



VOL. 52 NÚM. 2 -2023

Revista Colombiana de Química

Revista cuatrimestral del Departamento de Química
Facultad de Ciencias

© Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

ISSN En línea: 2357-3791

DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim>

Correo electrónico: revcolquim@unal.edu.co

Indexada

Publindex - Índice Bibliográfico Nacional (categoría C)

Scielo Colombia

Scopus Q4 (SJR/2023: 0,16)

Redalyc

Chemical Abstracts Service (CAS) Source Index

Latindex

Directory of Open Access Journals (DOAJ)

BIBLAT

Consulta Open Access

Todos los ejemplares de la Revista Colombiana de Química se encuentran disponibles en estos sitios web:

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

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_serial&pid=0120-2804&lng=en&nrm=iso

<http://www.redalyc.org/revista.oa?id=3090>

El contenido se encuentra bajo una licencia de Creative Commons tipo Atribución Internacional (CC BY 4.0) que permite el acceso abierto con cualquier fin, siempre que se de el reconocimiento apropiado

Director de la revista

Carlos Eduardo Narváz Cuenca, Ph. D
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

Asistentes editoriales

Angie Carolina Guevara
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá
Carolina Gómez Pulido
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

Comité editorial y científico

Ajjamada Kushalappa

McGill University, Canadá

Sonia Moreno Guaquetá

Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Hector Fabio Zuluaga Corrales

Universidad del Valle, Colombia

Ljubisa R. Radovic

Pensilvania State University, Estados Unidos

Gustavo Adolfo González Aguilar

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, México

Juscelino Tovar

Lund University, Suecia

Leonardo Castellanos Hernández

Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Francisco Carrasco Marín

Universidad de Granada, España

Pedro Joseph-Nathan

Instituto Politécnico Nacional, México

Cristian Ochoa Puentes

Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Cristian Blanco Tirado

Universidad Industrial de Santander, Colombia

Augusto Rivera Umaña

Universidad Nacional de Colombia, Colombia

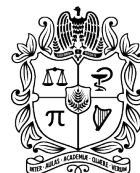
Preparación editorial

Corrección de estilo:

Angie Carolina Guevara y Carolina Gómez Pulido

Diseño y maquetación:

Carolina Gómez Pulido



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Química Orgánica y Bioquímica

Obtención y caracterización parcial de la proteína humana mutante α -sinucleína G51D y la producción de su anticuerpo policlonal 3-10

Preparation and partial characterization of the mutant human α -synuclein protein G51D and the production of its polyclonal antibody

Obtenção e caracterização parcial da proteína humana mutante α -sinucleína G51D e da produção de seu anticorpo policlonal

Mauricio Rey Buitrago, Mauricio Gantiva Gantiva

Fisicoquímica y Química Inorgánica

Adsorption of Brilliant blue FCF (B1) and Allura Red (R40) colorants on cocoa shell: kinetics of the process 11-19

Adsorción de los colorantes azul brillante FCF (B1) y rojo allura (R40) en cáscara de cacao: cinética del proceso

Adsorção dos corantes azul brilhante FCF (B1) e vermelho allura (R40) na casca de cacau: cinética do processo

Michael Anibal Macias Pro, Alejandro Altamirano Briones, Erika Góngora Muñoz, Alex Fernández Andrade, Kevin Fernández Andrade

Nanocompósito basado en microesferas de quitosano/CF/CN como promisorio inactivador de *Escherichia coli* 20-27

Nanocomposite based on chitosan/CF/CN beads as a promising inactivator of *Escherichia coli*

Nanocompósito baseado em microesferas de quitosana/CF/CN como um promissor inativador de *Escherichia coli*

Alberto Corzo Lucioni, Hugo Alarcón Cavero, Juan Montes de Oca Ávalos, Samuel Saire Saire, Silvia Canchari Chacón, Katherina Changanaqui Barrientos, Katherine Revollar Casas

Conocimiento de enfermedades virales terapéuticas: aplicación de SWCNT en la administración de fármacos 28-35

Insight therapeutic viral diseases: application of SWCNT in drug delivery method

Conhecimento de doenças virais terapêuticas: aplicação de SWCNT na administração de medicamentos

Fatemeh Mollaamin

Methylene blue degradation using chitosan-Fe₂O₃ composite and photo-Fenton 36-42

Degradación de azul de metileno usando material compuesto de quitosano-Fe₂O₃ y foto-Fenton

Degradação de azul de metileno usando composto de quitosana-Fe₂O₃ e foto-Fenton

Desnelli, Kurnia Ramadhina, Daniel Alfarado, Fatma, Ady Mara, Muhammad Said

Modelamiento y simulación de reactores fotocatalíticos de película descendente: uso de la dinámica computacional de fluidos (CFD) para análisis del sistema multifásico 43-53

Modeling and simulation of falling film photocatalytic reactors: use of computational fluid dynamics (CFD) for multiphase system analysis

Modelagem e simulação de reatores fotocatalíticos de filme descendente: uso da dinâmica de fluidos computacional (CFD) para análise de sistemas multifásicos

Deyler Rafael Castilla Caballero, Astrid del Rosario Medina Guerrero, Fiderman Machuca Martínez, José Ángel Colina Márquez

Obtención y caracterización parcial de la proteína humana mutante α -sinucleína G51D y la producción de su anticuerpo policlonal

Resumen

La α -sinucleína (SNCA) es una proteína que participa en la formación de agregados, cuya presencia es distintiva para todas las α -sinucleinopatías y algunas adicciones. Las alteraciones en el gen que codifica la SNCA y en la síntesis de esta proteína han sido relacionadas con procesos de agregación que alteran su conformación y adquieren capacidad autoagregante, lo cual está relacionado con su presencia en las neuronas dopaminérgicas y podría ser un factor fisiopatológico significativo en la progresión de enfermedades. Una de las variantes génicas más comunes de la SNCA es la G51D, la cual podría ser un indicador anatomopatológico para enfermedades neuronales y adicciones de larga duración. En el presente estudio se exponen las técnicas de expresión, purificación y caracterización de la proteína recombinante SNCA G51D, además de ensayos de agregación. Así mismo, se detallan las circunstancias para la obtención del anticuerpo de tipo policlonal dirigido hacia la SNCA G51D. También se realizó la optimización para la clonación de esta variante, utilizando el vector pET30a, el cual nos brindó la mayor solubilidad in silico. La proteína recombinante permitió la obtención de un anticuerpo policlonal anti SNCA G51D, que se caracterizó parcialmente y podría ser una herramienta inmunológica significativa en la confirmación de la existencia de proteínas mutantes en muestras de interés.

Palabras clave: α -sinucleína; α -sinucleína G51D; pET30a; variante genética; anticuerpo policlonal; enfermedades neurodegenerativas.

Preparation and partial characterization of the mutant human α -synuclein protein G51D and the production of its polyclonal antibody

Abstract

α -Synuclein (SNCA) is an essential protein that participates in the formation of aggregates, whose presence is distinctive for all α -synucleinopathies and some addictions. Alterations in the gene that codes for SNCA and in the synthesis of this protein have been related to aggregation processes that alter its conformation and acquire self-aggregating capacity, which is related to its presence in neurons and could be a significant pathophysiological factor in the progression of diseases. One of the most common SNCA gene variants is G51D, which could be an anatomopathological indicator for neuronal diseases and long-term addictions. In the present study, the expression, purification and characterization techniques of the recombinant protein SNCA G51D are presented, as well as aggregation assays. Likewise, the circumstances for obtaining the polyclonal type antibody directed towards SNCA G51D are detailed. Optimization was also carried out for the cloning of this variant, using the pET30a vector, which gave us the greatest in silico solubility. The recombinant protein allowed the obtaining of a polyclonal anti SNCA G51D antibody, which was partially characterized and could be a significant immunological tool in confirming the existence of mutant proteins in samples of interest.

Keywords: α -synuclein; α -synuclein G51D; pET30a; genetic variant; polyclonal antibody; neurodegenerative diseases.

Obtenção e caracterização parcial da proteína humana mutante α -sinucleína G51D e da produção de seu anticorpo policlonal

Resumo

A α -sinucleína (SNCA) é uma proteína que participa da formação de agregados, cuja presença é característica de todas as α -sinucleinopatias e de alguns vícios. Alterações no gene que codifica a SNCA e na síntese desta proteína têm sido relacionadas a processos de agregação que alteram sua conformação e adquirem capacidade de autoagregação, o que está relacionado à sua presença nos neurônios e pode ser um fator fisiopatológico significativo na progressão da doença. Uma das variantes mais comuns do gene SNCA é o G51D, que pode ser um indicador anatomopatológico de doenças neuronais e vícios de longo prazo. No presente estudo são apresentadas técnicas de expressão, purificação e caracterização da proteína recombinante SNCA G51D, bem como ensaios de agregação. Da mesma forma, são detalhadas as circunstâncias para obtenção do anticorpo do tipo policlonal direcionado para SNCA G51D. Também foi realizada otimização para a clonagem desta variante, utilizando o vetor pET30a, que nos proporcionou a maior solubilidade in silico. A proteína recombinante permitiu a obtenção de um anticorpo policlonal anti SNCA G51D, que foi parcialmente caracterizado e poderá ser uma ferramenta imunológica significativa na confirmação da existência de proteínas mutantes em amostras de interesse.

Palavras-chave: α -sinucleína; α -sinucleína G51D; pET30a; variante genética; anticorpo policlonal; doenças neurodegenerativas.

Introducción

La enfermedad de Parkinson (EP) es una patología neurodegenerativa crónica que afecta a diez millones de personas en el mundo. Se incluye actualmente en el grupo de las llamadas α -sinucleinopatías: patologías que se caracterizan por acumulación de cuerpos de inclusión de agregados proteicos de α -sinucleína (SNCA) en células del cerebro [1, 2]. La acumulación de SNCA genera toxicidad debido a la presencia de variantes génicas autoagregantes, a la presencia de duplicaciones en la secuencia génica, a la expresión diferencial de isoformas, así como a cambios en modificaciones postranscripcionales [3]. Además, la toxicidad también está relacionada con las inclusiones citoplasmáticas conocidas como cuerpos de Lewy (CL) y las neuritas de Lewy (NL), presentes también en las α -sinucleinopatías. Dentro de las α -sinucleinopatías se encuentran otras patologías, como la demencia de cuerpos de Lewy, la atrofia multisistémica y la enfermedad de Alzheimer. Todas tienen en común el depósito anormal de SNCA en el citoplasma o en las neuritas de neuronas o de células gliales.

La enfermedad de Parkinson y la demencia de cuerpos de Lewy se caracterizan patológicamente por la presencia de CL y NL en diferentes áreas del cerebro [4, 5]. Los componentes fundamentales de los CL y NL son agregados de la proteína SNCA. Según diversos grupos de investigación, esta proteína podría iniciar y propagar la EP. Por ejemplo, las mutaciones en el gen que codifica para la SNCA producen formas autosómicas dominantes en una reducida proporción de casos genéticos de EP. Además, las duplicaciones y triplicaciones del gen SNCA pueden provocar EP [6]. Este hallazgo evidencia que los niveles elevados de variantes de SNCA son tóxicos y pueden acelerar la aparición de la enfermedad. Adicionalmente, recientes estudios sostienen que la transmisión de célula a célula de formas agregadas de SNCA posibilitaría la progresión de la EP a diversas áreas cerebrales. Estos datos demuestran la importancia patogénica de la SNCA y muestran que es una diana importante para tratar EP y otras enfermedades neurológicas de causa similar [7-9].

Por otro lado, se han hallado pruebas de alteraciones en el gen de la SNCA en el alcoholismo [10], pues el consumo de alcohol a largo plazo y en grandes cantidades puede causar pérdida de neuronas, especialmente de la corteza prefrontal. Esta región cerebral está vinculada con el progreso y persistencia de la adicción al alcohol, y es probable que el daño neurotóxico exacerbe los efectos reforzantes del alcohol y dificulte su tratamiento [11, 12]. La comprensión de los procesos de regulación de la SNCA podría ser de gran ayuda para comprender el rol de esta proteína sináptica fundamental en la enfermedad y su potencial intervención terapéutica en trastornos adictivos, sea mediante el uso de fármacos ya empleados en otras patologías neurodegenerativas o con nuevos medicamentos [12].

La SNCA está involucrada en la actividad sináptica, en la plasticidad neuronal y en diversas funciones de las neuronas dopaminérgicas, lo que la vincula con el sistema de recompensa cerebral, que se ve alterado en las adicciones, especialmente en el alcoholismo [13]. La SNCA fluye entre cerebro y sangre, como un mecanismo regulador, que permite su detección en fluidos humanos [14]. Las investigaciones muestran una expresión diferencial del gen que codifica para dicha proteína, asociada con la búsqueda y deseo compulsivo de alcohol (craving) [15]. En consecuencia, la SNCA podría ser útil como biomarcador periférico de alcoholismo crónico [16]. En nuestro grupo de investigación encontramos resultados similares de expresión génica en una muestra de estudiantes universitarios colombianos que tenían problemas de consumo de alcohol [17].

En la **figura 1** se puede observar un alineamiento de secuencias de las proteínas de SNCA, donde se evidencian regiones conservadas en diversas especies y se comparan con la secuencia 001 (silvestre humana). Las especies presentadas muestran un sitio en común de

cambio en un aminoácido denotado por (:). En dicho sitio, la glicina (G) cambia por ácido aspártico (D), lo que para algunos autores sugiere que, en humanos, la presencia de glicina podría estar asociada con riesgo de padecer algunas enfermedades neurodegenerativas [18].



Figura 1. Alineamiento de seis secuencias de diferentes especies para la proteína SNCA, descargadas de la base de datos del NCBI y alineadas con la herramienta Clustal Omega. Los aminoácidos resaltados en el recuadro muestran la posición 51, en donde en humanos (EMBOSS-001) se encuentra glicina (G) y en otras especies se encuentra aspartato (D). El asterisco (*) indica que en dicha posición los residuos son 100% idénticos; los dos puntos (:) indican posiciones en las que se han realizado sustituciones conservativas; y el punto (.) indica sustituciones menos conservativas.

Nuestro grupo de investigación se ha enfocado en la identificación de los diversos efectos de la SNCA que relacionan fenotipos y genotipos similares entre enfermedades neurodegenerativas y adicción al alcohol (daño neurológico, genes candidatos en común, entre otros). Aunque otras investigaciones han evidenciado el efecto tóxico de las fibrillas de SNCA en la supervivencia celular en las α -sinucleinopatías [18], el efecto exacto de las variantes de este gen en este fenómeno no es muy claro. En consecuencia, en el presente estudio pretendemos establecer las condiciones de expresión, purificación y caracterización de un candidato de la proteína recombinante SNCA mutada (G51D), que es autoagregante [19-21]. Así mismo, buscamos obtener su anticuerpo policlonal con el propósito de emplearlo en el grupo de investigación para examinar la función biológica de variantes de la SNCA con características priónicas, en modelos *in vivo* de líneas celulares de tipo neuronal. Además, a futuro se discutirán posibles mecanismos de acción, regulación *in vivo* y blancos terapéuticos posibles [22].

Materiales y métodos

PCR para amplificación del gen de interés y obtención del vector de clonación

El gen de la SNCA mutante G51D fue sintetizado mediante el método del fosfito-triéster en fase sólida. El gen se amplificó por medio de una PCR convencional con iniciadores descritos en la **tabla 1**. Al vector pET30a se ligó el gen producto de la amplificación.

Tabla 1. Secuencia de los iniciadores diseñados para amplificación del gen SNCA (G51D).

Vector	Iniciador directo 5' - 3'	Iniciador reverso 5' - 3'
pET30a	GTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCATCACCAC-CACCATCACGACGCTTTAT-GAAAGGCCTGAGCAAAGCG	AGCAGCCGGATCTCAGTGGT-GGTGGTGGTGGTCTCGAGT-GCGGCCGAAGCTTTCAT-TATGCTTCCGGTTCGTAATC

La amplificación fue realizada con una unidad enzimática de Taq Polimerasa (Thermo Fisher Scientific), MgCl₂ (2,5 mM), buffer de la ADN polimerasa (1X), dNTP's (10 mM), agua tratada con dietilpirocarbonato (DEPC), iniciadores de PCR (**tabla 1**) y aproximadamente 50 ng del segmento del gen SNCA G51D. Los productos de PCR fueron visualizados en gel de agarosa al 1% con tinción de bromuro de etidio [21]. Se cortaron estas bandas del gel y se purificaron con el

tuvieron los perfiles de digestión del plásmido con esta enzima de restricción, mezclando 0,5 μL del plásmido con 0,5 μL de la enzima (10 U/ μL), 1 μL del buffer 10X de reacción, y completando a 10 μL con agua tratada con DEPC. En todos los casos, la visualización de las amplificaciones y digestiones se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio [28].

Expresión de las proteínas, lisis celular y detección de las proteínas recombinantes

Se tomaron colonias de plásmidos recombinantes y se pusieron en un medio LB con antibiótico de selección. Se diluyó el cultivo 1:100 y se dejó crecer hasta que alcanzó una DO de aproximadamente 0,6 medidas espectrofotométricamente a 600 nm. Después se procedió a la inducción de la expresión de la proteína añadiendo IPTG (isopropil- β -D-1-tiogalactopiranosido) y 0,2 mM al medio de cultivo, manteniendo la agitación a 200 rpm y la temperatura a 37 °C hasta alcanzar un valor de absorbancia entre 0,6 y 0,8. Para dar seguimiento al proceso de inducción, se tomaron alícuotas de 1 mL cada 30 o 60 min. Una vez concluida la inducción, se procedió a recolectar las bacterias mediante la centrifugación a 6000 rpm por 15 min a temperatura de 4 °C. Se descartó el sobrenadante y se determinó el peso húmedo de las células [29]. Los precipitados celulares se resuspendieron en buffer de lisis (50 mM Tris-HCl, 50 mM EDTA pH 8,1% SDS y 50 mM NaCl; 5 mL/g). Posteriormente se agregó lisozima a una concentración final de 1 mg/mL y se le agregó un grupo de inhibidores de proteasas (1 mM AEBSF, 14 μM E64, 15 μM pepstatin A, 40 μM bestatin, 20 μM leupeptin y 0,8 μM aprotinin, Sigma-Aldrich). El conjunto se incubó en hielo durante 30 min con agitación mecánica. Una vez transcurrido este tiempo, la muestra se sometió a 5 min de sonicación sobre hielo (50% de amplitud, 15 s de pulso y 15 s de reposo) y después fue centrifugada a 12.500 rpm durante 15 min a 4 °C, el sobrenadante (fracción soluble o proteína) y el precipitado (fracción insoluble, células lisadas o cuerpos de inclusión) se separaron [30].

Se evaluaron los lisados de los clones inducidos mediante electroforesis denaturante en gel de poliacrilamida y dodecil-sulfato de sodio (SDS-PAGE) [31], y por medio de ensayos de Western blot. En los ensayos de inmunodetección, las proteínas separadas por SDS-PAGE fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa mediante el método de electrotransferencia húmeda [32]. En la realización de los Western blot se emplearon dos tipos diferentes de anticuerpos primarios, anti etiqueta de histidinas y los anticuerpos policlonales obtenidos en este estudio. Además, se utilizó el sistema Biotina-estreptavidina conjugada a fosfatasa alcalina para detectar la proteína recombinante [32, 33].

Purificación, diálisis y reconcentración de la proteína recombinante

La fracción soluble de cultivos *E. coli* BL21 (DE3) inducidos se purificó parcialmente mediante cromatografía de afinidad a níquel. Después se utilizó resina de níquel y ácido nitrilotriacético (Ni-NTA) como fase estacionaria y como fase móvil, y buffer de lisis (NaH_2PO_4 50 mM, NaCl 300 mM pH 8,0) con diferentes concentraciones de imidazol para las etapas de unión a la resina, lavado y elución, según las instrucciones del fabricante (QIAGEN Inc.). La purificación se verificó mediante SDS-PAGE y Western blot [29], utilizando las proteínas no unidas a la resina, lavados y eluciones recolectadas. Por último, se realizó la diálisis de proteína por medio del kit Pur-A-L-lyzer mega 6000 dialysis (Sigma- Aldrich) [33].

Estudios de agregación de SNCA recombinante

La proteína recombinante SNCA G51D con etiqueta de histidinas fue almacenada en agua estéril. Se prepararon alícuotas de una concentración de 346 μM y se mantuvieron a -20 °C. Después se diluyeron en alícuotas DPBS (Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline

a pH 4,0) hasta una concentración de 59 μM . Se tomó y agitó una alícuota a 800 rpm durante 48 h a 37 °C en un termoagitador, monitoreando la DO a 405 nm (Turbidez). Graficamos la DO vs. el tiempo. Como comparativo se utilizó proteína SNCA humana nativa. Los ensayos fueron realizados por triplicado. La DO presentó como la media \pm SD (desviación estándar) y para la comparación entre la proteína nativa y recombinante se empleó la prueba paramétrica de *t* para igualdad de medias.

Producción de anticuerpo policlonal anti-proteína mutada SNCA

Inmunización, recolección y titulación del suero de conejo

La proteína recombinante purificada se empleó como inmunógeno en la elaboración de suero policlonal. Para la obtención de anticuerpos contra la proteína SNCA G51D con cola de histidinas, se llevó a cabo ensayos con dos hembras de conejo, *Orhyctolagus cuniculus*, de raza New Zealand White. Se inició el proceso aplicando 150 μg de proteína SNCA G51D purificada y contenida en 500 μL de eluato y 500 μL de adyuvante incompleto de Freund para lograr un volumen total de 1 mL. En la semana cero se aplicó el adyuvante completo de Freund. El protocolo de inducción del antisuero se extendió a un lapso de tiempo aproximado de 12 semanas, con dosis de recuerdo cada tres semanas, vía subcutánea en ocho sitios diferentes del lomo del animal.

La identificación de anticuerpos se llevó a cabo mediante el ensayo de inmunoadsorción ligada a enzimas (ELISA) indirecta [34], y también los sueros obtenidos contra la proteína SNCA G51D se examinaron con esta técnica. Se realizó el recubrimiento de los pozos de la microplaca (Sigma-Aldrich) con 339,75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de proteína SNCA G51D. Se utilizó STCB-albúmina como agente bloqueador al 1%. Enseguida se realizaron dos lavados con PBS-T, se adicionaron 200 μL de cada muestra (preimmune, después de la segunda y después de la última semana inmunización) en diluciones seriadas PBS-T. Después se incubaron en cámara húmeda a 37 °C por 2 h, al cabo de las cuales se realizaron dos lavados con PBS-T; se agregó anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado con fosfatasa alcalina (Sigma-Aldrich,) a una dilución 1:10000 en STCB; se incubaron a 37 °C por 1 h y se lavaron; y, posteriormente, se adicionó el sustrato 3,3',5,5' tetrametilbenzidina (TMB) 100 $\mu\text{L}/\text{pocillo}$ que dio lugar a un producto de reacción de color azul, la intensidad del color fue proporcional a la concentración de autoanticuerpos en la muestra. Finalmente, se incubaron a 37 °C en la oscuridad y se añadió ácido sulfúrico 2 M a cada pocillo para detener la reacción. Esto dio lugar a un color amarillo que se leyó a 450 nm en un lector de ELISA (Dynatech international). Los datos obtenidos en las pruebas ELISA fueron la DO a 450 nm para cada muestra de suero analizada. El punto de corte (*cut-off*) se calculó como el promedio de los sueros negativos \pm 2 desviaciones estándar. Cada ensayo se realizó por duplicado.

Purificación de los anticuerpos por cromatografía de afinidad

Se realizó cromatografía manual con columnas de vidrio y elución por gravedad [35]. Se pesaron 4 g de resina sepharosa 4B CNBr y se agregaron 10 mL de solución de bicarbonato de sodio NaHCO_3 0,1 M con NaCl 150 mM, en la cual se disolvieron 20 mM del antígeno (proteína recombinante purificada). Los anticuerpos se eluyeron mediante la adición de 25 mL de buffer de elución. Se midió la absorbancia de las fracciones obtenidas, empleando cubetas de cuarzo (capacidad 1 mL), ajustando a cero el espectrofotómetro a 280 nm y usando el tampón de elución como blanco. Se elaboró la gráfica de número de tubo contra la absorbancia y se identificaron los picos (no se presenta en este trabajo).

Titulación y evaluación de los anticuerpos

Se analizaron los anticuerpos anti-proteína 6Xhis-SNCA G51D mediante ELISA. Con el fin de evaluar el título de los anticuerpos, se emplearon diluciones del anticuerpo (1:1000) en los sueros, manteniendo una cantidad fija de antígeno proteína SNCA G51D (20 ng). Para esto, se llevó a cabo la electroforesis del antígeno G51D en un gel discontinuo de poliacrilamida bajo condiciones denaturantes (SDS-PAGE). A continuación, se realizó la transferencia del gel a una membrana de nitrocelulosa y el anticuerpo secundario anti-IgG de conejo, unido a peroxidasa de rábano picante (Sigma-Aldrich) en dilución 1:5000, se incubó durante una hora con la membrana a temperatura ambiental. El sistema de revelado utilizado fue a partir de sustratos cromogénicos (4-cloronaftol o DAB), lo que a su vez produjo un producto coloreado que se depositó en la membrana.

Resultados y discusión

Obtención y clonación de 6Xhis-SNCA G51D en el vector pET30a

La longitud de la secuencia de aminoácidos de la variante más común de la proteína SNCA es de 140 residuos de aminoácidos, y su secuencia en formato FASTA fue descargada de la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information) y se detalla a continuación, se resalta el residuo 51 que cambia en la variante obtenida en este trabajo:

>NP_000336.1 alpha-synuclein isoform NACP140 [Homo sapiens]

MDVFMKGLSKAKEGVVAAAEEKTKQGVAEAAGKTKGVLYVGSKTKE
GVVHGVVATVAEKTKEQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGSIAAATG
FVKKDKLQKNEEGAPQEGILEMPVDPDNEAYEMPSEEGYQDYPEA

El análisis bioinformático ha constatado una mayor solubilidad (50%) de la proteína mutante de 6HisX-SNCA G51D, específicamente en el vector pET30a (tabla 2). La solubilidad de la SNCA G51D expresada desde los otros vectores no fue concluyente, se encontró diferencias entre uno u otro programa empleado, esto puede ser debido a la matriz de comparación de proteínas utilizadas para alimentar cada programa. Se empleó la secuencia primaria de la proteína sin etiquetas, donde se pudo constatar que la expresión de esta proteína recombinante en el sistema heterólogo *E. coli* implicaría la incorporación como cuerpos de inclusión. Este hecho evidenció la relevancia de incorporar las etiquetas de histidinas para obtener la versión recombinante de manera soluble [36–39], aunque su fin principal es la purificación, la presencia de estos residuos de aminoácidos polares de carga positiva aumentaron la solubilidad de la proteína recombinante que se deseaba obtener.

Tabla 2. Predicción *in silico* de la solubilidad (%) de las proteínas recombinantes SNCA G51D usando programas bioinformáticos en línea [25–27].

Plásmido recombinante	Programa SolPro (%)	Programa ProSo II (%)	Programa ESPRESSO (%)
pCOLD SNCA G51D	53,5	66,7	48,3
pET30 SNCA G51D	60,6	70,3	50,0
pET SUMO SNCA G51D	20,3	43,3	46,1
SNCA G51D	17,7	53,7	44,5

Los segmentos de ADN producto de la clonación del gen 6xHis-SNCA G51D se muestran en la figura 4, en la que se aprecia el plásmido circular (carril 1), en donde se observan varias bandas debido a las diferentes conformaciones que puede tomar la forma circular sin cortes, que pueden tener diferentes movilidades. Luego se ve el plásmido digerido con XhoI/MluI y se pueden observar los dos fragmentos (carril 2) que se habían encontrado en el análisis *in silico* con el cortador vía web, mostrado en la figura 3C.

La secuencia del gen de 6xHis-SNCA G51D, que fue amplificada mediante PCR y posteriormente sometida a digestión y ligación, fue

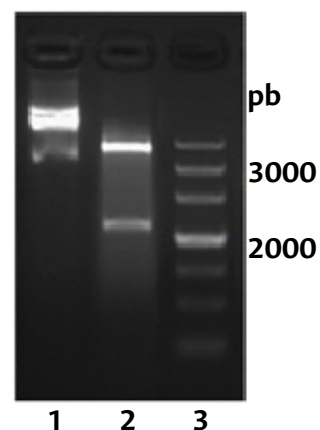


Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa al 0,8% p/v con tinción de bromuro de etidio. Carril 1: ADN plásmido circular. Carril 2: Plásmido digerido con XhoI/MluI. Carril 3: Marcador de tamaño de ADN.

clonada en el vector de expresión bacteriana pET30a, lo cual indicó la solución más adecuada para la proteína que se expresó. Mediante el uso del programa NEBcutter2 [40] se examinaron las diversas enzimas que producían cortes en los extremos de la secuencia del gen estudiado y que cortaban de igual manera al vector. De esta forma, se han diseñado los primeros vectores que amplificaron la secuencia en estudio. Las características de las enzimas seleccionadas, como se ha observado en el diseño de iniciadores, fue NdeI e HindIII, las cuales cortaron la secuencia en un solo punto del gen de estudio en su parte inicial (NdeI) y también en un solo punto en su parte final (HindIII), así como cortaron al vector en dos puntos con el propósito de vincular el inserto correspondiente con la direccionalidad adecuada (figuras 3A, 3B y 3C). Además, se logró determinar la adecuada incorporación del vector, ya que las bacterias con el vector incluido tuvieron resistencia a la Kanamicina, lo cual permitió el crecimiento bacteriano en presencia de Kanamicina en medio LB.

Expresión y purificación de la proteína recombinante

La expresión proteica se verificó mediante electroforesis SDS-PAGE del lisado celular y fracciones de la cromatografía de afinidad, teñidas con azul de Coomassie (figura 5). Al ser una proteína recombinante con una etiqueta de histidinas, se eluyeron las fracciones de la cromatografía de afinidad con un agente competitivo como el imidazol en concentraciones crecientes, la recuperación de proteína mostró mayor rendimiento entre 50 y 100 mM. Se observó una ligera diferencia entre la inducción con IPTG 0,3 mM a 15 y 37 °C, el rendimiento es un poco mayor a esta última temperatura.

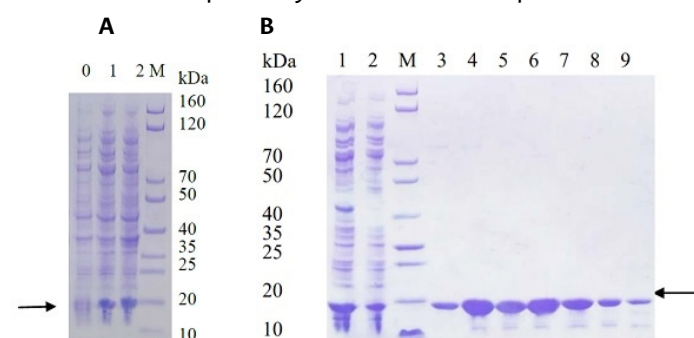


Figura 5. A: SDS-PAGE análisis de expresión SNCA G51D en BL21 (DE3). Línea M: marcador de masa molecular. Línea 0: lisado celular sin inducción. Línea 1: lisado celular con 0,2 mM IPTG inducido a 15 °C, 16 h. Línea 2: lisado celular con 0,2 mM IPTG inducido a 37 °C, 16 h. B: SDS-PAGE análisis de proteína 6xHis-SNCA G51D en lisado de células enteras obtenida por cromatografía de afinidad. Línea M: marcador de masa molecular. Línea 1: sobrenadante después centrifugación. Línea 2: flujo no unido. Líneas 3-5: fracciones eluidas con 50 mM imidazole. Líneas 6-8: fracciones eluidas con 100 mM imidazol. Línea 9: fracciones eluidas con 300 mM imidazol. La flecha negra indica la proteína de interés.

En las figuras 5 y 6 se puede observar el SDS-PAGE y el Western blot para la reunión de fracciones recolectadas en las que se hallaba la proteína de interés. Se empleó el anticuerpo anti-His para la identificación de la proteína recombinante (figura 6A), aprove-

chando su etiqueta de histidinas. Cuando se emplean los anticuerpos policlonales obtenidos contra 6xHis-SNCA G51D (**figura 6B**) se observa una banda más gruesa alrededor de los 15 kDa, aunque se evidencian alguna inespecificidad en pesos moleculares menores en el conejo B.

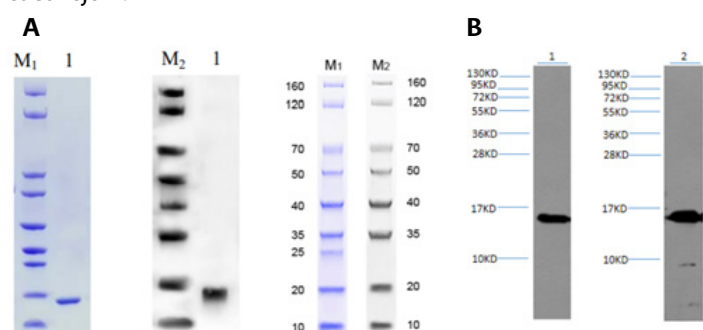


Figura 6. A: proteína 6xHis-SNCA G51D en SDS-page (izquierda) y Western blot (derecha); carril M1: marcador SDS-PAGE (kDa) y carril M2: marcador Western blot (usando anticuerpo Anti-His). B: membrana incubada con anticuerpo policlonal obtenido y diluido (1:1000); carril 1: adición 20 ng proteína 6xHis-SNCA G51D, anticuerpo conejo A, segundo anticuerpo dilución (1:5000); y carril 2: adición 20 ng proteína 6xHis-SNCA G51D, anticuerpo conejo B, segundo anticuerpo dilución (1:5000), exposición de 30 s.

Se observó la expresión de una banda alrededor de 15 kDa para 6xHis-SNCA G51D. Este valor es cercano al peso molecular de nuestra proteína de interés. En esta investigación se optimizó la concentración del inductor IPTG que fue de 0,2 mM y se optimizó la densidad óptica a 600 nm entre 0,45 y 0,65, con una agitación constante de 220 rpm aprox.

Dado que la proteína se encuentra en la fracción soluble y aprovechando la presencia de histidinas en el extremo amino terminal, se llevó a cabo una purificación directa mediante cromatografía de afinidad con Ni-NTA. Con esta técnica de níquel para la purificación de la 6xHis-SNCA G51D se obtuvieron excelentes valores de rendimiento. Por otro lado, se utilizó la característica de concentración (la relación entre el cultivo inicial y el volumen de buffer de unión, lavado y elución), y las condiciones de astringencia que se reflejan en la concentración de imidazol, en los buffers de unión, lavado y elución.

Con el fin de optimizar las condiciones de astringencia de la cromatografía de afinidad (concentración de Imidazol en los buffers de unión, lavado y elución), se optó por elaborar esquemas de elución escalonados, empleando buffers de elución con diversas concentraciones de imidazol. Por lo tanto, observando el perfil de los eluidos por SDS-PAGE (**figura 5**), se pudo obtener la proteína recombinante con un grado de pureza superior. Para el diseño de tales cromatografías escalonadas, se buscó realizar los lavados característicos de este proceso con un buffer que representase la menor condición de astringencia posible; y así retener al máximo la proteína 6xHis-SNCA G51D. En todos los pasos de elución se utilizó un volumen del respectivo buffer igual al volumen de resina empleada. En los eluidos con 50 y 100 mM de imidazol se aprecia que la banda entre 14 y 15 kDa de la proteína recombinante es muy amplia. No se evidencia la presencia de gran contenido de bandas inespecíficas, algunas a una masa molecular menor, quizá producto de la degradación de la proteína de interés, pues empleando el anticuerpo policlonal fabricado se observan algunas inespecificidades en el Western blot (**figura 6B**). Los resultados alcanzados se deben a diversas estrategias utilizadas para purificar la 6xHis-SNCA G51D. Todos los ensayos realizados lograron resultados tangibles; sin embargo, la selección de un esquema de elución escalonada en una cromatografía de afinidad a Ni-NTA, junto con ciertas modificaciones en el proceso de lisis, posibilitó de manera efectiva la purificación parcial de la proteína recombinante de interés.

Estudios de agregación de SNCA recombinante

En la **figura 7** se puede apreciar el impacto a nivel *in vitro* de la mutación en la agregación de la proteína 6Hisx-SNCA G51D, en el cual se determinó que la mutación estaría ejerciendo al final de las 48 h un efecto de casi el doble de agregación comparada con la proteína silvestre, lo cual evidencia una diferencia estadísticamente significativa (con un $p = 0,05$) entre el comportamiento de los dos tipos de proteínas, pues la mutación tendría un efecto de casi el doble de agregación comparada con la proteína silvestre. La proteína SNCA mutante cambia su conformación, pasa de una α -hélice a una hoja- β , y diversos estudios demuestran que en este tipo de conformación se encuentra un sitio llamado “escaleras de hebras transversales” [21, 40]. En la **figura 8** se puede observar el modelamiento de las estructuras nativas de SNCA y la mutante G51D, donde se evidencia el cambio en la estructura tridimensional de la proteína con la introducción del residuo de aspartato en la posición 51.

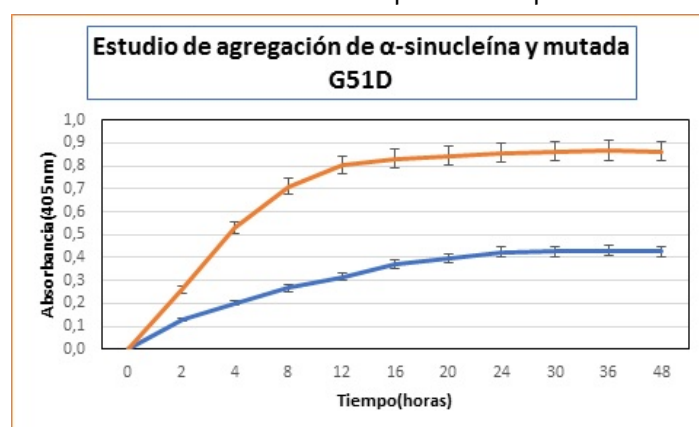


Figura 7. Estudios de agregación de SNCA silvestre (azul) y mutada G51D (naranja). Nivel de significancia $p = 0,05$.

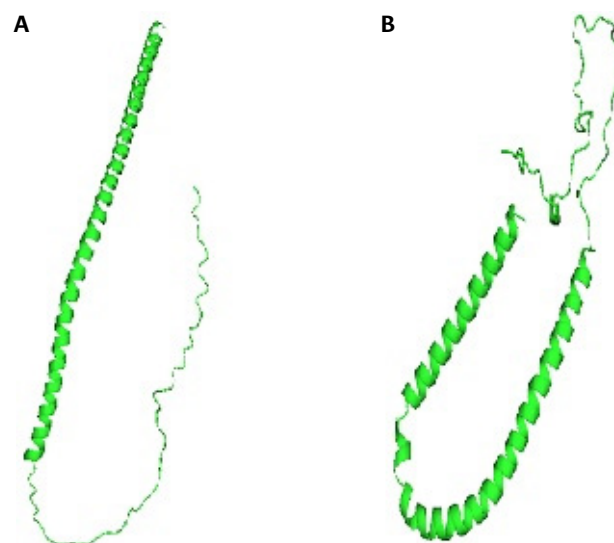


Figura 8. Modelo SNCA nativa (A) y modelo SNCA G51D mutante (B) obtenidos por el servidor Swiss-Model y visualizadas con Pymol.

Producción de anticuerpo policlonal anti 6xHis-SNCA G51D, titulación del suero de conejo por ELISA y ensayo de Western blot para los anticuerpos purificados

Después de realizar las sangrías, es decir, posterior a la inmunización final, se hicieron ensayos de ELISA y se establecieron los títulos de los anticuerpos (**tabla 3**). Los resultados de ELISA mostraron que el título en el conejo A fue de 1:32K y en el conejo B de 1:256K contra la 6xHis-SNCA G51D como se puede apreciar en el Western blot (**figura 6a**).

Los resultados de ELISA que se presentan en la **tabla 3** indicaron que el título para el anticuerpo purificado del conejo A fue de 1:128K, y para el conejo B de 1:128K contra la 6xHis-SNCA G51D. A mayor concentración de anticuerpos en la muestra, mayor fue la dilución

Tabla 3. Prueba de Elisa después de las inmunizaciones y del anticuerpo purificado. Diluciones orientativas de trabajo para el título del anticuerpo anti 6xHis-SNCA-G51D. Lectura de OD a 450 nm. Los resultados de ELISA indicaron que el título del conejo A fue de 1:32K, y para el conejo B de 1:8K (valores resaltados en rojo).

Prueba de Elisa después de la segunda inmunización												
Muestra	Blk	Dil 1:1K	Dil 1:2K	Dil 1:4K	Dil 1:8K	Dil 1:16K	Dil 1:32K	Dil 1:64K	Dil 1:128K	Dil 1:256K	Dil 1:512K	CN
A	0,036	0,329	0,29	0,278	0,216	0,162	0,123	0,099	0,08	0,061	0,059	0,039
B	0,041	0,27	0,223	0,183	0,153	0,106	0,054	0,054	0,053	0,042	0,052	0,039
Prueba de Elisa después de la inmunización final												
A	0,022	0,3	0,317	0,232	0,201	0,208	0,147	0,082	0,116	0,023	0,095	0,048
B	0,038	0,301	0,329	0,319	0,299	0,274	0,249	0,202	0,166	0,111	0,106	0,042
Prueba de Elisa para el anticuerpo purificado												
A	0,045	0,789	0,796	0,853	0,645	0,543	0,411	0,164	0,18	0,066	0,094	0,047
B	0,057	0,87	0,837	0,85	0,781	0,555	0,391	0,204	0,151	0,107	0,1	0,056

Dil: dilución
 CN: control negativo
 Blk: blanco

capaz de dar una reacción positiva a la prueba. Los resultados los expresamos con el término de “título” de la muestra, que está definido como el inverso de la máxima dilución que da una reacción francamente positiva en esta prueba determinada. Como se observa en la **figura 6B**, bajo las condiciones estudiadas el anticuerpo policlonal obtenido presenta reconocimiento específico contra la proteína recombinante fabricada.

Se pudo evidenciar que el anticuerpo policlonal obtenido permitió el reconocimiento mediante Western blot de una banda ubicada aproximadamente entre 14 y 15 KDa en los lisados bacterianos y fracciones obtenidas en todas las concentraciones proteicas utilizadas en este ensayo (**figura 6**); sin embargo, se observó el reconocimiento inespecífico a masas moleculares menores, posiblemente debido a la degradación de la proteína recombinante o a un reconocimiento inespecífico del mismo. No hay que olvidar que el método de extracción y purificación por cromatografía de afinidad de la proteína que se inoculó a los conejos se evidenció por electroforesis PAGE, pudo contener trazas de otros antígenos del mismo peso molecular.

Finalmente, el anticuerpo policlonal dirigido contra la proteína 6xHis-SNCA-G51D permitió el reconocimiento de la proteína de interés en el control de calidad (**tabla 4**) en dilución 1:128 y se seleccionó un punto de corte que maximizara la sensibilidad y especificidad de la prueba ELISA de 2,1.

Tabla 4. Prueba de control de calidad para el anticuerpo purificado.

Anticuerpo	Dilución validada	S/valor C.O	Estándar
Anti SNCA G51D	1:128	1,82/1,28	S/C. O >= 1 C.O. = 2,1 * NC.

S: valor de OD de la muestra.
 C.O: valor límite de OD = 2,1
 NC: Control negativo

Conclusiones

El estudio consistió en la obtención y caracterización parcial de la proteína humana mutante SNCA G51D y de su anticuerpo policlonal. Se identificaron las mejores condiciones de expresión, purificación y caracterización de la proteína recombinante 6xHis-SNCA G51D. Se establecieron escenarios para la obtención del anticuerpo de tipo policlonal, dirigido hacia el antígeno 6xHis-SNCA G51D. Se llevó a cabo la optimización para la clonación del gen de estudio mediante la utilización del vector pET30a, el cual nos brindó la mayor solubilidad in silico. La proteína obtenida posibilitó la obtención de un anticuerpo policlonal antiproteína mutada 6xHis-SNCA

G51D, lo cual fue una herramienta inmunológica relevante en la confirmación de la existencia de proteínas mutantes en relación con la SNCA. Además, con la realización del estudio in vitro, se ha logrado demostrar la mayor agregación de la proteína mutante obtenida.

Agradecimientos

Muchas gracias a todos aquellos que facilitaron la utilización de equipos y la consecución de materiales y reactivos.

Referencias

- [1] S. K. L. Darweesh *et al.*, “Professional occupation and the risk of Parkinson’s disease”, *Eur. J. Neurol.*, vol. 25, nro. 12, pp. 1470–1476, dic. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/ene.13752>
- [2] G. A. P. de Oliveira y J. L. Silva, “Alpha-synuclein stepwise aggregation reveals features of an early onset mutation in Parkinson’s disease”, *Commun. Biol.*, vol. 2, nro. 1, pp. 1–13, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0598-9>
- [3] X. Elcoroaristizabal, F. Gómez, M. C. González y M. de Pancorbo, “Papel de la genética en la etiología de las sinucleinopatías”, *Revista Española de Geriatria y Gerontología*, vol. 46, nro. 3, pp. 1–12, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.regg.2011.10.002>
- [4] E. Giménez, “Enfermedad de Parkinson: Modificaciones Oxidativas y su Rol en la Toxicidad de α -Sinucleína”, Tesis Doctoral, Universidad Nacional de la Plata, Argentina, 2022. DOI: <https://doi.org/10.35537/10915/138140>
- [5] V. M. Lee y J. Q. Trojanowski, “Mechanisms of Parkinson’s Review Disease Linked to Pathological α -Synuclein: New Targets for Drug Discovery”, *Neuron*, vol. 52, pp. 33–38, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.09.026>
- [6] D. W. Miller *et al.*, “ α -Synuclein in blood and brain from familial Parkinson disease with SNCA locus triplication”, *Neurology*, vol. 62, nro. 5, pp. 1835–1838, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000127517.33208.F4>
- [7] D. Alarcón-Arís *et al.*, “Selective α -Synuclein Knockdown in Monoamine Neurons by Intranasal Oligonucleotide Delivery: Potential Therapy for Parkinson’s Disease”, *Mol. Ther.*, vol. 26, nro. 2, pp. 550–567, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.11.015>
- [8] C. Lavedan, “The Synuclein Family”, *Genome Res.*, nro. 301, pp. 871–880, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1101/gr.8.9.871>
- [9] D. Schlossmacher, M. G. Curran, M. D. Paleologou, K. E. El-Agnaf, O. M. A. Court, J. A. Salem y S. A. Allsop, “Detection of oligomeric forms of α -synuclein protein in human plasma as a potential biomarker for Parkinson’s disease”, *FASEB J.*, vol. 20, pp. 419–425, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.03-1449com>
- [10] C. M. Cahill, R. Aleyadeh, J. Gao, C. Wang y J. T. Rogers, “Alpha-Synuclein in Alcohol Use Disorder, Connections with Parkinson’s Disease and Potential Therapeutic Role of 5’ Untranslated Region-Directed Small Molecules”, *Biomolecules*,

- vol. 10, pp. 1465–1484, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10101465>
- [11] D. Bönsch, U. Reulbach, K. Bayerlein, T. Hillemacher, J. Kornhuber y S. Bleich, “Elevated Alpha Synuclein mRNA Levels Are Associated with Craving in Patients with Alcoholism”, *BIOL PSYCHIATRY*, vol. 56, pp. 984–986, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.09.016>
- [12] P. Janeczek y J. M. Lewohl, “The role of α -synuclein in the pathophysiology of alcoholism”, *Neurochem. Int.*, vol. 63, nro. 3, pp. 154–162, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.06.007>
- [13] S. Huenchuguala, “Alpha-Synuclein Oligomers and Dopamine”, *Clin Pharmacol Transl med*, vol. 2, nro. 1, pp. 84–86, 2018.
- [14] Y. T. Sui, K. M. Bullock, M. A. Erickson, J. Zhang y W. A. Banks, “Alpha synuclein is transported into and out of the brain by the blood-brain barrier”, *Peptides*, vol. 62, pp. 197–202, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.09.018>
- [15] D. Bönsch, U. Reulbach, K. Bayerlein, T. Hillemacher, J. Kornhuber y S. Bleich, “Elevated alpha synuclein mRNA levels are associated with craving in patients with alcoholism”, *Biol. Psychiatry*, vol. 56, nro. 12, pp. 984–986, dic. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.09.016>
- [16] P. Janeczek y J. M. Lewohl, “Effect of Alcohol on the Regulation of α -Synuclein in the Human Brain”, en *Addictive Substances and Neurological Disease: Alcohol, Tobacco, Caffeine, and Drugs of Abuse in Everyday Lifestyles*, Elsevier, 2017, pp. 67–73.
- [17] M. Rey y F. A. Aristizabal, “Inflammatory response genes differentially expressed in a Colombian university cohort with alcohol consumption problems”, *Genet. Mol. Res.*, vol. 22, nro. 3, pp. 1–21, 2023. DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr19159>
- [18] T. Bartels, J. G. Choi y D. J. Selkoe, “ α -Synuclein occurs physiologically as a helically folded tetramer that resists aggregation”, *Nature*, nro. 477, pp. 107–110, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10324>
- [19] S. Lesage et al., “G51D α -synuclein mutation causes a novel Parkinsonian-pyramidal syndrome”, *Ann. Neurol.*, vol. 73, nro. 4, pp. 459–471, abr. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.23894>
- [20] C. Lendel et al., “On the Mechanism of Nonspecific Inhibitors of Protein Aggregation: Dissecting the Interactions of R -Synuclein with Congo Red and Lacmoid †”, *Biochemistry*, vol. 48, nro. 35, pp. 8322–8334, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi901285x>
- [21] M. Fares et al., “The novel Parkinson’s disease linked mutation G51D attenuates in vitro aggregation and membrane binding of α -synuclein, and enhances its secretion and nuclear localization in cells”, *Hum. Mol. Genet.*, vol. 23, nro. 17, pp. 4491–4509, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu165>
- [22] M. Biancalana y S. Koide, “Molecular Mechanism of Thioflavin-T Binding to Amyloid Fibrils Matthew”, *Biochim Biophys Acta*, vol. 1804, nro. 7, pp. 1405–1412, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.04.001>
- [23] E. D. Agerschou et al., “An engineered monomer binding-protein for α -synuclein efficiently inhibits the proliferation of amyloid fibrils”, *Elife*, vol. 8, pp. 1–31, 2019. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.46112>
- [24] GenScript, “pET-30a(+) 5.4kb”, 2021 [En línea]. Disponible: www.genscript.com/gsfiles/vector-map/bacteria/pET-30a.pdf
- [25] C. N. Magnan, A. Randall y P. Baldi, “SOLpro: accurate sequence-based prediction of protein solubility”, *Bioinformatics*, vol. 25, nro. 17, pp. 2200–2207, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp386>
- [26] D. Smialowski, P. Doose, G. Torkler, P. Kaufmann y S. Frishman, “PROSO II--a new method for protein solubility prediction”, *FEBS J.*, vol. 279, nro. 12, pp. 2192–2200, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2012.08603.x>
- [27] S. Hirose y T. Noguchi, “ESPRESSO: A system for estimating protein expression”, *Proteomics* 2013, vol. 13, pp. 1444–1456, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.201200175>
- [28] D. W. Russell y J. Sambrook, “Chapter 5”, en *Molecular cloning: A laboratory manual*, New York, Cold Spring Harbor Press, 2001.
- [29] J. Hyun, K. Chang y S. Yup, “Production of recombinant proteins by high cell density culture of Escherichia coli”, *Chem. Eng. Sci.*, vol. 61, pp. 876–885, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2005.03.031>
- [30] K. Sørensen y H. P. Mortensen, “Advanced genetic strategies for recombinant protein expression in Escherichia coli”, *J. Biotechnol.*, vol. 115, nro. 2, pp. 113–128, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.08.004>
- [31] A. L. Shapiro, E. Viñuela y J.V. Maizel, “Molecular weight estimation of polypeptide chains electrophoresis in SDS-polyacrylamide gels”, *Biochem Biophys Res Commun.*, vol. 28, nro. 5, pp. 815–820, 1967. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(67\)90391-9](https://doi.org/10.1016/0006-291x(67)90391-9)
- [32] C. L. Kielkopf, W. Bauer y I. L. Urbatsch, “Expression of Cloned Genes in E. coli Using IPTG-Inducible Promoters”, *Cold Spring Harb. Protoc.*, vol. 2, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1101/pdb.prot102137>
- [33] Y. Ni y Æ. R. Chen, “Extracellular recombinant protein production from Escherichia coli”, *Biotechnol Lett*, vol. 31, pp. 1661–1670, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10529-009-0077-3>
- [34] R. Hnasco, “ELISA: Methods and protocols”, en *Methods in molecular biology*, Albany, Humana Press, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2742-5>
- [35] M. Urh, D. Simpson y K. Zhao, “Affinity chromatography: general methods”, *Methods Enzymol*, vol. 463, pp. 417–438, 2009. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(09\)63026-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(09)63026-3)
- [36] H. Towbin, T. Staehelin y J. Gordon, “Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 76, nro. 9, pp. 4350–4354, sep. 1979. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.76.9.4350>
- [37] A. M. Fra, E. Williamson, K. Simons y R. G. Parton, “De novo formation of caveolae in lymphocytes by expression of VIP21-caveolin”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 92, nro. 19, pp. 8655–9, sep. 1995. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.92.19.8655>
- [38] M. P. Ramprasad, V. Terpstra, N. Kondratenko, O. Quehenberger y D. Steinberg, “Cell surface expression of mouse macrophage and human CD68 and their role as macrophage receptors for oxidized low density lipoprotein”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 93, nro. 25, pp. 14833–14838, dic. 1996. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.93.25.14833>
- [39] P. Lehmann, K. Hoffmann, S. Neudecker, P. Suhr, M. Becker y W. M. Rösch, “No TitleHigh-yield expression in Escherichia coli, purification, and characterization of properly folded major peanut allergen Ara h 2”, *Protein Expr. Purif.*, vol. 31, nro. 2, pp. 250–259, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1046-5928\(03\)00190-6](https://doi.org/10.1016/S1046-5928(03)00190-6)
- [40] T. Vincze, J. Posfai y R. J. Roberts, “NEBcutter: a program to cleave DNA with restriction enzymes”, *Nucleic Acids Res.*, vol. 31, nro. 13, pp. 3688–3691, jul. 2003. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkg526>
- [41] M. Biancalana y S. Koide, “Molecular mechanism of Thioflavin-T binding to amyloid fibrils”, *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, vol. 1804, nro. 7, pp. 1405–1412, jul. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.04.001>

Citación del artículo:

M. Gantiva Gantiva y M. Rey Buitrago, “Obtención y caracterización parcial de la proteína humana mutante α -sinucleína G51D y la producción de su anticuerpo policlonal Título”, *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 2, pp. 3–10, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n2.111120>



Adsorption of Brilliant blue FCF (B1) and Allura Red (R40) colorants on cocoa shell: kinetics of the process

Abstract

The use of dyes in food industrial processes is limited due to significant pollution in aquatic receptors from their wastewater. To address this issue, this study focused on evaluating the adsorption of dyes Allura Red (R40) and Brilliant blue FCF (B1) using cocoa shells (CS) as an adsorbent. To achieve this, a pre-treatment was applied, which involved washing, grinding and drying at a temperature of 80 °C for 24 h, followed by a sieving process. The effect of the adsorbent dose was then analyzed and it was calculated that the optimal dose was 4 g/L. Additionally, the effect of contact time was studied through a kinetic analysis, all tests were carried out at a pH level of 2. The obtained data were fitted to kinetic models, which allowed us to conclude that the adsorption kinetics fit two different models depending on the initial solution conditions, in a range from 0 to 0.1512 mmol/L. Specifically, the Pseudo Second-Order (PSO) model fitted R40, while the Elovich model was appropriate for B1. In summary, CS was found to be a viable adsorbent for dyes in contaminated waters.

Keywords: Allura Red; Brilliant blue; adsorption; batch adsorption; cocoa shell.

Adsorción de los colorantes azul brillante FCF (B1) y rojo allura (R40) en cáscara de cacao: cinética del proceso

Resumen

El uso de colorantes en procesos industriales alimentarios es limitado debido a la considerable contaminación que generan en los cuerpos acuáticos que son receptores de sus efluentes residuales. Con el objetivo de abordar esta problemática, se llevó a cabo un estudio enfocado en la evaluación de la adsorción de los colorantes Rojo allura (R40) y azul brillante FCF (B1), utilizando cáscara de cacao (CS) como adsorbente. Para lograrlo, primero se aplicó un pretratamiento que comprendió diversas etapas, tales como limpieza, trituración, lavado y secado a 80 °C durante 24 h, seguido de un proceso de tamizado. Después se procedió a analizar el efecto de la dosis de adsorbente y se determinó que la dosis óptima del adsorbente era de 4 g/L. Así mismo, se estudió el efecto del tiempo de contacto a través de un estudio cinético, todos los ensayos se llevaron a cabo a un nivel de pH de 2. Los datos obtenidos fueron ajustados a modelos cinéticos, lo que permitió concluir que la cinética de adsorción se ajusta a dos modelos distintos dependiendo de las condiciones de la solución inicial, en un intervalo que va desde 0 hasta 0,1512 mmol/L. Específicamente, el modelo de pseudo segundo orden (PSO) se ajustó al colorante R40, mientras que el modelo de Elovich fue el adecuado para el colorante B1. En resumen, la CS fue viable como adsorbente para colorantes en aguas contaminadas.

Palabras clave: Rojo allura; azul brillante; adsorción; adsorción por lotes; cáscara de cacao.

Adsorção dos corantes azul brilhante FCF (B1) e vermelho allura (R40) na casca de cacau: cinética do processo

Resumo

O uso de corantes em processos industriais de alimentos é limitado devido à considerável contaminação que geram nos corpos aquáticos receptores de seus efluentes residuais. Com o objetivo de abordar este problema, foi realizado um estudo focado na avaliação da adsorção dos corantes vermelho allura (R40) e azul brilhante FCF (B1), utilizando casca de cacau (CS) como adsorbente. Para isso, foi inicialmente aplicado um pré-tratamento que incluiu várias etapas, como limpeza, moagem, lavagem e secagem a 80 °C durante 24 h, seguido de um processo de peneiramento. O efeito da dose do adsorbente foi então analisado e determinou-se que a dose ideal do adsorbente era de 4 g/L. Da mesma forma, o efeito do tempo de contato foi estudado através de um estudo cinético, todos os testes foram realizados em um nível de pH de 2. Os dados obtidos foram ajustados a modelos cinéticos, o que permitiu concluir que a cinética de adsorção se ajusta a dois modelos diferentes dependendo das condições da solução inicial, num intervalo que varia de 0 a 0,1512 mmol/L. Especificamente, o modelo de pseudo-segunda ordem (PSO) ajustou-se ao corante R40, enquanto o modelo Elovich foi adequado ao corante B1. Em resumo, o CS mostrou-se viável como adsorbente de corantes em águas contaminadas.

Palavras-chave: vermelho allura; azul brilhante; adsorção; adsorção em lote; casca de cacau.



Introduction

Artificial colorants are widely used in the food industry due to their high stability and low cost. However, their use is increasingly restricted due to the potentially toxic effects they can have on human health [1]. Industrial wastewater is often discharged with treatments that do not remove the colorants present in these matrices [2]. The concentration of colorants can reach up to 200 ppm, as approximately 15% of the utilized colorants are wasted [3].

Many studies have been conducted to evaluate the toxic effects of these colorants, with particular emphasis on Brilliant blue FCF (B1), Tartrazine and Allura Red (R40), which are among the most common ones. According to Oyewole and Oladele, prolonged exposure to these colorants can lead to impairment of cardiac and renal functions and genetic modifications [4]. The main environmental impact, as stated by Lellis *et al.*, is the inhibition of photosynthetic processes that occur on the underwater surface due to the disruption of normal light penetration [5].

Various research efforts have been made to mitigate the pollution caused by colorants, including technologies such as advanced oxidative processes [6], microbiological degradation [7] and adsorption [8]. Significant progress has been achieved with these technologies. However, the costs and operational time remain a significant challenge that has yet to be overcome. Adsorption, despite being one of the more traditional methods, stands out as one of the most attractive approaches, particularly when using bioadsorbents, which minimize operational costs and facilitate handling [9–11].

Bioadsorbents of agroindustrial origin have good chemical stability and great adsorbent performance. It has generally been taken as waste from processes where it had not been taken advantage of and entailed a final disposal problem. Among the most used agroindustrial residues, with or without chemical treatment are rice husk and ash [12], corn cob [13], husk nuts [11], sugarcane bagasse ash [14], among others.

Cocoa shells (CS) show a good performance in the removal of contaminants, however, studies to remove dye mixtures are scarce. Due to its properties and massive generation, the use of the CS can contribute as an interesting alternative to environmental management in the food industry [15].

According to Tkaczyk *et al.*, contamination by dyes such as B1 negatively affects aquatic ecosystems [16]. This study focuses on assessing the adsorption efficiency of B1 and R40 dyes within CS, proposing it as an alternative for treating both agroindustrial waste and effluents. The primary objective is to mitigate dye-induced pollution in wastewater by presenting a sustainable and efficient solution for pollutant removal. The utilization of CS, as a natural and renewable material, underscores the study's commitment to providing an environmentally friendly alternative for the treatment of industrial wastewater.

Materials and methods

Preparation and characterization of the adsorbent and standard solutions

Waste CS were utilized, which had undergone pretreatment invol-

ving a size reduction stage. Subsequently, particles ranging between 0.595 to 0.841 mm in size were carefully selected. The chosen material was thoroughly washed with distilled water to eliminate impurities, starches, and natural colors. Finally, it was dried for 24 h at a temperature of 80 °C and stored in plastic bags to prevent moisture absorption. The moisture content at the end of the drying process was measured to be 6.5%.

The reagents B1 and R40 were obtained from Sigma Aldrich. Different synthetic solutions for B1 and R40 were prepared daily, as explained in **table 1** and stored in amber flasks. Quantification was performed using a Thermo Scientific 60S Evolution UV/VIS spectrophotometer at λ_{max} of 502 nm for R40 and 629 nm for B1, using a calibration curve in a linear concentration range from 5 to 30 ppm for B1 and from 10 to 80 ppm for R40.

The concentrations of the dyes were quantified at the beginning and end of the adsorption experiment, using a Thermo Scientific 60 S Evolution UV/VIS spectrophotometer at λ_{max} of 592 nm, by means of a calibration curve in a linear concentration range between 20 and 140 mg/L of standard B1.

Point of zero charge

The pH at which the surface charge of the materials becomes neutral and reaches equilibrium is known as the point of zero charge denoted as pH_{Zc} [17]. To determine the pH_{Zc} of the adsorbent, the methodology described by Villa was followed [18]. A volume of 50 mL of distilled water was measured and placed into 100 mL Erlenmeyer flasks. Subsequently, the pH of each solution was adjusted within a range between 2, 4, 6, 8, and 10 units by adding either 0.1 M HCl or 0.1 M NaOH. Then, 0.5 g of the adsorbent material sample was introduced into each of these solutions and covered with aluminum foil. Following a 48 h period, during which the solutions were continuously agitated at room temperature, the solutions underwent filtration, and the final pH values of the filtrates were reevaluated. The disparity between the initial pH values and the final pH values was plotted against the initial pH values. The point of intersection of the resulting curve with the x-axis, where this disparity equates to zero, unequivocally denotes the point of zero charge [19].

Adsorption assays

The dose of the adsorbent and the contact time were evaluated through the kinetic study. All the experiments were carried out in 250 mL Erlenmeyer flasks, where 100 mL of B1 and R40 dye solutions were placed. Aluminum foil covers were used over the flasks to prevent photodegradation. To improve the solution's contact with the adsorbent, an orbital shaker (Thermo Scientific) was used at a speed of 300 rpm as Andrade *et al.* reported [9].

All assays were carried out in triplicate at room temperature (25 °C), and pH 2, due to there are many studies reporting this pH as optimal for achieving the maximum percentage of removal [20, 21]. The dose of the adsorbent was evaluated using a solution with an initial concentration of 0.1512 mmol/L for both dyes. Different doses of CS from 0.2 to 2.0 g at 0.2 g intervals were tested over 24 h. The temperature for all tests was set at 298 K. For the investigation of contact time, seven mixture solutions with varying concentrations

Table 1. Composition of mixtures for adsorption assays.

Initial colorants concentrations in each mixture (mmol/L)							
Colorants	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
R40	0.1512	0.1422	0.0708	0.1427	0	0.0690	0
B1	0.1514	0.0745	0.1455	0	0.1549	0	0.0748

were used for each dye: mixture one (M1), mixture two (M2), mixture three (M3), mixture four (M4), mixture five (M5), mixture six (M6) and mixture seven (M7), as shown in **table 1**.

To determine the best contact time, capacity, and percentage removal, Eq. (1) and Eq. (2) were used.

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

$$\%R = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} 100 \quad (2)$$

Where, Q_e (mmol/g) is the adsorption capacity, C_0 (mmol/L) is the initial concentration of adsorbate, C_t (mmol/L) is the concentration of the adsorbate at time t (min), V (mL) is the volume of the solution, and w (g) is the mass of the adsorbent. R is the percentage removal.

Kinetic study

Kinetic assays were conducted under the previously established conditions, including a solution volume of 50 mL, 4 g/L of adsorbent, and concentrations ranging from 0 to 0.01512 mmol/L, with contact times from 1 to 360 min (1, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 min). The data obtained was fitted to non-linear mathematical models using R Software. The kinetic models are presented in **table 2**.

Table 2. Nonlinear kinetic models.

Models	Equation	Adjustment parameter
Pseudo First-Order (PFO)	$Q_t = Q_e (1 - \exp(-k_1 t))$	Q_e : maximum adsorption capacity k_1 : First-Order adsorption rate constant
Pseudo Second-Order (PSO)	$Q_t = \frac{k_2 Q_e^2 t}{1 + k_2 Q_e t}$	Q_e : maximum adsorption capacity k_2 : Second-Order adsorption rate constant
Elovich	$Q_t = \frac{1}{\beta} \ln(1 + \alpha C t)$	α : chemisorption rate constant β : surface coverage extent
Bangham	$Q_t = k_r t^{1/m}$	k_r : Bangham adsorption rate constant $1/m$: adsorption density intensity
Intraparticle diffusion (ID)	$Q_t = k_{id} t^{1/2} + C$	k_{id} : intraparticle diffusion rate constant C : diffusion constant

Results and Discussion

Adsorbent Dose Effect

There is a direct relationship between the amount of adsorbent and the removal of both dyes (**figure 1**). As there is a higher dose of adsorbent, the number of active sites increases, therefore there are more spaces where these molecules can be retained [22].

This effect occurs similarly for both dyes since they are at the same concentration. It is notorious that B1 adsorbs more than R40, which can be attributed to the distinct chemical structures of both dyes. B1 possesses three sulfonate groups, a charged nitrogen and a nitrogen with a lone pair of electrons. These functional groups are prone to experiencing stronger intermolecular interactions with the adsorbent [23, 24].

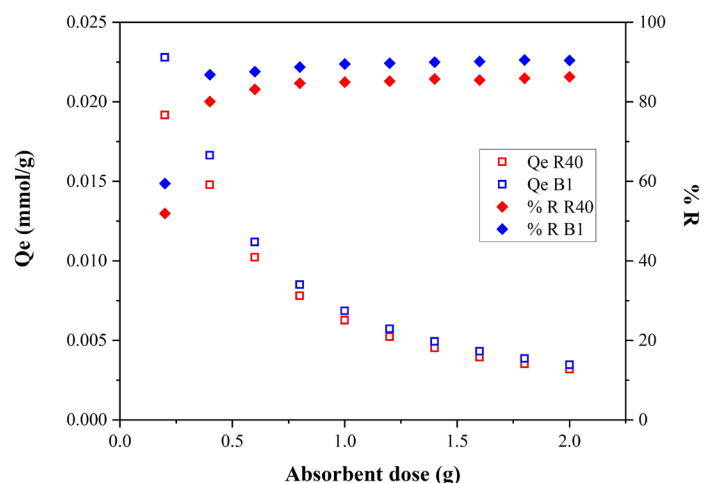


Figure 1. Adsorbent dosage effect on R40 and B1 adsorption onto cocoa shells.

In contrast, the R40 molecule features two sulfonate groups, and its nitrogens are part of an azo compound. These groups exhibit greater steric hindrance due to the aromatic rings, thereby impeding a strong interaction with the functional groups of the adsorbent [25-27]. The %R increased faster until the dose of 4 g/L, then variation was minimal and almost constant, for this reason, it was established as a dose of adsorbent.

Material characterization

Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy was employed to identify potential functional groups responsible for adsorption. As a result, a broad signal in the range of 3200 to 3600 cm^{-1} was observed (**figure 2A**), corresponding to hydrogen bonding interactions in -OH groups. Additionally, the presence of aliphatic C-H bonds was evidenced by the signal at 2918 cm^{-1} . Vibrations of aromatic ring C=C bonds were observed at 1601 cm^{-1} . Furthermore, signals recorded at 1024 cm^{-1} correspond to angular deformations in the C-O bond. Taken together, these findings lead to the conclusion that the material possesses phenolic groups, which are responsible for the adsorption processes.

Point of zero charge

The obtained values are presented in **figure 2B**. The calculated pHzc value was 7.5, this value indicates a state of charge equilibrium on the adsorbent material, whereby pH levels above 7.5 result in a negatively charged surface, while pH levels below 7.5 lead to a positively charged surface. Notably, at pH 2.0, B1 exhibits a negative charge in its sulfonate group, whereas R40 does not possess any negative charges. This observation allows us to deduce that B1 is adsorbed in larger quantities than R40.

Effect of contact time

The concentration decreased rapidly during the first few minutes, reaching equilibrium at 120 min for M1-R40, M1-B1, M2-R40, M2-B1, M3-R40, M3-B1 (**figure 3**) and for M4-R40, M5-B1, M6-R40, M7-B1 (**figure 4**). In the case of M5-B1, equilibrium was reached at 150 min (**figure 4B**).

In the case of M1 (**figures 3A and 3B**), the concentrations of R40 and B1 were equal (0.1512 mmol/L), resulting in an equal distribution of active sites and similar maximum adsorption values (0.01248 and 0.01280 mmol/g). Both dyes showed an affinity for the adsorbent; however, B1 exhibited a superior adsorption capacity.

For M2 (**figures 3C and 3D**), the concentrations used were 0.1512 and 0.0746 mmol/L for R40 and B1, respectively. In this case, the adsorption capacity was higher for the component with a higher initial solution concentration (R40, 0.01469 mmol/g > B1, 0.00773 mmol/g). This can be attributed to the fact that a higher number

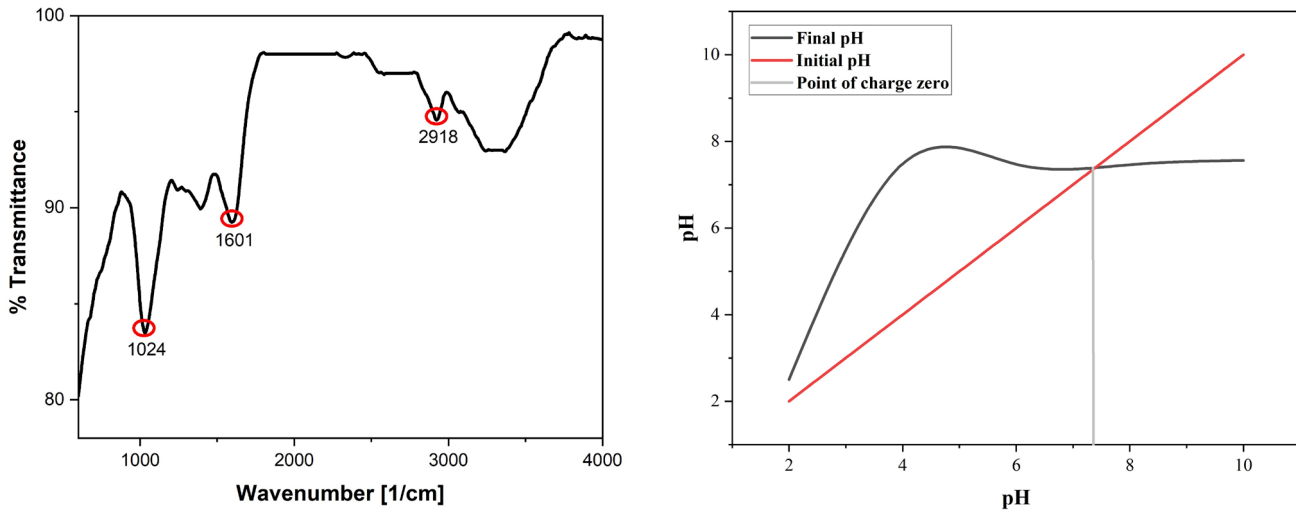


Figure 2. A: FTIR spectra of cocoa shells and B: point of zero charge of cocoa shells (pH at surface charge neutrality).

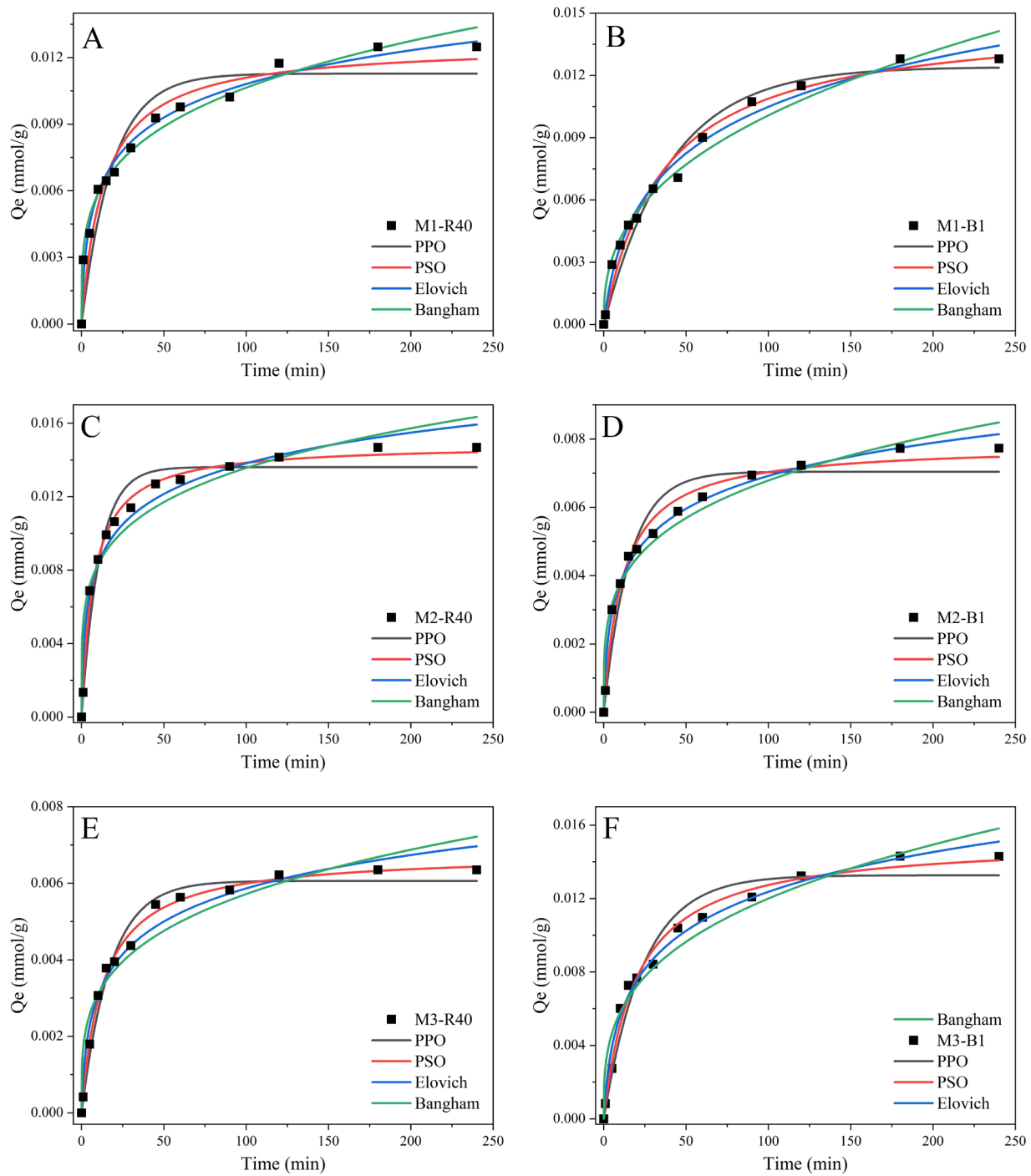


Figure 3. Kinetic models fitted to experimental data: Pseudo First-Order (PPO) — Pseudo Second-Order (PSO) — Elovich — Bangham — M: mixtures, R40: Allura Red, B1: Brilliant blue. A: M1-R40; B: M1-B1; C: M2-R40; D: M2-B1; E: M3-R40; and F: M3-B1.

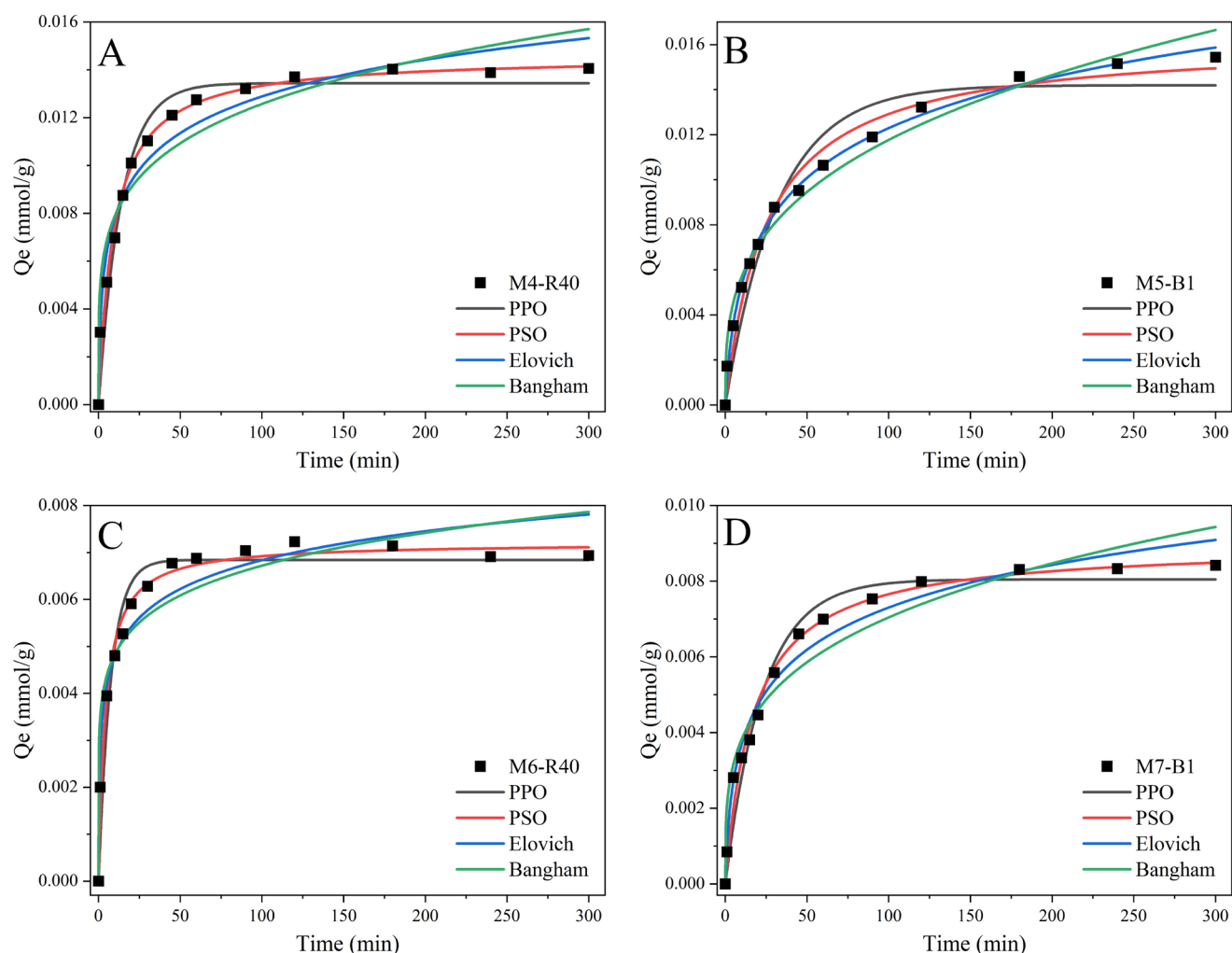


Figure 4. Kinetic models fitted to experimental data: Pseudo First-Order (PPO) — Pseudo Second-Order (PSO) — Elovich — Bangham —
 M: mixtures, R40: Allura Red, B1: Brilliant blue. A: M1-R40; B: M1-B1; C: M2-R40; D: M2-B1; E: M3-R40; and F: M3-B1.

of molecules leads to stronger interactions between the adsorbate and adsorbent.

The same effect is observed in M3 (figures 3E and 3F), where the adsorption capacity was higher for B1 (0.01429 mmol/g) compared to R40 (0.00635 mmol/g). This is because B1 concentration (0.1512 mmol/L) in M3 was higher than R40 (0.0746 mmol/L).

In assays M4 (figure 4A) and M6 (figure 4C), where only the R40 dye was used at concentrations of 0.1427 mmol/L and 0.690 mmol/L, respectively, the reported adsorption capacity is not significantly different from that shown in trials M2 (figure 3C) and M3 (figure 3E), despite the latter two being in competition with B1. This demonstrates that the adsorption capacity of R40 is not strongly influenced or compromised when combined with B1.

Finally, in assays M5 (figure 4B) and M7 (figure 4D) concentrations of B1 dye at 0.1549 mmol/L and 0.0748 mmol/L were used, respectively, which are similar to those employed in trials M2 (figure 3D) and M3 (figure 3F). In these trials, a higher adsorption capacity was evidenced. This improvement in adsorption capacity is attributed to the presence of a single dye in each trial, which avoids competition for active sites on the adsorbent, allowing for greater efficiency in the adsorption process.

In figure 5 it can be observed that B1 consistently shows higher adsorption capacity than R40 in all cases. Assay M7 shown a higher dye removal for B1, assay M6 had a better dye removal for R40, and the assay M2 shown a better dye removal when dyes were mixed.

Kinetic study

The fitting parameters of the Pseudo First-Order (PPO), Pseudo Se-

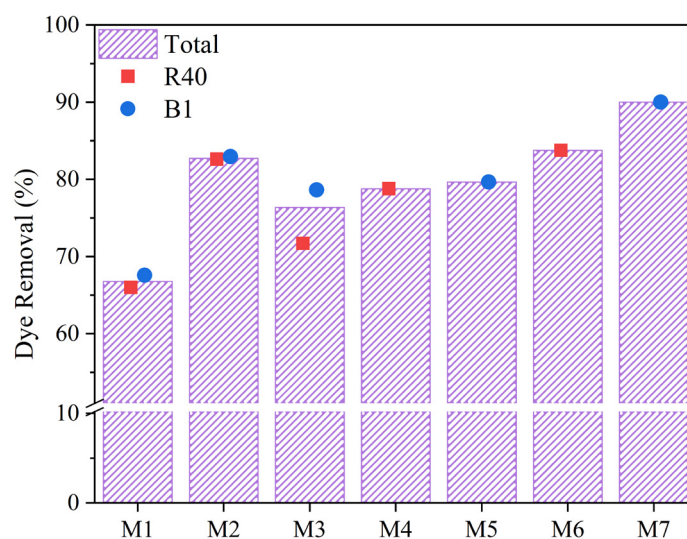


Figure 5. Comparative boxplot assays dyes removal (%).

cond-Order (PSO), Elovich, and Bangham and Intraparticle Diffusion (ID) kinetic models used are shown in table 3, table 4, figure 3, figure 4, figure 6 and figure 7. The goodness of fit was evaluated using the Residual Standard Error (RSE) and the model with the lowest RSE indicates the best fit.

The experimental data did not fit the PPO or Bangham models, as the calculated values had higher errors (table 3). The intraparticle diffusion model was applied to gain a deeper insight into the adsorption mechanism. A proper fit of this model indicates the predominant adsorption mechanism.

Table 3. Kinetic constants of R40 and B1 dye adsorption on cocoa shells.

	M1		M2		M3		M4	M5	M6	M7
	R40	B1	R40	B1	R40	B1	R40	B1	R40	B1
Q _{e,exp} (mmol/g)	0.0125	0.0128	0.0147	0.0077	0.0064	0.0143	0.0141	0.0154	0.0069	0.0084
PPO										
Q _{e,cal} (mmol/g ¹)	0.0113	0.0124	0.0136	0.007	0.0061	0.0133	0.0134	0.0142	0.0068	0.0081
K ₁ (min ⁻¹)	0.0535	0.0247	0.0933	0.0639	0.0572	0.0415	0.0719	0.0312	0.1314	0.0433
R ²	0.9034	0.9703	0.9654	0.9466	0.9819	0.9657	0.9692	0.9527	0.9536	0.9728
χ ²	1.54×10 ⁻⁶	6.25×10 ⁻⁷	8.78×10 ⁻⁷	3.68×10 ⁻⁷	9.66×10 ⁻⁸	8.87×10 ⁻⁷	6.88×10 ⁻⁷	1.29×10 ⁻⁶	2.39×10 ⁻⁷	2.40×10 ⁻⁷
PSO										
Q _{e,cal} (mmol/g)	0.0126	0.0148	0.0149	0.0078	0.0068	0.0152	0.0146	0.0162	0.0072	0.009
K ₂ (g/mmol.min)	5.786	1.878	9.168	11.126	11.165	3.342	7.349	2.406	33.17	6.481
R ²	0.9537	0.9852	0.9941	0.986	0.9955	0.9901	0.9883	0.985	0.987	0.9897
χ ²	7.39×10 ⁻⁷	3.12×10 ⁻⁷	1.50×10 ⁻⁷	9.63×10 ⁻⁸	2.42 × 10 ⁻⁸	2.57 × 10 ⁻⁷	2.60×10 ⁻⁷	4.09×10 ⁻⁷	6.72×10 ⁻⁸	9.06×10 ⁻⁸
Elovich										
α (g/mmol.min)	0.003	0.0007	0.0073	0.0019	0.0013	0.0016	0.0073	0.0013	0.0198	0.0014
β (g/mmol)	454.8	287	413.6	713.4	789.3	316.3	450	302.4	1128.4	610.7
R ²	0.9869	0.9902	0.9718	0.9917	0.9745	0.9889	0.9684	0.9968	0.9466	0.9805
χ ²	2.09×10 ⁻⁷	2.06×10 ⁻⁷	7.17×10 ⁻⁷	5.71×10 ⁻⁸	1.36×10 ⁻⁷	2.87×10 ⁻⁷	7.05×10 ⁻⁷	8.66×10 ⁻⁸	3.30×10 ⁻⁶	1.72×10 ⁻⁷
Bangham										
K _r (g mmol/ g.min)	0.0032	0.0017	0.0051	0.0021	0.0017	0.3156	0.005	0.0028	0.0035	0.0021
A (g/mmolmin)	0.2597	0.3868	0.2131	0.2553	0.266	0.0028	0.2024	0.3155	0.1431	0.266
R ²	0.9852	0.9746	0.9203	0.9553	0.9236	0.9546	0.9283	0.9815	0.9066	0.9431
χ ²	2.36×10 ⁻⁷	5.35×10 ⁻⁷	2.02×10 ⁻⁶	3.08×10 ⁻⁷	4.08×10 ⁻⁷	1.18×10 ⁻⁶	1.60×10 ⁻⁶	5.07×10 ⁻⁷	4.81×10 ⁻⁷	5.01×10 ⁻⁷

PPO: Pseudo First-Order

PSO: Pseudo Second-Order

Q_{e,exp}: maximum adsorption capacityQ_{e,cal}: maximum adsorption capacityK₁: First-Order adsorption rate constantK₂: Second-Order adsorption rate constant

α: chemisorption rate constant

β: surface coverage extent

K_r: Bangham adsorption rate constant

A: adsorption density intensity

R²: coefficient of determinationχ²: Chi square

The graphical representation of the model Weber-Morris in function of time (t) (Q_t vs. t^{0.5}) displays three regions with linear relationships (**figure 6** and **figure 7**). This suggests that when some stages intersect at the origin, the process is solely governed by intraparticle diffusion. However, if the experimental data exhibits multilinearity, it indicates that the adsorption process may be controlled by multiple steps or a combination of them. Nevertheless, in our study, none of the three stages passes through the origin. This finding is crucial as it suggests that intraparticle diffusion does not serve as the limiting stage in the adsorption process.

The kinetic data for R40 had a better fit to the PSO model, while B1 showed a better fit to the Elovich model. This means that both dyes are adsorbed differently, and it could partially explain the higher affinity of B1 for the adsorbent. However, the type of adsorption varies depending on the initial concentrations of each dye.

On the one hand, the fact that the kinetics fit the PSO model indicates that at pH 2, in R40, there are no charges present, and adsorption occurs through electrons donated by nitrogen atoms. On the other hand, in B1, there are formal charges on the sulfonate group that can exhibit a strong electrostatic attraction with the material.

If it fits the Elovich model, it indicates that the process involves chemisorption and depends on the bonds formed between the adsorbate and the adsorbent. Both models are related to the type of adsorption occurring in the process, which explains why the kinetic data fit differently when the initial concentrations of the dyes are changed.

Furthermore, the Elovich model is related to the heterogeneity and activation energy of the CS surface. The parameter β, which is related to the extent of surface coverage and activation energy [9], showed an inverse relationship with the initial concentration of B1 in the presence of higher concentrations of R40. Thus, the presence of a higher proportion of R40 saturates the active sites of the adsorbent, preventing the accommodation of B1 molecules present in lower amounts. This explains why the adsorption capacity is higher for the dye with a higher concentration.

The parameter α is related to the adsorption rate and is therefore related to the K₂ constant of the PSO model. Observing its values (**table 4**), it can be seen that they have a direct relationship with the initial concentrations of the dyes. Additionally, these values increase even more when the dye of interest is present at a higher

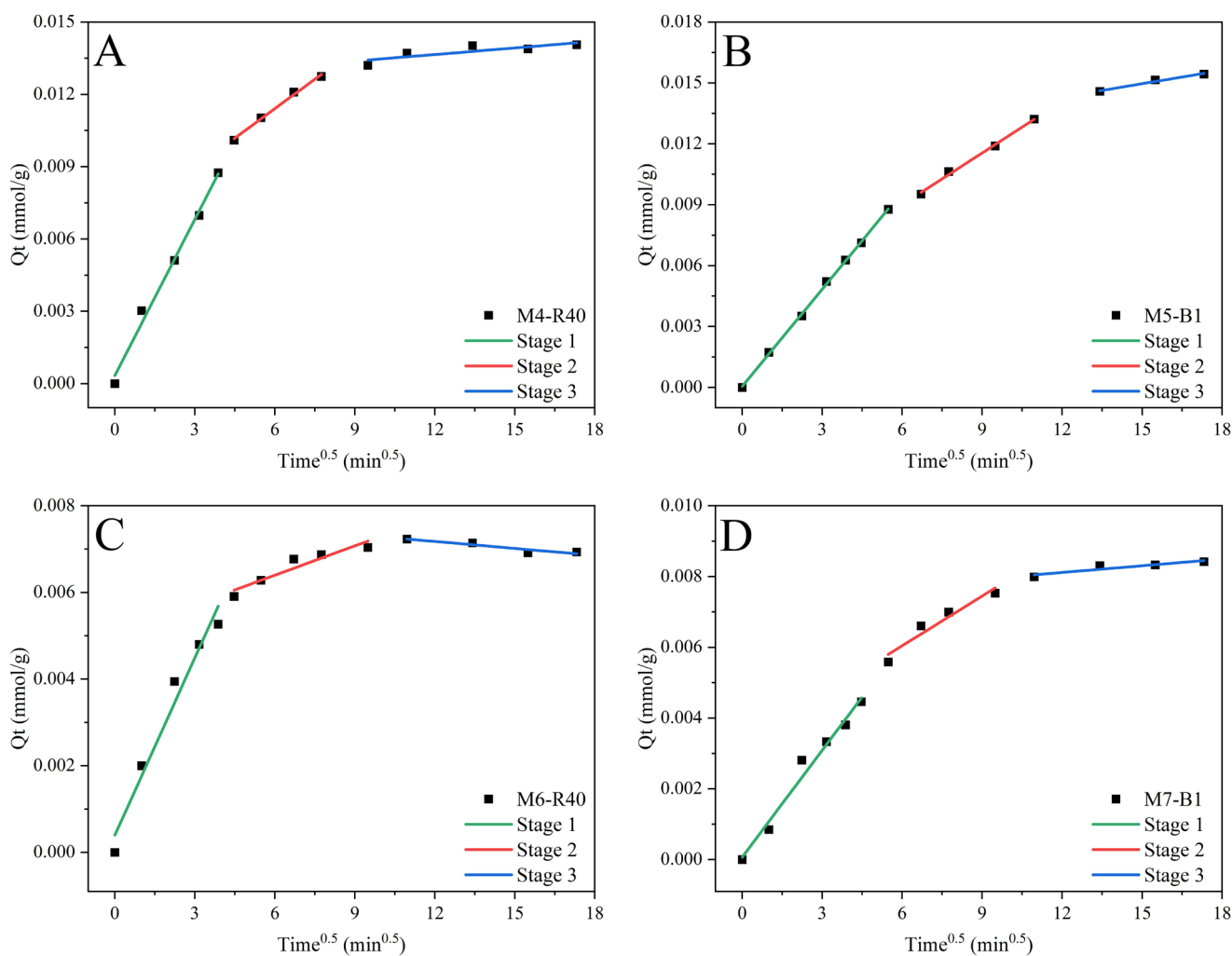


Figure 6. Weber-Morris intraparticle diffusion model adjusted to experimental data. M: mixtures, R40: Allura Red, B1: Brilliant blue. A: M1-R40; B: M1-B1; C: M2-R40; D: M2-B1; E: M3-R40; and F: M3-B1.

concentration and with the presence (low concentration) of the other dye. Despite the equal distribution of active sites for both dyes, the adsorption process occurs competitively. The results obtained indicate that the presence of aliphatic or aromatic OH groups is responsible for the adsorption process. The B1 molecule, which

carries a positive charge at the tested pH levels, is favored in the experiments. This preference is attributed to the interaction between the unshared electron pairs of oxygen and the positively charged regions in the dye's structure.

Table 4. Kinetic constants for Weber-Morris Intraparticle Diffusion model in R40 and B1 dye adsorption on cocoa shells.

	M1		M2		M3		M4	M5	M6	M7
	R40	B1	R40	B1	R40	B1	R40	B1	R40	B1
Stage 1										
K_{id} (mmol/g.min ^{0.5})	0.00179	0.00109	0.00313	0.00137	0.00082	0.00124	0.00216	0.00160	0.00136	0.00101
C (mmol/g)	0.00039	0.00016	-0.00064	-0.00026	-0.00014	-0.00015	0.00034	0.00005	0.00040	0.00007
R ²	0.91472	0.99357	0.92499	0.93408	0.94341	0.97314	0.99069	0.99930	0.96632	0.97781
Stage 2										
K_{id} (mmol/g.min ^{0.5})	0.00073	0.00000	0.00093	0.00043	0.00045	0.00091	0.00081	0.00085	0.00023	0.00047
C (mmol/g)	0.00381	0.01280	0.00615	0.00279	0.00195	0.00361	0.00652	0.00392	0.00504	0.00324
R ²	0.95329	1.00000	0.94986	0.96825	0.92214	0.97851	0.99365	0.99555	0.89229	0.93245
Stage 3										
K_{id} (mmol/g.min ^{0.5})	0.00017	0.00000	0.00018	0.00000	0.00003	-0.00001	0.00009	0.00022	-0.00005	0.00006
C (mmol/g)	0.0102	0.00000	0.01212	0.00771	0.00045	0.01443	0.01257	0.01168	0.00782	0.00736
R ²	0.79127	0.00000	0.86688	1.00000	0.77771	1.00000	0.70422	0.97596	0.86903	0.85109

K_{id} : intraparticle diffusion rate constant
 C: diffusion constant
 R²: coefficient of determination

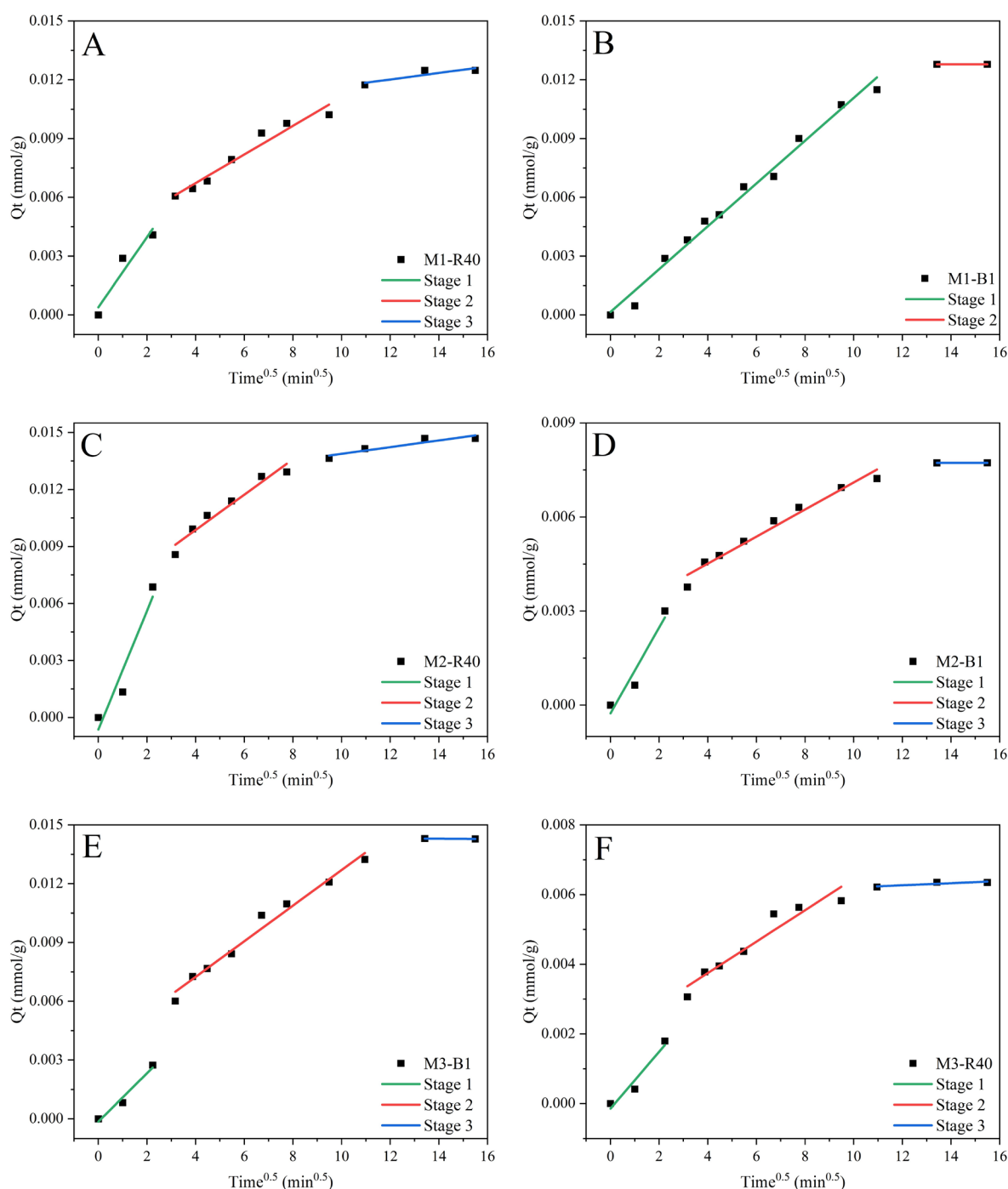


Figure 7. Weber-Morris intraparticle diffusion model adjusted to experimental data. M: mixtures, R40: Allura Red, B1: Brilliant blue. A: M1-R40; B: M1-B1; C: M2-R40; D: M2-B1; E: M3-R40; and F: M3-B1.

Conclusions

It was determined that the adsorption behavior of both dyes was influenced by their concentration. The well-fitting kinetic data with the PSO and Elovich models suggests that the adsorption process occurs through chemical mechanisms. This highlights the crucial influence of each dye's chemical structure on its adsorption capacity and affinity. Notably, B1 showed higher adsorption than R40 at the same concentration, attributed to distinct chemical structures. Both dyes exhibited similar adsorption behavior when their initial concentrations were equal, indicating that the process occurs equally for both. Despite this similarity, remarkably high percentages of adsorption were achieved for the dye mixture.

This study showed that the adsorption capacity of dyes is usually higher in single-component systems compared to two-component systems. This is due to the different affinities presented by the dyes with the adsorbent, resulting in competition between them and affecting the efficiency of removal. Furthermore, it is observed that

removal in two-component systems is influenced by the individual percentages of the dyes in the mixtures to be treated. However, in this study and under the specific experimental conditions employed, it was observed that the differences in removal percentages between single-component and two-component systems were not as pronounced as anticipated.

References

- [1] M. Ng Hau Kwan, C. P. Leo, S. M. N. Arosa Senanayake, G. K. Lim and M. K. Tan, "Carbon-dot dispersal in PVA thin film for food colorant sensing", *J Environ Chem Eng*, vol. 8, no. 3, pp. 1-6, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103187>
- [2] X. Wang, J. Jiang and W. Gao, "Reviewing textile wastewater produced by industries: characteristics, environmental impacts, and treatment strategies", *Water Science and Technology*, vol. 85, no. 7, pp. 2076-2096, Mar. 2022. DOI: <https://doi.org/10.2166/wst.2022.088>
- [3] M. R. Hossain, T. U. Rashid, N. P. Lata, S. C. Dey, M. Sarker and S. Md. Shamsuddin, "Fabrication of Novel Nanohybrid Material

- for the Removal of Azo Dyes from Wastewater”, *Journal of Composites Science*, vol. 6, no. 10, pp. 1–21, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcs6100304>
- [4] O. I. Oyewole and J. O. Oladele, “Assessment of Cardiac and Renal Functions in Wistar Albino Rats Administered Carmoisine and Tartrazine”, *Adv Biochem*, vol. 4, no. 3, pp. 21–25, Jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.11648/j.ab.20160403.11>
- [5] B. Lellis, C. Z. Fávoro-Polonio, J. A. Pamphile and J. C. Polonio, “Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms”, *Biotechnology Research and Innovation*, vol. 3, no. 2, pp. 275–290, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.09.001>
- [6] R. M. da R. Santana et al., “Degradation of Textile Dyes Employing Advanced Oxidative Processes: Kinetic, Equilibrium Modeling, and Toxicity Study of Seeds and Bacteria”, *Water Air Soil Pollut*, vol. 230, no. 6, pp. 1–13, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4178-x>
- [7] Z. Ghobadi Nejad, S. M. Borghei and S. Yaghmaei, “Biodegradation of synthetic dye using partially purified and characterized laccase and its proposed mechanism”, *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 16, no. 12, pp. 7805–7816, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02226-5>
- [8] T.-S. Kim, H. J. Song, M. A. Dar, H.-J. Lee and D.-W. Kim, “Fast adsorption kinetics of highly dispersed ultrafine nickel/carbon nanoparticles for organic dye removal”, *Appl Surf Sci*, vol. 439, pp. 364–370, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.01.061>
- [9] C. A. Andrade, L. A. Zambrano-Intriago, N. S. Oliveira, J. S. Vieira, L. S. Quiroz-Fernández and J. M. Rodríguez-Díaz, “Adsorption Behavior and Mechanism of Oxytetracycline on Rice Husk Ash: Kinetics, Equilibrium, and Thermodynamics of the Process”, *Water Air Soil Pollut*, vol. 231, no. 3, pp. 1–16, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04473-6>
- [10] Z. Shamsollahi and A. Partovinia, “Recent advances on pollutants removal by rice husk as a bio-based adsorbent: A critical review”, *J Environ Manage*, vol. 246, pp. 314–323, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.145>
- [11] M. Banerjee, R. K. Basu and S. K. Das, “Cr(VI) adsorption by a green adsorbent walnut shell: Adsorption studies, regeneration studies, scale-up design and economic feasibility”, *Process Safety and Environmental Protection*, vol. 116, pp. 693–702, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.03.037>
- [12] J. F. Honorio, M. T. Veit, P. Y. R. Suzaki, P. F. Coldebella, E. S. Rigobello and C. R. G. Tavares, “Adsorption of natural hormones estrone, 17 β -estradiol, and estriol by rice husk: monocomponent and multicomponent kinetics and equilibrium”, *Environ Technol*, vol. 41, no. 9, pp. 1075–1092, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1521472>
- [13] C. Tejada-Tovar M.Sc., A. Herrera-Barros Ph.D. and A. Villabona-Ortiz M.Sc., “Assessment of Chemically Modified Lignocellulose Waste for the Adsorption of Cr (VI)”, *Revista Facultad de Ingeniería*, vol. 29, no. 54, pp. 1–18, 2020. DOI: <https://doi.org/10.19053/01211129.v29.n54.2020.10298>
- [14] J. M. Rodríguez-Díaz, J. O. P. García, L. R. B. Sánchez, M. G. C. da Silva, V. L. da Silva and L. E. Arteaga-Pérez, “Comprehensive Characterization of Sugarcane Bagasse Ash for Its Use as an Adsorbent”, *Bioenergy Res*, vol. 8, no. 4, pp. 1885–1895, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12155-015-9646-6>
- [15] G. Rodríguez-Arellano, J. Barajas-Fernández, R. García-Alamilla, L. M. Lagunes-Gálvez, A. H. Lara-Rivera and P. García-Alamilla, “Evaluation of Cocoa Beans Shell Powder as a Bioadsorbent of Congo Red Dye Aqueous Solutions”, *Materials*, vol. 14, no. 11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma14112763>
- [16] A. Tkaczyk, K. Mitrowska and A. Posyniak, “Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review”, *Science of The Total Environment*, vol. 717, pp. 1–13, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137222>
- [17] A. Tămaş, I. Cozma, L. Cocheci, L. Lupa and G. Rusu, “Adsorption of Orange II Onto Zn₂Al-Layered Double Hydroxide Prepared From Zinc Ash”, *Front Chem*, vol. 8, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.573535>
- [18] F. A. Amaringo Villa, “Determinación del punto de carga cero y punto isoeléctrico de dos residuos agrícolas y su aplicación en la remoción de colorantes”, *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, vol. 4, no. 2, pp. 27–36, Oct. 2013. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.982>
- [19] L. D. Hafshejani et al., “Removal of zinc and lead from aqueous solution by nanostructured cedar leaf ash as biosorbent”, *J Mol Liq*, vol. 211, pp. 448–456, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.07.044>
- [20] K. Litefti, M. S. Freire, M. Stitou and J. González-Álvarez, “Adsorption of an anionic dye (Congo red) from aqueous solutions by pine bark”, *Sci Rep*, vol. 9, no. 1, pp. 1–13, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53046-z>
- [21] B. H. Hameed, A. A. Ahmad and N. Aziz, “Adsorption of reactive dye on palm-oil industry waste: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies”, *Desalination*, vol. 247, no. 1, pp. 551–560, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.08.005>
- [22] A. Roy, “Removal of color from real textile dyeing effluent utilizing tannin immobilized jute fiber as biosorbent: optimization with response surface methodology”, *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 28, no. 10, pp. 12011–12025, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08820-2>
- [23] C. Morris, S. J. Mooney and S. D. Young, “Sorption and desorption characteristics of the dye tracer, Brilliant Blue FCF, in sandy and clay soils”, *Geoderma*, vol. 146, no. 3, pp. 434–438, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2008.06.021>
- [24] EFSA Panel on Food Additives and N. S. added to Food (ANS), “Scientific Opinion on the re-evaluation of Brilliant Blue FCF (E 133) as a food additive”, *EFSA Journal*, vol. 8, no. 11, pp. 1–36, 2010. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1853>
- [25] R. G. Sánchez-Duarte, D. I. Sánchez-Machado, J. López-Cervantes and Ma. A. Correa-Murrieta, “Adsorption of allura red dye by cross-linked chitosan from shrimp waste”, *Water Science and Technology*, vol. 65, no. 4, pp. 618–623, Feb. 2012. DOI: <https://doi.org/10.2166/wst.2012.900>
- [26] A. K. Ávila-Martínez, J. H. Roque-Ruiz, J. Torres-Pérez, N. A. Medellín-Castillo and S. Y. Reyes-López, “Allura Red dye sorption onto electrospun zirconia nanofibers”, *Environ Technol Innov*, vol. 18, pp. 1–13, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100760>
- [27] B. Takam, E. Acayanka, G. Y. Kamgang, M. T. Pedekwang and S. Laminsi, “Enhancement of sorption capacity of cocoa shell biomass modified with non-thermal plasma for removal of both cationic and anionic dyes from aqueous solution”, *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 24, no. 20, pp. 16958–16970, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9328-3>

Citación del artículo:

M. A. Macías Pro, G. A. Altamirano Briones, E. J. Góngora Muñoz, A. A. Fernández Andrade and K. J. Fernández Andrade, “Adsorption of Brilliant blue FCF (B1) and Allura Red (R40) colorants on cocoa shell: kinetics of the process”, *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, no. 2, pp. 11–19, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n2.110635>



Nanocompósito basado en microesferas de quitosano/CF/CN como promisorio inactivador de *Escherichia coli*

Resumen

La presente investigación plantea la producción de un material compuesto basado en las nanohojas de nitruro de carbono grafítico (g-CN) recubiertas con nanopartículas de ferrita de cobalto, CoFe_2O_4 (CF), y embebidas en quitosano entrecruzado, con la finalidad de aplicarlo en procesos de inactivación fotocatalítica de cuerpos de agua contaminados con bacterias, así como en la degradación oxidativa de ibuprofeno, utilizando una fuente de radiación de 400 nm y 10 W.

El g-CN fue obtenido por descomposición térmica de melamina o urea y la CF a partir de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en medio alcalino y en presencia de g-CN. El material obtenido fue dispersado en solución acética de quitosano y se formaron perlas por goteo sobre solución de NaOH 2M. Los materiales sintetizados fueron caracterizados por difracción de Rayos X (DRX), espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y microscopía electrónica de barrido por emisión de campo (FESEM).

El compuesto final (quitosano/1CF5g-CN_m) alcanzó un valor cercano al 51% de eficiencia de degradación fotocatalítica oxidativa de ibuprofeno en solución acuosa. En cuanto a las pruebas de inactivación bacteriana de *Escherichia coli*, se alcanzó una disminución de hasta dos órdenes de magnitud, correspondiente a un 21% al final del proceso fotocatalítico.

Palabras clave: nanocompuestos; quitosano; ferrita de cobalto; nitruro de carbono; fotocatalisis; inactivación bacteriana.

Nanocomposite based on chitosan/CF/CN beads as a promising inactivator of *Escherichia coli*

Abstract

This research proposes the production of a composite material consisting of nanosheets of graphitic carbon nitride (g-CN) coated with cobalt ferrite nanoparticles (CF) and embedded in cross-linked chitosan. The aim of the work was to apply this material in photocatalytic inactivation processes of water bodies polluted with bacteria, as well as in the oxidative degradation of ibuprofen, using a 400 nm and 10 W radiation source.

The g-CN was obtained through the thermal decomposition of melamine or urea, and CF was produced from $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ and $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in an alkaline medium in the presence of g-CN nanosheets. The resulting material was dispersed in an acetic chitosan solution, forming beads by dripping the mixture onto 2M NaOH solution. The synthesized materials were characterized using X-ray Diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), and Field Emission Scanning Electron Microscopy (FESEM).

The final composite (chitosan/1CF5g-CN_m) achieved a yield close to 51% for the oxidative photocatalytic degradation efficiency of ibuprofen in aqueous solution. Regarding bacterial inactivation tests of *Escherichia coli*, a reduction of up to two orders of magnitude, corresponding to 21% at the end of the photocatalytic process, was attained.

Keywords: nanocomposites; chitosan; cobalt ferrite; carbon nitride; photocatalysis; bacterial inactivation.

Nanocompósito baseado em microesferas de quitosana/CF/CN como um promissor inativador de *Escherichia coli*

Resumo

A presente pesquisa propõe a produção de um material composto baseado em nanofolhas de carbono grafítico (g-CN) revestidas com nanopartículas de ferrita de cobalto, CoFe_2O_4 (CF), e incorporadas em quitosano reticulado, com o objetivo de aplicá-lo em processos de inativação fotocatalítica de corpos d'água contaminados com bactérias, assim como na degradação oxidativa de ibuprofeno, utilizando uma fonte de radiação de 400 nm e 10 W.

O g-CN foi obtido por decomposição térmica de melamina ou ureia, e a CF a partir de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em meio alcalino na presença de g-CN. O material obtido foi disperso em solução acética de quitosano, e pérolas foram formadas por gotejamento sobre uma solução de NaOH 2M. Os materiais sintetizados foram caracterizados por difração de raios-X (DRX), espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FESEM).

O composto final (quitosano/1CF5g-CN_m) atingiu um valor próximo a 51% de eficiência na degradação fotocatalítica oxidativa de ibuprofeno em solução aquosa. Quanto aos testes de inativação bacteriana de *Escherichia coli*, observou-se uma redução de até dois ordens de magnitude, correspondendo a 21% no final do processo fotocatalítico.

Palavras-chave: nanocompuestos; quitosana; ferrita de cobalto; nitreto de carbono; fotocatalise; inativação bacteriana.

Introducción

La contaminación microbiana de agua potable es considerada un enemigo silencioso porque causa la muerte de millones de personas en el mundo, esto se debe principalmente a la exposición de estas aguas a secreciones humanas [1]. Por ejemplo, la presencia de la bacteria *Escherichia coli* en el agua potable es evidente, en mayor medida, en zonas rurales donde el sistema sanitario es deficiente, por lo que se contaminan los ríos que luego son usados para el riego agrícola, pues no existe conciencia sobre el uso de estas aguas [2]. También se evidencia este problema en asentamientos humanos (poblaciones recién constituidas informalmente), donde las cargas bacterianas podrían estar contenidas en camiones cisterna que movilizan agua a las zonas más alejadas, en donde los sistemas de agua y desagüe aún no han sido implementados. Además, implementar estrategias de prevención para mantener la calidad del agua potable no es una prioridad política, razón por la cual algunos investigadores desarrollan sistemas de tratamiento de agua como irradiación UV [3–5], cloración [6, 7] y ozonización [8–10]; sin embargo, se presentan ciertas limitaciones por la resistencia natural de ciertos patógenos a dichos tratamientos, lo que ocasiona que los tratamientos queden incompletos [11–13]. Frente a ello, se hacen esfuerzos por innovar en tecnologías de desinfección y remediación que permitan procesos eficientes, robustos y viables económica y medioambientalmente.

El incremento exponencial de la capacidad de adsorción de materiales a escala nanométrica permite su uso como una ruta alternativa en la inactivación de bacterias. Como ejemplo se puede citar el nanocompuesto $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Ag}$, las propiedades antibacterianas de las nanopartículas de plata (NP-Ag), complementadas con la capacidad de recuperación magnética de la magnetita (Fe_3O_4), fueron estudiadas frente a las bacterias *Enterobacter aerogenes* y *Enterococcus faecalis*, con eficiencias al 100% [14]. A su vez, Linklater *et al.* estudiaron un modelo biofísico de las interacciones entre nanopartículas y la membrana bacteriana y demuestran que una mayor afinidad interactiva (superficial) permite el colapso de la capa lipídica debido un mayor estiramiento y ruptura de la membrana [15]. Por otro lado, evaluar nanomateriales que presenten, además, propiedades fotocatalíticas, incrementaría el rendimiento del tratamiento de aguas, lo cual evitaría el uso de sustancias químicas que produzcan, a su vez, sub productos de mayor toxicidad. Con ello se pretende que los procesos sean ecoamigables.

El quitosano es un biopolímero con carga positiva, obtenido por desacetilación parcial de la quitina (componente estructural del exoesqueleto de los crustáceos), y constituido principalmente por unidades de aminopolisacáridos [16, 17]. Sus características físico-químicas y estructurales le confieren una serie de propiedades tales como su biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad al momento de formar materiales que se pueden aplicar en transporte y liberación de fármacos [18] y aditivo textil antimicrobiano [19]. En la literatura científica se ha reportado su acción antimicrobiana y elevada capacidad como adsorbente [20, 21]. Por ejemplo, se observó que el quitosano presenta actividad antimicrobiana contra patógenos gastrointestinales como *Salmonella* spp. y *E. coli* [22]. Específicamente, Ke *et al.* reportan la acción extracelular del quitosano como un proceso en el que este actúa como un quelante de metales, evitando la absorción de estos como nutrientes, además de alterar la permeabilidad celular [23]. Estas dos propiedades combinadas hacen que este material sea idóneo para la descontaminación de aguas con ingente carga bacteriana.

Sin embargo, las propiedades mecánicas de este biopolímero no son las adecuadas para su reutilización, debido a que suelen ser afectadas por fenómenos de hinchamiento y ruptura. Para mejorar dichas propiedades, se suelen agregar cargas sólidas a las formulaciones,

con la finalidad de conferir una mayor rigidez y durabilidad. Estas cargas pueden presentar, incluso, otras propiedades que potencien los efectos antimicrobianos. De este modo, la utilización de materiales de carga como el nitruro de carbono grafitico (CN) y las ferritas, con probada actividad fotocatalítica antimicrobiana [24], potencian la actividad en el compuesto.

Sanmugam *et al.* plantean la adición del quitosano para formar un compuesto con óxido de grafeno (OG) y dióxido de cerio (CeO_2) que exhibe excelentes propiedades antibacteriales frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [25]. A su vez, Su *et al.* adicionan NP-Ag para formar un compuesto quitosano/NP-Ag/OG que permite la generación especies reactivas de oxígeno que desestabilizan el potencial de la membrana plasmática [26]. Por otro lado, Elemike *et al.* analizan la fotodegradación del colorante azul de metileno con un compuesto a base de quitosano y óxido de zinc (ZnO) cuyo resultado es un aumento del 72 al 78% con la incorporación del quitosano. Además, un compuesto triple mejoraría un proceso de recombinación del par electrón-hueco, tal como lo evidencian D. Arikal y A. Kallingal con la formación del compuesto quitosano/óxido de titanio (TiO_2)/óxido de magnesio (MgO) para la degradación de colorantes azo y antraquinona que fue monitoreado por espectroscopía UV-Vis [27].

A diferencia de otros materiales fotocatalíticos clásicos, como el TiO_2 o ZnO, las ferritas y el nitruro de carbono poseen una energía de banda prohibida en la región del espectro visible, lo que hace que los procesos fotocatalíticos sean posibles con un menor gasto energético, utilizando luz solar o artificial. El nitruro de carbono (g-CN) ha atraído amplia atención como material robusto, libre de metales y activo en la luz visible; además, se obtiene de elementos de bajo costo y abundantes en la tierra. Existen diversas aplicaciones fotocatalíticas, por ejemplo, para la producción de hidrógeno a partir de la descomposición del agua, para reducción del dióxido de carbono, para degradación de contaminantes y, recientemente explorado, la propiedad antimicrobiana por Zhang *et al.* [28].

Por otro lado, las nanoláminas coloidales 2D derivadas de compuestos en capas tienen una morfología de alta relación de aspecto con un gran tamaño lateral y un espesor ultrafino en tamaño molecular. En cuanto a la actividad fotocatalítica de los materiales, las nanoláminas 2D tienen ventajas únicas, como una gran superficie para proporcionar una alta densidad de sitios activos y una corta distancia para la difusión de carga a la superficie. Por ejemplo, Yang *et al.* investigaron el método de exfoliación líquida de g- C_3N_4 a granel para obtener nanohojas en 2D [29].

El presente trabajo plantea la producción de materiales compuestos basados en hidrogeles de quitosano, los cuales son embebidos con partículas de ferrita de cobalto (CF) y nitruro de carbono grafitico (g-CN), con aplicaciones en remediación de cuerpos de aguas contaminados con bacterias (*E. coli*) e ibuprofeno (contaminante emergente) mediante proceso fotocatalítico. Se ha planteado la acción sinérgica que puede producir la aplicación conjunta de los tres materiales indicados. El aporte del trabajo de investigación se basa en la necesidad de buscar materiales biocompatibles y ambientalmente amigables que permitan descontaminar las aguas que llegan a las zonas rurales de las ciudades, evitando dejar partículas suspendidas del mismo material utilizado, que puedan contaminar, de algún modo, las aguas que pretendemos potabilizar.

Materiales y métodos

Síntesis de materiales

Síntesis de nitruro de carbono grafitico (g-CN)

La síntesis g-CN fue realizada mediante el método de condensación térmica, de acuerdo con lo reportado por Bao *et al.* y Fang

et al. [30, 31]. Se utilizaron como precursores melamina (1,3,5-triazina-2,4,6-triamina) y urea, ambos al 99% de pureza (MERCK). La síntesis del nitruro de carbono a partir de la urea (CN-bulk_u) se llevó a cabo en una mufla donde se sometió a un calentamiento graduado, teniendo como rango de temperatura de 250 y 350 °C hasta que llegó a los 550 °C con una rampa de 2 °C min⁻¹ por 5 h, esto con la finalidad de asegurar la polimerización. De forma similar la síntesis del nitruro de carbono (CN) a partir de la melamina (CN-bulk_m) se calcinó a 550 °C con una rampa de 3 °C min⁻¹ por 3 h. Luego de la calcinación, el polvo amarillo que corresponde al nitruro de carbono se lavó con una solución de HNO₃ al 0,1% en peso y agua destilada para eliminar residuos alcalinos provenientes de la pirólisis de, por ejemplo, el amoníaco, tal como Yang et al. lo mencionan [29]. A continuación, podemos mostrar un esquema donde se evidencia lo expresado líneas arriba.



Figura 1. Rutas para obtener el nitruro de carbono grafítico (g-CN).

Tabla 1. Condiciones para la calcinación de los precursores de g-CN.

Sustrato	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Rampa de calentamiento (°C min ⁻¹)
Melamina	550	4	3
Urea	250	1	2
	350	2	
	500	2	

Finalmente, la obtención del material g-CN se llevó a cabo mediante un tratamiento alcalino de acuerdo con lo reportado por Yao et al., donde se utilizó un sistema de reflujo [32]. Para ello, se adicionaron 2 g de CN suspendidos en 100 mL de solución acuosa de NaOH a 0,2 mol L⁻¹ y la solución se llevó a una temperatura de 100 °C por 11 h. Después de enfriar a temperatura ambiente se lavó con agua ultrapura y se centrifugó a 8000 rpm durante 10 min para retirar el bulk de nitruro que no reaccionó. Los productos coloidales obtenidos se denominan g-CN_u y g-CN_m obtenidas de los CN de bulk_u y bulk_m, respectivamente.

Síntesis del material ferrita de cobalto/nitruro de carbono (CF/g-CN)

La formación del material en mención se llevó a cabo utilizando relaciones en peso CF/g-CN de 1/1 y 1/5, identificadas como 1CF1g-CN_m y 1CF5g-CN_m, respectivamente. Para la obtención de 1CF1g-CN_m se siguió el método acuoso previamente reportado, con algunas modificaciones [33]. Se disolvieron en agua cantidades adecuadas de FeCl₂·4H₂O y Co(NO₃)₂·6H₂O, se mezclaron y se completaron hasta un volumen final de 250 mL para obtener concentraciones molares de 0,32 y 0,16 mol L⁻¹, respectivamente. Se prepararon 250 mL de solución de KNO₃ 1,6 mol L⁻¹, la cual se transfirió a un matraz de 1 L y se añadieron 2,9 g de g-CN_m. El sistema se sonicó en 3 ciclos de 10 min al 30% de potencia. Ambas soluciones se mezclaron en un matraz de tres bocas durante 5 min burbujeando nitrógeno constantemente. Posteriormente se adicionó gota a gota solución de KOH 2 mol L⁻¹ hasta obtener un pH de 12. El matraz se

cerró herméticamente y se realizó un proceso térmico por 24 h a 95 °C. Las partículas se enjuagaron ocho veces con agua destilada utilizando un imán de hierro para separar las partículas. Finalmente, se secó en un horno de convección a 40 °C durante 24 h.

Para la síntesis de 1CF5g-CN_m se realizó el mismo proceso; pero se redujeron a la quinta parte las cantidades de FeCl₂·4H₂O, Co(NO₃)₂·6H₂O y KNO₃, manteniendo la misma masa de g-CN_m, y se redujo, también, la concentración de KOH a 1 mol L⁻¹. Se toma el producto 1CF5g-CN_m como material para la obtención del compuesto final.

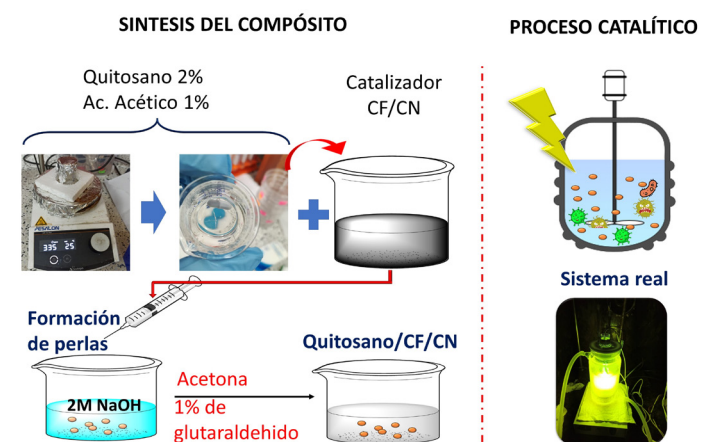


Figura 2. Formación del nanocompuesto quitosano/CF/g-CN.

Formación de perlas del nanocompuesto fotocatalizador quitosano/1CF5g-CN_m

Para la formación de las perlas de quitosano se dispersaron 0,2 g de 1CF5g-CN_m en 100 mL de una solución al 2% de quitosano previamente disuelto en ácido acético al 1% (v/v), luego se utilizó un baño ultrasónico por 15 min para la homogenización. Esta dispersión coloidal se adicionó con goteo constante a 500 mL de una solución de NaOH 2 mol L⁻¹ para la formación de las perlas, las cuales fueron separadas de la solución básica por filtración. Posteriormente, las perlas obtenidas fueron sumergidas en una solución acetona:agua (2:1) que contenía 1 mL de glutaraldehído, con la finalidad de entrecruzar el material polimérico y conferirle mejores propiedades mecánicas.

Degradación fotocatalítica del fármaco ibuprofeno

Para las pruebas de degradación se utilizó una fuente de radiación que consta de dos leds de 10 W (marca CHANZON) con longitud de onda próxima a 420 nm. En cada experimento se tomaron 0,2 g del fotocatalizador y se mezclaron con 250 mL de solución acuosa de 15 ppm de ibuprofeno. Después de agitar durante 30 min hasta alcanzar el equilibrio de adsorción, la solución se irradió bajo luz visible para la degradación fotocatalítica. Durante este proceso, cada hora se tomaron 3 mL de solución hasta culminar las 4 h, y se usó un filtro de membrana de 0,45 μm para obtener una solución clarificada, para luego analizarlo con un espectrofotómetro UV-VIS (UV-1280, SHIMADZU) en la región de longitud de onda de 190-320 nm.

Inactivación de la Escherichia coli

Para la evaluación de las propiedades antibacterianas del nanocompuesto sintetizado, se cultivaron bacterias de *E. coli* en medio de crecimiento, en un caldo de cultivo (100 mL) a 37 °C durante 16 h con agitación y se recogieron mediante centrifugación (4000 rpm durante 10 min). Después del lavado con una solución de NaCl al 0,9%, las células de *E. coli* se resuspendieron en una solución salina de NaCl (0,9%) y se obtuvo una densidad celular inicial de 10⁶ UFC mL⁻¹. Luego se añadieron 0,001 g del fotocatalizador a 10 mL de solución de bacterias (10⁶ UFC mL⁻¹). La solución mixta se agitó a temperatura ambiente bajo la irradiación de luz visible (420 nm) mediante una

lámpara LED. Después de 0, 15, 30, 45 y 60 min de irradiación, se extrajo 0,1 mL de la solución, seguido de dilución en serie con la solución de NaCl (0,9%). Luego, la muestra diluida se diseminó uniformemente en placas Petri con un agar nutritivo y, después de incubarla a 37 °C durante 18 h, se determinó el recuento de células viables mediante conteo visual. Todos los experimentos de desinfección fotocatalítica se realizaron por triplicado.

Caracterización de los materiales sintetizados

Difracción de Rayos X (DRX)

Para el análisis de DRX se utilizó un difractómetro de rayos X Bruker (Bruker-8Advance, Alemania, 2017). Las condiciones de trabajo del DRX fueron: configuración del generador en 10 mA y 30 kV; tipo de difractómetro: Theta/Theta; material del ánodo: Cu, K-Alpha1 1,54060 Å; y por un lapso de 0,500 s de escaneo.

Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Se utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Alpha, por el método de reflectancia total atenuada (ATR). Por medio de esta caracterización se observaron las bandas características del g-CN para la comparación de los dos precursores (melamina y urea). A su vez, realizamos una comparación del quitosano y el nanocompuesto quitosano/1CF5g-CN_m para determinar las interacciones que se forman.

Microscopia Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM)

Se utilizó un Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo Hitachi Su8230 (HITACHI, Japón, 2017). Las imágenes se observaron a 3 kV utilizando un WD = 3,3 mm. Se dispersó aproximadamente 1 mg de CF en 25 mL de agua pura utilizando un ultrasonificador Branson, Ultrasonic Water Bath (EEUU), a 50 Hz durante 10 min. Después de eso, una gota de las partículas dispersas se colocó sobre una cinta de carbón adherida al soporte de aluminio y se dejó secar en un desecador durante 1 h a temperatura ambiente.

Resultados y discusión

Caracterización de materiales sintetizados

Difracción de rayos X

En la **figura 3** se muestran los difractogramas de CN bulk sintetizado a partir de dos diferentes precursores: melamina y urea (bulk-M y bulk-U respectivamente). En ambos difractogramas (**figura 3A**) se evidencian los planos de crecimiento (002) y (100) bajo los ángulos de 27,6 y 13,01° respectivamente, que corresponden a planos cristalino-hexagonales [34]. Según Tong *et al.*, los picos con 13 y 27,5° corresponden a unidades de triazina y al apilamiento aromático

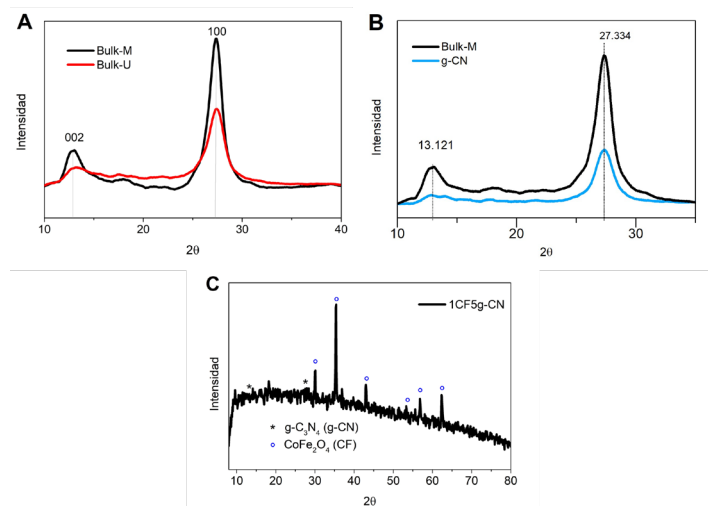


Figura 3. Difractograma de rayos X de A: CN de precursor melamina (bulk-M) y urea (bulk-U); B: comparación bulk-M y g-CN; y C: el compuesto 1CF5g-CN_m.

entre capas respectivamente [34]. En la **figura 3B** se muestran los difractogramas de g-CN en comparación con el CN bulk_m, de igual forma se evidencia los planos (002) y (100). El pico que corresponde al plano (002), con ángulo de 27,3°, es un reflejo de apilamiento de las capas característico de sistemas aromáticos [29]; además, en la **figura 3B** se evidencia una disminución en la intensidad del pico en g-CN frente a Bulk-M, lo que demuestra claramente que la exfoliación fue exitosa, hecho que se puede comprobar en la **figura 5A**, que corresponde a la micrografía SEM.

El difractograma de rayos X del material 1CF5g-CN_m muestra los picos cristalinos de la estructura cúbica centrada en las caras (FCC) de espinela inversa (PDF Card 22-1086). Los principales picos 2θ son: 30,1° (220), 35,4° (311), 43,1° (400), 53,4° (422), 56,9° (511) y 62,5° (440). De acuerdo con la ecuación Debye-Scherrer el tamaño promedio de la cristallita es de 15 nm, este valor es calculado a partir de la amplitud de la mitad del pico más intenso (311), concordante con el ensanchamiento de la amplitud de los picos cristalinos resultantes, en virtud de que un pico de difracción fino se relaciona a tamaños más grandes de las nanopartículas.

Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

En el espectro de CN sintetizados a partir de melamina y urea (bulk_m y bulk_u) se identificaron bandas entre 1650 a 800 cm⁻¹ que corresponden a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C=N y C-N pertenecientes a anillos heterocíclicos, así como una banda a 804 cm⁻¹ que se atribuye al modo de vibración de las unidades de triazina que conforman al CN [35, 36]. Aleatoriamente, utilizamos el CN sintetizado a partir de melamina (CN bulk_m) porque presentó las mismas características espectroscópicas que el CN sintetizado a partir de urea (CN bulk_u). Por lo tanto, no existen diferencias entre las nano hojas sintetizadas a partir de melamina y urea.

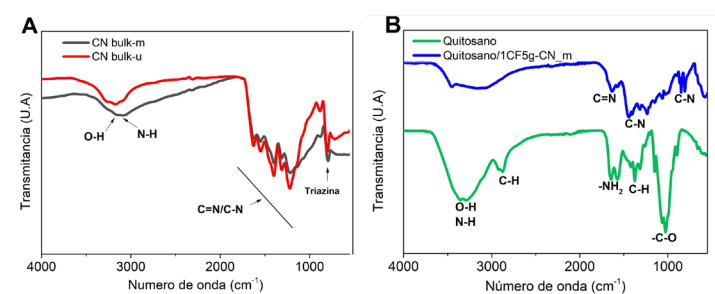


Figura 4. Espectro de FTIR de A: CN bulk_m (precursor melamina) y CN bulk_u (precursor urea); y B: quitosano y quitosano/1CF5g-CN_m.

En la **figura 4B** se presenta el análisis espectroscópico para el compuesto quitosano/CF/CN en comparación al quitosano puro. El pico alrededor de 3445 cm⁻¹ se atribuye a la vibración de estiramiento de los grupos amino (-NH₂) e hidroxilos (-OH) presentes en el quitosano. La disminución en la intensidad de este pico, en el nanocompuesto quitosano/1CF5g-CN_m, se debe a la reacción de los grupos amino (-NH₂) del quitosano con el grupo carbonilo del glutaraldehído (**figura 6B**), hacia la formación de enlaces imina (N=C) presentes alrededor de 1640 cm⁻¹ [37]. El pico en 2877cm⁻¹ corresponde al enlace C-H presente en el biopolímero. Los picos alrededor de 1591 y 1654 cm⁻¹ se atribuyen a los grupos amino del quitosano. Finalmente, en 1067 cm⁻¹ se atribuye a la vibración de estiramiento del grupo C-O-C [20, 38].

Por otro lado, el análisis espectroscópico del compuesto muestra un mayor predominio de los picos de intensidad correspondientes al nitrógeno de carbono [39]. Los dos picos alrededor de 1232 y 1430 cm⁻¹ al estiramiento de los grupos C-N presentes en los anillos aromáticos, mientras que a 808 cm⁻¹ pertenece al modo anillo de la triazina que corresponde al heterociclo condensado de CN [40].

Microscopia electrónica de barrido

La **figura 5** muestra las imágenes SEM de los materiales formados.

En la **figura 5A** se observan las nano hojas de g-CN_m en forma de escamas que previamente se exfoliaron con NaOH. La **figura 5B** focaliza las nanopartículas esféricas de la ferrita de cobalto (CF) (las cuales están soportadas sobre las nano hojas de g-CN_m) con un tamaño promedio de $94,5 \pm 10$ nm. Finalmente, en las **figuras 5C** y **5D** se muestra la morfología del material 1CF5g-CN_m en dos magnificaciones diferentes y se evidencia la presencia de los dos materiales con eficiente interacción entre ellos.

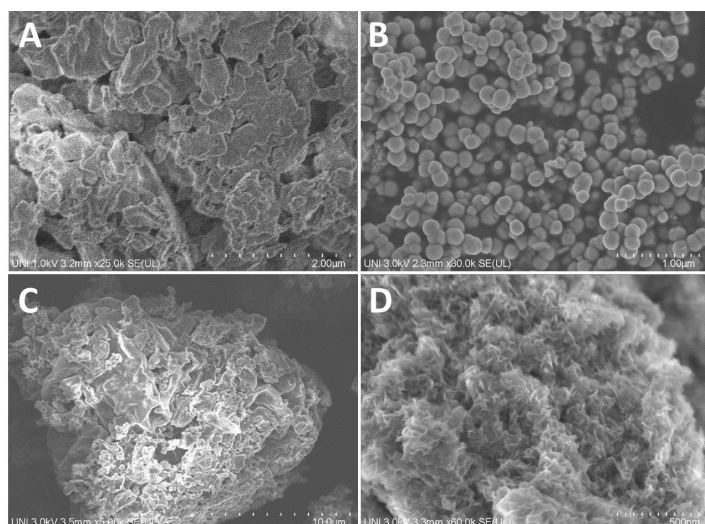


Figura 5. Micrografía SEM de A: nano hojas de g-CN_m; B: nanopartículas de CoFe₂O₄ (CF) (soportadas sobre g-CN_m); y C y D: material 1CF5g-CN_m.

La **figura 6A** muestra las perlas formadas del fotocatalizador propiamente dicho, el nanocompuesto final: quitosano/1CF5g-CN_m, en comparación con las de quitosano puro. La formación de las perlas se da por la capacidad de entrecruzamiento del quitosano en presencia de glutaraldehído, mediante la formación de enlaces iminas o también llamados base de Schiff entre una amina primaria, presente en el quitosano, y un grupo aldehído proveniente del glutaraldehído (**figura 6B**) [41, 42]. Esta formación permite que las cadenas poliméricas se entrecrucen y formen armazones esféricos (perlas) que permiten la retención de materiales en su interior y en la superficie. Esta capacidad fue utilizada para poder incorporar a la mezcla el material 1CF5g-CN_m.

A Quitosano Quitosano/CF/CN

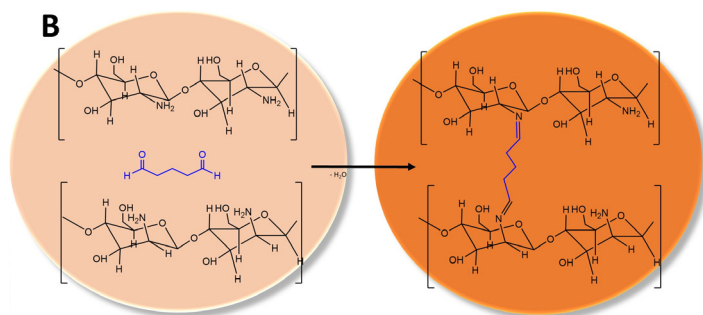
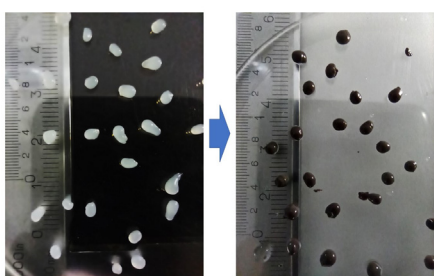


Figura 6. A: imagen a escala milimétrica de las perlas de quitosano y nanocompuesto quitosano/1CF5g-CN_m. B: proceso de entrecruzamiento de las unidades poliméricas.

Aplicaciones fotocatalíticas

Degradación fotocatalítica de fármaco ibuprofeno

La actividad fotocatalítica se realizó por fotodegradación del ibuprofeno. La **figura 7A** muestra la fotólisis del ibuprofeno para verificar la posible degradación debida a la radiación visible (a partir de 400 nm). Se observa una leve disminución de los picos de absorción que sugieren una degradación casi despreciable. Esto hace inferir que el ibuprofeno puede considerarse bastante estable bajo la luz visible (420 nm). De manera similar al sistema anterior, se probó la fotocatalisis (**figura 7B**), donde se muestra la fotodegradación del ibuprofeno empleando las nano hojas de g-CN_m, se observa un aumento ligero en la degradación del fármaco, pero aún resulta poco significativa. Esto puede deberse a que, a pesar de que el nitruro de carbono puede absorber luz en el rango visible (a partir de 400 nm), también presenta algunas desventajas, tales como la recombinación del par electrón-hueco fotogenerados, además de presentar un *band gap* (2,7 eV) estrecho [28].

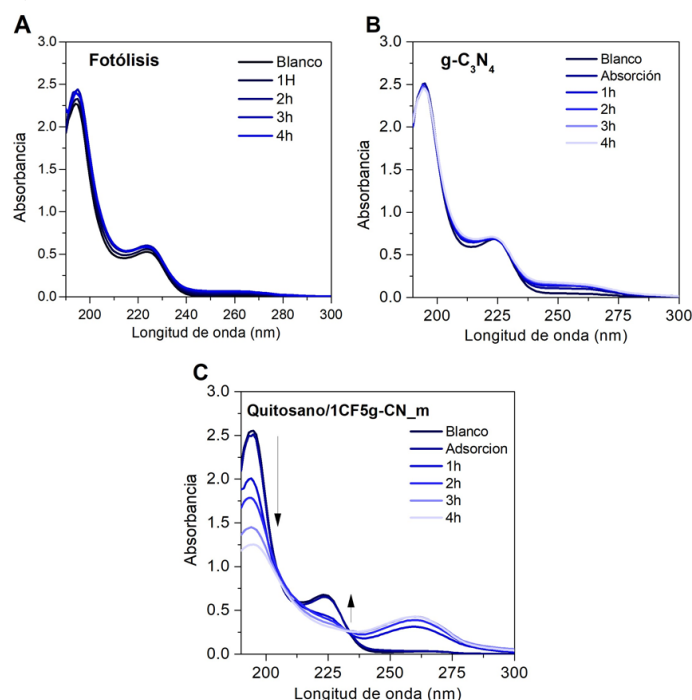


Figura 7. Espectros de absorción UV-Visible del ibuprofeno. A: sin catalizador, B: con nano hojas de g-CN_m, y C: quitosano/1CF5g-CN_m después de diferentes tiempos de irradiación.

De manera similar al sistema anterior, se probó con el nanocompuesto fotocatalizador quitosano/1CF5g-CN_m irradiando con luz visible (420 nm) donde se muestra las absorbancias en la **figura 7C**, alcanzando un valor de hasta 51% de degradación del contaminante emergente. El significativo porcentaje de degradación se debe a la mejora en la separación del par electrón-hueco que se da en la interfaz de g-CN_m y CF. Esto permite, además, que los electrones y huecos generados puedan ser transferidos en ambos materiales, aumentando la eficiencia de los radicales generados (OH y O₂⁻) [28, 43, 44].

Para determinar el porcentaje de mineralización se realizaron medidas del carbono orgánico total (TOC) con un analizador TOC-LCPH/CPN (Shimadzu). El porcentaje de mineralización se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de mineralización} = \frac{[COT]_0 - [COT]_t}{[COT]_0} \times 100 \quad (1)$$

Donde $[COT]_0$ (mg L⁻¹) es el carbono orgánico total de la solución inicial y $[COT]_t$ (mg L⁻¹) es la concentración de carbono orgánico al tiempo t de reacción.

En la **figura 8** se puede mostrar la comparación del porcentaje de degradación del ibuprofeno empleando la técnica espectroscópica UV-Vis con las medidas del carbono orgánico total (TOC).

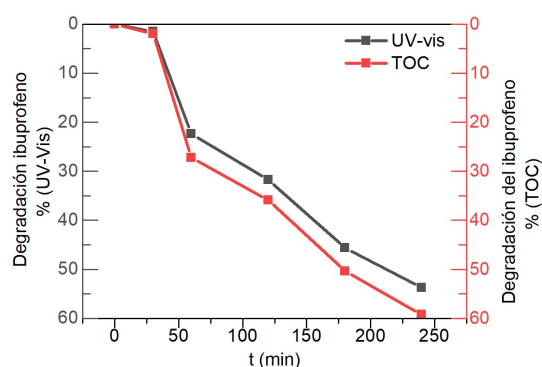


Figura 8. Porcentaje de degradación y mineralización empleando la técnica espectroscópica UV-Vis y mediciones del carbono orgánico total (TOC), respectivamente.

A diferencia de lo reportado por Wang *et al.*, que solo alcanza a degradar un 20% después de 4 h de irradiación UV-Vis, empleando solo como fotocatalizador al nitrato de carbono (CN) bulk [46], en la **figura 8** se puede evidenciar que la degradación del ibuprofeno alcanza un 50% donde se empleó el nanocompósito fotocatalizador quitosano/1CF5g-CN_m. Según lo reportado por Chen *et al.* esta amplia diferencia en la degradación se debe a que las nano Hojas de nitrato de carbono (CN) presentan una mayor área superficial específica que el nitrato de carbono (CN) bulk, lo que genera un aumento de los sitios activos y, a su vez, exhibe una mayor transferencia de carga permitiendo una mejor eficiencia en la degradación del fármaco acorde con lo reportado [45]. Además, en otro estudio realizado por Wang *et al.*, logran una heterounión de nitrato de carbono con nano Hojas de Bi₂WO₆, logrando degradar ibuprofeno alrededor del 95% por 1 h [46]. El fotocatalizador sintetizado a base de quitosano/1CF5g-CN_m mostró un efecto positivo en la mejora de la degradación comparado al nitrato de carbono bulk.

Inactivación fotocatalítica de la bacteria *E-coli*

Los resultados del recuento de UFC en placas de agar, después de 18 h de incubación y 60 min de iluminación, muestran que el número total de bacterias sobrevivientes en las muestras tratadas se reduce notablemente a aproximadamente dos órdenes de magnitud (**figura 9**). En comparación con el estado inicial, el porcentaje de células viables disminuye gradualmente tras la iluminación durante 30, 45 y 60 min, lo que da como resultado un 21% al final del proceso. La tendencia puede mejorar a lo largo del tiempo, aun usando la lámpara LED de baja intensidad con potencia de 50 W y longitud de onda cercana a 420 nm.

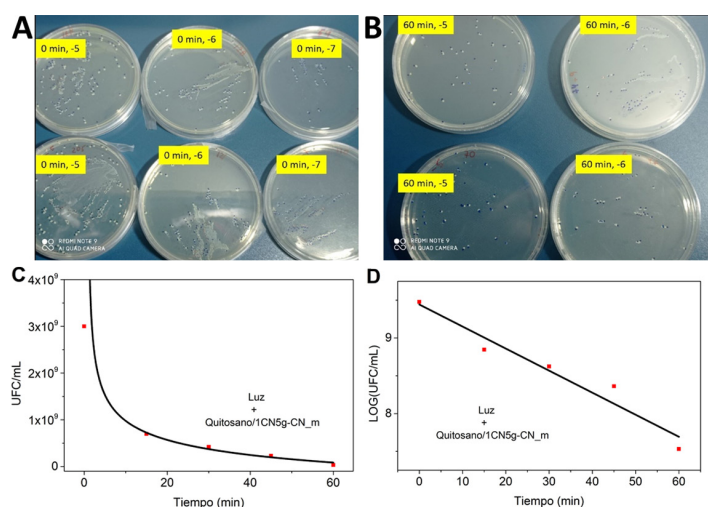


Figura 9. A y B: imágenes de formación de colonias obtenidas del control y 90 min después de la irradiación con la lámpara LED y el nanocompósito fotocatalizador quitosano/1CF5g-CN_m; C: concentración de *E-coli* como función del tiempo durante la fotocatalisis; y D: pseudo cinética de primer orden del nanocompósito quitosano/1CF5g-CN_m.

Según la literatura, los compósitos utilizados pueden producir una serie de especies reactivas para inactivar bacterias como electrones, huecos y especies reactivas del oxígeno (ROS) que incluyen O₂⁻, OH y H₂O₂ a través de la transformación de O₂ en una vía reductora en condiciones aeróbicas [47, 48]. Esto explicaría la eficiencia en la inactivación de *E. coli* y degradación fotocatalítica oxidativa de ibuprofeno. Adicionalmente a las actividades de CF en la separación del par electrón-hueco mencionados anteriormente, se ha informado específicamente que los nanomateriales g-CN pueden presentar especies que afectan la degradación de acuerdo al siguiente orden de especies oxidativas: huecos > aniones superóxidos > electrones [49, 50, 51].

Conclusiones

Se logró sintetizar los materiales que conforman el nanocompósito quitosano/1CF5g-CN_m y caracterizarlos a través de técnicas como DRX, SEM, FTIR. La DRX dio cuenta de los picos principales de difracción, se encontró que la estructura corresponde con la ferrita de cobalto (espinela inversa) y obtuvimos un tamaño de cristallita de 15 nm. El material compuesto obtenido presenta características fotocatalíticas con potencial aplicación para procesos de remediación y recuperación, debido a las propiedades magnéticas que le confiere la ferrita de cobalto. En cuanto a la actividad fotocatalítica del material, a longitudes de onda cercanas al visible (420 nm), presenta promisorio eficiencia para la remoción y tratamiento de contaminantes. La inactivación de bacterias presentó una cinética muy favorable de pseudo-primer orden al trabajar con una lámpara de mediana intensidad (50 W) durante 60 min, se observó una disminución de hasta dos órdenes de magnitud, llegando hasta un 21%. Las pruebas catalíticas frente al fármaco ibuprofeno alcanzaron hasta un 50% de degradación en las primeras 4 h. Estos resultados nos sugieren una aplicación potencial *in situ* para el tratamiento de aguas residuales para su posterior uso en zonas rurales, las cuales pueden presentar una carga bacteriana alta, y de aguas residuales de hospitales que presentan una elevada carga de medicamentos, donde el ibuprofeno es uno de los más utilizados.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Programa Doctoral 237-2015 (FONDECYT, Perú) y al fondo de investigación del Proyecto de Investigación Formativa 2021 (FC-PF-08-2021) del Vicerrectorado de Investigación (VRI) de la Universidad Nacional de Ingeniería. Los autores agradecen a la Mg. Débora Alvarado por su apoyo en la orientación de las pruebas bacterianas.

Referencias

- [1] M. A. Montgomery y M. Elimelech, "Water And Sanitation in Developing Countries: Including Health in the Equation", *Environ. Sci. Technol.*, vol. 41, nro. 1, pp. 17-24, ene. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/es072435t>
- [2] C. Chu, E. C. Ryberg, S. K. Loeb, M.-J. Suh y J.-H. Kim, "Water Disinfection in Rural Areas Demands Unconventional Solar Technologies", *Acc. Chem. Res.*, vol. 52, nro. 5, pp. 1187-1195, may. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.8b00578>
- [3] L. F. Timmermann, K. Ritter, D. Hillebrandt y T. Küpper, "Drinking water treatment with ultraviolet light for travelers - Evaluation of a mobile lightweight system", *Travel Med. Infect. Dis.*, vol. 13, nro. 6, pp. 466-474, nov. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2015.10.005>
- [4] G.-Q. Li, W.-L. Wang, Z.-Y. Huo, Y. Lu y H.-Y. Hu, "Comparison of UV-LED and low pressure UV for water disinfection: Photo-reactivation and dark repair of *Escherichia coli*", *Water Res.*, vol. 126, pp. 134-143, dic. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.09.030>
- [5] Z. O. Nazar y N. O. A. Al-Musawi, "Using Ultraviolet Technique for Well Water Disinfection", *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 856, nro. 1, pp. 1-11, sep. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/856/1/012037>

- [6] D. Stefán, N. Erdélyi, B. Izsák, G. Záray y M. Vargha, "Formation of chlorination by-products in drinking water treatment plants using breakpoint chlorination", *Microchem. J.*, vol. 149, pp. 1-8, sep. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104008>
- [7] Y. Yeom *et al.*, "A review on the degradation efficiency, DBP formation, and toxicity variation in the UV/chlorine treatment of micropollutants", *Chem. Eng. J.*, vol. 424, pp. 1-47, nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130053>
- [8] M. A. Shannon, P. W. Bohn, M. Elimelech, J. G. Georgiadis, B. J. Mariñas y A. M. Mayes, "Science and technology for water purification in the coming decades", *Nature*, vol. 452, nro. 7185, pp. 301-310 mar. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature06599>
- [9] J. Wang y H. Chen, "Catalytic ozonation for water and wastewater treatment: Recent advances and perspective", *Sci. Total Environ.*, vol. 704, pp. 1-8, feb. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135249>
- [10] T. Azuma, M. Usui y T. Hayashi, "Inactivation of Antibiotic-Resistant Bacteria in Wastewater by Ozone-Based Advanced Water Treatment Processes", *Antibiotics*, vol. 11, nro. 2, feb. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020210>
- [11] B. K. SaifAddin *et al.*, "AlGaN Deep-Ultraviolet Light-Emitting Diodes Grown on SiC Substrates", *ACS Photonics*, vol. 7, nro. 3, pp. 554-561, mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsp Photonics.9b00600>
- [12] B. Yang *et al.*, "Thermal Transport of AlN/Graphene/3C-SiC Typical Heterostructures with Different Crystallinities of Graphene", *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 15, nro. 1, pp. 2384-2395, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsam.2c17661>
- [13] Z. Li *et al.*, "Occurrence and ecological risk assessment of disinfection byproducts from chlorination of wastewater effluents in East China", *Water Res.*, vol. 157, pp. 247-257, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.03.072>
- [14] K. C. Barrientos, D. E. A. Iparraguirre y H. A. A. Cavero, "Síntesis y caracterización de nanocompuestos Fe₃O₄/Ag: su efecto contra Enterobacter aerogenes y Enterococcus faecalis", *Rev. Colomb. Quím.*, vol. 48, nro. 2, pp. 33-39, may. 2019. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v48n2.73724>
- [15] D. P. Linklater *et al.*, "Antibacterial Action of Nanoparticles by Lethal Stretching of Bacterial Cell Membranes", *Adv. Mater.*, vol. 32, nro. 52, pp. 1-15, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.202005679>
- [16] F. Sami El-banna, M. E. Mahfouz, S. Leporatti, M. El-Kemary y N. A. N. Hanafy, "Chitosan as a Natural Copolymer with Unique Properties for the Development of Hydrogels", *Appl. Sci.*, vol. 9, nro. 11, pp. 1-11, ene. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/app9112193>
- [17] M. F. Hamza, Y. Wei, K. Althumayri, A. Fouda y N. A. Hamad, "Synthesis and Characterization of Functionalized Chitosan Nanoparticles with Pyrimidine Derivative for Enhancing Ion Sorption and Application for Removal of Contaminants", *Materials*, vol. 15, nro. 13, pp. 1-15, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma15134676>
- [18] V. Mikušová y P. Mikuš, "Advances in Chitosan-Based Nanoparticles for Drug Delivery", *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, nro. 17, pp. 1-17, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22179652>
- [19] M. Korica *et al.*, "Chitosan Nanoparticles Functionalized Viscose Fabrics as Potentially Durable Antibacterial Medical Textiles", *Materials*, vol. 14, nro. 13, pp. 1-13, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma14133762>
- [20] N. E.-A. El-Naggar, A. M. Shiha, H. Mahrous y A. B. A. Mohamed, "Green synthesis of chitosan nanoparticles, optimization, characterization and antibacterial efficacy against multi drug resistant biofilm-forming *Acinetobacter baumannii*", *Sci. Rep.*, vol. 12, nro. 1, pp. 1-18, nov. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24303-5>
- [21] J. Li *et al.*, "Characteristics of chitosan fiber and their effects towards improvement of antibacterial activity", *Carbohydr. Polym.*, vol. 280, pp. 1-9, mar. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.119031>
- [22] D. Yan, Y. Li, Y. Liu, N. Li, X. Zhang y C. Yan, "Antimicrobial Properties of Chitosan and Chitosan Derivatives in the Treatment of Enteric Infections", *Molecules*, vol. 26, nro. 23, pp. 1-27, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26237136>
- [23] C.-L. Ke, F.-S. Deng, C.-Y. Chuang y C.-H. Lin, "Antimicrobial Actions and Applications of Chitosan", *Polymers*, vol. 13, nro. 6, pp. 1-21, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym13060904>
- [24] E. Gastelo *et al.*, "Elimination of *Escherichia coli* in Water Using Cobalt Ferrite Nanoparticles: Laboratory and Pilot Plant Experiments", *Materials*, vol. 12, nro. 13, pp. 1-12, ene. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma12132103>
- [25] A. Sanmugam *et al.*, "Synthesis of chitosan based reduced graphene oxide-CeO₂ nanocomposites for drug delivery and antibacterial applications", *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 145, pp. 1-10, sep. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmbm.2023.106033>
- [26] Z. Su *et al.*, "Chitosan/Silver Nanoparticle/Graphene Oxide Nanocomposites with Multi-Drug Release, Antimicrobial, and Photothermal Conversion Functions", *Materials*, vol. 14, nro. 9, pp. 1-17, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma14092351>
- [27] D. Arikal y A. Kallingal, "Photocatalytic degradation of azo and anthraquinone dye using TiO₂/MgO nanocomposite immobilized chitosan hydrogels", *Environ. Technol.*, vol. 42, nro. 15, pp. 2278-2291, jul. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1701094>
- [28] S. Zhang *et al.*, "In Situ Synthesis of Water-Soluble Magnetic Graphitic Carbon Nitride Photocatalyst and Its Synergistic Catalytic Performance", *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 5, nro. 23, pp. 12735-12743, dic. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1021/am404123z>
- [29] Y. Yang *et al.*, "Preparation and enhanced visible-light photocatalytic activity of silver deposited graphitic carbon nitride plasmonic photocatalyst", *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 142-143, pp. 828-837, oct. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2013.06.026>
- [30] N. Bao, X. Hu, Q. Zhang, X. Miao, X. Jie y S. Zhou, "Synthesis of porous carbon-doped g-C₃N₄ nanosheets with enhanced visible-light photocatalytic activity", *Appl. Surf. Sci.*, vol. 403, pp. 682-690, may. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apusc.2017.01.256>
- [31] H.-B. Fang, Y. Luo, Y.-Z. Zheng, W. Ma y X. Tao, "Facile Large-Scale Synthesis of Urea-Derived Porous Graphitic Carbon Nitride with Extraordinary Visible-Light Spectrum Photodegradation", *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 55, nro. 16, pp. 4506-4514, abr. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.6b00041>
- [32] C. Yao, *et al.*, "Facile surface modification of textiles with photocatalytic carbon nitride nanosheets and the excellent performance for self-cleaning and degradation of gaseous formaldehyde", *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 533, pp. 144-153, ene. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.08.058>
- [33] S. Saire-Saire *et al.*, "Green synthesis of Au decorated CoFe₂O₄ nanoparticles for catalytic reduction of 4-nitrophenol and dimethylphenylsilane oxidation", *RSC Adv.*, vol. 9, nro. 38, pp. 22116-22123, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/C9RA04222A>
- [34] M. A. Alcudia-Ramos *et al.*, "Fabrication of g-C₃N₄/TiO₂ heterojunction composite for enhanced photocatalytic hydrogen production", *Ceram. Int.*, vol. 46, nro. 1, pp. 38-45, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.08.228>
- [35] P. Praus *et al.*, "The presence and effect of oxygen in graphitic carbon nitride synthesized in air and nitrogen atmosphere", *Appl. Surf. Sci.*, vol. 529, pp. 1-28, nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apusc.2020.147086>
- [36] Y. Hong, C. Li, Z. Fang, B. Luo y W. Shi, "Rational synthesis of ultrathin graphitic carbon nitride nanosheets for efficient pho-

- tocatalytic hydrogen evolution”, *Carbon*, vol. 121, pp. 463–471, sep. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2017.06.020>
- [37] M. A. Hassan, A. M. Omer, E. Abbas, W. M. A. Baset y T. M. Tamer, “Preparation, physicochemical characterization and antimicrobial activities of novel two phenolic chitosan Schiff base derivatives”, *Sci. Rep.*, vol. 8, nro. 1, pp. 1–14, jul. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29650-w>
- [38] S. Hesami, S. Safi, K. Larijani, H. N. Badi, V. Abdossi y M. Hadidi, “Synthesis and characterization of chitosan nanoparticles loaded with greater celandine (*Chelidonium majus* L.) essential oil as an anticancer agent on MCF-7 cell line”, *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 194, pp. 974–981, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.155>
- [39] S. Khizar et al., “Aminodextran Coated CoFe₂O₄ Nanoparticles for Combined Magnetic Resonance Imaging and Hyperthermia”, *Nanomaterials*, vol. 10, nro. 11, pp. 1–16, nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano10112182>
- [40] J. Xu, L. Zhang, R. Shi y Y. Zhu, “Chemical exfoliation of graphitic carbon nitride for efficient heterogeneous photocatalysis”, *J. Mater. Chem. A*, vol. 1, nro. 46, pp. 14766–14772, nov. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3TA13188B>
- [41] J. Xu, Y. Liu y S. Hsu, “Hydrogels Based on Schiff Base Linkages for Biomedical Applications”, *Molecules*, vol. 24, nro. 16, pp. 1–21, ene. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24163005>
- [42] H. Ozay, P. Ilgin y O. Ozay, “Novel hydrogels based on cross-linked chitosan with formyl-phosphazene using Schiff-base reaction”, *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.*, vol. 70, nro. 4, pp. 246–255, mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/00914037.2019.1706514>
- [43] Y. Li, Z. Xia, Q. Yang, L. Wang y Y. Xing, “Review on g-C₃N₄-based S-scheme heterojunction photocatalysts”, *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 125, pp. 128–144, oct. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2022.02.035>
- [44] Q. Xu, S. Wageh, A. A. Al-Ghamdi y X. Li, “Design principle of S-scheme heterojunction photocatalyst”, *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 124, pp. 171–173, oct. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2022.02.016>
- [45] G. Chen et al., “S-scheme heterojunction of crystalline carbon nitride nanosheets and ultrafine WO₃ nanoparticles for photocatalytic CO₂ reduction”, *Journal of Environmental Sciences*, vol. 140, pp. 103–112, jun. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jes.2023.05.028>
- [46] J. Wang et al., “Atomic scale g-C₃N₄/Bi₂WO₆ 2D/2D heterojunction with enhanced photocatalytic degradation of ibuprofen under visible light irradiation”, *Applied Catalysis B: Environmental*, vol. 209, pp. 285–294, jul. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.03.019>
- [47] G. Liu, Z. Zhang, M. Lv, H. Wang, D. Chen y Y. Feng, “Photodegradation performance and transformation mechanisms of sulfamethoxazole by porous g-C₃N₄ modified with ammonia bicarbonate”, *Sep. Purif. Technol.*, vol. 235, pp. 1–10, mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116172>
- [48] G. Liu, M. Liao, Z. Zhang, H. Wang, D. Chen y Y. Feng, “Enhanced photodegradation performance of Rhodamine B with g-C₃N₄ modified by carbon nanotubes”, *Sep. Purif. Technol.*, vol. 244, pp. 1–10, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.116618>
- [49] J. Wang, Y. Chen, Y. Shen, S. Liu y Y. Zhang, “Coupling poly-morphic nanostructured carbon nitrides into an isotype heterojunction with boosted photocatalytic H₂ evolution”, *Chem. Commun.*, vol. 53, nro. 20, pp. 2978–2981, mar. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7CC00356K>
- [50] S. Panneri et al., “Photoregenerable, Bifunctional Granules of Carbon-Doped g-C₃N₄ as Adsorptive Photocatalyst for the Efficient Removal of Tetracycline Antibiotic”, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 5, nro. 2, pp. 1610–1618, feb. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b02383>
- [51] X. Guo, J. Duan, C. Li, Z. Zhang y W. Wang, “Fabrication of g-C₃N₄/TiO₂ photocatalysts with a special bilayer structure for visible light photocatalytic application”, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 599, pp. 1–10, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.124931>

Citación del artículo:

S. Saire-Saire, S. Canchari, K. Changanqui, J. Montes de Oca, K. Revollar, H. Alarcón y A. Corzo Lucioni, “Nanocompósito basado en microesferas de quitosano/CF/CN como promisorio inactivador de *Escherichia coli*”, *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, no. 2, pp. 20–27, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n2.111340>



Conocimiento de enfermedades virales terapéuticas: aplicación de SWCNT en la administración de fármacos

Resumen

En este trabajo se ha evaluado el fármaco Nirmatrelvir para tratar el coronavirus utilizando como método de administración de fármacos la adsorción en la superficie de nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT), debido al principio de transferencia directa de electrones, la cual ha sido estudiada mediante el método de la teoría funcional de la densidad (DFT). Por lo tanto, se ha implementado el método CAM-B3LYP/6-311+G (d,p) para estimar la susceptibilidad de los SWCNT para adsorber Nirmatrelvir mediante resonancia magnética nuclear y parámetros termodinámicos. Además, el modelo de Onsager ha influido en los datos de resonancia magnética nuclear y en el blindaje químico de los átomos de carbono (C), nitrógeno (N), oxígeno (O) y flúor (F) en el complejo Nirmatrelvir-(5,5) sillón SWCNT. También se ha delineado el potencial eléctrico de resonancia cuadrupolar nuclear para algunos átomos de C, N, O y F en el proceso de adsorción de Nirmatrelvir en el (5,5) sillón SWCNT que ha sido calculado por CAM-B3LYP/EPR-III, 6-311+G (d,p). Este estudio sugiere que la combinación de nanotubos de carbono (CNT) y Nirmatrelvir puede ofrecer una fórmula viable para la administración de fármacos, respaldada por cálculos de mecánica cuántica y propiedades fisicoquímicas de la resonancia cuadrupolar nuclear (RCN), la resonancia magnética nuclear (RMN), el infrarrojo (IR) y enfoques ultravioleta/visibles (UV-VIS). En este trabajo, se emplearon farmacología en red, análisis de metabolitos y simulación molecular para dilucidar la base bioquímica de los efectos promotores de la salud del Nirmatrelvir en la administración de fármacos con CNT. Los datos explican que la viabilidad de utilizar SWCNT y Nirmatrelvir se convierte en la norma en el sistema de administración de fármacos, lo que se ha logrado mediante cálculos cuánticos debido a las propiedades fisicoquímicas.

Palabras clave: Nirmatrelvir; COVID-19; nanotubo de carbono de pared simple; (5,5) nanotubo de sillón.

Insight therapeutic viral diseases: application of SWCNT in drug delivery method

Abstract

In this work, the drug Nirmatrelvir has been evaluated to treat coronavirus by adsorption on the surface of single-walled carbon nanotube (SWCNT) as a drug delivery method due to the principle of direct electron transfer, which has been studied by density functional theory (DFT) methods. Therefore, the theoretical level CAM-B3LYP/6-311+G (d,p) has been achieved to estimate the susceptibility of SWCNT to adsorb Nirmatrelvir using nuclear magnetic resonance and thermodynamic parameters. Furthermore, Onsager's model has influenced nuclear magnetic resonance data and the chemical shielding of carbon (C), nitrogen (N), oxygen (O), and fluorine (F) atoms in the Nirmatrelvir-(5,5) armchair SWCNT complex. Moreover, the nuclear quadrupole resonance electric potential has been outlined for some C, N, O and F atoms in the adsorption process of Nirmatrelvir on the (5,5) armchair SWCNT which has been calculated by CAM-B3LYP/EPR-III, 6-311+G (d,p). This study suggests that combining carbon nanotube (CNT) and Nirmatrelvir may offer a viable formula for drug delivery, supported by quantum mechanics computations and physicochemical properties of nuclear quadrupole resonance (NQR), nuclear magnetic resonance (NMR), infrared (IR), and ultraviolet/visible (UV-VIS) approaches. In this work, network pharmacology, metabolite analysis, and molecular simulation were employed to elucidate the biochemical basis of the health-promoting effects of Nirmatrelvir in drug delivery with CNT. The data explains that the feasibility of using SWCNT and Nirmatrelvir becomes the norm in the drug delivery system, which has been achieved by quantum calculations due to the physicochemical properties.

Keywords: Nirmatrelvir; COVID-19; single-walled carbon nanotube; (5,5) armchair CNT.

Conhecimento de doenças virais terapêuticas: aplicação de SWCNT na administração de medicamentos

Resumo

Neste trabalho, o medicamento Nirmatrelvir foi avaliado para tratar o coronavírus através da adsorção na superfície de nanotubos de carbono de parede única (SWCNT) como método de administração de medicamentos, devido ao princípio da transferência direta de elétrons, que foi estudado usando métodos da teoria da densidade funcional (DFT). Portanto, o método CAM-B3LYP/6-311+G (d,p) foi implementado para estimar a susceptibilidade do SWCNT para adsorver o Nirmatrelvir usando ressonância magnética nuclear e parâmetros termodinâmicos. Além disso, o modelo de Onsager influenciou os dados de ressonância magnética nuclear e a blindagem química dos átomos de carbono (C), nitrogênio (N), oxigênio (O) e flúor (F) no complexo Nirmatrelvir-(5,5) armchair SWCNT. O potencial elétrico de ressonância quadrupolo nuclear foi delineado para alguns átomos de C, N, O e F no processo de adsorção de Nirmatrelvir na armchair (5,5) SWCNT que foi calculado por CAM-B3LYP/EPR-III, 6-311+G (d,p). Este estudo sugere que a combinação de nanotubos de carbono (CNT) e Nirmatrelvir pode oferecer uma fórmula viável para administração de medicamentos, apoiada por cálculos de mecânica quântica e propriedades fisicoquímicas de ressonância quadrupolo nuclear (RQN), ressonância magnética nuclear (RMN), infravermelho (IV) e abordagens ultravioleta/visível (UV-VIS). Neste trabalho, farmacologia de rede, análise de metabolitos e simulação molecular foram empregadas para elucidar a base bioquímica dos efeitos promotores da saúde do Nirmatrelvir na administração de medicamentos com CNT. Ou seja, os dados explicam que a viabilidade do uso de SWCNT e Nirmatrelvir passa a ser a norma no sistema de entrega de medicamentos, o que tem sido alcançado por cálculos quânticos devido às propriedades físico-químicas.

Palavras-chave: Nirmatrelvir; COVID-19; (5,5) armchair CNT.

Introducción

La aparición de un nuevo coronavirus, conocido como SARS-CoV-2, condujo a la pandemia de COVID-19. Desde el primer caso reportado en Wuhan, China, en diciembre de 2019, nuevas pruebas descubiertas por médicos e investigadores de todo el mundo han ayudado a arrojar algo de luz sobre la patogénesis de la enfermedad y la naturaleza del virus en sí [1-7]. Posteriormente, la disponibilidad de nueva información impulsó cambios en las estrategias para prevenir la transmisión del virus, así como al desarrollo de vacunas preventivas y candidatos a fármacos terapéuticos [8-17]. El distanciamiento físico obligatorio, la higiene de manos y, posiblemente, el uso adecuado de equipo de protección personal, incluido el uso de una mascarilla quirúrgica, siguen siendo la forma más efectiva de controlar la propagación de la enfermedad, y la mayoría de los países que adoptaron tales medidas informaron cierto éxito en frenar la propagación de la enfermedad [18-21]. Actualmente existe un tratamiento o vacuna no confiable disponible para combatir el SARS-CoV-2 [22-39].

El Nirmatrelvir (PF-07321332), con fórmula $C_{19}H_{15}F_3N_2O_3$, es un inhibidor de la proteasa oral que es activo contra la M^{PRO} , una proteasa viral que desempeña un papel esencial en la replicación del COVID-19 al escindir sus dos poliproteínas virales [40-49].

La nanomedicina en la administración de fármacos tiene como objetivos lograr una mejor administración de fármacos insolubles en agua, la administración de fármacos de macromoléculas grandes a los sitios de acción intracelulares, y la administración conjunta de dos o más fármacos o agentes terapéuticos para un remedio combinado [50-54].

Los nanotubos con sus propiedades intrínsecas se han considerado candidatos potenciales para la administración de fármacos. Los extremos tapados de los nanotubos pueden abrirse mediante oxidación, lo que permite la inserción de moléculas de interés dentro del nanotubo. Los nanotubos de carbono (CNT) pueden penetrar fácilmente en las células y liberar medicamentos directamente al citoplasma o al núcleo. Los nanotubos se ajustan a una posición perpendicular a la membrana celular durante la absorción, perforando y difundiendo a través de la bicapa lipídica para ingresar al citoplasma [55-63].

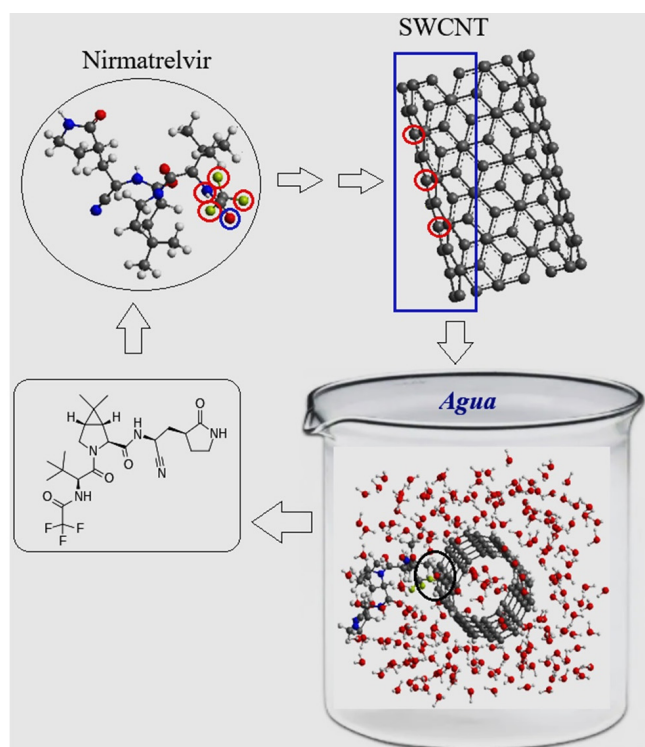


Figura 1. Adsorción de Nirmatrelvir sobre la superficie del (5,5) sillón SWCNT en medio acuoso.

En esta investigación nos hemos centrado en el fármaco Nirmatrelvir adsorbido en la superficie de un (5,5) nanotubo de carbono de pared simple (SWCNT) tipo sillón, en medio acuoso, para prevenir la actividad de COVID-19 (figura 1).

La estructura de Nirmatrelvir se ha investigado en este estudio como un fármaco relativamente estable para la adsorción en la superficie del (5,5) sillón SWCNT (figura 1) [64, 65]. Por lo tanto, se han implementado una serie de enfoques teóricos cuánticos que incluyen métodos de la teoría funcional de la densidad (DFT) para encontrar la coordinación optimizada del complejo Nirmatrelvir-(5,5) sillón SWCNT utilizando el programa Gaussian 16, Revisión C.01 (figura 1) [66].

Con la creciente importancia de las plataformas de biodetección basadas en nanotecnología en la práctica clínica, los estudios que demuestran la aplicabilidad y utilidad en el diagnóstico de virus de ARN han aumentado sustancialmente. En este artículo se puede observar que estos biosensores basados en nanotecnología seguramente desempeñarán un papel indispensable en el diagnóstico eficiente y conveniente de la infección por SARS-CoV-2. Se prevé que estos dispositivos biomédicos, al ser confiables y económicamente viables, brinden conjuntos de herramientas rápidas, convenientes y fáciles de usar masivamente.

Materiales y métodos

La DFT demuestra ser un método ventajoso para predecir sistemas químicos y para comprender sus similitudes y diferencias con otros métodos computacionales empleados [67-70]. En este estudio, la coordinación geométrica se ha optimizado en el marco de la DFT utilizando el intercambio de Becke de tres parámetros [71] y la correlación funcional no local de Lee-Yang-Parr [72], generalmente conocido como método CAM-B3LYP y conjunto de bases de 6-311+G(2d,p). Luego se ha descrito la estructura electrónica del (5,5) sillón SWCNT adsorbido por Nirmatrelvir para medir propiedades físico-químicas (figura 1).

En esta investigación se ha logrado el modelo de Onsager desarrollado por Frisch, Wong y Wiberg que utiliza cavidades esféricas. Aunque esto implica una descripción menos precisa de la interfaz soluto-disolvente, esta aproximación simplifica la evaluación de formatos de energía en optimizaciones geométricas y análisis de frecuencia. Además, Cramer y Truhlar mejoraron este modelo a nivel de dipolo [73-77]. De hecho, una cavidad debe tener un sentido físico como el modelo de Onsager, y tener una capacidad matemática como suele suceder en otras descripciones de impactos de solventes [78]. Por otro lado, la cavidad tiene que mantener fuera al disolvente e incluir sus fronteras como la parte de mayor probabilidad de la distribución de carga del soluto [79-81].

Los CNT se destacan en los métodos de administración de medicamento porque pueden transportar diversas biomoléculas como anticuerpos, proteínas y ADN. Esto permite un objetivo particular para transferir tejidos, órganos o células especiales. Los CNT pueden penetrar fácilmente en las células y administrar medicamentos directamente al citoplasma o al núcleo. Los sistemas de administración de fármacos mejoran el perfil farmacológico y terapéutico y la eficacia del fármaco y reducen la aparición de objetivos no deseados [82].

Para esta investigación se ejecutaron un grupo de métodos teóricos cuánticos para explorar algunas propiedades físicas y químicas de la estructura optimizada del Nirmatrelvir adsorbido en la superficie del (5,5) sillón SWCNT. Entre ellos se incluye la distribución de carga, algunos cálculos termodinámicos y el análisis de resonancia magnética nuclear para diseñar un modelo de administración de fármacos utilizando el programa Gaussian 16, Revisión C.01 [66, 83]. Además, se ha adoptado el calibre que incluye orbitales atómicos (GIAO) para resolver el problema del calibre en el cálculo del blin-

daje magnético nuclear para el complejo Nirmatrelvir-(5,5) sillón SWCNT, utilizando el cálculo de la DFT.

La pandemia de COVID-19 ha puesto de relieve la urgencia de contar con terapias antivirales eficaces contra el SARS-CoV-2. Dirigirse a la proteasa principal del virus (3CLpro) ha surgido como un enfoque prometedor, y el Nirmatrelvir (PF-07321332), el componente activo del fármaco oral Paxlovid de Pfizer, ha demostrado una eficacia clínica notable. Sin embargo, la aparición de mutaciones de resistencia plantea un desafío para su éxito continuo. Dado que, actualmente, el Nirmatrelvir se utiliza ampliamente para tratar la COVID-19, esta investigación tiene implicaciones importantes para el desarrollo de antivirales.

Resultados y discusión

Estudio DOS y PDOS

Las estructuras electrónicas del Nirmatrelvir adsorbidas en la superficie del (5,5) sillón SWCNT se han analizado para simplificar la discusión posterior sobre las propiedades electrónicas interfaciales utilizando conjuntos de bases CAM-B3LYP/6-311+G (d,p).

Las **figuras 2A y 2B** muestran la densidad de estados (DOS) y la densidad proyectada de estados (PDOS) del Nirmatrelvir-(5,5) sillón SWCNT, respectivamente. La aparición de los estados energéticos del flúor (F) de Nirmatrelvir aumentan la reactividad del sistema. Durante la adsorción de moléculas en el (5,5) sillón SWCNT, hay una contribución significativa de átomos de F en el nivel desocupado. Con base en el análisis de población y DOS, se puede concluir que los átomos F de Nirmatrelvir permanecen en el enlace con (5,5) sillón SWCNT y aceptan más electrones de otros átomos. Por lo tanto, el gráfico de PDOS ha ilustrado que los estados de la adsorción de átomos de F- en el (5,5) sillón SWCNT son dominantes a través de la banda de conducción (**figura 2A y 2B**). Además, la existencia de enlaces covalentes para el complejo Nirmatrelvir-(5,5) sillón SWCNT ha mostrado la misma cantidad de energía y figura del PDOS para los orbitales p de los átomos de carbono (C), nitrógeno (N), oxígeno (O) y F (**figura 2A y 2B**).

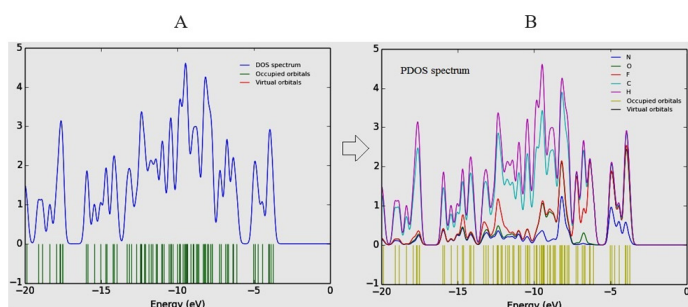


Figura 2. Propiedades electrónicas de A: DOS y B: PDOS para Nirmatrelvir adsorbido en el (5,5) sillón SWCNT.

Las **figuras 2A y 2B** muestran que los estados de Nirmatrelvir, respectivamente, en el (5,5) sillón SWCNT tienen más contribución en el medio de la banda de conducción entre -5 y -15 eV, mientras que la contribución de los estados de C e hidrógeno (H) se expande y se acercan entre sí, los estados de F y N tienen aproximadamente las mismas contribuciones. Por lo tanto, los resultados anteriores muestran que las características dominantes del grupo y un cierto grado de covalencia pueden ilustrar el aumento de la banda prohibida semiconductor directa de Nirmatrelvir que absorbe en el (5,5) sillón SWCNT.

La proteasa principal del SARS-CoV-2 se encuentra entre las dianas más atractivas para el desarrollo de intervenciones terapéuticas para la COVID-19. Los agentes candidatos exitosos basados en PDOS no solo poseerán una potente actividad frente al SARS-CoV-2 M^{PRO}, sino también una polifarmacología mínima frente a las cisteínas proteasas humanas. Este punto de vista explora el perfil de

actividad del primer inhibidor de la M^{PRO} del SARS-CoV-2 aprobado (Nirmatrelvir) frente a un panel de cisteína proteasas y considera las implicaciones terapéuticas de los datos (**figuras 2A y 2B**).

Espectroscopia de RMN

Se han estimado los datos de la resonancia magnética nuclear (RMN), del desplazamiento químico isotrópico (σ_{iso} o CSI), del desplazamiento químico anisotrópico (σ_{aniso} o CSA) y de los valores propios del desplazamiento químico, incluidos σ_{11} , σ_{22} , σ_{33} (ppm) para Nirmatrelvir adsorbido en la superficie del (5,5) sillón SWCNT, respectivamente (**tabla 1**). Los resultados calculados han indicado el tensor de blindaje magnético SCF GIAO en ppm para C, N, O y F, explorando el sitio activo del compuesto Nirmatrelvir como fármaco para el tratamiento de la enfermedad de la viruela símica. Los cálculos se han realizado con base en el nivel teórico CAM-B3LYP/6-311+G (d,p), utilizando el programa Gaussian 16, Revisión C.01 [66], y se muestran en la **tabla 1**.

El complejo Nirmatrelvir-(5,5) sillón SWCNT ha demostrado el desplazamiento químico que incluye σ_{11} , σ_{22} , σ_{33} y CSI, CSA (ppm) para

Tabla 1. SCF GIAO tensor de blindaje magnético (ppm) para Nirmatrelvir adsorbido sobre la superficie del (5,5) sillón SWCNT en ppm usando el método CAM-B3LYP/6-311+G (d,p).

Átomo	σ_{11}	σ_{22}	σ_{33}	CSI	CSA
C1	184,19	194,74	233,97	204,30	44,51
C2	176,90	192,79	239,12	202,94	54,27
C3	173,89	190,18	238,89	201,00	56,85
C4	155,55	181,15	212,32	183,01	43,97
N5	167,19	210,58	296,28	224,68	107,39
C6	163,64	181,18	194,22	179,68	21,81
C7	36,68	159,14	179,12	124,98	81,20
N8	160,87	240,65	295,95	232,49	95,19
C9	173,06	188,13	203,94	188,38	23,35
C10	62,08	74,22	292,52	14294	224,36
N11	54,52	41,00	303,76	69,42	351,51
C12	189,78	197,30	211,96	199,68	18,42
C13	191,22	199,53	205,54	198,76	10,16
C14	36,32	146,51	188,28	123,70	96,87
N15	152,87	230,67	310,80	231,45	119,03
16	169,93	182,40	208,29	186,88	32,12
C17	176,63	204,32	217,10	199,35	26,63
O18	454,94	106,67	446,01	38,53	726,82
O19	532,18	127,73	412,51	82,46	742,47
C20	37,67	156,06	179,42	124,38	82,55
O21	552,75	133,40	431,00	85,05	774,07
C22	160,22	184,59	198,82	181,21	26,41
C23	187,31	191,98	203,33	194,21	13,68
C24	187,65	196,78	224,10	202,85	31,88
C25	192,50	197,17	225,94	205,20	31,10
C26	194,58	199,90	226,26	206,91	29,02
N27	150,77	240,83	278,33	223,31	82,53
C28	36,18	169,57	177,67	127,81	74,79
O29	523,35	121,84	428,28	72,30	750,88
C30	113,95	153,77	160,83	142,85	26,97
F31	345,70	405,82	422,92	391,48	47,16
F32	365,84	422,91	428,65	405,80	34,27
F33	355,35	409,40	415,52	393,43	33,15
C34	188,69	199,38	227,90	205,32	33,86
C35	200,00	208,10	226,06	211,40	22,00

varios átomos C, N, o y F en los sitios activos de la molécula a través de los datos de RMN. Las mayores fluctuaciones se han observado en los átomos de N11, O18, O19, O29 y F31, F32, F33 (tabla 1).

Los tensores de desplazamiento químico se obtienen mediante cálculos químicos cuánticos en el sistema de ejes principales para estimar el CSI y el CSA con base en las Ec. (1) y (2) [84–86]:

$$\text{CSI (ppm)} = (\sigma_{33} + \sigma_{22} + \sigma_{11})/3 \quad (1)$$

$$\text{CSA (ppm)} = \sigma_{33} - (\sigma_{22} + \sigma_{11})/2 \quad (2)$$

Además, el modelo de Onsager ha influido en los datos de resonancia magnética nuclear y el desplazamiento químico de los átomos de C, N, O y F en el complejo Nirmatrelvir–(5,5) sillón SWCNT (tabla 1). De hecho, la tabla 1 representa la brecha de protección química entre diferentes elementos en el sitio activo de Nirmatrelvir y CNT. Por lo tanto, se podría plantear que el recambio de electrones admitidos por los átomos adsorbidos de Nirmatrelvir en la superficie del CNT indica la potencia del enlace covalente a través de C, N, O y F

Tabla 2. El potencial eléctrico (Ep/a.u.) y la carga de Bader (Q/e) para los elementos de C, N, O y F del complejo Nirmatrelvir–(5,5) sillón SWCNT por CAM–B3LYP/EPR–III, 6–31 + Cálculo G(d,p) extraído del método RCN.

Átomo	Q(e)	Ep	Valores propios del gradiente de campo eléctrico		
C1	0,011	-14,51	-323,32	-323,08	-322,85
C2	-0,01	-14,52	-323,46	-323,28	-322,89
C3	-0,00	-14,52	-323,50	-323,31	-322,93
C4	0,13	-14,47	-323,24	-322,99	-322,94
N5	-0,25	-18,04	-529,65	-529,60	-527,29
C6	0,10	-14,47	-323,35	-323,12	-323,01
C7	0,24	-14,44	-323,86	-323,66	-323,47
N8	-0,10	-18,03	-529,60	-529,46	-527,13
C9	0,15	-14,41	-323,04	-322,88	-322,67
C10	0,07	-14,54	-325,30	-324,94	-324,93
N11	-0,19	-18,10	-534,66	-534,63	-534,25
C12	0,056	-14,50	-323,26	-323,14	-323,10
C13	-0,00	-14,51	-323,21	-323,17	-323,10
C14	0,23	-14,46	-323,92	-323,72	-323,53
N15	-0,11	-18,05	-529,48	-529,37	-527,09
C16	0,11	-14,47	-323,23	-322,96	-322,95
C17	0,02	-14,52	-323,22	-323,17	-323,11
O18	-0,25	-22,05	-812,30	-811,79	-809,21
O19	-0,24	-22,03	-812,35	-811,97	-809,21
C20	0,23	-14,45	-323,88	-323,67	-323,46
O21	-0,24	-22,04	-812,31	-811,94	-809,18
C22	0,11	-14,48	-323,40	-323,12	-323,04
C23	0,04	-14,51	-323,15	-323,07	-323,06
C24	-0,00	-14,55	-323,20	-323,15	-323,13
C25	0,00	-14,55	-323,17	-323,12	-323,10
C26	-0,00	-14,56	-323,17	-323,12	-323,08
N27	-0,10	-18,04	-529,62	-529,57	-527,29
C28	0,20	-14,45	-323,95	-323,77	-323,55
O29	-0,23	-22,04	-812,39	-811,93	-809,26
C30	0,34	-14,33	-323,30	-323,28	-323,04
F31	-0,11	-26,14	-1173,91	-1169,43	-1169,28
F32	-0,10	-26,13	-1173,83	-1169,37	-1169,25
F33	-0,11	-26,14	-1173,95	-1169,40	-1169,28
C34	0,02	-14,53	-323,11	-323,02	-323,01
C35	0,01	-14,53	-323,08	-323,00	-322,98

para la administración de fármacos. Además, se observaron los gráficos notables que rodean estos elementos a través de la adsorción en la nanosuperficie; sin embargo, hay algunas fluctuaciones en los tratamientos de protección química de los parámetros isotrópicos/anisotrópicos.

Análisis con resonancia cuadrupolar nuclear (RCN)

En esta investigación se ha calculado la resonancia cuadrupolar nuclear (RCN), o el extracto de especificaciones RCN, de las propiedades electrostáticas para Nirmatrelvir adsorbido en la superficie del (5,5) sillón SWCNT hacia la formación del Nirmatrelvir–(5,5) sillón SWCNT. Complejo que depende de los resultados del momento cuadrupolar nuclear, una característica del núcleo, y el gradiente de campo eléctrico (GCE), en las proximidades del núcleo [87].

Como el GCE en la cita del núcleo en Nirmatrelvir es asignado por los electrones de valencia retorcidos en la unión particular con los núcleos cercanos de la nanohoja BN, la frecuencia RCN a la que ocurren las transiciones es particular para el complejo Nirmatrelvir–(5,5) sillón SWCNT (tabla 2).

En este trabajo de investigación se evaluó el potencial eléctrico como la cantidad de energía de trabajo, a través del transporte de la carga eléctrica de una posición a otra en la esencia del campo eléctrico, para el complejo Nirmatrelvir–(5,5) sillón SWCNT, utilizando el nivel teórico CAM–B3LYP/EPR–III,6–31+G(d,p) (tabla 2). En la tabla 2 se ha esbozado el potencial eléctrico de resonancia cuadrupolar nuclear para algunos átomos de C, N, O y F en el proceso de adsorción de Nirmatrelvir sobre el (5,5) sillón SWCNT que ha sido calculado mediante CAM–B3LYP/EPR–III, 6–31+G(d,p).

En la tabla 2 se representa la fluctuación de la distribución de carga de todos los átomos en Nirmatrelvir para comprender qué átomos exhiben una mayor tendencia a donar electrones en la unión al CNT, destacando los cambios en el potencial eléctrico del C, N, O y F en el sitio activo de adsorción de Langmuir. Los elementos de N5, N8, N11, N15, O18, O19, O21, F31, F32 y F33 actúan como donantes y poseen orbitales de alta energía con uno o más electrones. Mientras tanto, los átomos de C en los CNT se consideran aceptores y tienen orbitales de baja energía con una o más vacantes (tabla 2). La tabla 2 ilustra el enlace entre N, O, F (N5, N8, N11, N15, O18, O19, O21, F31, F32, F33) con C en el CNT durante la adsorción de Nirmatrelvir, basado en datos de Ep de Espectroscopia RCN. La capacidad del (5,5) sillón SWCNT de detectar Nirmatrelvir está influenciada por su selectividad y sensibilidad, lo que indica la utilidad potencial de estos materiales como detectores efectivos.

Método de infrarrojos

Los cálculos del espectro infrarrojo (IR) se han realizado para Nirmatrelvir adsorbido en la superficie del (5,5) sillón SWCNT utilizando el método CAM–B3LYP y el conjunto de bases 6–311+G(d,p) para átomos que incluyen C, N, O y F para obtener parámetros geométricos de equilibrio, propiedades termodinámicas y datos más precisos para cada una de las estructuras determinadas. El espectro IR del fármaco Nirmatrelvir se ha observado en el rango de frecuencia de 500 a 2500 cm⁻¹, aproximadamente (figura 3). Se observa que los picos más fuertes permitidos con mayor frecuencia ocurren alrededor de 1479,22; 1536,66; 1592,15; 1600,58; 1638,01; 1640,49; 2116,32; 2122,43 y 2190,99 cm⁻¹, respectivamente (figura 3).

La perspectiva de la figura 3 recomienda la razón por la que existen varias frecuencias de resultados observadas del complejo Nirmatrelvir–(5,5) sillón CNT que presentan la posición de los sitios activos de C, N, O y F marcados en esta estructura del fármaco que transfieren la carga de electrones en Nirmatrelvir polar en agua hacia la superficie de un (5,5) CNT. Los cálculos de las frecuencias armónicas relativas y las intensidades de IR en varios modos normales para el complejo Nirmatrelvir–(5,5) sillón CNT utilizando el método

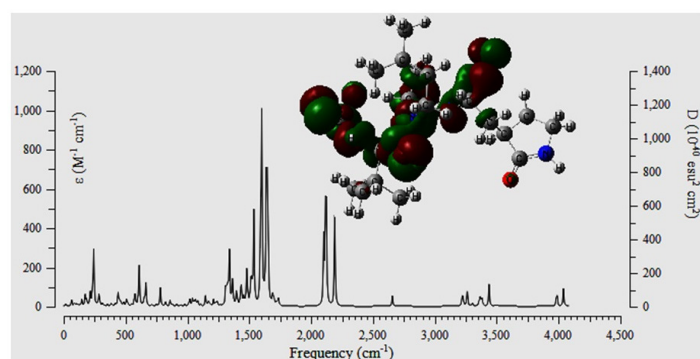


Figura 3. Espectro IR del fármaco Nirmatrelvir adsorbido en la superficie de un (5,5) sillón SWCNT utilizando el cálculo 6-311+G(d,p).

CAM-B3LYP/6-311+G(d,p), se presentan en la **tabla 2** y la **figura 3**. Además, las propiedades termodinámicas de adsorción del complejo Nirmatrelvir-(5,5) sillón CNT consisten en $\Delta E^{\circ}_{ads} = -109,5208 \times 10^{-4}$ (kcal.mol⁻¹), $\Delta H^{\circ}_{ads} = -109,5207 \times 10^{-4}$ (kcal. mol⁻¹), $\Delta G^{\circ}_{ads} = -109,5255 \times 10^{-4}$ (kcal.mol⁻¹), $S^{\circ}_{ads} = 161,835$ (Cal. K⁻¹.mol⁻¹), momento dipolar = 4,6795 debye.

En particular, incluir funciones de polarización en el conjunto de bases prácticas mejora significativamente las técnicas teóricas cuánticas. El análisis de pozos de potencial armónico a través de estos modos normales proporciona información sobre el movimiento de todos los elementos en el mismo período en el momento de vibración, lo que contribuye a una descripción intrínseca de la vitalidad molecular. Nuestros hallazgos sugieren que el Nirmatrelvir, adherido a un CNT en una caja periódica de moléculas de H₂O, está influenciado por cambios en la polarización del medio ambiente debido a la constante dieléctrica del agua. Estos hallazgos también indican que un aumento en la constante dieléctrica mejora la resistencia y eficacia de este medicamento en el tratamiento de la enfermedad viral COVID-19.

Análisis HOMO y LUMO

La ionización provocó una energía de orbital molecular ocupado (HOMO) más alta y la afinidad electrónica produjo la energía de orbital molecular desocupado (LUMO) más baja. HOMO/eV, LUMO/eV y la brecha de energía de banda (ΔE /eV) presentaron la explicación pictórica de los orbitales moleculares fronterizos y sus respectivas zonas positivas y negativas, que fueron factores importantes

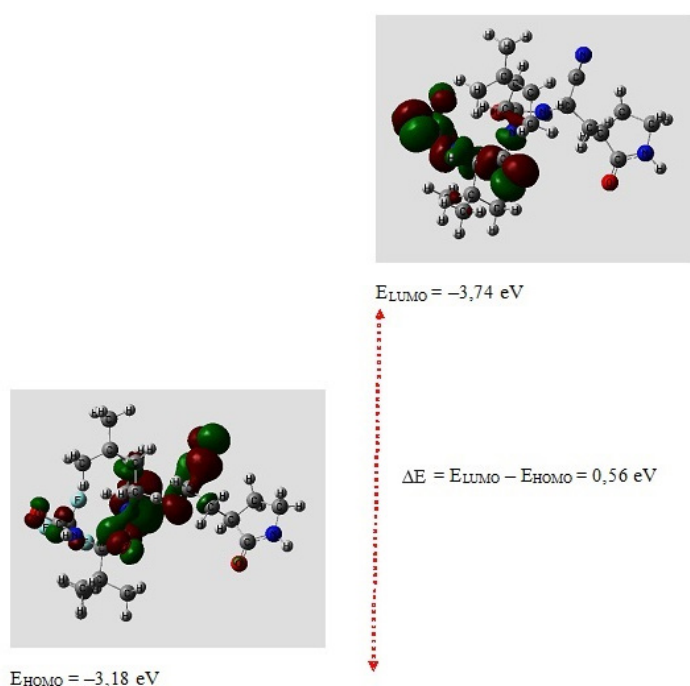


Figura 4. El HOMO (EHOMO), el LUMO (ELUMO) y la brecha energética de la banda (ΔE /eV) para el fármaco Nirmatrelvir adsorbidos en la superficie del (5,5) sillón SWCNT.

para identificar las características moleculares de los compuestos eficaces en el medicamento Nirmatrelvir adsorbido sobre la superficie del (5,5) sillón SWCNT (**figura 4**). La brecha energética entre HOMO y LUMO distinguió los atributos del transporte eléctrico molecular [83].

Los resultados de las observaciones anteriores sugieren fuertemente que el Nirmatrelvir adsorbido en la superficie del (5,5) sillón SWCNT, con el método CAM-B3LYP/6-311+G(d,p) en un disolvente acuoso, es posible debido a funciones del conjunto de bases que son inducidas por un cambio en la polaridad del medio ambiente. Está claro que un aumento de la constante dieléctrica aumenta la estabilidad y eficacia de este fármaco para el tratamiento de la enfermedad COVID-19. Se ha observado que las funciones de polarización en la base aplicada establecida en los cálculos siempre indican un logro significativo en los métodos de simulación y modelado de niveles teóricos. Se han explorado los modos normales del espectro IR de pozos de potencial armónico mediante métodos analíticos que mantienen el movimiento de todos los átomos al mismo tiempo en la escala de tiempo de vibración, lo que lleva a una definición natural de las vibraciones moleculares.

Además, se han observado los cambios de potencial eléctrico del C, N, O y F en el sitio activo de adsorción de Langmuir. De hecho, se ha observado el efecto de la unión entre C, N, O, F con C en el (5,5) sillón SWCNT durante la adsorción de Nirmatrelvir a través del potencial eléctrico resultante mediante análisis RCN. Es evidente que la capacidad del (5,5) sillón SWCNT para detectar Nirmatrelvir varía según su selectividad y sensibilidad, lo que puede explicar la eficiencia de los nanotubos de carbono como sensores prometedores.

Conclusiones

En este trabajo se ha estudiado el efecto del fármaco Nirmatrelvir en el tratamiento de la enfermedad por coronavirus (COVID-19) mediante la adsorción sobre la superficie del (5,5) sillón SWCNT, al nivel teórico CAM-B3LYP/6-311+G (2d,p) y en medio agua, como método de administración de fármacos. Nirmatrelvir ha atraído mucha atención para el tratamiento clínico de la enfermedad por coronavirus (COVID-19) mediante la adsorción en la superficie del (5,5) sillón SWCNT, que introduce un sistema eficiente de administración de fármacos mediante análisis de datos de RMN e IR en la estructura optimizada. Además, su utilidad también se puede extrapolar para detectar otros virus de ARN respiratorios y sistémicos, con suficiente calibración y modificaciones basadas en el fluido biológico utilizado para las pruebas. Con más investigación y desarrollo, estos biosensores podrían presentar una visión realista de los diversos nanomateriales y enfoques nanotecnológicos basados en interfaces para detectar el SARS-CoV-2 en diversos fluidos biológicos.

Referencias

- [1] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "B5N10 Nanocarrier Functionalized with Al, C, Si Atoms: A Drug Delivery Method for Infectious Disease Remedy", *OBM Genetics*, vol. 8, nro. 1, pp. 1-14, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.21926/obm.genet.2401214>
- [2] F. Mollaamin, S. Shahriari y M. Monajjemi, "Monkeypox disease treatment by tecovirimat adsorbed onto single-walled carbon nanotube through drug delivery method", *J Chil Chem Soc.*, vol. 68, nro. 1, pp. 5796-5801, 2023. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-97072023000105796>
- [3] T. M. Allen, "Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream", *Science*, vol. 303, nro. 5665, pp.1818-22, ene. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1095833>
- [4] A. P. Singh, A. Biswas, A. Shukla y P. Maiti, "Targeted therapy in chronic diseases using nanomaterial-based drug delivery vehicles", *Signal Transduct Target Ther*, vol. 30, nro. 4, pp. 33, ene. 2019, DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-019-0068-3>
- [5] M. Monajjemi, M. T. Baie y F. Mollaamin, "Interaction between

- threonine and cadmium cation in [Cd(Thr)] ($n = 1-3$) complexes: Density functional calculations”, *Russian Chemical Bulletin*, vol. 59, pp. 886–889, ene. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11172-010-0181-5>
- [6] F. Mollaamin, M. Monajjemi y S. Mohammadi, “Physicochemical Characterization of Antiviral Phytochemicals of Artemisia annua Plant as Therapeutic Potential against Coronavirus Disease: In Silico-Drug Delivery by Density Functional Theory Benchmark”, *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, vol. 37, nro. 7, pp. 3629–3639, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.23812/j.biol.regul.homeost.agents.20233707.358>
- [7] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Harmonic Linear Combination and Normal Mode Analysis of Semiconductor Nanotubes Vibrations”, *J Comput Theor Nanosci*, vol. 12, nro. 6, pp. 1030–1039, ene. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2015.3846>
- [8] X. Cao, W. Deng, M. Fu et al., “Seventy-two-hour release formulation of the poorly soluble drug silybin based on porous silica nanoparticles: in vitro release kinetics and in vitro/in vivo correlations in beagle dogs”, *Eur J Pharm Sci*, vol. 48, nro. 1-2, pp. 64–71, ene. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.10.012>
- [9] F. Mollaamin, “Characterizing the structural and physicochemical properties of medicinal plants as a proposal for treating of viral malady”, *Trends in Immunotherapy*, vol. 7, nro. 2, pp. 1–16, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.24294/ti.v7.i2.2329>
- [10] C. G. Sutcliffe, A.W. Rimone y W. J. Moss, “Poxviruses”, en *Hunter’s Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases E-Book*, E. T. Ryan, D. R. Hill, T. Solomon, N. Aronson, T. P. Endy, eds., Edinburgh: Elsevier, 2020, pp. 272–277.
- [11] E. Harris, “What to Know About Monkeypox”, *JAMA*, vol. 327, nro. 23, pp. 2278–2279, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2022.9499>
- [12] K. Simpson, D. Heymann, C. S. Brown, W. J. Edmunds, J. Elsgaard et al., “Human monkeypox – After 40 years, an unintended consequence of smallpox eradication”, *Vaccine*, vol. 38, nro. 33, pp. 5077–5081, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.04.062>
- [13] E. M. Bunge, B. Hoet, L. Chen, F. Lienert, H. Weidenthaler, L. R. Baer y R. Steffen, “The changing epidemiology of human monkeypox – A potential threat? A systematic review”, *PLoS Negl Trop Dis*, vol. 16, nro. 2, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010141>
- [14] G. Barlow, W.L. Irving, P.J. Moss, “Infectious disease”, en *Kumar and Clark’s Clinical Medicine*, A. Feather, D. Randall, M. Waterhouse, eds., Elsevier, 2020.
- [15] L. Alomair, S. Mustafa, M. S. Jafri, W. Alharbi, A. Aljouie, F. Almsned, M. Alawad, Y. A. Bokhari y M. Rashid, “Molecular Dynamics Simulations to Decipher the Role of Phosphorylation of SARS-CoV-2 Nonstructural Proteins (nsps) in Viral Replication”, *Viruses*, vol. 14, nro. 11, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14112436>
- [16] Z. Plavec, A. Domanska, X. Liu, P. Laine y L. Paulin, “Varjosalo M, Auvinen P, Wolf S.G, Anastasina M, Butcher SJ, SARS-CoV-2 Production, Purification Methods and UV Inactivation for Proteomics and Structural Studies”, *Viruses*, vol. 14, nro. 9, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14091989>
- [17] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Graphene Embedded with Transition Metals for Capturing Carbon Dioxide: Gas Detection Study Using QM Methods”, *Clean Technol.*, vol. 5, nro. 1, pp. 403–417, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/cleantechnol5010020>
- [18] O. I. Yarovaya et al., “Borneol Ester Derivatives as Entry Inhibitors of a Wide Spectrum of SARS-CoV-2 Viruses”, *Viruses*, vol. 14, nro. 6, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14061295>
- [19] S. Shahriari, M. Monajjemi, F. Mollaamin, “Determination of proteins specification with SARS- COVID-19 based ligand designing”, *J. Chil. Chem. Soc.*, vol. 67, nro. 2, pp. 5468–5476, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-97072022000205468>
- [20] A. Majeed y X. Zhang, “On the Adoption of Modern Technologies to Fight the COVID-19 Pandemic: A Technical Synthesis of Latest Developments”, *COVID*, vol. 3, nro. 1, pp. 90–123, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/covid3010006>
- [21] G. Bonaccorsi et al., “Economic and social consequences of human mobility restrictions under COVID-19”, *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 117, nro. 27, pp. 15530–15535, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2007658117>
- [22] A. Barakat et al., “Design, Synthesis and In Vitro Evaluation of Spirooxindole-Based Phenylsulfonyl Moiety as a Candidate Anti-SAR-CoV-2 and MERS-CoV-2 with the Implementation of Combination Studies”, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, nro. 19, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms231911861>
- [23] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Thermodynamic research on the inhibitors of coronavirus through drug delivery method”, *J. Chil. Chem. Soc.*, vol. 66, nro. 2, pp. 5195–5205, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-97072021000205195>
- [24] T. Sardar, S. S. Nadim, S. Rana y J. Chattopadhyay, “Assessment of lockdown effect in some states and overall India: a predictive mathematical study on COVID-19 outbreak”, *Chaos Solitons Fract*, vol. 139, nro. 110078, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2020.110078>
- [25] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Thermodynamic and IR Spectral Study of Metal Cations–Anthocyanin Chelation: Mechanism of Formation of Pigments”, *Russ. J. Phys. Chem.*, vol. 94, nro. 9, pp. 1887–1901, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0036024420090204>
- [26] F. Zeng et al., “Association of inflammatory markers with the severity of COVID-19: a meta-analysis”, *Int J Infect Dis*, vol. 96, pp. 467–474, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.05.055>
- [27] F. Mollaamin, “Physicochemical investigation of anti-COVID19 drugs using several medicinal plants”, *J. Chil. Chem. Soc.*, vol. 67, nro. 2, pp. 5537–5546, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-97072022000205537>
- [28] Q. M. S. Jamal, “Antiviral Potential of Plants against COVID-19 during Outbreaks—An Update”, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, nro. 21, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms232113564>
- [29] J. Remali y W. M. Aizat, “A review on plant bioactive compounds and their modes of action against coronavirus infection”, *Front. Pharmacol*, vol. 11, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.589044>
- [30] S. Singh y M. F. Sk, A. Sonawane, P. Kar y S. Sadhukhan, “Plant-derived natural polyphenols as potential antiviral drugs against SARS-CoV-2 via rna-dependent RNA polymerase (rdrp) inhibition: An in-silico analysis”, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, vol. 39, nro. 16, pp. 6249–6264, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1796810>
- [31] T. Capell, R. M. Twyman, V. Armario-Najera, J. K. C. Ma, S. Schillberg y P. Christou, “Potential applications of plant biotechnology against SARS-CoV-2”, *Trends Plant Sci.*, vol. 25, nro. 7, pp. 635–643, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.04.009>
- [32] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Electric and Magnetic Evaluation of Aluminum–Magnesium Nanoalloy Decorated with Germanium Through Heterocyclic Carbenes Adsorption: A Density Functional Theory Study”, *Russ. J. Phys. Chem. B*, vol. 17, nro. 3, pp. 658–672, ene. 2023, DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990793123030223>
- [33] S. Bibi, M. S. Khan, S. A. El-Kafrawy, T. A. Alandijany, M. M. El-Daly, Q. Yousafi, D. Fatima, A. A. Faizo, L. H. Bajrai y E. I. Azhar, “Virtual screening and molecular dynamics simulation analysis of Forsythoside A as a plant-derived inhibitor of SARS-CoV-2 3clpro”, *Saudi Pharm. J.*, vol. 30, nro. 7, pp. 979–1002, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2022.05.003>
- [34] T. Pillaiyar, M. Manickam, V. Namasivayam, Y. Hayashi y S. H. Jung, “An overview of severe acute respiratory syndrome-coronavirus (SARS-CoV) 3CL protease inhibitors: peptidomimetics and small molecule chemotherapy”, *J Med Chem.*, vol. 59, nro.

- 14, pp. 6595–6628, ene. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01461>
- [35] D. R. Owen *et al.* “An oral SARS-CoV-2 MPRO inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19”, *Science*, vol. 374, nro. 6575, pp. 1586–1593, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abl4784>
- [36] M. Monajjemi, F. Mollaamin y S. Shojaei, “An overview on coronaviruses family from past to COVID-19: Introduce some inhibitors as antiviruses from Gillan’s plants”, *Biointerface Res. Appl. Chem.*, vol. 10, nro. 3, pp. 5575–5585, ene. 2020, DOI: <https://doi.org/10.33263/BRIAC103.575585>
- [37] E. Takashita *et al.*, “Efficacy of antiviral agents against the SARS-CoV-2 Omicron subvariant BA.2”, *N Engl J Med*, vol. 386, nro. 15, pp. 1475–1477, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2201933>
- [38] L. Vangeel *et al.*, “Remdesivir, molnupiravir and Nirmatrelvir remain active against SARS-CoV-2 Omicron and other variants of concern”, *Antiviral Res*, vol. 198, nro. 105252, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2022.105252>
- [39] S. E. Greasley *et al.*, “Structural basis for the in vitro efficacy of Nirmatrelvir against SARS-CoV-2 variants”, *J Biol Chem*, vol. 298, nro. 6, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101972>
- [40] M. Imai *et al.*, “Efficacy of antiviral agents against Omicron subvariants BQ.1.1 and XBB”, *N Engl J Med*, vol. 388, nro. 1, pp. 89–91, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2214302>
- [41] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Molecular drug discovery of potential inhibitor of covid-19 using several medicinal plant ingredients: a promising therapy for viral disease”, *Revista de la Facultad de Ciencias*, vol. 13, nro. 1, pp. 141–158, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v13n1.111288>
- [42] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Application of DFT/TD-DFT Frameworks in the Drug Delivery Mechanism: Investigation of Chelated Bisphosphonate with Transition Metal Cations in Bone Treatment”, *Chemistry*, vol. 5, nro. 1, pp. 365–380, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/chemistry5010027>
- [43] J. Li, M. Zeng, H. Shan y C. Tong, “Microneedle Patches as Drug and Vaccine Delivery Platform”, *Current Medicinal Chemistry*, vol. 24, nro. 22 pp. 2413–2422, ene. 2017. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867324666170526124053>
- [44] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “In Situ Drug Delivery Investigation through Characterization and Application of Carbon-Based Nanomaterials: A Promising Approach for Treating Viral Diseases”, *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.*, vol. 38, nro. 3, pp. 1961–1973, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.23812/j.biol.regul.homeost.agents.20243803.153>
- [45] T. M. Allen, “Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream”, *Science*, vol. 303, nro. 5665, pp. 1818–1822, ene. 2004, DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1095833>
- [46] A. P. Singh, A. Biswas, A. Shukla y P. Maiti, “Targeted therapy in chronic diseases using nanomaterial-based drug delivery vehicles”, *Signal Transduction and Targeted Therapy*, vol. 4, nro. 33, ene. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-019-0068-3>
- [47] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Bone therapy through drug delivery of chelated [bisphosphonate-metal ions] adsorbed on the surface of carbon nanotubes”, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, vol. 52, nro. 2, pp. 741–765, ene. 2023, DOI: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v52n2.110734>
- [48] B. Ghalandari, M. Monajjemi y F. Mollaamin, “Theoretical Investigation of Carbon Nanotube Binding to DNA in View of Drug Delivery”, *J Comput Theor Nanosci*, vol. 8, nro. 7, pp. 1212–1219, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2011.1801>
- [49] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Harmonic Linear Combination and Normal Mode Analysis of Semiconductor Nanotubes Vibrations”, *J. Comput. Theor. Nanosci*, nro. 12, pp. 1030–1039, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2015.3846>
- [50] X. Cao *et al.*, “Seventy-two-hour release formulation of the poorly soluble drug silybin based on porous silica nanoparticles: in vitro release kinetics and in vitro/in vivo correlations in beagle dogs”, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 48, nro. 1–2, pp. 64–71, ene. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.10.012>
- [51] F. Mollaamin, “Computational Methods in the Drug Delivery of Carbon Nanocarriers onto Several Compounds in Sarraceniacae Medicinal Plant as Monkeypox Therapy”, *Computation*, vol. 11, nro. 4, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/computation11040084>
- [52] L. Zhang, H. Xue, Z. Cao, A. Keefe, J. Wang y S. Jiang, “Multi-functional and degradable zwitterionic nanogels for targeted delivery, enhanced MR imaging, reduction-sensitive drug release, and renal clearance”, *Biomaterials*, vol. 32, nro. 20, pp. 4604–4608, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.02.064>
- [53] B. Khalili Hadad, F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Biophysical chemistry of macrocycles for drug delivery: A theoretical study”, *Russian Chemical Bulletin*, vol. 60, nro. 2, pp. 238–241, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11172-011-0039-5>
- [54] F. Mollaamin, S. Shahriari y M. Monajjemi, “Treating omicron ba.4 & ba.5 via herbal antioxidant asafoetida: a dft study of carbon nanocarrier in drug delivery”, *J. Chil. Chem. Soc*, vol. 68, nro. 1, pp. 5781–5786, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-97072023000105781>
- [55] M. Monajjemi, M. Noei y F. Mollaamin, “Design of fMet-tRNA and Calculation of its Bonding Properties by Quantum Mechanics”, *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, vol. 29, nro. 9, pp. 676–683, ene. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1080/15257771003781642>
- [56] F. Mollaamin, “Features of Parametric Point Nuclear Magnetic Resonance of Metals Implantation on Boron Nitride Nanotube by Density Functional Theory/Electron Paramagnetic Resonance”, *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, vol. 11, nro. 11, pp. 2393–2398, ene. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2014.3653>
- [57] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Trapping of toxic heavy metals from water by GN-nanocage: Application of nanomaterials for contaminant removal technique”, *J. Mol. Struct*, vol. 1300, nro. 137214, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.137214>
- [58] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Adsorption ability of Ga5N10 nanomaterial for removing metal ions contamination from drinking water by DFT”, *Int J Quantum Chem*, vol. 124, nro. 2, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/qua.27348>
- [59] M. Monajjemi, H. Baheri y F. Mollaamin, “A percolation model for carbon nanotube-polymer composites using the Mandelbrot-Given”, *Journal of Structural Chemistry*, vol. 52, nro. 1, pp. 54–59, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0022476611010070>
- [60] A. Tahan, F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Thermochemistry and NBO analysis of peptide bond: Investigation of basis sets and binding energy”, *Russian Journal of Physical Chemistry A*, vol. 83, nro. 4, pp. 587–597, ene. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1134/S003602440904013X>
- [61] M. Monajjemi, M. Khaleghian, N. Tadayonpour y F. Mollaamin, “The effect of different solvents and temperatures on stability of single-walled carbon nanotube: A QM/MD study”, *Int J Nanosci*, vol. 9, nro. 5, pp. 517–529, ene. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1142/S0219581X10007071>
- [62] M. A. A. Zadeh, H. Lari, L. Kharghanian, E. Balali, R. Khadivi, H. Yahyaei, F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Density functional theory study and anti-cancer properties of shyshaq plant: In viewpoint of nano biotechnology”, *J. Comput. Theor. Nanosci*, vol. 12, nro. 11, pp. 4358–4367, ene. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2015.4366>
- [63] F. Mollaamin, A. Ilkhani, N. Sakhaei, B. Bonsakhteh, A. Faridchehr, S. Tohidi y M. Monajjemi, “Thermodynamic and Solvent Effect on Dynamic Structures of Nano Bilayer-Cell Membrane: Hydrogen Bonding Study”, *J. Comput. Theor. Nanosci.*, vol. 12, nro. 10, pp. 3148–3154, ene. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2015.4366>

- org/10.1166/jctn.2015.4092
- [64] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Carbon Nanotubes as Biosensors for Releasing Conjugated Bisphosphonates-Metal Ions in Bone Tissue: Targeted Drug Delivery through the DFT Method", *C-Journal of Carbon Research*, vol. 9, nro. 2, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/c9020061>
- [65] M. Khaleghian, M. Zahmatkesh, F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Investigation of Solvent Effects on Armchair Single-Walled Carbon Nanotubes: A QM/MD Study", *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostructures*, vol. 19, nro. 4, pp. 251-261, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/15363831003721757>
- [66] M. J. Frisch et al. Gaussian 16, Revision C.01, Gaussian Inc., Wallingford CT, ene. 2016.
- [67] A. D. Becke, "Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior", *Phys. Rev. A.*, vol. 38, nro. 6, pp. 3098-3100, ene. 1988. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.38.3098>
- [68] K. Bakhshi, F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Exchange and correlation effect of hydrogen chemisorption on nano V(100) surface: A DFT study by generalized gradient approximation (GGA)", *J. Comput. Theor. Nanosci.*, vol. 8, nro. 4, pp. 763-768, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2011.1750>
- [69] M. Monajjemi, J. Najafpour y F. Mollaamin, "(3,3)4 Armchair carbon nanotube in connection with PNP and NPN junctions: Ab Initio and DFT-based studies", *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures*, vol. 21, nro. 3, pp. 213-232, ene. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1080/1536383X.2011.597010>
- [70] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Molecular modelling framework of metal-organic clusters for conserving surfaces: Langmuir sorption through the TD-DFT/ONIOM approach", *MOLECULAR SIMULATION*, vol. 49, nro. 4, pp. 365-376, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/08927022.2022.2159996>
- [71] C. Lee, W. Yang y R. G. Parr, "Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density", *Phys. Rev. B*, vol. 37, nro. 2, pp. 785-789, ene. 1988. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>
- [72] F. Mollaamin, S. Shahriari, M. Monajjemi y Z. Khalaj, "Nanocluster of Aluminum Lattice via Organic Inhibitors Coating: A Study of Freundlich Adsorption", *J. Clust. Sci.*, vol. 34, nro. 3, pp. 1547-1562, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10876-022-02335-1>
- [73] C. J. Cramer y D. G. Truhlar, "PM3-SM3: A general parameterization for including aqueous solvation effects in the PM3 molecular orbital model", *J. Comp. Chem.*, vol. 13, nro. 9, pp. 1089-1097, ene. 1992. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.540130907>
- [74] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Tailoring and functionalizing the graphitic-like GaN and GaP nanostructures as selective sensors for NO, NO₂, and NH₃ adsorbing: A DFT study", *J. Mol. Model.*, vol. 29, nro. 6, pp. 170, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00894-023-05567-8>
- [75] C. C. Chambers, G. D. Hawkins, C. J. Cramer y D. G. Truhlar, "Model for aqueous solvation based on class IV atomic charges and first solvation shell effects", *J. Phys. Chem.*, vol. 100, nro. 40, pp. 16385-16398, ene. 1996. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp9610776>
- [76] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Transition metal (X = Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn)-doped graphene as gas sensor for CO₂ and NO₂ detection: A molecular modeling framework by DFT perspective", *J. Mol. Model.*, vol. 29, nro. 4, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00894-023-05526-3>
- [77] L. J. Onsager, "Electric Moments of Molecules in Liquids", *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 58, nro. 8, pp. 1486-1493, ene. 1936. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja01299a050>
- [78] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "In Silico-DFT Investigation of Nanocluster Alloys of Al-(Mg, Ge, Sn) Coated by Nitrogen Heterocyclic Carbenes as Corrosion Inhibitors", *J Clust Sci*, vol. 34, nro. 6, pp. 2901-2918, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10876-023-02436-5>
- [79] E. M. Sarasia, S. Afsharnezhad, B. Honarparvar, F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Theoretical study of solvent effect on NMR shielding tensors of luciferin derivatives", *Phys Chem Liquids*, vol. 49, nro. 5, pp. 561-571, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/00319101003698992>
- [80] F. Mollaamin, M. Monajjemi, S. Salemi y M. T. Baei, "A Dielectric Effect on Normal Mode Analysis and Symmetry of BNNT Nanotube", *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostructures*, vol. 19, nro. 3, pp. 182-196, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/15363831003782932>
- [81] M. Monajjemi, N. Farahani y F. Mollaamin, "Thermodynamic study of solvent effects on nanostructures: Phosphatidylserine and phosphatidylinositol membranas", *Phys. Chem. Liq.*, vol. 50, nro. 2, pp. 161-172, ene. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1080/00319104.2010.527842>
- [82] F. Mollaamin, F. Najafi, M. Khaleghian, B. Khalili Hadad y M. Monajjemi, "Theoretical Study of Different Solvents and Temperatures Effects on Single-Walled Carbon Nanotube and Temozolomide Drug: A QM/MM Study", *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures*, vol. 19, nro. 7, pp. 653-667, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/1536383X.2010.504956>
- [83] L. Rauch, R. Hein, T. Biedermann, K. Eyerich y F. Lauffer, "Bisphosphonates for the Treatment of Calcinosi Cutis-A Retrospective Single-Center Study", *Biomedicines*, vol. 9, nro. 11, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111698>
- [84] R. A. Fry, K. D. Kwon, S. Komarneni, J. D. Kubicki y K. T. Mueller, "Solid-State NMR and Computational Chemistry Study of Mononucleotides Adsorbed to Alumina", *Langmuir*, vol. 22, nro. 22, pp. 9281-9286, ene. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1021/la061561s>
- [85] M. Monajjemi, L. Mahdavian, F. Mollaamin y M. Khaleghian, "Interaction of Na, Mg, Al, Si with carbon nanotube (CNT): NMR and IR study", *Russ. J. Inorg. Chem*, vol. 54, nro. 9, pp. 1465-1473, ene. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0036023609090216>
- [86] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Graphene-based resistant sensor decorated with Mn, Co, Cu for nitric oxide detection: Langmuir adsorption & DFT method", *Sensor Review*, vol. 43, nro. 4, pp. 266-279, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1108/SR-03-2023-0040>
- [87] H. A. Young, *Freedman RD. Sears and Zemansky's University Physics with Modern Physics*, Boston: Addison-Wesley, 2012.

Citación del artículo:

F. Mollaamin, "Conocimiento de enfermedades virales terapéuticas: aplicación de SWCNT en la administración de fármacos", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 2, pp. 28-35, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n2.111888>



Methylene blue degradation using chitosan-Fe₂O₃ composite and photo-Fenton

Abstract

This study aims to study the photodegradation process of methylene blue using a synthetic chitosan-Fe₂O₃ composite and their characterization. Based on the characterization material synthetic, chitosan-Fe₂O₃ (1:1) composite showed the best material with the smallest crystal size (1.13 nm), the surface morphology was lumpy and had an uneven shape with the composition of the constituent (Carbon (C) 42.88%, Oxygen (O) 48.68%, and Iron (Fe) 29.90%), and showed the smallest energy band gap (1.41 eV) which led us to conclude that the formation of the chitosan-Fe₂O₃ composite can reduce the energy band gap of Fe₂O₃. The best composite material then was used to evaluate the activity in degrading methylene blue. The optimum condition in degrading was reached at a contact time of 180 min and pH 9 with a percentage decrease in methylene blue concentration of 90.00%. The effect of concentration variations occurred at 5 ppm with a decrease of 89.62%. Total organic carbon analysis showed that the decrease in methylene blue concentration reached 92.20%. Based on that, it is concluded that the chitosan-Fe₂O₃ composite could be a potential alternative material to degrade methylene blue.

Keywords: chitosan-Fe₂O₃; methylene blue; chitosan; total organic carbon; photodegradation.

Degradación de azul de metileno usando material compuesto de quitosano-Fe₂O₃ y foto-Fenton

Resumen

Este estudio tiene como objetivo estudiar el proceso de fotodegradación del azul de metileno utilizando material sintético compuesto de quitosano-Fe₂O₃ y su caracterización. Con base en la caracterización del material sintético, el compuesto quitosano-Fe₂O₃ (1:1) mostró el mejor material con el tamaño de cristal más pequeño (1,13 nm), la morfología de la superficie era grumosa y tenía una forma desigual con la composición del constituyente (carbono (C) 42,88%, oxígeno (O) 48,68% y hierro (Fe) 29,90%), y mostró la banda prohibida de energía más pequeña (1,41 eV), lo que indica que la formación del compuesto de quitosano-Fe₂O₃ puede reducir la banda prohibida de energía de Fe₂O₃. Luego se utilizó el mejor material compuesto para ver su actividad en la degradación del azul de metileno. La condición óptima en la degradación se alcanzó con un tiempo de contacto de 180 min y pH 9 con una disminución porcentual en la concentración de azul de metileno del 90,00%. El efecto de las variaciones de concentración se presentó a 5 ppm con una disminución del 89,62%. El análisis de carbono orgánico total mostró que la disminución en la concentración de azul de metileno alcanzó el 92,20%. Con base en esto, se concluyó que el compuesto quitosano-Fe₂O₃ podría ser un material alternativo potencial para degradar el azul de metileno.

Palabras clave: quitosano-Fe₂O₃; azul de metileno; quitosano; carbono orgánico total; fotodegradación.

Degradação de azul de metileno usando composto de quitosana-Fe₂O₃ e foto-Fenton

Resumo

Este trabalho tem como objetivo estudar o processo de fotodegradação do azul de metileno utilizando material sintético composto quitosana-Fe₂O₃ e sua caracterização. Com base na caracterização do material sintético, o composto quitosana-Fe₂O₃ (1:1) apresentou o melhor material com o menor tamanho de cristal (1,13 nm), a morfologia da superfície era granulosa e apresentava formato irregular com a composição do constituinte (Carbono (C) 42,88%, Oxigênio (O) 48,68% e Ferro (Fe) 29,90%), e apresentou o menor gap de energia (1,41 eV) o que conclui que a formação do composto quitosana-Fe₂O₃ pode reduzir o band gap de energia de Fe₂O₃. O melhor material composto usado para ver sua atividade na degradação do azul de metileno. A condição ótima de degradação foi alcançada com tempo de contato de 180 minutos e pH 9 com diminuição percentual na concentração de azul de metileno de 90,00%. O efeito das variações de concentração ocorreu a 5 ppm com diminuição de 89,62%. A análise do carbono orgânico total mostrou que a diminuição da concentração de azul de metileno atingiu 92,20%. com base nisso, concluiu que o composto quitosana-Fe₂O₃ poderia ser um potencial material alternativo para degradar o azul de metileno.

Palavras-chave: quitosana-Fe₂O₃; azul de metileno; quitosana; carbono orgânico total; fotodegradação.

Introduction

Dyes are one of the important components in various industries such as paper, textiles, and cosmetics. Massive production from the rapid textile industry will certainly increase the magnitude of dye liquid waste. Therefore, they are feared to be one of the main contributors to water pollution [1]. The textile industry produces the largest amount of synthetic dye waste and produces around 50 to 200 mg/L dyes that could not be degraded entirely [2]. The type of dye that is widely used in the textile industry in Indonesia is methylene blue (MB) because it is a basic dye and has excellent solubility [3]. In the industry, only 5% of MB is bound, while the remaining 95% becomes waste; hence, its distribution in the aquatic environment is extensive [4]. Synthetic dyes are extremely hazardous to the environment and living creatures due to their poisonous, mutagenic, and carcinogenic qualities. The presence of a small number causes a decrease in water transparency and affects photosynthesis, as well as microbial activity of submerged organisms [5]. Cationic dyes are substantially more poisonous than their anionic counterpart because they can easily interact with negatively charged cell membranes, producing severe health issues [6]. MB, as one of the main cationic dyes, has been very worrying because, in high concentrations, it has a significant negative impact on various health problems [7].

Several methods, such as adsorption, biodegradation, and advanced oxidation process (AOP), have been studied extensively to reduce dye waste [8]. Among numerous treatment techniques of large-scale industrial wastewater containing persistent organics, the adsorption method is exceptional due to simple operations, low cost, and little secondary pollutions [9]. In recent years, several techniques are investigated to remove organic contaminants for wastewater remediation among which photocatalysis showed large opportunities due to the low energy consumption, complete decomposition of organic pollutants, and high stability [10, 11]. AOP methods, such as photo-Fenton, have attracted attention because they show excellent ability and activity in reducing dye concentration. Additionally, this method can degrade harmful compounds through an oxidation process with the help of Fenton reagent in the form of hydrogen peroxide and ultraviolet light [12]. The photo-Fenton process combines hydrogen peroxide and a catalyst to produce ·OH radicals that decompose MB dye into molecules, such as CO₂, and water [13]. The transformation reaction takes place on the semiconductor material induced by ultraviolet light. The types often used for this process are iron semiconductors derived from the oxide, sulfide, carbide, and composite groups [14].

Fe₂O₃ is one of the semiconductors that have the potential to be used in dye degradation. A small bandgap makes this possible since the excitation energy required to move electrons from valence to conduction band is not excessive. However, the Fe₂O₃ semiconductor has a weakness in the separation process from the solution system because it is easily dispersed into water and tends to agglomerate and block the interaction with ultraviolet radiation [15]. One way to overcome this problem is by embedding Fe₂O₃ into a porous material such as chitosan. Chitosan is an adsorbent found in nature because it can be extracted from the shell waste of crustaceans such as shrimp and small crabs through the deacetylation process of chitin compounds [16]. As an adsorbent, chitosan has a functional group that acts as a ligand, making it more effective at the adsorption of polluting waste [17].

Research on composites doped with other compounds such as metals has developed a lot and has influenced the progress of research in the environmental field. Composite doped has been reported is chitosan-Al₂O₃ for thorium (IV), Pb (II) and Cd (II) adsorption [18, 19]. Heterogeneous photocatalysis is based on the absorption of radiant energy by semiconductor materials, causing redox reactions

and promoting organic degradation of pollutants. The most commonly used photocatalyst is a metal oxide as in this study was used Fe₃O₄ [20]. Based on research data that when a material is added Fe metal oxide compounds have an efficiency of almost 80%, provides a basis for the use of Fe₃O₄ material to be used as a photocatalyst [21, 22]. Other composite, chitosan-Fe₃O₄, resulted in a metronidazole removal efficiency of up to 100% [14]. Based on literature studies, there are no reports on the photodegradation of MB using chitosan-Fe₂O₃. In this study, chitosan-Fe₂O₃ composite with various mass ratios of (1:1), (1:2), and (1:3) was synthesized using the sol-gel method. The photo-Fenton system will then decompose MB using the composite under the optimal circumstances. Additionally, the effect of irradiation time and initial MB concentration was studied. The chitosan-Fe₂O₃ composite was characterized using X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy-energy dispersive X-ray (SEM-EDX), and ultra violet-diffuse reflectance spectroscopy (UV-DRS), and the product of photodegradation was tested quantitatively using total organic carbon (TOC).

Materials and Methods

Materials

The materials used in the synthesis of chitosan-Fe₂O₃ composite are FeCl₃ (Merck), demineralized water (pure H₂O), NH₄OH (Merck), chitosan powder (Sigma Aldrich), and NaOH (Merck). For the pH point zero charge and MB degradation procedures, NaNO₃ (Merck), NaOH (Merck), HCl 37% (Merck), and synthetic MB were used as materials.

Synthesis of Fe₂O₃

Fe₂O₃ was synthesized using the co-precipitation method. Initially, a solution of Fe³⁺ precursor was prepared by dissolving 1.46 g of FeCl₃ in 100 mL of pure water. Furthermore, it was added with 12% of NH₄OH and constantly stirred until a Fe₂O₃ precipitate was formed at pH 10. The precipitate formed was washed and filtered several times before heating in an oven at 100 °C for 2 h, followed by calcination at 300 °C for 4 h.

Synthesis of chitosan-Fe₂O₃ composite

Chitosan-Fe₂O₃ was synthesized using the sol-gel method [19]. Initially, 0.24 g of the chitosan powder was dissolved in 30 mL of 2% acetic acid and constantly stirred until a gel was formed. The mixture was added with 30 mL of 0.1 M FeCl₃ solution followed by 1 M NaOH until the pH reached 11.2 and stirred at a speed of 520 rpm at 90 °C for 4 h. After forming a reddish-brown product, it was then left for 24 h. The precipitate was decanted, centrifuged, and washed five times with pure water before drying in an oven for 2 h and 30 min at 110 °C. This was followed by calcination at 300 °C for 4 h. The same procedure was conducted on different mass ratios of chitosan and Fe₂O₃, namely (1:2) and (1:3) (w/w). The solids were then characterized using XRD (Shimadzu), SEM-EDX (PhenomProX Desktop), and UV-DRS (Analytic Jena). The best results of the synthesis were used for the photodegradation of MB.

Determination of pH point zero charge (pH_{pzc})

About 30 mL of 0.01 NaNO₃ solution was put into each container set at a pH range of 2 to 12 using HCl or NaOH. Furthermore, 0.03 g of the composite was added and stirred using a shaker at 32 °C for 2 h. The mixture was then left for two days, and the final pH was measured using a pH meter from each solution. The pH_{pzc} value was obtained from the intersection point between the initial and final curves.

MB degradation study

The MB degradation study was conducted in batches using a 10-watt UV lamp at pH_{pzc} conditions. Briefly, 30 mL of MB with concentrations of 1, 2, 3, 4, and 5 ppm were added with 1 mL of 30%

(v/v) H₂O₂. About 0.03 g of chitosan-Fe₂O₃ was then added and stirred using a magnetic stirrer at 450 rpm and a temperature of 90 °C into the UV reactor, with an irradiation time of 30, 60, 120, and 180 min. The mixture was centrifuged for 10 min, and the absorbance of the filtrate was measured using a UV-Vis spectrophotometer (Orion™ AquaMate 8000) at a wavelength of 665 nm and analyzed using TOC (Torch Combustion Analyzer, Teledyne tekmar). The percentage (%) of MB degradation can be calculated using the following equation:

$$\text{Degradation MB (\%)} = \frac{X_0 - X_t}{X_0} \times 100\% \quad (1)$$

where X₀ is the initial concentration dye before irradiation and X_t is the concentration dye after irradiation. TOC calculation based on Eq. (1) is as follows:

$$\text{TOC Degradation (\%)} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100\% \quad (2)$$

where C₀ is the initial concentration carbon (before degradation process) and C_t is the final concentration carbon (after degradation process).

Results and Discussion

Material chitosan-Fe₂O₃ composite characterization

Chitosan-Fe₂O₃ composite with various mass ratios of (1:1), (1:2), and (1:3) was characterized using XRD, SEM-EDX, and UV-DRS. The best result was applied to the photodegradation of MB. The photocatalyst diffractogram of chitosan, Fe₂O₃, and chitosan-Fe₂O₃ composite is shown in **figure 1**. **Figure 1A** shows that the typical diffraction peak of chitosan appears at an angle 2θ of 19.95°. Foroughnia *et al.* stated that the typical diffraction peak ranges from 10 to 20° [16], which is consistent with other findings [18]. Furthermore, **figure 1B** shows the diffraction peak at an angle 2θ of 24.13, 33.15, 54.09, 57.59, 62.41, 63.99 and 72.26° with field indexes of (012), (104), (110), (113), (024), (116), (018), (214), (300) and (119), indicating the presence of Fe₂O₃ compound (JCPDS card No. 33-0664). The diffraction peaks are consistent with previous reports [23].

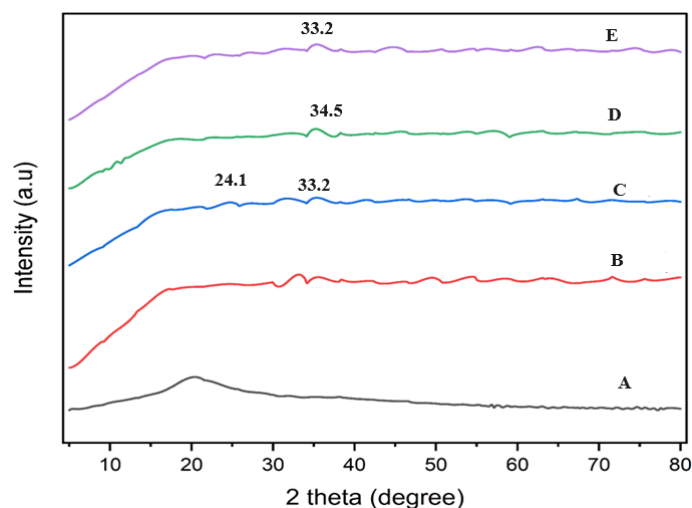


Figure 1. Diffractograms of A: Chitosan, B: Fe₂O₃, C: Chitosan-Fe₂O₃ Ratio 1:1, D: Chitosan Fe₂O₃ Ratio 1:2, and E: Chitosan-Fe₂O₃ Ratio 1:3.

Figure 1C shows that the diffraction peaks of the chitosan-Fe₂O₃ (1:1) composite appear at an angle 2θ of 24.1, 33.2, 62.2, and 74°. The diffractogram of the chitosan-Fe₂O₃ (1:2) composite in **figure 1D** shows the presence of a peak angle 2θ at 34.5, 57.4, 64.9 and 75.1°. Furthermore, the peaks at an angle 2θ of 16.9, 32.2, 54.5, and 74.7° appear on the diffractogram of the chitosan-Fe₂O₃ (1:2) composite, as shown in **figure 1E**. Chitosan-Fe₂O₃ (1:1), (1:2), and (1:3) composite did not specifically indicate the presence of chitosan peaks. This is probably due to a decrease in intermolecular hydrogen bonds since Fe₂O₃ dominates. This condition indicates a good interaction between Fe₂O₃ and the structure of chitosan [24].

The angle 2θ and the intensity peak of each composite are shown in table 1. The composite with a mass ratio of (1:1) showed the highest intensity. Based on the Debye-Scherrer equation, the crystal size of the chitosan-Fe₂O₃ composite with mass ratios of (1:1), (1:2), and (1:3) was 1.13, 2.82 and 8.83 nm, respectively. Therefore, the Fe₂O₃-composite (1:1) was selected for the MB photodegradation application. This is because of its smallest crystal size, high intensity, and the 2θ peak closest to JCPDS card No. 33-0664.

Table 1. 2θ value, peak intensity and crystallite size of chitosan-Fe₂O₃ composite.

Material	2θ (degree)	Peak intensity (cps)	Crystallite size (nm)
Chitosan-Fe ₂ O ₃ (1:1)	33.2	522	1.13
Chitosan-Fe ₂ O ₃ (1:2)	34.5	90	2.82
Chitosan-Fe ₂ O ₃ (1:3)	32.2	173	8.83

Characterization using UV-Vis DRS aims to determine the energy band gap of Fe₂O₃ and chitosan-Fe₂O₃ composite. The bandgap is defined as the distance from the valence to the conduction band of a semiconductor. **Table 2** shows the UV-Vis DRS analysis results. The energy band gaps of Fe₂O₃ and chitosan-Fe₂O₃ are 1.93 and 1.41 – 1.64 eV. Vayssieres *et al.* stated that the energy band gap of pure Fe₂O₃ ranges from 1.93 to 2.20 eV depending on the crystal state and the preparation method [25]. **Table 2** shows that the energy band gap of Fe₂O₃ decreases after forming the composite with chitosan. Similar findings have been reported by other studies [26]. According to Fauzi *et al.*, the decrease was associated with a smaller crystal size of the photocatalyst [27]. This leads to an increase in the orbital overlap between the valence and conduction bands. Furthermore, the energy band gap can inversely affect the photocatalytic effectiveness [28].

Table 2. Analysis bandgap energy of composites.

Material	Eg (eV)
Fe ₂ O ₃	1.93
Chitosan-Fe ₂ O ₃ (1:1)	1.41
Chitosan-Fe ₂ O ₃ (1:2)	1.50

The size of the band gap energy value in a composite greatly influences the degradation effect of a dye. The smaller the bandgap energy value, the better the dye degradation effect of the composite because it allows the formation of a large number of charge carriers under light irradiation [29]. A small band gap also provides less relaxation time for recombining electron and hole pairs, so that photodegradation carried out by composites with a small band gap is more favorable for degrading dyes [30]. Based on XRD and UV-DRS characterization, best composite we had is chitosan-Fe₂O₃ (1:1) and was carried out to SEM characterization to see the surface morphology of the composite. The surface morphology of chitosan and chitosan-Fe₂O₃ composite is shown in **figure 2**.

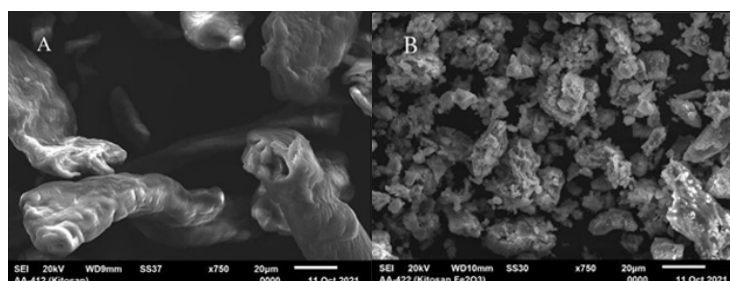


Figure 2. SEM Micrographs of A: Chitosan and B: Chitosan-Fe₂O₃.

It shows flakes or sheets that have pores with a magnification of 750×. The surface morphology of the chitosan-Fe₂O₃ composite shows the distribution and aggregation of Fe₂O₃ in chitosan. Many pores and folds are found in the composite, which can support photocatalytic activity. Similar morphology features were reported by Mendis *et al.* at synthetic material chitosan-ilmenite sand which

was used to photodegradation of MB dye with presenced aggregated spherical nanoparticles [31]. The EDX analysis results of chitosan and chitosan-Fe₂O₃ composite are shown in Table 3. It can be seen that the element Fe increases from 0 to 29.96% after forming a composite with chitosan. This indicates that Fe₂O₃ has successfully modified chitosan.

Table 3. Elemental analysis by EDX.

Element	Atomic (wt%)	
	Chitosan	Chitosan-Fe ₂ O ₃
C	42.88	27.19
O	48.68	25.27
Na	8.44	9.03
Cl	-	7.49
Fe	-	29.96
Zn	-	1.06

The p*H*_{pzc} is a surface state of neutral charge, p*H*_{pzc} greatly affects the adsorption of the dye with the catalyst surface on photodegradation [32]. The resulting p*H*_{pzc} data will be used in the MB photodegradation process. The p*H*_{pzc} of chitosan-Fe₂O₃ (1:1) composite can be seen in figure 3, which shows that the p*H*_{pzc} of the chitosan-Fe₂O₃ (1:1) composite is at pH 8. The catalyst's surface will be negative when p*H* > p*H*_{pzc} hence it can degrade cationic dyes and vice versa [33]. In this study, MB dye is cationic, and its p*H* is set above p*H*_{pzc} before the photodegradation process is conducted. Since the composite surface is negative at high p*H*, it attracts the cationic dyestuff due to electrostatic interaction and the dye is adsorbed onto the composite surface.

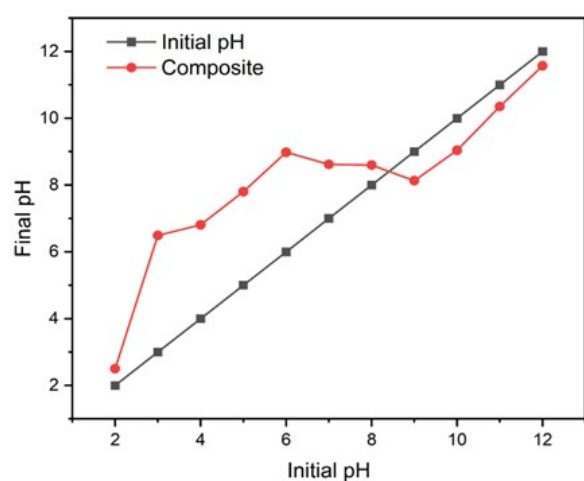


Figure 3. p*H*_{pzc} of chitosan-Fe₂O₃ (1:1).

MB photodegradation

MB degradation in this research was done using composite chitosan-Fe₂O₃ (1:1). This chitosan-Fe₂O₃ composite (1:1) was used because the characterization is the best result from the three composite generated materials. According to Zhang *et al.*, as the band gap energy is smaller in semiconductors, they can capture more photons for adsorption, so the theory will give the best result for chitosan-Fe₂O₃ composite on degradation of MB [34]. The effect of irradiation time on the decrease in MB concentration at a dye of 5 ppm is shown in figure 4. It shows that the highest and lowest percentage of decrease in MB concentration was achieved at an irradiation time of 180 and 30 min by 90.00 and 76.84% (gray line). Observations with a similar trend have been reported by Fassi *et al.* in a comparative study on the photodegradation of bromocresol green using Fe(II)/H₂O₂ and UV [35]. This condition shows that the degradation time is directly related to the contact between the photon rays and the chitosan-Fe₂O₃ composite, leading to a greater decrease in MB concentration. The presence of H₂O₂ acts as a reactant capable of producing hydroxyl radicals (•OH) which can degrade MB more effectively [12].

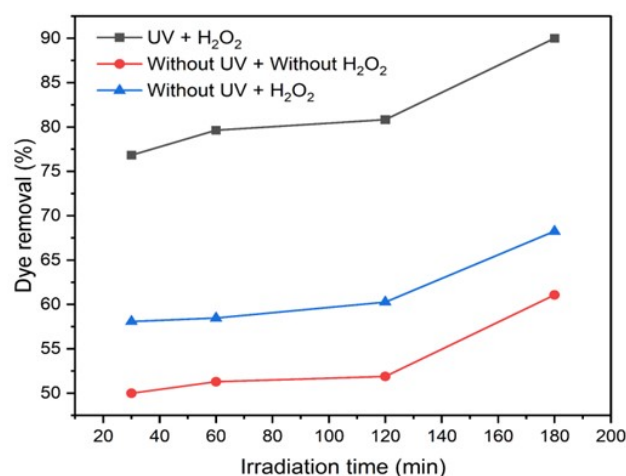
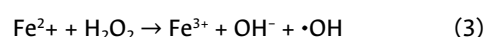


Figure 4. Effect irradiation time on methylene blue removal.

Control studies involving the degradation of MB without UV irradiation and without adding H₂O₂ (comparator I, red line) and without UV irradiation but adding H₂O₂ (comparator II, blue line) were carried out. Based on figure 4, the adsorption process without H₂O₂ (red line) showed the lowest percentage of decrease in MB concentration as compared to the UV irradiation process with H₂O₂ (blue line). The comparator I showed a degradation of 61.07%, while the comparator II was 68.26%. The difference between comparator II and photodegradation in the presence of H₂O₂ was 21.74%. This indicates that the addition of H₂O₂ greatly affects the MB degradation process.

The effect of the initial MB concentration on the decrease in MB concentration at an irradiation time of 180 min is shown in figure 5. It shows that the percentage decrease in MB concentration increased as the initial MB concentration increased. According to Shaban *et al.*, the addition of H₂O₂ is very influential in photodegradation because it is a reactant that produces •OH radicals for degrading dyes [36]. The •OH radicals produced are directly proportional to the amount of degraded MB dye. Furthermore, the combination of H₂O₂ with Fe³⁺, which acts as a homogeneous Fenton catalyst, can form •OH radicals. The Fenton oxidation reaction can be written based on Eq. (3) as follows:



The percentage of decrease in MB concentration was also achieved in comparator I through an adsorption process. The concentration of the dye determines the amount adsorbed on the surface of the composite [37]. A considerable increase in dye drop was also observed in the photodegradation trial without H₂O₂ (comparator II) at the initial MB concentration of 1 to 2 ppm. However, at the initial MB concentration of 3 ppm, the decrease of MB dye did not occur effectively. According to Jesse *et al.*, the higher the dye concentration, the more molecules are adsorbed on the catalyst's surface [38]. Consequently, they will inhibit the interaction between the catalyst and UV light. The formation of hydroxyl radicals on the catalyst's surface becomes constant and tends to act as an adsorbent at high concentrations.

Based on figure 5, the initial MB concentration of 5 ppm shows equilibrium with the adsorption and photodegradation processes without H₂O₂ of 55.28% and 69.60%, respectively. A significant difference in the percentage of decrease was observed with the addition of H₂O₂. The photodegradation process is higher than the adsorption because the UV light used has a role in producing •OH radicals, which can degrade MB. Without UV irradiation, the dye can only undergo the adsorption process [39]. Therefore, the effectiveness of photodegradation will increase with the addition of H₂O₂ to produce •OH radicals. In conclusion, the addition of H₂O₂ can affect

the effectiveness of photodegradation under the influence of the initial MB concentration. This is based on the photo-Fenton process, there are two reactions, namely Fenton and photocatalysis, where both reactions produce $\cdot\text{OH}$ radicals.

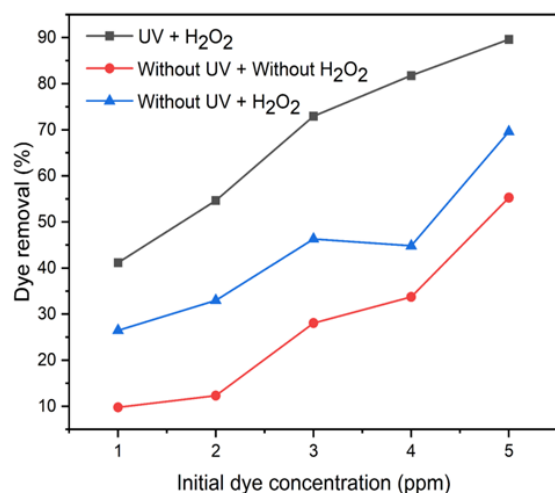


Figure 5. Effect of initial dye concentration on methylene blue removal.

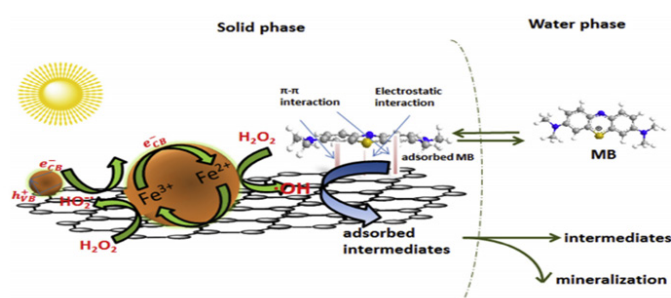


Figure 6. Schematic of photo-Fenton mechanism.

In figure 6 there are two reactions at once, the one where Fe^{2+} ions reacts with H_2O_2 using additional UV light to obtain Fe^{3+} ions and $\cdot\text{OH}$ radicals, and the other one where these $\cdot\text{OH}$ radicals will degrade MB dye. When there is electron excitation due to the photocatalyst reaction, there is a gap that can be entered by fenton radicals. The photocatalyst process also produces $\cdot\text{OH}$ radicals which results in an increase in the number of radicals obtained, so that degraded MB also increases along with increasing the number of radicals. After degradation of MB, the adsorption process occurs by chitosan as an adsorbent.

TOC analysis was conducted to determine the quantitative degradation of organic compounds based on absorbance. Figure 7 shows the test results before and after MB photodegradation. The decrease in absorbance was due to the decomposition process using chitosan- Fe_2O_3 (1:1) composite, directly related to C concentration in MB from 0.6493 to 0.0506 ppm (table 4). Based on these results, it shows that the composite could degrade MB and the percentage of degradation is 92.24%. Fe_2O_3 attach to chitosan improves the degradation activity of MB. Selpiana *et al.* in their research on the pho-

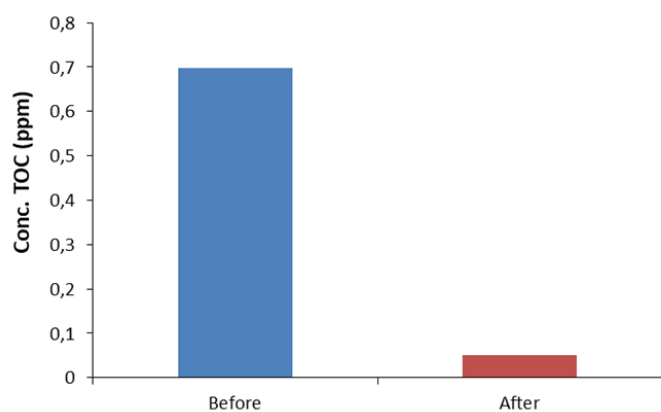


Figure 7. TOC Analysis of before and after degradation of MB with composite.

tocatalytic effect of MB degradation using Fe_2O_3 on heterojunction composite, state that Fe_2O_3 increases the capacity of the composite as a dye degrader by synergizing with other composites to reduce the energy band gap, so that photons will be captured more [40].

Table 4. TOC data and the concentration of total carbon.

Methylene blue	Adjust (Abs)	Concentration (ppm)
Before degradation	48.89	0.6493
After degradation	47.15	0.0506

Conclusions

Chitosan- Fe_2O_3 composite with mass ratios of (1:1), (1:2), and (1:3) has been successfully synthesized. XRD characterization showed that the chitosan- Fe_2O_3 (1:1) composite produced the smallest crystal size of 1.13 nm. Meanwhile, the UV-DRS analysis reported that Fe_2O_3 experienced an energy bandgap reduction after forming the chitosan- Fe_2O_3 composite. This was achieved in the chitosan- Fe_2O_3 (1:1) composite of 1.41 eV. SEM-EDX characterization showed the surface of chitosan in flakes with pores and chitosan- Fe_2O_3 , which tended to form lumps. The best condition for reducing MB concentration was achieved at an irradiation time of 180 min with an initial dye of 5 ppm and a percentage of decrease in MB at 90.00 and 89.62%. TOC analysis showed that the percentage of MB degradation obtained was 92.20%. Therefore, the chitosan- Fe_2O_3 composite has the potential as a photocatalyst to degrade MB.

Acknowledgment

The research publication of this article was funded by DIPA of Public Service Agency of Universitas Sriwijaya 2022. SP DIPA023.17.2.677515/2022, on December 13, 2021. In accordance with the Rector's Decree 0109/UN9.3.1/SK/2022, on April 28, 2022.

References

- [1] M. T. Yagub, T. K. Sen, S. Afroze and H. M. Ang, "Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: a review", *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 209, pp. 172–184, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.04.002>
- [2] M. Mondal and S. De, "Treatment of textile plant effluent by hollow fiber nanofiltration membrane and multi-component steady state modeling", *Chemical Engineering Journal*, vol. 285, pp. 304–318, Feb. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.005>.
- [3] L. Ai, Y. Zhou and J. Jiang, "Removal of methylene blue from aqueous solution by montmorillonite/CoFe₂O₄ composite with magnetic separation performance", *Desalination*, vol. 266, no. 1–3, pp. 72–77, Jan. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.08.004>.
- [4] S. Chin, E. Park, M. Kim and J. Jurng, "Photocatalytic degradation of methylene blue with TiO₂ nanoparticles prepared by a thermal decomposition process", *Powder Technol.*, vol. 201, no. 2, pp. 171–176, Jul. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2010.03.034>.
- [5] H. Karaer and I. Kaya, "Synthesis and characterization of magnetic ZnCl₂-activated carbon produced from coconut shell for the adsorption of methylene blue", *Microporous Mesoporous Mater.*, vol. 232, pp. 26–38, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130071>
- [6] O. Duman, S. Tunç, T. G. Polat and B. K. I. Bozoğlan, "Synthesis of magnetic oxidized multiwalled carbon nanotube-κ-carrageenan-Fe₃O₄ nanocomposite adsorbent and its application in cationic Methylene Blue dye adsorption", *Carbohydr. Polym.*, vol. 147, pp. 79–88, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.099>
- [7] H. Mittal, N. Ballav and S. B. Mishra, "Gum ghatti and Fe₃O₄ magnetic nanoparticles based nanocomposites for the effective adsorption of methylene blue from aqueous solution", *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 20, no. 4, pp. 2184–2192, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.04.002>

- doi.org/10.1016/j.jiec.2013.09.049
- [8] R. A. Solano, L. D. De León, G. De Ávila and A. P. Herrera, "Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) adsorption from aqueous solution using chitosan beads modified with thiourea, TiO₂ and Fe₃O₄ nanoparticles", *Environ. Technol. Innov.*, vol. 21, pp. 101378, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101378>
- [9] R. Wang et al., "Fabrication of a corn stalk derived cellulose-based bio-adsorbent to remove Congo red from wastewater: Investigation on its ultra-high adsorption performance and mechanism", *Int J Biol Macromol*, vol. 241, pp. 1–10, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124545>
- [10] Q. Wang, H. Li, X. Yu, Y. Jia, Y. Chang and S. Gao, "Morphology regulated Bi₂WO₆ nanoparticles on TiO₂ nanotubes by solvothermal Sb³⁺ doping as effective photocatalysts for wastewater treatment", *Electrochim Acta*, vol. 330, pp. 1–12, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.135167>
- [11] S. Sarkar, N. T. Ponce, A. Banerjee, R. Bandopadhyay, S. Rajendran and E. Lichtfouse, "Green polymeric nanomaterials for the photocatalytic degradation of dyes: a review", *Environmental Chemistry Letters*, vol. 18, pp. 1569–1580, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01021-w>
- [12] S. Shekar, G. C. K. Alkanad, A. Hezam, A. Alsalmeh, N. Al-Zaqri and N. K. Lokanath, "Enhanced photo-fenton activity over a sunlight-driven ignition synthesized A-Fe₂O₃-Fe₃O₄/CeO₂ heterojunction catalyst enriched with oxygen vacancies", *J. Mol. Liq.*, vol. 335, pp. 1–6, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116186>
- [13] G. Zanchettin, G. S. Falk, S. Y. G. González and D. Hotza, "High performance magnetically recoverable Fe₃O₄ nanocatalysts: fast microwave synthesis and photo-fenton catalysis under visible-light", *Chem. Eng. Process. Intensif.*, vol. 166, pp. 1–8, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2021.108438>
- [14] W. He, Z. Li, S. Lv, M. Niu, W. Zhou, J. Li, R. Lu, H. Gao, C. Pan and S. Zhang, "Facile synthesis of Fe₃O₄@MIL-100(Fe) towards enhancing photo-Fenton like degradation of levofloxacin via a synergistic effect between Fe₃O₄ and MIL-100(Fe)", *Chem. Eng. J.*, vol. 409, pp. 1–13, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128274>
- [15] A. Abharya and A. Gholizadeh, "Synthesis of a Fe₃O₄-rGO-ZnO-catalyzed photo-Fenton system with enhanced photocatalytic performance", *Ceram. Int.*, vol. 47, pp. 12010–12019, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.01.044>
- [16] A. Foroughnia, A. D. Khalaji, E. Kolvari and N. Koukabi, "Synthesis of new chitosan Schiff base and its Fe₂O₃ nanocomposite: Evaluation of methyl orange removal and antibacterial activity", *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 177, pp. 83–91, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.068>
- [17] L. M. Zhao, L. E. Shi, Z. L. Zhang, J. M. Chen, D. D. Shi, J. Yang and Z. X. Tang, "Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers", *Brazilian J. Chem. Eng.*, vol. 28, pp. 353–362, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-66322011000300001>
- [18] B. R. Broujeni, A. Nilchi, A. H. Hassani and R. Saberi, "Application of chitosan/Al₂O₃ nano composite for the adsorption of thorium (IV) ion from aqueous solution", *Water Sci. Technol*, vol. 78, pp. 708–720, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5004/dwt.2018.21760>
- [19] R. Ahmad and A. Mirza, "Facile one pot green synthesis of chitosan-iron oxide (CS-Fe₂O₃) nanocomposite: removal of Pb(II) and Cd(II) from synthetic and industrial wastewater", *J. Clean. Prod.*, vol. 186, pp. 342–352, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.075>
- [20] M. Coronell, G. Toscano-Lucas, R. Solano and A. Herrera, "Green Synthesis of Silver-Doped Titanium Dioxide Nanostructures for Acetaminophen Degradation Under Solar Radiation", *Ingeniería Y Universidad*, vol. 26, pp. 1–19, 2022. DOI: <https://doi.org/10.11144/Javeriana.iued26.gsst>
- [21] R. A. Solano, L. D. De León, G. De Ávila and A. P. Herrera, "Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) adsorption from aqueous solution using chitosan beads modified with thiourea, TiO₂ and Fe₃O₄ nanoparticles", *Environ Technol Innov.*, vol. 21, pp. 1–15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101378>
- [22] R. A. Solano Pizarro and A. P. Herrera Barros, "Cypermethrin elimination using Fe-TiO₂ nanoparticles supported on coconut palm spathe in a solar flat plate photoreactor", *Advanced Composites Letters*, vol. 29, pp. 1–13, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1177/2633366X20906164>
- [23] M. Alagiri and S. B. A. Hamid, "Sol-gel synthesis of α-Fe₂O₃ nanoparticles and its photocatalytic application", *Sol-Gel Sci. Technol.*, vol. 74, pp. 783–789, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10971-015-3663-y>
- [24] M. B. Badry, M. A. Wahba, R. K. Khaled and M. Moawad, "Hydrothermally Assisted Synthesis of Magnetic Iron Oxide-Chitosan Nanocomposites: Electrical and Biological Evaluation", *Biointerface Res. Appl. Chem.*, vol. 12, pp. 2229–2241, 2022. DOI: <https://doi.org/10.33263/BRIAC122.22292241>
- [25] L. Vayssieres, C. Sathe, S. M. Butorin, D. K. Shuh, J. Nordgren and J. Guo, "One-Dimensional Quantum-Confinement Effect in α-Fe₂O₃ Ultrafine Nanorod Arrays", *Adv. Mater.*, vol. 17, pp. 2320–2323, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.200500992>
- [26] A. Badawi, E. M. Ahmed, N. Y. Mostafa, F. Abdel-Wahab and S. E. Alomairy, "Enhancement of the optical and mechanical properties of chitosan using Fe₂O₃ nanoparticles", *J. Mater. Sci. Mater. Electron*, vol. 28, pp. 10877–10884, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10854-017-6866-x>
- [27] N. I. M. Fauzi, Y. W. Fen, N. A. S. Omar, S. Saleviter, W. M. E. M. M. Daniyal, H. S. Hashim and M. Nasrullah, "Nanostructured chitosan/maghemite composites thin film for potential optical detection of mercury ion by surface plasmon resonance investigation", *Polymers*, vol. 12, pp. 1–13, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym12071497>
- [28] F. Chai, K. Li, C. Song and X. Guo, "Synthesis of magnetic porous Fe₃O₄/C/Cu₂O composite as an excellent photo-Fenton catalyst under neutral condition", *J Colloid Interface Sci*, vol. 475, pp. 119–125, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.04.047>
- [29] R. Khurram, Z. Wang, M. F. Ehsan, S. Peng, M. Shaffiq and B. Khan, "Synthesis and characterization of an α-Fe₂O₃/ZnTe heterostructure for photocatalytic degradation of Congo red, methyl orange and methylene blue", *RSC Adv.*, vol. 10, pp. 44997–45007, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0RA06866G>
- [30] M. A. Bhatti, A. A. Shah, K. F. Almaani, A. Tahira, A. D. Chandio, M. Willander, O. Nur, A. Q. Mugheri, A. L. Bhatti, B. Waryani, A. Nafady and Z. H. Ibupoto, "TiO₂/ZnO Nanocomposite Material for Efficient Degradation of Methylene Blue", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 21, pp. 2511–2519, 2021. DOI: <http://doi.org/10.1166/jnn.2021.19107>
- [31] A. Mendis, C. Thambiliyagodage, G. Ekanayake, H. Liyanaarachchi, M. Jayanetti and S. Vigneswaran, "Fabrication of Naturally Derived Chitosan and Ilmenite Sand-Based TiO₂/Fe₂O₃/Fe-N-Doped Graphitic Carbon Composite for Photocatalytic Degradation of Methylene Blue under Sunlight", *Molecules*, vol. 28, pp. 1–25, 2023. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules28073154>
- [32] Y. D. Shahamat, M. Sadeghi, A. Shahryari, N. Okhovat, F. B. Asl and M. M. Baneshi, "Heterogeneous catalytic ozonation of 2, 4-dinitrophenol in aqueous solution by magnetic carbonaceous nanocomposite: catalytic activity and mechanism", *Desalination and Water Treatment*, vol. 57, pp. 20447–20456, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1080/19443994.2015>
- [33] H. Zhang, J. Liu, T. Xu, W. Ji and X. Zong, "Recent Advances on Small Band Gap Semiconductor Materials (≤2.1 eV) for Solar Water Splitting", *Catalysts*, vol. 13, pp. 728, 2023. DOI: <http://doi.org/10.3390/catal13040728>
- [34] Y. D. Shahamat, M. Sadeghi, A. Shahryari, N. Okhovat, F. Bahrami and M. M. Baneshi, "Heterogeneous catalytic ozonation

- of 2,4-dinitrophenol in aqueous solution by magnetic carbonaceous nanocomposite: Catalytic activity and mechanism Desalin”, *Water Treat.*, vol. 57, pp. 20447–20456, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1115372>
- [35] S. Fassi, K. Djebbar, I. A-Bousnoubra, H. Chenini and T. Sehili, “Oxidation of bromocresol green by different advanced oxidation processes: Fenton, Fenton-like, photo-Fenton, photo-Fenton-like and solar light. Comparative study”, *Desalin. Water Treat.*, vol. 52, pp. 4982–4982, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.809971>
- [36] M. Shaban, M. R. Abukhadra, S. S. Ibrahim and M. G. Shahien, “Photocatalytic degradation and photo-Fenton oxidation of Congo red dye pollutants in water using natural chromite–response surface optimization”, *Appl. Water Sci.*, vol. 7, pp. 4743–4756, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13201-017-0637-y>
- [37] J. Shu, Z. Wang, Y. Huang, N. Huang, C. Ren and W. J. Zhang, “Adsorption Removal of Congo Red from aqueous solution by polyhedral Cu₂O nanoparticles: Kinetics, isotherms, thermodynamics and mechanism analysis”, *Alloys Compd.*, vol. 633, pp. 338–346, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2015.02.048>
- [38] K. A. Isai and V. S. Shrivastava, “Photocatalytic degradation of methylene blue using ZnO and 2%Fe–ZnO semiconductor nanomaterials synthesized by sol–gel method: a comparative study”, *SN Appl. Sci.*, vol. 1, pp. 1–11, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1279-5>
- [39] A. Hou, B. Hu and J. Zhu, “Photocatalytic Degradation of Methylene Blue over TiO₂ Pretreated with Varying Concentrations of NaOH”, *Catalysts*, vol. 8, pp. 1–13, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/catal8120575>
- [40] H. Selpiana, A. B. Aritonang, M. A. Wibowo, W. Warsidah and A. Adhitiawarman, “Photocatalytic Degradation Of Methylene Blue Using Fe₂O₃-TiO₂/Kaolinite Under Visible Light Illumination”, *JKPK*, vol. 7, pp. 277–286. DOI: <https://doi.org/10.20961/jkpk.v7i3.66567>

Article citation:

Desnelli, K. Ramadhina, D. Alfarado, Fatma, A. Mara and M. Said, “Methylene blue degradation using chitosan-Fe₂O₃ composite and photo-Fenton”, *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, no. 2, pp. 36–42, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n2.109625>



¹ Programas de Ingeniería Ambiental e Ingeniería Química de la Universidad Tecnológica de Bolívar. Cartagena, Colombia. dcastilla@utb.edu.co

² Escuela de Ingeniería Química, Universidad del Valle. Cali, Colombia. fiderman.machuca@correounivalle.edu.co

³ Facultad de Ingeniería, Universidad Tecnológica de Bolívar. Cartagena, Colombia. asmedina@utb.edu.co

⁴ Programa de Ingeniería Química, Universidad de Cartagena. Cartagena, Colombia. jcolinam@unicartagena.edu.co

*Autor para correspondencia: dcastilla@utb.edu.co

Recibido: 27/07/2023. Última revisión: 22/10/2023. Aceptado: 26/12/2023.

Modelamiento y simulación de reactores fotocatalíticos de película descendente: uso de la dinámica computacional de fluidos (CFD) para análisis del sistema multifásico

Resumen

La dinámica computacional de fluidos (CFD) se perfila como una herramienta apropiada para el modelamiento de procesos fotocatalíticos heterogéneos, pues permite considerar simultáneamente los diferentes fenómenos físicos trascendentes de los procesos. En el presente estudio se empleó el software COMSOL Multiphysics para modelar el régimen de flujo y determinar la distribución de las partículas de catalizador en un reactor fotocatalítico de película descendente, hecho relevante para determinar la eficiencia del reactor. Las simulaciones del reactor fueron realizadas con el módulo de Mezclas de COMSOL, en un régimen de flujo turbulento empleando el enfoque de RANS. Se detectaron siete zonas definidas con un perfil particular de concentración de catalizador en toda el área de la película, para las cuales se estimó la absorción fotónica en el reactor con el modelo de seis flujos (SFM). De ello se obtuvo que existe una diferencia de más del 20% entre el mayor y el menor valor del promedio de la absorción fotónica en el área reactiva, con lo que se puede esperar que la variación en la degradación de los contaminantes en estas zonas oscile entre el 10 y el 20%, lo cual debe tenerse en cuenta para la aplicabilidad de la tecnología.

Palabras clave: fotocatalísis; CFD; reactor de película descendente; sistema multifase.

Modeling and simulation of falling film photocatalytic reactors: use of computational fluid dynamics (CFD) for multiphase system analysis

Abstract

Computational fluid dynamics (CFD) is emerging as an appropriate tool for modeling heterogeneous photocatalytic processes, since it allows simultaneous consideration of the different physical phenomena involved in the processes. In the present study, COMSOL Multiphysics software was used to model the flow regime and to determine the distribution of catalyst particles in a falling film photocatalytic reactor, which is relevant to determine the reactor efficiency. The reactor simulations were performed with the COMSOL Mixture module in a turbulent flow regime using the RANS approach. Seven defined zones were detected having a particular catalyst-concentration profile over the entire film area, for which the photonic absorption in the reactor was estimated with the six-flux model (SFM). From this it was obtained that there is a difference of more than 20% between the highest and the lowest value of the average photonic absorption in the reactive area, so it can be expected that the variation in the degradation of pollutants in these zones ranges between 10 and 20%, which should be taken into account for the applicability of the technology.

Keywords: photocatalysis; CFD; falling film reactor; multiphase system.

Modelagem e simulação de reatores fotocatalíticos de filme descendente: uso da dinâmica de fluidos computacional (CFD) para análise de sistemas multifásicos

Resumo

A Dinâmica de Fluidos Computacional (CFD) surgiu como uma ferramenta adequada para modelar processos fotocatalíticos heterogêneos, pois permite que os diferentes fenômenos físicos dos processos sejam considerados simultaneamente. No presente estudo, o software COMSOL Multiphysics foi usado para modelar o regime de fluxo e determinar a distribuição de partículas de catalisador em um reator fotocatalítico de filme descendente, o que é relevante para determinar a eficiência do reator. As simulações do reator foram realizadas com o módulo COMSOL Mixtures, em um regime de fluxo turbulento usando a abordagem RANS. Sete zonas definidas com um perfil específico de concentração de catalisador foram detectadas em toda a área do filme, para as quais a absorção fotônica no reator foi estimada com o modelo de seis fluxos (SFM). A partir disso, verificou-se que há uma diferença de mais de 20% entre o valor mais alto e o mais baixo da absorção fotônica média na área reativa, de modo que a variação na degradação de poluentes nessas zonas pode variar entre 10 e 20%, o que deve ser levado em conta para a aplicabilidade da tecnologia.

Palavras-chave: fotocatalíse; CFD; reator de filme descendente; sistema multifásico.



Introducción

La fotocatalisis heterogénea se ha mostrado como una tecnología promisoría para la degradación de contaminantes emergentes presentes en aguas residuales, que son de alto riesgo para la salud pública mundial [1]. La aplicación de esta tecnología es efectiva gracias a que genera y usa especies altamente oxidantes, las cuales son muy reactivas, no selectivas y capaces de degradar componentes nocivos [2]. Este proceso también es aplicable a la remediación ambiental, a la síntesis orgánica, a la producción de hidrógeno, entre otras [3–5]. Para llevar a cabo la aplicación a gran escala de esta tecnología con mayor precisión y confiabilidad, se han hecho esfuerzos ingentes en el modelado de los sistemas fotocatalíticos [6–9]. Es importante realizar un modelamiento del sistema en el que se consideren los fenómenos físicos trascendentales del proceso, especialmente para aquellos reactores con presencia de catalizador particulado no soportado, los cuales presentan la dificultad de que las partículas producen efectos complejos asociados a la dispersión de la luz y a la transferencia fotónica y de masa [1, 5].

La dinámica computacional de fluidos (CFD) se ha estado perfilando como una herramienta útil para el modelamiento y simulación de sistemas complejos [10], en los que intervienen simultáneamente varios procesos físicos, como lo es el presente caso de estudio. Algunos trabajos relacionados con el modelamiento de los reactores fotocatalíticos tienen en cuenta ciertos supuestos, entre los que se destaca que hay una distribución isotrópica del material sólido catalítico en los reactores [11], que se pueden evitar al aplicar las herramientas de CFD. Por otra parte, se tiene la aplicación de las herramientas CFD para diferentes tipos de reactores, como se muestra en la **figura 1**, entre los cuales también se hace necesario incluir el reactor de película descendente, el cual tiene por ventaja que puede aprovechar la luz solar [11] y el oxígeno en campo abierto. Entender cómo se distribuyen las partículas del catalizador a lo largo y ancho de la placa de este tipo de reactores, por medio de herramientas CFD, permitiría tomar decisiones importantes asociadas al diseño y operación del reactor a escalas mayores, especialmente cuando algunos fenómenos presentes en el proceso son difíciles de analizar experimentalmente [10].

Año	Título del trabajo	Datos destacados
2023	Multiphysics computational fluid dynamics (CFD) modelling of diclofenac amide removal by photocatalytic oxidation on Fe-TiO ₂ /N-TiO ₂ thin films microreactor	Se empleó un reactor de micro-rrendija. Se predijo la constante adsorción y la constante cinética aparente.
	Photocatalytic degradation of ethylene in tubular microreactor coated with thin-film of TiO ₂ : Mathematical modeling with experimental validation and geometry analysis using computational fluid dynamics simulations	Se empleó un reactor cilíndrico convencional y un reactor cilíndrico anular. Se encontró que cambiar la geometría del reactor afecta el proceso cuando se desea un escalado u optimización. El modelo desarrollado permitió simular la degradación del etileno y obtener información sobre conversión y selectividad.
2020	CFD + DoE optimization of a flat plate photocatalytic reactor applied to NO _x abatement	Se realizó la optimización de un reactor de placa plana mediante CFD y DoE. Se simuló la distribución de la luz en el reactor de placa plana.
	Three-dimensional CFD modelling of a photocatalytic parallel-channel microreactor	Se empleó un micro-reactor de canales paralelos. Se estimaron la constante cinética y de adsorción.

Figura 1. Trabajos más recientes de dinámica computacional de fluidos (CFD) aplicada a sistemas fotocatalíticos.

En el presente trabajo se consideró como tema de estudio la distribución de las partículas de catalizador en un reactor fotocatalítico de película descendente. Este reactor es de gran utilidad para el tratamiento de muchos contaminantes, dado que es de fácil construcción, bajo costo y tiene una zona alta de iluminación con alta relación de superficie por unidad de volumen [11], lo que favorece el desarrollo de todas las reacciones claves del proceso. En la literatura se muestra que este tipo de reactor es atractivo para aplicaciones relevantes y actuales en la descontaminación de aguas [8, 12–16]. Por su parte, en la literatura se reporta cada vez más que el uso de las herramientas CFD para el modelado de sistemas fotocatalíticos heterogéneos es útil para la toma de decisiones asociadas a la geometría del sistema, conversión, constantes cinéticas y otros parámetros importantes, que mejoran el rendimiento del proceso (ver **figura 1**). De manera análoga, el análisis de reactores como el de película descendente con herramientas de la dinámica computacional de fluidos se considera pertinente, especialmente en la predicción de la distribución de las partículas en el reactor, la cual afecta la eficiencia de este.

En la **figura 2** se muestra el reactor de película descendente tomado como base para realizar las simulaciones. Este reactor consta de una placa plana alimentada por un sistema de tuberías que finaliza con un distribuidor perforado. La suspensión (contaminante + catalizador), expuesta al sol, recircula por el sistema hasta que se alcanza cierto grado de degradación del contaminante.

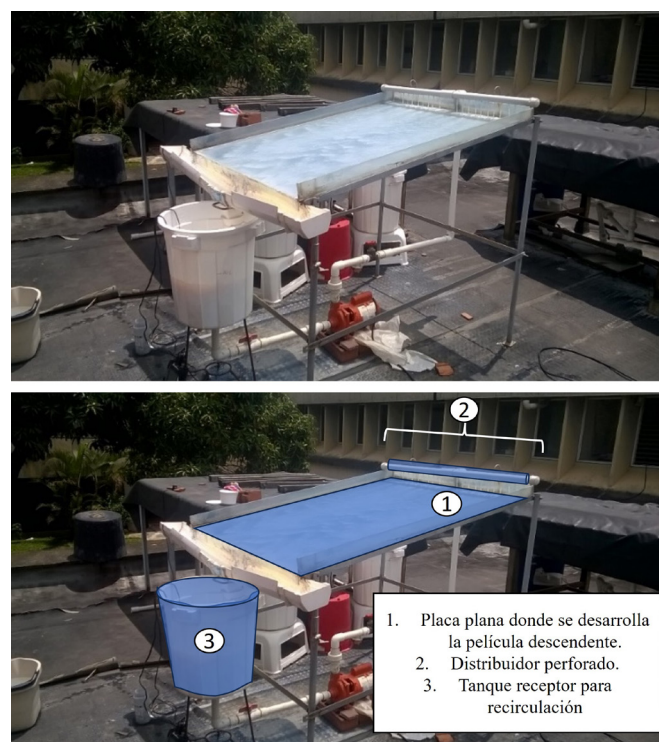


Figura 2. Componentes del reactor fotocatalítico solar de película descendente de la Universidad del Valle tomado para realizar las simulaciones.

En las estrategias de modelado que aparecen en algunos trabajos [17, 18], se supone que la concentración del catalizador es homogénea dentro del sistema debido a las condiciones de turbulencia en que suelen operar los reactores fotocatalíticos. La concentración del catalizador afecta directamente el perfil de absorción de fotones en el reactor, el cual define en gran manera la velocidad de la reacción fotocatalítica. De manera que, si no se estima correctamente la distribución del catalizador en el sistema, los parámetros cinéticos reportados no pueden ser definitivos a la hora de hacer el escalamiento de la tecnología.

En el presente trabajo se realizó la simulación del flujo hidrodinámico de un reactor fotocatalítico de película descendente, como el mostrado en la **figura 2**, empleando el software COMSOL Multiphysics. Este software tiene varios módulos que permiten simular sistemas multifásicos como el que se tiene en el presente trabajo (partículas de catalizador en agua), con lo cual se pudo estimar la distribución de las partículas de catalizador en la zona iluminada del reactor. Se empleó el enfoque de mezclas para tratar el sistema bifásico, el cual es adecuado para representar suspensiones formadas por partículas sólidas inmersas en un líquido. Finalmente, después de obtener el perfil de concentración en la película, se estimó la absorción fotónica en el reactor de película descendente mediante el acople de las herramientas de CFD con el modelo de seis flujos (SFM), el cual es nuestro objetivo principal.

Estrategia de modelado y simulación

Modelado matemático del campo hidrodinámico

Dentro de los paquetes que ofrece COMSOL para el modelado de sistemas multifásicos, se encuentran el módulo de Particle Tracing (rastreo de partículas), el Mixture Module (módulo de mezcla) y el Euler-Euler Module (modelo Euler-Euler). Como primera opción se optó por el módulo de Particle Tracing, con el cual se resolvió la segunda ley de Newton para cada partícula, teniendo en cuenta las diferentes fuerzas a las que se someten en el sistema (enfoque Lagrangiano). Sin embargo, debido a que el número de partículas de catalizador en un sistema como el que aparece en la **figura 2** suele ser extremadamente elevado (p. ej., para 20 L de suspensión con una carga común de 1 g/L de TiO_2 , se tienen aproximadamente $4,72 \times 10^{11}$ partículas), los tiempos computacionales para completar la simulación también son muy altos. Como alternativa aparece el modelo de tipo Euleriano, mediante el cual se consideran ambas fases como fluidos continuos e interpenetrantes, y a partir del cual se resuelven las ecuaciones de momento para cada una de las fases empleando modelos analíticos y empíricos para la estimación de la viscosidad de la mezcla bifásica. De igual manera, se encuentra el módulo de mezcla (Mixture module), el cual es una versión simplificada del modelo Euler-Euler. Este módulo tiene la ventaja de que requiere menos recursos computacionales debido a que resuelve una sola ecuación de momento para la mezcla. Además, permite determinar la concentración promedio de cada fase en el sistema, lo cual es uno de los objetivos del presente trabajo.

Para la simulación se consideraron dos sistemas: el distribuidor perforado y la placa plana. Se encontraron los perfiles de velocidades y de la concentración de catalizador en la salida del distribuidor, los cuales sirvieron como condiciones de entrada para la placa (ver **figura 2**). Debido a que el régimen de flujo en ambos equipos (distribuidor y placa) fue turbulento, y a que se empleó el modelo de mezcla para el tratamiento multifásico, se empleó el módulo de mezcla-turbulento de COMSOL para realizar las simulaciones, el cual permite emplear el enfoque RANS para calcular la contribución fluctuante asociada al flujo turbulento en cada una de las variables, mediante el bien conocido modelo κ - ϵ .

Con el enfoque del modelo de mezcla se resolvieron las ecuaciones

de Navier-Stokes para determinar el momento de la mezcla [10]; la velocidad de la fase dispersa (sólida en nuestro caso) se describe mediante un modelo de deslizamiento y los efectos de turbulencia se modelaron con el bien conocido enfoque κ - ϵ .

El modelo se basa en las siguientes suposiciones:

- La densidad de cada fase es aproximadamente constante.
- Ambas fases se encuentran bajo el mismo campo de presión.
- La velocidad relativa de ambas fases se determina asumiendo un balance entre el gradiente de presión y el arrastre viscoso.
- El tiempo de relajación es corto comparado con la escala de tiempo del flujo macroscópico.

Debido a las propiedades de las partículas del TiO_2 (relación de la densidad de la fase dispersa respecto a la del medio continuo: $\rho_d/\rho_c \approx 4$, y diámetro de las partículas (clusters): $d_d = 1,1 \times 10^{-6}$ m), se espera que la longitud característica de la aceleración de la partícula en el agua sea varios órdenes de magnitud menor que las dimensiones del sistema que estamos modelando (diámetro de la tubería: $2,8 \times 10^{-2}$ m, espesor de la película: $1 \times 10^{-3} - 1,5 \times 10^{-3}$, ancho de la placa: 0,5 m, largo de la placa: 1,25 m) [19]. Esta condición garantiza que se alcance un equilibrio local entre las fases en escalas de longitud espacial cortas [19]. Por lo tanto, teniendo en cuenta lo reportado por Ling *et al.*, las asunciones del modelo de mezcla se justifican completamente [19].

La ecuación de momento para la mezcla en condiciones de estado estacionario es:

$$\rho(\mathbf{u} \cdot \nabla)\mathbf{u} = -\nabla p - \nabla \cdot \boldsymbol{\tau}_{Gm} + \mathbf{F} - \nabla \cdot \left[\rho c_d(1 - c_d) \left(\mathbf{u}_{slip} - \frac{D_{md}}{(1 - c_d)\phi_d} \nabla \phi_d \right) \left(\mathbf{u}_{slip} - \frac{D_{md}}{(1 - c_d)\phi_d} \nabla \phi_d \right)^T \right] \quad (1)$$

En donde \mathbf{u} es el vector que representa la velocidad de la mezcla promediada en la masa (m/s); ρ es la densidad (kg/m^3); p es la presión (Pa); $\boldsymbol{\tau}_{Gm}$ es la suma de los esfuerzos turbulentos y viscosos ($\text{kg}/(\text{m} \times \text{s}^2)$); \mathbf{F} representa a las fuerzas volumétricas adicionales en el sistema, en este caso, se incluye la fuerza de la gravedad; c_d es la fracción másica de la fase dispersa (kg/kg); \mathbf{u}_{slip} es el vector de velocidad relativa entre las dos fases (m/s); ϕ_d simboliza la fracción volumétrica de la fase dispersa (m^3/m^3); T indica la traspuesta del vector; D_{md} es el coeficiente de dispersión turbulenta y ∇ es el operador gradiente. Cabe anotar que, para el caso del distribuidor, la fuerza de la gravedad se define de manera convencional; sin embargo, para el caso de la placa plana, debido a que esta cuenta con una inclinación respecto a la horizontal, la fuerza de gravedad por unidad de volumen se escribe como $\rho g \sin \theta$, en donde θ es el ángulo de inclinación de la placa respecto a la horizontal.

Por su parte, el vector \mathbf{u} se define a su vez como:

$$\mathbf{u} = \frac{\phi_c \rho_c \mathbf{u}_c + \phi_d \rho_d \mathbf{u}_d}{\rho} \quad (2)$$

En donde \mathbf{u}_c es el vector velocidad de la fase continua; \mathbf{u}_d es el vector velocidad de la fase dispersa; ϕ_c simboliza la fracción volumétrica de la fase continua (m^3/m^3) y ϕ_d , como se anotó anteriormente, representa la fracción volumétrica de la fase dispersa; mientras que ρ_c , ρ_d y ρ representan la densidad de la fase continua, de la fase dispersa y de la mezcla, respectivamente.

Por su parte, la relación entre las velocidades de las dos fases viene dada por:

$$\mathbf{u}_d - \mathbf{u}_c = \mathbf{u}_{slip} - \frac{D_{md}}{(1 - c_d)\phi_d} \nabla \phi_d \quad (3)$$

En donde \mathbf{u}_{slip} indica la velocidad relativa entre las dos fases y $D_{m,d}$ es el coeficiente de dispersión turbulenta, el cual representa la difusión adicional debida a los remolinos turbulentos.

La densidad (ρ) de la mezcla se expresa así:

$$\rho = \phi_c \rho_c + \phi_d \rho_d \quad (4)$$

Mientras que la fracción másica (c_d) de la fase dispersa es:

$$c_d = \frac{\phi_d \rho_d}{\rho} \quad (5)$$

La suma de los esfuerzos viscosos y turbulentos (τ_{Gm}) es:

$$\tau_{Gm} = (\mu + \mu_T) [\nabla \mathbf{u} + \nabla \mathbf{u}^T] \quad (6)$$

En donde μ es la viscosidad de la mezcla y μ_T es la viscosidad de remolino, las cuales tienen unidades de $\text{Pa} \times \text{s}$.

Por otra parte, teniendo en cuenta la suposición del modelo de mezcla de que las densidades de las fases son constantes, y considerando la ecuación de continuidad para la mezcla, la ecuación de transporte para la fracción volumétrica de la fase dispersa es:

$$(\rho_c - \rho_d) [\nabla \cdot (\phi_d (1 - c_d) \mathbf{u}_{\text{slip}} - D_{m,d} \nabla \phi_d)] + \rho_c (\nabla \cdot \mathbf{u}) = 0 \quad (7)$$

Por su parte, para estado estacionario, la velocidad relativa entre las fases \mathbf{u}_{slip} se puede estimar con la siguiente ecuación:

$$\frac{3}{4} \frac{C_d}{d_d} \rho_c |\mathbf{u}_{\text{slip}}| \mathbf{u}_{\text{slip}} = \frac{(\rho - \rho_d)}{\rho} \left(-(\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} + \mathbf{g} + \frac{\mathbf{F}}{\rho} \right) \quad (8)$$

En donde C_d es el coeficiente de arrastre, d_d es el diámetro de la partícula (fase dispersa) y \mathbf{g} es la gravedad. Esta ecuación representa un balance entre la fuerza de arrastre y empuje que actúan sobre la fase dispersa. Además, el coeficiente de arrastre se puede estimar con el modelo de Schiller-Naumann, el cual es adecuado para mezclas bifásicas conformadas por partículas sólidas inmersas en un líquido, en las cuales el número de Re es elevado:

$$C_d = \begin{cases} \frac{24}{\text{Re}_p} (1 + 0.15 \text{Re}_p^{0.687}), & \text{Re}_p < 1000 \\ 0.44, & \text{Re}_p \geq 1000 \end{cases} \quad (9)$$

Donde Re_p es el número de Reynolds de la partícula:

$$\text{Re}_p = \frac{d_d \rho_c |\mathbf{u}_{\text{slip}}|}{\mu} \quad (10)$$

Vale la pena mencionar que la correlación de Schiller-Naumann se ha empleado antes de manera satisfactoria en la simulación de reactores fotocatalíticos que emplean partículas sólidas de TiO_2 como catalizador [20]. Si bien el modelo de Morsi y Alexander es más completo para el coeficiente de arrastre [5], este no aparece en las opciones de COMSOL y no siempre parece representar bien los datos experimentales [21]. Por su parte, se han reportado mejores ajustes a los datos experimentales con la correlación de Schiller-Naumann, con respecto a la de Haider y Levenspiel, en condiciones bajas de fracción volumétrica y velocidades de flujo [22], los cuales, en el presente manuscrito, toman valores mucho más bajos.

El modelo de mezcla es una versión más sencilla del enfoque Euleriano-Euleriano, en el cual se consideran ambas fases como fluidos interpenetrantes. Sin embargo, en la literatura no se reportan datos de viscosidades newtonianas para fluidos interpenetrantes. En su lugar, se pueden encontrar modelos analíticos y empíricos para estimar la viscosidad dinámica de la mezcla bifásica, los cuales aparecen en función de la fracción volumétrica de la fase dispersa. Uno de los modelos más aceptados para la estimación de la viscosidad de la mezcla (μ) es el enfoque de Krieger, el cual se muestra a con-

tinuación:

$$\mu = \mu_c \left(1 - \frac{\phi_d}{\phi_{\text{máx}}} \right)^{-2.5 \phi_{\text{máx}} \mu^*} \quad (11)$$

En donde $\phi_{\text{máx}}$ es la concentración máxima de empaquetamiento y μ_c es la viscosidad de la fase continua. Para partículas sólidas, $\phi_{\text{máx}}$ y μ^* (el parámetro adimensional del modelo) toman los valores de 0,62 y 1, respectivamente.

Por otra parte, el fenómeno de la turbulencia se modela con el enfoque κ - ε , con el cual se resuelven dos ecuaciones adicionales, una para la energía cinética turbulenta (κ), con unidades de m^2/s^2 , y la otra para la velocidad de disipación de la energía cinética turbulenta (ε), con unidades de m^2/s^3 .

La ecuación de variación para κ es:

$$\rho \mathbf{u} \cdot \nabla \kappa = \nabla \cdot \left(\left(\mu + \frac{\mu_T}{\sigma_\kappa} \right) \nabla \kappa \right) + P_\kappa - \rho \varepsilon \quad (12)$$

En donde ∇ , como se mencionó anteriormente, es el operador gradiente; μ_T es la viscosidad turbulenta o de remolino; σ_κ es el número de Prandtl turbulento para κ , que toma un valor de 1,0; mientras que el término de producción (P_κ) es:

$$P_\kappa = \mu_T \left(\nabla \mathbf{u} : (\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T) - \frac{2}{3} (\nabla \cdot \mathbf{u})^2 \right) - \frac{2}{3} \rho \kappa \nabla \cdot \mathbf{u} \quad (13)$$

Por su parte, la variación de ε se determina con:

$$\rho \mathbf{u} \cdot \nabla \varepsilon = \nabla \cdot \left(\left(\mu + \frac{\mu_T}{\sigma_\varepsilon} \right) \nabla \varepsilon \right) + C_{\varepsilon 1} \frac{\varepsilon}{\kappa} P_\kappa - C_{\varepsilon 2} \rho \frac{\varepsilon^2}{\kappa} \quad (14)$$

En donde σ_ε es el número de Prandtl turbulento para ε , que toma un valor de 1,3; mientras que $C_{\varepsilon 1}$ y $C_{\varepsilon 2}$ son coeficientes empíricos del modelo, cuyos valores son respectivamente 1,44 y 1,92. Además, la viscosidad turbulenta (μ_T) o de remolino, se estima con la siguiente expresión:

$$\mu_T = \rho C_\mu \frac{\kappa^2}{\varepsilon} \quad (15)$$

En donde la constante C_μ toma el valor de 0,09.

Finalmente, el coeficiente de dispersión turbulenta ($D_{m,d}$) se define como:

$$D_{m,d} = \frac{\mu_T}{\rho \sigma_T} \quad (16)$$

En donde σ_T es el número de Schmidt turbulento de la partícula, para el cual se sugieren valores entre 0,35 y 0,7. Para la realización de las simulaciones de este manuscrito, se empleó el valor predefinido del software de 0,35 [23].

Modelado matemático del campo radiante

Por otra parte, para determinar la absorción fotónica dentro de la placa plana, se debe resolver la ecuación de transferencia radiante (ETR) en el sistema:

$$\frac{dI_{\Delta\lambda}(s, \Omega)}{ds} = -\kappa_{\Delta\lambda} I_{\Delta\lambda}(s, \Omega) - \sigma_{\Delta\lambda} I_{\Delta\lambda}(s, \Omega) + \frac{1}{4\pi} \sigma_{\Delta\lambda} \int_0^{4\pi} p(\Omega' \rightarrow \Omega) I_{\Delta\lambda}(s, \Omega') d\Omega' \quad (17)$$

En donde I representa la intensidad de radiación fotónica en el intervalo de longitudes de onda de interés, $\Delta\lambda$; s es la dirección y Ω el ángulo a través de los cuales viaja el haz de fotones. Por su parte, el primer sumando del lado derecho de la ecuación representa la cantidad de energía que se absorbe en el volumen de control, en el intervalo de longitudes de onda de interés, siendo κ el coeficiente de absorción; el segundo sumando indica la cantidad de energía que

se disipa por el fenómeno de dispersión hacia fuera (o *scattering*) del volumen de control, siendo $\sigma_{\Delta\lambda}$ el coeficiente de dispersión en el intervalo de longitudes de onda de interés; y el tercer sumando indica la cantidad de energía que gana el sistema por la dispersión hacia dentro del sistema, siendo $p(\Omega' \rightarrow \Omega)$ una función de fase que indica la probabilidad de incidencia de los fotones sobre el elemento de dirección ds.

La ETR se puede resolver mediante el bien conocido método de los seis flujos [24–26], el cual tiene los siguientes supuestos:

- El fluido no absorbe radiación de la longitud de onda de interés.
- El sistema heterogéneo no emite fotones.
- Sólo ocurren fenómenos de absorción y dispersión (*scattering*) al momento de interactuar los fotones con las partículas de catalizador.
- La dispersión ocurre a lo largo de las seis direcciones del plano cartesiano, de ahí el nombre de modelo de seis flujos (**figura 3**).

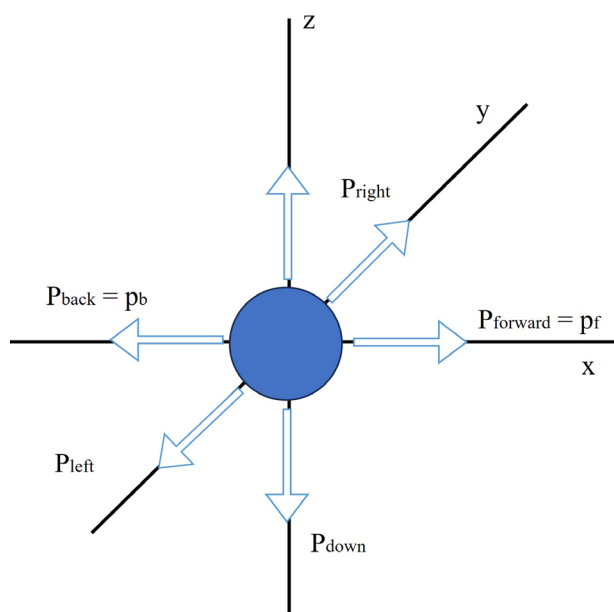


Figura 3. Direcciones de desviación de los fotones de acuerdo al SFM (modelo de seis flujos) para modelar el campo radiante. P_{up} , P_{down} , P_{right} , P_{left} , $P_{forward}$ y P_{back} representan respectivamente las probabilidades de dispersión de los fotones hacia arriba, abajo, derecha, izquierda, adelante y atrás, conforme a las direcciones del plano cartesiano. Tomado de [24], con permiso de John Wiley and Sons.

Estos supuestos se han validado previamente de manera satisfactoria en el modelado global de reactores fotocatalíticos de diferentes configuraciones [7, 27] y, teniendo en cuenta el planteamiento original del SFM, son especialmente válidos para reactores de placa plana como el que se estudia en el presente trabajo [24].

Las ecuaciones del SFM son:

$$LVRPA = \frac{I_0}{\lambda_{\omega_{corr}} \omega_{corr} (1 - \gamma)} \left[\left(\omega_{corr} - 1 + \sqrt{1 - \omega_{corr}^2} \right) e^{-x/\lambda_{\omega_{corr}}} + \gamma \left(\omega_{corr} - 1 - \sqrt{1 - \omega_{corr}^2} \right) e^{x/\lambda_{\omega_{corr}}} \right] \quad (18)$$

En donde LVRPA es la velocidad local de absorción de fotones; I_0 (en unidades de W/m^2) representa la intensidad de radiación que incide sobre la película en la placa; $\lambda_{\omega_{corr}}$ representa un tipo de longitud de extinción característica; x es la coordenada de dirección de los fotones entrantes; y ω_{corr} simboliza el albedo de dispersión corregido, el cual se define como:

$$\omega_{corr} = \frac{b}{a} \quad (19)$$

Donde

$$a = 1 - \omega p_f - \frac{4\omega^2 p_s^2}{1 - \omega p_f - \omega p_b - 2\omega p_s} \quad (20)$$

$$b = \omega p_b + \frac{4\omega^2 p_s^2}{(1 - \omega p_f - \omega p_b - 2\omega p_s)} \quad (21)$$

Donde ω es el albedo de dispersión y se define por medio de la Ec. (22); mientras que p_f , p_b y p_s representan las probabilidades de dispersión de los fotones hacia adelante, atrás y hacia los lados en el sistema, cuyos valores, respectivamente, se tomaron como 0,11; 0,710 y 0,045, considerando una función de fase del tipo esfera grande con reflexión difusa.

$$\omega = \frac{\sigma}{\sigma + \kappa} \quad (22)$$

En donde σ y κ son los coeficientes másicos de dispersión y absorción promediados en la zona del espectro electromagnético en la que catalizador es activo (385–295 nm para el TiO_2 Aeroxide-P25), los cuales tienen los siguientes valores: $\sigma = 1295,75 \text{ m}^2/\text{kg}$, $\kappa = 174,75 \text{ m}^2/\text{kg}$ [27]. γ es un parámetro adimensional, definido por la Ec. (23), el cual resulta de la agrupación de términos como el albedo de dispersión y el camino óptico aparente, en la solución de la ecuación diferencial resultante del SFM:

$$\gamma = \frac{1 - \sqrt{1 - \omega_{corr}^2}}{1 + \sqrt{1 - \omega_{corr}^2}} \exp(-2\tau_{app}) \quad (23)$$

Los otros parámetros del SFM se estiman como se muestra a continuación:

$$\lambda_{\omega_{corr}} = \frac{1}{a(\sigma + \kappa) c_{cat} \sqrt{1 - \omega_{corr}^2}} \quad (24)$$

$$\tau_{app} = a\tau \sqrt{1 - \omega_{corr}^2} \quad (25)$$

$$\tau = (\sigma + \kappa) c_{cat} \delta_{SFM} \quad (26)$$

En donde C_{cat} es la concentración del catalizador; τ y τ_{app} representan el espesor óptico y el espesor óptico aparente; mientras que δ_{SFM} es el espesor de la película líquida.

La LVRPA debe aparecer explícitamente en la ecuación cinética fotocatalítica, ya que la generación de los radicales oxidantes responsables de la degradación de los contaminantes, depende de la absorción fotónica por parte del catalizador.

Geometría

En el modelo se consideraron dos sistemas: la tubería y la placa plana, ambos se ilustran en las **figuras 4 y 5**. La tubería, de 1 pulgada nominal de diámetro (0,028 m), incluía una sección de entrada de 7 cm de largo, un codo de 90°, una sección de tubería de 14 cm de largo ubicada después del codo, y una tubería perforada de 50 cm, la cual tenía diez agujeros de 1/4" de diámetro (0,00635 m). Sólo se modeló medio sistema porque el plano xy es un plano de simetría (ver **figura 4**).

Cabe mencionar que las perturbaciones que se generan por la presencia de un codo y una tee (T) en la sección precedente al distribuidor perforado pueden afectar notablemente el campo de velocidades del fluido dentro del distribuidor. De esta manera, para modelar acertadamente la distribución del campo de velocidades en la entrada del mismo, fue necesario realizar un análisis en tres dimen-

siones en donde se consideraron estos accesorios. Además, debido a que al emplear un modelo de dos dimensiones se considera que la tubería es infinita en la dirección que va fuera del plano (fuera del papel), se tendrían problemas de continuidad en los agujeros del distribuidor, teniendo en cuenta que su área transversal es diferente a la de la sección de entrada del flujo.

Por otra parte, como el espesor de película para la operación de este tipo de reactores generalmente está entre 1 y 1,5 mm [28], se decidió hacer la simulación de la placa en dos dimensiones, considerando que, debido al flujo turbulento, las capas límites de velocidad y concentración que se encuentran de manera ortogonal a la placa tendrán un perfil más plano; mientras que a lo ancho de la placa es más difícil lograr un mezclado completo. Se tuvo en cuenta, además, que la velocidad y la fracción volumétrica del catalizador no son uniformes en los agujeros del distribuidor que alimentan a la placa, como se puede constatar con los resultados obtenidos (ver, por ejemplo, **tabla 1**).

Vale la pena mencionar que con la simulación 2D no es explícita la condición de no deslizamiento en la superficie de la placa ni los esfuerzos cortantes que pueda generar el viento encima de la placa. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, el régimen de flujo turbulento hace que el perfil de velocidades en el eje y (aqueel asociado al espesor de la película líquida) no tenga gradientes tan pronunciados como en un perfil laminar, lo cual está acorde con lo reportado por otros investigadores [11, 29, 30]. De esta manera, y teniendo en cuenta que existe una mayor fuente de perturbación a lo ancho de la placa debido a la presencia de agujeros en el distribuidor que alimenta el fluido a la placa, con su respectiva variación de flujo; la física a lo ancho de la placa se considera más relevante.

Ahora bien, adicional al hecho de que con la simulación 2D se ahorran muchos esfuerzos computacionales, otros investigadores que han trabajado en películas descendentes han promediado la velocidad en la dirección y (aquella ortogonal a la superficie de la placa) y analizan el comportamiento de esta velocidad promediada a lo ancho de la placa, debido a que existen mayores gradientes en tal dirección [30]. Esto ocurre a pesar de que el mecanismo de alimento del fluido a la placa es más homogéneo en comparación con el nuestro, el cual tiene una distribución a partir de tubería perforada. Por ello, en este trabajo el análisis de la velocidad es especialmente importante a lo ancho de la placa. Finalmente, en cuanto a los esfuerzos cortantes del viento, vale la pena mencionar que se asume una atmósfera estancada para la realización de las simulaciones, condición que ha sido aceptable en el modelado de reactores fotocatalíticos [11].

Por lo tanto, la geometría para la placa plana consistió en una zona rectangular de 50 cm de ancho y 1,25 m de largo. En la parte superior cuenta con diez segmentos de líneas por medio de las cuales se asumió que ingresaba el fluido. En este caso, también se modeló medio sistema porque en $x = 0$ se tenía una línea de simetría (ver **figura 5**).

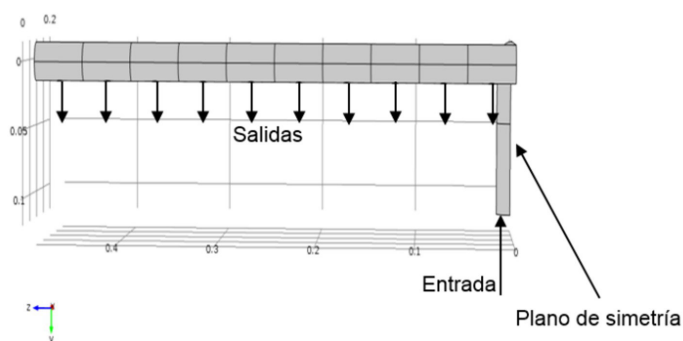


Figura 4. Geometría empleada para modelar el distribuidor perforado.

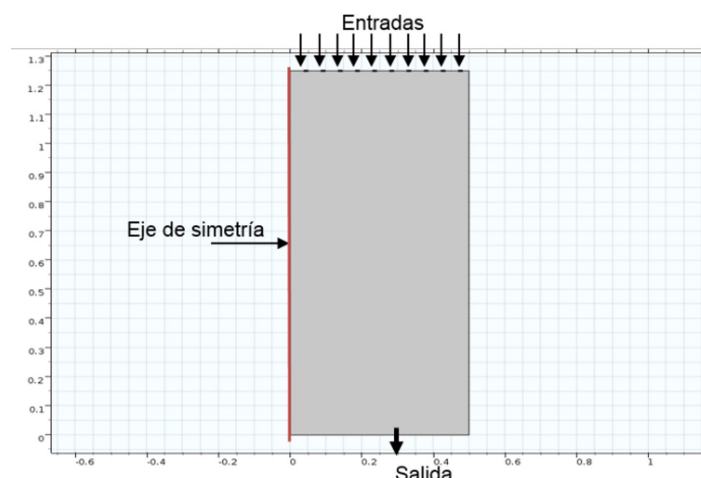


Figura 5. Geometría empleada para modelar el reactor de placa plana.

Condiciones de frontera

• Zona de entrada:

$$\mathbf{u} = -U_0 \mathbf{n} \quad (27)$$

$$\kappa = \frac{3}{2} (U_0 I_T)^2 \quad (28)$$

$$\varepsilon = \frac{C_\mu^{3/4} \kappa^{3/2}}{L_T} \quad (29)$$

$$\Phi_d = \Phi_{d0} \quad (30)$$

En donde \mathbf{u} , κ y ε simbolizan el vector velocidad, la energía cinética turbulenta y la velocidad de disipación de la energía cinética turbulenta, como se mencionó anteriormente; U_0 es la velocidad promedio en la entrada de la tubería o en cada una de las entradas de la placa; \mathbf{n} es el vector normal unitario; I_T y L_T representan la intensidad de la turbulencia y la longitud de escala de la turbulencia, las cuales se definen más adelante; Φ_d es la fracción volumétrica de la fase dispersa y Φ_{d0} es la fracción volumétrica en la entrada.

• Zona de salida: para evitar dificultades en la convergencia, y teniendo en cuenta que para la condición de frontera en la entrada se especificó la velocidad; en el caso de la condición de frontera en la zona de salida se especificó, por su parte, la presión. De esta manera, la condición es que el esfuerzo normal se aproxima al valor de la presión, como se indica en la siguiente ecuación. Ahora bien, dado que la salida del fluido es hacia el ambiente exterior, la presión en la zona de salida es la presión atmosférica, en cuyo caso la presión manométrica es cero, como se muestra en la Ec. (31):

$$\mathbf{n}^T \left[-p\mathbf{I} + (\mu + \mu_T) \left(\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T - \frac{2}{3} (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbf{I} - \frac{2}{3} \rho \kappa \mathbf{I} \right) \right] \mathbf{n} = 0 \quad (31)$$

• Zona de simetría: teniendo en cuenta la configuración del sistema, se añadió esta condición de frontera en la simulación en COMSOL, con la cual se garantiza la ausencia de penetración y la desaparición del esfuerzo tangencial:

$$\mathbf{u} \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (32)$$

$$-\mathbf{n} \cdot (\Phi_d \mathbf{u}_d) = 0 \quad (33)$$

$$\nabla \kappa \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (34)$$

$$\nabla \varepsilon \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (35)$$

• Paredes: en este caso, se empleó la opción “funciones de la pared”, que aparece por defecto en el modelado hidrodinámico turbulento con el modelo de mezcla. Por medio de esta opción,

se fija la condición de no deslizamiento en la pared sólida y funciones de la pared para describir la zona delgada con gradientes de flujo elevados en las zonas contiguas de la pared, así como ausencia de flux de fase dispersa, como se muestra a continuación:

$$\mathbf{u} \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (36)$$

$$\left[(\mu + \mu_T) \left(\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T - \frac{2}{3} (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbf{I} \right) \right] \mathbf{n} = -\rho \frac{u_\tau}{\delta_w^+} \mathbf{u}_{\text{tang}} \quad (37)$$

$$\mathbf{u}_{\text{tang}} = \mathbf{u} - (\mathbf{u} \cdot \mathbf{n}) \mathbf{n} \quad (38)$$

$$-\mathbf{n} \cdot \mathbf{N}_{\phi_d} = 0 \quad (39)$$

Para el cumplimiento del objeto del presente trabajo, primero fue necesario estimar la distribución de la velocidad y de la concentración de la fase dispersa (el catalizador) en los orificios del distribuidor, la cual serviría como condición de frontera de entrada para la película descendente en la placa plana. Estas variables corresponden respectivamente a los valores de \mathbf{u} y ϕ_d , mostrados anteriormente en el sistema de ecuaciones del modelo de mezclas (Ec. (1)-(16)).

En el reactor de placa plana de la Universidad del Valle, que se tomó como reactor real para análisis, se suele emplear un flujo de 20 L/min para garantizar un régimen de flujo turbulento. Por lo tanto, fue necesario emplear un módulo de COMSOL apropiado para este régimen. La tubería por la cual se conduce el fluido a la placa plana es de 1 pulgada nominal (0,028 m de diámetro real); por lo tanto, el área de la sección transversal es de $6,15 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ y la velocidad promedio en la entrada se fijó en 0,54 m/s. Se consideró que el perfil de la velocidad en la entrada del sistema estaba completamente desarrollado debido a que la sección de la entrada se ubicó aproximadamente a 50 cm del último accesorio de la tubería que genera perturbaciones de flujo importantes (codo). Cabe recordar que para tuberías circulares por las que circula un flujo turbulento, la longitud de entrada es aproximadamente diez veces el diámetro de la misma [31]; es decir, en nuestro caso, es de aproximadamente 28 cm. Por lo tanto, se puede esperar que en la zona de entrada el perfil de velocidad esté completamente desarrollado.

Las propiedades del fluido se tomaron como las del agua a la temperatura ambiente, debido a que la suspensión estaba diluida. De esta manera, la densidad se fijó en 1000 kg/m^3 y la viscosidad dinámica en $1 \times 10^{-3} \text{ kg/(m} \times \text{s)}$. Para tuberías, el número de Reynolds (Re_T) se calcula como sigue:

$$Re_T = \frac{\rho V_{\text{prom}} D}{\mu} \quad (40)$$

En donde V_{prom} es la velocidad promedio; ρ es la densidad; μ es la viscosidad y D es el diámetro interno de la tubería. Con la Ec. (40) se obtuvo que el número de Re para la tubería es de 15.157, el cual está dentro del rango de flujo turbulento.

Por otra parte, las propiedades de la fase dispersa (TiO_2 P-25) necesarias para ejecutar la simulación son: densidad: 3800 kg/m^3 y diámetro de partícula: $1,1 \times 10^{-6} \text{ m}$ a pH neutro [32]. Cabe anotar que este diámetro corresponde a las partículas aglomeradas. Se empleó este valor para considerar los efectos de atracción por fuerzas electrostáticas y de Van Der Waals que ocurren entre las partículas de TiO_2 [33]. Se consideró una carga inicial de TiO_2 de 1 g/L, aplicados a 20 L de la suspensión, teniendo en cuenta las condiciones de carga del catalizador en la sección previa a la tubería, de manera que la fracción volumétrica de la fase dispersa se tomó como $2,6316 \times 10^{-4}$.

Para lograr una convergencia más rápida, primero se resolvió el problema de la tubería perforada, considerando el flujo como homogéneo y laminar. Posteriormente, los resultados obtenidos con estas

condiciones fueron usadas como valores de arranque (o iniciales) para nuestro caso de interés (flujo turbulento bifásico).

Por otra parte, el valor de la escala de longitud de la turbulencia se tomó como $1,96 \times 10^{-3}$, teniendo en cuenta que equivale al 7% del diámetro en una tubería circular [34, 35]. Este parámetro es una cantidad física que describe el tamaño de los remolinos que se generan en el flujo. De igual manera, la intensidad de la turbulencia, definida como la relación entre el promedio de las componentes fluctuantes de la velocidad y la velocidad media, se fijó en 5%, como se recomienda para flujos turbulentos [34]. Tanto la escala de la longitud de la turbulencia y la intensidad de la turbulencia son útiles para estimar las propiedades de la turbulencia en las fronteras de entrada, tales como la energía cinética turbulenta κ y su disipación ϵ .

Además, se hicieron varias simulaciones para determinar la independencia de los resultados respecto al tipo de malla que se empleó. Para ello, se analizaron tanto la velocidad de la mezcla como la fracción volumétrica del catalizador en la salida de cada uno de los orificios del distribuidor. Se seleccionaron estas dos variables para realizar este análisis de sensibilidad, porque el posterior estudio de la placa dependía directamente del valor que alcanzaban en los orificios. Vale la pena mencionar que el enmallado se hace más riguroso en zonas en donde la perturbación del fluido era importante, tales como los orificios en el distribuidor y la sección de ingreso del fluido en la placa.

Resultados y discusión

Distribuidor perforado

En la **figura 6** se muestra el detalle de la malla empleada para modelar el distribuidor perforado. El análisis de sensibilidad mostró que con una malla de 331.613 elementos la solución era un 2,33% diferente de la obtenida con una de 190.567 elementos de la misma clase. De esta manera, se tomaron los resultados de la malla de 331.613 elementos (conformada por 238.571 elementos tetraédricos, 89.545 en forma de prisma y 3497 piramidales), para establecer las condiciones de entrada de la placa plana.

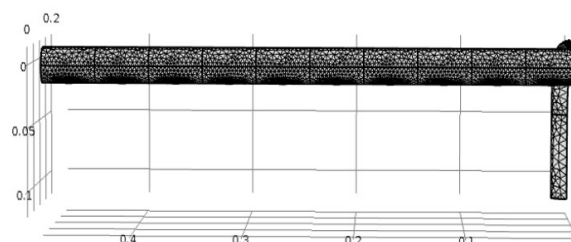


Figura 6. Detalle del enmallado del modelo del distribuidor perforado.

De esta manera, los perfiles de velocidad y distribución del catalizador en la tubería que se obtuvieron con el módulo de mezcla de COMSOL fueron los descritos en las **figuras 7 y 8**, respectivamente.

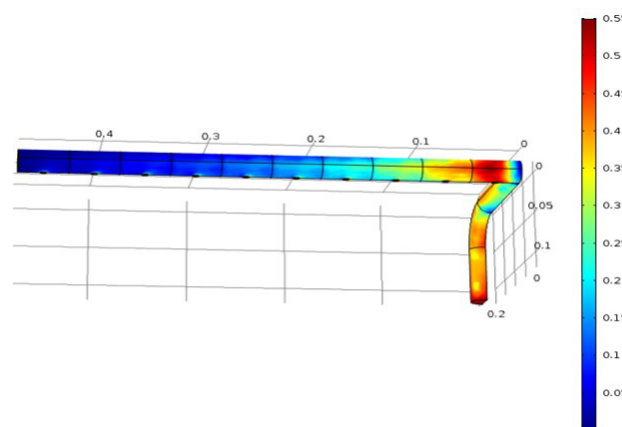


Figura 7. Perfil de velocidades (m/s) en el distribuidor perforado obtenido con la simulación CFD.

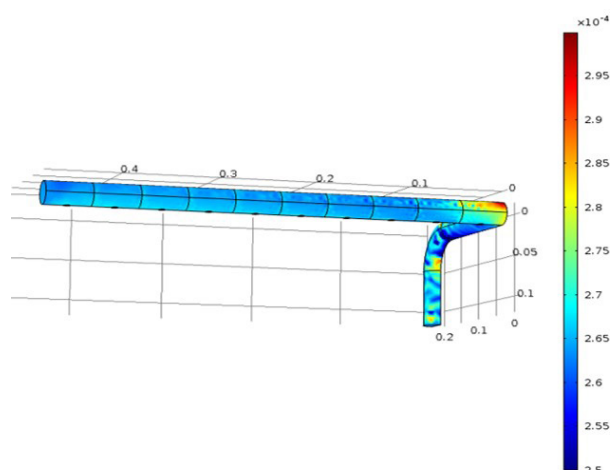


Figura 8. Perfil de fracción volumétrica (adimensional) del catalizador en el distribuidor perforado obtenido con la simulación CFD.

El promedio de la velocidad y la fracción volumétrica del catalizador que se alcanzó en la salida de cada agujero del distribuidor se muestra en la siguiente tabla, en la cual el orificio uno es el que está en el borde derecho de la figura 7 (a la entrada del sistema), y el orificio diez el que está en el borde izquierdo (extremo final):

Tabla 1. Velocidad y fracción volumétrica de catalizador en la salida de los orificios del distribuidor.

Orificio	Velocidad (m/s)	Fracción volumétrica $\times 10^4$
1	0,455	2,46
2	0,462	2,72
3	0,476	2,82
4	0,486	2,88
5	0,488	2,90
6	0,494	2,93
7	0,502	2,96
8	0,505	2,97
9	0,511	3,01
10	0,514	3,14

Como se nota en la figura 7, existe un gradiente pronunciado de la velocidad en la entrada del distribuidor. Esto se debe a la presencia del accesorio de bifurcación ubicado justo antes del mismo. Vale la pena anotar que con la geometría en 3D se obtuvieron valores razonables de la velocidad de flujo a la salida de los orificios de los distribuidores (ver tabla 1), de manera que se satisfizo la ecuación de continuidad. Esto se debe al principio de conservación de la materia, dado que el flujo volumétrico total saliente de los orificios (y el flujo másico, tomando la densidad constante) corresponde con razonable aproximación con el flujo de entrada al distribuidor. En la aproximación 2D que se realizó (resultados no presentados aquí), los valores de la magnitud de la velocidad eran de varios órdenes de magnitud menor. Sin embargo, como se nota en las figuras 7 y 8, la orientación de los accesorios y los orificios de la tubería no permiten realizar una aproximación completamente acertada a un modelo 2D.

Además, de acuerdo con la tabla 1 y la figura 7, el porcentaje de mala distribución definido como la variación porcentual del flujo entre el primer y último orificio del distribuidor es de aproximadamente 13%. Para el diseño de este tipo de accesorios usualmente se emplea un valor nominal de 5% para este parámetro, con el fin de que la distribución sea lo suficientemente uniforme en el sitio de interés [36]. De esta manera, se evidencia que debería mejorarse el diseño del mismo para aumentar la homogeneidad en el reactor de placa plana.

Placa plana

Después de haber resuelto el campo de velocidades y concentración del catalizador en la tubería, se tomó el promedio de la velocidad de la mezcla bifásica y la fracción volumétrica del catalizador, en cada uno de los orificios del distribuidor, como condiciones de frontera de entrada para el estudio en la placa plana.

Para películas descendentes que fluyen a través de una placa, el número de Reynolds (Re_p) se calcula como sigue [36, 37]:

$$Re_p = 4 \frac{Q\rho}{a\mu} \quad (41)$$

En donde Q es el flujo volumétrico y a es el ancho de la placa (aproximadamente 1 m). Por su parte, ρ y μ simbolizan respectivamente la densidad y la viscosidad, como se mencionó anteriormente. Aplicando la Ec. (41) se obtuvo que el número de Reynolds para el caudal de trabajo es aproximadamente 1370. En la literatura se muestra que con este valor el flujo se encuentra en régimen turbulento [37]. Por lo tanto, para el estudio de la placa también se empleó el módulo de mezcla para flujo turbulento de COMSOL.

En este caso, para las entradas del sistema, la intensidad de la turbulencia tuvo un valor de 5% y la escala de la longitud de la turbulencia se fijó en 0,09, tal como se recomienda para este tipo de configuraciones [34].

De igual forma, se realizó un examen de sensibilidad respecto al tipo de malla que se empleó para resolver el sistema. Se analizó el comportamiento del promedio de la concentración del catalizador, debido a que en el caso 2D esta era la variable de mayor interés. El promedio de la fracción volumétrica se realizó sobre 11 líneas de corte que se definieron en el modelo, las cuales atravesaban la totalidad del ancho de la placa y estaban ubicadas a ciertas alturas de la misma, como se indica en la figura 9.

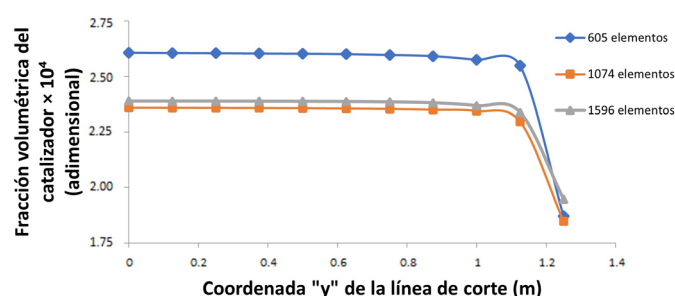


Figura 9. Análisis de sensibilidad de la malla para la simulación en la placa plana. Caso 2D.

Los resultados obtenidos con los tres tipos de mallas son similares en cuanto a la forma de la curva; sin embargo, los valores de la fracción volumétrica que arrojan las mallas de 1596 y 1074 elementos triangulares son muy similares tanto en forma como en magnitud. De hecho, la diferencia promedio entre los mismos es de 1,67%. De esta manera, se empleó la malla de 1596 elementos triangulares para realizar los cálculos subsiguientes. El detalle de la placa con el enmallado se muestra en la figura 10. Por otra parte, en la línea de

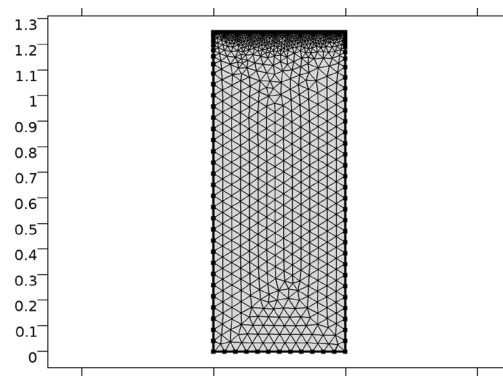


Figura 10. Detalle del enmallado de la placa plana empleado en la simulación.

corte ubicada en $y = 1,25$ se nota que la fracción volumétrica es mucho más baja. Esto se debe a que en esta zona se encuentran varias secciones que no son cubiertas por el catalizador, lo cual produce un descenso en la concentración promedio del mismo.

Los perfiles de velocidad y concentración del catalizador en toda la placa se muestran a continuación, en los cuales se ha proyectado la solución hacia el extremo izquierdo de la placa, teniendo en cuenta que en la línea $x = 0$ estaba la condición de frontera de simetría.

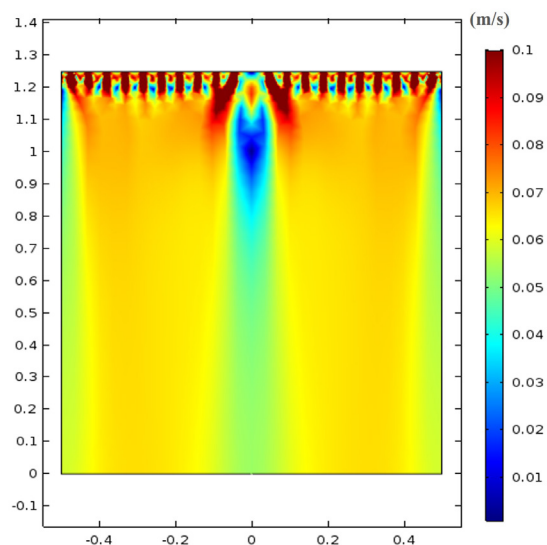


Figura 11. Perfil de velocidades en la placa de acuerdo con los resultados de la simulación CFD.

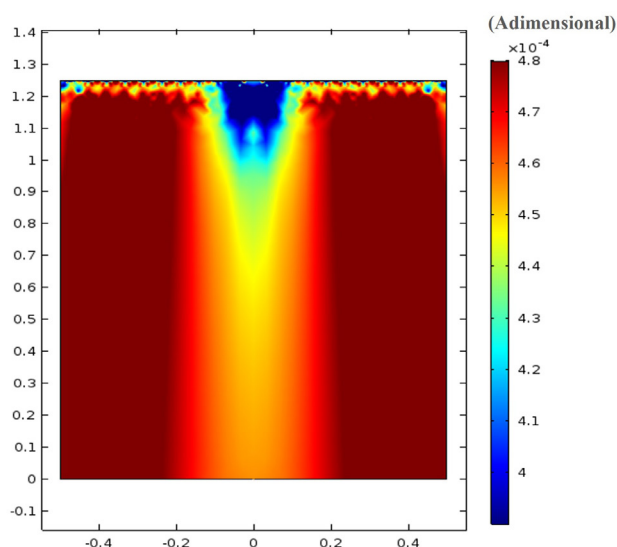


Figura 12. Perfil de concentraciones (fracciones volumétricas) en la placa de acuerdo con los resultados de la simulación CFD.

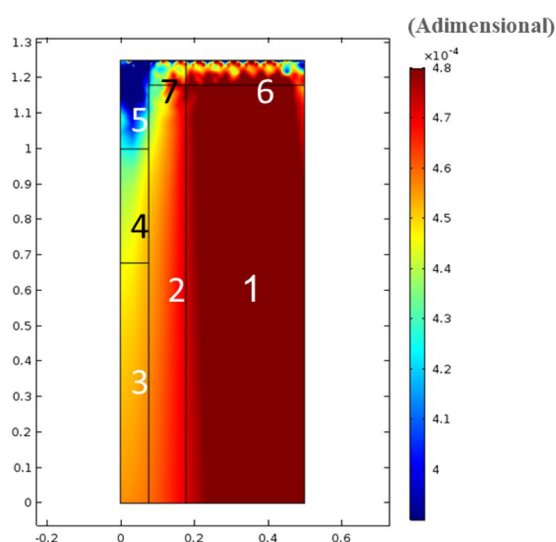


Figura 13. Placa con zonas de concentración (fracciones volumétricas) de catalizador similar delimitadas, de acuerdo con los resultados de la simulación CFD.

Tanto en la figura 11 como en la figura 12 se nota una zona en la que la magnitud de las variables es baja. Esta zona aparece porque justo en el plano central del distribuidor no hay agujeros; estos se encuentran a partir de, aproximadamente, 2,4 cm después de la bifurcación en la entrada del distribuidor.

En la figura 12 se evidencian varias zonas en las que la concentración del catalizador es diferente. En la figura 13 se muestran las siete divisiones que a juicio de los autores representan las zonas más importantes en donde la concentración del catalizador tiene un valor similar.

Con la opción de promedio sobre superficies de COMSOL, se calcularon los promedios de las fracciones volumétricas de las zonas que se muestran en la figura 13. Para ello, fue necesario definir un nuevo componente en el modelo de COMSOL y usar la opción “extrusión general”, con el que se pudieron realizar los cálculos sobre la base de los resultados obtenidos en la figura 12. De esta manera, las fracciones volumétricas correspondientes a las zonas demarcadas de la figura 13 son:

Tabla 2. Concentración promedio de la fracción volumétrica en las zonas demarcadas de la figura 13.

Zona	Ancho (m)	Largo (m)	Fracción volumétrica de catalizador $\times 10^4$
1	0,322	1,18	4,8843
2	0,101	1,18	4,612
3	0,077	0,678	4,5317
4	0,077	0,322	4,4287
5	0,077	0,25	3,963
6	0,322	0,07	4,624
7	0,101	0,07	4,3886

Para cada una de esas zonas se calculó el promedio de la absorción de fotones que se tendría para ciertas condiciones de intensidad de radiación.

Cálculo de la LVRPA

Después de haber determinado los perfiles de concentración dentro de la placa plana, se procedió a realizar la estimación de la velocidad local de absorción de fotones (conocida como LVRPA por sus siglas en inglés) en cada una de las zonas delimitadas en la figura 13. Para ello, la ecuación de transferencia radiante se resolvió mediante el SFM en una rutina de simulación con Visual Basic.

Queda para una posterior investigación el acople simultáneo en COMSOL de la determinación de la distribución del catalizador en el reactor (resultados que se obtuvieron en el presente trabajo) con la determinación de la absorción y dispersión de fotones (*scattering*) dentro del sistema. Por lo pronto, para cumplir el objetivo del presente estudio fue satisfactorio emplear el SFM, con el cual se pueden obtener resultados comparables a los que arrojan otros modelos más sofisticados [24, 38]. En este caso, por efectos de estudio, se simuló solamente la componente de la radiación directa, con una intensidad de radiación de 30 W/m^2 , la cual aparece como referencia en la mayoría de trabajos sobre fotocatalisis solar heterogénea [17, 27]. Por su parte, el valor de δ_{SFM} es aproximadamente un milímetro, conforme a lo reportado por Colina-Marquez *et al.* [28], dado que el flujo volumétrico considerado para el reactor de placa plana analizado fue de 20 L/min.

El catalizador seleccionado fue TiO_2 Degussa P-25 (80% anatasa, 20% rutilo), para el cual se considera una función de fase del tipo esfera grande con reflexión difusa, en la que las probabilidades de dispersión son: $p_f = 0,11$, $p_b = 0,710$ y $p_s = 0,045$ [24, 27]. Cabe anotar que en COMSOL se deben emplear polinomios de Legendre para definir la probabilidad de dispersión anisotrópica de las partículas

del catalizador. No aparece la opción explícita de esfera grande con reflexión difusa.

De esta manera, se calculó tanto el promedio de la LVRPA como la absorción global de fotones (OVRPA) en cada zona demarcada de la **figura 13**. Para ello, se hizo uso del SFM y de las siguientes definiciones, en donde z es la longitud perpendicular a la placa plana del reactor; mientras que A_{zona} y L_{zona} representan el ancho y el largo de las zonas delimitadas de la **figura 13**:

$$\text{LVRPA}_{\text{prom}} = \frac{1}{\delta_{\text{SFM}}} \int_0^{\delta} \text{LVRPA} \, dz \quad (42)$$

$$\text{OVRPA} = A_{\text{zona}} \times L_{\text{zona}} \int_0^{\delta} \text{LVRPA} \, dz \quad (43)$$

Los resultados se muestran en la **tabla 3**.

Tabla 3. Valores de la absorción fotónica en el reactor de placa plana.

Zona	LVRPA _{prom} (Wm ⁻³)	OVRPA (W)
1	3944,66	1,50
2	3742,97	0,45
3	3683,07	0,19
4	3605,95	0,09
5	3253,29	0,06
6	3751,91	0,08
7	3575,83	0,03

Como se puede observar en la **tabla 3**, existe una diferencia porcentual de más del 20% entre el mayor y el menor valor del promedio de la absorción fotónica en la placa. Debido a que el orden de la velocidad de reacción fotocatalítica respecto a la absorción fotónica suele tomar valores entre 0,5 y 1 [39], se puede esperar que la variación en la degradación de los contaminantes en estas zonas del reactor oscile entre el 10 y el 20%, lo cual implica que esta distribución afecta la eficiencia del reactor fotocatalítico.

Conclusiones

El diseño de distribuidor presentado en este trabajo, que simula un reactor de película descendente presente a escala piloto, produce gradientes pronunciados de velocidad y concentración de la fase dispersa a lo largo de los orificios por los que sale el fluido. Debido a ello, en el reactor se generan zonas con diferencias de hasta el 20% en la absorción fotónica; en las cuales, la degradación de los contaminantes puede variar entre el 10 y el 20%. Los focos de concentración observados en las diferentes zonas resultan de gran interés para la toma de decisiones en cuanto al diseño de futuros prototipos semejantes al simulado, de tal manera que al ponerlos en marcha estos puedan alcanzar mayor homogeneidad y mejores resultados de dispersión de las partículas suspendidas en el fluido. Se obtuvo que la distribución de partículas de catalizador en la película formada sobre la placa del reactor no es homogénea, en consecuencia, se identificaron siete zonas específicas con concentraciones similares. Para cumplir el objetivo del presente estudio fue satisfactorio emplear el SFM, con el cual se pueden obtener resultados comparables a los que arrojan otros modelos más sofisticados.

Las herramientas de dinámica de fluidos computacional mostraron ser muy útiles a la hora de estudiar este tipo de reactores fotocatalíticos. Para un futuro trabajo se puede considerar un análisis paramétrico para determinar una configuración más eficiente para operar los reactores fotocatalíticos de película descendente, así como el acople simultáneo en COMSOL de la determinación de la distribución del catalizador en el reactor (resultados que se obtuvieron en el presente trabajo) con la determinación de la absorción y dispersión de fotones (*scattering*) dentro del sistema.

Agradecimientos

Deyler Castilla Caballero agradece al profesor Jaime Lozano por su apoyo en el curso de Tópicos Avanzados III de la Universidad del Valle, relacionado con las herramientas de CFD para Ingeniería Química. Deyler Castilla Caballero y Astrid Medina Guerrero agradecen a El Shaddai por todos los recursos para adelantar la investigación.

Referencias

- [1] A. Yusuf y G. Palmisano, "Three-dimensional CFD modelling of a photocatalytic parallel-channel microreactor", *Chem Eng Sci.*, vol. 229, nro. 16, pp. 116051, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2020.116051>
- [2] I. Garrido, P. Flores, P. Hellín, N. Vela, S. Navarro y J. Fenoll, "Solar reclamation of agro-wastewater polluted with eight pesticides by heterogeneous photocatalysis using a modular facility. A case study", *Chemosphere*, vol. 249, pp. 126156, jun. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126156>
- [3] A. Yusuf, C. Garlisi, R. Peralta Muniz Moreira, G. Li Puma y G. Palmisano, "Multiphysics computational fluid dynamics (CFD) modelling of diclofenac amide removal by photocatalytic oxidation on Fe-TiO₂/N-TiO₂ thin films microreactor", *Chem Eng Sci.*, vol. 274, nro. 15, pp. 118662, jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2023.118662>
- [4] J.O.B. Lira, H.G. Riella, N. Padoin y C. Soares, "CFD + DoE optimization of a flat plate photocatalytic reactor applied to NO_x abatement", *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, vol. 154, pp. 107998, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccep.2020.107998>
- [5] Y. Boyjoo, M. Ang y V. Pareek, "Some aspects of photocatalytic reactor modeling using computational fluid dynamics", *Chem Eng Sci.*, vol. 101, nro. 20, pp. 764–784, sep. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2013.06.035>
- [6] O. Alvarado-Rolon, R. Natividad, J. Ramírez-García, J. Orozco-Velazco, J.A. Hernandez-Servin y A. Ramírez-Serrano, "Kinetic modelling of paracetamol degradation by photocatalysis: Incorporating the competition for photons by the organic molecule and the photocatalyst", *J Photochem Photobiol A Chem.*, vol. 412, nro. 1, pp. 113252, may. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOCHEM.2021.113252>
- [7] D. Castilla-Caballero, F. Machuca-Martínez, C. Bustillo-Lecompte y J. Colina-Márquez, "Photocatalytic degradation of commercial acetaminophen: Evaluation, modeling, and scaling-up of photoreactors", *Catalysts*, vol. 8, nro. 5, pp. 1-15, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/catal8050179>
- [8] I. Grčić, L. Radetić, K. Miklec, I. Presečki, K. Leskovic, H. Meaški, M. Čizmić y I. Brnardić, "Solar photocatalysis application in UWWTP outlets - simulations based on predictive models in flat-plate reactors and pollutant degradation studies with in silico toxicity assessment", *J Hazard Mater.*, vol. 461, nro. 5, pp. 132589, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2023.132589>
- [9] M.A. Mueses, J. Colina-Márquez, F. Machuca-Martínez y G. Li Puma, "Recent advances on modeling of solar heterogeneous photocatalytic reactors applied for degradation of pharmaceuticals and emerging organic contaminants in water", *Curr Opin Green Sustain Chem.*, vol. 30, p. 100486, ago. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.COGSC.2021.100486>
- [10] M. Asgharian, B. Khoshandam, M. Mehdipourghazi y N. Keramati, "Photocatalytic degradation of tetracycline in a stirred tank: computational fluid dynamic modeling and data validation", *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, vol. 134, pp. 553–568, sep. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11144-021-02062-0>
- [11] J. Colina-Márquez, D. Castilla-Caballero y F. Machuca-Martínez, "Modeling of a falling-film photocatalytic reactor: Fluid dynamics for turbulent regime", *Appl Math Model.*, vol. 40, nros. 7–8, pp. 4812–4821, abr. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apm.2015.12.007>

- [12] S.M. Fouad, Y.M.S. El-Shazly, M.A. Alyoubi, S.A. Nosier y M. H. Abdel-Aziz, "Enhanced photocatalytic degradation of cationic dyes using slurry of anatase titania in a falling film reactor", *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, vol. 8, pp. 100518, dic. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CSCEE.2023.100518>
- [13] K. Kouvelis, A.A. Ioannidi, A. Petala, M. Souliotis y Z. Frontistis, "Photocatalytic Degradation of Losartan with Bismuth Oxychloride: Batch and Pilot Scale Demonstration", *Catalysts*, vol. 13, nro. 8, pp. 1175, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/catal13081175>
- [14] F. de J. Silerio-Vázquez, C.M. Núñez-Núñez, M.T. Alarcón-Herrera y J.B. Proal-Nájera, "Comparative Efficiencies for Phenol Degradation on Solar Heterogeneous Photocatalytic Reactors: Flat Plate and Compound Parabolic Collector", *Catalysts*, vol. 12, nro. 6, pp. 575, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/CATAL12060575>
- [15] F. Biglar, A. Talaiekhosani, F. Aminshari, J. Park, A. Barghi y S. Rezaia, "Application of zno-nd nano-photocatalyst for the reactive red 198 dye decolorization in the falling-film photocatalytic reactor", *Toxics*, vol. 9, pp. 254, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxics9100254>
- [16] Z.Y. Shnain, M. Fadhil Abid, K.A. Sukkar y K.A. Sukkar, "Photodegradation of mefenamic acid from wastewater in a continuous flow solar falling film reactor", *Desalination and Water Treatment*, vol. 2010, pp. 22-30, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.5004/dwt.2021.26581>
- [17] M.A. Mueses, F. Machuca-Martinez y G. Li Puma, "Effective quantum yield and reaction rate model for evaluation of photocatalytic degradation of water contaminants in heterogeneous pilot-scale solar photoreactors", *Chemical Engineering Journal*, vol. 215-216, nro. 15, pp. 937-947, ene. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.11.076>
- [18] G. Li Puma, J. Khor y A. Brucato, "Modeling of an annular photocatalytic reactor for water purification: oxidation of pesticides", *Environ Sci Technol.*, vol. 38, nro. 13, pp. 3737-3745, may. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1021/es0301020>
- [19] J. Ling, P. V. Skudarnov, C.X. Lin y M. A. Ebadian, "Numerical investigations of liquid-solid slurry flows in a fully developed turbulent flow region", *Int J Heat Fluid Flow*, vol. 24, nro.: 3, pp. 389-398, jun. 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0142-727X\(03\)00018-3](https://doi.org/10.1016/S0142-727X(03)00018-3)
- [20] N. Qi, H. Zhang, B. Jin y K. Zhang, "CFD modelling of hydrodynamics and degradation kinetics in an annular slurry photocatalytic reactor for wastewater treatment", *Chemical Engineering Journal*, vol. 172, nro. 1, pp. 84-95, ago. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2011.05.068>
- [21] X. Xu, S. Wang, C. Gong y Q. Yang, "Improvement of the bubble separation through eccentric planar cyclones: Experiments and CFD simulations", *Chemical Engineering Research and Design*, vol. 198, pp. 208-220, oct. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CHERD.2023.06.047>
- [22] R. Silva, C. Cotas, F.A.P. Garcia, P.M. Faia y M.G. Rasteiro, "Particle Distribution Studies in Highly Concentrated Solid-liquid Flows in Pipe Using the Mixture Model", *Procedia Eng.* vol. 102, pp. 1016-1025, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.PROENG.2015.01.224>
- [23] "Turbulence Modeling in Mixture Models", 2023. [En línea]. Disponible: https://doc.comsol.com/5.5/doc/com.comsol.help/cfd/cfd_ug_fluidflow_multi.09.109.html [Último acceso: 2/11/2023].
- [24] A. Brucato, C. Grisafi, G. Montante, G. Rizzuti y G. Vella, "Estimating radiant fields in flat heterogeneous photoreactors by the six-flux model", *AIChE Journal*, vol. 52, pp. 3882-3890, sep. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1002/aic.10984>
- [25] J. Colina-Márquez, F. Machuca-Martínez y G. Li Puma, "Radiation absorption and optimization of solar photocatalytic reactors for environmental applications", *Environ Sci Technol.*, vol. 44, nro. 13, pp. 5112-20, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/es100130h>
- [26] J. Colina-Márquez, F. Machuca-Martínez y G. Li Puma, "Photocatalytic mineralization of commercial herbicides in a pilot-scale solar CPC reactor: photoreactor modeling and reaction kinetics constants independent of radiation field", *Environ Sci Technol.*, vol. 43, nro. 23, pp. 8953-60. DOI: <https://doi.org/10.1021/es902004b>
- [27] J. Colina-Márquez, F. Machuca-Martínez y G. Puma, "Modeling the Photocatalytic Mineralization in Water of Commercial Formulation of Estrogens 17- β Estradiol (E2) and Noregestrol Acetate in Contraceptive Pills in a Solar Powered Compound Parabolic Collector", *Molecules*, vol. 20, nro. 7, pp. 13354-13373, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules200713354>
- [28] J. Colina-Marquez, D. Castilla-Caballero y F. Machuca-Martinez, "Modeling of a falling-film photocatalytic reactor: Fluid dynamics for turbulent regime", *Appl Math Model.*, vol. 40, nro. 7-8, pp. 4812-4821, abr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apm.2015.12.007>
- [29] G. Karimi y M. Kawaji, "An experimental study of freely falling films in a vertical tube", *Chem Eng Sci.*, vol. 53, nro. 20, pp. 3501-3512, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(98\)00159-6](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(98)00159-6)
- [30] Z. Wei, Y. Wang, Z. Wu, X. Peng, G. Yu y F. Wang, "Flow Characteristics of the Vertical Turbulent Falling Film at High Reynolds Numbers", *Ind Eng Chem Res.*, vol. 60, nro. 1, pp. 678-696, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c03557>
- [31] F.P. Incropera y D.P. DeWitt, *Fundamentos de transferencia de calor*, Pearson Educación, 1999.
- [32] A.M. Horst, Z. Ji y P.A. Holden, "Nanoparticle dispersion in environmentally relevant culture media: a TiO₂ case study and considerations for a general approach", *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 14, pp. 1014, jul. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1014-2>.
- [33] R. Tsekov, E. Evstatieva, K.W. Stockelhuber y P.G. Smirniotis, "Stability of TiO₂ suspensions in reactors for degradation of toxic pollutants", *Progr Colloid Polym Sci.*, vol. 126, pp. 117-120, nov. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/b94005>.
- [34] Comsol, "Comsol User's Guide-CFD Module". V. 5.2, 2015.
- [35] H.K. Versteeg y W. Malalasekera, *An introduction to Computational Fluid Dynamics*, Prentice Hall, 1995.
- [36] D. Green y R. Perry, *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, Eighth Edition, McGraw-Hill Education, 2007.
- [37] R.B. Bird, W.E. Stewart y E. N. Lightfoot, *Transport Phenomena*, Wiley, 2007.
- [38] L. Hurtado, R. Natividad, E. Torres-García, J. Farias y G. Li Puma, "Correlating the photocatalytic activity and the optical properties of LiVMoO₆ photocatalyst under the UV and the visible region of the solar radiation spectrum", *Chemical Engineering Journal*, vol. 262, pp. 1284-1291, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.10.052>.
- [39] B. Bayarri, J. Giménez, M.I. Maldonado, S. Malato y S. Esplugas, "2,4-Dichlorophenol degradation by means of heterogeneous photocatalysis. Comparison between laboratory and pilot plant performance", *Chemical Engineering Journal*, vol. 232, pp. 405-417, oct. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.07.102>.

Citación del artículo:

D. R. Castilla Caballero, A. del R. Medina Guerrero, F. Machuca Martínez y J. A. Colina Márquez, "Modelamiento y simulación de reactores fotocatalíticos de película descendente: uso de la dinámica computacional de fluidos (CFD) para análisis del sistema multifásico", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 2, pp. 43-53, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n2.110351>