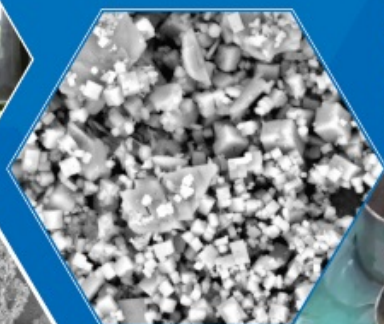


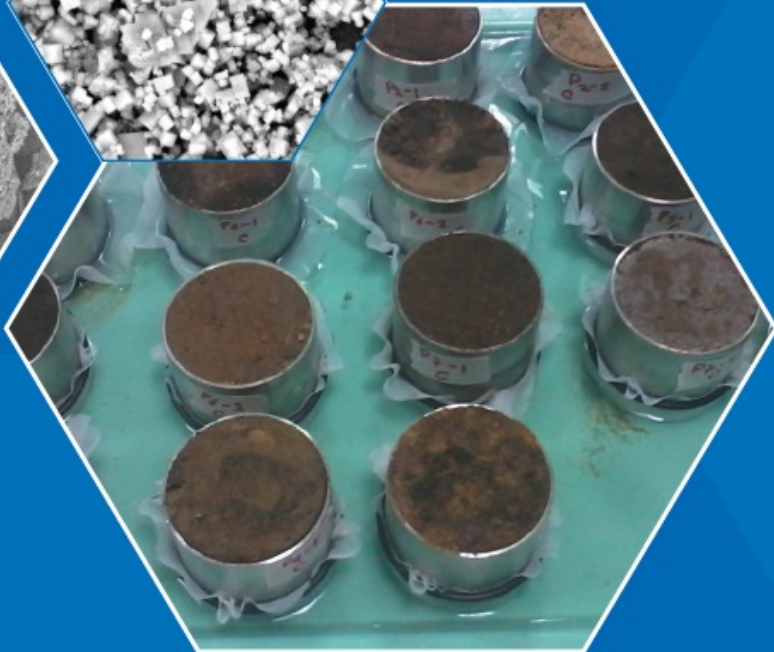
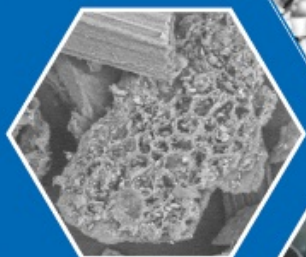
# R C Q

# Revista Colombiana de Química

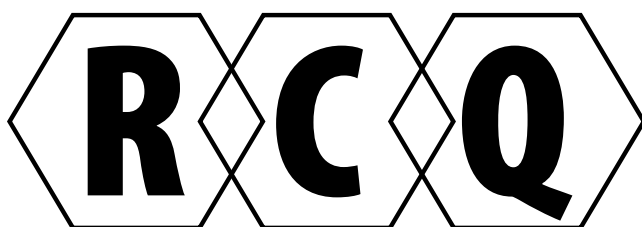
Volumen 44, nro. 3 de 2015 / ISSN 0120-2804



Este número contiene  
artículos de ponencias  
presentadas en el 2° Simposio  
Iberoamericano de Adsorción  
(IBA-2)



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE COLOMBIA  
SEDE BOGOTÁ  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



**Revista  
Colombiana  
de Química**

**Volumen 44, No. 3, septiembre - diciembre de 2015**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**

**SEDE BOGOTÁ**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

## Edición

© Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias - Departamento de Química  
Sede Bogotá

ISBN versión impresa: 0120-2804  
ISBN versión electrónica: 2357-3791  
DOI de la publicación by CrossRef.org:  
<http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim>

## Indizada en

Publindex- Índice Bibliográfico Nacional (categoría A2 - dic 2013)  
Chemical Abstracts  
SciELO Colombia  
Scopus Q4 (SJR/2013: 0,112)  
Latindex  
Redalyc  
Directory of Open Access Journals (DOAJ)

## Periodicidad

Cuatrimestral

## Contacto

Departamento de Química  
Universidad Nacional de Colombia  
Apartado Aéreo 5997  
Bogotá, D.C., Colombia  
Fax: 571- 3165220  
Correo electrónico: [rcolquim\\_fcbog@unal.edu.co](mailto:rcolquim_fcbog@unal.edu.co)

## Consulta Open Acces

<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim>  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_serial&pid=0120-2804&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_serial&pid=0120-2804&lng=es&nrm=iso)

## Director Revista

Carlos Eduardo Narváez Cuenca, Ph. D., Universidad Nacional de Colombia.

## Comité Editorial

Cristian Blanco Tirado, Ph. D., Universidad Industrial de Santander.  
Francisco Carrasco Marín, Dr. Sc., Universidad de Granada, España.  
Leonardo Castellanos Hernández, Dr. Sc., Universidad Nacional de Colombia.  
Pedro Joseph-Nathan, Dr. Sc., Instituto Politécnico Nacional, México.  
Sonia Moreno Guáqueta, Dr. Sc., Universidad Nacional de Colombia.  
Cristian Ochoa Puentes, Dr. rer. nat., Universidad Nacional de Colombia.  
Luz Patricia Restrepo Sánchez, M. Sc., Universidad Nacional de Colombia.  
Juselino Tovar, Dr. Sc., Universidad de Lund, Suecia

## Comité Científico

Gustavo Adolfo González Aguilar, Dr. Sc., Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (México).  
Ljubisa R. Radovic, Dr. Sc., Pennsylvania State University (USA).  
Augusto Rivera Umaña, Dr. Sc., Universidad Nacional de Colombia.  
Fabio Zuluaga Corrales, Dr. Sc., Universidad del Valle (Colombia).  
Kushalappa Ajjamada, Ph. D., McGill University (Canadá).

## Suscripciones y canje

Valor del ejemplar \$10.000; suscripción anual \$30.000 y US\$30 para el exterior, incluyendo en ambos casos el envío. Los pagos en Colombia deben realizarse mediante consignación en la cuenta de ahorros N° 220012720017 del Banco Popular, a nombre de Fondo Especial, Facultad de Ciencias U.N. Desde el exterior los pagos deben hacerse mediante cheque de un banco de Estados Unidos girado a nombre de Fondo Especial, Facultad de Ciencias U.N. o mediante transferencia electrónica a la cuenta citada anteriormente. Por favor enviar cheques y fotocopias de giros o consignaciones a la dirección de la Revista Col. de Química.

Para canjes dirigirse al SINAB: [bibteca\\_bog@unal.edu.co](mailto:bibteca_bog@unal.edu.co) ó [cevelascoza@unal.edu.co](mailto:cevelascoza@unal.edu.co).

## Propósito y alcance

La Revista Colombiana de Química es publicada cuatrimestralmente por el Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia. Publica contribuciones provenientes de la investigación en las diversas áreas de la química. El contenido de los artículos debe ser original, inédito y no debe haber sido enviado, total o parcialmente, para publicación a otra revista. La redacción asume el derecho de reproducción de los trabajos aceptados. Su publicación en otro medio requiere permiso del editor. La revista está dirigida a estudiantes y profesionales relacionados con cualquier área de la química.

## Preparación editorial

Camila Alejandra Rincón Carrillo, asistente editorial.  
Sindy Tatiana Bedoya Mesa, asistente editorial.  
Coordinación de Publicaciones.  
Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá.  
Cuidado editorial: Camila Alejandra Rincón Carrillo, Sindy Tatiana Bedoya Mesa.  
Diseño y maquetación: Julián Hernández-Taller de Diseño.  
Impresión: Digiprint Editores S.A.S

Carta del editor Editor's letter	1-4
<hr/>	
<b>2° Simposio Iberoamericano de Adsorción (IBA-2)</b>	
Producción de ácido láctico a partir del lactosuero utilizando <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i> Production of lactic acid from whey using <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> and <i>Streptococcus thermophilus</i> Produção de ácido láctico de soro de leite coalhado usando <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> e <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Adriana M. Rojas, Liceth P. Montaña, Marlon J. Bastidas</i>	5-10
Evaluación de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) sobre suelos urbanos en Maicao, Colombia Evaluation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in urban soil from Maicao, Colombia Avaliação de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) em solo urbano em Maicao, Colômbia <i>Martha L. Castellanos, Raimar J. Isaza, Julio M. Torres</i>	11-17
Caracterización textural y química de carbones activados preparados a partir de cuesco de palma africana ( <i>Elaeis guineensis</i> ) por activación química con CaCl <sub>2</sub> y MgCl <sub>2</sub> Textural and chemical characterization of activated carbon prepared from shell of african palm ( <i>Elaeis guineensis</i> ) by chemical activation with CaCl <sub>2</sub> and MgCl <sub>2</sub> Caracterização textural e química de carvões ativados preparados a partir de casca da palmeira africana ( <i>Elaeis guineensis</i> ) por ativação química com CaCl <sub>2</sub> y MgCl <sub>2</sub> <i>Sergio Acevedo, Liliana Giraldo, Juan Carlos Moreno</i>	18-24
Empleo de algoritmos matemáticos para la evaluación de la influencia de los parámetros fisicoquímicos que afectan la adsorción de compuestos aromáticos sobre carbón activado Use of mathematical algorithms to evaluate the influence of physicochemical parameters affecting the adsorption of aromatic compounds on activated carbon Uso de algoritmos matemáticos para avaliar a influência dos parâmetros físico-químicos que afetam a adsorção de compostos aromáticos sobre carbono ativado <i>Ana Lucía Paredes-Doig, María del Rosario Sun-Kou, Mery Elizabeth Doig, Germán Comina</i>	25-29
<hr/>	
<b>Química Orgánica y Bioquímica</b>	
Implementación de una metodología para la separación de proteomas de plasma humano mediante electroforesis bidimensional Implementation of a methodology to separate human plasma proteomes by two-dimensional electrophoresis Implementação de uma metodologia para a separação do proteoma do plasma humano por eletroforese bidimensional <i>Ruth Andrea Rodríguez, Wilmer Alexis Urrego, María Carolina Sanabria, Myriam Sánchez-Gómez, Adriana Umaña-Pérez</i>	30-38
<hr/>	
<b>Fisicoquímica y Química inorgánica</b>	
Propiedades viscosimétricas de la DL-alanina en soluciones acuosas de trifluorometanosulfonato de 1-butil-3-metilimidazolio a diferentes temperaturas Viscometric properties of DL-alanine in aqueous solutions of 1-butyl-3-methyl imidazolium trifluoromethanesulfonic acid at different temperatures Propriedades viscosimétricas da DL-alanina em soluções aquosas de trifluorometanossulfonato de 1-butil-3-metilimidazólio a diferentes temperaturas <i>Manuel S. Páez, Juan D. García, María K. Vergara</i>	39-48
Guía para autores Guide for authors	49-58

El volumen 44, número 3, de 2015 de la Revista Colombiana de Química es un número especial, dedicado principalmente a artículos presentados al 2° Simposio Iberoamericano de Adsorción (IBA-2). Este evento se realizó durante el 26 y el 30 de abril de 2015, en la ciudad de Cartagena y contó con la participación de importantes investigadores en el área de la adsorción, almacenamiento de energía, ambiente, biocatalizadores, biotecnología, materiales adsorbentes nanoporosos, modelamiento y simulación de procesos de adsorción, petróleo y gas natural, procesos de adsorción, síntesis y caracterización de adsorbentes y catalizadores y técnicas de caracterización para adsorbentes.

Para este número, la Revista Colombiana de Química contó con la valiosa colaboración editorial del Dr. Juan Carlos Moreno Piraján, en asociación con la Universidad de los Andes, y del Dr. Marlón J. Bastidas de la Universidad de la Guajira quienes fueron co-organizadores de dicho evento. Para la Revista y sus colaboradores es un honor compartir este espacio de investigación con otras instituciones, pues es una forma de aprendizaje y crecimiento.

Este número cuenta con la participación de autores nacionales, provenientes de La Guajira, Córdoba y Bogotá, y a su vez autores internacionales, provenientes de Perú. A continuación presentamos los contenidos del número, iniciando con los artículos provenientes del IBA-2. En el primero de ellos se determinaron las condiciones óptimas para el crecimiento del *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en lactosuero, proveniente del departamento del Cesar, para producir ácido láctico. Se obtuvo ácido láctico con un 78,0% de pureza (36,7 g/L). En el segundo artículo, se evaluó la presencia de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) y sus efectos sobre el suelo de Maicao, Colombia. Se analizaron fracciones de hidrocarburos medianas y pesadas y se encontró que los suelos expuestos a TPH presentan deterioro respecto a los que no, comprometiendo la salud de la población humana. El tercer artículo compara la influencia del cloruro de magnesio y cloruro de calcio como agentes activantes de carbón activado de cuesco de palma africana (*Elaeis guineensis*). Se concluyó que estas sales producen carbonos activados en el rango de los mesoporosos. El último artículo de esta sección busca identificar los principales parámetros fisicoquímicos que determinan la adsorción de fenol, ácido benzoico y ácido salicílico sobre carbón activado. Para lo anterior comparan dos métodos estadísticos: análisis principal de mínimos cuadrados (PLS) y regresión de componentes principales (PCR), concluyendo que el PLS se ajusta mejor a los datos experimentales. Así mismo, se encontró que el principal parámetro fisicoquímico que determina la adsorción de estos compuestos es la acidez superficial.

Además de los cuatro artículos que hacen parte del IBA-2, en la sección de Química Aplicada y Analítica, se cuenta con un artículo que determina algunas propiedades viscosimétricas de soluciones de DL-alanina (0,1000-1,0000 mol/Kg) en el líquido iónico trifluorometanosulfonato de 1-Butil-3-metilimidazolio a 0,10 MPa y entre 283,15 y 318,15 K. A partir de los resultados se calcularon algunas propiedades termodinámicas y se establecieron las interacciones presentes en la solución.

Finalmente, en la sección de Química Orgánica y Bioquímica, se encuentra un artículo donde se separó el proteoma de plasma sanguíneo de adultos e infantes por medio de electroforesis bidimensional. Además, se compararon dos métodos de pretratamiento de muestras: inmunodepleción de proteínas abundantes y enriquecimiento de proteínas de baja abundancia. Se encontró que el método de inmunodepleción ofrece mayor control de las proteínas eliminadas, por tanto presenta potencial para ser aplicado en estudios de biomarcadores de enfermedad.

Volume 44 of Revista Colombiana de Química, number 3 of the year 2015, is a special issue, dedicated primarily to articles presented at the 2nd Simposio Iberoamericano de Adsorción (IBA-2). This event took place from April 26th to 30th, 2015, in Cartagena city. It included participation from important researchers in the adsorption area, energy storage, environment, biocatalysts, biotechnology, nano-porous adsorbent materials, adsorption modeling and simulation, oil and natural gas, adsorption process, adsorbents synthesis and characterization, and finally, catalysts and characterization techniques for adsorbents.

For this number, Revista Colombiana de Química received valuable editorial assistance of Dr. Juan Carlos Moreno Piraján, in association with Universidad de los Andes and Dr. Marlón J. Bastidas from Universidad de La Guajira, who were co-organizers of the aforementioned event. For this journal and its collaborators is an honor to share this space with other research institutions as a way to learning and growing.

Furthermore, this number includes the participation of both national (from La Guajira, Córdoba and Bogotá) and international authors (from Perú). As follows, the content of this issue is presented, starting with the articles from IBA-2. The first one studies the optimal conditions for the growth of *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in whey, from the Cesar department, to produce lactic acid. Lactic acid was obtained with 78.0% purity (36.7 g/L). In the second article, the presence of total petroleum hydrocarbons (TPH) and their effects on the soil from Maicao, Colombia were evaluated. Medium and heavy hydrocarbons fractions were analyzed. It was found that the soils exposed to TPH presented disrepair as compared to those without exposure to TPH, compromising the population health. The third article compares the influence of magnesium chloride and calcium chloride as activating activated-charcoal agents obtained from African palm shell (*Elaeis guineensis*). The authors concluded that these salts produce activated carbons in the range of mesoporous. The last article of this section seeks to identifying the main physicochemical parameters determining phenol, benzoic acid, and salicylic acid adsorption on activated carbon. For this purpose, it compares two statistical methods: primary analysis least squares (PLS) and principal component regression (PCR). It concludes that PLS fits the best the experimental data. Likewise, the surface acidity is the main parameter determining physicochemical adsorption of these compounds.

Besides the four articles on the IBA-2, there is an article in the section of Applied and Analytical Chemistry. It comprises the determination of viscometric properties of DL-alanine (0.1000 to 1.0000 mol/Kg) solutions prepared in the ionic liquid 1-butyl trifluoromethanesulfonate 3-methylimidazolium at 0.10 MPa and between 283.15 and 318.15 K. From the results, some thermodynamic properties were calculated and some interactions present in the solution were suggested.

Finally, in the section Organic and Biochemical Chemistry proteome blood plasma of adults and infants were separated by means of two-dimensional electrophoresis. Besides, two pretreatment samples methods were compared: abundant proteins immunodepletion and low abundance proteins enrichment. It was found that the immunodepletion method offers greater deleted protein control. Results presented in this manuscript have potential for application in disease biomarkers studies.



Recibido: 30 de septiembre de 2015. Aceptado: 17 de noviembre de 2015.

## Producción de ácido láctico a partir del lactosuero utilizando *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*

### Resumen

El objetivo principal de esta investigación fue determinar las condiciones adecuadas de crecimiento del *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* para la producción de ácido láctico, utilizando como sustrato lactosuero proveniente del departamento del Cesar, Colombia. El ácido láctico es producto de la extracción y purificación de caldos de fermentación donde se usa como bacterias fermentativas el co-cultivo *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, usualmente usadas para la producción de yogurt. El sustrato es suplementado con extracto de levadura, fosfato de amonio como fuente de nitrógeno y carbonato de calcio como neutralizante. Esto con el fin de optimizar el consumo, por parte de las bacterias, del carbohidrato principal presente en el suero (lactosa). Durante la fermentación se controló la concentración del inóculo y temperatura, el tiempo máximo fue 72 h. La purificación se llevó a cabo mediante esterificación, filtración de sólidos formados con la reacción y extracción de agua por evaporación y posterior arrastre con nitrógeno. Finalmente se obtuvo ácido láctico con un 78,0% de pureza (36,7 g/L), el cual se caracterizó a través de espectroscopia infrarroja.

**Palabras clave:** ácido láctico, lactosuero, bacterias ácido lácticas, *Lactobacillus delbrueckii*, *Streptococcus thermophilus*.

## Production of lactic acid from whey using *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*

### Abstract

The main objective of this research was to determine the proper growth conditions of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* for the production of lactic acid using serum as substrate. This serum was obtained from the department of Cesar, Colombia. Lactic acid is the result of the extraction and purification of fermentation broths in which bacteria *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* are used, which are usually used for the production of yogurt. The substrate was supplemented with yeast extract, ammonium phosphate as a nitrogen source, and calcium carbonate as a neutralizer, in order to optimize the consumption, by the bacteria, of the main carbohydrate present in serum (lactose). During the fermentation (up to 72 h) the inoculum concentration, and temperature were controlled. Purification consisted in esterification, filtration of solids formed during the reaction, and removing of water by evaporation and nitrogen influx. Finally, lactic acid was obtained with 78,0% purity (36.7 g/L), which was characterized by infrared spectroscopy.

**Keywords:** lactic acid, whey, lactic acid bacteria, *Lactobacillus delbrueckii*, *Streptococcus thermophilus*.

## Produção de ácido láctico de soro de leite coalhado usando *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*

### Resumo

O principal objetivo desta pesquisa foi determinar as condições adequadas de crescimento do *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* para a produção de ácido láctico utilizando como substrato soro de leite obtido do Departamento do Cesar, Colômbia. O ácido láctico é um produto da extração e purificação de caldos de fermentação, no qual são usadas como bactérias fermentativas *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, normalmente usadas para a produção de iogurte. O substrato é suplementado com extrato de levedura, fosfato de amônio como fonte de nitrogênio e de carbonato de cálcio como um neutralizador, para otimizar o consumo, pelas bactérias, do principal hidrato de carbono presente no soro (lactose). Durante a fermentação os seguintes fatores foram controlados: concentração do inóculo e temperatura, e atingiu num máximo de 72 h. A purificação foi efetuada por esterificação, filtração dos sólidos formados com a reação e remoção de água por evaporação e varrimento com nitrogênio. Finalmente o ácido láctico foi obtido com 78,0% de pureza (36,7 g/L), e foi caracterizado por espectroscopia de infravermelho.

**Palavras-Chave:** ácido láctico, soro de leite coalhado, bactérias de ácido láctico, *Lactobacillus delbrueckii*, *Streptococcus thermophilus*.

## Introducción

En las últimas décadas ha aumentado la preocupación por la conservación del ambiente tanto en las industrias como en las actividades urbanas debido a los crecientes efectos que ha causado la emisión de contaminantes al aire, agua y suelo. El agua potable, a pesar de ser una de las matrices más importantes para la preservación de la humanidad, se contamina indiscriminadamente por las actividades antrópicas, llevando a los investigadores a buscar metodologías eficientes para su recuperación (1).

El sector industrial lácteo es uno de los mayores contaminantes del agua, especialmente en la elaboración de quesos, debido al componente residual denominado lactosuero; teniendo en cuenta que por cada kilogramo de queso elaborado se generan 9 L de suero, alcanzando una producción anual de 110 millones de toneladas en el mundo de este residuo. Los altos niveles de producción de lactosuero derivan en un problema serio para los acuíferos ya que por cada 1000 L de lacto-suero se generan aproximadamente 35 kg de demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y cerca de 68 kg de demanda química de oxígeno (DQO) (2,3). Por otro lado, el significativo contenido de lactosa del lactosuero lo transforman en una materia prima de alto interés para la producción de ácido láctico (4), utilizado a su vez especialmente en productos alimenticios, químicos, cosméticos y farmacéuticos (5).

Actualmente hay un aumento en la demanda de ácido láctico como materia prima para la producción del biopolímero denominado ácido poli láctico (PLA), que es una alternativa biodegradable, biocompatible, amigable con el ambiente y prometedora en la sustitución de los plásticos derivados de petroquímicos (6).

El ácido láctico se puede obtener por síntesis química o por fermentación de hidratos de carbono, mediante un proceso económico y fácilmente disponible. El primer proceso da como resultado una mezcla racémica de los ácidos lácticos, mientras que el segundo conduce a un estereoisómero de ácido láctico D(-) o L (+). El 90,0 % de la producción mundial de ácido láctico se consigue por fermentación, lo que muestra la preferencia por este método frente a la síntesis química (7,8). Uno de los principales intereses científicos es la reducción de costos de materias primas y el mejoramiento de los niveles de producción de ácido láctico por medio de la fermentación (5). Así, se han planteado alternativas más económicas para obtener ácido láctico: en vez de partir de la fermentación de azúcares refinados, se ha propuesto partir de productos o residuos alimenticios agroindustriales entre los que se identifican los almidones y el lactosuero, entre otros (9,10). Por otra parte, se han realizado numerosas investigaciones sobre el desarrollo de procesos biotecnológicos para la producción de ácido láctico, con el objetivo de optimizar el proceso desde el punto de vista técnico y económico, involucrando bacterias lácticas (LAB), algunos hongos filamentosos como fuentes microbianas principales de ácido láctico (9,11) y diferentes cepas (4,12-14).

La finalidad de este trabajo es plantear una alternativa adecuada para el manejo residual del lactosuero del sector lácteo del departamento del Cesar, con el fin de evitar el derrame de estos residuos a las aguas

residuales sin tratamiento previo, y así reducir la contaminación por DBO y DQO. Se realizó una fermentación del lactosuero para obtención de ácido láctico, empleando bacterias combinadas *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, ampliamente utilizadas por la industria láctea del Cesar en la producción de yogur. De esta manera, los residuos de la producción de queso pasan a tener un valor agregado con la implantación de un proceso económico y práctico que contribuye a la minimización del impacto ambiental.

## Materiales y métodos

### Microorganismos

La cepa utilizada fue el co-cultivo liofilizado *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, adquirido en la empresa Colombiana Interenzimas S.A.S, bajo el nombre DRISSET YOGUR 432-50LU. Las bacterias fueron escogidas teniendo presente su capacidad homofermentativa de producción de ácido láctico, la disponibilidad en el mercado, su uso frecuente en la industria local para otras aplicaciones y finalmente varios reportes bibliográficos de producción de ácido láctico a partir de lactosuero con diferentes microorganismos (15). Las bacterias se activaron en una solución de agua pectonada al 1,0%, con adición de lactosuero y glucosa en porcentajes de 2,5 y 1,0% respectivamente, por 12 h a 40 °C. Este cultivo fue usado como inóculo para las fermentaciones.

### Sustrato

El suero lácteo utilizado fue suministrado por la empresa Lácteos La Granja ubicada en Valledupar, Cesar, Colombia. Este suero se sometió a desproteínización por tratamiento térmico a temperatura de 90 °C durante 20 min, posteriormente se enfrió a 20 °C para que finalmente fuera pre filtrado, centrifugado y filtrado a vacío con papel Whatman número 42 (12). El suero fue caracterizado antes y después de la desproteínización midiendo el índice de acidez, contenido de lactosa, proteína, humedad y cenizas. El suero desproteínizado se esterilizó en autoclave a una presión de 0,1 MPa, temperatura de 120 °C y un tiempo de 15 min. Las pruebas finales se hicieron en suero Fresco (F) y suero Desproteínizado (D).

### Fermentación

Con el fin de establecer las mejores condiciones para la producción de ácido láctico por las bacterias, se analizaron los efectos por la temperatura y concentración del inóculo de las bacterias, bajo las condiciones señaladas en la Tabla 1, el tratamiento 1 está compuesto por 2 millones de UFC/mL a 42 °C, mientras que el tratamiento 3 está compuesto por

**Tabla 1.** Tratamientos definidos para la evaluación de la lactosa

Tratamiento	$2 \times 10^6 \frac{UFC}{mL}$	$4 \times 10^6 \frac{UFC}{mL}$	40 °C	42 °C
1	X			X
2		X		X
3	X		X	
4		X	X	

la misma cantidad de UFC/mL a 40 °C. Los tratamientos 2 y 4, cuentan con 4 millones de UFC/mL, pero a 42 y 40 °C respectivamente. Cabe resaltar que los niveles de concentración del inóculo fueron escogidos mediante pre ensayos, para lo cual se partió de la concentración dada en la ficha técnica del co-cultivo, y la cantidad de bacterias usadas por experiencia en la elaboración del yogur (1,0-3,0%). La adición de bacterias se realizó de dos maneras: i) activando las bacterias al inicio del proceso, para el caso denominado estado de bacterias sin activar (SA) y ii) activando las bacterias 24 h antes del inicio del proceso, para el caso denominado estado de bacterias activadas (A).

Posterior al diseño se realizaron ensayos de fermentación con el lactosuero previamente suplementado con el objeto de aumentar el rendimiento de producción de ácido láctico. Inicialmente se enriqueció con sulfato de amonio en cantidades de 1,25; 1,50 y 1,80% p/v, en búsqueda de un mayor aprovechamiento de la lactosa presente en el desecho lácteo. Se realizó un nuevo ensayo donde se enriqueció el lactosuero con fosfato de amonio y extracto de levadura, a la vez que se valoró la influencia del estado de las bacterias en la producción de ácido láctico, así se efectuaron 4 nuevos ensayos a los que se les denominó: prueba 1, 2, 3 y 4, tal como se muestra en la Tabla 2.

Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado, con adición de carbonato de calcio al 10,0% como neutralizante y con agitación constante a 150 rpm. La fermentación se llevó a cabo en un biofermentador modelo BF-2000, marca New Brunswick Scientific, con capacidad para 2 L.

### Extracción y purificación del ácido láctico

El ácido láctico producido se extrajo de los caldos en forma de lactato de calcio. El medio se calentó para solubilizar el lactato de calcio y coagular las proteínas presentes. Posteriormente se filtró para eliminar sustancias insolubles como la biomasa. El ácido libre se obtuvo por adición de ácido sulfúrico seguido de filtración para eliminar el sulfato de calcio formado. El ácido láctico fue entonces concentrado por evaporación, evacuando la humedad por arrastre con nitrógeno (16).

**Tabla 2.** Descripción de la combinación de suplementos

Prueba	Estado de la Bacteria	Suplementos		
		Extracto de levadura (% p/v)	Fosfato de Amonio (% p/v)	Neutralizante CaCO <sub>3</sub> (% p/v)
1	SA	0,5	0,9676	10
2	SA	0	1,146	10
3	A	0	1,146	10
4	A	0,5	0,9676	10

**Tabla 3.** Caracterización del lactosuero

Componentes	Lactosuero recepcionado	Lactosuero desproteínizado
Acidez (%)	0,13	0,14
pH	6,3	6,26
Humedad (%)	93,084	93,560
Cenizas (%)	6,395	5,860
Lactosa (%)	4,7	4,8
Proteína (%)	0,85	0,44

### Métodos de análisis

**Proteínas:** Se determinó mediante el contenido de Nitrógeno (método Micro-Kjeldahl, Norma Técnica Colombiana 4657) (17).

**Lactosa:** Por el método colorimétrico del Fenol-Ácido Sulfúrico para micro determinación de carbohidratos totales propuesto por Dubois *et al.* (18), en un espectrofotómetro marca Spectronic modelo Genesys 20.

**Ácido láctico:** La producción se monitoreó durante la fermentación de manera indirecta a través del consumo de lactosa, la concentración de ácido láctico se determinó mediante acidez titulable bajo la NTC 4978 de 2001 (19) y se caracterizó por espectroscopía infrarroja. Para los análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier – reflectancia total atenuada (FTIR-ATR) se utilizó un espectrómetro IR-Prestige-21 /FTIR-8400S, con accesorio de reflectancia total atenuada. Los espectros fueron obtenidos en el rango de 4000-500 cm<sup>-1</sup>.

### Resultados y discusión

#### Composición del lactosuero

Se tiene en cuenta el pH medido en el lactosuero desproteínizado y fresco, el cual está en 6,26 y 6,30, respectivamente (ver Tabla 3). Lo anterior permite mostrar que para ambos casos se trata de un suero dulce. El procedimiento de desproteínización permitió reducir en un 48,0% la cantidad de proteína pasando de un 0,85% en el lactosuero fresco a un 0,44% al lactosuero desproteínizado. Este valor de reducción porcentual de proteínas es similar a otras investigaciones como la de Urribarrí *et al.* (20) que reportó un 43,0% y la de Sánchez *et al.* (4) que reportó a su vez un 42,0%. Así mismo, se obtienen valores de lactosa para el suero fresco y desproteínizado de 46 y 47 g/L, respectivamente, similares a los reportados por Jakymec *et al.* (12).



### Definición de las pruebas

La Figura 1 muestra que el mayor consumo de lactosa se dio en el tratamiento 1, seguido del tratamiento 2 con 64,5 y 59,2% de lactosa consumida respectivamente, mientras que para los tratamientos 3 y 4 el consumo de lactosa fue menor con 58,6 y 49,9% respectivamente. Se observa que a 42 °C se tiene mayor consumo de lactosa y, por ende, mayor producción de ácido láctico. Sin embargo, se puede apreciar que hay un mayor rendimiento para niveles menores de UFC/mL.

Con la finalidad de aumentar el rendimiento de producción de ácido láctico se procedió a enriquecer el lactosuero previo a la fermentación. Para esto se tomaron las condiciones aplicadas al tratamiento 4, debido a que tiene los mayores rendimientos de producción de ácido láctico de todos los tratamientos, para las mismas condiciones de suplemento. Cabe resaltar que, en principio, la suplementación no había tenido lugar en el proceso de fermentación a fin de tener un escenario de bajo costo. Gran cantidad de suplementación contribuye a un incremento en la concentración de impurezas y a su vez un aumento del costo de separación y bajos rendimientos en la recuperación de ácido láctico (9).

La primera suplementación se realizó con sulfato de amonio en concentraciones de 1,25; 1,50 y 1,80% con resultados poco favorables, tal como se muestra en la Figura 2. Para este caso el porcentaje de lactosa sin consumir seguía siendo alto, llegando a quedar, en el mejor de los casos, aproximadamente un 49,9% de lactosa en el caldo, pasadas 72 h de proceso.

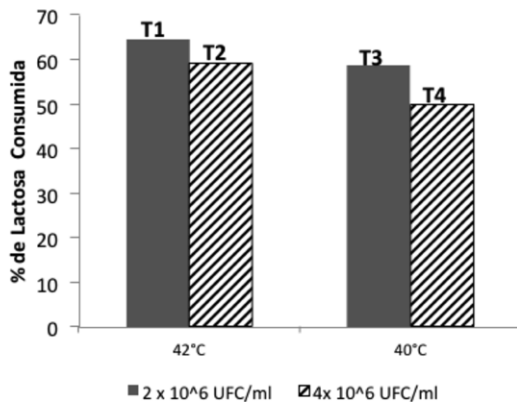


Figura 1. Consumo de lactosa por los tratamientos

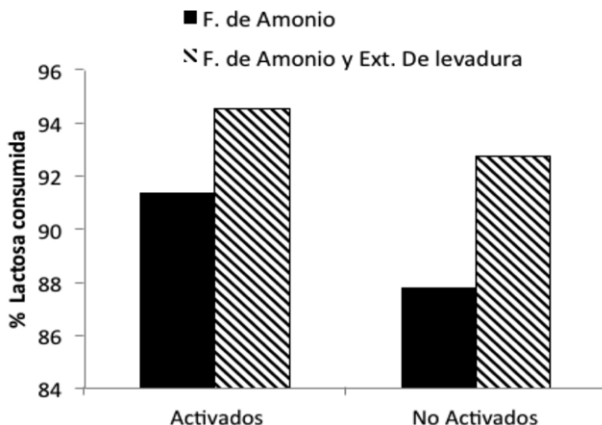


Figura 3. Lactosa consumida con relación a los sustratos agrupando los estados de las Bacterias

Caso contrario a la suplementación con sulfato de amonio ocurre con fosfato de amonio y extracto de levadura. Para este caso, se obtuvieron valores porcentuales de consumo de lactosa de 87,8%. La Figura 3, muestra cómo el estado de las bacterias es un factor influyente en el resultado de la fermentación, pero no tan relevante como la suplementación en este proceso. También se puede observar la comparación de resultados entre los fermentos con diferentes suplementos, permitiendo establecer que al suplementar el lactosuero con fosfato de amonio y extracto de levadura se obtienen mejores resultados (con rendimientos del 92,8 y 94,6%, respectivamente).

El ensayo con bacterias en estado SA, enriquecido con fosfato de amonio y extracto de levadura arrojó mejores resultados con un 92,8% de consumo de lactosa frente a un 91,4% alcanzado por el ensayo con bacterias en estado A y enriquecido sólo con fosfato de amonio. De los ensayos suplementados con fosfato de amonio y extracto de levadura, se alcanzaron rendimientos porcentuales de consumo de lactosa para las cuatro pruebas, cuyos resultados en su orden son: 92,8%; 87,8%; 91,4% y 94,6%.

Teniendo en cuenta que los mayores rendimientos se dieron en la prueba 4 (mayor consumo de lactosa), donde se adicionaron cepas activadas, fosfato de amonio y extracto de levadura, se puede afirmar que estas son las mejores condiciones para la fermentación.

Al valorar la velocidad de fermentación de los ensayos suplementados se encuentra que la prueba 2 tiene mayor velocidad de consumo de lactosa, tal como se muestra en la Figura 4. Esta condición es importante para obtener un producto continuo, por lo que una posible aplicación del proceso requerirá mantener en el tiempo una concentración de lac-

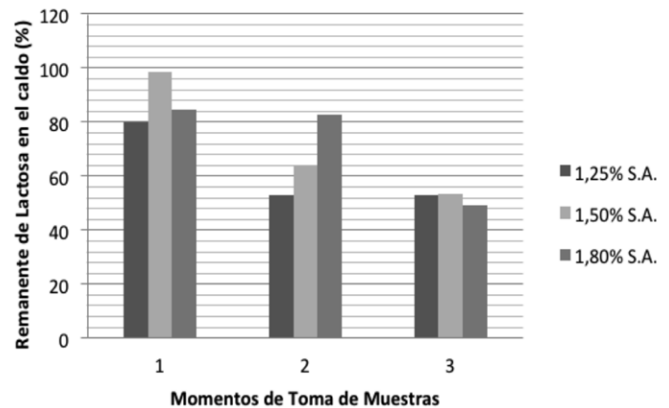


Figura 2. Remanente de Lactosa en el caldo al inicio (1), durante (2) y al final (3) del proceso a diferentes concentraciones de Sulfato de Amonio (S.A.)

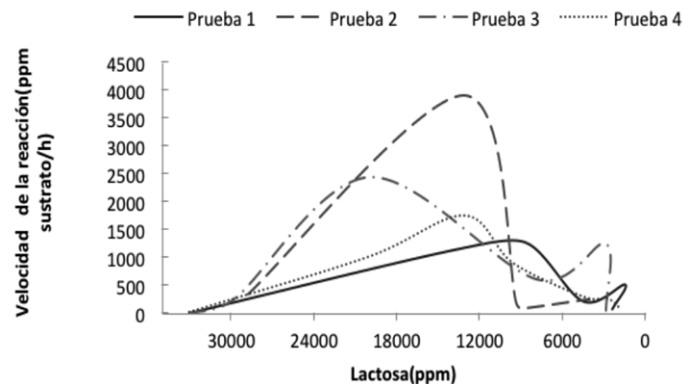


Figura 4. Velocidad de la fermentación

tosa de 15000 ppm, para obtener un gasto de lactosa de 4000 ppm/h. En este sentido, un montaje adecuado empleando las materias primas seleccionadas en este trabajo debe tener en cuenta las condiciones de producción empleadas en la prueba 2 con el tratamiento 1. Sin embargo, en cualquier otro caso dentro de las cuatro pruebas reportadas la producción tendrá un retardo considerable.

Del mismo modo, aunque la prueba 2 presentó la mayor velocidad de fermentación, la eficiencia en el consumo de lactosa fueron menores (87,8%), comparado con el rendimiento de la prueba 4 (94,6%) con una velocidad más baja de fermentación.

### Caracterización del ácido láctico

El ácido láctico extraído del caldo de fermentación y purificado, de acuerdo a la metodología, presenta una apariencia viscosa y color amarillo claro. La pureza del ácido láctico fue de 78,0% (p/v) similar a la de otras investigaciones (21). En la Tabla 4 se muestran las concentraciones de ácido láctico en procesos de obtención similares. Se observa que los valores de ácido láctico de este estudio son aproximados a los obtenidos por Tashiro et al. (5) y Wang et al. (22). Aunque estos valores no son altos, permiten reducir los niveles de DQO de 35 g/L de lactosuero hasta 7,7 g/L. Se requiere un dispositivo para el control de DBO<sub>5</sub> menos costoso, de manera que se logren reducir hasta 1,54 g/L los niveles de DBO o emplear una cantidad de agua mucho menor para alcanzar la dilución hasta los niveles requeridos.

En la Figura 5 se compara el espectro de un ácido L láctico comercial marca Carlo Erba con una concentración entre 88,0-92,0% y el obtenido en la investigación. La semejanza que presenta permite comprobar que es ácido láctico lo que se recuperó de los caldos de fermentación ya que muestra las señales características: estiramiento OH a 3238 cm<sup>-1</sup> de los grupos alcohol y ácido, especialmente a 2995 cm<sup>-1</sup> y 2944 cm<sup>-1</sup>. Grupo COOH: tensión a 1716 cm<sup>-1</sup> indica la presencia del enlace C=O perteneciente al grupo ácido. Estiramientos a 1432 y 1376 cm<sup>-1</sup> flexiones

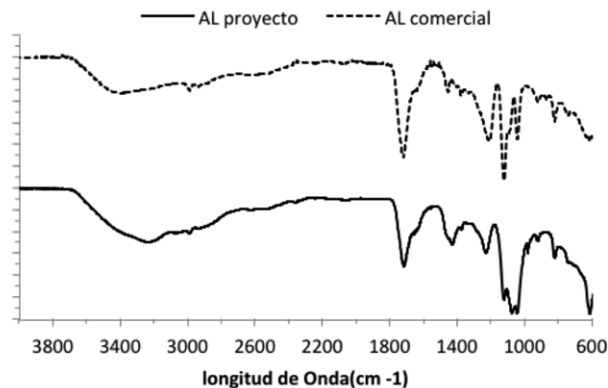


Figura 5. Espectro Infrarrojo del ácido láctico

simétricas de los grupos CH y CH<sub>3</sub> y los picos a 1232, 1122, 1075 y 1046 cm<sup>-1</sup> son estiramientos de C-O de los grupos ácido y alcohol.

### Conclusiones

Se obtuvo ácido láctico con un 78,0% de pureza (36,7 g/L en el caldo de fermentación), el cual se caracterizó con espectroscopía infrarroja, mediante un proceso de condiciones controladas de fermentación de lactosuero para alcanzar niveles de consumo de lactosa de 94,6%. Para alcanzar dichos resultados, se aprovechó la actividad de las bacterias *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* y el enriquecimiento de subproducto lácteo previo a la fermentación con fosfato de amonio y extracto de lavadura a una temperatura de 40 °C.

La suplementación del lactosuero es un factor limitante para alcanzar un buen rendimiento en la producción biotecnológica de ácido

Tabla 4. Comparación general de producción de ácido láctico

Microrganismo	Temperatura (°C)	Método de Cultivo	Sustrato	Tiempo de Fermentación (h)	Concentración de Ácido láctico (g/L)	Referencias
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i>	40	Lote	Lactosuero suplementado con fosfato de amonio y extracto de levaduras	72	36,7	Este estudio
<i>T. aotearoense</i> LA1002-G40	55	Lote	Residuos de panadería	92	78,4	Yang et al. (2015)
<i>L. bulgaricus</i>	45	Lote	Residuos alimenticios	NA	35,1	Wang et al. (2010)
Cultivo mixto	45	Lote	Desperdicios de cocina	120	64,0	Zhang et al. (2008)
<i>B. coagulans</i> NBRC12583	55	Lote	Residuos de cocina	120	86,0	Sakai and Ezaki (2006)
<i>B. licheniformis</i> TY7	50	Lote	Modelo de desperdicios de cocina	24	40,0	Sakai and Yamanami (2006)
Cultivo mixto	50	Lote	Modelo de desperdicios de cocina	168	34,5	Tashiro et al. (2013)
<i>Bacillus</i> sp. NLO1	50	Lecho-Lote	Rastrojo de maíz	72	75,0	Ouyang et al. (2013)
<i>B. coagulans</i> LA204	50	Lecho-Lote	Rastrojo de maíz	60	97,6	Hu et al. (2015)

Tabla complementada de la referencia (15).

lático con el co-cultivo estudiado en la presente investigación. Es necesario suplementar el lactosuero con el fin de aportar a las bacterias los nutrientes del que carece el lactosuero y que son fundamentales para su crecimiento y desarrollo.

## Agradecimientos

Los autores agradecemos especialmente al profesor Einer Gutiérrez por los valiosos consejos en la preparación de la investigación; a la Universidad Popular del Cesar, al grupo de investigación Procesos Químicos Industriales – PQI-, a su director Luis Ríos, al Ingeniero químico Andrés Guzmán por su colaboración y ayuda y a COLCIENCIAS (Convocatoria 566 Jóvenes Investigadores e Innovadores) por el apoyo económico aportado para la finalización exitosa del trabajo.

## Referencias

- Khan, S.; Deere, D.; Leusch, F.; Humpage, A.; Jenkins, M.; Cunliffe, D. Extreme weather events: Should drinking water quality management systems adapt to changing risk profiles?. *Water Res.* **2015**, *49*, 124–136. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.018>
- Inda, A. *Optimización de rendimiento y aseguramiento de inocuidad en la industria de la quesería*. Organización de los Estados Americanos (OEA): 2000; p. 63.
- Padín, C.; Diaz, M. Fermentación alcohólica del lactosuero por *Kluyveromyces marxianus* y solventes orgánicos como extractantes. *RSVM.*, **2009**, *29*, 110–116.
- Sánchez, R.; Ramirez D.; Zapata, A. Evaluación de un sistema de fermentación extractiva para la producción de ácido láctico utilizando suero de leche como sustrato. *Vitae.* **2007**, *14*, 27–34.
- Abdel-Rahman, M., Tashiro, Y.; Sonomoto, K. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnol. Adv.* **2013**, *31*(6), 877–902. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.04.002>
- Abdel-Rahman, M., Tashiro, Y.; Sonomoto, K. Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: Overview and limits. *J. Biotechnol.* **2011**, *156* (4), 286–301. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.06.017>
- Boontawan, P., Kanchanathawee, S.; Boontawan, A. Extractive fermentation of L-(+)-lactic acid by *Pediococcus pentosaceus* using electrodeionization (EDI) technique. *Biochem. Eng. J.* **2011**, *54* (3), 192–199. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2011.02.021>
- Singh Yadav, J. S.; Yan, S.; Pilli, S.; Kumar, L.; Tyagi, R.D.; Surampalli, R.Y. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnol. Adv.* **2015**, *33*, 756–774. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.002>
- John, R. P.; Madhavan Nampoothiri, K.; Pandey, A. Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *74* (3), 524–534. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-006-0779-6>.
- Madhavan Nampoothiri, K.; Rajendran Nair, N.; John, R. P. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. *Bioresour. Technol.* **2010**, *101* (22), 8493–8501. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.092>
- Litchfield, J. H. Microbiological production of lactic acid. *Adv. Appl. Microbiol.* **1996**, *42*, 45–95. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70372-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70372-1)
- Jakymec, M.; Moran, H.; Paez, G.; Ferrer, J. R.; Mármol, Z.; Ramones, E. Cinética de la producción de ácido láctico por fermentación sumergida con lactosuero como sustrato. *Rev. Cient.* **2001**, *11* (1), 53–59.
- Sanchez Podlech, P. A.; Furia Luna, M.; Jerke, P. R.; Souza Neto, C.; Dos Passos, R.; Souza, O.; Borzani, W. Semicontinuous lactic fermentation of whey by *Lactobacillus bulgaricus* I. Experimental results. *Biotechnol. Lett.* **1990**, *12* (7), 531–534.
- Roukas, T.; Kotzekidou, P. Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fedbatch culture. *Enzyme Microb. Technol.* **1998**, *22* (3), 199–204. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229\(97\)00167-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229(97)00167-1).
- Yang, X.; Zhu, M.; Huang, X.; Sze Ki Lin, C.; Wang, J.; Li, S. Valorisation of mixed bakery waste in non-sterilized fermentation for L-lactic acid production by an evolved *Thermoanaerobacterium* sp. Strain. *Bioresour. Technol.* **2015**, *198*, 47–54. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.108>
- Serna, L., Rodríguez, A. Producción biotecnológica de ácido láctico. *Cienc. Tecnol. Aliment.* **2005**, *5* (1), 54–65.
- Gil, L.M.; Manjarrez, K.; Piñeros, Y.; Rodríguez, E. Influencia de la adición de una fuente de nitrógeno en la producción de ligninasas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial.* **2012**, *10* (1), 173–181.
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., & Rebers. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry.* **1956**, *28*, 350–354. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Agudelo, C.; Ortega, R.; Hoyos, J.L. Determinación de parámetros cinéticos de dos inóculos lácticos: *Lactobacillus plantarum* A6 y bacterias ácido lácticas de yogurt. *Facultad de Ciencias Agropecuarias.* **2010**, *8* (2), 8–16.
- Urribarrí, L.; Vielma, A.; Paéz, G.; Ferrer, J.; Mármol, Z.; Ramones, E. Producción de ácido láctico a partir de suero de leche, utilizando *Lactobacillus helveticus* en cultivo continuo. *Rev. Cientif. FCV-LUZ.* **2004**, *14* (4), 297–302
- Jimenez, P.; Sibaja, M.; Vega–Baudrit, J. Síntesis y caracterización de poli(ácido L-láctico) por policondensación directa, obtenido del fermento de desechos agroindustriales de banano (*musa acuminata* aaa variedad cavendish cultivar gran naine) en Costa Rica. *Rev. Iberoam. Polim.* **2012**, *13* (2), 52–59.
- Wang, M., Xu, Z.J., Qiu, T.L., Sun, X.H., Han, M.L., Wang, X.M. Kinetics of lactic acid fermentation on food waste by *Lactobacillus bulgaricus*. *Adv. Mat. Res.* **2010**, *113*, 1235–1238. DOI: <http://dx.doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.113-116.1235>

### Article citation:

Rojas, A.M.; Montaña, L.P.; Bastidas, M.J. Producción de ácido láctico a partir del lactosuero utilizando *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. *Rev. Colomb. Quim.* **2015**, *44* (3), 5–10. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n3.55604>

Recibido: 6 de octubre 2015. Aceptado: 28 de septiembre 2015.

## Evaluación de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) sobre suelos urbanos en Maicao, Colombia

### Resumen

Se evaluó la presencia de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) y sus efectos sobre propiedades de suelos en el área urbana de Maicao, Colombia. Se seleccionaron 18 sitios, nueve con derrames históricos y nueve sin ellos y se evaluaron dos profundidades (0-30 cm y 30-60 cm). Se extrajeron los TPH de las fracciones mediana (método reflujo en Soxhlet, EPA 3540C) y pesada (método de reflujo en Soxhlet, EPA 3550C). Se identificaron por cromatografía de gases con detector de ionización de flama (CG-FID). Se determinaron parámetros del suelo relacionados con su potencial de adsorción: pH, conductividad eléctrica (CE), carbono orgánico (CO), capacidad de intercambio catiónico (CIC), textura, retención de humedad del suelo y estabilidad de agregados. Se estableció alto contenido de todas las fracciones de TPH con efecto diferencial sobre las capas del suelo. No se encontraron cambios significativos para textura ni CE. Hubo incremento en el contenido de CO del suelo (500%), agregación y estabilidad de agregados (200%), ligera disminución del pH, CIC y retención de humedad del suelo (23,5% superficie). Estos resultados señalan la vulnerabilidad de los suelos dentro del casco urbano ante la contaminación por TPH y la exposición de la población humana a estos contaminantes.

**Palabras clave:** calidad del suelo, contaminación del suelo por hidrocarburos, propiedades físicas del suelo, propiedades químicas del suelo.

## Evaluation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in urban soil from Maicao, Colombia

### Abstract

The presence of total petroleum hydrocarbons (TPH) and their effects on soil properties in urban area of Maicao, Colombia, was evaluated. 18 sites were selected: nine contaminated and nine non-contaminated and two depths (0-30 cm and 30-60 cm) were evaluated. The medium TPH fraction (Soxhlet reflux method, EPA 3540C) and heavy TPH fraction (Soxhlet reflux method, EPA 3550C) were extracted. TPH were identified by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID). Soil parameters related potential adsorption were determined: pH, electrical conductivity (EC), organic carbon (OC), cation exchange capacity (CEC), texture; soil moisture retention, aggregate stability. High contents of TPH was found in all fractions. No significant changes were found for texture and (EC). There was an increase in the content of OC (500%), soil aggregation and aggregate stability (200%); slight decrease pH, CEC and soil moisture retention (23.5% soil surface). These results show the vulnerability of the urban soils to the TPH contamination and exposure of the human population to these contaminants.

**Keywords:** soil quality, soil contamination by hydrocarbons, physical soil properties, chemical soil properties.

## Avaliação de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) em solo urbano em Maicao, Colômbia

### Resumo

Foi avaliada a presença de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) e seus efeitos sobre as propriedades do solo na área urbana de Maicao, Colômbia. Foram selecionados 18 localidades, 9 com derrames históricos e 9 sem eles; 2 profundidades (0-30 cm e 30-60 cm). TPH foram extraídos do frações medianas (método do fluxo no Soxhlet, EPA 3540C) e frações pesadas (método reflujo Soxhlet, EPA 3550C). TPH foram identificados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG/FID). Parâmetros do solo relacionados com potencial de adsorção foram determinados: pH, condutividade elétrica (CE), carbono orgânico (CO), capacidade de troca de cátions (CC), textura; retenção de umidade do solo; estabilidade de agregados. Foi estabelecido um elevado nível de TPH em todas as frações, com efeito diferencial nas camadas superficiais do solo. Não foram encontradas diferenças significativas para a textura e CE. Houve um aumento do CO do solo (500%), a agregação e a estabilidade dos agregados (200%); ligeira diminuição no pH, CC e retenção de umidade do solo (23,5% da superfície). Estes resultados mostram a vulnerabilidade dos solos dentro da cidade pela contaminação com TPH e exposição da população humana a estes contaminantes.

**Palavras-Chave:** qualidade do solo, contaminação do solo por hidrocarbonetos, propriedades físicas do solo, propriedades químicas do solo.



## Introducción

En el municipio de Maicao (11°N, 72°W), La Guajira, Colombia, se realizan actividades de distribución, almacenamiento, comercialización y consumo de hidrocarburos, que debido al manejo inadecuado se han vertido en el suelo (1) generando situaciones de riesgo ambientales (2) y la posible alteración de la calidad del suelo urbano. Para una adecuada gestión de este tipo de contaminación sobre el suelo y con base en la normatividad colombiana relacionada (3-5), es necesario conocer los efectos de los hidrocarburos derivados de petróleo (TPH) sobre las condiciones edáficas. Algunos estudios señalan que el derrame de TPH sobre los suelos altera sus propiedades: pH, conductividad eléctrica (CE), capacidad de intercambio catiónico (CIC), carbono orgánico (CO), estabilidad de agregados, retención de agua, afectación a los organismos del suelo y reducción en general de sus capacidades y usos potenciales (2,8-13).

Para estudiar los TPH se han clasificado por fracciones de acuerdo a su comportamiento en el agua y el suelo: (i) ligera o volátil ( $C_5-C_{10}$ ), (ii) mediana ( $C_{10}-C_{28}$ ) y (iii) pesada ( $>C_{18}$ ) (6,7).

Ahora bien, desde la perspectiva química de la adsorción, el suelo es un complejo sólido poroso cuya densidad de carga se explica de acuerdo al modelo de Uehara y Keng (14):

$$\sigma\sigma = \frac{K\epsilon}{4\pi} \cdot \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{H^+}{H_0^+} = \frac{K\epsilon(0,059)}{4\pi} (pHi - pHs) \quad [1]$$

Donde:  $\sigma\sigma$ : Densidad de carga;  $K$ : recíproco espesor nube de iones que rodea a las partículas;  $\phi_0$ : potencial superficial;  $\epsilon$ : constante dieléctrica del medio;  $R$ : constante de los gases;  $T$ : temperatura absoluta;  $F$ : constante de Faraday;  $pHi$ : punto isoeléctrico del suelo;  $pHs$ : pH del suelo

De acuerdo a la última expresión (Ecuación [1]), la diferencia entre el punto isoeléctrico y el pH del suelo explican la carga neta negativa en la mayoría de los suelos tropicales (15). Usualmente la CIC se ha estudiado en detalle para comprender los procesos de retención de iones por los coloides del suelo (16-19), la disponibilidad de nutrientes para las plantas y la actividad de los organismos del suelo (20-22). Más

recientemente, se ha estudiado también la presencia de sustancias contaminantes como los hidrocarburos semivolátiles, llamados totales de petróleo TPH, para una gestión sostenible del suelo (2).

Con base en los anteriores planteamientos, se propuso evaluar la presencia de fracciones mediana y pesada de TPH y sus efectos sobre propiedades edáficas en suelos de la zona urbana del municipio de Maicao. De igual manera se busca señalar la posible alteración de la calidad de estos suelos, resultados que constituyen una base para los entes territoriales y las autoridades ambientales en el momento de decidir estrategias de manejo.

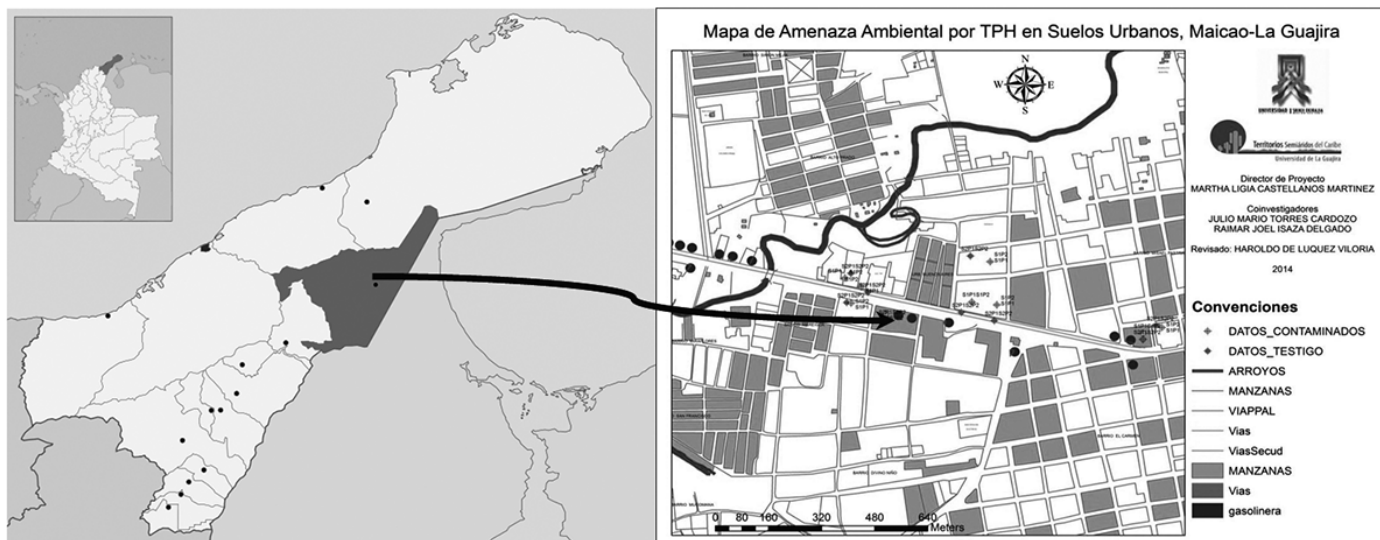
## Materiales y métodos

### Área de estudio

En Maicao (Figura 1), la temperatura oscila entre 27 y 28 °C. La precipitación anual es de 900 mm y la evapotranspiración se estima en 1501 mm, al ser esta última mayor a la precipitación, se evidencia déficit hídrico. Los suelos se caracterizan por ser entre superficiales a moderadamente profundos, bien drenados y de texturas franco arcillosas (23).

### Número de muestras y diseño de muestreo

Para estimar el número de sitios de muestreo se siguió la metodología propuesta por NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 (5), sugiriendo un número entre 8 y 9 muestras por tratamiento. Con base en un reconocimiento previo del municipio sobre rutas de desplazamiento y sitios de almacenamiento de combustibles, se seleccionaron sobre un transecto de 1 km 9 sitios puntuales con antecedentes de derrames e incluso conflagraciones. En contraste se seleccionaron otros 9 sitios sin antecedentes de derrames, para tener finalmente 18 sitios muestreados. Como interesaba conocer si los contaminantes afectaban a lo largo del perfil del suelo, se realizaron muestreos en dos profundidades: 0-30 cm y 30-60 cm.



Fuentes: "Colombia - La Guajira - Maicao" by Shadowxfox - Own work. Licensed under CC BY-SA 3.0 via Commons - [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Colombia-La\\_Guajira-Maicao.svg#/media/File:Colombia-LaGuajira-Maicao.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Colombia-La_Guajira-Maicao.svg#/media/File:Colombia-LaGuajira-Maicao.svg). & Isaza D., R. y Torres, J.M. Mapa de Amenaza Ambiental por TPH en suelos urbanos, Maicao, La Guajira. 2014

Figura 1. Localización de la zona de estudio, Maicao, La Guajira, Colombia



El diseño de muestreo fue completamente al azar, con los siguientes tratamientos: S1P1 (suelo contaminado a profundidad de 0-30 cm), S1P2 (suelo contaminado a profundidad de 30-60 cm), S2P1 (suelo no contaminado a profundidad de 0-30 cm), S2P2 (suelo no contaminado a profundidad 30-60 cm).

Las muestras se tomaron con un barreno (Edelmar Eijkelkamp) para suelos heterogéneos. En total se tomaron 36 muestras de 1 kg de suelo, de acuerdo a los tratamientos ya señalados. Se empacaron en bolsas plásticas de cierre hermético. Se analizaron en el laboratorio de Ciencias Ambientales de la Universidad de La Guajira sede Riohacha.

### Toma de muestras de suelos para determinación de TPH

Con el fin de garantizar la integridad de las muestras para el análisis cromatográfico, se siguió el protocolo establecido por NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 (5), con ajustes en NOM-138-SEMARNAT/SSAI-2012 (6): (i) lavado del barreno con agua desionizada y jabón libre de fosfatos previo el muestreo. (ii) Las muestras fueron manipuladas utilizando guantes de látex quirúrgicos libres de talco. (iii) El barreno fue lavado entre muestreos con el fin de evitar contaminación cruzada. (iv) Luego de ser recolectadas, las muestras de suelo fueron empacadas en bolsas resellables de cierre hermético. (v) Se tomó aproximadamente 1 kg de muestra y se introdujeron en envases de vidrio transparente de boca ancha con tapa rosca, que previo a la toma de muestras, se lavaron con agua hirviendo y detergente libre de fosfatos. (vi) Los envases de vidrio fueron sellados con teflón para evitar el escape de hidrocarburos volatilizables. Así mismo se recubrieron con varias capas de papel aluminio previendo la descomposición fotoquímica de las cadenas carbonadas. (vii) Una vez empacadas y debidamente rotuladas, las muestras fueron refrigeradas a una temperatura aproximada de 4 °C para su posterior análisis.

### Tratamiento de las muestras de suelos para análisis físico, químico y determinación de fracciones mediana y gruesa de TPH

Una vez en el laboratorio, todas las muestras de suelo se pusieron a secar al aire hasta lograr peso constante. Posteriormente se pasaron por el tamiz número 10 (2 mm) y se volvieron a empacar y rotular para su posterior análisis (Tabla 1).

Para las determinaciones de contenido de TPH se siguió el procedimiento sugerido por la EPA (25) y las normas mexicanas que se tomaron como referencia (5,6). Se extrajeron los TPH de las fracciones mediana (método reflujo en Soxhlet, EPA 3540C) y pesada (método de reflujo en Soxhlet, EPA 3550C) y se identificaron por cromatografía de gases con detector de ionización de flama (CG-FID), en los laboratorios de servicios ambientales "Envirotec Services, CA" de la ciudad de Caracas Venezuela.

### Análisis estadístico

Al conjunto de datos (36 por parámetro de suelos) se aplicaron las pruebas de Kolmogorov-Smirnov (distribución normalidad) y de Levene (homogeneidad de varianzas) que llevaron a la adopción de pruebas paramétricas para los posteriores análisis, de acuerdo a los tratamientos estudiados, pruebas de igualdad de medias por ANOVA y Kruskal-Wallis. Se adoptaron pruebas no paramétricas de correlación (Tau-b de Kendall, con significancias de 95%) para establecer naturaleza y grado de relación entre el contenido de TPH y las propiedades del suelo. Se contó con el software IBM SPSS 22 y Excel de Windows 8.0.

### Resultados y discusión

Al conjunto de datos provenientes de las 36 muestras de suelos bajo los 4 tratamientos de estudio, se les aplicó la prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov, cuyos resultados se presentan en la Tabla 2. Sólo pH y humedad del suelo (%) cumplen la condición de la prueba. En la Tabla 3 se presentan los resultados de la prueba para homogeneidad de varianzas aplicada al mismo grupo de datos, en cumplimiento de otro criterio de distribución normal de los errores de los datos. Con base en los resultados de estas pruebas, se realizó la comparación de medias de los parámetros edáficos mediante la prueba paramétrica ANOVA para pH y humedad del suelo (%) y prueba de Kruskal-Wallis para los demás parámetros estudiados.

**Tabla 1.** Parámetros edáficos evaluados y sus métodos de análisis (24)

Parámetro	Método Analítico
pH	Potenciómetro, Dilución 1:1
Conductividad eléctrica, CE (dS/m)	Extracción de pasta de saturación Conductímetro
CIC (cmol(+)/kg)	Método de acetato de Amonio 1N a pH 7.0
Carbono Orgánico, CO (mg/kg)	Método de Walkley and Black por combustión húmeda y calentamiento externo
Estabilidad de Agregados (diámetro medio ponderado, DMP)	Tamizado mecánico (Yoder)
Retención de humedad (%)	Método gravimétrico
Textura para contenido de arcillas (%), arenas (%), limos (%)	Método de Bouyucos

**Tabla 2.** Prueba de Kolmogorov-Smirnov (N = 36) a propiedades físicas y químicas de los suelos urbanos del municipio de Maicao, noviembre 2013 (si  $p > 0,05$  se acepta  $H_0$ )

		pH	CE (dS/m)	CO (g/kg)	Arenas (%)	Arcillas (%)	Limos (%)	Estabilidad_ agregados (DPM)	CIC (cmol(+)/kg)	Retención Humedad (%)	TPH en fracción mediana (ppm)	TPH en fracción pesada (ppm)
Máximas diferencias extremas	Absoluta	0,127	0,208	0,301	0,173	0,185	0,174	0,321	0,168	0,085	0,262	0,274
	Positivo	0,096	0,208	0,301	0,091	0,185	0,174	0,321	0,168	0,085	0,238	0,226
	Negativo	-0,127	-0,17	-0,269	-0,173	-0,118	-0,081	-0,215	-0,11	-0,078	-0,262	-0,274
Estadístico de prueba		0,127	0,208	0,301	0,173	0,185	0,174	0,321	0,168	0,085	0,262	0,274
Sig. asintótica (bilateral)		0,155	0,000	0,000	0,008	0,003	0,008	0,000	0,012	0,200	0,000	0,000

**Tabla 3.** Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene (N=36) a propiedades físicas y químicas de los suelos urbanos del municipio de Maicao, noviembre 2013 (si  $p > 0,05$  se acepta  $H_0$ )

	pH	CE (dS/m)	CO (mg/kg)	Arenas (%)	Arcillas (%)	Limos (%)	Estabilidad_ agregados (DPM)	CIC (cmol(+)/kg)	Retención Humedad (%)	TPH en fracción mediana (ppm)	TPH en fracción pesada (ppm)
Estadístico de Levene	1,103	3,311	5,765	3,078	6,166	1,579	7,105	2,181	0,367	7,459	5,652
df1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
df2	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
Sig.	0,362	0,032	0,003	0,041	0,002	0,214	0,001	0,11	0,777	0,001	0,003

En la Tabla 4 se presentan los resultados del análisis de ANOVA, que señalan diferencias entre los tratamientos del estudio ( $p < 0,05$ ), es decir, la contaminación de hidrocarburos sobre el suelo afectan el pH y la retención de humedad del suelo.

En la Figura 2 se presenta el pH del suelo bajo los tratamientos estudiados, los cuales muestran una ligera disminución en los suelos que han sufrido los vertimientos de TPH (3,5% en la primera capa; 4,9% en la segunda capa). La disminución en los valores de pH concuerdan con lo encontrado en otros estudios (26-28), los cuales señalan que la presencia de hidrocarburos en suelos arenosos (como el que nos compete) facilita la oxidación de las cadenas carbonadas por parte de los microorganismos. A su vez, en el proceso de biodegradación, se produce la libe-

ración de ácidos grasos y compuestos de cadena larga que se comportan como ácidos débiles (29), lo cual podría explicar los resultados de correlación con las fracciones de TPH (fracción mediana -0,271\*; pesada -0,249\*), CO (-0,279') y estabilidad de agregados (-0,344'').

En la Figura 3 se presenta la retención de humedad del suelo (%) bajo los tratamientos de estudio, los cuales muestran la disminución de la humedad por efecto de los vertimientos de TPH, particularmente en la primera capa del suelo de 23,3%; en la segunda capa la disminución fue de 2,8%. Esta disminución se debe al efecto impermeabilizante que causan los TPH sobre las partículas del suelo por efecto de las características poco polares de sus moléculas, reportado en otros estudios (30), por la capacidad de adsorción de los capilares del suelo (14), además de

**Tabla 4.** ANOVA de pH y retención de humedad (%) del suelo por los tratamientos S1P1, S1P2, S2P1, S2P2, en Maicao, noviembre 2013 (N=36; si  $p < 0,05$  se rechaza  $H_0$ )

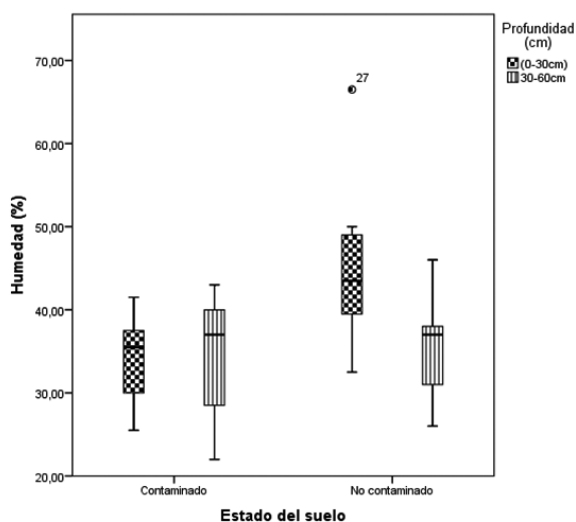
				Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
pH	Entre grupos (S1P1, S1P2, S2P1, S2P2)	(Combinado)		1,595	3	0,532	4,854	0,007
		Término lineal	Contraste	1,463	1	1,463	13,362	0,001
			Desviación	0,131	2	0,066	0,6	0,555
	Dentro de grupos		3,505	32	0,11			
	Total		5,099	35				
Humedad (%)	Entre grupos (S1P1, S1P2, S2P1, S2P2)	(Combinado)		640,243	3	213,414	3,512	0,026
		Término lineal	Contraste	96,068	1	96,068	1,581	0,218
			Desviación	544,175	2	272,087	4,478	0,019
	Dentro de grupos		1944,333	32	60,76			
	Total		2584,576	35				

la influencia de la textura y la materia orgánica (31) y su influencia sobre la CIC medido mediante correlación (0,286<sup>\*</sup>). También se ha planteado que fluidos no acuosos como los TPH pueden quedar atrapados por las arcillas por tener mayor área superficial, formando manchas dentro de las zonas insaturadas por algún tiempo. Así, los sitios donde usualmente se encuentra el agua son ocupados por los TPH sin carga, poco polares, provocando la impermeabilización e hidrofobicidad del suelo (32), circunstancia que incrementa la vulnerabilidad de estos suelos al tensor ambiental sequía.

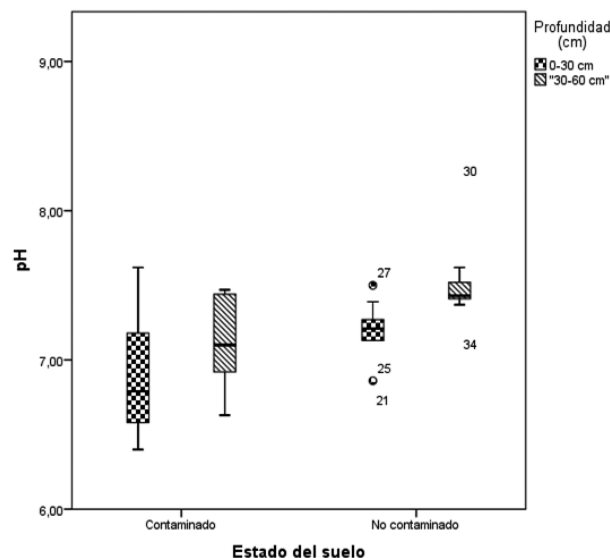
En la Tabla 5 se presentan los resultados de prueba de medias de Kruskal-Wallis, indicando que existen diferencias en CIC, CO, estabilidad de agregados y las fracciones mediana y pesadas de TPH.

Con relación a la CIC, se ha señalado que es una de las propiedades del suelo más afectadas por los TPH (33), encontrando datos de correlación con la fracción mediana de -0,58<sup>\*\*</sup> y con la fracción pesada -0,65<sup>\*\*</sup>, y se explica por la posible adhesión de los TPH a las partículas del suelo (14,15), interfiriendo en la interacción con los cationes intercambiables llevando a su disminución (30,31). En la Figura 4 se observan valores más bajos de CIC en los suelos contaminados, que incluso afecta a la capa de suelo más profunda del estudio (30-60 cm).

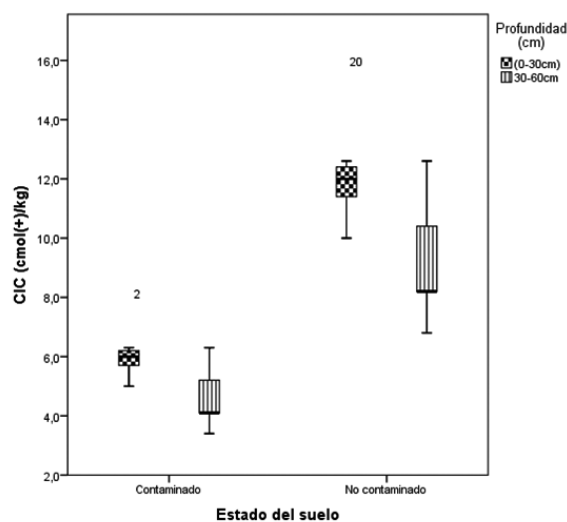
El CO del suelo es otra de las propiedades más afectadas por los TPH (correlación fracción mediana 0,55<sup>\*\*</sup>; fracción pesada 0,40<sup>\*\*</sup>), pues hubo incremento en la capa del suelo más expuesta (0-30 cm), algo más de 5 veces el contenido original, lo cual se explica por la capacidad



**Figura 3.** Valores promedio de retención de humedad del suelo, estado contaminado y no contaminado, a dos profundidades (0-30 cm; 30-60 cm), zona urbana de Maicao, noviembre de 2013



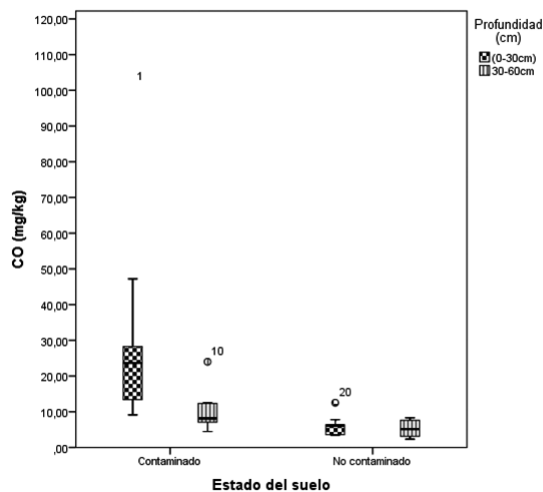
**Figura 2.** Valores promedio de pH del suelo, estado contaminado y no contaminado, a dos profundidades (0-30 cm; 30-60 cm), zona urbana de Maicao, noviembre de 2013



**Figura 4.** Valores promedio de CIC (cmol(+)/kg) del suelo, estado contaminado y no contaminado, a dos profundidades (0-30 cm; 30-60 cm), zona urbana de Maicao, noviembre de 2013

**Tabla 5.** Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para CE, CO, arenas, arcillas, limos, estabilidad de agregados, CIC, fracciones mediana y pesada de TPH, del suelo por los tratamientos S1P1, S1P2, S2P1, S2P2, en Maicao, noviembre 2013 (N=36; si p < 0,05 se rechaza Ho)

	CE (dS/m)	CO (mg/kg)	Arenas (%)	Arcillas (%)	Limos (%)	Estabilidad agregados (DPM)	CIC (cmol(+)/kg)	TPH en fracción mediana (mg/kg)	TPH en fracción pesada (mg/kg)
Chi-cuadrado	4,599	19,698	7,389	7,271	5,007	16,526	29,974	30,883	31,619
Gl (4 tratamientos -1)	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Sig. asintótica	0,204	0	0,06	0,064	0,171	0,001	0	0	0



**Figura 5.** Valores promedio de CO (mg/kg) del suelo, estado contaminado y no contaminado, a dos profundidades (0-30 cm; 30-60 cm), zona urbana de Maicao, noviembre de 2013

de adsorción del suelo de sus capilares y por la carga superficial de las arcillas (28,30,31) (Figura 5). Se observaron correlaciones muy significativas con la estabilidad de agregados (0,453\*\*) y CIC (-0,315\*\*). El incremento en la capa de 30-60 cm (casi el doble) indicaría que hay infiltración de estas sustancias en el perfil del suelo, lo cual lleva a recomendar a seguir evaluando este aspecto al igual que la relación inversa entre CO y CIC por estos resultados, pues el componente orgánico usualmente contribuye al incremento de la CIC (15).

La estabilidad de agregados, que está relacionada con la estructura del suelo, mostró también incremento (200%) en los suelos contaminados por TPH (Figura 6). Se observa una correlación con fracción mediana de 0,474\*\* y la fracción pesada de 0,320\*\*, lo cual se explicaría por el alto índice de viscosidad de los TPH, con efecto cementante y aglomerante entre las partículas del suelo (26,28) por la capacidad de adsorción generada por la CIC.

En la Figura 7 se presenta la concentración promedio de las fracciones mediana y pesada de TPH en cada profundidad por sitio de muestreo. Se encontró mayor concentración de la fracción mediana de TPH en la primera capa del suelo, y la fracción pesada fue mayor en la siguiente capa (30-60 cm). Hubo correlación altamente significativa entre los contenidos de las fracciones de TPH (0,715\*\*).

De acuerdo a la Tabla 5, no se observaron cambios significativos en la textura del suelo, mediante el análisis de su composición granulométrica (arenas, arcillas y limos), y tampoco en la CE, debido a los vertimientos de los TPH.

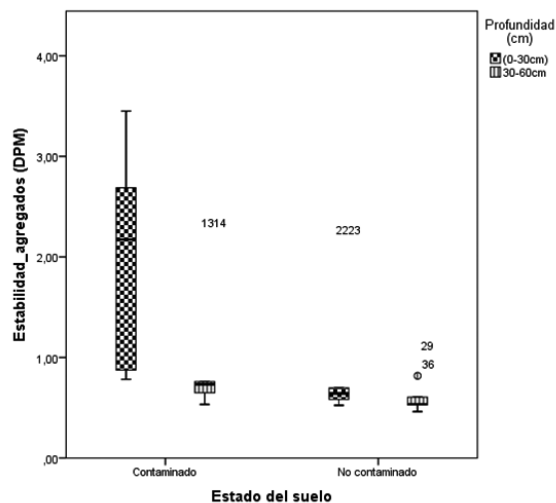
## Conclusiones

Se pudo evidenciar que la contaminación del suelo por los TPH produce cambios en las propiedades físicas y químicas alterando su condición natural, principalmente en las capas expuestas directamente a los vertimientos.

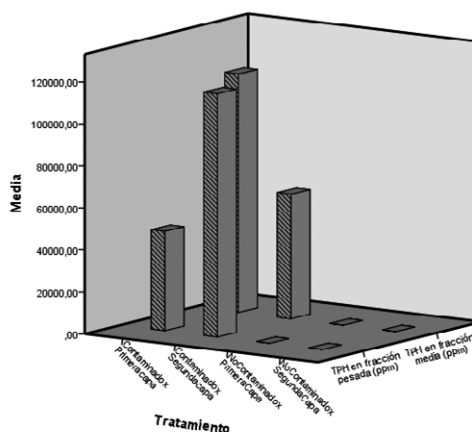
Se encontró una reducción promedio del pH del suelo equivalente a 3,5% y 4,9% en la primera y segunda capa del perfil, respectivamente, por efecto del vertimiento de TPH.

Se evidenció una reducción en la retención de humedad del suelo en la primera capa equivalente a 23,25% y en la segunda una reducción del 2,8%, circunstancia que incrementa la vulnerabilidad de estos suelos al tensor ambiental sequía.

Hubo incremento en el contenido de CO (500%) y de la estabilidad de agregados (200%), y reducción en la CIC (50%) en estos suelos, por lo



**Figura 6.** Valores promedio de Estabilidad de agregados (DPM) del suelo, estado contaminado y no contaminado, a dos profundidades (0-30 cm; 30-60 cm), zona urbana de Maicao, noviembre de 2013



**Figura 7.** Valores promedio del contenido de TPH, fracciones mediana y pesada (ppm), del suelo, tratamientos contaminado y no contaminado, a dos profundidades (0-30 cm; 30-60 cm), zona urbana de Maicao, noviembre de 2013

cual se recomienda seguir estudiando la implementación de técnicas de descontaminación de los mismos, con base en la capacidad de adsorción.

No se observaron cambios significativos sobre la CE y textura del suelo debido a los vertimientos de TPH.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de la Universidad de La Guajira a través de INESAG y del Centro de Investigaciones por la realización de este estudio.

## Referencias

1. Municipio de Maicao, Departamento de La Guajira. 2012. Plan de desarrollo Maicao de la mano con la gente, rumbo al centenario. Disponible en: [http://www.maicao-laguajira.gov.co/apc-aa-files/62306434343132353932663863663238/PDM\\_JUNIO.pdf](http://www.maicao-laguajira.gov.co/apc-aa-files/62306434343132353932663863663238/PDM_JUNIO.pdf). (Consultado 2 de julio de 2015)

2. Pinedo Alonso, J. Evaluación de riesgos en suelos afectados por hidrocarburos de petróleo. Tesis Doctoral, Universidad de Cantabria, Departamento de Ingeniería Química y Biomolecular, Santander, 2014.
3. República de Colombia. Ministerio del Interior. Decreto 321 de 1999. Plan nacional de contingencia contra derrames de hidrocarburos, derivados y sustancias nocivas, 1999. Disponible en: [https://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/decretos/25-dec\\_0321\\_1999.pdf](https://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/decretos/25-dec_0321_1999.pdf). (Consultado 5 de mayo de 2015)
4. República de Colombia. Decreto 1523 de 2012. Gestión del riesgo de Desastres. 2012. Disponible en: [http://www.colombiahumanitaria.gov.co/FNC/Documents/2011/especiales/ley\\_1523.pdf](http://www.colombiahumanitaria.gov.co/FNC/Documents/2011/especiales/ley_1523.pdf) (Consultado 9 de mayo de 2015)
5. República de Colombia. Decreto 1076 de 2015. Decreto Único Reglamentario del Sector Ambiente y Desarrollo Sostenible. 2015. Disponible en: <http://www.parquesnacionales.gov.co/portal/wp-content/uploads/2013/08/Decreto-Unico-Reglamentario-Sector-Ambiental-1076-Mayo-2015.pdf>. (Consultado 15 de julio de 2015)
6. Estados Unidos Mexicanos. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. Disponible en: <http://www.bdlaw.com/assets/htmldocuments/Mexico%20-%20NOM-138.pdf>. (Consultado el 13 de junio de 2015)
7. Estados Unidos Mexicanos. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación. Disponible en <http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/6646/1/nom-138-semarnat.ssa1-2012.pdf>. (Consultado el 14 de junio de 2015)
8. Roy, J.; McGill, W. Investigation into mechanisms leading to the development, spread and persistence of soil water repellency following contamination by crude oil. *Can. J. Soil Sci.* **2000**, *80*, 595-606. DOI: <http://dx.doi.org/10.4141/S99-091>
9. Zavala-Cruz, J.; Gavi-Reyes, F.; Adams-Schroeder, R.; Ferrera-Cerrato, R.; Palma-López, D.; Vaquera-Huerta, H., *et al.* Derrames de petróleo en suelos y adaptación de pastos tropicales en el Activo Cinco Presidentes, Tabasco, México. *Terra latinoamericana.* **2005**, *23* (3), 293-302.
10. Vallejo, V.; Salgado, L.; Roldan, F. Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. *Rev. Colomb. Biotecnol.* **2005**, *2*, 67-78.
11. Adams, R. H.; Álvarez-Ovando, A. L.; Escalante-Espinosa, E.; Gutiérrez-Rojas, M. Dose. Response relationship of organisms in soil with heavily weathered hydrocarbons and changes in fertility parameters. In *13th International Environmental Petroleum Conference*, Proceedings of the International Environmental Petroleum Consortium, San Antonio, Texas, 16-20 October 2006.
12. Benavides, L.; Quintero, G. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova.* **2006**, *4*, 4.
13. CORPO-RISARALDA; UTR. Mejoramiento de la gestión ambiental de las estaciones de servicio de Risaralda- Pereira. 2007.
14. Uehara, G., & Keng, J.-W. Management implications of soil mineralogy in Latin america. In *A. Agency for International Development, Symposium on Management of Tropical Soils, Cali, Colombia: U.S.A.*, 1974; pp 61-92.
15. Garavito Neira, F. Propiedades químicas de los suelos, 2a. ed. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, IGAC: Bogotá, Colombia, 1979.
16. Parfitt, R. L. Anion adsorption by soils and soil materials. In *Adv. Agron.* **1979**, *30*, 1-50. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60702-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60702-6).
17. Bergaya, F.; Vayer, M. CEC of clays: measurement by adsorption of a copper ethylenediamine complex. *Appl. Clay Sci.* **1997**, *12* (3), 275-280. DOI: [http://dx.doi.org/doi:10.1016/S0169-1317\(97\)00012-4](http://dx.doi.org/doi:10.1016/S0169-1317(97)00012-4)
18. Tournassat, C.; Greneche, J.-M.; Tisserand, D.; Charlet, L. The titration of clay minerals: I. Discontinuous backtitration technique combined with CEC measurements. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *273* (1), 224-233. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2003.11.021>
19. Dohrmann, R. Cation exchange capacity methodology II: a modified silver-thiourea method. *Appl. Clay Sci.* **2006**, *34* (1-4), 38-46. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2006.02.009>
20. Gregory, P.J. Growth and functioning of plant roots. In *Rusell's Soil conditions and plant growth*, 19<sup>th</sup> ed; Wild A. (Ed). Department of Soil Science: University of Reading Longman Scientific and Technical, 1988; pp 113-167.
21. Schlesinger, W.H. Biogeoquímica: un análisis del cambio global. Joan Riera Ed. Ariel Ciencia S.A: Barcelona, España, 2000; p 580.
22. Lora-Silva, R. Factores que afectan la disponibilidad de nutrimentos para las plantas. En *Fertilidad de suelos. Diagnóstico y control*, 2da. Ed; Francisco Silva Mojica Ed. Sociedad colombiana de la ciencia del suelo: Bogotá, D.C., 2001; pp 29-55.
23. IGAC. Estudio general de suelos y zonificación de tierras del departamento de la Guajira, 1<sup>a</sup> ed. Imprenta Nacional de Colombia: Riohacha, La Guajira, Colombia, 2009.
24. IGAC. Métodos analíticos del laboratorio de suelos. Instituto Geográfico Agustín Codazzi: Bogotá, Colombia, 2006; Vol. 5.
25. EPA. Disponible en: <http://www.epa.gov>. (Consultado el 22 de enero de 2015)
26. Caravaca, F.; Roldán, A. Assessing changes in physical and biological properties in a soil contaminated by oil sludges under semiarid Mediterranean conditions. *Geoderma.* **2003**, *117*, 53-61. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-7061\(03\)00118-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-7061(03)00118-6).
27. De la Garza, F. R.; Ortiz, Y. P.; Macias, B. A.; García, C.; Coll, D. Actividad biótica del suelo y la contaminación por hidrocarburos. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales.* **2008**, *4* (2), 49-54.
28. Martínez, V. E.; López, S. F. Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelos arcillosos. *Terra Latinoamericana.* **2001**, *19*, 9-17.
29. Sadzawka, R.; Campillo, R. Problemática de la acidez de los suelos de la XI región. I. Génesis y características del proceso. *INIA.* **1993**, *12* (3), 3-7.
30. Fine, P.; Graber, E. R.; Yaron, B. Soil interactions with petroleum hydrocarbons: abiotic processes. *Soil Technol.* **1997**, *10* 133-153. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0933-3630\(96\)00088-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0933-3630(96)00088-8)
31. Méndez, E.; Castellanos, D.; Alba, G. I.; Hernández, G.; Solís, S.; Levesse, G.; *et al.* Effect in the physical and chemical properties of Gleysol Soil after an electro-kinetic treatment in presence of surfactant Triton x-114 to remove hydrocarbon. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2011**, *6*, 1250-1268.
32. Schwillie, F. Groundwater pollution in porous media by fluids immiscible with water. *Sci. Total Environ.* **1981**, *21*, 173-185. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697\(81\)90150-9](http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697(81)90150-9).
33. Pignatello, J.; Xing, B. Mechanisms of show sorption of organic chemicals to natural particles. *Environ. Sci. Technol.* **1996**, *30*, 1-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/es940683g>

**Article citation:**

Castellanos, M.L.; Isaza, R.J.; Torres, J.M. Evaluación de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) sobre suelos urbanos en Maicao, Colombia. *Rev. Colomb. Quim.* **2015**, *44* (3), 11-17. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n3.55605>



Recibido: 17 de septiembre de 2015. Aceptado: 30 de octubre de 2015

## Caracterización textural y química de carbones activados preparados a partir de cuesco de palma africana (*Elaeis guineensis*) por activación química con $\text{CaCl}_2$ y $\text{MgCl}_2$

### Resumen

Se obtuvieron carbones activados mediante activación química de cuesco de palma africana (*Elaeis Guineensis*) con soluciones de cloruro de magnesio y cloruro de calcio a diferentes concentraciones. Los materiales preparados se caracterizaron textural y químicamente. Los resultados obtenidos muestran que los carbones activados con los mayores valores de área superficial y volumen de poro se obtienen cuando se emplean soluciones con las menores concentraciones del agente activante. Los carbones activados obtenidos presentan áreas superficiales y volúmenes de poro con valores entre 10 y 501  $\text{m}^2/\text{g}$  y 0,01 y 0,29  $\text{cm}^3/\text{g}$  respectivamente. Los valores de las entalpías de inmersión de los sólidos en agua se encuentran entre -14,3 y -32,8 J/g y en benceno entre -13,9 y -38,6 J/g. La acidez y la basicidad total de los carbones activados presentan valores entre 23 y 262  $\mu\text{mol}/\text{g}$  y 123 y 1724  $\mu\text{mol}/\text{g}$  respectivamente. También se determinó el pH en el punto de carga cero, con valores entre 4,08 y 9,92 para el conjunto de los carbones activados. Los resultados muestran que la activación con las sales  $\text{MgCl}_2$  y  $\text{CaCl}_2$  producen carbones activados con poros en el rango de los mesoporos que facilitan la entrada del adsorbato al interior del material.

**Palabras clave:** carbón activado, solución de  $\text{CaCl}_2$ , solución de  $\text{MgCl}_2$ , entalpía de inmersión.

## Textural and chemical characterization of activated carbon prepared from shell of african palm (*Elaeis guineensis*) by chemical activation with $\text{CaCl}_2$ and $\text{MgCl}_2$

### Abstract

Activated carbons through chemical activation of African palm shells (*Elaeis guineensis*) with magnesium chloride and calcium chloride solutions at different concentrations were obtained. The prepared materials were characterized textural and chemically. The results show that activated carbons with higher values of surface area and pore volume are obtained when solutions with lower concentrations of the activating agent are used. The obtained activated carbons have surface areas and pore volumes with values between 10 and 501  $\text{m}^2/\text{g}$  and 0.01 and 0.29  $\text{cm}^3/\text{g}$  respectively. Immersion enthalpies values of solids in water were between -14.3 and -32.8 J/g and benzene between -13.9 and -38.6 J/g. Total acidity and basicity of the activated carbons had values between 23 and 262  $\mu\text{mol}/\text{g}$  and 123 and 1724  $\mu\text{mol}/\text{g}$  respectively. pH at the point of zero charge was also determined with values between 4.08 and 9.92 for set of activated carbons. The results show that activation with  $\text{CaCl}_2$  and  $\text{MgCl}_2$  salts produce activated carbons with pores in the range of mesopores for facilitate entry of the adsorbate into the materials.

**Keywords:** activated carbon,  $\text{CaCl}_2$  solution,  $\text{MgCl}_2$  solution, immersion enthalpy.

## Caracterização textural e química de carvões ativados preparados a partir de casca da palmeira africana (*Elaeis guineensis*) por ativação química com $\text{CaCl}_2$ y $\text{MgCl}_2$

### Resumo

Carvões ativados por ativação química a partir da casca de palmeira africana (*Elaeis guineensis*) com soluções de cloreto de magnésio e cloreto de cálcio em diferentes concentrações foram obtidas. Os materiais preparados foram caracterizados pela textura e quimicamente. Os resultados obtidos mostram que os carvões ativados com maiores valores de área superficial e volume de poros se conseguem usando baixas concentrações do ativante. Os carvões ativados obtidos têm áreas superficiais e volumes de poro com valores entre 10 e 501  $\text{m}^2/\text{g}$  e 0,01 e 0,29  $\text{cm}^3/\text{g}$ , respectivamente. Os valores da entalpia de imersão do sólido em água situam-se entre -14,3 e -32,8 J/g e em benzeno entre -13,9 e -38,6 J/g. A acidez e basicidade total dos carvões ativados obtidos apresentam valores entre 23 e 262  $\mu\text{mol}/\text{g}$  e 123 e 1724  $\mu\text{mol}/\text{g}$ , respectivamente. O pH no ponto de carga zero também foi determinado com valores entre 4,08 e 9,92 para todos os carvões ativados. Os resultados mostram que a ativação com  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{MgCl}_2$  produz carvões ativados com poros na gama de mesoporos que facilitam a entrada do adsorbato para os materiais.

**Palavras-Chave:** carvão ativado, solução de  $\text{CaCl}_2$ , solução de  $\text{MgCl}_2$ , entalpia de imersão.

## Introducción

Colombia fue en el año 2010 el primer productor en América Latina de aceite de palma y fue el quinto en el mundo, después de Indonesia, Malasia, Tailandia y Nigeria con una producción nacional de 753 mil toneladas, el equivalente al 1,6% del total mundial (1). En Colombia, se producen aproximadamente tres mil toneladas de cuesco de palma africana al año. El cuesco de palma es un residuo sólido resultante del proceso de producción de aceite de palma, que causa a su vez contaminación ambiental debido a la falta de alternativas que conlleven a su aprovechamiento en procesos industriales. Por esta razón, en este trabajo se eligió como material precursor de tipo lignocelulósico para la preparación de los carbones activados (2).

Los carbones activados (CAs) presentan alta estructura porosa que les confiere un área superficial y un volumen de porosidad elevado cuando se comparan con otros sólidos porosos, por ejemplo las zeolitas, arcillas y sílices que presentan valores de área superficial menores a 100 m<sup>2</sup>/g y poseen como límite superior valores de área superficial de alrededor de 600 m<sup>2</sup>/g (3). Estas características hacen de estos materiales excelentes adsorbentes en diferentes procesos. Los CAs presentan, además de las características ya mencionadas, otras ventajas relevantes como la versatilidad en la fabricación, es decir, la posibilidad de modificar su estructura porosa y química superficial con base en los requerimientos establecidos en una aplicación concreta; la posibilidad de modificar de forma sencilla su conformación (polvo, grano, tela, etc.); la posibilidad de recuperar el adsorbato; la fácil regeneración, entre otras (4).

La estructura porosa del CA está formada por secciones imperfectas de láminas grafiticas apiladas de tamaño pequeño, que poseen defectos estructurales, y que se entrelazan para crear una red tridimensional donde los espacios entre ellos constituyen la porosidad. Sin embargo, aunque la porosidad es la principal característica que se relaciona con la capacidad adsorbente de los carbones activados, la composición química de la superficie también juega un papel importante en la adsorción cuando se consideran interacciones específicas, ya que determina el contenido de humedad, las propiedades catalíticas, su carácter ácido o básico y la adsorción de especies polares (5,6).

Los carbones activados, se caracterizan textural y químicamente y se determinan entalpías de inmersión de los sólidos en agua y benceno, cuyos resultados se relacionan con las características superficiales, con el propósito de establecer su influencia en las interacciones energéticas de los carbones activados con los disolventes.

Para la preparación de carbón activado se suelen emplear dos metodologías: la activación física y la activación química. En la activación química el precursor se hace reaccionar con un agente químico activante y suele tener lugar en una única etapa a temperaturas que pueden variar entre 673 y 923 K. Se suelen usar como agentes activantes químicos ácidos, bases y sales en estado sólido o en solución. Estos agentes activantes favorecen la deshidratación y luego una reordenación estructural a temperaturas relativamente bajas (7-9).

En este trabajo, se prepararon CAs por activación química con soluciones acuosas de diferente concentración de dos activantes químicos, MgCl<sub>2</sub> y CaCl<sub>2</sub>. Se utilizó cuesco de palma africana, *Elaeis guineensis*, como precursor. Se propone el uso de las sales como activantes para obtener sólidos mesoporosos que faciliten la entrada de los diferentes tipos de adsorbatos hacia los microporos.

## Materiales y métodos

### Impregnación y carbonización

El cuesco de palma africana se trituró y tamizó a un tamaño aproximado de 4 mm. Posteriormente se impregnó con soluciones acuosas de MgCl<sub>2</sub> o CaCl<sub>2</sub> en relación de 2 mL de solución por 1 g de material precursor; se utilizaron soluciones de las sales 3, 5 y 7% p/v. Durante el proceso se mantuvo una temperatura de 358 K durante 48 h. Los agentes químicos que se usaron en la impregnación química fueron reactivos analíticos marca Merck®.

Los sólidos impregnados se sometieron a carbonización en flujo de CO<sub>2</sub> de 110 mL/min hasta alcanzar temperaturas en el rango de trabajo entre 773 y 1073 K realizando una detención isotérmica durante 6 h. Posteriormente se mantuvo una temperatura de 723 K durante 2 horas en atmósfera de N<sub>2</sub> para retirar el exceso de CO<sub>2</sub> de los materiales (3). Los sólidos se lavaron, secaron y almacenaron en atmósferas de nitrógeno. La nomenclatura es: carbón activado granular, CAG; seguido de Ca o Mg de acuerdo a la sal activante; 3, 5, 7 es la concentración del impregnante (en % p/v) seguido de la temperatura de carbonización.

### Caracterización textural

Los carbones activados se caracterizaron por adsorción física de N<sub>2</sub> a 77 K en un equipo automático Autosorb 3B Quantachrome®, para determinar los parámetros texturales, a saber, área superficial, volumen de poro y tamaño de distribución de poro.

### Determinación de la entalpía de inmersión

Se determinaron entalpías de inmersión de los carbones activados en agua y benceno en un microcalorímetro de conducción calor (4). Para esta determinación se pesaron alrededor de 100 mg de carbón activado y se colocaron en una ampolleta de vidrio que se acopló en el interior de la celda del equipo. Se pusieron 10 mL de disolvente en una celda de acero inoxidable, se estabilizó la temperatura y se comenzó el registro térmico. Luego se realizó la inmersión de la muestra en el disolvente, se registraron los cambios térmicos resultantes y por último se registró un post-período durante 20 min al final del cual se realizó la experiencia de calibración eléctrica (11,12).

### Caracterización química

En cuanto a la caracterización química de los carbones activados, la acidez y basicidad total se evaluaron a través del método de Boehm (13), con soluciones de 0,1 M de NaOH y HCl que neutralizan los grupos ácidos y básicos de la superficie. Se determinó el pH en el punto de carga cero, pH<sub>PCC</sub>, mediante el método de titulación de masas (4).

### Difracción de Rayos X (XRD)

La difracción de rayos X de los carbones activados preparados se tomó en un difractómetro de Rayos X usando radiación CuK $\alpha$  a 40 kV y 14 mA. Los carbones activados fueron macerados hasta obtener un polvo, que a su vez se puso en un soporte para medir el espectro de rayos X, los datos se tomaron de 5° < 2 $\theta$  < 80° a una velocidad de 0,1° (2 $\theta$ ) por minuto.

## Resultados y discusión

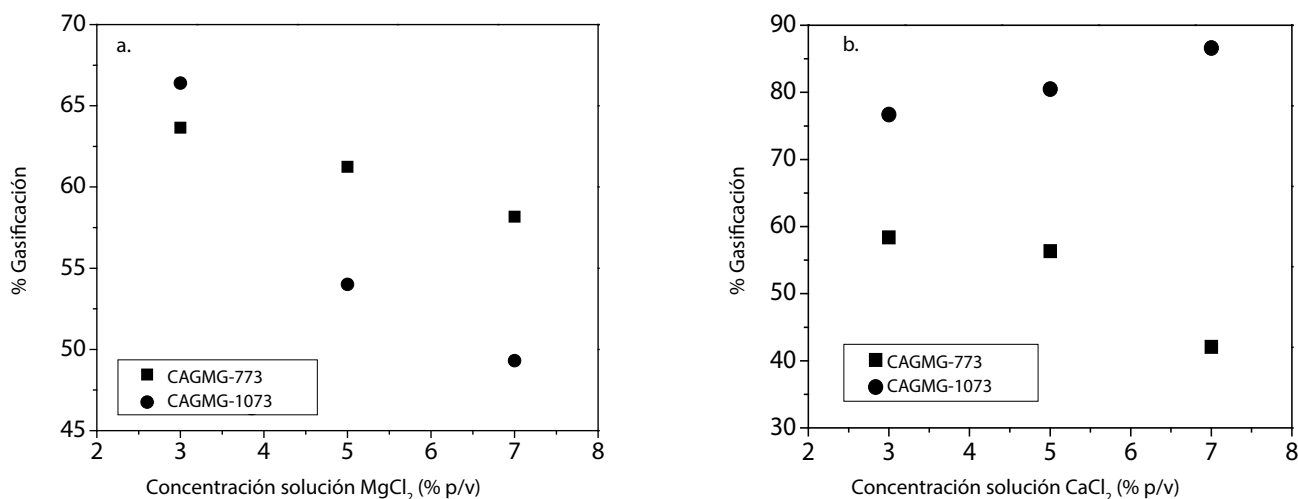
Las sales de Ca y Mg activan la reacción de gasificación del precursor con alto contenido de carbono para que se produzca una determinada porosidad en el sólido final. Se calculó la cantidad de masa que pierde el material precursor para cada condición de activación como el porcentaje de gasificación, cuyos resultados se encuentran entre 42,1 y 66,4%, que corresponden a rendimientos de alrededor del 30%. Estos rendimientos son semejantes a los que se han obtenido en trabajos similares, en los que los CAs se preparan a partir de materiales lignocelulósicos que se activan químicamente con soluciones de ácido fosfórico (14,15).

En la Figura 1 se observa que los porcentajes de gasificación están relacionados con el tipo de agente activante que se emplea, en la Figura 1a se muestran los porcentajes de gasificación que se obtienen en la serie activada con solución de  $\text{CaCl}_2$  y en la Figura 1b los obtenidos para los carbones activados con soluciones de  $\text{MgCl}_2$ . Los valores de porcentajes para el proceso de gasificación con solución de  $\text{CaCl}_2$  a 1073 K son mayores que para las otras condiciones. Para los sólidos obtenidos con soluciones de  $\text{MgCl}_2$  a 773 y 1073 K y con soluciones de  $\text{CaCl}_2$  a 773 K se observa una disminución en el porcentaje de gasificación con el

aumento en la concentración del activante. Esta tendencia se atribuye a que durante la activación con las sales, la pérdida de peso producida en la carbonización ocurre en concentraciones bajas ya que la pequeña cantidad de los impregnantes se puede distribuir de modo uniforme en el precursor. La acción catalítica de estos agentes activantes aumenta con la temperatura de activación y por lo tanto hay una mayor cantidad de material que se remueve de la matriz de los carbones.

En la Tabla 1 se presentan las características texturales de los carbones activados obtenidos. El área BET para la serie CAGMg se encuentra entre 20 y 501  $\text{m}^2/\text{g}$  y para la serie de CAGCa entre 10 y 453  $\text{m}^2/\text{g}$ . El volumen total de poro para estas mismas series se encuentra entre 0,02-0,29  $\text{cm}^3/\text{g}$  y 0,01-0,25  $\text{cm}^3/\text{g}$ , respectivamente. Los resultados de los parámetros texturales son comparables con los reportados para carbones activados obtenidos a partir de residuos lignocelulósicos (16).

Las diferencias en las características texturales que se encuentran en los materiales carbonosos muestra que los agentes activantes que se emplean presentan un efecto diferente sobre las propiedades de los CAs en función de su naturaleza. Pero la mayor influencia se marca en la temperatura de activación, a 773 K la producción de porosidad es menor y por tanto se obtienen valores de área superficial y volumen de poro menores. El CA que presenta los mayores valores de área superficial y



**Figura 1.** Porcentaje de gasificación del proceso de obtención de los carbones activados en función de la concentración de los agentes activantes. a). CAGMg, b). CAGCa

**Tabla 1.** Características texturales de los carbones activados obtenidos

Muestra	Área BET ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	$V_{\text{Total}}$ ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )
CAGMg3-773	20,0	0,02
CAGMg5-773	35,0	0,03
CAGMg7-773	110	0,04
CAGMg3-873	105	0,25
CAGMg3-973	362	0,27
CAGMg3-1073	501	0,29
CAGCa3-773	19,0	0,03
CAGCa5-773	12,0	0,01
CAGCa7-773	10,0	0,01
CAGCa3-873	27,0	0,03
CAGCa3-973	247	0,24
CAGCa3-1073	453	0,25
CAGCa5-1073	433	0,22
CAGCa7-1073	223	0,20

volumen de poro corresponde a la muestra CAGMg3-1073, con valores de  $501 \text{ m}^2/\text{g}$  y  $0,29 \text{ cm}^3/\text{g}$ , respectivamente.

La Figura 2 (a y b) presenta las isotermas de adsorción de nitrógeno para los carbones activados obtenidos, manteniendo constante la concentración de la sal en 3% y modificando la temperatura de activación. Se elige esta concentración porque con ella se obtienen carbones activados con valores más altos de adsorción de  $\text{N}_2$ .

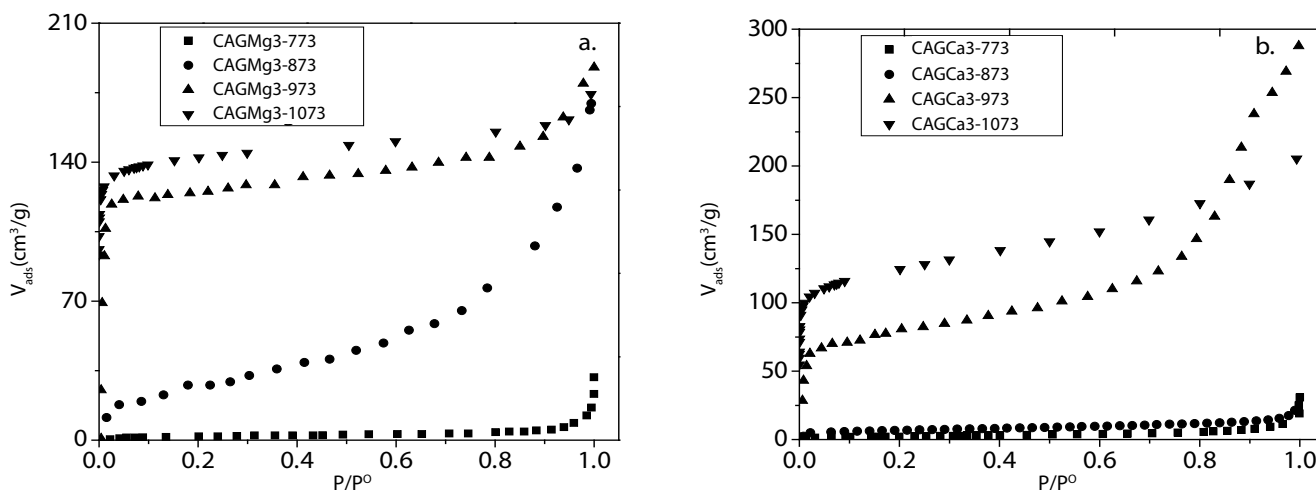
La activación con las dos sales ( $\text{MgCl}_2$  y  $\text{CaCl}_2$ ) presenta efectos similares; se observa que a menor temperatura en el proceso de activación se hace menor la adsorción de  $\text{N}_2$  y se obtienen sólidos porosos con valores para los parámetros texturales menores. Los valores de adsorción de  $\text{N}_2$  son de  $1,5 \text{ cm}^3/\text{g}$ , indicando la alta influencia de las temperaturas de activación en el proceso de activación, creación de porosidad, con las sales que se emplean en este trabajo.

En la Figura 3 se presenta la distribución de tamaño de poro para la serie preparada a una misma concentración de  $\text{CaCl}_2$  con cambio en la temperatura de activación. Se observa que al incrementar la temperatura de activación se obtienen mayores parámetros texturales. En relación con la distribución de tamaño de poro, que se calcula mediante el modelo Dubinin-Astakov (17), la Figura 2 muestra que para una misma concentración de la sal impregnante, el aumento de temperatura incre-

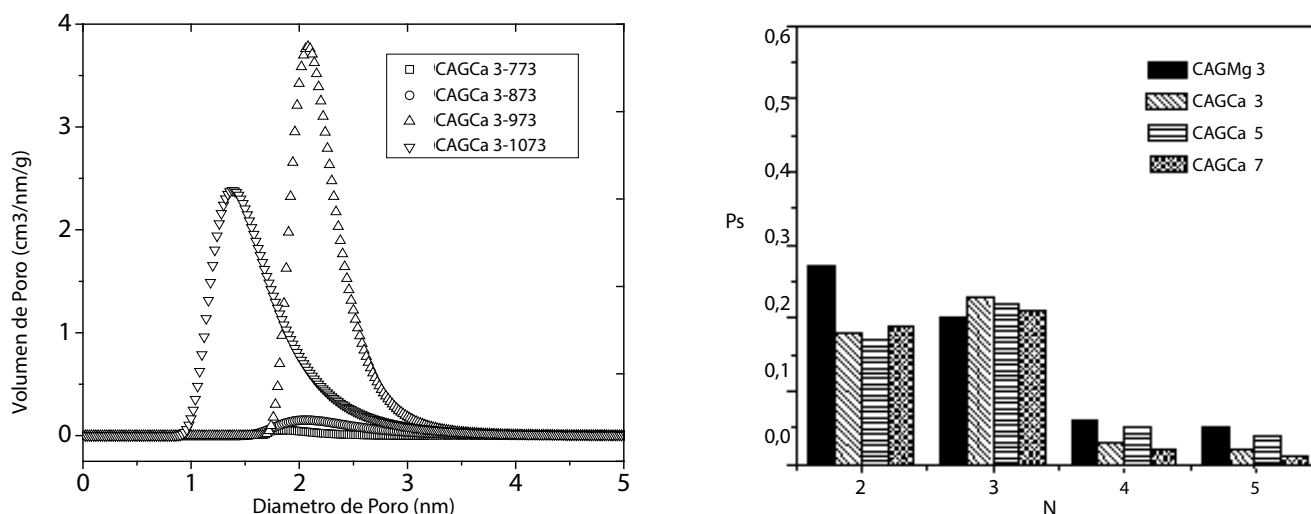
menta, a su vez, la cantidad y distribución del tamaño de poros. Así para los carbones activados con  $\text{CaCl}_2$  se presenta porosidad en el rango de los mesoporos (18).

De acuerdo con los resultados obtenidos en la caracterización textural se escogieron los carbones activados que presentaron los mayores valores de área superficial, que a su vez se activan a las menores concentraciones de las sales impregnantes, para determinar a estos sólidos los espectros de rayos x y calcular parámetros texturales de los CAs al aplicar la metodología STAC-XRD (Standard Analysis of Coal by XRD). Yoshizawa *et al.* (19) han contribuido al estudio del proceso de activación de carbones al aplicar un análisis de Fourier a los difractogramas de los CAs. Mediante esta técnica, se pueden obtener y estudiar parámetros estructurales del carbón, como número de capas que componen los apilamientos de planos aromáticos,  $\bar{N}$ , y la fracción de estructura apilada,  $P_s$ , que es equivalente a la fracción de estructura cristalina. Estos autores (19) denominaron esta técnica con las siglas STAC-XRD, y la aplicaron al estudio de la activación física de residuos lignocelulósicos, de carbones minerales y a la activación química de carbones de diferentes rangos.

En la Figura 4 se observa que la probabilidad de encontrar capas apiladas en cada una de las muestras es de diferente magnitud. Para el



**Figura 2.** Isotermas de adsorción de Nitrógeno de los carbones activados con solución al 3%. a)  $\text{MgCl}_2$ , b)  $\text{CaCl}_2$  a diferente temperatura de activación entre 773 y 1073 K



**Figura 3.** Distribución de tamaño de poro usando el modelo DA para las series preparadas a una misma concentración de  $\text{CaCl}_2$  y diferente temperatura de activación

**Figura 4.** Distribución de capas aromáticas por apilamiento para las muestras CAGMg y CAGCa 1073K

carbón activado CAGMg3-1073 hay un aumento en la probabilidad de encontrar apilamientos de dos capas, así mismo se observa una disminución en la probabilidad de encontrar apilamientos de tres, cuatro y cinco capas. Este comportamiento se puede asociar con el efecto del agente activante sobre el precursor lignocelulósico, al aumentar la concentración del activante, la degradación del material orgánico aumenta también y por lo tanto la probabilidad de encontrar apilamientos de más de tres capas es menor, pues la matriz disminuye su organización (19,20).

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la caracterización de los carbones activados escogidos usando la metodología STAC-XRD. Los parámetros establecidos para realizar el análisis corresponden a  $\bar{N}$  que está relacionado con la probabilidad de encontrar apilamientos de capas mayores a dos (su valor se expresa en promedio) y el parámetro  $P_s$ , que corresponde a la proporción de carbono presente en la muestra como cristales de planos apilados con respecto al total de carbono del material.

Los resultados de la Tabla 3 muestran que cuando el material precursor se impregna con soluciones de  $\text{CaCl}_2$ , a mayor concentración de la solución, el número promedio de capas apiladas aumenta y la fracción de estructura cristalina disminuye. Estos parámetros  $\bar{N}$  y  $P_s$  se relacionaron con el área superficial de los CAs y el resultado se presenta en la Figura 5. Se observó una reducción del promedio de capas en los apilamientos  $\bar{N}$ , conforme aumenta el área superficial de los carbones. Esta tendencia es coherente desde un punto de vista estructural ya que la degradación de la matriz permite la obtención de mayores áreas superficiales y, por ende, la probabilidad de encontrar apilamientos de tres, cuatro y cinco capas disminuye. Con respecto al factor  $P_s$  se observa, para el conjunto de carbones activados que se analizaron, un aumento del  $P_s$  junto con el aumento del área superficial, que se relaciona con la posibilidad de creación de porosidad en los sólidos. Esta tendencia es similar a la que reportan otros investigadores (21, 22).

También se llevó a cabo la cuantificación del contenido de grupos ácidos y básicos en la superficie, pues se relaciona también con la concentración de la solución de la sal activante. Así, en la Tabla 3, se presenta el contenido de grupos ácidos y básicos totales para los carbones activados que se preparan con igual concentración de la solución de la sal y a diferentes temperaturas. Se observa que al impregnar con solución de  $\text{MgCl}_2$  y al aumentar la temperatura de activación, se produce un incremento en la basicidad total de los carbones activados.

Para los carbones activados preparados con  $\text{CaCl}_2$  se observa una tendencia diferente ya que el aumento en la temperatura genera un incremento moderado en la acidez y por tanto una disminución en la basicidad. Se observa que la muestra que se activa con solución de 3% de  $\text{CaCl}_2$  a 1073 K presenta una acidez total superior a la basicidad total, lo que indica que existe una disminución de la densidad electrónica de los planos basales causada por la presencia de grupos oxigenados. Sin embargo, como se observa en los valores de la Tabla 3, la acidez total es moderada si se compara con el conjunto de carbones activados con soluciones de  $\text{MgCl}_2$ , por lo que el carácter de la superficie es ácido de acuerdo a los valores de pH en el punto de carga cero,  $\text{pH}_{\text{PCC}}$ , menores. Finalmente los carbones activados se caracterizan entálpicamente, por medio de calorimetrías de inmersión en benceno y agua para conocer el grado de hidrofobicidad de la superficie.

En la Figura 6 se presentan las curvas calorimétricas (potencial eléctrico en función del tiempo) obtenidas en la inmersión en benceno para cuatro carbones activados a una misma concentración del agente activante  $\text{CaCl}_2$ . El pico que se genera en las curvas es proporcional al calor que se produce en el contacto entre el sólido y el líquido y permite calcular la entalpía de inmersión. Teniendo en cuenta que los carbones activados se activan a diferentes temperaturas, se observa que a medida que incrementa la temperatura en el proceso de activación, se incrementa la interacción del sólido con el líquido y, como el benceno produce interac-

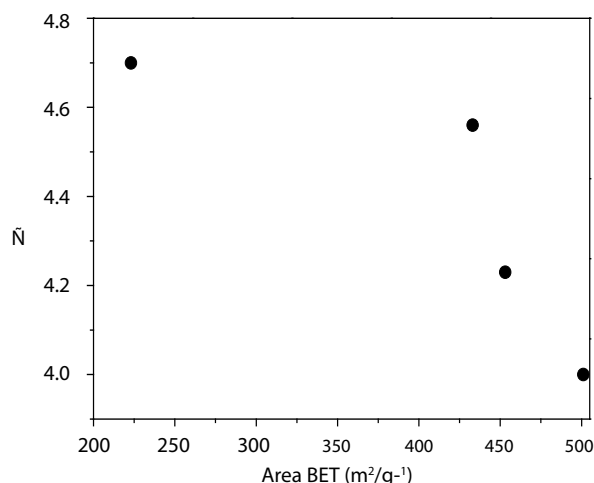
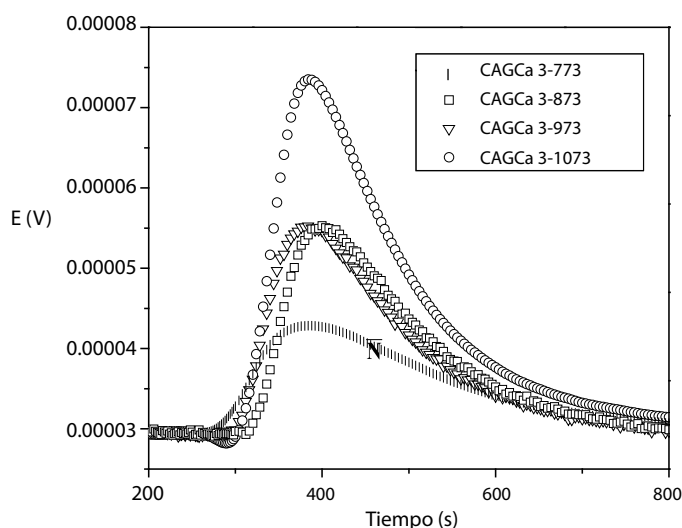
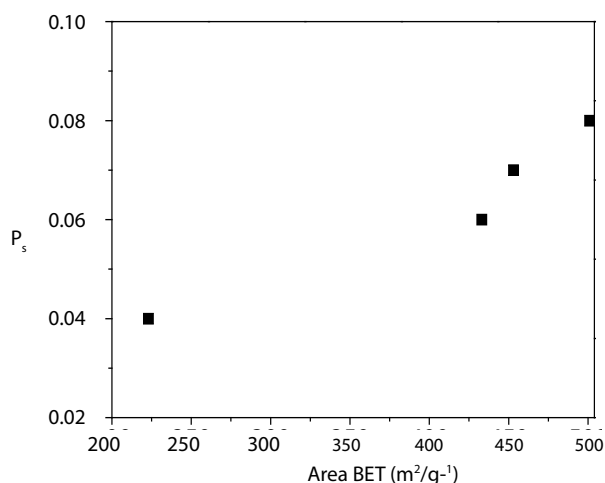
**Tabla 2.** Resultados de la caracterización por STAC XRD aplicada a los carbones activados a 1073 K

Muestra	Promedio de capas en los apilamientos $\bar{N}$	Fracción de estructura cristalina $P_s$
CAGMg3-1073	4,00	0,08
CAGCa3-1073	4,23	0,07
CAGCa5-1073	4,56	0,06
CAGCa7-1073	4,70	0,04

**Tabla 3.** Contenido de acidez, basicidad total y punto de carga cero de los carbones activados con soluciones de  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{MgCl}_2$  al 3% a diferente temperatura de activación

MUESTRAS	$\text{pH}_{\text{PCC}}$	Basicidad total ( $\mu\text{mol/g}$ )	Acidez total ( $\mu\text{mol/g}$ )
CAGMg3-773	8,02	817	88
CAGMg3-873	8,96	610	80
CAGMg3-973	9,25	644	72
CAGMg3-1073	9,92	1724	23
CAGCa3-773	6,98	510	40
CAGCa3-873	5,87	210	112
CAGCa3-973	4,63	145	174
CAGCa3-1073	4,08	123	262




**Figura 5.** Relación entre los parámetros  $\bar{N}$  y  $P_s$  con el área superficial de los carbones activados

**Figura 6.** Curvas calorimétricas de la inmersión en benceno de los carbones impregnados con CaCl<sub>2</sub> a una misma concentración con cambio de la temperatura de activación

**Tabla 4.** Entalpías de inmersión en agua, benceno y factor hidrofóbico de los carbones activados

Muestra	$-\Delta H_{imm} H_2O$ (J/g)	$-\Delta H_{imm} C_6H_6$ (J/g)	Factor Hidrofóbico $\frac{-\Delta H_{imm} C_6H_6}{-\Delta H_{imm} H_2O}$
CAGMg3-773	$14,3 \pm 0,6$	$13,9 \pm 0,9$	0,97
CAGMg3-873	$20,5 \pm 1,3$	$26,6 \pm 1,4$	0,76
CAGMg3-973	$27,6 \pm 0,1$	$21,0 \pm 1,0$	1,30
CAGMg3-1073	$18,3 \pm 0,7$	$38,6 \pm 0,7$	2,11
CAGCa3-773	$32,8 \pm 0,6$	$19,5 \pm 1,1$	0,59
CAGCa3-873	$24,5 \pm 0,8$	$21,5 \pm 0,6$	0,88
CAGCa3-973	$17,8 \pm 1,5$	$25,0 \pm 0,9$	1,40
CAGCa3-1073	$17,3 \pm 0,5$	$35,1 \pm 0,3$	1,96

ciones no específicas con el carbón activado, el aumento en la entalpía de inmersión indica un mayor desarrollo de área superficial.

En la Tabla 4 se presentan los resultados de las entalpías de inmersión de los carbones activados en agua y benceno y el valor del factor hidrofóbico que se calcula como el cociente entre la entalpía de inmersión en benceno y la entalpía de inmersión en agua. Las entalpías de inmersión en agua y en benceno son de carácter exotérmico, que es consistente con el proceso superficial que se lleva a cabo entre el sólido y el líquido. Las entalpías de inmersión en agua se encuentran entre -14,3 y -32,8 J/g y en benceno entre -13,9 y -38,6 J/g. En todas las series se observa que los valores entálpicos guardan una correlación con el área superficial de los sólidos; este comportamiento ha sido reportado en diferentes estudios (23, 24).

Con respecto al factor hidrofóbico, los valores se encuentran entre 0,97 y 2,11 para los materiales activados con las sales metálicas de calcio y magnesio a una misma concentración con cambio de la temperatura de activación. Esto muestra que los CAs que presentan los mayores valores de área BET tienen un factor hidrofóbico mayor, lo cual los hace adecuados para la adsorción de moléculas apolares. En la Tabla 4 se aprecia que las entalpías de inmersión en agua y benceno de los materiales carbonosos varían en cada serie con el incremento de la temperatura y dependiendo del agente activante.

## Conclusiones

Los resultados experimentales muestran que las características texturales de los carbones activados preparados dependen del agente activante empleado, su concentración y temperatura de activación. Así, se muestran mayores valores de los parámetros texturales para la muestra CAGMg3-1073 que se impregna con solución acuosa de 3% *p/v* de MgCl<sub>2</sub> y se activa a 1073 K. En comparación, los carbones activados con soluciones de CaCl<sub>2</sub> presentan valores de área superficial entre 10 y 453 m<sup>2</sup>/g. Se obtuvieron carbones activados con diferentes características texturales: con áreas superficiales BET entre 10-501 m<sup>2</sup>/g y volúmenes de poro entre 0,01-0,29 cm<sup>3</sup>/g. Los carbones activados con mayores valores de área superficial presentan capas de apilamientos entre 4,00 y 4,70. Asimismo, la fracción de estructura cristalina aumenta al aumentar el área superficial.

La preparación de CAs empleando como activante cloruro de magnesio genera materiales con características básicas lo que indica que existe un aumento de la densidad electrónica de los planos basales causada por los grupos oxigenados a diferencia de los sólidos impregnados con CaCl<sub>2</sub>.

La química superficial de esta serie es de carácter ácido, evidenciándose el efecto causado por el agente activante que promueve la inclusión de grupos de oxígeno en la superficie de los carbones activados. Las entalpías de inmersión de los carbones activados en agua y benceno presentan valores entre -14,3 y -32,8 J/g y -13,9 y -38,6 J/g respectivamente. El mayor valor de entalpía de inmersión en benceno se encontró en la muestra CAGMg3-1073 K, esto es un indicativo de la afinidad en el proceso de adsorción que resulta similar para adsorbatos de diferente polaridad, entre estos se encuentra el CO<sub>2</sub> que es una molécula ácida; por ende este tipo de sólido puede ser estudiado en la remoción de este tipo de contaminante.

## Agradecimientos

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

## Referencias

1. Fedepalma. *Anuario estadístico 2015: La agroindustria de la palma de aceite en Colombia y el mundo*. Fedepalma.: Bogotá, 2015.
2. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. *Anuario estadístico del sector agropecuario y pesquero 2014*. Bogotá, 2014.
3. Takei, T.; Chikazawa, M. Origin of differences in heats of immersion of silicas in water. *J. Colloid Interf. Sci.* **1998**, *208*, 570–574. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/jcis.1998.5880>
4. Salame, I.; Bandosz, T. J. Surface chemistry of activated carbons combining the results of TDP, Boehm, and potentiometric titrations. *J. Colloid Interf. Sci.* **2001**, *240*, 252–288. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/jcis.2001.7596>.
5. Boehm, H.P. Surface oxides on carbon and their analysis: A critical assessment. *Carbon.* **2002**, *40*, 145–149. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6223\(01\)00165-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6223(01)00165-8).
6. Guo, J.; Chong Lua, A. Textural and chemical properties of adsorbent prepared from palm shell by phosphoric acid activation. *Mater. Chem. Phys.* **2003**, *80*, 114–119. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0254-0584\(02\)00383-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0254-0584(02)00383-8).
7. Jagtoyen, M.; McEnaney, B.; Stencil, J. Activated carbons from bituminous coals by reaction with H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>: Influence of coal cleaning. *Fuel Process. Technol.* **1993**, *34*, 85–96. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0378-3820\(93\)90093-J](http://dx.doi.org/10.1016/0378-3820(93)90093-J)
8. Yoshizawa, N.; Maruyama, Y.; Yamada, Y.; Ishikawa, E.; Kobayashi, M.; Toda, Y.; Shiraiishi, M. XRD evaluation of KOH activation process and influence of coal rank. *Fuel.* **2000**, *81*, 1717–1724. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-2361\(02\)00101-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-2361(02)00101-1).
9. Molina-Sabio, M.; Rodríguez-Reinoso, F. Role of chemical activation in the development of carbon porosity. *Colloid Surface A.* **2004**, *241*, 15–25. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.04.007>.
10. Rodríguez, G.; Giraldo, L.; Moreno, J.C. Evaluación de la señal generada en un calorímetro de conducción de calor en la determinación de entalpías de inmersión para caracterización de sólidos porosos. *Afinidad.* **2009**, *66*, 1–9.
11. Menendez, J. A. On the use of calorimetric techniques for the characterization of carbons: A brief review. *Thermochim. Acta.* **1998**, *312*, 79–86. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0040-6031\(97\)00441-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0040-6031(97)00441-3).
12. Giraldo, L.; Moreno, J.C. Determination of the immersion enthalpy of activated carbon by microcalorimetry of the heat conduction. *Instrum. Sci. Technol.* **2000**, *28*, 171–178.
13. Boehm, H.P. Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon.* **1994**, *32*, 759–769. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0008-6223\(94\)90031-0](http://dx.doi.org/10.1016/0008-6223(94)90031-0).
14. Molina-Sabio, M.; Rodríguez-Reinoso, F.; Caturla, F.; Sellys, M. J. Development of porosity in combined phosphoric acid- carbon dioxide activation. *Carbon.* **1996**, *34*, 457–462. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0008-6223\(95\)00209-X](http://dx.doi.org/10.1016/0008-6223(95)00209-X).
15. Zuo, S.; Yang, J.; Liu, J.; Cai, X. Significance of the carbonization of volatile pyrolytic products on the properties of activated carbons from phosphoric acid activation of lignocellulosic material. *Fuel Process. Technol.* **2009**, *90*, 994–1001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.04.003>.
16. Ioannidou, O.; Zabaniotou, A. Agricultural residues as precursors for activated carbon production – A review. *Renew Sust. Energ. Rev.* **2007**, *11*, 1966–2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2006.03.013>.
17. Jakubov, T.; Mainwaring, D. Modified Dubinin–Radushkevich/Dubinin–Astakhov Adsorption Equations. *J. Colloid Interf. Sc.* **2002**, *252*, 263–268 DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/jcis.2002.8498>
18. Gryglewicz, G.; Lorenc-Grabowska, E. Mesoporous activated carbons from Ca and Fe exchanged sub-bituminous and bituminous coals. *Carbon.* **2004**, *42*, 688–691. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbon.2004.01.001>.
19. Yoshizawa, N.; Maruyama, Y.; Yamada, Y.; Zielinska-Blajet, M. XRD evaluation of CO<sub>2</sub> activation process of coal and coconut shell-based carbons. *Fuel.* **2000**, *79*, 1461–1466. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-2361\(00\)00011-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-2361(00)00011-9).
20. García, A.A.; Moreno, P.Y.; García, J.A.; Giraldo, L.; Moreno Piraján, J.C. Estudio de parámetros estructurales en la carbonización y activación de un carbón colombiano mediante difracción de rayos X. *Afinidad.* **2008**, *65*, 230–235.
21. Takagi, H.; Yoshisawa, N.; Maruyama, K.; Yamada, Y.; Sato, Y. XRD analysis of carbon stacking structure in coal during heat treatment. *Fuel.* **2004**, *83*, 2427–2433. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2004.06.019>.
22. Vargas, D.P.; Giraldo, L.; Moreno Piraján, J.C. Caracterización estructural por adsorción y difracción de rayos X de monolitos de carbón activado a partir de cáscara de coco y hueso de palma africana. *Afinidad.* **2009**, *66*, 493–497.
23. Denoyel, R.; Fernandez-Colinas, J.; Grillet, Y.; Rouquerol, J. Assessment of the surface area and microporosity of activated charcoals from immersion calorimetry and nitrogen adsorption data. *Langmuir.* **1993**, *9*, 515–518. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/la00026a025>.
24. Stoeckli, F.; Centeno, T.A. On the determination of surface areas in activated carbons. *Carbon.* **2005**, *43*, 1184–1190. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbon.2004.12.010>.

### Article citation:

Acevedo, S.; Giraldo, L.; Moreno, J.C. Caracterización textural y química de carbones activados preparados a partir de hueso de palma africana (*Elaeis guineensis*) por activación química con CaCl<sub>2</sub> y MgCl<sub>2</sub>. *Rev. Colomb. Quim.* **2015**, *44* (3), 18–24. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n3.55606>

Recibido: 9 de octubre 2015. Aceptado: 27 de noviembre 2015.

## Empleo de algoritmos matemáticos para la evaluación de la influencia de los parámetros fisicoquímicos que afectan la adsorción de compuestos aromáticos sobre carbón activado

### Resumen

El objetivo principal fue encontrar cómo ciertos parámetros o factores fisicoquímicos del carbón activado pueden influir en la capacidad de adsorción de tres adsorbatos: fenol, ácido benzoico y ácido salicílico. Se emplearon dos métodos de análisis multivariado de datos: análisis principal de mínimos cuadrados (PLS) y regresión de componentes principales (PCR). El método de PLS mostró una mejor concordancia entre los valores estimados y experimentales. Usando este método, se formularon ecuaciones para predecir la capacidad de remoción de cada adsorbato. Usando PLS fue posible estimar la capacidad de adsorción del ácido benzoico, ácido salicílico y fenol con un error estándar de validación menor al 6%. Así se predijo que la acidez superficial es el parámetro más importante del carbón activado para adsorber compuestos aromáticos.

**Palabras clave:** análisis multivariado, PLS, PCR, adsorción, compuestos aromáticos.

## Use of mathematical algorithms to evaluate the influence of physicochemical parameters affecting the adsorption of aromatic compounds on activated carbon

### Abstract

The main objective was to describe parameters and physicochemical factors of activated carbon related to the adsorption capacity of three adsorbates: Phenol, benzoic acid, and salicylic acid. Two multivariate data analysis methods were used: Partial least square (PLS) and principal component regression (PCR). PLS showed better agreement between estimated and experimental values and using this method, equations were developed to predict the removal capacity of each adsorbate. The adsorption capacity of activated carbon in relation to benzoic acid, salicylic acid, and phenol was predicted with a standard error of validation of less than 6%. Surface acidity was the most important parameter affecting the adsorption of aromatic compounds by activated carbon.

**Keywords:** multivariate analysis, PLS, PCR, adsorption, aromatic compounds.

## Uso de algoritmos matemáticos para avaliar a influência dos parâmetros físico-químicos que afetam a adsorção de compostos aromáticos sobre carbono ativado

### Resumo

Foram utilizados métodos de análises multivariada de dados: análises parcial de mínimos quadrados (PLS) e regressão das componentes principais (PCR) para encontrar como certos parâmetros ou fatores físico-químicos do carvão ativado podem influenciar a capacidade de adsorção de três adsorbatos: fenol, ácido benzoico e ácido salicílico. Encontrou-se que o método PLS apresentou melhor concordância entre os valores estimados e experimentais. Utilizando-se este método, podem-se desenvolver equações para prever a capacidade de remoção para cada adsorbato. Usando o método PLS foi possível estimar a capacidade de adsorção do carvão ativado para o ácido benzoico, ácido salicílico e fenol com um erro padrão de validação menor ao 6%. Assim foi previsto que a acidez da superfície é o parâmetro mais importante do carvão ativado para adsorver compostos aromáticos.

**Palavras-Chave:** análises multivariada, PLS, PCR, adsorção, compostos aromáticos.

## Introducción

Los compuestos orgánicos constituyen un grupo muy grande dentro de los contaminantes presentes en los efluentes líquidos. Dentro de ellos se encuentran los compuestos aromáticos como el fenol, el ácido benzoico y el ácido salicílico.

En la actualidad existen diversos métodos que permiten el tratamiento de las aguas residuales contaminadas: extracción con solventes (1), ósmosis inversa (2), oxidación avanzada (3) y adsorción (4). La adsorción es uno de los procedimientos preferidos por su bajo costo, simplicidad del diseño, versatilidad, facilidad de operación, e insensibilidad a sustancias tóxicas (5,6).

Entre los adsorbentes destacan los materiales porosos como el carbón activado debido a su gran área superficial, su estructura microporosa y su química superficial. Estas propiedades le confieren al carbón activado una buena capacidad de adsorción para remover contaminantes de agua y, en corrientes gaseosas conteniendo pesticidas, iones metálicos, compuestos orgánicos, entre otros (7).

En un trabajo realizado por Paredes-Doig *et al.* (10,11) se estudió la adsorción de compuestos aromáticos (ácido benzoico, ácido salicílico y fenol) sobre carbones activados (CA). Las variables que se utilizaron en la síntesis de los CA fueron la razón de impregnación y la temperatura de activación. De los resultados obtenidos de la cinética e isothermas de adsorción se estableció el siguiente orden en base a la máxima capacidad de adsorción: *ácido salicílico* > *ácido benzoico* > *fenol*.

En dicho trabajo se encontró que la cinética de la adsorción correspondía a un modelo de pseudo segundo orden, determinando así, que en el proceso de adsorción está involucrada una quimisorción. En ese trabajo de investigación también se pudo analizar las características electrónicas de los adsorbatos y del adsorbente, encontrando que los orbitales frontera influyen en el proceso de adsorción.

El objetivo de la presente investigación es evaluar la capacidad de adsorción usando análisis multivariado de los datos (MVDA), para lo cual se escogieron como variables, por un lado, aquellas que pertenecen al proceso de preparación de los carbones activados como la razón de impregnación y la temperatura de activación; por otro lado, las que corresponden a las características del material como el área superficial, la porosidad y la acidez superficial.

El análisis principal de mínimos cuadrados (PLS) es un método estadístico que encuentra un modelo de regresión lineal mediante la proyección en un nuevo espacio de las variables predichas y las variables que participan en el modelo.

Dada la matriz "X" que contiene a las mediciones de las variables que participan en el modelo (covariables del modelo) y dada la matriz

"Y" que contiene a los valores de las variables predichas o estimadas en el estudio realizado, se utilizó el método PLS para encontrar las relaciones lineales fundamentales entre las matrices X y Y. Se buscó entonces hallar la dirección multidimensional en el espacio X que explica la dirección de la máxima varianza multidimensional en el espacio Y (8). Por otro lado, se empleó también la técnica regresión de componentes principales (PCR) que usa el método de análisis de componentes principales (PCA) y realiza una regresión entre las matrices X y Y (9).

Los métodos PLS y PCR relacionan a las variables medidas con las variables predichas usando un set de calibración. Con estos métodos se busca correlacionar los resultados cinéticos y estudiar el efecto de las variables de preparación y las propiedades texturales y de acidez de los carbones activados en el proceso de adsorción de compuestos aromáticos.

## Metodología

Continuando con un trabajo realizado anteriormente (10,11), y con la finalidad de tener un mayor número de muestras para el análisis de datos, el carbón activado fue preparado a partir de cáscara de castaña (*Castanea sativa*) por activación química con ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ , Merck, 85%) con razones de impregnación de 0,5; 1,0 y 1,5  $g_{H_3PO_4}/g_{Precursor}$  y con temperaturas de activación de 400, 500 y 600 °C.

Los carbones activados fueron caracterizados mediante las siguientes técnicas para obtener las variables fisicoquímicas requeridas para el presente trabajo: espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), adsorción-desorción de  $N_2$ , titulación Boehm y microscopía electrónica de barrido (SEM). Se obtuvieron las cinéticas e isothermas de adsorción, la concentración del adsorbato remanente fue evaluado por UV-Visible.

Se realizó un modelamiento estadístico de las variables a través de la regresión PLS y la PCR, con la finalidad de hacer estimaciones de la capacidad de adsorción con base en las distintas variables del proceso ya mencionadas.

Se trabajó con el programa Sirius 6.5, con el que se realizaron las estimaciones mediante los métodos PLS y PCR, haciendo uso del grupo de objetos y variables fisicoquímicas obtenidas de un trabajo previo (10,11). Estos objetos y variables se muestran en la Tabla 1.

Para aplicar los métodos de estudio, se escogió un grupo de datos para realizar la estimación y el resto se destinó para la verificación. De allí, se evaluó la desviación estándar entre los modelos estimados y los datos reales, y, con la intención de detectar qué método estadístico se ajustaba mejor a los datos, se consideró el SEV (Standard Error of Validation) que se define en las siguientes ecuaciones (12).

**Tabla 1.** Características fisicoquímicas de los carbones activados

Muestra	Razón Impregnación	Temperatura de activación	Área superficial específica (m <sup>2</sup> /g)	Área microporosa (m <sup>2</sup> /g)	Área mesoporosa (m <sup>2</sup> /g)	Diámetro promedio de poro (nm)	Acidez Superficial (mmol H <sup>+</sup> /g)
CF-0,5-400	0,5	400	1238	1223	15	1,02	1,04
CF-1,0-400	1,0	400	1434	1394	40	2,34	0,64
CF-1,0-500	1,0	500	1176	1135	41	2,37	0,68
CF-1,0-600	1,0	600	1231	1216	15	2,22	0,84
CF-1,5-400	1,5	400	1545	1297	248	2,08	0,72
CF-1,5-500	1,5	500	1623	1491	132	1,55	0,80
CF-1,5-600	1,5	600	1497	1403	94	1,27	0,94

$$SEV = (PRESS/n)^{1/2} \quad [1]$$

siendo el valor PRESS, Prediction Residual Error Sum of Squares

$$PRESS = \sum_i (c_i - \hat{c}_i)^2 \quad [2]$$

Donde  $c_i$  es el valor verdadero para la variable dependiente y  $\hat{c}_i$  el predicho por el modelo obtenido.

## Resultados y discusión

Se hicieron los cálculos con los métodos PLS y PCR, hallando para la mayoría de casos, porcentajes bastante altos de la varianza total de las componentes encontradas. Las mejores aproximaciones entre los datos reales y estimados se dieron con el método PLS (Figuras 1, 2 y 3). En la Tabla 2 se muestran los errores SEV hallados para cada adsorbato y para cada método.

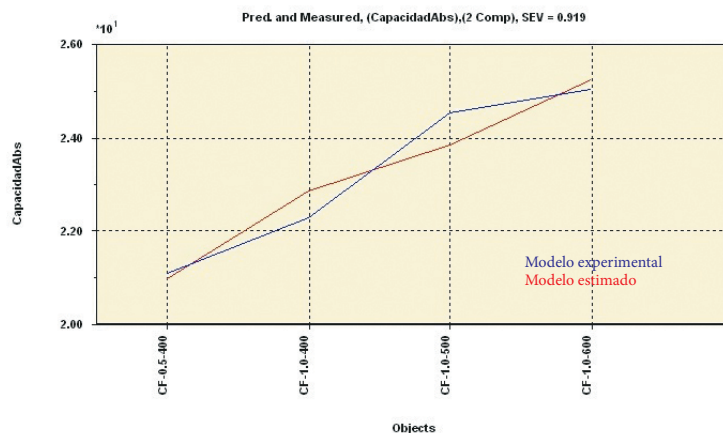


Figura 1. Comparación entre los valores reales y estimados para el caso del fenol

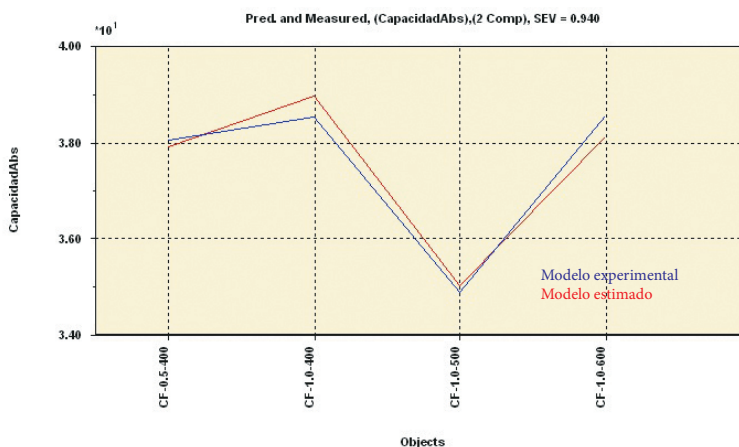


Figura 2. Comparación entre los valores reales y estimados para el caso del ácido benzoico

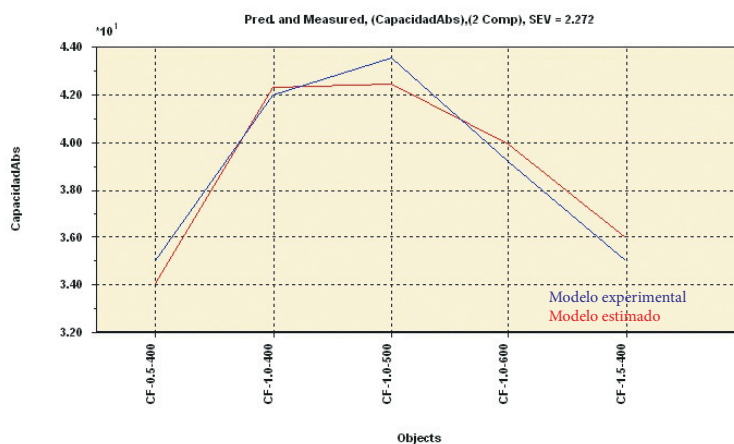


Figura 3. Comparación entre los valores reales y estimados para el caso del ácido salicílico



La Tabla 2 también muestra que, para los casos del ácido benzoico y salicílico, existe una diferencia considerable entre los errores, por lo que se decidió escoger el PLS como método de predicción de las variables que influyen más la adsorción de los compuestos aromáticos.

## Análisis de la estimación

Para realizar la aplicación del modelo PLS a los datos obtenidos en el estudio realizado, se definieron las siguientes variables:

$X_1$  = Razón de Impregnación,  $X_2$  = Temperatura de Activación,  $X_3$  = Área Superficial,  $X_4$  = Mesoporosidad,  $X_5$  = Microporosidad,  $X_6$  = Diámetro de poro,  $X_7$  = Acidez.

$Y$  = Capacidad de Adsorción para el adsorbato estudiado

De los cálculos hechos con el programa Sirius 6.5 se encontraron las ecuaciones de estimación que se presentan en la Tabla 3.

Según las ecuaciones de estimación realizadas, puede observarse que hay variables que actúan de manera negativa en el proceso de adsorción y otras, por el contrario, positivamente. Esto muestra a su vez que existen factores que actúan en contra de la adsorción, impidiendo que los adsorbatos queden retenidos en la superficie de carbón activado. En el presente estudio se han considerado factores del adsorbente, tanto de su proceso de elaboración como de las características resultantes de dicho proceso. Se puede observar que no necesariamente hay una correlación directa entre las primeras y las segundas variables, lo que indica que el proceso de adsorción es complicado, por lo que se deben considerar y estudiar todos los parámetros en conjunto. Los parámetros del adsorbente, en este caso del carbón activado, que afectan más la adsorción de cada compuesto aromático, se pueden encontrar en la Tabla 4.

Es necesario resaltar que la mayoría de variables corresponden a un proceso de fisiorción, solo la acidez superficial se encuentra también implicada en una adsorción química. De aquí se deduce que no solo el adsorbente y el conocimiento sobre éste son necesarios para definir la adsorción, sino también las condiciones del medio acuoso y de los adsorbatos.

De los resultados puede observarse que los errores que presenta el método PLS se encuentran dentro de un rango aceptable, por lo que se podría estimar con las ecuaciones encontradas la capacidad de adsorción para cualquiera de los adsorbatos estudiados.

En estudios anteriores (10,11), se determinó que la cinética de adsorción de los compuestos aromáticos (fenol, ácido benzoico y ácido salicílico) era de pseudo segundo orden, esto indicaba que el proceso podría ser una quimisorción y estarían interviniendo los grupos funcionales de la superficie de carbón activado. Con este estudio se complementan los resultados obtenidos antes, ya que uno de los factores que afectan más la adsorción del ácido salicílico (el cual presentaba mejor ajuste al modelo de pseudo segundo orden) es la acidez superficial. La acidez superficial, según el método PLS, afecta negativamente a la adsorción de este compuesto aromático, lo que indica que este adsorbato interacciona más con el "bulk" del carbón activado. Entonces, cuando aumentan los grupos ácidos sobre la superficie del carbón activado, disminuye la adsorción del ácido salicílico o viceversa.

Así, para el fenol y el ácido benzoico, también intervienen factores físicos, dado que resulta relevante la porosidad. En el caso del fenol, el cual es el adsorbato de menor tamaño de los tres, la microporosidad es la que predomina. En cambio, para el ácido benzoico, siendo este de tamaño mediano, la mesoporosidad es la que afecta más el proceso de adsorción.

Para comprender mejor los posibles mecanismos que se estarían dando en la adsorción, al no estar afectada por un único tipo de fuerzas o interacciones (13), se deben considerar también las fuerzas dispersivas

**Tabla 2.** Errores de los métodos de análisis multivariado

Adsorbato	PLS (SEV)	PCR (SEV)
Fenol	0,919	0,948
Ácido benzoico	0,940	2,305
Ácido salicílico	2,272	3,581

**Tabla 3.** Estimación de la capacidad de adsorción de los compuestos aromáticos

Adsorbato	Ecuaciones de Estimación
Fenol	$18,840 + 2,738 \cdot X_1 + 0,006 \cdot X_2 - 0,001 \cdot X_3 - 0,001 \cdot X_5 - 0,044 \cdot X_4 + 1,254 \cdot X_6 - 0,686 \cdot X_7$
Ácido benzoico	$14,985 + 0,348 \cdot X_1 + 0,003 \cdot X_2 + 0,008 \cdot X_3 + 0,009 \cdot X_5 - 0,054 \cdot X_4 - 0,063 \cdot X_6 + 1,672 \cdot X_7$
Ácido salicílico	$50,077 - 0,003 \cdot X_2 - 0,006 \cdot X_3 + 0,003 \cdot X_5 - 0,017 \cdot X_4 + 3,110 \cdot X_6 - 13,369 \cdot X_7$

**Tabla 4.** Parámetros que influyen la adsorción de los compuestos aromáticos

Adsorbato	Factores que predominan
Fenol	Temperatura de activación, área superficial y microporosidad
Ácido benzoico	Área superficial y porosidad
Ácido salicílico	Mesoporosidad, Diámetro de poro y acidez

o fuerzas de London, como fuerzas competitivas y/o cooperativas en la adsorción frente a la quimisorción. Los resultados demuestran que estas fuerzas podrían intervenir también.

El ácido salicílico es el adsorbato de mayor peso y menor solubilidad en agua (por su mayor apolaridad) y es el que tiene valores más elevados en la capacidad máxima de adsorción. Luego, le sigue el ácido benzoico (en peso y apolaridad) y es el que se encuentra en segundo lugar de adsorción. Para estos dos adsorbatos les corresponderían en su interacción con el carbón activado fuerzas dipolo instantáneo-dipolo inducido, y tanto el peso (14) como su apolaridad estarían indicando que prefieren la superficie del carbón activado frente a encontrarse en solución, por lo que su tendencia a adsorberse se incrementa.

El fenol, por su menor peso y mayor polaridad, prefiere estar en solución acuosa, interaccionando posiblemente, el grupo hidroxilo de este con el agua. De los resultados encontrados con el análisis multivariado se observa que los factores que afectan la adsorción del fenol son la temperatura, el área superficial y microporosidad.

La adsorción del fenol, según resultados experimentales y del PLS, se favorece con la temperatura, pero muy poco, por lo que también podría darse una repulsión del anillo aromático del fenol con la superficie de carbón activado, donde las fuerzas dispersivas se desfavorecerían (10,11). Asimismo, se daría una competencia entre la temperatura de activación y el área superficial. Es sabido que cualquier adsorbato ve beneficiada su adsorción con una mayor área superficial (en este caso un material con microporosidad elevada), permitiendo ésta la difusión del adsorbato a los sitios activos del adsorbente. Siendo el fenol un compuesto aromático de menor tamaño puede difundirse mejor por los microporos del material, por ello la microporosidad es uno de los factores influyentes en su adsorción. La temperatura de adsorción, por su lado, proporciona más grupos funcionales a la superficie del carbón activado, haciendo que el grupo hidroxilo de fenol pueda tener una interacción de puente de hidrógeno con estos grupos superficiales, disminuyendo la densidad electrónica del anillo aromático y con ello, dándose una mayor adsorción.

## Conclusiones

El método PLS mostró mejores resultados que el PCR, por eso fue elegido para determinar las ecuaciones de estimación y evaluar los factores que influyen la adsorción. Las relaciones lineales construidas haciendo uso del modelo PLS muestran un buen ajuste de los resultados experimentales, encontrándose coeficientes de variación aceptables de: 2,5% (ácido benzoico), 5,4% (ácido salicílico) y 4,1% (fenol). No existe una única característica fisicoquímica del adsorbente que predomine en la adsorción de los tres adsorbatos. Se da una adsorción competitiva del tipo químico y físico, en este último estarían interviniendo fuerzas dispersivas, por lo que no se puede señalar que la adsorción sea únicamente de un tipo.

## Referencias

- Guadayol, J.M.; Caixach, J.; Ribé, J.; Cabanas, J.; Rivera, J. Extraction, separation and identification of volatile organic compounds from paprika oleoresin (Spanish Type). *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45* (5), 1868-1872. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jf960266i>
- Park, H.; Vecitis, C.; Hoffmann, M.R. Electrochemical water splitting coupled with organic compound oxidation: The role of active chlorine species. *J. Phys. Chem. C.* **2009**, *113*, 7935-7945. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jp810331w>
- Williams, M.E.; Hestekin, J.A.; Smothers, C.N.; Bhattacharyya, D. Separation of organic pollutants by reverse osmosis and nanofiltration membranes: mathematical models and experimental verification. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1999**, *38* (10), 3683-3695. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ie990140l>
- Khenniche, L.; Aissani, F. Preparation and characterization of carbons from coffee residue: Adsorption of salicylic acid on the prepared carbons. *J. Chem. Eng. Data.* **2010**, *55*, 728-734. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jc900426a>
- Fernandez, E.; Hugi-Cleary, D.; Lopez-Ramon, M.; Stoeckli, F. Adsorption of phenol from dilute and concentrated aqueous solutions by activated carbons. *Langmuir.* **2003**, *19*, 9719-9723. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/la030137d>
- Efremenko, I.; Sheintuch, M. Predicting solute adsorption on activated carbon: phenol. *Langmuir.* **2006**, *22*, 3614-3621. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/la052100u>
- Haghsersht, F.; Nouri, S.; Finnerty, J.J. and Lu, G.Q. Effects of surface chemistry on aromatic compound adsorption from dilute aqueous solutions by activated carbon. *J. Phys. Chem. B.* **2002**, *106*, 10935-10943. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jp025522a>
- Esbensen, K. H.; Guyot, D.; Westad, F.; Houmoller, L. P. *Multivariate data analysis-in practice: An introduction to multivariate data analysis and experimental design.* Multivariate Data Analysis, 2002.
- Lipp, M. Comparison of PLS, PCR and MLR for the quantitative determination of foreign oils and fats in butter fats of several European countries by their triglyceride composition. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1996**, *202*, 193-198. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF01263539>
- Paredes-Doig, A. L. Estudio de la adsorción de compuestos aromáticos mediante carbón activado preparado a partir de la cáscara de castaña. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Octubre 2011.
- Paredes-Doig, A.L.; Sun-Kou, M.R.; Picasso-Escobar, G.; Lazo-Canana, J.C. A study of the adsorption of aromatic compounds using activated carbons prepared from chestnut shell. *Adsorpt. Sci. Technol.* **2014**, *32* (2-3), 165-180. DOI: <http://dx.doi.org/10.1260/0263-6174.32.2-3.165>
- Rojas, J.M.; Bruns, R.E.; Serruya, H.; Bentes, M.H. Multivariate calibration of metal content using FTIR spectra of flour peelmescarp ashes of oenocarpus-jessenia complex fruits. Lima, 15 de Agosto 2015. [http://www.ciiq.org/varios/peru\\_2005/Trabajos/II/2/2.2.21.pdf](http://www.ciiq.org/varios/peru_2005/Trabajos/II/2/2.2.21.pdf)
- Giraldo, L.; Moreno, J.C. Caracterización del proceso de adsorción de 3-cloro fenol desde solución acuosa sobre carbón activado por calorimetría de inmersión. *Quím. Nova.* **2009**, *32* (7). DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000700018>
- Leyva, R.; Mendoza, J.; Guerrero, R. Adsorción de hidrocarburos aromáticos en solución acuosa en carbón activado. Efecto del grupo sustituyente. *Tecnol. Ciencia.* **1987**, *2* (1), 31-35.

### Article citation:

Paredes-Doig, A. L; Sun-Kou, M. R.; Doig, M. E.; Comina, G. Empleo de algoritmos matemáticos para la evaluación de la influencia de los parámetros fisicoquímicos que afectan la adsorción de compuestos aromáticos sobre carbón activado. *Rev. Colomb. Quím.* **2015**, *44* (3), 25-29. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n3.55607>

Recibido: 4 de noviembre de 2015. Aceptado: 18 de diciembre de 2015

## Implementación de una metodología para la separación de proteomas de plasma humano mediante electroforesis bidimensional

### Resumen

En este trabajo se implementaron las condiciones para la separación de proteomas de plasma sanguíneo por electroforesis bidimensional. En muestras de plasma de infante y adulto se evaluaron dos sistemas de pretratamiento de la muestra para reducir el rango dinámico de las proteínas: inmunodepleción de proteínas abundantes y enriquecimiento de proteínas de baja abundancia. Los proteomas se separaron por electroforesis bidimensional y las imágenes se analizaron con el programa Melanie 7.0. Se encontró que ambos métodos de pretratamiento fueron reproducibles y permitieron ver las diferencias en los proteomas de infante y adulto, como muestran los análisis de componentes principales y de clasificación jerárquica tipo heatmap. El porcentaje de recuperación de proteínas fue mayor con la inmunodepleción en comparación con el enriquecimiento proteico. Estos resultados permitieron concluir que con la inmunodepleción, se tiene mayor control de las proteínas eliminadas y por tanto menor pérdida de información, lo que permite su aplicación en estudios exploratorios para la identificación de potenciales biomarcadores de enfermedad.

**Palabras clave:** marcadores biológicos, proteómica, plasma, cromatografía de afinidad, electroforesis bidimensional.

## Implementation of a methodology to separate human plasma proteomes by two-dimensional electrophoresis

### Abstract

The conditions to separate blood plasma proteomes by two-dimensional electrophoresis were implemented. In plasma samples from infant and adult two sample pretreatment systems to reduce the proteins dynamic range were evaluated: Immunodepletion of abundant proteins and protein-enrichment of low abundance proteins. Proteomes were separated by two-dimensional electrophoresis and the images were analyzed using Melanie 7.0. It was found that both pretreatment methods were reproducible and allowed to see the differences in the proteomes of infant and adult, as evidenced by the principal component analysis and heatmap, a type of hierarchic classification. The percent recovery of proteins was greater with the immunodepletion method, compared to the protein enrichment system. With these results, we conclude that reducing the complexity of plasma by immunoaffinity showed better control of unrecovered proteins and therefore less loss of information, which allows its application on exploratory studies to identify potential biomarkers of disease.

**Keywords:** biological markers, proteomics, plasma, affinity chromatography, two-dimensional electrophoresis.

## Implementação de uma metodologia para a separação do proteoma do plasma humano por eletroforese bidimensional

### Resumo

O objetivo deste trabalho foi otimizar as condições para a separação de proteomas do plasma sanguíneo por eletroforese bidimensional para sua aplicação na procura de potenciais biomarcadores. Trabalhou-se com amostras de plasma de crianças e adultos, avaliando dois sistemas de pretratamento da amostra para diminuir o espectro dinâmico das proteínas, imunodepleção de proteínas abundantes e enriquecimento de proteínas de baixa abundância. Os proteomas foram separados por eletroforese bidimensional e as imagens foram analisadas com o programa Melanie 7.0. Foi encontrado que ambos métodos de pretratamento foram reproduzíveis e permitiram observar as diferenças nos proteomas de crianças e adultos, como foram evidenciadas com as análises de componentes principais e de classificação hierárquica tipo heatmap. A porcentagem de recuperação de proteínas foi maior na imunodepleção do que obtido pelo enriquecimento proteico. Estes resultados permitiram concluir que com a imunodepleção há um controle mais eficiente das proteínas eliminadas e assim uma menor perda de informação, isto permite sua aplicação em estudos exploratórios orientados na identificação de potenciais biomarcadores da doença.

**Palavras-Chave:** marcadores biológicos, proteômica, plasma, cromatografia de afinidade, eletroforese em gel bidimensional.

## Introducción

El conjunto de proteínas expresado por un organismo, tejido o célula, es conocido como proteoma. Este proteoma es único y específico para cada estado biológico particular y su estudio permite un acercamiento a la(s) proteína(s) responsables del fenotipo de interés (1). La investigación proteómica se basa en la separación de las proteínas presentes en una muestra mediante técnicas de alta resolución, tales como electroforesis bidimensional en geles de poliacrilamida (2DE, por su nombre en inglés) (2) o cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC, por su nombre en inglés) (3), ambos acoplados a la identificación de proteínas mediante espectrometría de masas en tándem (MS/MS) (4).

Muchos factores relacionados con la toma, almacenamiento y procesamiento de la muestra, influyen en la calidad de los proteomas separados. Es bien sabido que la implementación de esta metodología requiere de personal experimentado para conseguir una alta reproducibilidad, garantizando de esta manera la confiabilidad de los resultados.

Este tipo de estudios se puede realizar en muestras de tejido y en fluidos biológicos como la orina y derivados sanguíneos (2,5), lo que refleja el estado fisiopatológico de un organismo. Particularmente, el análisis proteómico en plasma y suero se ha convertido en una importante herramienta para el descubrimiento de biomarcadores proteicos, aunque su caracterización exhibe algunos desafíos relacionados con el amplio rango dinámico que abarca más de 10 órdenes de magnitud en términos de concentración de proteínas (6). En relación a lo anterior, se han propuesto estrategias para reducir la complejidad del plasma y el suero sanguíneo, entre las que destacan: la precipitación selectiva de proteínas, la depleción de proteínas de alta abundancia y el enriquecimiento de proteínas de baja abundancia, pero el uso de estas estrategias es aún controversial (6-9).

Si bien ambos derivados sanguíneos ostentan gran potencial para la búsqueda de biomarcadores, durante la separación del suero, algunas proteínas pueden quedar atrapadas de manera inespecífica al formarse el coágulo y quedar excluidas de análisis posteriores, mientras que durante la obtención del plasma ocurre menor pérdida proteica y menor degradación *ex-vivo* (10,11).

Los biomarcadores pueden ser usados para el diagnóstico temprano y el seguimiento de enfermedades, además de la evaluación de la respuesta a tratamientos, con el fin de alcanzar mayores tasas de sobrevivencia. En el caso del cáncer, por ejemplo, el diagnóstico temprano usualmente se logra mediante la implementación de métodos invasivos que implican una mayor comorbilidad para el paciente y un alto costo. La investigación de biomarcadores en tejidos de fácil acceso como la sangre, resulta conveniente al ser un método mínimamente invasivo y dar resultado con un grado de comorbilidad bajo.

En este trabajo, con el fin de desarrollar una metodología para obtener mapas 2DE de alta resolución y reproducibilidad, se compararon dos métodos para reducir la complejidad del plasma humano, basados en la inmunodepleción de proteínas abundantes o el enriquecimiento de proteínas de baja abundancia. A la vez, se establecieron las condiciones de preparación de la muestra, previo al análisis mediante electroforesis bidimensional usando muestras de plasma sanguíneo de un adulto y de un infante. Estas condiciones experimentales podrán ser usadas en estudios posteriores para la identificación de potenciales biomarcadores.

## Materiales y métodos

### Recolección de las muestras

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de un infante y un adulto considerados sanos, mediante venopunción en tubos de recolección

que contenían  $K_3EDTA$  como anticoagulante. Para obtener el plasma sanguíneo, las muestras se centrifugaron a 1300 x g por 10 minutos a 4 °C. A continuación, el plasma se separó de la fracción celular y se centrifugó nuevamente a 1300 x g por 10 minutos a 4 °C para obtener la fracción plasmática pobre en plaquetas, como recomienda la Organización del Proteoma Humano (HUPO) (11) y se almacenaron a -70 °C hasta su análisis. Las muestras usadas para esta fase de estandarización se recolectaron en el marco de dos proyectos dirigidos al estudio de cáncer colorrectal en adultos y leucemia linfocítica aguda en niños, aprobados por los Comités de Ética e Investigaciones del Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, Colombia y de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, una vez firmados los consentimientos informados respectivos.

### Reducción de la complejidad del plasma

Se evaluaron dos estrategias para reducir la complejidad del plasma sanguíneo. La primera estrategia consistió en la inmunodepleción de dos de las proteínas más abundantes del plasma mediante cromatografía de afinidad. Se empleó el sistema ProteoPrep® Immunoaffinity Albumin and IgG Depletion, PROTIA (Sigma Aldrich, Missouri, USA), siguiendo el protocolo indicado por el fabricante. Rápidamente, una vez equilibrada la columna, se cargaron 50 µL de plasma sanguíneo en buffer de equilibrio (buffer Tris pH 7,4 de baja fuerza iónica), se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se centrifugó a 8000 x g por un minuto. El eluido se aplicó nuevamente a la columna para asegurar la adecuada depleción de albúmina e inmunoglobulina, IgG. Finalmente, se hizo un lavado con 125 µL de buffer de equilibrio, que se reunió con la muestra deplecionada de interés obtenida en los pasos previos, y se almacenó a -20 °C. Teniendo en cuenta que la albúmina es una proteína transportadora y con el fin de estudiar si durante el proceso de depleción hubo retención inespecífica de proteínas, se recuperó la fracción de proteínas retenidas o eliminadas por el sistema y se almacenó a 4 °C para análisis posteriores.

La segunda estrategia se basó en el enriquecimiento de proteínas de baja abundancia mediante la aplicación del sistema cromatográfico ProteoMiner™ Small Capacity (Bio-Rad, California, USA), según las recomendaciones del fabricante. Una vez realizados los pasos de equilibrio de la columna, se aplicaron 200 µL de plasma, se incubó por dos horas a temperatura ambiente y se centrifugó a 1000 x g por un minuto.

El material recogido, denominado proteínas no retenidas, se almacenó a -20 °C con el fin de analizarlo mediante 2DE para observar la fracción eliminada por el sistema. Posteriormente se realizaron lavados a la columna con el buffer de equilibrio para eliminar componentes con uniones inespecíficas. La fracción retenida de interés se obtuvo mediante tres eluciones sucesivas con 20 µL del buffer de elución (urea 8M, CHAPS 2% p/v y ácido acético 5% v/v) después de una incubación de 15 minutos y centrifugación a 1000 x g por un minuto. Esta fracción de interés se almacenó a -20 °C.

### Precipitación de proteínas con ácido tricloroacético (TCA)

Con el propósito de remover interferentes que afectaran el análisis 2DE (12), se precipitaron las proteínas de las muestras de interés antes de su separación. Plasmas sin tratar y tratados con alguno de los sistemas de reducción de la complejidad de la muestra, se precipitaron mediante el método TCA (2). Un total de 100 µg de proteína se mezcló con TCA, a una concentración final de 10% v/v. La mezcla se incubó a 4 °C por una hora y luego se centrifugó a 15000 x g por 15 minutos a 4 °C. Se descartó el sobrenadante y el pellet se lavó con 50 µL de acetona fría tres veces. Finalmente, se realizó un lavado con una solución acetona: agua (90:10). El pellet se secó a temperatura ambiente y se suspendió en las soluciones buffer a probar.



La cuantificación de proteínas en plasma se realizó usando el sistema Pierce™ 660 nm Protein Assay (Thermo Scientific, Rockford, USA), usando albúmina sérica bovina (BSA) como estándar de proteína.

### Electroforesis SDS-PAGE

Se separó un total de 25 µg de proteína de cada una de las muestras de plasma en un gel en gradiente de poli(acrilamida entre el 5% al 15% p/v, bajo condiciones reductoras con ditioneitol (DTT, por su nombre en inglés), a 80 V, 40 mA y corriente continua por 3 horas en el equipo Mini-PROTEAN® Tetra Cell (Bio-Rad, California, USA). Para la separación electroforética se usó buffer de electroforesis compuesto por Tris base 25 mM, glicina 0,20 M y SDS 0,10% p/v; también se usó albúmina humana (MP Biomedicals, California, USA) como referencia. Se corrieron dos geles en paralelo, de los cuales, uno se tiñó con azul de Coomassie coloidal G-250 (ver **Visualización de proteínas**) y el otro se utilizó para evaluar la presencia de IgG por inmunoensayo.

### Western blot para reconocimiento de IgG humana

Las proteínas separadas se electrotransferieron a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad, California, USA) durante 2 horas a 200 mA en la cámara de transferencia Mini-Trans-Blot® Module for Mini-PROTEAN® Tetra Cell. La membrana se incubó en solución de bloqueo de leche al 5% p/v en buffer tris salino TBS (Tris 25 mM, NaCl 137 mM, KCl 2,5 mM, pH 7,4) por una hora y, posteriormente, se realizaron tres lavados con el buffer TBS. La membrana se incubó con el anticuerpo primario Anti-IgG Humano policlonal de conejo (DAKO, Glostrup, DK), en una dilución 1:2000 en solución de bloqueo 1% p/v en TBS, durante toda la noche y, después de los lavados, se incubó con el conjugado Anti-IgG de Conejo marcado con peroxidasa de rábano (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) en una dilución 1:10000 durante una hora. Finalmente, como método de revelado se usó el Enhance Chemiluminescence System Amersham™ ECL™ Prime (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK).

### Electroforesis bidimensional

#### Primera dimensión—enfoque isoeléctrico (IEF, por su nombre en inglés)

Se suspendieron 100 µg de proteínas plasmáticas, sin tratar y tratadas, precipitadas con TCA en 125 µL del buffer de rehidratación 2DE con solo urea 8 M o con la variante urea 7 M/tiourea 2 M, para solubilizar las proteínas. De manera alternativa y con el fin de hacer un acople directo a la 2DE como recomienda el sistema ProteoPrep®, se probó el buffer urea 7 M/tiourea 2 M como buffer de rehidratación para plasma tratado sin precipitar.

Las tiras IPG (Immobilized pH gradient, en inglés) pH 3-10 de 7 cm (Bio-Rad, California, USA) se hidrataron pasivamente durante una hora con la muestra solubilizada, seguido del IEF en el PROTEAN® IEF Cell (Bio-Rad, California, USA) con un programa de seis pasos en modalidad rampa rápida. Esta modalidad consistió en una rehidratación activa por 11 horas a 50 V, 200 V por una hora, 500 V por una hora, 1000 V por una hora, 2000 V por una hora, 4000 V/h hasta acumular 10000 V y un paso final de seguridad de 500 V por cinco horas, que mantiene el enfoque de las proteínas. Una vez finalizado el programa, las tiras IPG se almacenaron a -70 °C.

#### Segunda dimensión—electroforesis SDS-PAGE

Concluido el IEF, las proteínas se sometieron a un proceso de equilibrio que consiste en la reducción de puentes disulfuro por aplicación de DTT 130 mM y su posterior alquilación o bloqueo de los grupos tiol por acción de yodoacetamida (IAA, por su nombre en inglés) 135 mM. Cada paso se realizó en 2,5 mL de buffer de equilibrio (urea 6 M, SDS 2% p/v, Tris-HCl

375 mM a pH 8,8 y glicerol 20% v/v), durante 15 minutos con agitación suave. Terminado el proceso de equilibrio, se eliminó el exceso de DTT y/o IAA lavando las tiras por inmersión repetida en buffer de electroforesis.

La segunda dimensión se llevó a cabo en geles de poli(acrilamida al 12% p/v en condiciones desnaturizantes en el equipo Mini-PROTEAN® Tetra Cell. Los geles se corrieron a 80 V por 40 minutos, 100 V por una hora y 120 V hasta completar la separación electroforética. Para cada muestra de plasma tratado con los dos sistemas de reducción de la complejidad, se corrió la 2DE por triplicado.

### Visualización de proteínas

Se realizó tinción con azul de Coomassie coloidal G-250 (13). El protocolo consistió en la incubación de los geles en 20 mL de la solución de fijado de proteínas (etanol 50% v/v y ácido fosfórico 2% v/v) durante toda la noche y seguido de tres lavados con agua ultrapura. Posteriormente, los geles se incubaron en 20 mL de la solución de tinción (etanol 18% v/v, ácido fosfórico 2% v/v y sulfato de amonio 15% p/v) por una hora. Sin retirar la solución anterior, se aplicó una solución con azul de Coomassie coloidal G-250 al 2% p/v en etanol para llevar a una concentración final de 0,02% p/v. La anterior mezcla se homogenizó usando agitación suave por 72 horas y el exceso del agente de tinción se eliminó mediante lavados con agua ultrapura. El estuche Pierce Silver Stain (Thermo Scientific, Illinois, USA), que consiste en un método de tinción con plata, caracterizado por ser muy sensible (14), se utilizó para visualizar las proteínas eliminadas por los dos sistemas de reducción de complejidad.

### Análisis de imágenes 2DE

Las imágenes de los geles 2DE se adquirieron usando el documentador VersaDoc™ MP 4000 (Bio-Rad, California, USA) por medio de un protocolo estándar con luz blanca para geles con tinción de azul de Coomassie. El análisis de imagen se realizó con el programa Melanie 7.0 (Geneva Bioinformatics SA, GeneBio) utilizando parámetros para la detección de spots. Las imágenes se alinearon automáticamente entre réplicas técnicas, y luego entre grupos, seguido de una revisión y corrección manual en los casos necesarios.

### Análisis estadístico

Los valores de densidad óptica de los spots observados, entre geles y entre grupos, se normalizaron usando el programa Melanie 7.0 y se exportaron en formato .XML. Para el análisis diferencial entre los perfiles proteómicos del infante y del adulto, se usó un método de agrupamiento basado en un análisis multivariado tipo heatmap. Esto con el fin de obtener una representación gráfica de la similitud entre los geles de infante y adulto por código de colores basado en la media de los valores de densidad óptica. El color negro indica que no hay diferencias con respecto a la media ( $Z$ -score = 0), mientras que los colores verde y rojo indican un aumento o disminución de más de una desviación estándar por encima de la media, respectivamente.

Igualmente, se realizaron Análisis de Componentes Principales (PCA, por su nombre en inglés) en dos dimensiones, que corresponden a los dos componentes con mayor variabilidad entre los geles, permitiendo la obtención de una representación de las distancias o diferencias entre los grupos. Se utilizó la prueba estadística de análisis de varianza ANOVA para identificar los spots con diferencias significativas en los valores de densidad óptica entre grupos ( $p < 0,001$ ). Todos los análisis y gráficas se generaron usando el programa R versión 3.0.2., en Sistema Operativo Unix/Linux.



## Resultados y discusión

### Análisis SDS-PAGE de plasmas no tratados y tratados

En este estudio se encontró una concentración de proteína de 70,98 mg/mL en la muestra de adulto y de 85,22 mg/mL en la de infante. Para los dos estados fisiológicos estudiados se obtuvo tasas de recuperación de proteínas similares con ambos sistemas empleados a pesar de la diferencia en la concentración inicial de proteína: 22% en adulto y 23% en infante con ProteoPrep® y 2,0%, tanto en adulto como en infante con el sistema ProteoMiner™. Sin embargo, comparando entre los dos sistemas, las tasas de recuperación fueron muy diferentes. Con el sistema ProteoMiner™ la tasa de recuperación fue significativamente inferior, generando inconvenientes al momento de obtener la cantidad de proteína necesaria para análisis posteriores.

En la Figura 1A se muestra el patrón de separación electroforética de las muestras de plasma de adulto (carriles 1-4) e infante (carriles 6-9); muestras sin tratar y tratadas con los sistemas de reducción de la complejidad plasmática. Con los dos sistemas se evidencia un aumento en el número de bandas de proteína en las muestras tratadas (carriles 2 y 7 con ProteoMiner™; carriles 3 y 8 con ProteoPrep®) en comparación con las no tratadas (carriles 1 y 6). Esto se relaciona con la reducción de

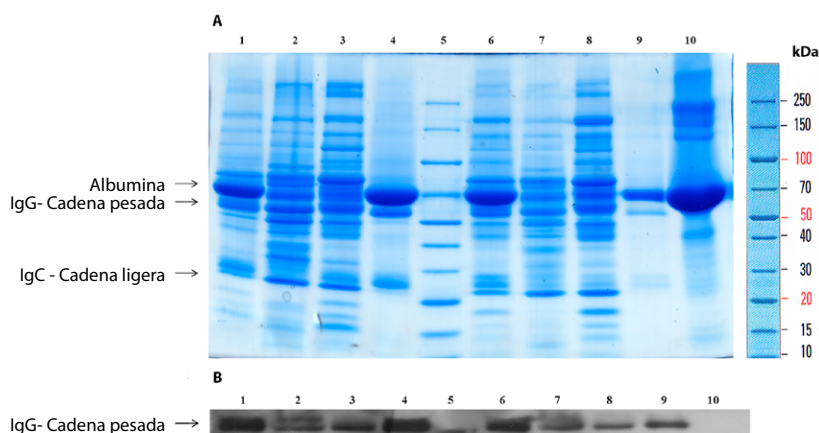
la concentración de proteínas de mayor abundancia como la albúmina (banda a ~67 kDa; control en carril 10) y la inmunoglobulina G (cadena pesada de ~50 kDa y ligera de ~25 kDa), como se confirma en el análisis por inmunoensayo contra la cadena pesada (Figura 1B).

De acuerdo a lo anterior, ambos métodos empleados resultaron efectivos en la reducción de la concentración de albúmina e IgG de plasma humano, permitiendo la detección de un mayor número de bandas, especialmente de bajo peso molecular, en comparación con el plasma no tratado.

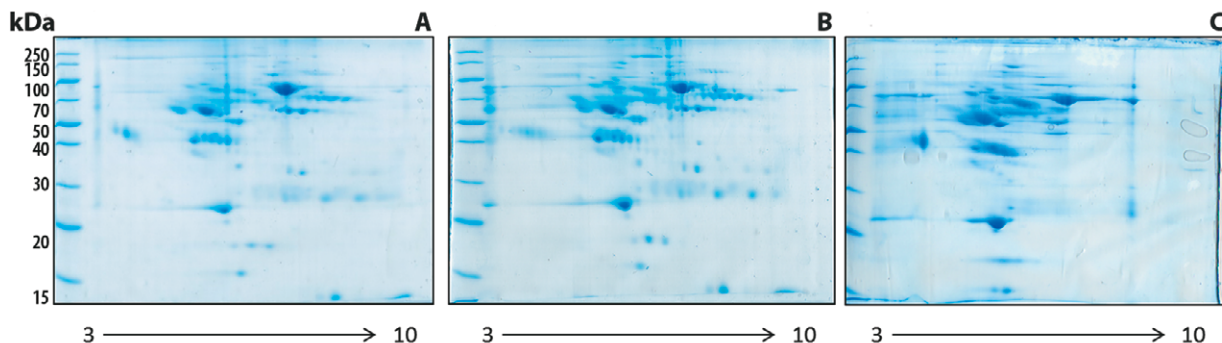
Al comparar los perfiles electroforéticos unidimensionales, la separación de proteínas fue más eficiente con el sistema ProteoPrep®, lo cual se evidencia por la mejor definición de las bandas en todo el rango de peso molecular.

### Establecimiento de las condiciones para los análisis 2DE

Los métodos de precipitación proteica son comúnmente usados para remover contaminantes no proteicos como lípidos y sales, puesto que interfieren en los análisis 2D-PAGE (12). Sin embargo, muchos de estos métodos causan pérdida de proteínas debido a la disminución en la solubilidad de las mismas (15,16). Con el fin de evaluar lo anterior, se comparó la resolución de muestras depletadas y precipitadas, solubilizadas en urea 8 M o en urea 7 M/tiourea 2 M (Figuras 2A y 2B, respectivamente).



**Figura 1.** Perfil electroforético de muestras de plasma de adulto (carriles 1 a 4) e infante (carriles 6 a 9) tratadas y no tratadas. Gel SDS-PAGE 5-15% p/v, teñido con azul de Coomassie coloidal (A); Western blot contra la cadena pesada de IgG humana (B). Los carriles corresponden a: Plasma total (carriles 1 y 6); Plasma enriquecido con ProteoMiner™ (carriles 2 y 7); Plasma inmunodepletado con ProteoPrep® (carriles 3 y 8); Proteínas retenidas por el sistema ProteoPrep® (carriles 4 y 9); Fracción V de albúmina humana como control a ~67 kDa (carril 10) y marcador de peso molecular PageRuler Unstained Broad Range Protein Ladder (Thermo Scientific, California, USA) (carril 5). Una separación electroforética representativa del marcador de peso molecular proporcionado por el fabricante se observa a la derecha de la figura



**Figura 2.** Efecto de la preparación de la muestra en el enfoque isoeléctrico de proteínas. Plasma inmunodepletado, precipitado con el método TCA y disuelto en: buffer de rehidratación urea 8 M (A) o buffer de rehidratación urea 7 M/tiourea 2 M (B). Plasma depletado disuelto en urea 7 M/tiourea 2 M en acople directo con la 2DE (C). La separación 2DE se realizó a partir de 100 µg de proteína con tiras IPG de 7 cm y pH 3-10 en la primera dimensión, y geles de poliacrilamida al 12% p/v en la segunda dimensión. Los geles se tiñeron con azul de Coomassie coloidal G-250

También se evaluó si la solubilización de las proteínas en la muestra directamente en buffer urea 7 M/tiourea 2 M permite una buena resolución en la 2D-PAGE, sin tener que precipitar las proteínas (Figura 2C). Se observó que el plasma no precipitado muestra una pobre resolución en comparación con el plasma precipitado, especialmente, cuando es solubilizado en el buffer de rehidratación urea/tiourea. De acuerdo a lo anterior, se optó por usar un método de precipitación tipo TCA, según lo recomendado por otros estudios en plasma (17), seguido de la solubilización del precipitado con un buffer de rehidratación compuesto por urea/tiourea.

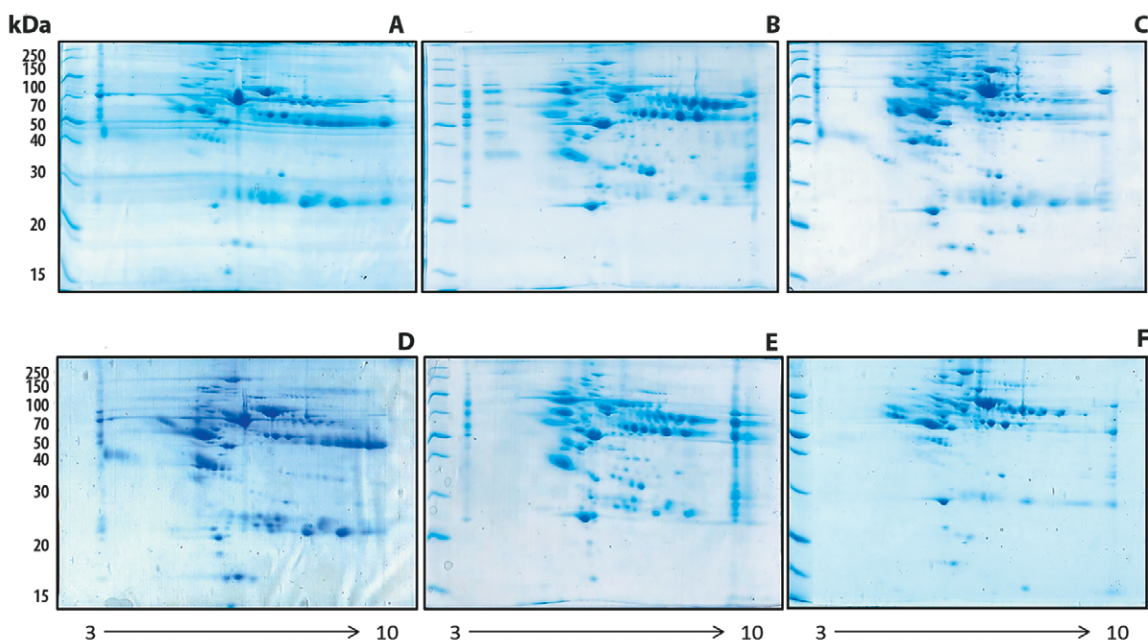
En conclusión, la preparación de la muestra tratada para los análisis 2DE, mostró una mejor resolución al incluir un paso de precipitación antes del IEF. Lo anterior puede explicarse por la eliminación de sales y lípidos, entre otros interferentes, debido a la precipitación con TCA, donde la pérdida de cantidad de proteína es menor con respecto a otros protocolos de precipitación (2). Si bien se estima que la mayoría de las proteínas circulantes en plasma son solubles, la mejor resolución 2DE se obtuvo con el buffer de rehidratación urea/tiourea, que es usualmente empleado para muestras poco solubles de carácter hidrofóbico, como extractos de membrana celular (18). Este resultado, similar a otros estudios (2), se debe a la presencia de complejos proteicos circulantes en plasma,

que al ser desnaturalizados exponen residuos hidrofóbicos difíciles de disolver en presencia de urea como agente caotrópico único (14).

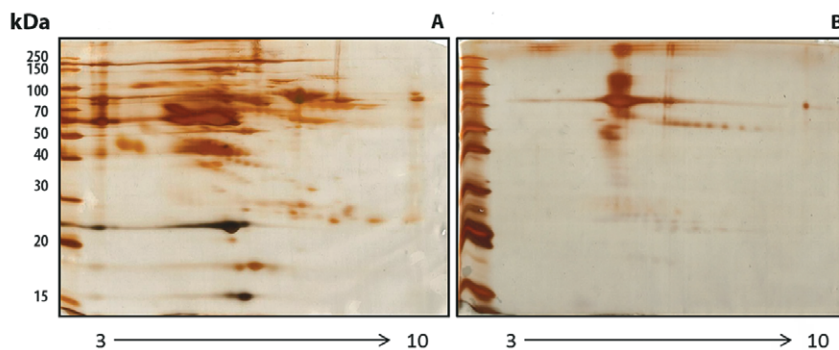
### Análisis 2DE de plasmas no tratados y tratados

Una vez establecidos los protocolos de preparación de la muestra, se compararon los perfiles 2DE de plasma humano sin tratar y tratado con las dos metodologías. En la Figura 3, se muestran los geles 2DE de plasmas no tratados (Figura 3A y Figura 3D), enriquecidos en proteínas de baja abundancia (Figuras 3B y 3E) o inmunodepletados (Figuras 3C y 3F) de adulto e infante, respectivamente. En comparación con los perfiles proteómicos de muestras sin tratar, en las muestras tratadas se observa una disminución en la intensidad de spots predominantes y una mejor discriminación de spots menos intensos. Lo anterior, está relacionado con la capacidad que tienen estos métodos de reducir el rango dinámico de proteínas en plasma.

Resultaron evidentes las diferencias en los perfiles proteómicos, tanto de las fracciones de interés (Figura 3) como de las fracciones eliminadas (Figura 4), obtenidos por enriquecimiento proteico en comparación



**Figura 3.** Efecto de los tratamientos para reducir la complejidad en plasma de adulto (A-C) e infante (D-F). Plasma sin tratar (A y D); plasma tratado con ProteoMiner™ (B y E); plasma tratado con ProteoPrep® (C y F). La separación 2DE se realizó a partir de 100 µg de proteína con tiras IPG de 7cm y pH 3-10 en la primera dimensión, y geles de poliacrilamida al 12% p/v en la segunda dimensión. Los geles se tiñeron con azul de coomassie coloidal G-250



**Figura 4.** Fracción de proteínas eliminadas por los sistemas, ProteoMiner™ (A) y ProteoPrep® (B), durante el proceso de reducción de la complejidad del plasma. La separación 2DE se realizó a partir de 100 µg de proteína con tiras IPG de 7cm y pH 3-10 en la primera dimensión, y geles de poliacrilamida al 12% p/v en la segunda dimensión. Los geles se tiñeron usando el estuche Pierce Silver Stain

con inmunodepleción. Al respecto, es de resaltar que, con el sistema de enriquecimiento, se observa la eliminación de una gran cantidad de proteínas, a diferencia de lo observado con la inmunodepleción, a causa de los mecanismos que emplea cada sistema para la reducción del rango dinámico de concentración de proteínas. Mientras que el primero se basa en el uso de una librería de hexapéptidos únicos que serán saturados según la abundancia de las proteínas en la muestra, el segundo (la inmunodepleción), solo se descarta albúmina e IgG de manera específica. Estas particularidades de cada uno de los sistemas empleados, pueden también explicar las diferencias encontradas en cuanto a la tasa de recuperación de proteínas señaladas anteriormente.

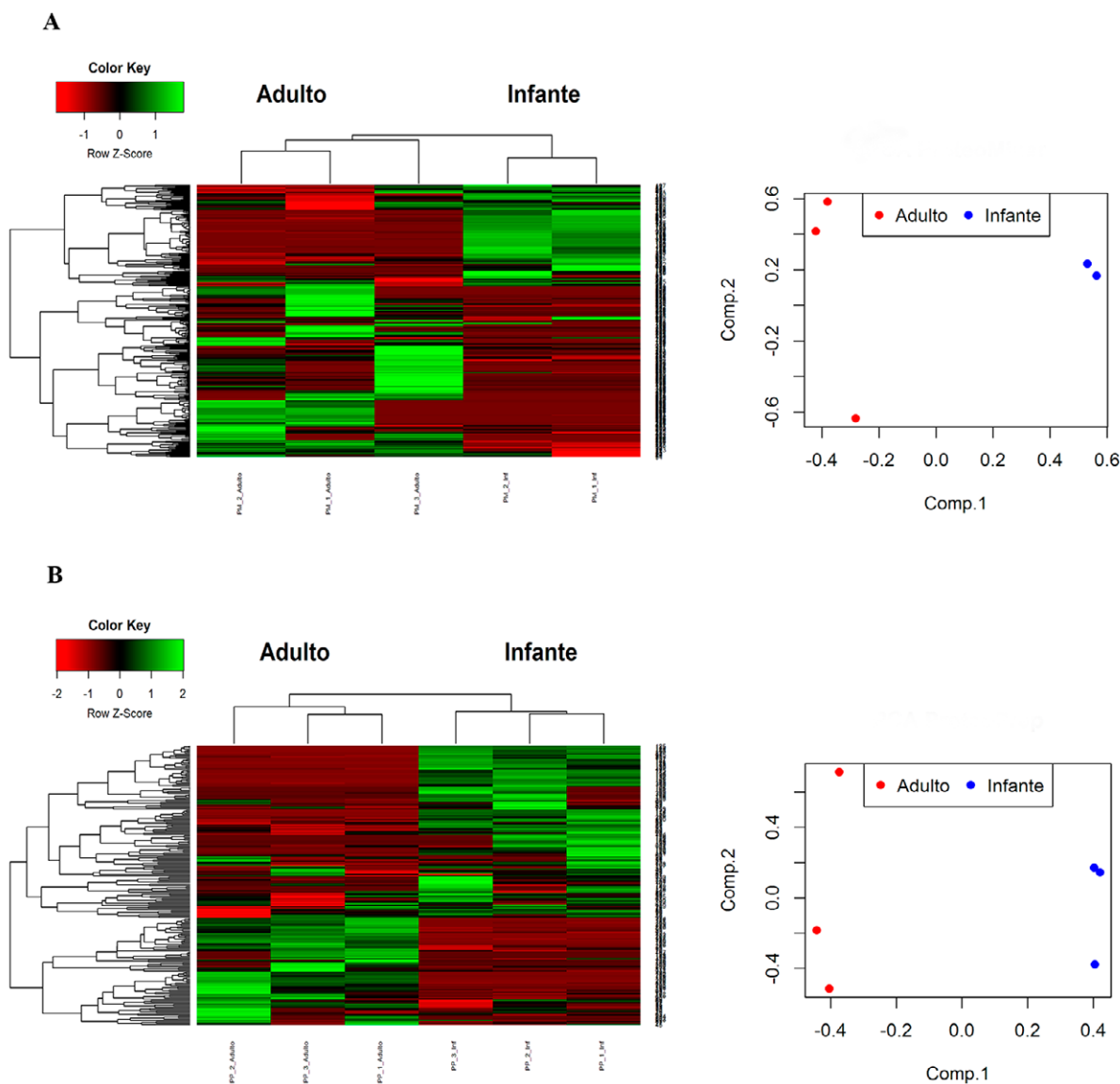
### Diferencias entre los perfiles proteómicos obtenidos con los sistemas ProteoMiner™ y ProteoPrep® para los dos estados fisiológicos

La evaluación de la reproducibilidad y capacidad de distinción entre dos estados de interés a partir de la aplicación de los sistemas empleados en

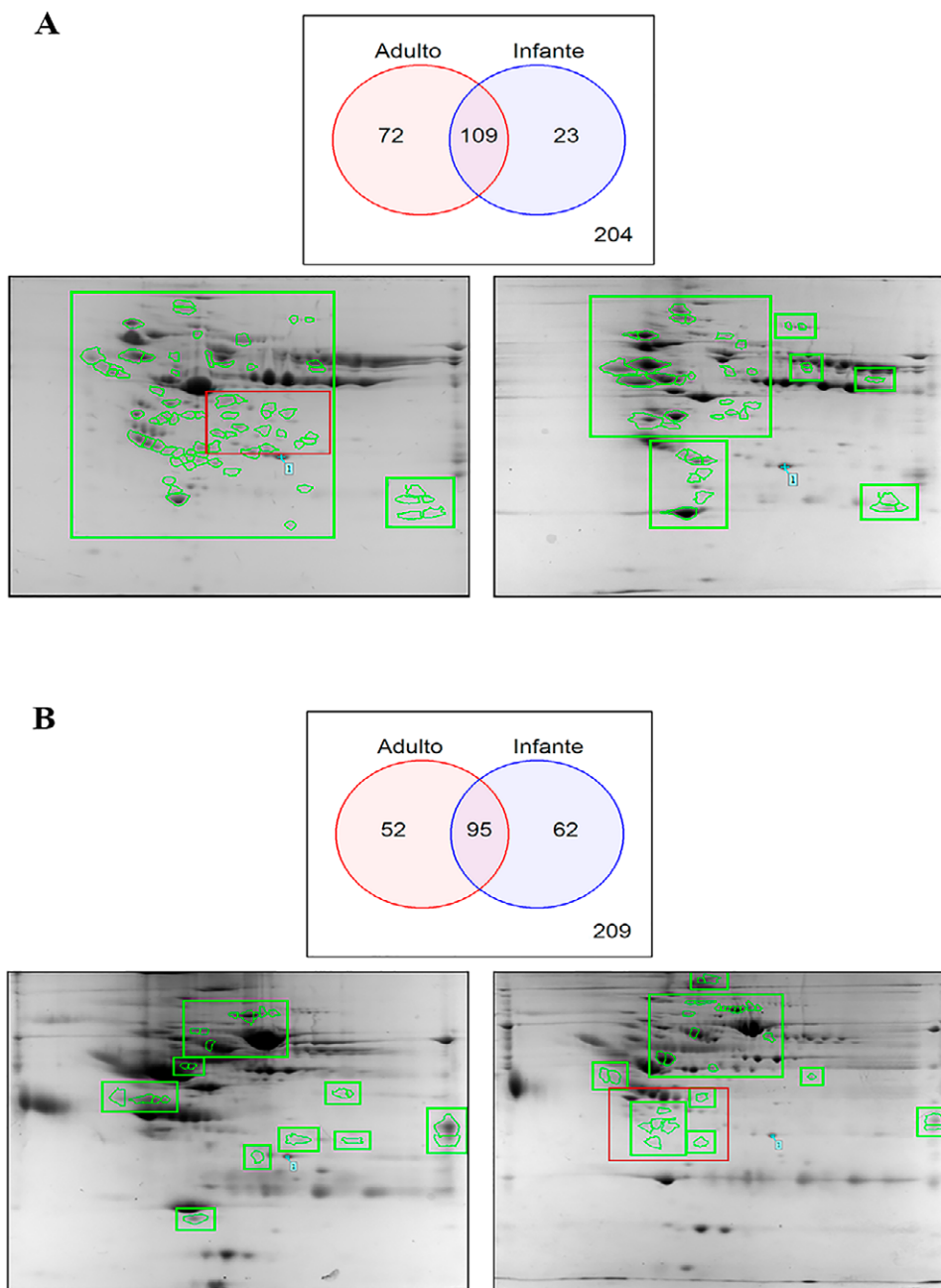
este estudio, se realizó por medio del análisis comparativo de los perfiles proteómicos obtenidos para cada tipo de muestra.

Los métodos de agrupamiento, basados en análisis multivariado (Heatmap y PCA), permitieron evidenciar la similitud de las réplicas técnicas dentro de cada grupo, así como las diferencias entre infante y adulto, con ProteoMiner™ (Figura 5A) y con ProteoPrep® (Figura 5B). En los diagramas de Venn (Figura 6) se observa que la totalidad de los spots compartidos detectados con los dos tratamientos empleados, fueron similares.

Sin embargo, con el sistema de enriquecimiento de proteínas de baja abundancia, se alcanzó un mayor número de spots únicos en el grupo adulto en comparación con el infante, a diferencia del método de inmunodepleción (Figura 6). Con cada tratamiento, se obtuvieron 26 spots con valores de densidad óptica significativamente diferentes ( $p < 0,001$ ) entre adulto e infante, los cuales se muestran en los mapas 2DE de la Figura 6 (spots delineadas en verde). Las imágenes tridimensionales del área representativa de algunos de estos spots más significativos, junto con su respectivo diagrama de dispersión “caja o cuartiles” para



**Figura 5.** Agrupamiento basado en análisis multivariado de adulto e infante, con la totalidad de spots observados en plasma tratado con: ProteoMiner™ (A) y ProteoPrep® (B). Izquierda: Heatmap, sin diferencias (Z-score = 0), mayor a la media (Z-score > 1) y menor a la media (Z-score < 1). Derecha: PCA usando dos componentes principales



**Figura 6.** Totalidad de spots observados, compartidos y únicos, en plasma de adulto e infante tratados con ProteoMiner™ (A) y ProteoPrep® (B), con sus respectivos mapas 2DE de spots de proteínas con diferencias de densidad óptica significativas entre los grupos ( $p < 0,001$ )

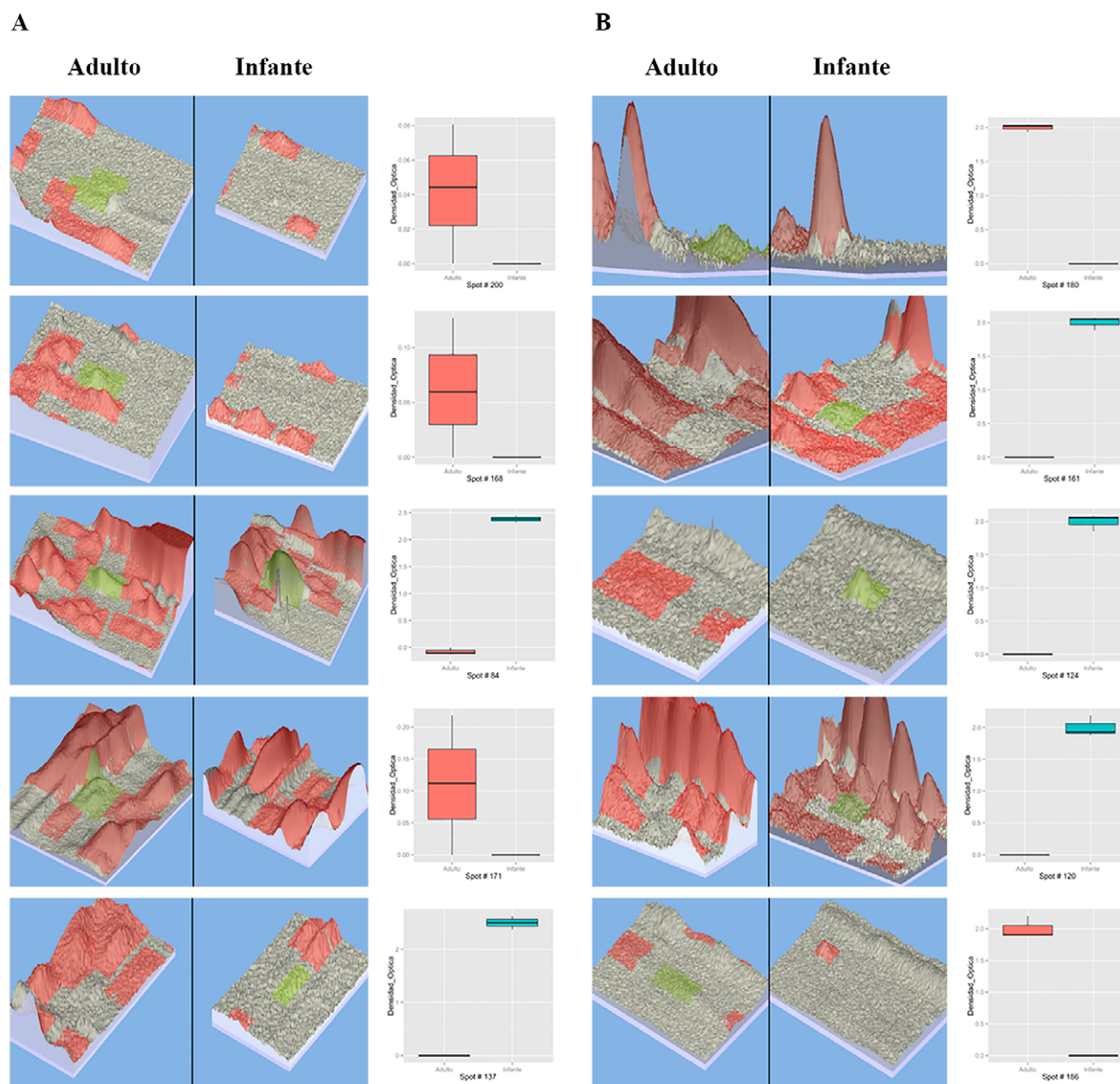
cada uno de los tratamientos, se aprecian en la Figura 7. Al respecto, se observa una mayor dispersión de los datos en las réplicas técnicas de adulto obtenidas por enriquecimiento en comparación con la inmunodepleción.

A pesar de las diferencias en los mecanismos para la reducción de la complejidad plasmática entre los dos sistemas, ambos métodos son reproducibles, como se observó al hacer los análisis de agrupamiento multivariado, pues permitieron evidenciar la similitud entre las réplicas técnicas dentro de cada grupo, así como las diferencias entre infante y adulto. Si bien la cantidad de spots totales y significativos detectados con los dos métodos fue similar, se observa que con cada sistema estos se ubican en zonas diferentes de los mapas 2DE (ver zonas demarcadas en rojo en la Figura 6), por lo cual, ambos métodos logran discriminar entre dos estados biológicos particulares.

Las imágenes tridimensionales de los spots seleccionados como significativos con los dos sistemas, muestran que estos corresponden a spots reales y no a artefactos, lo cual confirma que la metodología implementada permite hacer análisis diferenciales en la expresión de proteínas en muestras complejas, como el plasma sanguíneo. Sin embargo, en los datos observados como resultado del enriquecimiento se evidenció una mayor dispersión, relacionada con las limitaciones propias de la técnica 2DE, aunque estos no afectaron la clasificación por grupos obtenida en este estudio.

A pesar del vertiginoso avance en las técnicas proteómicas basadas en cromatografía, la electroforesis bidimensional, por su alta resolución y posibilidad de observar cientos de proteínas en un solo gel, sigue siendo útil para identificar proteínas con uso potencial como biomarcadores de enfermedad en estudios exploratorios de casos y controles en mues-





**Figura 7.** Imagen tridimensional del área representativa de algunos spots con mayores diferencias significativas en los valores de densidad óptica ( $p < 0,001$ ) y su dispersión “diagrama de caja o cuartiles”. ProteoMiner™ (A) y ProteoPrep® (B)

tras complejas como el plasma sanguíneo. Finalmente, su implementación no requiere material o equipo especializado y es relativamente de bajo costo.

## Conclusiones

En este trabajo se logró obtener una alta reproducibilidad en las réplicas técnicas con las estrategias usadas. Sin embargo, la fracción descartada del método de enriquecimiento mostró una mayor pérdida de proteínas distribuidas en un amplio rango de pH y peso molecular, a la vez que un menor porcentaje de recuperación de proteínas (~2,0 %) en comparación con la inmunodepleción específica de proteínas abundantes (~22 %). Si bien se encontró que ambos métodos empleados logran separar los proteomas plasmáticos y diferenciar entre dos estados biológicos de interés, se considera que los sistemas de reducción de la complejidad del plasma basados en mecanismos de inmutofinidad ofrecen un mejor control sobre las proteínas que se están descartando y por lo tanto

una menor pérdida de información, lo que es importante en estudios de tipo exploratorio.

## Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación de la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá (Proyectos DIB 13269,14718, 15116 y 20708), la Convocatoria Colombia Corre por la investigación en cáncer y el Instituto Nacional de Cancerología (No. 41030310-24). RAR y WAU el apoyo del Programa Jóvenes Investigadores e Innovadores Colciencias 2011.

Adicionalmente agradecen a los investigadores de los proyectos “Análisis Exploratorio de Potenciales Biomarcadores en Cáncer de Colon, C41030610-191” y “Estudio exploratorio de potenciales biomarcadores en Leucemia Linfocida Aguda en Colombia”, del Instituto Nacional de Cancerología y de la Universidad Nacional de Colombia, por su gestión en la realización de estos proyectos y permitir avanzar en esta parte de estandarización.



## Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto a la investigación, autoría y publicación de este manuscrito.

## Referencias

- Honore, B.; Ostergaard, M.; Vorum, H. Functional genomics studied by proteomics. *BioEssays*. **2004**, *26* (8), 901-915. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/bies.20075>
- Ahmad, Y.; Sharma, N. An effective method for the analysis of human plasma proteome using two-dimensional gel electrophoresis. *J. Proteomics. Bioinform.* **2009**, *2*, 495-499. DOI: <http://dx.doi.org/10.4172/jpb.1000111>
- Mitulovic, G.; Mechtler, K. HPLC techniques for proteomics analysis—a short overview of latest developments. *Brief. Funct. Genomic. Proteomic.* **2006**, *5* (4), 249-260. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/bfgp/ell034>
- Mann, M.; Hendrickson, R. C.; Pandey, A. Analysis of proteins and proteomes by mass spectrometry. *Annu. Rev. Biochem.* **2001**, *70*, 437-473. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.biochem.70.1.437>
- Kennedy, S. Proteomic profiling from human samples: the body fluid alternative. *Toxicol. Lett.* **2001**, *120* (1-3), 379-384. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4274\(01\)00269-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4274(01)00269-7)
- Millioni, R.; Tolin, S.; Puricelli, L.; Sbrignadello, S.; Fadini, G. P.; Tesari, P., *et al.* High abundance proteins depletion vs low abundance proteins enrichment: comparison of methods to reduce the plasma proteome complexity. *PLoS One*. **2011**, *6* (5), e19603. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0019603>
- Bueno, Y.; Muñoz, G.; Torres Sáez, R. Implementación de técnicas sencillas de remoción de proteínas mayoritarias de plasma sanguíneo para análisis por electroforesis bidimensional (2d). *Rev. Colomb. Quím.* **2011**, *40* (2), 131-148.
- Mostovenko, E.; Scott, H.; Klychnikov, O.; Dalebout, H.; Deelder, A. Protein Fractionation for Quantitative Plasma Proteomics by Semi-Selective Precipitation. *J. Proteomics. Bioinform.* **2012**, *5* (9), 217-221. DOI: <http://dx.doi.org/10.4172/jpb.1000239>
- Polaskova, V.; Kapur, A.; Khan, A.; Molloy, M. P.; Baker, M. S. High-abundance protein depletion: comparison of methods for human plasma biomarker discovery. *Electrophoresis*. **2010**, *31* (3), 471-482. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/elps.200900286>
- Omenn, G. S.; States, D. J.; Adamski, M.; Blackwell, T. W.; Menon, R.; Hermjakob, H., *et al.* Overview of the HUPO Plasma Proteome Project: Results from the pilot phase with 35 collaborating laboratories and multiple analytical groups, generating a core dataset of 3020 proteins and a publicly-available database. *Proteomics*. **2005**, *5* (13), 3226-3245. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/pmic.200500358>
- Rai, A. J.; Gelfand, C. A.; Haywood, B. C.; Warunek, D. J.; Yi, J.; Schuchard, M. D., *et al.* HUPO Plasma Proteome Project specimen collection and handling: towards the standardization of parameters for plasma proteome samples. *Proteomics*. **2005**, *5* (13), 3262-77. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/pmic.200401245>
- Shaw, M. M.; Riederer, B. M. Sample preparation for two-dimensional gel electrophoresis. *Proteomics*. **2003**, *3* (8), 1408-17. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/pmic.200300471>
- Dyballa, N.; Metzger, S. Fast and sensitive colloidal coomassie G-250 staining for proteins in polyacrylamide gels. *J. Vis. Exp.* **2009**, *30*, e1431 DOI: <http://dx.doi.org/10.3791/1431>
- Gorg, A.; Weiss, W.; Dunn, M. J. Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. *Proteomics*. **2004**, *4* (12), 3665-3685. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/pmic.200401031>
- Bak-Jensen, K. S.; Laugesen, S.; Roepstorff, P.; Svansson, B. Two-dimensional gel electrophoresis pattern (pH 6–11) and identification of water-soluble barley seed and malt proteins by mass spectrometry. *Proteomics*. **2004**, *4* (3), 728-742. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/pmic.200300615>
- Jiang, L.; He, L.; Fountoulakis, M. Comparison of protein precipitation methods for sample preparation prior to proteomic analysis. *J. Chromatogr. A*. **2004**, *1023* (2), 317-320. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2003.10.029>
- Canas, B.; Pineiro, C.; Calvo, E.; Lopez-Ferrer, D.; Gallardo, J. M. Trends in sample preparation for classical and second generation proteomics. *J. Chromatogr. A*. **2007**, *1153* (1-2), 235-58. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2007.01.045>
- Molloy, M. P. Two-dimensional electrophoresis of membrane proteins using immobilized pH gradients. *Anal. Biochem.* **2000**, *280* (1), 1-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/abio.2000.4514>

### Article citation:

Rodríguez, R. A.; Urrego, W. A.; Sanabria M. C.; Sánchez-Gómez, M. C.; Umaña-Pérez, A. Implementación de una metodología para la separación de proteomas de plasma humano mediante electroforesis bidimensional. *Rev. Colomb. Quím.* **2015**, *44* (3), 30-38. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n3.55810>

Recibido: 13 de octubre de 2015. Aceptado: 10 de diciembre de 2015.

## Propiedades viscosimétricas de la DL-alanina en soluciones acuosas de trifluorometanosulfonato de 1-butil-3-metilimidazolio a diferentes temperaturas

### Resumen

Se determinaron los tiempos de flujo de la DL-alanina en soluciones acuosas del líquido iónico trifluorometanosulfonato de 1-Butil-3-metilimidazolio (0,1000-1,0000 mol/Kg) usando un viscosímetro Anton Paar® modelo AMVn a temperaturas de 283,15; 288,15; 293,15; 298,15; 303,15; 308,1; 313,15 y 318,15 K y 0,10 MPa. A partir de los datos obtenidos se calcularon las viscosidades absolutas, los coeficientes  $B$  de viscosidad, la pendiente  $\partial B/\partial T$  y los parámetros de activación del flujo viscoso  $\Delta G^{\circ\ddagger}$ ,  $\Delta H^{\circ\ddagger}$ ,  $\Delta S^{\circ\ddagger}$  del estado de dilución infinita. Los valores obtenidos para estos parámetros fueron discutidos en términos de las interacciones presentes en solución.

**Palabras clave:** líquido iónico, viscosidad, parámetros de activación, flujo viscoso.

## Viscometric properties of DL-alanine in aqueous solutions of 1-Butyl-3-methylimidazolium trifluoromethanesulfonic acid at different temperatures

### Abstract

Flow times of DL-alanine in aqueous solutions of ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium trifluoromethanesulfonate (0.1000-1.0000 mol/Kg) were determined, using a viscometer model Anton Paar® AMVn at 283.15, 288.15, 293.15, 298.15, 303.15, 308.1, 313.15 and 318.15 K and 0.10 MPa. From the data obtained the absolute viscosities, viscosity coefficients  $B$ , the slope  $\partial B/\partial T$  and the activation parameters of viscous flow  $\Delta G^{\circ\ddagger}$ ,  $\Delta H^{\circ\ddagger}$ ,  $\Delta S^{\circ\ddagger}$  at state of infinite dilution were calculated. The values obtained for these parameters were discussed in terms of the interactions present in solution.

**Keywords:** ionic liquid, viscosity, activation parameters, viscous flow.

## Propriedades viscosimétricas da DL-alanina em soluções aquosas de trifluorometanossulfonato de 1-butil-3-metilimidazólio a diferentes temperaturas

### Resumo

Foram determinados os tempos de fluxo da DL-alanina em soluções aquosas do líquido iónico trifluorometanossulfonato de 1-butil-3-metilimidazólio (0,100-1,000 mol/Kg) utilizando um viscosímetro Anton Paar® de modelo AMVn a temperaturas de 283,15; 288,15; 293,15; 298,15; 303,15; 308,1; 313,15 e 318,15 K e 0,10 MPa. A partir dos dados obtidos foram calculadas as viscosidades absolutas, os coeficientes de viscosidade  $B$ , o gradiente  $\partial B/\partial T$  e os parâmetros de ativação de fluxo viscoso  $\Delta G^{\circ\ddagger}$ ,  $\Delta H^{\circ\ddagger}$ ,  $\Delta S^{\circ\ddagger}$  no estado de diluição infinita. Os valores obtidos para estes parâmetros são discutidos em termos das interações presentes na solução.

**Palavras-Chave:** líquido iónico, viscosidade, parâmetros de ativação, fluxo viscoso.

## Introducción

El estudio de las interacciones soluto-solvente tiene gran importancia en diversos campos de la ciencia, incluyendo la química médica, bioquímica, procesos industriales, etc. (1,2). En este sentido, el estudio fisicoquímico de sistemas pseudobinarios, por ejemplo: aminoácido + líquido iónico + agua, podría ser útil para comprender varios procesos bioquímicos, tales como: deshidratación, desnaturalización y agregación de proteínas, entre otros.

Los electrolitos orgánicos incluyendo a los líquidos iónicos pueden brindar una excelente visión acerca del efecto de las interacciones electrostáticas e hidrofóbicas sobre la estabilidad de los aminoácidos (3,4). Así mismo, es de esperar que estos compuestos influyan sobre las conformaciones macromoleculares, a través del debilitamiento o fortalecimiento de las interacciones repulsivas o atractivas (inter o intra cadena y carga-carga), afectándose de esta forma las interacciones hidrofóbicas de las cadenas laterales con los grupos alquílicos (5).

La viscosidad es una propiedad de transporte muy importante, especialmente para el diseño de productos químicos y para la optimización de procesos químicos. El estudio de las propiedades viscosimétricas desempeña un papel importante en muchos sistemas industrialmente interesantes, tales como la síntesis orgánica, sistemas de extracción de iones, disolventes de adsorción de gas, y fenómenos de transferencia de masa. Por otra parte, el estudio de las propiedades de transporte de mezclas binarias da información significativa en relación con la comprensión más profunda de la estructura líquida molecular y las interacciones intermoleculares (6).

Por tanto, en el presente trabajo se reportan las viscosidades dinámicas ( $\eta$ ) de la DL-alanina a diferentes molalidades usando ocho solventes pseudobinarios derivados del líquido iónico (LI) trifluorometanosulfonato de 1-Butil-3-metilimidazolio ([Bmim][OTF]). Estas viscosidades fueron obtenidas a las temperaturas de 283,15; 288,15; 293,15; 298,15; 303,15; 308,15; 313,15 y 318,15 K y a la presión atmosférica de 0,10 MPa.

Los valores experimentales de la viscosidad dinámica se usaron para calcular los coeficientes de viscosidad  $A$ ,  $B$  y  $C$  de la Ecuación de Jones-Dole (2), la pendiente  $\partial B/\partial T$ , los parámetros de activación del flujo viscoso a dilución infinita ( $\Delta G^\ddagger$ ,  $\Delta H^\ddagger$ ,  $\Delta S^\ddagger$ ) y las contribuciones por mol del solvente y del soluto a la energía libre en relación a ese estado ( $\Delta\mu_1^\ddagger$ ,  $\Delta\mu_2^\ddagger$ ). Los resultados obtenidos para estos parámetros se usaron para indagar sobre el efecto causado por el soluto a la estructura del solvente.

## Materiales y métodos

Los reactivos empleados fueron los siguientes: DL-alanina de la casa comercial Alfa Aesar, 99% de pureza, trifluorometanosulfonato de 1-Butil-3-metilimidazolio ([Bmim][OTF]) obtenido de la casa comercial Across Organic, pureza  $\geq 99\%$ . Para reducir el contenido de agua y los compuestos volátiles que tienen influencia sobre las propiedades fisicoquímicas de las soluciones, el LI se secó con agitación a temperatura moderada ( $T = 343$  K) y bajo vacío ( $P = 0,2$  Pa) aproximadamente durante 48 h antes de su uso. Después del secado se guardó en una botella bajo una atmósfera de gas inerte. Luego se midió el contenido de agua de este líquido iónico usando un Coulómetro Metrohm 831 (Karl Fischer® Mettler Toledo). En este proceso, el yodo se genera eléctricamente con precisión en la solución de Karl Fisher y el contenido de agua se determina por la cantidad de yodo que reacciona con el agua en una relación de uno a uno. Para este propósito se usó un tamaño de muestra de aproximadamente 0,1 g para cada medición, y se repitió dos veces para cada muestra, dando como resultado un contenido de agua de 100 ppm. La DL-alanina fue doblemente recristalizada desde soluciones acuosas

de etanol y secada al vacío sobre  $P_2O_5$ . El agua usada para la preparación de las soluciones fue desgasificada, desionizada y doblemente destilada, con una conductividad menor de  $2 \mu\text{S}/\text{cm}$ .

Las soluciones fueron preparadas gravimétricamente usando una balanza OHAUS® modelo Explorer con una incertidumbre de  $\pm 1 \times 10^{-4}$  g en botellas herméticamente cerradas para minimizar pérdida por evaporación de alguno de los componentes. Los tiempos de flujo y las densidades de los líquidos puros y las soluciones se midieron usando un microviscosímetro Anton Paar® modelo AMVn y un densímetro de tubo vibratorio Anton Paar® modelo DMA 5000, respectivamente; con incertidumbres de  $\pm 0,001$  mPa·s y  $\pm 1 \times 10^{-5}$  g/cm<sup>3</sup>.

## Resultados y discusión

Las viscosidades dinámicas ( $\eta$ ) obtenidas en este trabajo desde 283,15 K hasta 318,15 K para diferentes concentraciones de DL-alanina en los ocho solventes pseudobinarios (agua +  $m[\text{Bmim}][\text{OTF}]$ ), se muestran en las Tablas 1A-1C.

En las Tablas 1A-1C se observa que los valores de la viscosidad dinámica ( $\eta$ ) aumentan ligeramente con el aumento de la concentración de DL-alanina en cada solvente pseudobinario y disminuyen con el aumento de la temperatura. Este comportamiento podría ser consecuencia de la intensificación de las fuerzas eléctricas entre de los iones en las capas adyacentes de la solución, ya que, cuando un ion entra en un solvente produce una modificación de la estructura del mismo con pérdida de entropía, que tiende a construir y mantener una estructura de red espacial de los iones en la solución (7); mientras que la disminución de la viscosidad con el incremento de la temperatura, podría ser una consecuencia de la perturbación de la red espacial en la solución por el movimiento térmico de las moléculas.

A partir de los datos de las Tablas 1A-1C se determinó la viscosidad relativa ( $\eta_r$ ) como la razón de la viscosidad dinámica de la solución ( $\eta$ ) respecto a la del solvente puro ( $\eta_0$ ), estas viscosidades se ajustaron con ayuda de la Ecuación Jones-Dole [1] para soluciones electrolíticas (8-10):

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} = 1 + Ac^{1/2} + Bc + Cc^2 \quad [1]$$

Donde  $c$  es la molaridad en mol/L y  $A$ ,  $B$  y  $C$  son parámetros ajustables.  $A$  es una constante que mide las interacciones de largo alcance ion-ion y sus valores positivos podrían indicar la presencia de interacciones iónicas en las soluciones (11);  $B$  es una constante que tiene en cuenta la interacción ion-solvente y  $C$  incluye todas interacciones estructurales soluto-solvente y soluto-soluto que no se toman en cuenta los términos  $Ac^{1/2}$  y  $B_c$  (2,11-13).

Se ha encontrado experimentalmente que si el signo de  $B$  es positivo se asocia a la formación de agregados hidrofóbicos en solución acuosa y que el soluto está fuertemente hidratado; mientras que un signo negativo para  $B$  se asocia a solutos que desestabilizan la estructura de los agregados hidrofóbicos en solución acuosa y además indica que los solutos están débilmente hidratados (14); sin embargo, el signo del coeficiente  $B$  podría no ser indicativo especialmente para grandes solutos hidrofóbicos. Por ello se sugiere usar mejor la primera derivada de  $B$  con respecto a la temperatura, la razón es porque el signo de  $\partial B/\partial T$  es un criterio más indicativo de formación o disrupción de estructura. En este sentido, el signo negativo de  $\partial B/\partial T$  indica formación de estructura (cosmotrópico), mientras que el signo positivo sugiere disrupción de estructura (caotrópico) (12,14).

Los resultados obtenidos para los parámetros  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y para  $\partial B/\partial T$  se muestran en las Tablas 2A-2H. Aquí se observa que el coeficiente  $A$  presenta órdenes de magnitud típicos de soluciones electrolíticas (15), no obstante su valor se ve opacado por los valores del coeficiente  $B$ , que presentó valores positivos para todos los solventes pseudobinarios e

**Tabla 1A.** Viscosidades dinámicas ( $\eta$ ) de la DL-alanina en solución acuosa 0,400 mol/kg de [Bmim][OTf] desde 283,15K hasta 318,15 K

T (K)	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15	318,15
m/mol/Kg	$\eta$ /(mPa-s)							
0,0000	1,918	1,648	1,430	1,253	1,115	0,994	0,892	0,804
0,0103	1,923	1,653	1,436	1,256	1,118	0,997	0,894	0,806
0,0204	1,929	1,657	1,437	1,260	1,121	0,999	0,896	0,808
0,0315	1,935	1,663	1,442	1,263	1,124	1,002	0,898	0,810
0,0514	1,945	1,672	1,449	1,270	1,130	1,006	0,902	0,813
0,0801	1,961	1,685	1,461	1,279	1,138	1,013	0,908	0,819
0,1002	1,973	1,695	1,469	1,286	1,143	1,018	0,912	0,822
0,2004	2,030	1,743	1,509	1,320	1,172	1,043	0,934	0,842
0,2999	2,089	1,793	1,550	1,355	1,202	1,069	0,956	0,862
0,4000	2,151	1,844	1,593	1,391	1,233	1,095	0,979	0,882
0,5011	2,216	1,897	1,637	1,428	1,265	1,123	1,003	0,904
0,5999	2,281	1,951	1,682	1,465	1,297	1,151	1,028	0,926
0,7000	2,348	2,007	1,728	1,504	1,330	1,180	1,053	0,949
0,8000	2,418	2,064	1,775	1,544	1,364	1,209	1,079	0,973
0,9009	2,489	2,123	1,824	1,584	1,399	1,240	1,105	0,998
0,9999	2,561	2,182	1,872	1,625	1,434	1,270	1,132	1,022

**Tabla 1B.** Viscosidades dinámicas ( $\eta$ ) de la DL-alanina en solución acuosa 0,800 mol/kg de [Bmim][OTf] desde 283,15K hasta 318,15 K

T (K)	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15	318,15
m/mol/Kg	$\eta$ /(mPa-s)							
0,0000	2,307	1,974	1,711	1,492	1,316	1,160	1,039	0,932
0,0101	2,314	1,980	1,716	1,496	1,319	1,163	1,041	0,935
0,0202	2,321	1,986	1,721	1,501	1,323	1,166	1,044	0,937
0,0304	2,328	1,992	1,726	1,505	1,327	1,169	1,047	0,939
0,0507	2,342	2,003	1,736	1,513	1,334	1,175	1,052	0,944
0,0827	2,365	2,022	1,752	1,527	1,345	1,185	1,061	0,952
0,1032	2,380	2,034	1,762	1,535	1,353	1,191	1,066	0,956
0,2001	2,452	2,094	1,812	1,577	1,388	1,222	1,093	0,980
0,2999	2,529	2,157	1,865	1,622	1,426	1,254	1,122	1,005
0,4013	2,610	2,224	1,920	1,669	1,466	1,288	1,152	1,031
0,5002	2,693	2,291	1,976	1,716	1,505	1,321	1,182	1,058
0,5999	2,778	2,361	2,035	1,765	1,546	1,356	1,213	1,085
0,7014	2,869	2,434	2,096	1,816	1,589	1,392	1,245	1,114
0,7999	2,959	2,507	2,156	1,867	1,631	1,427	1,277	1,143
0,9000	3,052	2,583	2,219	1,919	1,674	1,464	1,310	1,173
0,9996	3,148	2,660	2,284	1,973	1,718	1,501	1,344	1,203

**Tabla 1C.** Viscosidades dinámicas ( $\eta$ ) de la DL-alanina en solución acuosa 1,000 mol/kg de [Bmim][OTf] desde 283,15K hasta 318,15 K

T (K)	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15	318,15
m/mol/Kg	$\eta$ (mPa·s)							
0,0000	2,502	2,131	1,839	1,613	1,402	1,255	1,114	0,999
0,0101	2,510	2,138	1,844	1,618	1,406	1,258	1,117	1,001
0,0206	2,518	2,145	1,850	1,622	1,410	1,262	1,120	1,004
0,0304	2,526	2,151	1,855	1,627	1,413	1,265	1,122	1,006
0,0507	2,541	2,164	1,866	1,636	1,421	1,272	1,128	1,011
0,0801	2,564	2,183	1,882	1,650	1,432	1,281	1,137	1,018
0,1000	2,580	2,196	1,893	1,659	1,440	1,288	1,142	1,023
0,1999	2,661	2,263	1,948	1,706	1,480	1,322	1,172	1,049
0,3008	2,745	2,332	2,006	1,754	1,521	1,357	1,202	1,076
0,4010	2,832	2,404	2,064	1,804	1,562	1,393	1,233	1,104
0,4998	2,920	2,476	2,123	1,854	1,603	1,429	1,265	1,132
0,5959	3,008	2,548	2,181	1,903	1,645	1,465	1,296	1,161
0,7000	3,106	2,628	2,246	1,957	1,690	1,504	1,330	1,192
0,7997	3,202	2,707	2,309	2,010	1,734	1,543	1,364	1,224
0,9000	3,301	2,787	2,373	2,064	1,779	1,582	1,398	1,256
1,0006	3,403	2,870	2,439	2,119	1,825	1,621	1,433	1,289

**Tabla 2A.** Coeficientes de viscosidad  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y  $\partial B/\partial T$  de la DL-alanina en soluciones acuosas de  $m$ [Bmim][OTf] ( $m = 0,0100$  mol/kg) como una función de la temperatura

T (K)	$A$ (L <sup>1/2</sup> /mol <sup>1/2</sup> )	$B$ (L/mol)	$C$ (L <sup>2</sup> /mol <sup>2</sup> )	$\partial B/\partial T$ (LT/mol)
283,15	0,0034	0,2628	0,0506	0,077
288,15	0,0039	0,2689	0,0346	0,078
293,15	0,0044	0,2605	0,0315	0,080
298,15	0,0048	0,2513	0,0308	0,082
303,15	0,0053	0,2410	0,0298	0,086
308,15	0,0059	0,2323	0,0287	0,089
313,15	0,0064	0,2274	0,0280	0,093
318,15	0,0069	0,2262	0,0281	0,098

**Tabla 2B.** Coeficientes de viscosidad  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y  $\partial B/\partial T$  de la DL-alanina en soluciones acuosas de  $m$ [Bmim][OTf] ( $m = 0,0300$  mol/kg) como una función de la temperatura

T (K)	$A$ (L <sup>1/2</sup> /mol <sup>1/2</sup> )	$B$ (L/mol)	$C$ (L <sup>2</sup> /mol <sup>2</sup> )	$\partial B/\partial T$ (LT/mol)
283,15	0,0035	0,3682	-0,0814	0,004
288,15	0,0039	0,3633	-0,0910	0,003
293,15	0,0044	0,3577	-0,0958	0,003
298,15	0,0049	0,3484	-0,0969	0,003
303,15	0,0054	0,3385	-0,0949	0,003
308,15	0,0059	0,3300	-0,0923	0,003
313,15	0,0064	0,3249	-0,0800	0,004
318,15	0,0069	0,3232	-0,0716	0,005



**Tabla 2C.** Coeficientes de viscosidad  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y  $\partial B/\partial T$  de la DL-alanina en soluciones acuosas de  $m[\text{Bmim}][\text{OTf}]$  ( $m = 0,0500$  mol/kg) como una función de la temperatura

T (K)	$A$ ( $\text{L}^{1/2}/\text{mol}^{1/2}$ )	$B$ (L/mol)	$C$ ( $\text{L}^2/\text{mol}^2$ )	$\partial B/\partial T$ (LT/mol)
283,15	0,0034	0,2600	0,0920	0,058
288,15	0,0038	0,2517	0,0836	0,059
293,15	0,0043	0,2432	0,0785	0,061
298,15	0,0047	0,2325	0,0766	0,062
303,15	0,0052	0,2215	0,0748	0,064
308,15	0,0057	0,2130	0,0742	0,067
313,15	0,0062	0,2084	0,0782	0,069
318,15	0,0068	0,2071	0,0789	0,072

**Tabla 2D.** Coeficientes de viscosidad  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y  $\partial B/\partial T$  de la DL-alanina en soluciones acuosas de  $m[\text{Bmim}][\text{OTf}]$  ( $m = 0,0800$  mol/kg) como una función de la temperatura

T (K)	$A$ ( $\text{L}^{1/2}/\text{mol}^{1/2}$ )	$B$ (L/mol)	$C$ ( $\text{L}^2/\text{mol}^2$ )	$\partial B/\partial T$ (LT/mol)
283,15	0,0033	0,2507	0,1001	0,001
288,15	0,0037	0,2496	0,0865	0,001
293,15	0,0042	0,2433	0,0806	0,000
298,15	0,0046	0,2354	0,0740	0,000
303,15	0,0051	0,2260	0,0686	0,000
308,15	0,0056	0,2183	0,0679	0,000
313,15	0,0061	0,2125	0,0748	0,001
318,15	0,0066	0,2092	0,0996	0,002

**Tabla 2E.** Coeficientes de viscosidad  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y  $\partial B/\partial T$  de la DL-alanina en soluciones acuosas de  $m[\text{Bmim}][\text{OTf}]$  ( $m = 0,2000$  mol/kg) como una función de la temperatura

T (K)	$A$ ( $\text{L}^{1/2}/\text{mol}^{1/2}$ )	$B$ (L/mol)	$C$ ( $\text{L}^2/\text{mol}^2$ )	$\partial B/\partial T$ (LT/mol)
283,15	0,0031	0,2554	0,0808	0,116
288,15	0,0035	0,2534	0,0779	0,119
293,15	0,0039	0,2455	0,0763	0,122
298,15	0,0044	0,2353	0,0754	0,126
303,15	0,0048	0,2248	0,0747	0,130
308,15	0,0053	0,2158	0,0744	0,134
313,15	0,0058	0,2086	0,0764	0,139
318,15	0,0063	0,2074	0,0798	0,145

**Tabla 2F.** Coeficientes de viscosidad  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y  $\partial B/\partial T$  de la DL-alanina en soluciones acuosas de  $m[\text{Bmim}][\text{OTf}]$  ( $m = 0,4000$  mol/kg) como una función de la temperatura

T (K)	$A$ ( $\text{L}^{1/2}/\text{mol}^{1/2}$ )	$B$ (L/mol)	$C$ ( $\text{L}^2/\text{mol}^2$ )	$\partial B/\partial T$ (LT/mol)
283,15	0,0028	0,2717	0,0768	0,067
288,15	0,0032	0,2677	0,0686	0,069
293,15	0,0036	0,2591	0,0624	0,071
298,15	0,0040	0,2489	0,0597	0,074
303,15	0,0044	0,2383	0,0593	0,077
308,15	0,0049	0,2290	0,0602	0,080
313,15	0,0053	0,2205	0,0615	0,084
318,15	0,0058	0,2148	0,0696	0,088

**Tabla 2G.** Coeficientes de viscosidad  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y  $\partial B/\partial T$  de la DL-alanina en soluciones acuosas de  $m[\text{Bmim}][\text{OTf}]$  ( $m = 0,8000 \text{ mol/kg}$ ) como una función de la temperatura

T (K)	$A$ ( $\text{L}^{1/2}/\text{mol}^{1/2}$ )	$B$ (L/mol)	$C$ ( $\text{L}^2/\text{mol}^2$ )	$\partial B/\partial T$ (LT/mol)
283,15	0,0023	0,2842	0,0854	0,093
288,15	0,0026	0,2810	0,0776	0,095
293,15	0,0030	0,2710	0,0728	0,097
298,15	0,0034	0,2611	0,0665	0,100
303,15	0,0037	0,2541	0,0576	0,103
308,15	0,0041	0,2430	0,0530	0,106
313,15	0,0045	0,2350	0,0579	0,110
318,15	0,0049	0,2325	0,0657	0,114

**Tabla 2H.** Coeficientes de viscosidad  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y  $\partial B/\partial T$  de la DL-alanina en soluciones acuosas de  $m[\text{Bmim}][\text{OTf}]$  ( $m = 1,000 \text{ mol/kg}$ ) como una función de la temperatura

T (K)	$A$ ( $\text{L}^{1/2}/\text{mol}^{1/2}$ )	$B$ (L/mol)	$C$ ( $\text{L}^2/\text{mol}^2$ )	$\partial B/\partial T$ (LT/mol)
283,15	0,0021	0,2853	0,0747	0,0039
288,15	0,0024	0,2792	0,0681	0,0039
293,15	0,0028	0,2722	0,0552	0,0040
298,15	0,0031	0,2643	0,0512	0,0042
303,15	0,0035	0,2566	0,0472	0,0045
308,15	0,0038	0,2474	0,0473	0,0049
313,15	0,0042	0,2370	0,0505	0,0055
318,15	0,0046	0,2304	0,0662	0,0061

isotermas de estudio; sugiriendo con ello que en estos sistemas priman las interacciones soluto-solvente (ion-ion), entre las que se pueden identificar (9,16-18):

a) Interacciones entre el  $\text{Bmim}^+$  del solvente pseudobinario y el grupo  $\text{COO}^-$  de la DL-alanina.

b) Interacciones entre el  $\text{OTf}^-$  del solvente pseudobinario y el grupo  $\text{NH}_3^+$  de la DL-alanina.

Por su parte, el valor no nulo del coeficiente  $C$  revela la presencia de autointeracciones iónicas e interacciones entre iones de signos opuestos no contempladas en los términos  $A_c^{1/2}$  y  $B_c$  (9,19).

Los valores de  $\partial B/\partial T$  resultaron positivos para todos los solventes pseudobinarios a todas las isotermas de trabajo, este hallazgo, podría indicar que la DL-alanina actúa como un soluto disruptor de la estructura del solvente.

Por otra parte, los datos de viscosidad dinámica han sido analizados utilizando la teoría de Eyring (9,11,19,20). De acuerdo a esta teoría, en un líquido puro en reposo, las moléculas están constante movimiento, pero debido al empaquetamiento compacto, el movimiento queda reducido prácticamente a la vibración de cada molécula dentro de una «jaula» formada por las moléculas más próximas. Esta jaula sufre reordenaciones continuas, durante las cuales una molécula escapa desde una «jaula» a un «hueco» adyacente (21). Eyring (9,11,19,20), sugirió que la energía libre de activación del flujo viscoso para que una molécula salte sobre una barrera de potencial hacia el interior de un sitio vacante, puede expresarse con ayuda de la Ecuación [2]

$$\Delta\mu_1^{0\#} = RT \ln \left( \frac{\eta_0 \bar{V}_1^0}{h N_A} \right) \quad [2]$$

Donde  $h$ ,  $N_A$ ,  $\bar{V}_1^0$ ,  $\Delta\mu_1^{0\#}$ ,  $R$  y  $T$  son: la constante de Planck, el número de Avogadro, el volumen molar parcial del solvente, la energía libre de activación por mol del solvente, la constante universal de los gases y la temperatura en Kelvin, respectivamente. Feakins y colaboradores (9,11,22) aplicaron esta teoría a las viscosidades relativas de las soluciones, y mostraron que el coeficiente  $B$  puede escribirse como:

$$B = \frac{\bar{V}_1^0 - \bar{V}_2^0}{1000} + \left( \frac{\bar{V}_2^0}{1000} \right) \left( \frac{\Delta\mu_2^{0\#} - \Delta\mu_1^{0\#}}{RT} \right) \quad [3]$$

Donde  $\bar{V}_1^0$ ,  $\bar{V}_2^0$  son el volumen molar parcial solvente y del soluto cuando  $m \rightarrow 0$ ,  $\Delta\mu_2^{0\#}$  es la contribución por mol del soluto. De esta forma  $\Delta\mu_1^{0\#}$  y  $\Delta\mu_2^{0\#}$  fueron calculados a partir de las Ecuaciones [2] y [4] respectivamente

$$\Delta\mu_2^{0\#} = \Delta\mu_1^{0\#} + \left( \frac{RT}{\bar{V}_1^0} \right) [1000B - (\bar{V}_1^0 - \bar{V}_2^0)] \quad [4]$$

Por otra parte, se sabe que la energía de activación del flujo viscoso puede escribirse como:

$$\Delta G^{\neq} = x_1 \Delta\mu_1^{0\#} - x_2 \Delta\mu_2^{0\#} \quad [5]$$

Donde  $x_1$ ,  $x_2$  son las fracciones molares del solvente y del soluto respectivamente. Los valores obtenidos para  $\Delta\mu_1^{0\#}$ ,  $\Delta\mu_2^{0\#}$ ,  $\bar{V}_1^0$  y  $\bar{V}_2^0$  son presentados en las Tablas 3A-3H. Aquí se observa que los valores de  $\Delta\mu_1^{0\#}$  son aproximadamente constantes a todas las temperaturas y composiciones del solvente pseudobinario estudiado. Los valores de  $\Delta\mu_2^{0\#}$  son positivos y mayores que los valores de  $\Delta\mu_1^{0\#}$ ; según la teoría del estado de tran-

**Tabla 3A.** Energía libre de activación ( $\Delta\mu_1^{0\#}$ ,  $\Delta\mu_2^{0\#}$ ), y volumen molar parcial del solvente y del soluto ( $\bar{v}_1^0$ ,  $\bar{v}_2^0$ ) por mol de soluto y de solvente a dilución infinita. DL-alanina + Solución acuosa de  $m$ [Bmim][OTf] ( $m = 0,0100$  mol/kg)

T (K)	$\bar{v}_2^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\bar{v}_1^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\Delta\mu_1^{0\#}$ (KJ/mol)	$\Delta\mu_2^{0\#}$ (KJ/mol)
283,15	59,20	18,05	10,00	49,63
288,15	59,52	18,07	9,83	50,99
293,15	59,88	18,08	9,70	50,44
298,15	60,22	18,10	9,56	49,74
303,15	60,51	18,13	9,44	48,84
308,15	60,79	18,16	9,32	48,11
313,15	60,96	18,19	9,21	47,88
318,15	61,04	18,23	9,11	48,14

**Tabla 3B.** Energía libre de activación ( $\Delta\mu_1^{0\#}$ ,  $\Delta\mu_2^{0\#}$ ), y volumen molar parcial del solvente y del soluto ( $\bar{v}_1^0$ ,  $\bar{v}_2^0$ ) por mol de soluto y de solvente a dilución infinita. DL-alanina + Solución acuosa de  $m$ [Bmim][OTf] ( $m = 0,0300$  mol/kg)

T (K)	$\bar{v}_2^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\bar{v}_1^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\Delta\mu_1^{0\#}$ (KJ/mol)	$\Delta\mu_2^{0\#}$ (KJ/mol)
283,15	59,52	18,13	10,03	63,17
288,15	59,44	18,14	9,87	63,31
293,15	59,36	18,15	9,72	63,34
298,15	59,20	18,18	9,59	62,83
303,15	59,16	18,20	9,47	62,18
308,15	59,07	18,23	9,35	61,68
313,15	58,91	18,27	9,25	61,63
318,15	58,82	18,30	9,13	61,99

**Tabla 3C.** Energía libre de activación ( $\Delta\mu_1^{0\#}$ ,  $\Delta\mu_2^{0\#}$ ), y volumen molar parcial del solvente y del soluto ( $\bar{v}_1^0$ ,  $\bar{v}_2^0$ ) por mol de soluto y de solvente a dilución infinita. DL-alanina + Solución acuosa de  $m$ [Bmim][OTf] ( $m = 0,0500$  mol/kg)

T (K)	$\bar{v}_2^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\bar{v}_1^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\Delta\mu_1^{0\#}$ (KJ/mol)	$\Delta\mu_2^{0\#}$ (KJ/mol)
283,15	59,88	18,20	10,07	48,97
288,15	59,77	18,21	9,90	48,44
293,15	59,64	18,23	9,76	47,83
298,15	59,53	18,25	9,63	46,88
303,15	59,40	18,27	9,50	45,84
308,15	59,34	18,31	9,39	45,10
313,15	59,22	18,34	9,29	44,88
318,15	59,19	18,38	9,17	45,09

**Tabla 3D.** Energía libre de activación ( $\Delta\mu_1^{0\#}$ ,  $\Delta\mu_2^{0\#}$ ), y volumen molar parcial del solvente y del soluto ( $\bar{v}_1^0$ ,  $\bar{v}_2^0$ ) por mol de soluto y de solvente a dilución infinita. DL-alanina + Solución acuosa de  $m$ [Bmim][OTf] ( $m = 0,0800$  mol/kg)

T (K)	$\bar{v}_2^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\bar{v}_1^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\Delta\mu_1^{0\#}$ (KJ/mol)	$\Delta\mu_2^{0\#}$ (KJ/mol)
283,15	60,22	18,30	10,12	47,58
288,15	60,07	18,31	9,97	47,96
293,15	59,96	18,33	9,82	47,65
298,15	59,84	18,36	9,69	47,08
303,15	59,75	18,38	9,56	46,27
308,15	59,67	18,41	9,44	45,63
313,15	59,54	18,45	9,33	45,23
318,15	59,56	18,49	9,23	45,18

**Tabla 3E.** Energía libre de activación ( $\Delta\mu_1^{0\#}$ ,  $\Delta\mu_2^{0\#}$ ), y volumen molar parcial del solvente y del soluto ( $\bar{v}_1^0$ ,  $\bar{v}_2^0$ ) por mol de soluto y de solvente a dilución infinita. DL-alanina + Solución acuosa de *m*[Bmim][OTf] (*m* = 0,2000 mol/kg)

T (K)	$\bar{v}_2^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\bar{v}_1^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\Delta\mu_1^{0\#}$ (KJ/mol)	$\Delta\mu_2^{0\#}$ (KJ/mol)
283,15	60,51	18,72	10,34	47,48
288,15	60,38	18,74	10,17	47,73
293,15	60,22	18,76	10,03	47,20
298,15	60,06	18,79	9,90	46,35
303,15	60,00	18,82	9,78	45,41
308,15	59,91	18,85	9,65	44,60
313,15	59,83	18,89	9,54	44,01
318,15	59,76	18,93	9,44	44,22

**Tabla 3F.** Energía libre de activación ( $\Delta\mu_1^{0\#}$ ,  $\Delta\mu_2^{0\#}$ ), y volumen molar parcial del solvente y del soluto ( $\bar{v}_1^0$ ,  $\bar{v}_2^0$ ) por mol de soluto y de solvente a dilución infinita. DL-alanina + Solución acuosa de *m*[Bmim][OTf] (*m* = 0,4000 mol/kg)

T (K)	$\bar{v}_2^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\bar{v}_1^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\Delta\mu_1^{0\#}$ (KJ/mol)	$\Delta\mu_2^{0\#}$ (KJ/mol)
283,15	60,79	19,43	10,68	48,36
288,15	60,63	19,45	10,51	48,37
293,15	60,42	19,47	10,35	47,76
298,15	60,25	19,50	10,20	46,95
303,15	60,21	19,54	10,08	46,04
308,15	60,17	19,57	9,96	45,25
313,15	60,11	19,62	9,84	44,51
318,15	60,02	19,66	9,73	44,12

**Tabla 3G.** Energía libre de activación ( $\Delta\mu_1^{0\#}$ ,  $\Delta\mu_2^{0\#}$ ), y volumen molar parcial del solvente y del soluto ( $\bar{v}_1^0$ ,  $\bar{v}_2^0$ ) por mol de soluto y de solvente a dilución infinita. DL-alanina + Solución acuosa de *m*[Bmim][OTf] (*m* = 0,8000 mol/kg)

T (K)	$\bar{v}_2^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\bar{v}_1^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\Delta\mu_1^{0\#}$ (KJ/mol)	$\Delta\mu_2^{0\#}$ (KJ/mol)
283,15	60,96	20,82	11,28	47,68
288,15	60,76	20,85	11,11	47,79
293,15	60,69	20,88	10,96	47,07
298,15	60,39	20,92	10,81	46,34
303,15	60,34	20,96	10,68	45,92
308,15	60,30	21,01	10,54	44,94
313,15	60,22	21,06	10,42	44,33
318,15	60,15	21,12	10,31	44,36

**Tabla 3H.** Energía libre de activación ( $\Delta\mu_1^{0\#}$ ,  $\Delta\mu_2^{0\#}$ ), y volumen molar parcial del solvente y del soluto ( $\bar{v}_1^0$ ,  $\bar{v}_2^0$ ) por mol de soluto y de solvente a dilución infinita. DL-alanina + Solución acuosa de *m*[Bmim][OTf] (*m* = 1,000 mol/kg)

T (K)	$\bar{v}_2^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\bar{v}_1^0$ (cm <sup>3</sup> /mol)	$\Delta\mu_1^{0\#}$ (KJ/mol)	$\Delta\mu_2^{0\#}$ (KJ/mol)
283,15	61,04	21,51	11,55	46,80
288,15	60,91	21,55	11,37	46,56
293,15	60,80	21,58	11,21	46,20
298,15	60,51	21,62	11,08	45,73
303,15	60,48	21,67	10,92	45,20
308,15	60,44	21,72	10,82	44,53
313,15	60,37	21,77	10,69	43,62
318,15	60,31	21,83	10,58	43,16

**Tabla 4.** Parámetros de activación del flujo viscoso ( $\Delta H^{\circ\#}$ ,  $\Delta S^{\circ\#}$ ,  $\Delta G^{\circ\#}$ ), para el estado de dilución infinita

T (K)			283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15	318,15
[Bmim][OTF] (mol/kg)	$\Delta H^{\circ\#}$ (KJ/mol)	$\Delta S^{\circ\#}$ (KJ/mol)	$\Delta G^{\circ\#}$ (KJ/mol)							
0,0100	17,11	25,24	9,96	9,83	9,71	9,58	9,45	9,33	9,20	9,07
0,0300	17,41	25,27	10,26	10,13	10,01	9,88	9,75	9,63	9,50	9,38
0,0500	17,19	25,28	10,03	9,90	9,78	9,65	9,53	9,40	9,27	9,15
0,0800	17,35	25,63	10,09	9,96	9,84	9,71	9,58	9,45	9,32	9,20
0,2000	17,59	25,72	10,31	10,18	10,05	9,92	9,79	9,66	9,53	9,40
0,4000	18,25	26,89	10,64	10,51	10,37	10,24	10,10	9,97	9,83	9,70
0,8000	19,07	27,64	11,25	11,11	10,97	10,83	10,69	10,56	10,42	10,28
1,0000	19,27	27,41	11,51	11,37	11,23	11,10	10,96	10,82	10,69	10,55

sición cada molécula de solvente por mol de solución pasa por un estado de transición e interactúa de forma más o menos fuerte con la molécula de soluto (11), lo que sugiere que el estado de transición es menos favorecido en presencia de DL-alanina y que la formación de este estado va acompañado de la disrupción y distorsión de los enlaces intermoleculares en la estructura del disolvente (22-24). Este hecho sugiere que las interacciones que involucran a los iones presentes en el solvente pseudobinario [Bmim<sup>+</sup>], [OTF<sup>-</sup>] con los centros cargados de la DL-alanina (COO<sup>-</sup>, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) son fuertes y por consiguiente ocurre un favorecimiento de las interacciones soluto-solvente (ion-ion). Los valores para la entalpía de activación  $\Delta H^{\circ\#}$  y la entropía de activación  $\Delta S^{\circ\#}$  del flujo viscoso a dilución infinita, fueron calculados mediante la Ecuación [6] (9,25,26).

$$\Delta G^{\circ\#} = \Delta H^{\circ\#} - T\Delta S^{\circ\#} \quad [6]$$

Donde los valores de  $\Delta S^{\circ\#}$  y  $\Delta H^{\circ\#}$  se obtuvieron usando el método de los mínimos cuadrados a partir de la pendiente y el intercepto de la gráfica de  $\Delta G^{\circ\#}$  en función de T.

Los datos obtenidos para  $\Delta S^{\circ\#}$ ,  $\Delta H^{\circ\#}$  y  $\Delta G^{\circ\#}$  se muestran en la Tabla 4. En la Tabla 4 se observa que los valores de  $\Delta S^{\circ\#}$  y  $\Delta H^{\circ\#}$  son positivos a todas las temperaturas de trabajo para todos los solventes pseudobinarios, lo cual sugiere que la formación del estado de transición va acompañada de una disrupción de los enlaces intermoleculares y una estructura más desordenada de las especies en el estado activado. Este comportamiento se ha observado en otros sistemas de aminoácidos en solventes mixtos o pseudobinarios (9,25,26).

## Conclusiones

En este trabajo se reportan datos experimentales para las viscosidades dinámicas del sistema DL-alanina en ocho solventes pseudobinarios, en el intervalo de concentración (0,0100-1,0000 mol/Kg), a las temperaturas de 283,15; 288,15; 293,15; 298,15; 303,15; 308,1; 313,15 y 318,15 K y a presión atmosférica 0,10 MPa. Los valores del coeficiente B resultaron positivos y mucho mayores que los coeficientes A y C, para todos los solventes e isothermas de estudio, lo que sugiere que en estos sistemas predominan las interacciones soluto-solvente (ion-ion). Adicionalmente los valores de  $\partial B/\partial T$  resultaron positivos para todos los sistemas; hecho que podría indicar que la DL-alanina actúa como un soluto disruptor de la estructura del solvente pseudobinario (cosmotrópico).

## Referencias

- Sanjibita, D.; Upendra, D. Viscometric study of glycine,  $\alpha$ -alanine and  $\beta$ -alanine in aqueous and aqueous D-glucose solutions at different temperatures. *J. Chem. Pharm. Res.* **2012**, *4* (8), 3869-3876.
- Horvat, J.; Bešter-Rogač, M.; Klofutar, C.; Rudan-Tasic, D. Viscosity of aqueous solutions of lithium, sodium, potassium, rubidium and caesium cyclohexylsulfamates from 293.15 to 323.15 K. *J. Solution. Chem.* **2008**, *37* (9), 1329-1342. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10953-008-9311-1>
- Páez, M.; Vergara, M.; De la Espriella, N. Interacciones de la DL-alanina en Soluciones acuosas de trifluorometanosulfonato de 1-butil-3-metilimidazolio a diferentes temperaturas. *Inf. tecnol.* **2015**, *26* (1), 63-70. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000100007>
- Páez, M.; Vergara, M.; Pérez, O. Propiedades volumétricas de la DL-alanina en soluciones acuosas del líquido iónico cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio a las temperaturas desde 283.15 hasta 313.15 K. *Inf. tecnol.* **2015**, *26* (5), 113-120. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000500015>
- Shekaari, H.; Jebali, F. Densities and electrical conductances of amino acids + ionic liquid ([Hmim]Br) + H<sub>2</sub>O mixtures at 298.15K. *Fluid. Phase. Equilib.* **2010**, *295* (1), 68-75. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fluid.2010.04.002>
- Yang, J.; Dai, L.; Wang, X.; Chen, Y. Densities and viscosities of binary mixtures of methyl 4-chlorobutyrate with aromatic hydrocarbons at T = (298.15 to 318.15)K. *J. Chem. Eng. Data.* **2009**, *54* (8), 2332-2337. DOI: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jc900194>
- Zamir, T. Thermodynamical Behaviour of 1-1 Strong Electrolytes In Water, Dimethyl Sulfoxide And Water-Dimethyl Sulfoxide Mixtures. Ph.D. Dissertation [Online], University of Balochistan, Pakistan, February 2004. <http://pr.hec.gov.pk/Thesis/298S.pdf> (consultado el 15 de abril de 2015)
- Páez, M.; Vergara, M.; Pérez, O. Interacciones moleculares de la mezcla de [Bmim][TfO] + agua a partir de datos de viscosidad. *Inf. tecnol.* **2014**, *25* (6), 85-90. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000600011>
- Páez, M.; Alvarino, G.; Cantero, P. Viscosidades y propiedades viscosimétricas de la glicina en soluciones acuosas de tiosulfato de sodio pentahidratado (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O) a diferentes temperaturas. *DYNA.* **2014**, *81* (186), 218-225. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/dyna.v81n186.40023>



10. Mansour, S. E.; Hasieb, I. H. Viscosity B-coefficient for viscous flow of some amino acids during the passage of alternating current at different voltages. *Int. J. Biol. Chem.* **2012**, *6* (1), 17-23. DOI: <http://dx.doi.org/10.3923/ijbc.2012.17.23>
11. Anwar, A.; Sabir, S.; Tariq, M. Volumetric, Viscometric and refractive index behaviors of  $\alpha$  Amino acids in aqueous caffeine solution at varying temperatures. *Acta Phys-chim Sin.* **2007**, *23* (1), 79-84. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1872-1508\(07\)60008-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1872-1508(07)60008-4)
12. Páez, M.; Alvis, A.; Arrázola, G. Efecto de la temperatura sobre la viscosidad de soluciones acuosas diluidas de cloruro de 1-butil-3-metil imidazolío [Bmim<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]. *Inf. tecnol.* **2014**, *25* (3), 185-190. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000300021>
13. Zhao, H. Viscosity B-coefficients and standard partial molar volumes of amino acids, and their roles in interpreting the protein (enzyme) stabilization. *Biophys. Chem.* **2006**, *122* (3), 157-183. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpc.2006.03.008>
14. Abdulagatov, I.; Zeinalova, A.; Azizov, N. Experimental viscosity B-coefficients of aqueous LiCl solutions. *J. Mol. Liq.* **2006**, *126* (1-3), 75-88. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2005.10.006>
15. Falkenhagen, H. The quantitative limiting law for the viscosity of strong binary electrolytes. *Physik. Z.* **1931**, *32*, 745-764.
16. Bhat, R.; Kishore, N.; Ahluwalia, J.C. Thermodynamic studies of transfer of some amino acids and peptides from water to aqueous glucose and sucrose solutions at 298.15 K. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1.* **1988**, *84* (8), 2651-2665. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/F19888402651>
17. Li, S.; Sang, W.; Lin, R. Partial molar volumes of glycine, L-alanine and L-serine in aqueous glucose solutions at T = 298.15 K. *J. Chem. Thermodyn.* **2002**, *34* (11), 1761-1768. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9614\(02\)00125-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9614(02)00125-8)
18. Jiang, X.; Zhu, C.; Ma, Y. Volumetric and viscometric studies of amino acids in L-ascorbic acid aqueous solutions at T=(293.15 to 323.15) K. *J. Chem. Thermodyn.* **2014**, *71*, 50-63. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jct.2013.11.002>
19. Sharma, S.; Sharma, K. Viscosities of lithium chloride in different composition of lactose at different temperatures. *Arch. Appl. Sci. Res.* **2012**, *4* (4), 1771-1777.
20. Salman, T. A.; Khatab, A. A. Thermodynamic properties of nicotinic acid in dilute HCl and in aqueous NaCl solutions at (293.15, 298.15, 303.15 and 308.15)K. *Baghdad Science Journal.* **2013**, *10*(2), 432-441.
21. Bird, R.; Stewart, W.; Lightfoot, E. *Fenómenos de Transporte*, 2da ed. Editorial LIMUSA WILEY: México, 2006; pp 29-31.
22. Alp, A.; Nain, A. K.; Kumar, N.; Ibrahim, M. Density and viscosity of magnesium sulphate in formamide + ethylene glycol mixed solvents. *Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.)*. **2002**, *114* (5), 495-500. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02704193>
23. Sinha, B.; Roy, P. K.; Roy, M. N. Apparent molar volumes and viscosity B-coefficients of glycine in aqueous silver sulphate solutions at T = (298.15, 308.15, 318.15) K. *Acta Chim. Slov.* **2010**, *57* (3), 651-659.
24. Roy, M. N.; Banerjee, A.; Roy, P. K. Partial molar volumes and viscosity B-coefficients of nicotinamide in aqueous resorcinol solutions at T = (298.15, 308.15, and 318.15) K. *Int. J. Thermophys.* **2009**, *30* (2), 515-528. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10765-009-0567-5>
25. Khanuja, P. Volumetric and viscometric study of interactions of amino acids in aqueous sucrose solution at different temperatures. *Chem. Sci. Trans.* **2013**, *2* (4), 1268-1275. DOI: <http://dx.doi.org/10.7598/cst2013.524>
26. Yan, Z.; Wang, J.; Zhang, H.; Xuan, X. Volumetric and Viscosity Properties of  $\alpha$ -Amino Acids and Their Groups in Aqueous Sodium Caproate Solutions at (298.15,308.15) K. *J. Chem. Eng. Data.* **2005**, *50* (6), 1864-1870. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/je0501484>

**Article citation:**

Páez, M. S.; García, J. D.; Vegara, M. K. Propiedades viscosimétricas de la DL-alanina en soluciones acuosas de trifluorometanosulfonato de 1-butil-3-metil imidazolío a diferentes temperaturas. *Rev. Colomb. Quim.* **2015**, *44* (3), 39-48. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n3.55608>

## Descripción

La Revista Colombiana de Química (Rev. Colomb. Quim., versión on-line ISSN 2357-3791, versión impresa ISSN 0120-2804) es una publicación científica arbitrada, del Departamento de Química, Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. Desde su lanzamiento en 1971, y hasta 1980, la Revista Colombiana de Química publicó un volumen por año y su periodicidad cambió a uno o dos volúmenes por año desde 1981 hasta 2006. A partir de 2007 y hasta la fecha publica tres volúmenes por año. Todos sus volúmenes se encuentran disponibles online en el sitio web <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/index>.

La Revista Colombiana de Química se encuentra indexada en las bases de datos SCOPUS, PUBLINDEX, DOAJ, SCIELO, LATINDEX Y REDALYC. Esta publicación cuenta con un Comité Científico y Editorial compuesto por investigadores de reconocida trayectoria en sus áreas de especialidad y acepta contribuciones relevantes en las diversas áreas de la química tales como química analítica, bioquímica, orgánica, fisicoquímica, alimentos, inorgánica, ciencias de materiales, organometálica, enseñanza de la química, entre otras. El público objetivo son profesionales relacionados con cualquier área de la química.

## Tipos de artículos

### Artículos de investigación

Son artículos que presentan resultados de investigación que no han sido publicados previamente. Los autores deben resaltar la contribución de su trabajo al conocimiento. Se sugiere un máximo de 40 referencias.

### Artículos de revisión

Serán solicitados por invitación del Comité Editorial, teniendo en cuenta la experiencia de los autores en un determinado tema. Son artículos que presentan el estado actual del conocimiento sobre un tema. En este tipo de artículos, el autor además de efectuar la revisión, debe establecer su aporte y criterio propios. Debe presentar más de 50 referencias, preferiblemente de los últimos 5 años.

## Ética

En la Revista Colombiana de Química se toma como código de conducta ética el propuesto por el Comité de Ética de Publicaciones (COPE): <http://publicationethics.org/> para editores de revistas científicas. En este se sancionan el plagio y la autoría fantasma, la duplicación de resultados o cualquier otro tipo de modificación fraudulenta. De igual modo se promueve y aplica un sistema de evaluación por pares donde se garantiza el anonimato de autores y evaluadores.

## Conflicto de intereses

La revista define un conflicto de interés como cualquier asunto que interfiera en: la presentación completa y objetiva, la revisión por pares, la toma de decisiones editoriales, o la publicación de artículos de investigación presentados a la revista. El conflicto de intereses puede ser de naturaleza financiera y no financiera, profesional o personal, y puede surgir en relación a una organización u otra persona.

## Envío y esquema de revisión general

Los manuscritos enviados a la Revista Colombiana de Química para su posible publicación deben ser inéditos (**no sometidos al mismo tiempo a ninguna otra revista impresa o digital**). Los autores son responsables por las opiniones e ideas declaradas en el manuscrito. La precisión de la información en los manuscritos, incluyendo figuras y tablas, es responsabilidad completa del autor o de los autores.

Los manuscritos serán recibidos para su evaluación vía correo electrónico ([rcolquim\\_fcbog@unal.edu.co](mailto:rcolquim_fcbog@unal.edu.co)) o a través de la plataforma en línea de la Revista (<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim>).

### Requisitos generales de envío

Para los envíos a través del portal en línea, el autor debe estar registrado en el portal, de no ser el caso debe registrarse siguiendo los pasos necesarios. Antes de comenzar, es importante que compruebe que su envío cumple escrupulosamente todos los requisitos solicitados por la revista (Ver sección Preparación para el envío online).

1. La versión del documento en línea no debe incluir resumen ni datos de autores, estos se incluyen en los metadatos, es decir, en el formulario de envío. Por el contrario, si el artículo es enviado por correo electrónico debe contener todos los datos que se especifican en la sección Formato.
2. Para las dos formas de envío deben adjuntarse una carta de presentación del artículo, donde se incluyan los aspectos más relevantes del artículo, una lista de tres posibles evaluadores con sus respectivos datos de contacto y firma de todos los autores.
3. Las fotos, diagramas, mapas y gráficas se enumeran como figuras. Las fotos y mapas deben adjuntarse en un archivo aparte, en formato TIFF o JPEG al tamaño en que van a salir, con 300 dpi de resolución, y en escala de grises o en blanco y negro. En caso de que tengan 4 o más ítems, se debe cambiar la escala de grises por diferentes tramas. No se deben insertar en Word ya que pierden la resolución, y en el programa de diseño van a salir pixeladas. Si las gráficas corresponden a archivos trabajados en Excel o Word se deben enviar en dichos programas, pero abiertas, no como imagen para que se puedan editar.

## Esquema de Revisión

- Después de recibir el artículo y verificar que cumpla con el formato establecido en esta guía, se envía a revisión por pares según el tema tratado.
- Después de recibir las evaluaciones, se envía la decisión del Comité Editorial al autor de correspondencia:
- **Aceptado con cambios mínimos:** Los autores deben enviar una nueva versión a la revista. Una vez el editor verifica que los cambios fueron realizados (los autores deben enviar una lista detallada con los cambios realizados o el porqué de los cambios no realizados), el artículo es aceptado.
  - **Cambios mayores:** Los autores deben enviar una nueva versión a la revista, la cual será sometida a evaluación corta (los autores deben enviar una lista detallada con los cambios realizados o el porqué de los cambios no realizados).
  - **Rechazado:** Los autores deciden si someten una nueva versión a la revista, la cual será tratada como un artículo nuevo.
- Si el artículo es aceptado aparecerá inicialmente en formato preimpresión en la página Web de la revista (<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/index>). Posteriormente se reemplazará por la versión diagramada. Finalmente, la versión impresa será distribuida.

## Formato

El documento se debe presentar en archivo Word .doc o .docx, tamaño carta, interlineado 2,0, con márgenes superior e inferior de 2,5 cm y 3,0 cm en los lados, con letra Times New Roman 12, páginas numeradas de inicio a fin. Se deben usar los títulos: **RESUMEN, ABSTRACT, RESUMEN, INTRODUCCIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS, RESULTADOS Y DISCUSIÓN, CONCLUSIONES, AGRADECIMIENTOS Y REFERENCIAS.**

### Idioma

Los manuscritos se aceptan en español, inglés o portugués, sin embargo, siempre **el título, resumen y palabras claves deben presentarse en los tres idiomas.** Como estrategia para aumentar la difusión y visibilidad de los resultados se sugiere presentar los manuscritos en inglés.

## Página inicial

### Título

El título debe ir en minúscula, a menos que la mayúscula sea mandatoria. Debe ser conciso pero informativo y no debe exceder 120 caracteres incluyendo los espacios. Debe aparecer siempre en español, inglés y portugués. Por ejemplo:

- Oxidación catalítica de tolueno y 2-propanol sobre óxidos mixtos de Mn y Co obtenidos por coprecipitación.
- Catalytic oxidation of toluene and 2-propanol over Mn and Co mixed oxides obtained by coprecipitation method.
- A oxidação catalítica de tolueno e 2-propanol em óxidos mistos de Mn e de Co, obtidos por coprecipitação.

## Autor(es) y filiación

- Nombres y apellidos completos.
- Último título profesional.
- Institución en la cual trabaja.
- País y ciudad de residencia.
- Correo electrónico (de cada autor).

En los datos de filiación se debe conservar el orden categórico: Laboratorio, instituto, universidad, ciudad, estado, país, e-mail. Cada filiación debe ser enlistada con números en superíndice y referenciada a cada autor. El autor de correspondencia debe ir denotado con asterisco. Por ejemplo:

Mauricio Acelas<sup>1</sup>, Elizabeth Gil<sup>2</sup>, Markus Doerr<sup>3</sup>, Martha Daza<sup>3</sup>, Juan Manuel Urbina<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular–LQOBio, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Ciudad Universitaria, AA 678, Bucaramanga, Colombia.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 N° 43-82, Bogotá D.C., Colombia.

<sup>3</sup> Grupo de Bioquímica Teórica–GBQT, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Ciudad Universitaria, AA 678, Bucaramanga, Colombia.

\* Autor para correspondencia: [jurbina@uis.edu.co](mailto:jurbina@uis.edu.co)

## Cuerpo del artículo

Todo el texto debe venir justificado (alineado a izquierda y derecha), con las páginas y líneas numeradas continuamente. Todos los títulos y subtítulos primarios y secundarios deben ir justificados a la izquierda. Los títulos (**RESUMEN, PALABRAS CLAVE, INTRODUCCIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS, RESULTADOS Y DISCUSIÓN, AGRADECIMIENTOS, CONCLUSIONES Y REFERENCIAS**) deben ir con mayúscula sostenida y negrilla. Los **subtítulos primarios** en minúsculas sostenida y en negrilla. Los *subtítulos secundarios* con minúscula sostenida y en cursiva. Siempre se deben definir los términos estadísticos, abreviaturas y los símbolos la primera vez que se usan en el artículo. Para las unidades de medida se debe usar el sistema métrico internacional. Cuando no van seguidos de unidades, los números enteros hasta diez se escriben con la palabra (uno, dos, diez) y mayores de diez con

números (11, 12, 102). Cuando se utilicen números, estos deben ir seguidos de sus unidades y se mantendrá un espacio entre uno y otro (100 m, 50 mL). Si se trata de porcentaje no deje espacio entre el número y la unidad (80%). En manuscritos escritos en español las cifras decimales irán separadas por coma (,) y en inglés por punto (.). Cite cada figura y tabla en el texto de acuerdo al orden de aparición y en el siguiente formato: Figura 1 o Figuras 1 y 2 o Figuras 1A-1F o Tabla 1.

## Resumen

Resumen de máximo 200 palabras. Se sugiere poner una frase introductoria. Deben mencionarse los propósitos de la investigación, los resultados relevantes (proporcionando datos específicos y, de ser posible, su significación estadística), y las conclusiones principales sin incluir citas bibliográficas. Se debe hacer énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio. Debe evitar presentarse un resumen descriptivo (aquel donde no se presentan datos), en cambio, debe presentarse un resumen analítico (aquel en donde se presentan los datos relevantes obtenidos en la investigación). Debe aparecer siempre en español, inglés y portugués.

## Palabras clave

Deben listarse de 3 a 6 palabras claves. No se deben emplear las palabras ya usadas en el título del manuscrito. Deben aparecer siempre en español, inglés y portugués.

## Introducción

Deben presentarse los fundamentos lógicos para la realización del trabajo. Solo se dan las referencias estrictamente oportunas y no se deben incluir datos o conclusiones del trabajo que se está publicando. Al final de la introducción, debe presentarse el objetivo del trabajo.

## Materiales y métodos

En una subsección deben listarse los reactivos utilizados, la marca y el país. Se deben usar subtítulos en los procedimientos utilizados. Los procedimientos deben tener el detalle suficiente para permitir a otros profesionales reproducir la investigación. Se deben incluir los equipos empleados, incluyendo nombre del fabricante y país, además de las referencias de la metodología y métodos estadísticos. Deben describirse los métodos nuevos o los que han sido sustancialmente modificados, sustentando las razones para utilizarlos y evaluando sus limitaciones.

Los autores que envíen artículos de revisión, deberán describir los métodos empleados para localizar, seleccionar, extraer y sintetizar la información. Siempre que se hagan pruebas estadísticas, debe usarse un subtítulo "Análisis estadístico" para su descripción.

## Resultados y discusión

Los resultados deben presentarse en un orden lógico y concordante con el orden de los métodos. Se deben destacar los resultados que contribuyen a la generación de nuevo conocimiento. La información contenida en tablas no debe repetirse en figuras y viceversa.

En la discusión deben destacarse los aspectos nuevos y relevantes del estudio, y evitar repetir información ya facilitada en la sección INTRODUCCIÓN. Se recomienda evaluar posibles relaciones entre los resultados obtenidos, juzgar los resultados en relación con los obtenidos por otros autores, y proponer hipótesis que expliquen los datos obtenidos. En esta sección debe haber una extensión mínima de tres páginas a doble espacio.

## Conclusiones

Debe aparecer mínimo un párrafo con las conclusiones, vinculado a los objetivos del estudio, evitando enumerarlas o presentarlas como frases sueltas. Se deben realizar afirmaciones plenamente respaldadas por los datos.

## Agradecimientos

Deben mencionarse las fuentes de financiación de los proyectos de investigación y/o apoyos recibidos para la realización del estudio (becas, equipos, reactivos, entre otros). Pueden nombrarse a aquellas personas que hayan prestado su ayuda intelectual al trabajo, pero cuyas contribuciones no justifiquen la autoría, describiendo la contribución llevada a cabo, por ejemplo, "apoyo técnico", "revisión crítica del escrito", "recolección de muestras".

## Referencias

El formato está basado en la guía de estilos de la American Chemical Society (ACS).

**Referencias en texto:** Todas las citas que aparecen en el texto deben coincidir con las presentadas en la sección REFERENCIAS, y viceversa.

Debe evitarse citar como bibliografía:

- Los resúmenes presentados en congresos u otras reuniones.
- Comunicaciones personales.
- Datos no publicados. La citación de un artículo "en prensa" supone que el artículo ya fue aceptado para publicación.

Las citas deben realizarse con números itálicos en paréntesis en la línea del texto, y dentro de la puntuación. Por ejemplo:

- Las condiciones de extracción se encuentran reportadas en otros estudios (1).

Si hay varias citas se separan con coma (,) sin espacios entre los números; si son citas consecutivas, se separan con guión (-). Por ejemplo:

- Los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por otros autores (8,26-30).

Las citas se deben escribir con números naturales acorde a su orden de aparición. Si dentro de la redacción del texto se debe mencionar el autor, entonces la citación debe ser:

- Un autor: Duque (2)
- Dos autores: Duque y Palomeque (3)
- Más de dos autores: Duque *et al.* (4)

**Formato de referencias:** Las referencias deben ser organizadas en el mismo orden numérico en el que fueron presentadas a lo largo del texto.

#### Revistas

Se debe anotar el apellido y las iniciales del nombre de todos los autores. Apellidos se separan de las iniciales del nombre con coma. Las iniciales de los nombres de autores se acompañan con punto. Los autores se separan con punto y coma. Luego se escribe el título. El nombre abreviado de la revista en cursiva, de acuerdo al Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI, <http://cassi.cas.org/search.jsp>). El año en negrilla, el volumen en itálica y las páginas (separadas por guión). De igual manera, si el artículo cuenta con DOI es necesario incluirlo al final de la referencia.

- Hasta seis autores: se incluyen todos los autores.  
Da Silva, R.; Nissim, I.; Brosnan, M.; Brosnan, J. Creatine synthesis: Hepatic metabolism of guanidinoacetate and creatine in the rat *in vitro* and *in vivo*. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2009**, *296*, 256-261. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.90547.2008>.

- Más de seis autores: incluir hasta los seis primeros autores y a continuación escribir *et al.*

#### Libros y otras monografías

- Libros sin editores  
Stout, J.; Antonio, J.; Kalman, D. *Essentials of creatine in sports and health*. Humana Press Inc.: Totowa, NJ, 2008; pp 30-40. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-573-2>.  
  
Budavari, S.; O'Neil, M. J.; Smith, A.; Heckelman, P. E.; Obenchain, J. R., Jr.; Gallipeau, J. A. R.; D'Arecea, M. A. *The merck index, an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*, 13th ed. Merck & Co., Inc.: Whitehouse Station, NJ, 2001; pp 1768-1769.
- Libros con editores  
Rowe, R. C.; Sheskey, P. J.; Owen, S. C. (eds.). *Handbook of pharmaceutical excipients*, 5th ed. Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association: Grayslake, IL, 2006; pp 798-799.
- Capítulo en libro editado  
McBrien, M. Selecting the Correct pH Value for HPLC. In *HPLC made to measure: A practical handbook for optimization*; Kromidas, S., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2006; pp 89-103.

#### Tesis doctoral (o similar)

- Impreso  
King, K. J. Development of a pressurized system for oxidation studies of volatile fluids. M.S. Thesis, The Pennsylvania State University, State College, PA, March 1983.
- Electrónico  
Abrams, N. M. Efficiency enhancement in dye-sensitized solar cells through light manipulation. Ph.D. Dissertation [Online], The Pennsylvania State University, University Park, PA, December 2005. <http://etda.libraries.psu.edu/theses/approved/WorldWideIndex/ETD-1061/index.html> (consultado el 2 de abril de 2014).

#### Sitios Web

Penn State Department of Chemistry. <http://www.chem.psu.edu/> (consultado el 7 de junio de 2014).

Mallet Chemistry Library, University of Texas Libraries. ThermoDex home page: An index of selected thermodynamic and physical property resources. <http://www.lib.utexas.edu/thermodex/> (consultado el 19 de marzo de 2014).

#### En prensa

Martínez, F.; Jouyban, A.; Acree, W. E., Jr. Comments on "Solubility and thermodynamic function of a new anticancer drug ibuprofen in 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol + water mixtures at different temperatures". *J. Chem. Thermodyn.* **2015**. In press. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jct.2015.11.031>

## Tablas y figuras

Las fotos, diagramas, mapas y gráficas se clasifican como figuras. Deben usarse figuras como alternativa a las tablas; evite redundancia entre tablas, figuras y texto.

Las figuras con sus leyendas deben enviarse individualmente en formato .TIFF, de excelente calidad, con una resolución mínima de 300 dpi y con uno de dos tamaños (9 cm de ancho, que es una columna, o 20 cm que cubre las dos columnas). La impresión a color no genera costos adicionales para los autores, sin embargo, representa un mayor costo para la revista. Teniendo esto en cuenta, se debe utilizar escala de grises o tramas siempre que sea posible. Deben usarse colores cuando sea estrictamente necesario. Figuras que hayan sido creadas en Excel o Word deben ser enviadas en esos programas.

Las tablas deben estar en el cuerpo del artículo al final del documento. Tanto las tablas como las figuras deben ser autocontenidas (poder interpretarse sin necesidad de recurrir al cuerpo del artículo). En la leyenda de la figura, o en el título o pie de la tabla, deben describirse las claves, abreviaturas y demás explicaciones. Se recomienda proporcionar además de los promedios, las desviaciones estándar y demás información estadística relevante a los datos.

La rotulación de cada tabla debe ir a la cabeza de la misma, mientras que en las figuras debe presentarse al pie. Evite figuras pequeñas aisladas: agrupe figuras con información relacionada en figuras compuestas rotuladas con letras (Figura 1a, Figura 3b, etc.). Si un artículo contiene tablas o figuras reproducidas (así sean del mismo autor), es obligación declarar el origen y presentar permiso para utilizarlas. Es responsabilidad de los autores conseguir el correspondiente permiso. Si tiene dudas al respecto, por favor comunicarse con la revista vía correo electrónico ([rcolquim\\_fcbog@unal.edu.co](mailto:rcolquim_fcbog@unal.edu.co)) o por teléfono (+571 3165000 Ext. 14458).

## Preparación para el envío online

Antes de realizar el envío de su manuscrito ya sea por el Portal o por correo electrónico, verifique que cumple con las siguientes condiciones:

- Presenta un título en los 3 idiomas solicitados.
- Proporciona nombres y apellidos completos de los autores (e indica quién es el autor de correspondencia), y de cada autor se menciona:
  - Último título profesional.
    - Institución en la cual trabaja.
    - País y ciudad de residencia.
    - Correo electrónico.
- Presenta un resumen analítico, de máximo 200 palabras, en los 3 idiomas solicitados.



- Presenta palabras clave, en los 3 idiomas solicitados.
- El cuerpo del artículo se encuentra en el formato solicitado.
- Las referencias citadas en el cuerpo del artículo aparecen en la sección REFERENCIAS, y viceversa.
- El formato de las referencias sigue las indicaciones estipuladas en esta guía.
- En las referencias se menciona el DOI de los artículos, si es el caso.
- Las figuras están en formato .TIFF con resolución mayor a 300 dpi en archivos diferentes al cuerpo del documento. Si las figuras fueron creadas en Word o Excel
- entonces se envían en ese formato. Las tablas van al final del documento.
- Adjunta la carta de presentación del artículo en el formato dispuesto para tal fin. disponible en <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim>

## Manuscrito aceptado para publicación

Si el Editor le ha notificado que su manuscrito podría ser aceptado para publicación en caso de tener en cuenta las modificaciones sugeridas por los revisores, envíe la nueva versión del artículo acompañada de una carta donde detalle cada uno de los comentarios de los revisores, y justifique en caso de que no tenga en cuenta alguna de las sugerencias. Tra-

baje la nueva versión del artículo con control de cambios o resalte los cambios en esta nueva versión, para que el Editor pueda identificarlos con facilidad.

Una vez haya finalizado el proceso de revisión por pares, el Editor enviará un correo electrónico al(os) autor(es) del manuscrito manifestando la decisión del Comité Editorial. Si el manuscrito ha sido aceptado para publicación, se adjuntarán al correo las sugerencias, indicaciones y comentarios que cada evaluador efectuó sobre los aspectos de fondo y de forma del artículo. Para continuar con el proceso de publicación el(los) autor(es) deben enviar los siguientes archivos al correo de la revista ([rcolquim\\_fcboq@unal.edu.co](mailto:rcolquim_fcboq@unal.edu.co)):

- La nueva versión del documento en donde se trabaje con control de cambios o se resalten las modificaciones trabajadas.
- Una carta en la que se detallen cada uno de los comentarios de los revisores, justificando aquellos casos en los que no se siguió una determinada indicación o sugerencia.
- Las imágenes que se hayan modificado en virtud de los comentarios de los revisores y las necesidades de la nueva versión. Las imágenes deben estar en formato .TIFF con una resolución mayor a 300 dpi.

## Costo de la publicación

La publicación de un artículo, con una extensión no mayor a 3 páginas impresas de la revista, tendrá un costo de \$30.000 pesos colombianos. Las páginas adicionales tendrán un costo de \$20.000 pesos colombianos cada una.

## Description

Revista Colombiana de Química (Rev. Colomb. Quim. Online version ISSN 2357-3791, printed version ISSN 0120-2804) is a peer-reviewed scientific journal from the Department of Chemistry, Faculty of Sciences of Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Since its launch in 1971 and until 1980 Revista Colombiana de Química published a volume per year, and its frequency changed to one or two volumes per year from 1981 to 2006. From 2007 until the present, this journal has published three volumes per year. All of its volumes are available online at the website: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/index>.

Revista Colombiana de Química is indexed in databases such as Scopus, Publindex, DOAJ, SciELO, Latindex, and Redalyc. This publication has a Scientific and Editorial Board composed of renowned researchers in each subject, and accepts relevant contributions to the different areas of chemistry such as analytical chemistry, biochemistry, organic and physical chemistry, food chemistry, inorganic chemistry, material sciences, organometallic chemistry, and chemistry teaching, among others. The target audience are professionals of any area of chemistry.

## Types of manuscripts

### Research articles

They are articles that present results of investigation that have not been published previously. The authors should highlight the contribution of their work to novel knowledge. It is suggested a maximum of 40 references.

### Reviews

They will be requested by invitation of the Publishing Board, considering the experience of the authors in a specific subject. They are articles that present the current state of the knowledge on a subject. Additionally, in this type of articles, the authors should clearly establish their contribution and own criterion. It has to present more than 50 references, preferably of the last 5 years.

## Ethics

Revista Colombiana de Química follows the ethics policy proposed by COPE: <http://publicationethics.org/> intended for peer-reviewed scientific journals. Please be aware that plagiarism, ghost writing, and duplication of results are considered to go against our ethics policy. This journal uses an evaluation system in which authors and referees are unknown to each other.

## Conflicts of interest

The journal defines a conflict of interest as any subject that interfere in: the complete and objective presentation, the review by pairs, the taking of publishing decisions, or the publication of investigation articles presented to the journal. The conflict of interests can be of financial and no financial nature, professional or personal, and can come up in relation to an organization or another person.

## Submitting and outline for the general review

Manuscripts submitted to the Revista Colombiana de Química for their possible publication have to be unpublished (no subjected at the same time to any other journal, either printed or digital). The authors are responsible for their opinions and ideas declared in the manuscript. The precision of the information in a manuscript, including figures and tables, is complete responsibility of the author (s).

Manuscripts can be submitted for their evaluation via email ([rcolquim\\_fcbog@unal.edu.co](mailto:rcolquim_fcbog@unal.edu.co)) or through the platform on-line of the journal (<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim>).

### General requirements for submitting

Sending through the portal online are possible if the author is registered. If not, the author should register following the necessary steps. Before beginning, it is important to check that the sending meets all the requirements requested by the journal (See section Preparation for on-line sending).

1. Neither abstract nor authors' data should be included in the on-line version of the document. These information should be included in the metadata, that is to say, in the submission form. On the contrary, if the article is sent by e-mail it has to contain all the data that is specify in the Format section.
2. In both cases, on-line submitting or via e-mail, a letter presenting the article must be submitted. This letter should include the most relevant aspects of the manuscript, a list of three possible reviewers, with their respective contact data. The letter should be sign by all the authors.
3. Photos, diagrams, maps, and figures should be named as figures. Photos and maps should be attached in a separated file, in a TIFF or JPEG format. They should have the size at which they have to be published, with a resolution of 300 dpi, and in a grey scale in black and white. If a grey scale is not good enough then different trams should be used. Photos and maps should not be copied in Word because they lose resolution, and therefore there will be problems during the formatting. If the graphic corresponds to archives developed in Excel or Word, then authors should send it in the original program.

## Reviewing flow

---

- After receiving the manuscript and verifying that it fulfils with the format established in this guide, it is sent to peer-reviewers.
- After receiving the evaluations, the decision of the Editorial Board is sent to the correspondence author:
  - **Accepted with minor changes:** Authors should send a new version to the journal. When the editor verifies that the changes were made (the authors have to send a detailed list with the changes made or the reason why they do not made the changes), the article is accepted.
  - **Major changes:** Authors should send a new version to the journal, which will be subjected to a fast evaluation (the authors have to send a detailed list with the changes made or the reason why they do not made the changes).
  - **Rejected:** The authors decide if they subject a new version to the journal, which will be treated as a new article.
- If the article is accepted, it will appear initially in a pre-print format in the web page of the journal (<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/index>). Later on it will be replaced by the diagramed version. Finally, the printed version will be distributed.

## Preparation

---

The document has to be presented in a Word .doc or .docx file, size letter, 2.0 line spacing, with top and bottom margins of 2.5 cm and 3.0 cm in right and left margins, font Times New Roman, pages consecutively numbered. The titles: **ABSTRACT, RESUMEN, RESUMO, INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS AND DISCUSSION, CONCLUSIONS, ACKNOWLEDGEMENTS, and REFERENCES** should to be used.

### Language

---

Manuscripts are accepted in Spanish, English or Portuguese. However, the **title, abstract, and key words should be written in the three languages**. As a strategy to increase the diffusion and visibility of the manuscript, the journal encourage to the authors to present the manuscript in English.

## First page

---

### Title

---

The title has to be in small letter, unless the capital is compulsory. It has to be concise but informative and does not have to exceed 120 characters including spaces. The title has to appear always in Spanish, English, and Portuguese. For example:

- Catalytic oxidation of toluene and 2-propanol over Mn and Co mixed oxides obtained by coprecipitation method.
- Oxidación catalítica de tolueno y 2-propanol sobre óxidos mixtos de Mn y Co obtenidos por coprecipitación.
- A oxidação catalítica de tolueno e 2-propanol em óxidos mistos de Mn e de Co, obtidos por coprecipitação.

## Author(s) and their filiations

---

- Full names.
- Last professional title.
- Working institution.
- Country and city of residence.
- E-mail (for each author).

Filiation data should keep a categorical order as follows: laboratory, institute, university, city, state, country, e-mail. Each filiation should be listed with numbers in superscript and referenced to each author. The author of correspondence has to be denoted with an asterisk. For example:

Mauricio Acelas<sup>1</sup>, Elizabeth Gil<sup>2</sup>, Markus Doerr<sup>3</sup>, Martha Daza<sup>3</sup>, Juan Manuel Urbina<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular–LQOBio, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Ciudad Universitaria, AA 678, Bucaramanga, Colombia.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 N° 43-82, Bogotá D.C., Colombia.

<sup>3</sup> Grupo de Bioquímica Teórica–GBQT, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Ciudad Universitaria, AA 678, Bucaramanga, Colombia.

\* Author of correspondence: [jurbina@uis.edu.co](mailto:jurbina@uis.edu.co)

## Body of the manuscript

---

The manuscript should be justified (aligned to both left and right), with the pages and lines numbered continuously. All titles and primary and secondary subtitles should be justified to the left. The titles (**ABSTRACT, INTRODUCTION, MATERIAL AND METHODS, RESULTS AND DISCUSSION, CONCLUSIONS, ACKNOWLEDGEMENTS, and REFERENCES**) have to go with capital letter and bold type. The **primary subtitles** have to go with small letter sustained and bold type. The *secondary subtitles* have to go in italic. Always the statistics terms, abbreviations, and symbols have to be defined the first time they are used in the manuscript. For the measurement units, the International Metric System should be used. When not followed by units numbers are written up to ten with the word (one, two, three, etc.) and high-

er than ten with numbers (11, 12, 102). Numbers with units should be followed by the units keeping a space between one and another (100 m, 50 mL). If the number represents a percentage then there should not be any space between the number and the unit (80%). In manuscripts written in Spanish decimals are separated by comma (,) and in English by point (.). Each figure and table in the text must be quoted according to the order of apparition and in the following format: Figure 1 or Figures 1 and 2 or Figures 1A-1F or Table 1.

## Abstract

Abstract should have a maximum of 200 words. To write an introductory sentence is suggested. The authors have to mention the aim of the investigation, the notable results (providing specific data and, if possible, its statistical significance), and the main conclusions without bibliographic references. Authors should emphasize towards the new and important aspects of the study. A descriptive abstract should be avoided (where no data is shown), instead, an analytical abstract (where notable data obtained in the investigation is shown) should be presented. The abstract has to appear always in Spanish, English, and Portuguese.

## Key words

Between three to six words have to be listed. The words used in the title of the manuscript should not be used in this section. Key words have to appear always in Spanish, English, and Portuguese.

## Introduction

The logical foundations for the realization of the work have to be presented. Only strictly timely references should be given. Data or conclusions of the manuscript should not be included in this section. At the end of the introduction, the aim of the work have to be shown.

## Materials and methods

In a subsection, the reagents used, trade, and the country have to be listed. The methods used should be listed by subtitles. The procedures have to have the sufficient detail to allow other professionals to reproduce the experiments. This section must include the equipment, including name of the manufacturer and country, in addition, the references of the methodology and statistical methods should be provided. Authors should describe the new methods or those that have been substantially modified, supporting the reasons to use them and evaluating their limitations.

Authors submitting reviews should describe the methods employed to locate, select, extract, and synthesize the information. If statistical tests are done, then a subtitle "Statistical analysis" should be included for their description.

## Results and discussion

Results should be presented in a logical order and in accordance to the order presented in the MATERIALS AND METHODS section. Authors

should highlight the results that contribute to the generation of new knowledge. The information contained in tables does must not be repeated in figures, and vice versa.

New and outstanding outcomes of the study should be highlighted. Information presented in the sections INTRODUCTION should not be shown again in this section. It is advised to evaluate possible relations between the obtained results, to judge the results in relation with the ones obtained by other authors, and to propose hypotheses to explain the obtained data. The sections should have a minimum extension of three pages written in double space.

## Conclusions

Minimum one paragraph should be presented as conclusion (s). Conclusions should be in accordance to the aim of the study, avoiding to enumerate them or to present them as loose sentences. Author should present the conclusions well supported by the data.

## Acknowledgements

Funding sources should be mentioned in this section. Support received for the realization of the study (e.g., scholarships, equipment, reagents) should also be included. Authors can appoint those people that contributed to the work, but whose contributions do not justify the authorship, describing the contribution carried out, for example, "technical support", "critical review of the writing", "collecting samples".

## References

The format is based in the guide of styles of the American Chemical Society (ACS).

**References in text:** All the appointments that appear in the text have to coincide with those presented in the section REFERENCES, and vice versa.

Authors must avoid referencing as bibliography:

- The summaries presented in congresses or other meetings.
- Personal communications.
- Unpublished data. The citation of a manuscript as "in press" supposes that it was already accepted for publication.

The references should appear with italic numbers in parentheses in the line of the text, and inside the punctuation. For example:

- The conditions of extraction are reported in other studies (1).

If there is more than one reference there must be separated by comma (,) without spaces between numbers. If they are consecutive references they are separated by hyphen. For example:

- The results obtained were similar to those reported by other authors (8,26-30).

The references should be written with natural numbers in accordance to their order of apparition. If within the text the author(s) are to be mentioned, then the citation has to be as:

- An author: Duque (2)
- Two authors: Duque and Palomeque (3)
- More than two authors: Duque et al. (4)

**Format of references:** The references have to be organized in the same numerical order in which they were presented along the text.

#### Journals

The surname and the initials of the name of all the authors have to be included. Surnames should be separated of the initials of the name by comma. The initials of the names of authors should be accompanied with point. Authors should be separated with semicolon. After the authors information the title should be written. The name abbreviated of the journal in italic, according to the Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI, <http://cassi.cas.org/search.jsp>). The year in bold type, the volume with italic type and the pages (separated with hyphen). If available the DOI should be included.

- Up to six authors: all the authors should be included.  
Da Silva, R.; Nissim, I.; Brosnan, M.; Brosnan, J. Creatine synthesis: Hepatic metabolism of guanidinoacetate and creatine in the rat *in vitro* and *in vivo*. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2009**, 296, 256-261. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.90547.2008>.
- More than six authors: include until the sixth author and then write *et al.*

#### Books and other monographs

- Books without editors  
Stout, J.; Antonio, J.; Kalman, D. *Essentials of creatine in sports and health*. Humana Press Inc.: Totowa, NJ, 2008; pp 30-40. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-573-2>  
  
Budavari, S.; O'Neil, M. J.; Smith, A.; Heckelman, P. E.; Obenchain, J. R., Jr.; Gallipeau, J. A. R.; D'Arecea, M. A. *The merck index, an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*, 13th ed. Merck & Co., Inc.: Whitehouse Station, NJ, 2001; pp 1768-1769.
- Books with editors  
Rowe, R. C.; Sheskey, P. J.; Owen, S. C. (eds.). *Handbook of pharmaceutical excipients*, 5th ed. Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association: Grayslake, IL, 2006; pp 798-799.
- Chapter in edited book  
McBrien, M. Selecting the correct pH value for HPLC. In *HPLC made to measure: A practical handbook for optimization*; Kromidas, S., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2006; pp 89-103.

#### Doctoral Thesis (or similar)

- Printed  
King, K. J. Development of a pressurized system for oxidation studies of volatile fluids. M.S. Thesis, The Pennsylvania State University, State College, PA, March 1983.
- Online  
Abrams, N. M. Efficiency enhancement in dye-sensitized solar cells through light manipulation. Ph.D. Dissertation [Online], The Pennsylvania State University, University Park, PA, December 2005. <http://etda.libraries.psu.edu/theses/approved/WorldWideIndex/ETD-1061/index.html> (consulted on the 2nd April 2014).

#### Web sites

Penn State Department of Chemistry. <http://www.chem.psu.edu/> (consultado el 7 de junio de 2014).

Mallet Chemistry Library, University of Texas Libraries. ThermoDex home page: An index of selected thermodynamic and physical property resources. <http://www.lib.utexas.edu/thermodex/> (consultado el 19 de marzo de 2014).

#### In press

Martínez, F.; Jouyban, A.; Acree, W. E., Jr. Comments on "Solubility and thermodynamic function of a new anticancer drug ibrutinib in 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol + water mixtures at different temperatures". *J. Chem. Thermodyn.* **2015**. In press. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jct.2015.11.031>

## Tables and figures

Photos, diagrams, maps, and graphics should be mentioned as figures. We encourage authors to present data in figures instead to tables. In any case, redundancy among tables, figures, and text should be avoided.

Figures with legends have to be sent individually in format .TIFF, of excellent quality, with a minimum resolution of 300 dpi and with one of two sizes (9 cm of width, that is a column, or 20 cm that covers the two columns). The color impression does not generate additional costs for the authors, however, it represents a greater cost for the journal. With this in mind, a scale of grey or trams should be used whenever possible. The use of color might be considered when it is strictly necessary. Figures originally created in Microsoft Word or Excel should be sent in that program.

Tables should be included in the body of the manuscript at the end of the document. Both tables and figures have to be self-contained (They should be interpreted without needing information from the body of the manuscript). Keys and abbreviations should be described in the legend of the figure and in the title or foot of the table. It is advised to provide in addition to the average, the standard deviation, and other notable statistical information.

The labels of each table have to be at the top of it, whereas in figures the labels have to be presented at their foot. Small figures should be avoided: group figures with information related in compound figures entitled with letters (Figure 1a, Figure 3b, etc.). If a manuscript contains tables or figures reproduced (even if they are from the author (s) submitting the manuscript) it is compulsory to the authors to declare the origin and to present permission to use them. It is responsibility of the authors to achieve the corresponding permission. In case of any doubt in this regard, please contact the journal via e-mail ([rcolquim\\_fcbog@unal.edu.co](mailto:rcolquim_fcbog@unal.edu.co)) or by telephone (+571 3165000 Ext. 14458).

## Preparation for on-line submitting

Before sending your manuscript, by the Portal or by email, verify that it fulfils with the following conditions:

- It has a title in the 3 languages requested.
- It provides full names of the authors, and for each one it is mentioned:



- Last professional title.
  - Institution in which the author works.
  - Country and city of residence.
  - E-mail.
- It presents an analytical abstract, of maximum 200 words, in the three languages requested.
  - It presents keywords, in the 3 languages requested.
  - The body of the article follows the format requested.
  - The cited references in the body of the article appear in the section REFERENCES and vice versa.
  - The format of the references follows the indications stipulated in this guide.
  - In the references the DOI of the articles are presented, if it is the case.
  - The figures are in format .TIFF with resolution greater than 300 dpi. (in separated files). If a figure was created in Word or Excel then sent it in that format.
  - The tables are placed at the end of the document.
  - A letter presenting the manuscript in a format as suggested above is included. Available in <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim>

## Manuscript accepted for publication

---

If the Editor has notified the correspondence author that his (her) manuscript could be accepted for publication in case the modifications

suggested by the referees are taken into account, the author should send the new version of the manuscript accompanied of a letter detailing the response to each one of the comments. In the case a comment is not taken into account the author should justify the reason. The new version of the manuscript should be created with the “track changes” option or highlighting in yellow the changes, so that the Editor can identify them easily.

Once the process of reviewing is completed, the Editor will send an email to the correspondence author manifesting the decision of the Editorial Board. If the manuscript is accepted for publication, an e-mail attaching the suggestions, indications, and comments of each reviewer will be sent to the correspondence author. To continue with the process of publication, the author should send the following archives to the e-mail of the journal ([rcolquim\\_fcbog@unal.edu.co](mailto:rcolquim_fcbog@unal.edu.co)):

- The new version of the manuscript in which the author uses the option “track changes” or highlight in yellow the modifications performed.
- A letter detailing the response to each one of the comments. In the case a comment is not taken into account the author should justify the reason.
- In the case that a reviewer suggest that a figure should be modified, then be aware that it should be in format .TIFF with a resolution greater than 300 dpi.

## Cost of the publication

---

The publication of a manuscript with an extension up to three printed pages of the journal will have a cost \$30,000 Colombian pesos. Additional pages will cost of \$20,000 Colombian pesos each one.

## Contenido

Carta del editor  
 Editor's letter

1-4

### 2° Simposio Iberoamericano de Adsorción (IBA-2)

Producción de ácido láctico a partir del lactosuero utilizando *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*  
 Production of lactic acid from whey using *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*  
 Produção de ácido láctico de soro de leite coalhado usando *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*

5-10

*Adriana M. Rojas, Liceth P. Montaña, Marlon J. Bastidas*  
 Evaluación de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) sobre suelos urbanos en Maicao, Colombia  
 Evaluation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in urban soil Maicao, Colombia

11-17

*Martha L. Castellanos, Raimar J. Izaa, Julio M. Torres*  
 Avaliação de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) em solo urbano em Maicao, Colômbia

18-24

*Caracterización textural y química de carbones activados preparados a partir de cuesco de palma africana (*Elaeis guineensis*) por activación química con CaCl<sub>2</sub> y MgCl<sub>2</sub>*

*Textural and chemical characterization of activated carbon prepared from shell of african palm (*Elaeis guineensis*) by chemical activation with CaCl<sub>2</sub> and MgCl<sub>2</sub>*

*Caracterização textural e química de carvões ativados preparados a partir de casca da palmeira africana (*Elaeis guineensis*) por ativação química com CaCl<sub>2</sub> e MgCl<sub>2</sub>*

*Sergio Acevedo, Liliana Giraldo, Juan Carlos Moreno*

*Empleo de algoritmos matemáticos para la evaluación de la influencia de los parámetros fisicoquímicos que afectan la adsorción de compuestos aromáticos sobre carbón activado*

25-29

*Use of mathematical algorithms to evaluate the influence of physicochemical parameters affecting the adsorption of aromatic compounds on activated carbon*

*Uso de algoritmos matemáticos para avaliar a influência dos parâmetros físico-químicos que afetam a adsorção de compostos aromáticos sobre carbono ativado*

*Ana Lucía Paredes-Doig, María del Rosario Sun-Xou, Mery Elizabeth Doig, Germán Comina*

### Química Orgánica y Bioquímica

*Implementación de una metodología para la separación de proteomas de plasma humano mediante electroforesis bidimensional*  
 Implementation of a methodology to separate human plasma proteomes by two-dimensional electrophoresis

30-38

*Implementação de uma metodologia para a separação do proteoma do plasma humano por eletroforese bidimensional*  
*Ruth Andrea Rodríguez, Wilmer Alexis Urrego, María Carolina Sanabria, Myriam Sánchez-Gómez, Adriana Umaña-Pérez*

### Fisicoquímica y Química inorgánica

*Propiedades viscosimétricas de la DL-alanina en soluciones acuosas de trifluorometanosulfonato de 1-butil-3-metilimidazolio a diferentes temperaturas*

39-48

*Viscometric properties of DL-alanine in aqueous solutions of 1-Butyl-3-methylimidazolium trifluoromethanesulfonic acid at different temperatures*

*Propriedades viscosimétricas da DL-alanina em soluções aquosas de trifluorometanosulfonato de 1-butil-3-metilimidazólio a diferentes temperaturas*

*Manuel S. Pérez, Juan D. García, María K. Vergara*

Guía para autores  
 Guide for authors

49-58



La Revista Colombiana de Química (Rev Colomb Quim) se encuentra indexada y referenciada en: Publindex-Índice Bibliográfico Nacional (categoría A2 - dic 2013); Chemical Abstracts; SciELO Colombia; Scopus Q4 (SJR/2013: 0.112); Latindex; Redalyc y Directory of Open Access Journals (DOAJ).

Es publicada cuatrimestralmente por el Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia. Se orienta a la divulgación científica de contribuciones provenientes de la investigación en las diversas áreas de la química.

**Open Access Journal:** full contents available on-line at:

<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim>

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_serial&pid=0120-2804&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_serial&pid=0120-2804&lng=es&nrm=iso)