosa.

Esta amplia variación en la composición de los azúcares presentes puede deberse a la contaminación de los cladodios con otros compuestos que se originan en la pared celular o que el método de purificación no es completamente efectivo (Sáenz, Sepúlveda, and Matsuhira 2004). Complementario a esto, es posible que las muestras estudiadas por estos autores hayan sido variedades con espinas, estas estructuras de acuerdo con (Malainine et al. 2003a) están compuestas en un 96% de polisacáridos compuestos principalmente por celulosa y arabinosa en un 49.7 y 50.3 % respectivamente lo que incrementa la concentración de estos azúcares. Contrario a estos resultados, a las muestras estudiadas en el presente trabajo no presentaron espinas o fueron mínimas, debido a que los productos de los cladodios son de uso comercial, motivo por el cual no se cuantificaron cantidades elevadas de estos azúcares.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la evaluación de las seis variedades de nopal, se determinó que la mejor edad para aprovechar los cladodios de nopal fue de un año de edad, debido al aumento en la cantidad de azúcares reductores evaluados como equivalentes de glucosa, los cuales se pueden obtener directamente por hidrólisis ácida; así mismo, el análisis de la composición de las variedades de nopal no permitió identificar una variedad para ser estudiada.

Sin embargo; permitió describir la composición de la biomasa, por otro lado, aunque las variedades Azul Gigante, Atlixco, Energy y Milpa Alta no presentaron una diferencia significativa en la cantidad de ART, si hubo diferencia en la cantidad de compuestos fenólicos que se pueden obtener por un proceso de hidrólisis de tal forma que las variedades Azul gigante y Atlixco presentaron menor cantidad de compuestos fenólicos los cuales pueden tener un efecto negativo en el proceso de fermentación por microorganismos con esta capacidad metabólica.

La variabilidad en la cantidad de azúcares obtenidos puede deberse principalmente a la composición de su estructura en cuanto a la hemicelulosa y lignina presente, así como al efecto producido por la hidrólisis del material lignocelulósico, y la degradación los azúcares presentes. Estos resultados coincidieron con la cantidad de azúcares reductores cuantificados (Gráfica 5) y la alta cantidad de compuestos fenólicos observados (Gráfica 6). Ya que durante el tratamiento ácido, se convierte la hemicelulosa y celulosa a azúcares simples y posteriormente estos se convierten en otros compuestos químicos originados de la degradación de azúcares y lignina, creando compuestos inhibitorios tales como ácidos orgánicos, furanos y fenoles (Shahbazi and Zhang 2010).

Conclusiones

El análisis exploratorio permitió identificar que el porcentaje de sólidos tuvo un efecto sobre la cantidad de azúcares liberados durante la hidrólisis ácida; además del tiempo, la edad y la variedad de los cladodios empleados.

En cuanto a la cantidad de azúcares obtenidos, la variedad Milpa Alta genero libero la mayor cantidad de glucosa en comparacion a las demás variedades, de tal forma que tanto la variedad Milpa alta como Energy presentaron la mayor cantidad de azúcares fermentables con un 52.23 y 31.21 % representados principalmente como glucosa lo que representó 23.23 y 9.71 g/100 g de sólidos. Haciendo de estos sustratos una opción viable en la producción de azúcares para la obtención de etanol bajo condiciones de fermentación.

Referencias

Akanni, Gabriel B., James C. du Preez, Laurinda Steyn, and Stephanus G. Kilian. 2015. "Protein Enrichment of an *Opuntia Ficus-Indica* Cladode Hydrolysate by Cultivation of *Candida Utilis* and *Kluyveromyces Marxianus*." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95 (5): 1094–1102. doi:10.1002/jsfa.6985.

Amorim, Elba Lucia Cavalcanti de, Valerium Thijan Nobre de Almeida de Castro, Joabe Gomes de Melo, Allan Jonathan Chernichiarro Correa, and Tadeu Jose da Silva Peixoto Sobrinho. 2012. "Standard Operating Procedures (SOP) for the Spectrophotometric Determination of Phenolic Compounds Contained in Plant Samples." In *Latest Research into Quality Control*, 47–66. InTech. doi:10.5772/51686.

- Andary, Jeanne, Jaqueline Maalouly, Rosette Ouaini, Hanna Chebib, Marc Beyrouthy, Douglas N Rutledge, and Naim Ouaini. 2013. "Advances in Crop Science and Technology Phenolic Compounds from Diluted Acid Hydrolysates of Olive Stones: Effect of Overliming" 1 (1): 1–7. doi:10.4172/acst.1000103.
- Aquino, G. L. V., R. J. Rodríguez, R. A. M. Méndez, A. Hernández, and S. E. 2012. "Extracción Y Caracterización de Fibra de Nopal (Opuntia Ficus Indica)." *Nat Y Des* 12 (1): 48–62. http://www.ciidiroaxaca.ipn.mx/revista/sites/www.ciidiroaxaca.ipn.mx/revista/files/NatyDes_Vol-10-1-Art4.pdf.
- Ascensao, Ana R F D C De, and Ian A. Dubery. 2003. "Soluble and Wall-Bound Phenolics and Phenolic Polymers in Musa Acuminata Roots Exposed to Elicitors from Fusarium Oxysporum F.sp. Cubense." *Phytochemistry* 63 (6): 679–86. doi:10.1016/S0031-9422(03)00286-3.
- Batista, Angela M., Arif F. Mustafa, Tim McAllister, Yuxi Wang, Henry Soita, and John J. McKinnon. 2003. "Effects of Variety on Chemical Composition, in Situ Nutrient Disappearance and in Vitro Gas Production of Spineless Cacti." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83 (5): 440–45. doi:10.1002/jsfa.1393.
- Bollók, M, K Réczey, and G Zacchi. 2000. "Simultaneous Saccharification and Fermentation of Steam-Pretreated Spruce to Ethanol." *Applied Biochemistry and Biotechnology* 84–86: 69–80. doi:10.1385/ABAB:84-86:1-9:69.
- Cai, Weirong, Xiaohong Gu, and Jian Tang. 2008. "Extraction, Purification, and Characterization of the Polysaccharides from Opuntia Milpa Alta." *Carbohydrate Polymers* 71 (3): 403–10. doi:10.1016/j.carbpol.2007.06.008.
- Cárdenas, A, I Higuera-Ciapara, and F M Goycoolea. 1997. "Rheology and Aggregation of Cactus (Opuntia Ficus-Indica) Mucilage in Solution." *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 2 (February): 152–59.
- Castellar, M. R., J. M. Obón, M. Alacid, and J. A. Fernández-López. 2008. "Fermentation of Opuntia Stricta (Haw.) Fruits for Betalains Concentration." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (11): 4253–57. doi:10.1021/jf703699c.
- Ginestra, Giovanna, Mary L. Parker, Richard N. Bennett, Jim Robertson, Giuseppina Mandalari, Arjan Narbad, Rosario B. Lo Curto, Giuseppe Bisignano, Craig B. Faulds, and Keith W. Waldron. 2009a. "Anatomical, Chemical, and Biochemical Characterization of Cladodes from Prickly Pear [Opuntia Ficus-Indica (L.) Mill.]." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (21): 10323–30. doi:10.1021/jf9022096.
- Guevara-Figueroa, Teresita, Hugo Jiménez-Islas, María L. Reyes-Escogido, Anne G. Mortensen, Bente B. Laursen, Li-Wei Lin, Antonio De León-Rodríguez, Inge S. Fomsgaard, and Ana P. Barba de la Rosa. 2010. "Proximate Composition, Phenolic Acids, and Flavonoids Characterization of Commercial and Wild Nopal (Opuntia Spp.)." *Journal of Food Composition and Analysis* 23 (6): 525–32. doi:10.1016/j.jfca.2009.12.003.

- Idrees, M., A. Adnan, S. A. Bokhari, and F. A. Qureshi. 2014. "Production of Fermentable Sugars by Combined Chemo-Enzymatic Hydrolysis of Cellulosic Material for Bioethanol Production." *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 31 (2): 355–63. doi:10.1590/0104-6632.20140312s00002415.
- Jeevan, P, R Nelson, and a Edith Rena. 2011. "Optimization Studies on Acid Hydrolysis of Corn Cob Hemicellulosic Hydrolysate for Microbial Production of Xylitol." *Journal of Microbiology and Biotechnology Research* 1 (4): 114–23.
- Kuloyo, Olukayode O, James C. du Preez, Maria del Prado García-Aparicio, Stephanus G. Kilian, Laurinda Steyn, and Johann Görgens. 2014. "Opuntia Ficus-Indica Cladodes as Feedstock for Ethanol Production by *Kluyveromyces Marxianus* and *Saccharomyces Cerevisiae*." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 30 (12): 3173–83. doi:10.1007/s11274-014-1745-6.
- León-Martínez, F.M., J. Rodríguez-Ramírez, L.L. Medina-Torres, L.L. Méndez Lagunas, and M.J. Bernad-Bernad. 2011. "Effects of Drying Conditions on the Rheological Properties of Reconstituted Mucilage Solutions (*Opuntia Ficus-Indica*)." *Carbohydrate Polymers* 84 (1): 439–45. doi:10.1016/j.carbpol.2010.12.004.
- Majdoub, Hatem, Sadok Roudesli, and André Deratani. 2001. "Polysaccharides from Prickly Pear Peel and Nopals of *Opuntia Ficus-Indica*: Extraction, Characterization and Polyelectrolyte Behaviour." *Polymer International* 50 (5): 552–60. doi:10.1002/pi.665.
- Malainine, Mohamed E., Alain Dufresne, Danièle Dupeyre, Mostafa Mahrouz, Roger Vuong, and Michel R. Vignon. 2003a. "Structure and Morphology of Cladodes and Spines of *Opuntia Ficus-Indica*. Cellulose Extraction and Characterisation." *Carbohydrate Polymers* 51 (1): 77–83. doi:10.1016/S0144-8617(02)00157-1.
- Medina-Torres, L. 2000. "Rheological Properties of the Mucilage Gum (*Opuntia Ficus Indica*)." *Food Hydrocolloids* 14 (5): 417–24. doi:10.1016/S0268-005X(00)00015-1.
- Miller, Gail Lorenz. 1959. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar." *Analytical Chemistry* 31 (3): 426–28. doi:10.1021/ac60147a030.
- Navarrete-Bolaños, J. L., E. Fato-Aldeco, K. Gutiérrez-Moreno, J. E. Botello-Álvarez, H. Jiménez-Islas, and R. Rico-Martínez. 2013. "A Strategy to Design Efficient Fermentation Processes for Traditional Beverages Production: Prickly Pear Wine." *Journal of Food Science* 78 (10). doi:10.1111/1750-3841.12237.
- Nobel, Park S., Jaime Cavellier, and Jose Luis Andrade. 1992. "Mucilage in Cacti: Its Apoplastic Capacitance, Associated Solutes, and Influence on Tissue 5." *Journal of Experimental Botany*. doi:10.1093/jxb/43.5.641.
- Ramírez, J. C., R. Sosa, and B. Santos. 2012. "Producto Nopal Y Tuna Del Estado de Michoacán, A.C." SAGARPA, 1–73. siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/14/.../anexo_2251-5-2013-08-9.pdf.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre R., and A. Valiente-Banuet. 2006. "Reproductive Biology of *Opuntia*: A Review." *Journal of Arid Environments* 64 (4): 549–85. doi:10.1016/j.jaridenv.2005.06.018.

Ribeiro, Erika Maria de Oliveira, Nicácio Henrique da Silva, José Luiz de Lima Filho, Júlio Zoe de Brito, and Maria da Paz Carvalho da Silva. 2010. "Study of Carbohydrates Present in the Cladodes of *Opuntia Ficus-Indica* (Fodder Palm), according to Age and Season." *Ciência E Tecnologia de Alimentos* 30 (4): 933–39. doi:10.1590/S0101-20612010000400015.

Rodríguez-González, Sarahi, Hector E. Martínez-Flores, Carla K. Chávez-Moreno, Lourdes. I. Macías-Rodríguez, Eder Zavala-Mendoza, M.G. Garnica-Romo, and Luis Chacón-García. 2014. "Extraction and Characterization of Mucilage From Wild Species of *O Puntia*." *Journal of Food Process Engineering* 37 (3): 285–92. doi:10.1111/jfpe.12084.

Rodríguez-Lerma, G. K., K. Gutiérrez-Moreno, M. Cárdenas-Manríquez, E. Botello-Álvarez, H. Jiménez-Islas, R. Rico-Martínez, and J. L. Navarrete-Bolaños. 2011. "Microbial Ecology Studies of Spontaneous Fermentation: Starter Culture Selection for Prickly Pear Wine Production." *Journal of Food Science* 76 (6). doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02208.x.

Sáenz, Carmen, Elena Sepúlveda, and Betty Matsuhira. 2004. "Opuntia Spp Mucilage's: A Functional Component with Industrial Perspectives." *Journal of Arid Environments* 57 (3): 275–90. doi:10.1016/S0140-1963(03)00106-X.

Santos-zea, Liliana, Janet A Guti, Sergio O Serna-saldivar, De Monterrey, Avenida Eugenio, and Garza Sada. 2011. "Comparative Analyses of Total Phenols , Antioxidant Activity , and Flavonol Glycoside Profile of Cladode Flours from Different Varieties of *Opuntia Spp* ." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 7054–61.

Shahbazi, A., and B. Zhang. 2010. "Dilute and Concentrated Acid Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass." In *Bioalcohol Production*, 156:143–58. Elsevier. doi:10.1533/9781845699611.2.143.

Silvério, Silvio. 2013. "Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass-Techniques, Applications and Commercialization." Edited by Anuj Chandel, May. *InTech*, 275. doi:10.5772/1490.

Stintzing, Florian C., and Reinhold Carle. 2005. "Cactus Stems (*Opuntia Spp.*): A Review on Their Chemistry, Technology, and Uses." *Molecular Nutrition & Food Research* 49 (2): 175–94. doi:10.1002/mnfr.200400071.

Valencia-Sandoval, Karina, José de J Brambila-Paz, and José S. Mora-Flores. 2010. "Evaluación Del Nopal Verdura Como Alimento Funcional Mediante Opciones Reales." *Agrociencia* 44 (8): 955–63.

Dispersión de nanoestructuras de ZnO en un lubricante automotriz obtenidas mediante extracto de *Capsicum annuum* y sus propiedades tribológicas

OLVERA-VENEGAS, Patricia*†, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, DE LA FUENTE-LÓPEZ, Carolina, MARTÍNEZ- PÉREZ, Irvin y FLORES-GONZÁLEZ, Marco

Recibido 28 de Octubre, 2017; Aceptado 11 de Diciembre, 2017

Resumen

En este trabajo se realizó la dispersión de nanoestructuras de ZnO, obtenidas mediante extracto de *Capsicum annuum*, en un lubricante automotriz para observar sus propiedades tribológicas. Las nanoestructuras con tamaño original de 630 nm y morfología irregular se dispersaron en el mismo extracto por medio de sonicación, disminuyendo su tamaño, obteniendo una moda de 380 nm determinada por granulometría láser. Las nanoestructuras se adicionaron en distintos porcentajes en peso por volumen (w/v) de lubricante (0.01, 0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.2%), previamente se funcionalizaron con aceite de oliva, con el fin de obtener una superficie compatible con el aceite. El mapeo en Espectroscopia de Energías Dispersivas (EED) confirmó la presencia de Zn sobre probetas de acero recubiertas con el lubricante adicionado. Se evaluó la interacción del lubricante adicionado entre piezas metálicas con ayuda de un equipo tribológico de desgaste deslizante, la tasa de desgaste indicó que solo el 0.1 % w/v disminuyó la fricción.

Nanoestructuras, ZnO, Lubricantes, Tribología

Abstract

In this work the dispersion of ZnO nanostructures, synthesized by extract of *Capsicum annuum*, was carried out in an automotive lubricant to observe its tribological properties. Nanostructures with original size of 630 nm and irregular morphology were dispersed in the same extract by sonication, decreasing its size, obtaining a mode of 380 nm determined by laser granulometry. The nanostructures were added in different weights percentages (w / v) by volume of lubricant (0.01, 0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.2%), previously functionalized with olive oil, in order to obtain a surface compatible with the lubricant. The mapping in Energy Dispersive X-Ray Spectrometer (EDS) confirmed the presence of Zn on steel specimens coated with the added lubricant. The interaction of the added lubricant between metallic parts was evaluated using a tribological equipment of sliding wear; the wear rate indicated that only 0.1% w/v decreased friction.

Nanostructures, ZnO, Lubricants, Tribology

Cita: OLVERA-VENEGAS, Patricia*†, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, DE LA FUENTE-LÓPEZ, Carolina, MARTÍNEZ-PÉREZ, Irvin y FLORES-GONZÁLEZ, Marco. Dispersión de nanoestructuras de ZnO en un lubricante automotriz obtenidas mediante extracto de *Capsicum annuum* y sus propiedades tribológicas. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología. 2017, 1-2: 24-31

* Correspondencia al autor (email: patriciaolvera@upp.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

1. Introducción

Los materiales poseen características físicas y macroscópicas consideradas en áreas de ciencia e ingeniería para la modificación, diseño o creación de nuevos productos y sistemas (Smith & Hashemi, 2006). En la actualidad se están desarrollando materiales a escala nanométrica debido a que sus propiedades ópticas, magnéticas, eléctricas y catalíticas son mejores (Castillo, 2012) (Smith & Hashemi, 2006). Tal es el caso del área automotriz, puesto que nanoestructuras de diferente naturaleza son adicionadas a los lubricantes para mejorar sus propiedades tribológicas. Aditivos solubles en aceites lubricantes se han utilizado ampliamente para reducir la fricción y el desgaste de pares en frotamiento. Sin embargo, el uso de estos ha dado lugar a algunos problemas, tales como; la contaminación, elevada toxicidad, la eliminación de residuos, etc (Addnano, 2013). Por tal motivo, se buscan alternativas que sean de bajo costo y amigables con el ambiente, utilizando métodos biológicos para la síntesis del material empleado como aditivo, haciendo uso de plantas, microorganismos, enzimas, entre otros (Sifontes, 2014). Además, los materiales nanométricos tienen gran potencial mejorando la lubricación y cubriendo a profundidad huecos microscópicos disminuyendo así la fricción y el desgaste de las piezas metálicas en contacto. La eficiencia de los lubricantes se ve afectada por la cantidad del aditivo, es fuertemente afectada por las propiedades físicas y químicas de estos, el tamaño de partícula, la temperatura en las regiones de contacto, etc. En este sentido, en el presente proyecto se propone un método de dispersión de nanoestructuras de óxido de zinc en un lubricante automotriz, obtenidas mediante extracto de *Capsicum annuum* y sus propiedades tribológicas.

2. Metodología

2.1 Dispersión de nanoestructuras en lubricante automotriz

Se obtuvieron previamente nanoestructuras de ZnO a partir del extracto vegetal de *Capsicum annuum*. Las nanoestructuras con morfología irregular y un tamaño de partícula de 630 nm se dispersaron utilizando el mismo extracto vegetal para disminuir su tamaño, determinado mediante granulometría láser en un equipo Nanotrac Wave de Microtrac. Posteriormente, las nanoestructuras se filtraron y secaron para proceder a dispersarlas en el lubricante automotriz mediante dos formas, en ambos casos se pesaron distintos porcentajes de peso por volumen (w/v) (0.01, 0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.2%) del lubricante. Por una parte, se agregaron las nanoestructuras al lubricante utilizando sonicación durante 1 hora. En el segundo método, se pusieron en contacto con aceite de oliva bajo agitación constante durante 2 horas y sonicación por 20 minutos, se filtraron retirando el exceso de aceite con etanol y se adicionaron en el lubricante. Se analizó la dispersión de las nanoestructuras de ZnO sobre probetas de acero 41-40 las cuales se sumergieron en el lubricante adicionado, se retiró el exceso y se calcinaron a 260°C durante 5 horas. Las probetas se caracterizaron mediante un mapeo y análisis elemental EED en un Microscopio Electrónico de Barrido modelo JSM-6010LA marca JEOL.

2.2 Pruebas de desgaste

Se colocaron probetas de aluminio en un equipo tribológico por desgaste deslizante para generar surcos sobre éstas, se realizaron pruebas con cada uno de los lubricantes previamente adicionados con las diferentes relaciones (w/v) de nanoestructuras/lubricante.

Así como a un blanco (lubricante sin adición de nanoestructuras), se utilizaron 9000 ciclos, una frecuencia de 5 Hz, un desplazamiento de 2 mm y una carga normal de 0.29 g. Posteriormente, se midió la profundidad de cada uno de los surcos de desgaste en un perfilómetro marca Mitutoyo SurfTest, con estos datos fue posible calcular el volumen del segmento cilíndrico (V_{SC}) y segmento esférico (V_{SE}) de un surco perfecto, para después calcular el volumen total de desgaste (Wv) y la tasa de desgaste (K) mediante las siguientes fórmulas (Green, Lewis, & Dwyer-Joyce, 2006):

$$V_{SC} = \left(R^2 \cos^{-1} \left(\frac{R-d}{R} \right) - (R-d) \sqrt{2Rd-d^2} \right) (l-2r) \quad (1)$$

$$V_{SE} = \frac{1}{3} \pi d^2 (3R-d) \quad (2)$$

$$Wv = V_{SC} + V_{SE} \quad (3)$$

$$K = \frac{Wv}{Fn(s)} \quad (4)$$

Donde:

V_{SC} = Volumen segmento cilíndrico

R = Diámetro de la bola

d = Profundidad media del surco

r = Radio semiesférico del surco

V_{SE} = Volumen segmento esférico

l = Longitud del surco

Wv = Volumen total de desgaste

Fn = Fuerza normal

s = Amplitud del deslizamiento

Por último se observó una sección de los surcos en un microscopio óptico modelo BX41 Olympus a un aumento de 100x para determinar su comportamiento de desgaste.

3. Resultados

Los viales con las nanoestructuras con y sin dispersión en el extracto de *Capsicum annuum* se muestran en la Figura 1 A y B, el material disperso en el extracto es más estable (Figura 1 B) con respecto al que no fue dispersado, en donde se observó la precipitación de éste en el fondo del vial (Figura 1 A), esto es atribuido a los metabolitos, principalmente el contenido de antioxidantes que el extracto posee, favorece en un principio a que cambie la carga superficial de la partícula para que se repelen entre sí y no formen aglomerados, haciendo que las partículas sean estables (Perico, 2011).

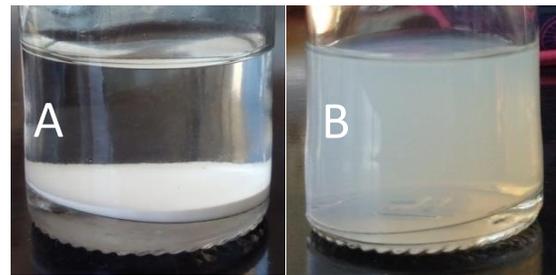


Figura 1. A) Nanoestructuras de ZnO sin dispersar. B) Nanoestructuras de ZnO dispersas en extracto de *Capsicum annuum*.

Las distribuciones de tamaño de las nanoestructuras de ZnO con y sin dispersión en el extracto de *Capsicum annuum* son presentadas en el Gráfico 1, se observó una moda de 630 nm para el ZnO sin dispersión y una disminución importante de los tamaños con una moda de 380 nm para el material dispersado en el extracto.

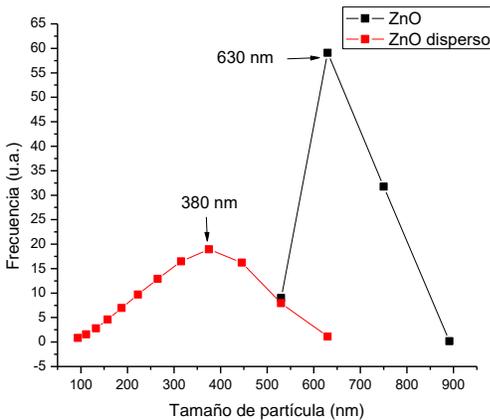


Figura 2. Granulometría láser comparando los tamaños obtenidos de las nanoestructuras con y sin dispersión en el extracto.

Uno de los principales inconvenientes reportados con los aditivos convencionales es su dispersión en los lubricantes, es de gran importancia tener nanoestructuras estables y dispersas ya que su aglomeración puede actuar como agente abrasivo entre las piezas metálicas cuando entren en contacto. Las nanoestructuras de ZnO se dispersaron en un lubricante automotriz multigrado SAE 25W-50, en el primer método empleado se observó una buena dispersión de inicio en todos los w/v empleados, sin embargo, dos horas después del proceso de sonicación, las nanoestructuras se aglomeraron y precipitaron en el fondo de los viales como se aprecia en la Figura 3.



Figura 3. Nanoestructuras de ZnO precipitadas en lubricante automotriz.

En el segundo método, se recubrieron las nanoestructuras con aceite de oliva. En diversos estudios recubren con ácido oléico las nanopartículas (Huihui, Bin, Shu, Tsugio, & Yuhua, 2015) (Qunji, Weimin, & Zhijun, 1997) para que se produzca una partícula hidrofóbica estable, donde el núcleo es el material de interés y queda protegida del medio externo (Navarro, 2015). En este sentido, el aceite de oliva contiene ácidos grasos como mirístico, palmítico, palmitoléico, heptadecanoico, esteárico, linoléico, araquídico, eicosenoico, oléico, entre otros; y en mayor proporción, el ácido oléico representando una concentración mayor al 68-81.5% que otros ácidos grasos (Lozano, Segura, & Fernandez, 2008). Las nanoestructuras recubiertas con aceite de oliva se adicionaron al lubricante en los diferentes porcentajes de peso/volumen (w/v) descritos en la metodología (Figura 3), se observó un cambio en la coloración del lubricante, tornándose más turbio conforme el porcentaje de ZnO adicionado aumentaba, sin embargo esta turbidez no es un parámetro que determine o afecte el rendimiento del lubricante (Ciancio, 2012). La muestra con concentración 0.2% w/v fue la única que presentó escaso precipitado, atribuido al exceso del material; sin embargo, fue también incluida para los estudios de tribología.



Figura 4. Dispersión de nanoestructuras de ZnO recubiertas con aceite de oliva en diferentes porcentajes peso/volumen (w/v).

En la Tabla 1, se muestra el mapeo en EED de las probetas de acero 41-40, recubiertas con los lubricantes adicionados con nanoestructuras de ZnO, en donde se confirma la presencia y dispersión del Zn sobre las probetas, se aprecia una cantidad considerable para todos los porcentajes evaluados.

Muestra	Mapeo
Blanco	
0.01%	
0.025%	
0.05%	
0.075%	
0.1%	

Tabla 1. Mapeo en EED del blanco y las probetas recubiertas con lubricantes adicionados con diferentes porcentajes de nanoestructuras.

La EED de las probetas recubiertas con el lubricante adicionado con nanoestructuras de ZnO presentaron contenidos de Fe, Mn, Cr, Mo, C, entre otros materiales que se encuentran dentro de la composición química del acero utilizado (Figura 4B) (Sumiteccr, 2011).

Es posible diferenciar el lubricante que contiene nanoestructuras de ZnO en comparación con el blanco, en donde no se identificó Zn (Figura 4A).

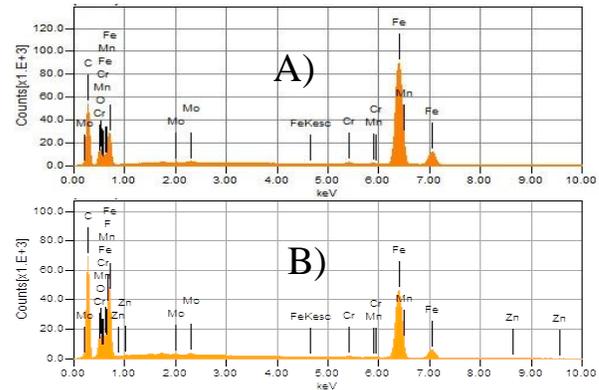


Figura 5. A) EED de probeta recubierta con lubricante sin nanoestructuras (Blanco). B) EED de probeta recubierta con lubricante adicionado con nanoestructuras de ZnO.

Se realizaron las pruebas de desgaste en el equipo tribológico, con el que se generaron cicatrices o surcos en las probetas. En la Figura 5 se muestran todas las huellas obtenidas con el perfilómetro, mostrando mayor intensidad de desgaste la muestra 0.075 y 0.05% en comparación con el blanco, 0.025, 0.1 y 0.2 % w/v.

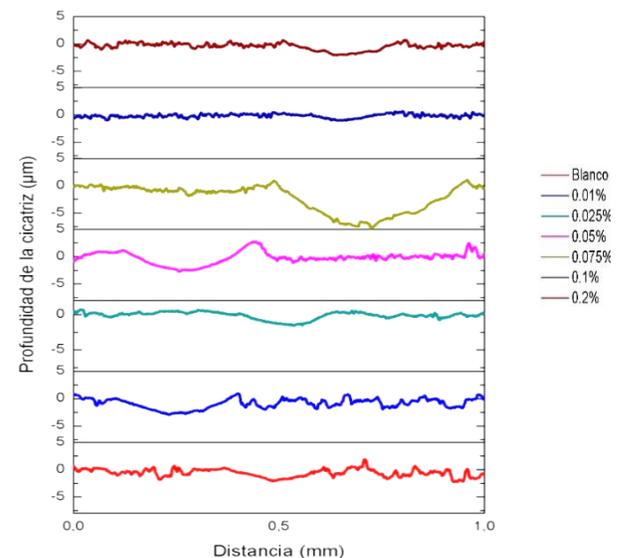


Figura 6. Perfil de huellas de desgaste en probetas de aluminio.

Es necesario tener un parámetro cuantitativo de desgaste, por tal razón se calcularon las tasas de desgaste mediante la ecuación (4), mediante el volumen total de desgaste de un surco perfecto (ec. 3) que consiste en un segmento cilíndrico (ec. 1) y dos casquillos semi-esféricos (ec. 2) en cada extremo, los datos utilizados para estas ecuaciones incluyeron; una bola de 2.5 mm de radio (R), una fuerza normal de 2.9 N (Fn), una amplitud de deslizamiento de 2 mm (S), así como los datos de la Tabla 2 donde se muestra longitud (l), radio semiesférico (r), y profundidad media (d) de los surcos.

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos para el volumen de desgaste y la tasa de desgaste.

Prueba	d (mm)	r (mm)	l (mm)
Blanco	0,00344	0,154	1,179
0.01	0,00487	0,185	1,321
0.025	0,00376	0,171	1,193
0.05	0,00529	0,202	1,162
0.075	0,00685	0,262	1,396
0.1	0,00321	0,153	1,140
0.2	0,00562	0,183	1,171

Tabla 2. Longitud, radio semiesférico y profundidad media de los surcos de desgaste.

Muestra	V cilíndrico (mm ³)	V esférico (mm ³)	Volumen de desgaste	Tasa de desgaste (mm ³ /Nm)
Blanco	0,26427	0,00009	0,26436	4,6E ⁻⁰²
0.01	0,34372	0,00018	0,34390	5,9E ⁻⁰²
0.025	0,27000	0,00009	0,27010	4,7E ⁻⁰²
0.05	0,28090	0,00021	0,28111	4,8E ⁻⁰²
0.075	0,37366	0,00035	0,37401	6,4E ⁻⁰²
0.1	0,24457	0,00008	0,24465	4,2E ⁻⁰²
0.2	0,31244	0,00024	0,31267	5,4E ⁻⁰²

Tabla 3. Volumen y tasa de desgaste de probetas.

La Figura 7 es una representación de las tasas de desgaste, para una mejor apreciación. Se puede observar que para 0.1% w/v se obtiene una menor tasa de desgaste (4.2E⁻⁰¹) que el blanco (4.6E⁻⁰¹).

Si se comparan el resto de muestras (0.025, 0.05, 0.075 y 0.2%) se observa un aumento mínimo en el desgaste, que podría atribuirse al desprendimiento de algunas partículas pertenecientes a las probetas las cuales pueden ser consideradas como desechos de desgaste, actuando como partículas abrasivas atrapadas entre la bola y la superficie y aumentando la resistencia al deslizamiento (Vera, Vite, Lewis, Gallardo, & Laguna, 2011).

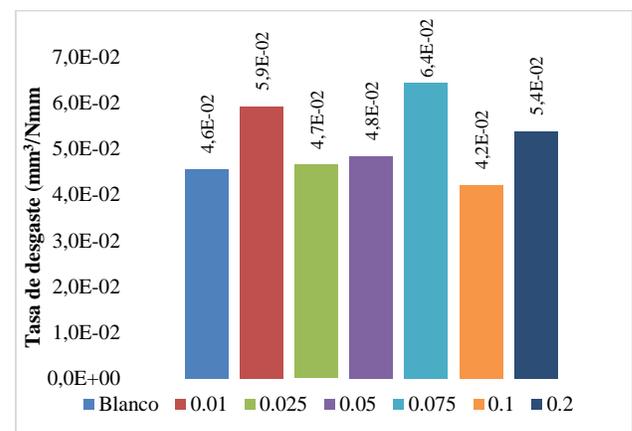


Figura 7. Tasas de desgaste en probetas de aluminio.

La Figura 7 muestra una sección de las cicatrices de desgaste presentes en las probetas al ser sometidas a un contacto continuo con otra pieza metálica, observadas con un microscopio óptico a un aumento de 100x. Las secciones oscuras representan la superficie de las probetas, y las secciones más claras exhiben las áreas desgastadas.

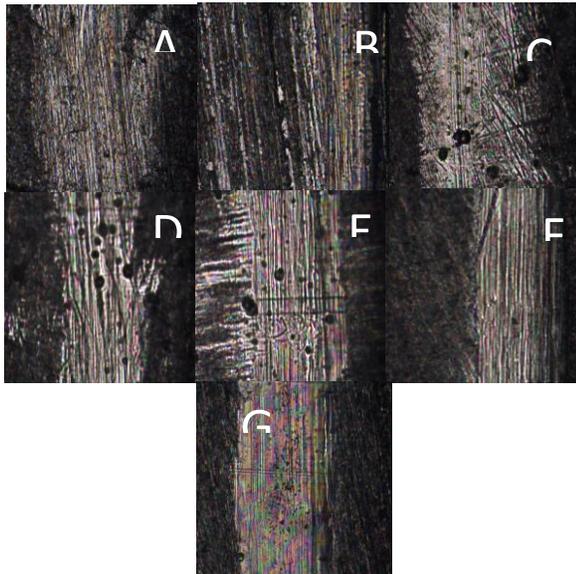


Figura 8. Sección surcos de desgaste en probetas observadas en microscopio óptico. A) Blanco. B) 0.01%. C) 0.025%. D) 0.05%. E) 0.075%. F) 0.1%. G) 0.2%.

En la Figura 8 A y B se puede observar una cicatriz más grande que abarca casi toda la imagen en comparación con las otras, lo que significa que tuvo una mayor área de desgaste. En todas las figuras se muestran surcos, que son las líneas que están a lo largo de la cicatriz, siendo más notables en las Figuras 6 B, C, D y E. Las Figuras 6 C, D y E, presentan pequeños orificios en las cicatrices de desgaste que se observan como pequeños puntos oscuros, estos son conocidos como picaduras, generadas por el contacto con terceros cuerpos producidos por los desechos de desgaste de la misma probeta o del balón (Vera, Vite, Lewis, Gallardo, & Laguna, 2011). En cambio la Figuras 6 F y G muestran una cicatriz delgada con bordes bien definidos, sin grietas, uniforme y lisa.

4. Conclusiones

La redispersión de las nanoestructuras en el extracto de *Capsicum annuum* disminuye el tamaño de éstas en casi un 50%. Se funcionalizaron las nanoestructuras de ZnO con aceite de oliva con lo que se logró una superficie compatible con el medio y una mejor dispersión de las nanoestructuras en el lubricante automotriz. El 0.1 % w/v disminuyó la tasa de desgaste con respecto al blanco. Los resultados presentados en esta investigación requieren del estudio de otros aspectos como son la temperatura de contacto de las superficies, el tipo de lubricante, disminuir el tamaño de partícula del aditivo, morfología esférica, etc., estudios relacionados con un mejor desempeño se encuentran aún en curso.

5. Referencias

- Addnano. (2013). *The development and scale-up of innovative nanotechnology-based processes into the value chain of the lubricants market*. Obtenido de http://cordis.europa.eu/result/rcn/91151_es.html
- Castillo, F. (2012). *Introducción a los nanomateriales*. Obtenido de http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina_ingenieria/mecanica/mat/mat_mec/m6/Introduccion%20a%20los%20nanomateriales.pdf
- Green, D., Lewis, R., & Dwyer-Joyce, R. (2006). Wear effects and mechanisms of soot-contaminated automotive lubricants. *Journal of Engineering Tribology*, 220(3), págs. 159-169.
- Huihui, L., Bin, L., Shu, Y., Tsugio, S., & Yuhua, W. (2015). Visible Light-Driven Photocatalytic Activity of Oleic Acid-Coated TiO₂ Nanoparticles Synthesized from Absolute Ethanol Solution. *Nanoscale Research Letters*, págs. 1-8.

- Lozano, J., Segura, A., & Fernandez, A. (2008). Composición del aceite de oliva.
- Navarro, D. (2015). Síntesis y caracterización de nanopartículas de magnetita funcionalizadas con los extractantes CYANEX 272 y LIX 860 y estudio de su aplicación como materiales adsorbentes de iones lantánidos livianos y cobre. Chile.
- Perico, L. S. (2011). Antioxidantes de los líquenes *Stereocaulonstrictum* (Stereocaulaceae) y *Lobariella pallida* (Lobariaceae) y determinación de su potencial citotoxicidad. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia .
- Qunji, X., Weimin, L., & Zhijun, Z. (1997). Friction and wear properties of a surface-modified TiO₂ nanoparticle as an additive in liquid paraffin. *Elsevier*, 29-32.
- Sifontes, Á. (2014). Biosíntesis de nanomateriales: hacia el avance de la nanotecnología verde. *Mundo Nano*, 7(13), 56-68.
- Smith, W., & Hashemi, J. (2006). Nanomateriales. En *Fundamentos de la ciencia e ingeniería de materiales* (Cuarta edición ed., págs. 16-40). México: McGraw Hill.
- Sumiteccr. (2011). *Acero Grado Maquinaria*. Obtenido de <http://www.sumiteccr.com/Aplicaciones/Articulos/pdfs/AISI%204140.pdf>
- Vera, E., Vite, M., Lewis, R., Gallardo, E., & Laguna, J. (2011). A Study of the wear performance of TiN, CrN and WC/C coatings on different steel substrates. *Elsevier*(271), 2116-2124.

Cuantificación de la energía específica aplicada por un baño ultrasónico mediante el método de calorimetría y capacidad de disgregación de lodo anaerobio

PINEDA-MUÑOZ, Cuauhtémoc Francisco†, RAMÍREZ-VARGAS, María del Rocío, MEDINA-MORENO, Sergio Alejandro, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, LUCHO-CONSTANTINO, Carlos Alexander, TÉLLEZ-JURADO, Alejandro, TREJO-AGUILAR, Gloria Maribel y JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, Angélica*

Recibido 2 de Octubre, 2017; Aceptado 13 de Diciembre, 2017

Resumen

Se cuantificó la energía específica (ES) generada por un baño ultrasónico mediante el método de calorimetría, evaluando los efectos de diferentes parámetros de operación; Temperatura inicial (TI), tiempo de sonicación (TS) y volumen de la muestra (VM). Se determinó que el parámetro más importante fue el VM. La máxima ES generada fue de 84.2 kJ L⁻¹ y se obtuvo con un VM de 500 mL, una TI de 15°C y TS de 10 min. Finalmente se evaluó el efecto de la máxima energía generada en muestras de lodos anaerobios granulares y se observó disminución del tamaño del gránulo del lodo y la disminución de la concentración de sólidos de cerca de un 60%. Determinamos que el baño ultrasónico generó energía suficiente para estudios con aplicaciones biotecnológicas a nivel sub letal y mantuvo en todos los ensayos un error experimental menor al 5%. Consideramos que más estudios, utilizando equipos económicos y sencillos como los baños ultrasónicos pueden servir como base para entender las interacciones entre procesos biológicos y la sonoquímica.

Ultrasonido de baja frecuencia, Baño ultrasónico, Energía específica, Lodos anaerobios

Abstract

The specific energy (SE) generated by an ultrasonic bath is quantified by means of the Calorimetry method, evaluating the effects of different operating parameters; Initial temperature (IT), sonication time (ST) and sample volume (SV). It was determined that the most important parameter was the VM. The maximum is generated was 84.2 KJ L and was obtained with a VM of 500 ML, a TI of 15 °c and TS of 10 min. Finally, the effect of the maximum energy generated in granulated anaerobic sludge samples was assessed, and a decrease in the size of the sludge granule was observed and the decrease in the concentration of solids of about 60%. We determined that the ultrasonic bath generated sufficient energy for studies with biotechnological applications at sub-lethal level and maintained in all the trials an experimental error less than 5%. We believe that more studies, using simple and economical equipment such as ultrasonic baths, can serve as a basis for understanding the interactions between biological processes and Sonoquímica.

Low frequency ultrasound, Ultrasonic bath, Specific Energy, Anaerobic sludge

Cita: PINEDA-MUÑOZ, Cuauhtémoc Francisco, RAMÍREZ-VARGAS, María del Rocío, MEDINA-MORENO, Sergio Alejandro, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, LUCHO-CONSTANTINO, Carlos Alexander, TÉLLEZ-JURADO, Alejandro, TREJO-AGUILAR, Gloria Maribel & JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, Angélica. Cuantificación de la energía específica aplicada por un baño ultrasónico mediante el método de calorimetría y capacidad de disgregación de lodo anaerobio. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología, 2017. 1-2, 32-38

* Correspondencia al autor (email: ajimenez@upp.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

1. Introducción

El *ultrasonido* o *ultrasonificación* puede definirse como un sonido con una frecuencia mayor a los 18 kHz o 20 kHz la cuál es inaudible por el oído humano (Chisti, 2003; Kwiatkowska, Bennett, Akunna, Walker & Bremner, 2011; Ojha, Mason, O'Donnell, Kerry & Tiwari, 2017). Este fenómeno cuenta con una amplia diversidad de aplicaciones en la ciencia, en la industria y en la medicina. Cuando la frecuencia es mayor a 5 MHz, se denomina como *ultrasonido de diagnóstico* y se utiliza principalmente en la ultrasonografía médica, por ejemplo el ultrasonido prenatal. Cuando la frecuencia se encuentra entre los 20 kHz y los 100 kHz, se conoce como *energía ultrasónica* o *ultrasonido de alta energía*, en este caso es posible afectar químicamente tanto materiales como procesos (Kwiatkowska et al., 2011; Leonelli & Mason, 2010).

Esto se debe principalmente a un fenómeno llamado cavitación, en donde microburbujas de vapor se forman y explotan de forma violenta en una fracción de segundo, generando radicales libres, corrientes microjets con una velocidad de hasta 200 m/s, calentamiento local intenso de hasta 4000 °C y una presión de hasta 1000 atm (Chisti, 2003; Suslick, 2003; Gogate & Kabadi, 2009). Esta *energía ultrasónica* se ha aplicado de forma exitosa en bioprocesos importantes como; en la transformación enzimática, remediación ambiental, fermentación, digestión anaerobia, procesamiento de alimentos, síntesis química asistida de enzimas, extracción de componentes intracelulares, producción de biocombustibles, monitoreo de procesos, bio-sensores, transferencia de material genético y en la desinfección microbiana de agua (Chisti, 2003; Kwiatkowska et al., 2011; Rokhina, Lens & Virkutyte, 2009).

Normalmente estas técnicas aprovechan la alta energía generada para romper moléculas pequeñas de estabilidad relativamente elevada o para desintegrar la pared o membrana celular de diferentes microorganismos (Gogate & Kabadi, 2009; Ojha et al., 2017).

Actualmente se está desarrollando una nueva línea de investigación, donde se estudian los efectos de la *energía ultrasónica* en células vivas utilizando ultrasonido a nivel sub-letal, con la finalidad de modificar el metabolismo celular, activar enzimas o mejorar la transferencia de masa de reactivos y productos a través de la capa límite, membrana o pared celular (Rokhina, Lens & Virkutyte, 2009; Ojha et al., 2017).

Existen dos problemáticas en el estudio de este efecto, la primera es la escasa evaluación de la energía aplicada. Es decir, la diversa forma de reportar la energía ingresada a una muestra, la cual no es necesariamente correcta. Esto causa que los resultados u observaciones no puedan ser reproducidos o comparados. En algunos casos se reporta el valor de la energía eléctrica empleada por el equipo (P , medida en Watts (W)) sin embargo este valor es mayor a la energía sónica aplicada, debido a que depende de la eficiencia del elemento que genera el ultrasonido (transductor). Otros trabajos reportan el tiempo de sonicación, no obstante la energía generada no depende únicamente de este factor. En otras ocasiones se requieren más detalles acerca del equipo utilizado (volumen o área de contacto), sin ellas es imposible comparar la energía aplicada entre diferentes equipos.

Idealmente, la energía específica aplicada debe evaluarse experimentalmente (E_s , medida en kJ L^{-1}) (Chisti, 2003), el método más utilizado y simple es la calorimetría (Mason, Lorimer & Bates, 1992).

Este método incluye parámetros importantes como la energía ingresada al medio, el volumen de la muestra y el tiempo de sonicación, entre otros (Foladori, Bruni, Gianni & Giuliano, 2007).

La segunda problemática puede ser el elevado costo de los equipos de ultrasonido. Los instrumentos recomendados cuentan con una sonda, la cual se introduce en el medio líquido para dispersar el sonido, a pesar de que estos equipos son eficientes en la generación de alta energía, suelen ser costosos, además de que suelen presentar erosión en la sonda por la alta intensidad energética generada. Una alternativa en la investigación inicial de este fenómeno, son los baños ultrasónicos. Estos instrumentos son ampliamente disponibles y son la fuente menos costosa de irradiación ultrasónica, su desventaja es que la energía ultrasónica generada puede ser insuficiente (Gogate & Kabadi, 2009; Mason & Peters, 2002), lo anterior se desconoce a plenitud, debido a la escasez de trabajos que evalúen su desempeño.

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar la energía específica aplicada por un baño ultrasónico mediante el método de calorimetría. También se evaluaron mediante un análisis estadístico tres parámetros; el volumen de la muestra, el tiempo de exposición a la sonicación y la temperatura inicial de la muestra para establecer un método con aplicación biotecnológica. Finalmente se evaluó el efecto de la máxima energía específica generada en muestras de lodo anaerobio granular para estimar el efecto del ultrasonido generado por un baño sónico, en la disgregación del lodo y en la solubilización de materia orgánica.

2. Metodología

2.1. Equipo

El instrumento de ultrasonido utilizado fue un baño ultrasónico marca *Magister Technology Modelo SB-3200 DTN*, el cual se operó a una frecuencia constante de 40 kHz. Los experimentos se realizaron por triplicado, utilizando agua destilada como muestra.

2.2. Diseño de experimentos

Con la finalidad de conocer los efectos de la temperatura inicial (T_I), tiempo de sonicación (T_S) y el volumen de la muestra (V_M), en la energía específica (E_S) aplicada por el ultrasonificador, estudiamos cada factor con una cantidad de niveles (n) distintos, donde n dependió de la operación práctica del instrumento. Por lo cual, para T_I , $n=3$ (15°C, 20°C y 25°C), para V_M , $n=4$ (0.5 L, 1 L, 3 L y 4 L), y para el T_S , $n=11$ (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 min).

2.3. Método de calorimetría

Irradiamos con ultrasonido muestras con un volumen, temperatura inicial y tiempo de sonicación determinado. Durante la sonicación medimos la temperatura de la muestra mediante un potenciómetro *Conductronic modelo PC-45* con una precisión de $\pm 0.5^\circ\text{C}$. Posteriormente graficamos los datos de temperatura (T) vs tiempo (t) y ajustamos a la ecuación de una recta para estimar el valor dT/dt en el tiempo $t=0$. Posteriormente calculamos la energía ultrasónica P mediante (1) (Mason, Lorimer & Bates, 1992).

$$P = \left(\frac{dT}{dt} \right) \times C_p \times M \quad (1)$$

Donde C_P es la capacidad calorífica del solvente (en $J\ kg^{-1}\ ^\circ C^{-1}$) y M es la masa del solvente utilizado (en kg). La intensidad (I , en $W\ L^{-1}$) y la energía específica de ultrasonido (E_S , en $kJ\ L^{-1}$) pueden estimarse con (2) y (3) respectivamente (Foladori et al., 2007).

$$I = \frac{P}{V_M} \quad (2)$$

$$E_S = I \times t \quad (3)$$

Utilizamos (1), (2) y (3), para construir (4).

$$E_S = \left(\frac{dT}{dt} \right) \times \frac{C_P \times M}{V_M} \times t \quad (4)$$

Debido a que las variables M y V_M se refieren a la masa y al volumen de la muestra respectivamente, la sustituimos por la densidad de la muestra, que en el caso particular del agua es de $1\ kg\ L^{-1}$. Finalmente determinamos E_S mediante (5).

$$E_S = \left(\frac{dT}{dt} \right) \times C_P \times t \times Mv \quad (5)$$

2.4. Métodos analíticos

Una vez determinadas, las condiciones de temperatura inicial, tiempo de sonicación y volumen de la muestra en donde se obtuvo la generación máxima de energía específica con el baño ultrasónico. Se prosiguió a evaluar el efecto de esta energía en una muestra de lodo activado, con la finalidad de evaluar la disgregación de lodo granular (disminución del tamaño de partícula) y la solubilización de sólidos totales y totales volátiles (ST y STV).

El lodo anaerobio granular se obtuvo del segundo tanque de sedimentación de la planta piloto de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Cd. de México. Previo a la ultrasonificación, la muestra de lodo fue diluida y homogenizada en agua destilada en una relación 1:1.

Se estimó la fracción volumétrica del lodo (%v/v) como parámetro para medir la disminución del tamaño de partícula. Para ello se utilizaron 5 tamices de tamaño diferente, de tal forma que el lodo quedó separado en 6 fracciones volumétricas. Los valores de los tamaños de partícula inferior y superior de cada fracción se muestran en la Tabla 1. Cada fracción volumétrica representa el volumen de lodo de un intervalo de tamaño específico con respecto al volumen total del lodo ultrasonificado. La concentración de ST y STV se cuantificó mediante el método gravimétrico descrito en la norma mexicana NMX-AA-034-SCFI-2015.

2.5. Análisis estadístico

Realizamos un análisis estadístico ANOVA y comparación de medias para determinar la diferencia significativa entre tratamientos, utilizando los test de Bonferroni, Fisher y Tukey mediante el software Origin-Pro8.

3. Resultados y discusión

Se evaluaron los efectos del tiempo de sonicación (T_S), del volumen de la muestra (V_M) y de la temperatura inicial (T_i) en la energía específica (E_S) generada con un baño ultrasónico.

3.1. Efecto del tiempo de sonicación

En la Fig.1 mostramos el efecto del T_S en la E_S generada por un baño ultrasónico, con un volumen de muestra de 500 mL y una temperatura inicial de 20°C. Observamos un efecto lineal donde cada minuto de exposición a la sonicación generó 7.33 $kJ\ L^{-1}$. Por otro lado el análisis ANOVA y la comparación de medias de Tukey, Bonferroni y Fisher mostraron que 1 minuto de sonicación es tiempo suficiente para generar una E_S con diferencia significativa ($p < 0.05$).

Además calculamos el error experimental, el cual se mantuvo entre 2.4 % y 4.9 %.

3.2. Efecto del volumen de la muestra

En la Tabla 2 y en la Fig. 2 presentamos los valores de P , I , E_S y el gradiente de temperatura (dT/dt) de muestras irradiadas con ultrasonido con diferente V_M .

Observamos que P , I , E_S y dT/dt , incrementaron en la medida que el V_M disminuyó. En la Fig. 3 presentamos el ajuste de E_S vs V_M , con un $R^2=0.995$, donde observamos un efecto potencial, descrito por (6). Este parámetro presentó el mayor efecto de los tres evaluados. Por otra parte estimamos un incremento de 15.44 kJ L^{-1} si disminuimos el V_M de 500 mL a 400 mL

$$E_S = 43.311 \times M_V^{-0.83} \quad (6)$$

Mason et al., (1992) reportó el efecto contrario al utilizar un sonoreactor de sonda (Undatim a 20 kHz). En sus experimentos P incrementó proporcionalmente al V_M (Obtuvo 84 W, 95 W y 120 W en muestras de 50 mL, 100 ml y 200 mL respectivamente). Las diferencias entre los resultados pueden deberse al uso de diferentes equipos y/o al uso de diferente intervalo de estudio. Se ha reportado que la cavitación se genera principalmente en los primeros 2 cm a 5 cm de contacto con el instrumento (Gogate & Kabadi, 2009), por lo tanto se pueden considerar la generación dos zonas, una con alta ocurrencia de cavitación y otra con poca o nula.

Cuando el V_M se incrementa por encima de la zona de cavitación, la E_S se perderá en la zona donde no hay cavitación (Como se aprecia en nuestros resultados). Por otro lado, al disminuir el V_M por debajo de la zona de cavitación, la misma cavitación será el factor limitante, por ejemplo, cuando el V_M sea 0, la E_S será 0 también.

El análisis estadístico de comparación de medias ($p<0.05$) indicaron diferencia significativa entre cada tratamiento, con excepción de 3 L y 4 L de V_M donde no observamos diferencia significativa de acuerdo a los test de *Bonferroni* y *Tukey*. Para estos experimentos calculamos un error experimental entre 1.1 % y 4.9 %.

3.3. Efecto de la temperatura inicial

A continuación presentamos los efectos de la T_I en dT/dt (ver Fig. 4) y en E_S (ver Fig. 5) utilizando una muestra con $V_M = 500 \text{ mL}$ y $T_S=10 \text{ min}$. Además en la Tabla 3, mostramos los valores de P , I y E_S . Observamos un efecto lineal con $R^2=0.98$, donde la energía específica incrementa en 1.757 kJ L^{-1} al disminuir la T_I en 1°C .

Los análisis de ANOVA ($p<0.05$) y de comparación de medias de *Tukey* y *Fisher* indicaron diferencia significativa entre cada T_I . La desviación estándar para la E_S varió entre 1 kJ L^{-1} y 1.8 kJ L^{-1} , lo cual representa un error experimental de sólo 3% al 5%.

La disminución en la energía específica puede deberse a que, al incrementar la T_I se incrementa la presión de vapor del agua, lo cual disminuyó la generación de microburbujas de vapor y por ende el efecto de cavitación Mason et al., (1992).

Consideramos que el baño ultrasónico presentó una adecuada reproducibilidad en la energía sónica aplicada. De acuerdo a Foladori et al., (2007), 100 kJ L^{-1} es suficiente energía para romper gránulos o flóculos biológicos y para eliminar microorganismos. Por lo tanto, la energía específica generada a 15°C (84.2 kJ L^{-1}), permite un amplio intervalo para evaluar los efectos del ultrasonido a nivel sub-letal en células vivas e incluso en gránulos biológicos.

3.4. Efecto de la ultrasonicación en la disgregación de gránulos anaerobios

Se evaluó la capacidad de un baño ultrasónico para disminuir el tamaño de partícula y para solubilizar sólidos totales y sólidos volátiles de una muestra de lodo anaerobio granular. Utilizando la máxima energía específica evaluada (84.2 kJ L^{-1}).

En la Fig. 6 se muestra la disminución del tamaño del gránulo medido como fracción volumétrica. Se observó que las fracciones I, II, III, IV y V, redujeron su porcentaje v/v en un 10%, 10%, 5%, 6% y 2% respectivamente. Las fracciones con mayor reducción fueron las de mayor tamaño (I y II), y quienes presentaron menor reducción fueron las de menor tamaño. Esto puede explicarse debido que, partículas de mayor tamaño estarán más expuestas a ser atacadas por las microburbujas de cavitación, en comparación con una partícula de menor tamaño. Además, las partículas de mayor tamaño al reducirse, incrementaron a las fracciones volumétricas de las fracciones de menor tamaño. En este caso, la fracción volumétrica VI (\leq a 74 micras) incrementó su fracción desde 13% en el control hasta 32% con el tratamiento ultrasónico (Datos no graficados).

3.5. Efecto de la ultrasonicación en la disminución de sólidos totales y sólidos volátiles

En la Fig. 7 se muestra la disminución de sólidos totales y sólidos volátiles debido a la ultrasonicación de lodos anaerobios granulares mediante un baño ultrasónico. Se observó una elevada disminución de la concentración de sólidos al aplicar ultrasonido en comparación con el control (lodo sin tratamiento). Alcanzando una reducción en la concentración de sólidos totales de 58.2% y una disminución de sólidos volátiles de 59.6%.

Elbesbishy, Hafez y Nakhla, (2011), evaluaron el porcentaje de disminución de material particulado en desechos orgánicos, sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles y cuantificó una reducción del 9% y del 7% respectivamente después de la sonicación, utilizando un ultrasonificador de sonda.

Los resultados de la disgregación de lodos y de la solubilización de sólidos indican que la energía específica aplicada fue suficientemente fuerte para disminuir de manera significativa la concentración de sólidos y el tamaño de las partículas. Estos resultados indican que el baño ultrasónico puede utilizarse como modelo para evaluar tratamientos ultrasónicos en sistemas biológicos.

4. Agradecimientos

El autor C. F. Pineda-Muñoz agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada 557375 y a la Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Iztapalapa, por la donación del lodo anaerobio granular.

5. Conclusiones

Se cuantificó la energía específica generada por un baño ultrasónico y se evaluaron los efectos del tiempo de sonicación, del volumen de la muestra y de la temperatura inicial. Observamos que la energía específica incrementa con; la disminución de T_i y V_M , y con el incremento de T_S . El mayor efecto fue el V_M , seguido de T_S y finalmente T_i . La mayor cantidad de energía generada fue de 84.2 kJ L^{-1} y se obtuvo a una temperatura inicial de 15°C , un volumen de muestra de 500 mL y un tiempo de sonicación de 10 minutos.

Se evaluó el efecto de la máxima energía específica generada en muestras de lodos anaerobios granulares y se observó una reducción del tamaño de partícula del 10% v/v de la fracción de mayor a 2000 micrómetros. Además se observó una disminución de los sólidos totales y de los sólidos totales volátiles de casi 60%.

Los resultados fueron reproducibles y los tratamientos presentaron diferencia significativa. Determinamos que el baño ultrasónico genera suficiente energía para estudiar los efectos del ultrasonido en células vivas y granulos anaerobios a nivel sub-lethal.

6. Referencias

- Chisti, Y. (2003). Sonobioreactors: using ultrasound for enhanced microbial productivity. *Trends in Biotechnology*, 21(2), 89-93.
- Elbeshbishy, E., Hafez, H. & Nakhla, G. (2011). Ultrasonication for biohydrogen production from food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36, 2896-2903.
- Foladori, P., Bruni, L., Gianni, A. & Giuliano, Z. (2007). Effects of sonication on bacteria viability in wastewater treatment plants evaluated by flow cytometry-Fecal indicators, wastewater and activated sludge. *Water Research*, 41, 235-243.
- Gogate, P. R. & Kabadi, A. M. (2009). A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. *Biochemical Engineering Journal*, 44, 60-72.
- Kwiatkowska, B., Bennett, J., Akunna, J., Walker, G. M. y Bremner, D. H. (2011). Stimulation of bioprocesses by ultrasound. *Biotechnology Advances*, 29,768-780.
- Leonelli, C. y Mason, T. J. (2010). Microwave and ultrasonic processing: Now a realistic option for industry. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 49, 885-900.
- Mason, T. J., Lorimer, J. P. y Bates, D. M. (1992). Quantifying sonochemistry: casting some light on a black art. *Ultrasonics*, 30(1), 40-42.
- Mason, T; Peters, D. (2002). Chapter 2 The ultrasonic bath, In *Practical Sonochemistry*. Segunda edición. Woodhead Publishing. Cambridge, 49-63.
- Norma Oficial Mexicana, NMX-AA-034-SCFI-2015. Diario Oficial de la Federación, México, Cd. de México. 2015.
- Ojha, K. S., Mason, T. J., O'Donnell, C. P., Kerry, J. P. y Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrasonic Sonochemistry*, 34, 410-417.
- Rokhina, E. V., Lens, P. y Virkutyte J. (2009). Low-frequency ultrasound in biotechnology: state of the art. *Trends in Biotechnology*, 27(5), 298-305.
- Suslick, K. S. (2003). Chapter 1.41 Sonochemistry, In *Comprehensive Coordination Chemistry II*. Editado por Jon A. McCleverty y Thomas J. Meyer. Pergamon. Oxford. pp. 731-739.

Instrucciones para autores

[Título en Times New Roman y Negritas No.14]

Apellidos en Mayúsculas -1er Nombre de Autor †, Apellidos en Mayúsculas -2do Nombre de Autor
Correo institucional en Times New Roman No.10 y Cursiva

(Indicar Fecha de Envío: Mes, Día, Año); Aceptado (Indicar Fecha de Aceptación: Uso Exclusivo de ECORFAN)

Resumen

Título

Objetivos, metodología

Contribución

(150-200 palabras)

Abstract

Title

Objectives, methodology

Contribution

(150-200 words)

Keywords

**Indicar (3-5) palabras clave en Times New Roman
y Negritas No.11**

Cita: Apellidos en Mayúsculas -1er Nombre de Autor †, Apellidos en Mayúsculas -2do Nombre de Autor. Título del Artículo.
Título de la Revista. 2017, 1-1: 1-11 – [Todo en Times New Roman No.10]

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Instrucciones para autores

Introducción

Texto redactado en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Explicación del tema en general y explicar porque es importante.

¿Cuál es su valor agregado respecto de las demás técnicas?

Enfocar claramente cada una de sus características

Explicar con claridad el problema a solucionar y la hipótesis central.

Explicación de las secciones del artículo

Desarrollo de Secciones y Apartados del Artículo con numeración subsecuente

[Título en Times New Roman No.12, espacio sencillo y Negrita]

Desarrollo de Artículos en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Inclusión de Gráficos, Figuras y Tablas-Editables

En el *contenido del artículo* todo gráfico, tabla y figura debe ser editable en formatos que permitan modificar tamaño, tipo y número de letra, a efectos de edición, estas deberán estar en alta calidad, no pixeladas y deben ser notables aun reduciendo la imagen a escala.

[Indicando el título en la parte inferior con Times New Roman No.10 y Negrita]

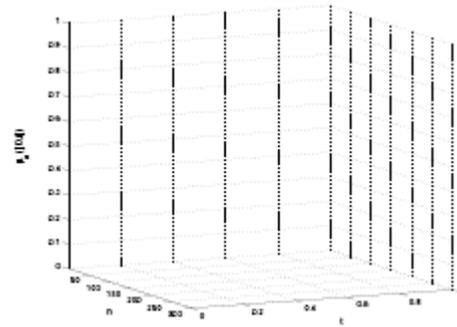


Grafico 1 Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.

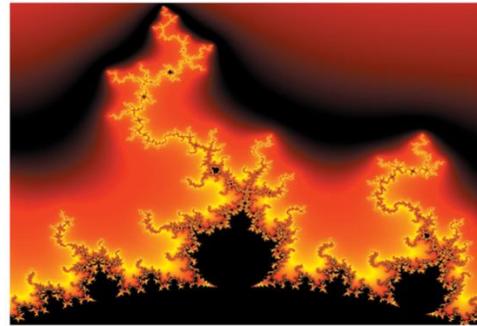


Figura 1 Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.

Tabla 1 Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.

Cada artículo deberá presentar de manera separada en **3 Carpetas**: a) Figuras, b) Gráficos y c) Tablas en formato .JPG, indicando el número en Negrita y el Titulo secuencial.

Instrucciones para autores

Para el uso de Ecuaciones, señalar de la siguiente forma:

$$Y_{ij} = \alpha + \sum_{h=1}^r \beta_h X_{hij} + u_j + e_{ij} \quad (1)$$

Deberán ser editables y con numeración alineada en el extremo derecho.

Metodología a desarrollar

Dar el significado de las variables en redacción lineal y es importante la comparación de los criterios usados

Resultados

Los resultados deberán ser por sección del artículo.

Anexos

Tablas y fuentes adecuadas.

Agradecimiento

Indicar si fueron financiados por alguna Institución, Universidad o Empresa.

Conclusiones

Explicar con claridad los resultados obtenidos y las posibilidades de mejora.

Referencias

Utilizar sistema APA. **No** deben estar numerados, tampoco con viñetas, sin embargo en caso necesario de numerar será porque se hace referencia o mención en alguna parte del artículo.

Ficha Técnica

Cada artículo deberá presentar un documento Word (.docx):

Nombre de la Revista

Título del Artículo

Abstract

Keywords

Secciones del Artículo, por ejemplo:

1. *Introducción*
2. *Descripción del método*
3. *Análisis a partir de la regresión por curva de demanda*
4. *Resultados*
5. *Agradecimiento*
6. *Conclusiones*
7. *Referencias*

Nombre de Autor (es)

Correo Electrónico de Correspondencia al Autor

Referencia

Formato de Originalidad



Taipei-Taiwan a ____ de ____ del 20 ____

Entiendo y acepto que los resultados de la dictaminación son inapelables por lo que deberán firmar los autores antes de iniciar el proceso de revisión por pares con la reivindicación de ORIGINALIDAD de la siguiente Obra.

Artículo (Article):

Firma (Signature):

Nombre (Name)

Formato de Autorización



Taipei-Taiwan a ____ de ____ del 20 ____

Entiendo y acepto que los resultados de la dictaminación son inapelables. En caso de ser aceptado para su publicación, autorizo a ECORFAN- Taiwan a difundir mi trabajo en las redes electrónicas, reimpresiones, colecciones de artículos, antologías y cualquier otro medio utilizado por él para alcanzar un mayor auditorio.

I understand and accept that the results of evaluation are inappealable. If my article is accepted for publication, I authorize ECORFAN- Taiwan to reproduce it in electronic data bases, reprints, anthologies or any other media in order to reach a wider audience.

Artículo (Article):

Firma (Signature)

Nombre (Name)

Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología

“Remoción de contaminantes microbiológicos presentes en agua de escorrentía urbana mediante pavimentos permeables fotocatalíticos”

ORTEGA-VILLAR Rosangel, CORONEL-OLIVARES Claudia, LIZÁRRAGA-MENDIOLA Liliana, BELTRÁN-HERNÁNDEZ Rosa Icela, LUCHO-CONSTANTINO Carlos Alexander, VÁZQUEZ-RODRÍGUEZ Gabriela A

“Evaluación del potencial de *Opuntia* sp. como sustrato para la obtención de azúcares fermentables para la generación de etanol”

PÉREZ-CADENA, Rogelio; ESPINOSA-SOLARES, Teodoro; MEDINA-MORENO, Sergio Alejandro; MARTÍNEZ, Alfredo; LIZARDI-JIMÉNEZ, Manuel Alejandro; TÉLLEZ-JURADO, Alejandro

“Dispersión de nanoestructuras de ZnO en un lubricante automotriz obtenidas mediante extracto de *capsicum annuum* y sus propiedades tribológicas”

OLVERA VENEGAS-Patricia, VILLANUEVA IBÁÑEZ-Maricela, DE LA FUENTE LÓPEZ-Carolina, MARTÍNEZ PÉREZ-Irvin, FLORES GONZÁLEZ-Marco

“Cuantificación de la energía específica aplicada por un baño ultrasónico mediante el método de calorimetría y capacidad de disgregación de lodo anaerobio”

PINEDA-MUÑOZ.Cuauhtémoc Francisco, RAMÍREZ-VARGAS,María del Rocío, MEDINA-MORENO, Sergio Alejandro, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, LUCHO-CONSTANTINO, Carlos Alexander, TÉLLEZ-JURADO,Alejandro, TREJO-AGUILAR, Gloria Maribel y JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, Angélica

ISSN 2523-6857



www.ecorfan.org