



Vol. 26, No 1, 2
Enero - Junio 2018

CIENCIA



An International Refereed Scientific Journal
of the Facultad Experimental de Ciencias
at the Universidad del Zulia

Esta publicación científica en
formato digital es continuidad
de la revista impresa

Depósito Legal: pp 199302ZU47

ISSN: 1315-2076

	Pg.
BIOLOGÍA/BIOLOGY	
Caracterización de fagos líticos-específicos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> con un amplio espectro infectivo Characterization of lytic-specific phages of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> with a broad infective spectrum	5
Lenin González-P, Carla Lossada, Gabriela Galué-Durán, Irene Zabala, Aleivi Pérez, Ysaías Alvarado Maracaibo (Venezuela)	
CIENCIAS DE LA COMPUTACIÓN/COMPUTER SCIENCES	
SITUALIZ: Software para la simulación de planes situacionales SITUALIZ: Situational planning simulation software	15
Noelia Cegarra Ospino, Gerardo Pirela Morillo Maracaibo (Venezuela)	
QUÍMICA/CHEMISTRY	
Estudio químico preliminar de los frutos secos de <i>Sterculia apetala</i> Druce Preliminary chemical study of dry fruits of <i>Sterculia apetala</i> Druce	23
Néstor Peña, Yimi Dulcey, Nilibeth Becerra, José Ortega Maracaibo (Venezuela)	
Effect of Sn addition in alumina- and silica-supported palladium catalysts for n-butane dehydrogenation Efecto de la adición de estaño en catalizadores de paladio soportados sobre alúmina y sílice para la deshidrogenación de n-butano	28
Jonathan E. Mendez, Douglas R. Rodríguez, Jorge L. Sánchez, Geomar J. Arteaga Maracaibo (Venezuela)	
Capacidad de remoción de H ₂ S de óxidos de níquel y cobre soportados sobre sílice mesoporosa H₂S removal capacity of supported nickel and copper oxides on mesoporous silica	42
Sinahi Morillo, Roselin Briceño, Santiago Valbuena, Roger Solano, Gema González, Alexander Moronta, Douglas Rodríguez y Eduardo González. Maracaibo (Venezuela), Caracas (Venezuela), Medellín (Colombia)	
Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en chayota (<i>Sechium edule</i> Jacq. Sw. cv. "virens levis") Total phenolic compounds and antioxidant activity in chayotas (<i>Sechium edule</i> Jacq., variety <i>Virens levis</i>)	48
Viluzca Chiquinquirá Fernández Palmar, María José Rivas Bravo, Kairelys Beatriz Bencomo Santamaria, Laura Rolybags Soto Arrieta Maracaibo (Venezuela)	



Vol. 26, No 1, 2
Enero - Junio 2018

CIENCIA



An International Refereed Scientific Journal
of the Facultad Experimental de Ciencias
at the Universidad del Zulia

Esta publicación científica en
formato digital es continuidad
de la revista impresa

Depósito Legal: pp 199302ZU47

ISSN: 1315-2076

CIENCIA

Instrucciones para los Autores

CIENCIA es una revista que incluye artículos realizados en las Áreas de Biología, Física, Matemáticas, Química y Computación. Todos los trabajos son arbitrados confidencialmente. Para la publicación de un trabajo, éste debe ser enviado al Editor(a) Ejecutivo(a). Revista Ciencia. Oficina de Publicaciones. Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Maracaibo 4003-A, Venezuela. Tele/Fax: 58-261-412.77.19. Correos electrónicos: revistaciencia@fec.luz.edu.ve. Página Web: <http://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia>.

CIENCIA publica artículos originales, comunicaciones preliminares, notas técnicas, comunicaciones cortas y revisiones de investigadores acreditados (por invitación de los Editores) relacionadas con todos los aspectos científicos modernos de las áreas de interés de la revista que representen aportes significativos al conocimiento y que no hayan sido propuestos simultáneamente a otras revistas.

Los artículos originales deben ser el resultado de estudios de campo o de laboratorio que aporten información nueva o el análisis estadístico de una gran colección de resultados de trabajos individuales con el propósito de integrar los hallazgos (Metanálisis). En el área de matemáticas se incluyen análisis o formalismos deductivos que identifiquen características importantes del objeto estudiado y que generen nuevas teorías o algún avance en teorías ya existentes a través del ejercicio filosófico de la ciencia en cuestión. Las Notas Técnicas o Comunicaciones Cortas están reservadas a tópicos de interés tales como observaciones, extensión de datos u otros hallazgos que por sí solos no constituyen un estudio comprensivo, éstas tendrán una extensión máxima de 6 páginas.

El envío puede ser realizado vía electrónica a través del correo autoresciencia@fec.luz.edu.ve o cuatro copias de su manuscrito (tres de las cuales no deben incluir autores, direcciones, ni agradecimientos) así como un CD con una copia electrónica (Word), a la Oficina de Publicaciones de la Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Cuando las evaluaciones de los árbitros estén completas, éstas serán remitidas a los autores para su corrección y serán recibidas en un lapso no mayor a 15 días (para evaluaciones con ligeras modificaciones) o no mayores a un mes (para modificaciones sustanciales). De no recibirse en el lapso establecido, se asumirá el retiro del manuscrito por parte del autor o autores.

Para los artículos originales se recomienda su división en: Resumen, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimiento y Referencias Bibliográficas. Las Notas o Comunicaciones Cortas no llevarán estas divisiones. Se insta a los autores a enviar una lista con los nombres de tres especialistas (con sus direcciones, números telefónicos y dirección electrónica) quienes puedan servir como árbitros de sus artículos. Los árbitros seleccionados no serán necesariamente de la lista suministrada por los autores. **Igualmente en el envío del manuscrito debe señalarse el área de pertinencia del mismo o la línea de investigación a la cual pertenece.**

Normas editoriales. El texto completo debe hacerse en Word, sobre papel blanco, base 20, tamaño carta. Márgenes de 3,0 cm, a doble espacio, letra arial tamaño 12, escrito por una sola cara. El texto no debe exceder de 20 páginas (incluyendo tablas y figuras, sólo una tabla o figura por página). Numere todas las páginas margen inferior derecho así como también todas las líneas del texto. Los números decimales deben ser separados por comas (,) si el trabajo está en español. Los artículos pueden ser escritos en español o en inglés (en ambos casos el resumen debe estar en ambos idiomas). El trabajo debe incluir lo siguiente:

1. Título. Debe ser explicativo y contener la esencia del trabajo, evite el uso de fórmulas o expresiones técnicas muy largas. Debe incluirse además un título corto. En negritas, centrado.

2. Autores. Deben indicarse los nombres y apellidos completos, sin colocar títulos profesionales.

3. Direcciones. Se debe escribir la dirección completa de la Institución donde se realizó el trabajo y aquellas a las cuales donde pertenecen los autores. Indique con símbolos a que autor corresponde cada dirección. Indique además, el autor de correspondencia y su dirección electrónica mediante un asterisco (*).

4. Resumen y Abstract. No mayor de 200 palabras. Debe presentarse en español y en inglés. Los resúmenes en ambos idiomas deben parecerse lo más posible entre sí. Los autores pueden buscar asistencia con alguna persona que hable el idioma (que el autor no domine) de manera fluida. La traducción mediante el uso de programas de traducción no debe ser utilizada en ningún caso.

5. Palabras claves. Incluir un máximo de 5 palabras claves (tanto en el resumen como en el abstract), necesarias para la mejor ubicación en los índices internacionales.

6. Tablas. Se presentarán en hojas separadas y deben citarse en el texto. Deben presentarse con líneas en la parte superior e inferior de los encabezados de la misma así como al final de la tabla. No trace líneas verticales. Se identificarán con números arábigos (tabla 1) y llevarán un encabezamiento descriptivo. Las abreviaturas se explicarán al pie de la tabla.

7. Figuras y gráficas. Las figuras se identificarán con números arábigos (figura 1). Evite el uso de fondos coloreados o grises. Utilice diferentes tipos de líneas y símbolos en figuras con múltiples líneas. Las leyendas sobre los ejes X y Y deben ser de tamaño legible. Sólo una tabla o figura por página.

8. Fotografías. Fotografías deberán ser reproducciones nítidas en blanco y negro. Su tamaño no excederá el de la hoja impresa. Las fotografías a color serán costeadas por los autores. No deben montarse y en la parte posterior llevarán la numeración, indicando con una flecha la parte superior de la figura. Se indicará la magnificación de las microfotografías.

9. Referencias bibliográficas. Estas deben numerarse según aparezcan citadas en el trabajo, deben presentarse referencias actualizadas. Los autores son responsables de la fidelidad de las referencias. La extensión de las referencias no debe ser mayor a 2 páginas. Dependiendo del tipo de fuente se citarán como sigue:

Revistas periódicas. Apellidos de todos los autores y sus iniciales (en mayúscula). Revista donde fue publicado (usando abreviaturas reconocidas internacionalmente para las revistas periódicas, en itálicas y negritas, (consulte: library.caltech.edu/reference/abbreviations) volumen (número): primera página-última página. Año de publicación.

MACKAY M., JACK J., WICKHAM S., TOALSON S., GILBERT J. Arch Hydrobiol 127(3): 257-270.1993.

Libros. Apellidos de todos los autores y sus iniciales (en mayúscula). Título (en itálicas y negritas). Editorial., Ciudad (País). Número de páginas consultadas. Año de publicación.

RICKER W.E. Methods for assessment offish production in freshwaters. IBP Handbook No. 3. Blackwell Scientific Publications. London (UX). 1968.

SHEPPARD N., DE LA CRUZ C. Advances in Catalasys (Eds. Eley D.D. Hag W.O., Gates B., Knözinger H.). Academic Press. San Diego (USA). 181-313.1998. Comunicaciones personales. Apellido e inicial del nombre (en mayúscula).

Comunicación personal

BOTASSO G., RIVERA J., FENSEL E. Comunicación personal.,

Tesis. Apellido e inicial del nombre (en mayúscula). Título (Para obtener el título de...). Facultad. Universidad. Ciudad (País). Número total de páginas. Año de la presentación.

OSPINO N. Efecto de la arcilla caolinita sobre el crecimiento bacteriano en presencia de dibenzotiofeno (Para obtener el título de Licenciada en Biología). Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo (Venezuela). 72 pp. 2008.

Memorias de congresos. Apellidos de todos los autores y sus iniciales (en mayúscula). Evento en el cual fue presentado (en negritas e itálicas). Primera página-última página. Ciudad (país). Año de publicación.

FRANCESCHINI P., GONZÁLEZ L., MUÑOZ A., SIERRA D., SOLDOVIERIT. V Congreso de la Sociedad Venezolana de Física. 328-332. Punto Fijo (Venezuela). 2008.

Dirección electrónica. Colocar página Web consultada, con dirección completa y fecha de la consulta

http://iio.ens.uabc.mx/Curso%20Internet%20Miguer/o20Angel/2_Arcillas/ArciUas.htm#Figura%202.3. Fecha de consulta: 16/09/2008

Vol. 26, Número Especial 1,2, Enero - Junio, 2018

ISSN: 1315-2076

Depósito legal pp 199302ZU47

CIENCIA

An International Refereed Scientific Journal of the Facultad Experimental de Ciencias at the Universidad del Zulia devoted to publish original research in Biology, Chemistry, Computer Sciences, Mathematics and Physics
Maracaibo, Venezuela

REGINA VALLEJO, Executive Editor
CARLOS DE LA CRUZ, Honorary Editor

Editorial Board

Miguel de la Guardia, Universidad de Valencia (España)	Jenny Pantoja, Universidad del Zulia (Venezuela)
Ralp Sturgeon, National Reserch Center (Canadá)	Carlos Durante, Universidad del Zulia (Venezuela)
Eduardo R. Chávez, McGill University (Canadá)	José Fermín, Universidad del Zulia (Venezuela)
Jerome O. Nriagu, The University of Michigan (USA)	Milton Quero, Universidad del Zulia (Venezuela)
Mario Werner, The George Washington University (USA)	Doris Parra, Universidad del Zulia (Venezuela)
Sergio M. Rezende, UFPE (Brasil)	Jeanette Zárraga, Universidad del Zulia (Venezuela)
Antonio A. Costa, UFPE (Brasil)	Fredy Ysambertt, Universidad del Zulia (Venezuela)
Jean L. Salager, Universidad de Los Andes (Venezuela)	Merlin Rosales, Universidad del Zulia (Venezuela)
Héctor Severeyn, Universidad del Zulia (Venezuela)	Edixo Rosales, Universidad del Zulia (Venezuela)
Orlando Ferrer, Universidad del Zulia (Venezuela)	

This Journal is covered in:

Analytical Abstracts (RSC), Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts (ASFA) Bibliography and index of Geology, Biosis, Chemical Abstracts, Latindex, Physics Abstracts, Revencyt, Zoological Record, Zentralblatt für Mathematik / Mathematics Abstracts

This Journal is supported by Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia

Aim and Scope

CIENCIA publishes original papers, preliminary Communications, technical notes, and reviews dealing with modern scientific aspects of Biology, Computer Sciences, Mathematics, Physics and Chemistry. Relevant papers in Environmental Chemistry and Food Chemistry are also invited to be submitted. Manuscripts should be addressed to: Dra. Regina Vallejo de Soto (Executive Editor). Editorial Office of CIENCIA, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo 4001-A, Venezuela. Telephone/Fax: +58 261 4127719. Maracaibo, Venezuela. E-mail: revistaciencia@fec.luz.edu.ve. Web Page: <http://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia>.

Description

Manuscripts submission is understood to imply that the article is original and unpublished and is not being considered for publication elsewhere. CIENCIA accepts papers in Spanish and English only. There are no pages charge. Manuscripts should conform in layout and style to the papers published in this issue. See the "Instruction for Authors" that appear in every issue of CIENCIA.

Publication

CIENCIA (ISSN 1315-2076/Legal Deposit pp 199302ZU47) is a publication of the Experimental Faculty of Sciences at the Universidad del Zulia. Vol. 1 (1993) and Vol. 2 (1994) appeared with two issues each year. From Vol. 3 (1995) until Vol. 8 (2000), three issues per year. From Vol. 9 (2001) in ahead, this publication appeared with four issues each year. Vol. 24 appears in 2016. The articles published in this Journal are protected by Copyright.

CIENCIA

Alcance

CIENCIA publica artículos originales, comunicaciones preliminares, notas técnicas, comunicaciones cortas y revisiones relacionadas con todos los aspectos científicos modernos de la Biología, Ciencias de la Computación, Matemáticas, Física y Química. Artículos significativos en el área de Química Ambiental y Química de los Alimentos también pueden ser publicados en CIENCIA. Los manuscritos deben ser dirigidos a Dra. Regina Vallejo (Editora Ejecutiva). Oficina Editorial de CIENCIA, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo 4001-A, Venezuela. Teléfono/Fax: +58 261 4127719. E-mail: revistaciencia@fec.luz.edu.ve. Página Web: <http://produccioncientificaluz.org/mdex.php/ciencia>.

Descripción

El envío de un manuscrito a CIENCIA supone que éste es original y no ha sido publicado ni está siendo considerada su publicación en otra revista. CIENCIA acepta manuscritos en español y en inglés. No hay cobro por página. Los manuscritos deben adaptarse al estilo de los artículos publicados en este número. Los autores deben guiarse por las condiciones expuestas en la sección de "Instrucciones para Autores", que aparecen en cada número de CIENCIA.

Publicación

CIENCIA (ISSN 1315-2076/Depósito legal pp 199302ZU47) es una publicación de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia. El Vol. 1 (1993) y el Vol. 2 (1994) aparecieron con dos números al año. Desde el Vol. 3 (1995) hasta el Vol. 8 (2000) la revista tuvo tres números al año. Desde el Vol. 9 (2001) en adelante, sale con cuatro números al año. El Vol. 25 corresponde al año 2017. Los artículos publicados en esta revista están protegidos por Copyright.

CIENCIA

Revista Científica de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia
Vol. 26 Número Especial 1, 2, Enero - Junio 2018

Pg.

BIOLOGÍA/BIOLOGY

- Caracterización de fagos líticos-específicos de *Pseudomonas aeruginosa* con un amplio espectro infectivo
Characterization of lytic-specific phages of *Pseudomonas aeruginosa* with a broad infective spectrum 5
Lenín González-P, Carla Lossada, Gabriela Galué-Durán, Irene Zabala, Aleivi Pérez, Ysaías Alvarado
Maracaibo (Venezuela)

CIENCIAS DE LA COMPUTACIÓN/COMPUTER SCIENCES

- SITUALIZ: Software para la simulación de planes situacionales
SITUALIZ: Situational planning simulation software 15
Noelia Cegarra Ospino, Gerardo Pirela Morillo
Maracaibo (Venezuela)

QUÍMICA/CHEMISTRY

- Estudio químico preliminar de los frutos secos de *Sterculia apetala* Druce
Preliminary chemical study of dry fruits of *Sterculia apetala* Druce 23
Néstor Peña, Yimi Dulcey, Nilibeth Becerra, José Ortega
Maracaibo (Venezuela)
- Effect of Sn addition in alumina- and silica-supported palladium catalysts for n-butane dehydrogenation
Efecto de la adición de estaño en catalizadores de paladio soportados sobre alúmina y sílice para la deshidrogenación de n-butano 28
Jonathan E. Mendez, Douglas R. Rodríguez, Jorge L. Sánchez, Geomar J. Arteaga
Maracaibo (Venezuela)
- Capacidad de remoción de H₂S de óxidos de níquel y cobre soportados sobre sílice mesoporosa
H₂S removal capacity of supported nickel and copper oxides on mesoporous silica 42
Sinahi Morillo, Roselin Briceño, Santiago Valbuena, Roger Solano, Gema González, Alexander Moronta, Douglas Rodríguez y Eduardo González.
Maracaibo (Venezuela), Caracas (Venezuela), Medellín (Colombia)
- Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en chayota (*Sechium edule* Jacq. Sw. cv. "virens levis")
Total phenolic compounds and antioxidant activity in chayotas (*Sechium edule* Jacq., variety *Virens levis*) 48
Viluzca Chiquinquirá Fernández Palmar, María José Rivas Bravo, Kairelys Beatriz Bencomo Santamaria, Laura Rolymags Soto Arrieta
Maracaibo (Venezuela)

Caracterización de fagos líticos-específicos de *Pseudomonas aeruginosa* con un amplio espectro infectivo

Lenin González-P^{1*}, Carla Lossada³, Gabriela Galué-Durán¹, Irene Zabala¹,
Aleivi Pérez², Ysaías Alvarado³

¹Laboratorio de Genética y Biología Molecular (LGBM). Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias (FEC). La Universidad del Zulia (LUZ). Maracaibo, Venezuela.

²Laboratorio de Microbiología General. Departamento de Biología, FEC-LUZ.

³Laboratorio de Caracterización Molecular y Biomolecular (LCBM) IVIC-Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Recibido: 18-12-2017 Aceptado: 30-01-2018

Resumen

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista, multirresistente frente a la acción de varios antibióticos, por lo que se hace necesario considerar alternativas antipseudomónicas entre las que se incluye la utilización de fagos. Estos han sido aprovechados para el control de patógenos. En este trabajo se evaluó la actividad antagonista *in vitro* de bacteriófagos obtenidos de 50 muestras de agua residual doméstica del estado Zulia sobre *P. aeruginosa*. Las muestras se pre-enriquecieron, y los sobrenadantes se filtraron, purificaron y almacenaron. La detección de fagos se realizó por doble capa de agar. Se utilizó la cepa *P. aeruginosa* ATCC®27853 como hospedero, y microorganismos Gram positivos y Gram negativos para establecer perfil infectivo. Se evaluó el ciclo biológico y estabilidad a variaciones de pH y temperatura de los fagos. Se detectaron fagos antipseudomónicos en 60% de las muestras. El 85% de los aislados logró infectar todas las cepas de *P. aeruginosa*. El 80% de los fagos fueron adsorbidos en <10min tras ser expuestos frente al hospedero. Los fagos resultaron estables a diversos intervalos de pH y temperatura. Los fagos resultaron líticos específicos, posibles miembros del orden *Caudovirales*, y candidatos deseables para el desarrollo de agentes antagonistas frente a patógenos multiresistentes como *P. aeruginosa*.

Palabras Claves: *Pseudomonas aeruginosa*, bacteriófagos, enzibióticos.

Characterization of lytic-specific phages of *Pseudomonas aeruginosa* with a broad infective spectrum

Abstract

Pseudomonas aeruginosa is an opportunity pathogen that may become multiresistant to antibiotics. Hence, it is necessary to consider alternative medical procedure using antipseudomonal agents like bacteriophages. Their lytic enzymes with bactericidal actions have been widely utilized to control this type of microorganisms. Screening of 50 samples of wastewater from of Zulia state was performed to evaluate bacteriophages' antagonistic activity on *P. aeruginosa*. The samples were pre-enriched and the supernatants were filtered, purified and stored. Detection was performed by double layer agar. The strain *P. aeruginosa* ATCC®27853 was used as a host, and several microorganisms, both Gram positive and Gram negative, were used to establish infective profile. Antipseudomonic phages' biological cycle and stability to pH and temperature variations were evaluated. Antipseudomonic phages were detected in 60% of the samples. 85% of the isolates managed to infect all strains of *P. aeruginosa*. 80% of the phages were adsorbed in <10min after being exposed to the host. All phages were stable at various pH and temperature ranges. There were no apparent changes in lysis plate morphology. The phages had characteristics that make them possible members of the order *Caudovirales* and potential antagonistic agents against multiresistant pathogens such as *P. aeruginosa*

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*, bacteriophages, enzybiotics.

* lgonzalezpaz@gmail.com

Introducción

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista, prevalente en medios hospitalarios, el cual llega a causar infecciones nosocomiales severas al colonizar sistemas como el tracto respiratorio de pacientes inmunocomprometidos, fibroquísticos o con quemaduras severas [1]. Si bien los antibióticos han contribuido a mejorar el pronóstico de estos pacientes, su uso frecuente y prolongado ha sido un factor importante en la selección de cepas de *P. aeruginosa* multiresistentes [2]. El surgimiento de cepas bacterianas resistentes a antibióticos ha motivado la búsqueda de alternativas antagónicas, con menos efectos secundarios y con una alta especificidad para evitar perturbar la microbiota del ser humano [3]. Una estrategia prometedora es el uso de bacteriófagos (virus que infectan a bacterias) y de sus derivados enzimáticos (enzimbióticos). Estos han sido descritos como potenciales agentes antimicrobianos contra cepas bacterianas multiresistentes a antibióticos, incluyendo a *P. aeruginosa* [4-6]. Casi todos los estudios acerca de fagos de *P. aeruginosa* han sido llevados a cabo con muestras de aguas residuales recolectadas del ambiente y de hospitales en EEUU y en países de Europa, Australia, Asia y África [4-5,7-10], existiendo muy pocos reportes en Sudamérica relacionados a la acción de fagos capaces de infectar diversas cepas de *P. aeruginosa*, tanto sensibles como multiresistentes a fármacos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio se basó en aislar y caracterizar fagos específicos de *P. aeruginosa* multiresistentes a fármacos a partir de muestras de aguas residuales para posteriormente poner a prueba su potencial como alternativas antimicrobianas.

Materiales y Métodos

1. Cepas bacterianas y condiciones de crecimiento

Se estudió una cepa de *P. aeruginosa* de origen clínico confirmada por el Laboratorio de Genética y Biología Molecular (LGBM) de la Facultad de Ciencias (FEC) de la Universidad del Zulia (LUZ) como productora de metalo- β -lactamasas (MBLs) de espectro extendido mediante métodos fenotípicos y genotípicos. Además, las cepas de referencia *P. aeruginosa* ATCC®27853 (usada como hospedador) y *P. aeruginosa* ATCC®10145, criopreservadas en el LGMB-FEC-LUZ a -20°C en caldo Tripticasa Soya (TBS) (Merck®, Alemania) con un contenido de glicerol de 20% (Sigma, EUA).

2. Aislamiento, propagación y purificación de los bacteriófagos de *P. aeruginosa*

Durante los meses de mayo-agosto del año 2017, se tomaron 50 muestras de agua residual doméstica en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Se aislaron los fagos de las muestras mediante la técnica de pre-enriquecimiento [11], con modificaciones [12-13]. Se agregó 50mL de medio TSB (Merck®, Alemania) a 50mL de la muestra de agua residual doméstica, y se incubó 18-24h a 35±2°C. Posteriormente fue filtrado con membranas de 0,45µm y alícuotas de 1,4mL fueron vertidas en tubos, a las cuales se le agregó 0,1mL de cloroformo (Sigma®, EUA). La solución fue mezclada y centrifugada (10.000xg, 30min). El sobrenadante se transfirió en un tubo falcon. El pellet fue resuspendido con 1,5mL de extracto de carne (EC) al 3% (HIMEDIA®, India). La mezcla fue centrifugada (5.000xg, 15min) y el sobrenadante fue transferido de forma aséptica al tubo falcon reservado. El sobrenadante se almacenó a -20°C por 24h. Posteriormente, la suspensión se pasó por filtros de 0,2µm y se almacenó a 4°C. Los fagos fueron propagados y purificados a partir de aislados de una sola placa según la metodología reportado por El Didamony y col. (2015) y Ahiwale y col. (2012) [4,9].

3. Preparación del lisado

Se transfirió una placa (0,5-3mm de diámetro) a 50mL la solución estéril de fago con 0,5mL de cultivo de *P. aeruginosa* en fase logarítmica. El matraz fue cultivado a 37°C por 24h sin agitar. Su contenido fue centrifugado, filtrado a través de una membrana de 0,20µm y almacenado a 4°C. Se utilizó la técnica de doble capa de agar para calcular la concentración (UFP/mL) [4,9].

4. Determinación del rango de hospedadores de los bacteriófagos

Para determinar el rango de hospedadores se empleó la técnica de doble capa de agar [5-10]. Se utilizaron las cepas *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC®25923, *S. aureus* ATCC®6538P, *S. aureus* LGMB-MRSA, *S. epidermidis* ATCC®12228, *Enterococcus faecalis* ATCC®29212, *E. faecalis* LGMB-Q65, *Micrococcus luteus* ATCC®9341, *Escherichia coli* ATCC®35218, *E. coli* LGMB-ESBL, *P. aeruginosa* ATCC®10145, *P. aeruginosa* ATCC®27853 y *P. aeruginosa* LGMB-MBL+. Cada fago fue probado contra cada cepa bacteriana por triplicado y en al menos tres experimentos independientes. En base a la claridad de la zona lítica, las placas fueron categorizadas como claras, claras con halo o sin reacción. El tamaño y la

morfología de las placas de lisis obtenidas fueron examinadas durante cada tratamiento distinto (pH y temperatura) [9].

5. Efecto del pH en la estabilidad de los bacteriófagos

La estabilidad de los fagos fue estudiada usando buffer fosfato, con pH ajustado a 3, 4,5,6,8 y 9. Alícuotas (1mL) de lisado ($1,5 \times 10^9$ UFP/mL) fueron suspendida en 9mL del buffer respectivo en tubos de ensayo e incubadas por 2h. Los contenidos de los tubos fueron diluidos en serie y las UFP/mL en cada uno fueron determinadas por ensayo de placas usando la bacteria hospedadora *P. aeruginosa*. Las mediciones se tomaron cada 30min [9].

6. Efecto de la temperatura en la estabilidad de los bacteriófagos

La estabilidad de los fagos fue evaluada a diferentes temperaturas (25, 30, 35 y 40°C), incluyendo las de almacenado (-20° y -4°C). Alícuotas de 1mL de lisado ($1,5 \times 10^9$ UFP/mL) fueron colocada en tubos tapados estériles e incubadas a su temperatura respectiva por 2h. Las UFP/mL fueron determinadas de la manera mencionada anteriormente [9].

7. Curva de crecimiento en un paso

La curva de crecimiento en un paso se determinó de acuerdo al método de El Didamony y col. [4], con algunas modificaciones. Los fagos fueron agregados a un $MOI < 0,1$ a las células de *P. aeruginosa*. La mezcla fue centrifugada (10,000xg, 10min) y el pellet con las células infectadas fue resuspendido en 10mL de caldo nutritivo y fue incubado a temperatura ambiente. Se tomaron muestras por duplicado cada 5min durante 1h, diluidas y tituladas mediante el método de doble capa. El segundo set de muestras fue tratado con cloroformo al 1% para liberar fagos intracelulares para determinar el período de eclipse. La mezcla de cada tubo de ensayo fue diluida en serie en caldo EC y las UFP/mL fueron determinadas como se mencionó anteriormente [9].

8. Cinética de adhesión de los bacteriófagos

Fue introducido 1mL del cultivo en fase logarítmica de la bacteria hospedadora [OD650 0.05, $2,8 \times 10^9$ UFC/mL] en un matraz estéril de 50mL y fue incubado por 24h a 37°C. El lisado de fagos ($1,5 \times 10^9$ UFP/mL) fue agregado al matraz (0.5mL, $MOI < 0.1$). En intervalos de 5min durante 1h, alícuotas de 50μL fueron extraídas y transferidas

a tubos separados que contenían 950μL de lisado y 100μL de cloroformo. El contenido de los tubos fue mezclado, diluido en serie en caldo EC y sembradas en placas estériles. Se determinó el número de placas después de 24h de incubación a 37°C [4,9].

9. Análisis estadístico

Se llevaron a cabo cálculos porcentuales para determinar la proporción de bacteriófagos de *P. aeruginosa* encontrada por muestra analizada, perfiles infectivos y rango de hospedadores. Se usó como modelo estadístico ANOVA para observar las diferencias entre la sensibilidad de las cepas evaluadas versus el fago encontrado [10]. Se llevó a cabo un análisis multivariado en *InfoStat* para analizar las características de los fagos, además de establecer asociaciones entre aspectos tales como la morfología y el diámetro de las zonas de lisis, mediante la prueba Chi-Cuadrado.

Resultados y discusión

1. Aislamiento, propagación y purificación de los bacteriófagos de *P. aeruginosa*

El 60% de las muestras (30/50) resultaron positivas para el aislamiento de fagos. La media de UFP/mL fue ≥ 30 aprox. en todas las muestras evaluadas. Los resultados indicaron que el método empleado basado en el pre-enriquecimiento de las muestras y varias etapas de filtrado, presentó una buena sensibilidad para el aislamiento de este tipo de virus, arrojando porcentajes de aislamiento similares a los reportados [13-15]. Es importante señalar que la mayor parte de las investigaciones se destinan al aislamiento y estudio de cepas de *P. aeruginosa* en agua potable o dulce, por el importante rol de este patógeno de interés clínico en este tipo de muestras destinadas al consumo humano [16-18]. Sin embargo, Knezevic y col. (2009) aislaron fagos de *P. aeruginosa* en el 80% de las muestras de aguas que evaluaron, usando de igual forma la técnica de vertido en placa. En dicho trabajo, el 70% de los bacteriófagos fueron aislados de agua dulce, mientras que el 80% de las partículas virales fueron obtenidas a partir de muestras de agua residual doméstica, resultados mayores a los obtenidos en este estudio. En Colombia, empleando de igual forma métodos de cultivo *in vitro* inoculando las muestras presuntivas de fagos, se han aislado eficientemente bacteriófagos de *P. aeruginosa* a partir de muestras ambientales diversas [19]. En Japón, se han aislado fagos de la familia Myoviridae y un Siphoviridae en muestras de agua con actividad lítica frente a bacterias del género *Pseudomonas*, y empleados con

finés terapéuticos mediante alimentos impregnados con los mismos [20].

2. Determinación del rango de hospedadores de los bacteriófagos

El 85% de los aislados (26/30) logró infectar todas las cepas de *P. aeruginosa* probadas (Tabla 1). La sensibilidad de *P. aeruginosa* se ha descrito frente a otros fagos de las familias Myoviridae y Podoviridae. Los fagos de estas familias virales capaces de infectar cepas de *P. aeruginosa*, ya se ha reportado anteriormente [21-22]. Por otro lado, el estudio del espectro de infección sobre diversos géneros bacterianos, reveló una baja variabilidad, obteniéndose cinco perfiles de infección para los 30 fagos estudiados (Tabla 1). Solo un 6% (2/30) presentó actividad antagonista frente a la cepa *S. aureus* ATCC®25923, y por lo tanto se excluyeron de los ensayos posteriores. Este tipo de fagos, sin embargo, podría ser utilizado en aplicaciones tales como descontaminación de superficies o en el tratamiento de infecciones superficiales con bacterias relacionadas [22]. El 10% (3/30) de los fagos no fueron capaces de infectar a *P. aeruginosa* MβL+ (Tabla 1), la cual es resistente a antibióticos del grupo de los carbapenemas. Cabe mencionar, que la resistencia de cepas MβL+ a fagos capaces de infectar a *P. aeruginosa* ATCC®27853 y ATCC®10145, puede estar relacionada, posiblemente, con la ausencia de sitios de reconocimiento de los fagos, puesto que el tipo de receptor de superficie varía considerablemente entre bacterias Gram negativas. Cuantas más moléculas pueda reconocer como

receptores, más amplio será el rango de huésped del fago. El reconocimiento o no de los receptores de la cepa huésped por parte del fago determinará la eficiencia de adsorción del fago, una mayor eficiencia de adsorción se observa con un mayor número de bacterias infectadas [23]. Aunque estos virus tengan una elevada afinidad por sus receptores, se ha reportado que la velocidad y la eficiencia de la adsorción son parámetros importantes que varían en función de los factores externos y del estado fisiológico del hospedador. Esto explicaría que un 13% (4/30) de los aislados, no logró exhibir algún tipo de actividad antagonista frente a por lo menos una de las cepas de *P. aeruginosa* probadas, bajo las condiciones establecidas en este estudio [23-24]. La resistencia de las variantes MβL+ también se relaciona con el reciclaje del peptidoglicano, el cual es una estructura de reconocimiento viral. Porque, si bien existen fagos que producen proteínas que van dirigidas a alterar la biosíntesis del peptidoglicano, algunas no poseen actividad muraminidasa, por lo que no tienen al ácido murámico como receptor de superficie [23, 25]. Los sistemas CRISPR (del inglés *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*, en español repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas) podría ser otra posible razón de la resistencia, porque en la actualidad se sabe que luego de una exposición viral inicial, las bacterias pueden ser capaces de integrar en su genoma secuencias derivadas del genoma del fago, lo cual permite a la célula bacteriana reconocer posteriormente al virus y expresar nucleasas para digerir el virus, y evitar la infección [27-29].

Tabla 1. Especificidad y perfil infectivo de los aislados bacteriófagos de *P. aeruginosa* obtenidos de muestras de agua residual doméstica.

Aislado(s)	Cepa(s)											
	<i>Pseudo- monas aeru- ginosa</i> ATCC® 27853	<i>Pseudo- monas aeru- ginosa</i> ATCC® 10145	<i>Pseudo- monas aeru- ginosa</i> MβL+	<i>Staphylo- coccus aureus</i> ATCC® 25923	<i>Staphylo- coccus aureus</i> ATCC® 6538P	<i>Staphylo- coccus aureus</i> Mo3A- 07	<i>Staphylo- coccus epidermi- dis</i> ATCC® 12228	<i>Entero- coccus- faecalis</i> ATCC® 29212	<i>Entero- coccus- faeca- lis</i> Q65	<i>Micro- coccus- luteus</i> ATCC® 9341	<i>Esche- richia- coli</i> ATCC® 35218	<i>Esche- richia- coli</i> BLEE
F1	+	+	+	ND	-	-	-	-	-	-	-	-
F2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F4	+	+	+	-	-	-	-	ND	-	-	-	-
F5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F6	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F7	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	ND	-
F8	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F9	+	+	-	+ [†]	-	-	-	-	-	-	-	-
F10	+	+	+	+ [†]	-	-	-	-	-	-	-	-

F11	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	ND	-
F12	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F13	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F14	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F15	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F16	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F17	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F18	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F19	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F20	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F21	+	+	-	-	-	-	-	ND	-	-	ND	-
F22	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F23	+	+	+	ND	-	-	-	-	-	-	-	-
F24	+	+	+	ND	-	-	-	-	-	-	ND	-
F25	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	ND	-
F26	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F27	+	+	+	-	-	-	-	ND	-	-	-	-
F28	+	+	+	-	-	-	-	ND	-	-	-	-
F29	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F30	+	+	+	-	-	-	-	ND	-	-	-	-
n° cepas infectadas	30	30	27	2	0	0	0	0	0	0	0	0

†; lisis total (sombreado en azul), †; lisis turbia; -, sin lisis; ND; no determinado; controles positivos, ATCC®27853, ATCC®10145, MβL+; controles negativos, ATCC®25923, ATCC®6538P, M03A-07, ATCC®12228, ATCC®29212, Q65, ATCC®9341, ATCC®35218 y BLEE

3. Morfología de las placas de lisis y de los bacteriófagos

El 60% (15/25) de los fagos mostraron una morfología de las placas de lisis con un halo de lisis alrededor de la calva. El resto mostró zonas de lisis claras y definidas. Los tamaños de placa obtenidos

para cada fago se muestran en la Tabla 2. La formación de halos es una característica deseable en fagos elegidos como agentes terapéuticos dado que, en diversos patógenos Gram negativos, la cápsula está descrita como un factor de virulencia [32], y se ha reportado que incrementa la adhesión de la bacteria a determinadas superficies [33-34].

Tabla 2. Tamaño y tipo de las placas de los aislados de bacteriófagos de *P. aeruginosa*.

Aislado	Rango hospedero	Tamaño de placa (mm)	Tipo de placa
F1	ATCC®27853 / ATCC®10145 / MβL+	1.0 – 2.0*	Claras con halo
F2	ATCC®27853 / ATCC®10145 / MβL+	1.0 – 3.0*	Claras con halo
F3	ATCC®27853 / ATCC®10145 / MβL+	1.0 – 1.5	Claras con halo
F4	ATCC®27853 / ATCC®10145 / MβL+	0.5 – 1.5*	Claras
F5	ATCC®27853 / ATCC®10145 / MβL+	1.0 – 3.0*	Claras con halo
F6	ATCC®27853 / ATCC®10145 / MβL+	1.0 – 2.0*	Claras con halo
F7	ATCC®27853 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras

F8	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	1.0 – 3.0*	Claras con halo
F9	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / ATCC [®] 25923	0.5 – 1.0	Claras
F10	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+ / ATCC [®] 25923	0.5 – 1.0	Claras
F11	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F12	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F13	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F14	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F15	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F16	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F17	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	1.0 – 2.0*	Claras con halo
F18	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	1.0 – 2.0*	Claras con halo
F19	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	1.0 - 1.5	Claras con halo
F20	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	1.0 - 1.5	Claras con halo
F21	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145	1.0 – 2.0*	Claras con halo
F22	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F23	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F24	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F25	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	1.0 – 2.0*	Claras con halo
F26	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145	1.0 – 1.5	Claras
F27	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F28	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F29	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras
F30	ATCC [®] 27853 / ATCC [®] 10145 / MβL+	0.5 – 1.0	Claras

ATCC, American Type Culture Collection; MβL+, productor de metalobetalactamasas; Sin MgSO₄ P Value>0,05; *Con MgSO₄ P Value<0,05.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los tamaños de las placas generadas con y sin la adición de MgSO₄. Sin embargo, con MgSO₄ aproximadamente el 40% (10/25) de los fagos mostraron placas de lisis significativamente más grandes ($p < 0,05$). Esto puede deberse a que el MgSO₄ facilita la adhesión de algunos fagos a la bacteria huésped, y se ha reportado la importancia de este tipo de cofactores [22]. El análisis de correspondencia múltiple de los 30 aislados arrojó tres grupos principales de fagos, en función de la morfología de sus placas (diámetro mínimo y máximo de los halos, y el tipo de calva generada), y según el rango hospedero previamente observado. Dichos grupos se muestran en el dendrograma (Figura 1). El primero de ellos englobaba a 11 aislados que infectaban únicamente a cepas de *P. aeruginosa*, con las placas de lisis de mayor tamaño, siendo estas ≥ 2 mm de diámetro, todos capaces de generar halos de inhibición alrededor de las placas. El segundo grupo formado por 16 fagos, incluyó a aquellos que no infectan a *P. aeruginosa*, con placas de lisis de menor tamaño

(0,5–1,5mm) y sin halos; y el tercero, con tres fagos, que sólo infectan a un pequeño porcentaje de cepas de *P. aeruginosa*. Los fagos que con MgSO₄ (16/25) presentaron placas de lisis consideradas de menor tamaño (64% de los aislados) fueron excluidos del resto de los ensayos. Esto puede ser resultado de períodos de latencia muy largos, tamaños de explosión pequeños y/o baja tasa de adsorción de los fagos a la bacteria hospedadora [35], o podrían ser fagos temperados. Esta última posibilidad concuerda con aislados con zonas de lisis turbias. Luego del análisis de asociación entre estas variables, con una significancia del 5%, se encontró que existió correlación entre el diámetro de las placas de lisis y el tipo de placa observado, como lo reportaron en 2005 por Guttman y col. [23]. Con base a estos criterios, adicional a la inocuidad para la microbiota humana, fueron seleccionados los aislados específicos para *P. aeruginosa* F1, F2, F5, F6 y F8, como se recomienda [22, 36].

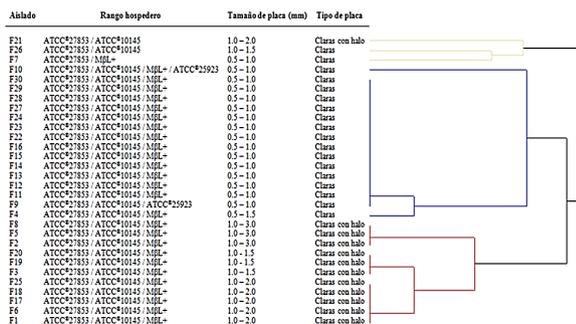


Figura 1. Dendrograma de los grupos de fagos según el análisis de correspondencia múltiple realizado con el programa InfoStat.

4. Efecto del pH en la estabilidad de los bacteriófagos

El aislado F2 presentó la media más baja de calvas siendo este ≥ 18 UFP/mL, mientras que el aislado F8, mantuvo su conteo por encima de las 180UFP/mL. Entre los intervalos de pH 6 y 7, se observó la mayor actividad en relación al recuento del número de placas de lisis (≥ 100 UFP/mL). A pH 4 y 9 se observó la mayor diferencia en la actividad de los diferentes fagos, con un descenso en la media ≥ 30 UFP/mL (Figura 2A). No se detectaron partículas virales a pH 3 o inferiores, ni por encima de 9. Los fagos aislados de *P. aeruginosa* fueron estables a la acidez (pH 4), y entre ellos, el fago F8 resultó ser significativamente más resistente ($p < 0,05$) que los otros dos. No se apreciaron cambios en la morfología inicial de las placas presentadas por cada uno de los fagos y los diámetros de las calvas se mantuvieron con una media entre 1 y 2mm. Es importante destacar que los aislados F5 y F6,

exhibieron a pH 6 placas de unos 3mm de diámetro, mostrando un claro descenso, tanto a pH ácido como básico, al igual que lo observado con el resto de los aislados. Los resultados obtenidos concuerdan con lo observado por otros autores que reportan aislados de bacterias Gram negativas estables a pH 6, y diferentes sensibilidades de cada aislado a pH 4. Ningún aislado resistió valores de $pH \leq 3$, al igual que lo descrito en la familia Podoviridae [30], por lo que, para la administración oral, los fagos deben incluirse necesariamente en una matriz resistente al ácido que funcione como vehículo, o disminuir de alguna manera las condiciones extremas de acidez del estómago, como con el uso conjunto de bases débiles [22, 31].

5. Efecto de la temperatura en la estabilidad de los bacteriófagos

La Figura 2B muestra los resultados obtenidos. La media general obtenida fue de ≥ 60 UFP/mL. El mayor conteo de calvas se obtuvo en los intervalos de temperatura de -20 a 25°C , con una media mayor a 80UFP/mL. Se observó una disminución del número de calvas a partir de los $35-40^{\circ}\text{C}$ (≥ 30 UFP/mL). El aislado F8 fue el único que se vio mayormente afectado a temperaturas $\geq 45^{\circ}\text{C}$. Sin embargo, los otros aislados (80%) presentaron de igual forma una disminución en su actividad a partir de una temperatura $\geq 40^{\circ}\text{C}$. Solo el F1 mantuvo su conteo por encima de las 100UFP/mL a temperaturas $\geq 40^{\circ}\text{C}$, resultando ser significativamente más resistente ($P < 0,05$) que los otros fagos a las variaciones de temperatura por encima de los 35°C . No se apreciaron cambios con relación a la morfología inicial de las placas presentadas por cada uno de los fagos. Es importante destacar que los aislados F1, F2 y F5, exhibieron a temperaturas $\geq 40^{\circ}\text{C}$ placas de unos 3mm de diámetro.

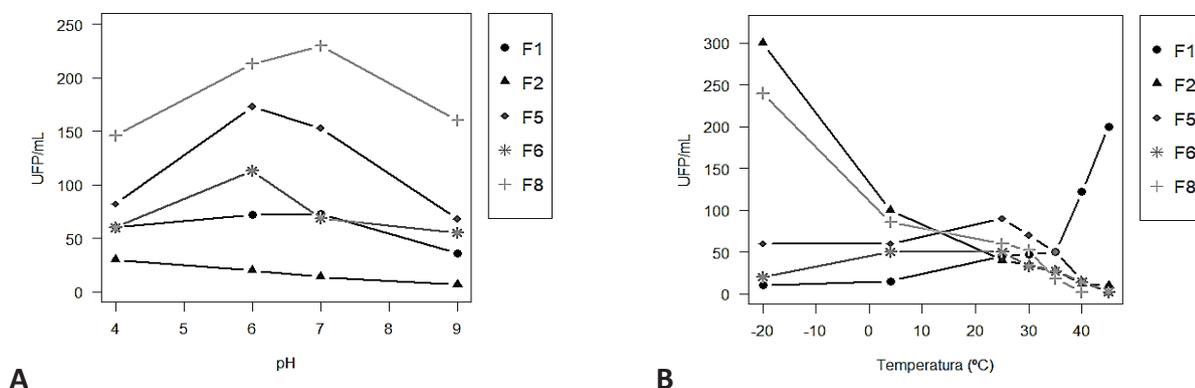


Figura 2. Estabilidad a variaciones de pH y temperatura de bacteriófagos de *P. aeruginosa*

Los resultados obtenidos de tolerancia en los intervalos de -20 a 30°C se corresponden con lo reportado en la literatura, en la cual se describe que, cuando se trabaja con bacteriófagos infectivos para cepas Gram negativas, es muy común mantener los lisados de fago bajo dichas condiciones, especialmente a temperatura ambiente. Si bien se espera que a mayor temperatura los procesos de degradación afecten más a las partículas de fago, el impacto de esta en la velocidad de inactivación de las partículas es un factor que debe conocerse para determinar qué tan estricto debe ser su control durante el almacenamiento a largo plazo [22]. Se ha reportado que a temperaturas superiores a los 30°C los fagos de la familia Podoviridae, se degradan velozmente, lo cual resulta similar a la tolerancia exhibida por los aislados F2, F5, F6 y F8. El mayor conteo de placas se obtuvo cercano a 25°C para 4/5 de los fagos, y la disminución del número de calvas de observó a partir de los 35°C , parámetros de tolerancia encontrados en aislados del orden Caudovirales en miembros de la familia Podoviridae [30]. Los resultados a -20°C concuerdan con lo reportado [22].

6. Curva de crecimiento en un paso

Se observó que todos los fagos seleccionados generaron placas de lisis a partir de los 5min con la técnica de la curva de crecimiento en un paso o *One-step growth*, encontrándose un porcentaje de células infectadas con al menos una partícula viral, según la distribución de *Poisson* de $P(1)=\sim\geq 90\%$ y una MOI media ≥ 20 . Exceptuando el fago F2, el cual inició su ciclo infectivo a los 55min, con un $P(1)=\sim 80\%$, y una $\text{MOI}\geq 2$ (Tabla 3). Los valores de k encontrados fueron del orden de $10^{-9}\text{ml.UFC}^{-1}\text{min}^{-1}$, para fagos que reconocen varios cientos de receptores celulares, hasta valores del orden de $10^{-11}\text{ml.UFC}^{-1}\text{min}^{-1}$, para fagos que reconocen 2 o 3 receptores por célula. Las constantes de adhesión k , calculadas a partir de las curvas de lisis en un ciclo obtenidas, fueron de $1,7\times 10^{-7}\text{ml.UFC}^{-1}\text{min}^{-1}$ para los fagos F1, F5, F6 y F8, y de $3,4\times 10^{-9}\text{ml.UFC}^{-1}\text{min}^{-1}$ para el fago F2, lo que indica una mayor velocidad de adhesión de los primeros.

Tabla 3. Parámetros del ciclo lítico de los fagos de *P. aeruginosa*.

Parámetro	F1	F2	F5	F6	F8
Constante de adsorción ($\text{ml UFC}^{-1} \text{min}^{-1}$)	$1,7\times 10^{-7}$	$3,4\times 10^{-9}$	$1,7\times 10^{-7}$	$1,7\times 10^{-7}$	$1,7\times 10^{-7}$
Tiempo de eclipse (min)	$4,5 \pm 2,9$	$50,0 \pm 2,0$	$4,5 \pm 2,9$	$4,5 \pm 2,9$	$4,5 \pm 2,9$
Tiempo de latencia (min)	$5,0 \pm 2,5$	$55,0 \pm 2,0$	$5,0 \pm 2,5$	$5,0 \pm 2,5$	$5,0 \pm 2,5$
Tamaño de explosión (UFP/UFC)	$500,0 \pm 5,0$	$120,0 \pm 5,0$	$1870,0 \pm 5,0$	$370,0 \pm 5,0$	$1870,0 \pm 5,0$
MOI	≥ 10	≥ 2	≥ 35	≥ 7	≥ 35
$P(1)$	$\sim \geq 90\%$	$\sim 80\%$	$\sim 100\%$	$\sim \geq 90\%$	$\sim 100\%$

MOI, multiplicidad de infección; $P(1)$, distribución de *Poisson*; UFP, unidades formadoras de placas; UFC, unidades formadoras de colonias.

7. Cinética de adhesión de los bacteriófagos

En las curvas de lisis el período de inicio de la fase de eclipse fue de unos 14min, siendo el del fago F2 el mayor (50min). Todos los fagos evaluados presentaron un inicio de fase de latencia de aproximadamente unos 15min, excepto para el fago F2, cuya fase de latencia fue de 55min. El tamaño de explosión calculado se generó a los $45\pm 3\text{min}$ de iniciada la infección, y fue de $b=330\text{UFP/UFC}$, exceptuando para los aislados F5 y F8, los cuales exhibieron un tamaño de máxima propagación de $b=\geq 1870\text{UFP/UFC}$ (Tabla 3). El fago F2 fue el que presentó el menor número de fagos producidos por bacteria infectada ($b=125\text{UFP/UFC}$) y el mayor periodo de tiempo para la explosión ($60\pm 5\text{min}$). En las cinéticas de adhesión de fagos líticos, la representación del logaritmo de la fracción o del

porcentaje de fagos libres (no adheridos) respecto al tiempo, correspondió a una recta de pendiente negativa, cuya ecuación puede plantearse como $\log P = \log P_0 - kBt/2,3$; donde P_0 es el número inicial de partículas de fago, P el número de fagos libres (no adsorbidos) al tiempo t , B es la concentración de bacteria hospedadora, y k es lo que se denomina *constante de adsorción*. Los valores de k encontrados normalmente fueron del orden de $10^{-9}\text{ml.UFC}^{-1}\text{min}^{-1}$, para fagos que reconocen varios cientos de receptores celulares, hasta valores del orden de $10^{-11}\text{ml.UFC}^{-1}\text{min}^{-1}$ para fagos que reconocen 2 o 3 receptores por célula [22]. Las constantes de adhesión k , calculadas a partir de las curvas de lisis en un ciclo obtenidas, fueron de $1,7\times 10^{-7}\text{ml.UFC}^{-1}\text{min}^{-1}$ para los fagos F1, F5, F6 y F8, y de $3,4\times 10^{-9}\text{ml.UFC}^{-1}\text{min}^{-1}$ para el fago F2. Se encontró que a los 5min de comenzada la infección, quedó libre (sin adherir) una menor cantidad de

fagos en 4/5 de los aislados, en contra posición a lo presentado por el fago F2, cuyo valor fue mayor. Esto puede deberse bien sea porque, aunque todos los aislados reconocen receptores de superficie similares de la bacteria hospedadora (por ser fagos específicos para *P. aeruginosa*), los aislados F1, F5, F6 y F8 presentaron una mayor fuerza de interacción. Posiblemente estos fagos reconocen un mayor número de receptores para la misma célula que el bacteriófago F2. Un comportamiento que se ha reportado en la familia Siphoviridae, con ciclos infectivos largos de ~80min [37].

Conclusiones

Las características exhibidas por los diversos fagos encontrados en este estudio, incluyendo la resistencia al tratamiento con solventes lipídicos, los hace posibles miembros agrupables en el orden Caudovirales, y probablemente en las familias Myoviridae, Siphoviridae y Podoviridae. Los aislados virales seleccionados son lítico-específicos y capaces de generar placas de lisis de gran tamaño, con características de estabilidad y perfil infectivo deseables para ser candidatos en el desarrollo de potenciales agentes antagónicos con interés biomédico, basados en enzibióticos para el control de patógenos multirresistentes a los antibióticos como *P. aeruginosa*.

Referencias bibliográficas

- 1- RICE S., VAN DEN AKKER B., FRANCESCO D. J. *Water Health* 10: 181-196. 2012.
- 2- HILL D., ROSE B., PAJKOS A., ROBINSON M., BYE P., BELL S., HARBOUR, C. *J. Clin. Microbiol.* 43(10): 5085-5090. 2005.
- 3- RICE L. *J Infect Dis* 197(8): 1079-1081. 2008.
- 4- EL DIDAMONY G., ASKORA A., SHEHATA A. *Curr. Microbiol.* 70(6): 786-791. 2015.
- 5- CHATTERJEE M., ANJU C. P., BISWAS L., KUMAR V. A., MOHAN C. G., BISWAS R. *Int. J. Med. Microbiol.* 306(1): 48-58. 2016.
- 6- SCHOOLEY R. T., BISWAS B., GILL J. J., HERNANDEZ-MORALES, A. LANCASTER, J. LESSOR, L., SEGALL, A. M. *Antimicrob. Agents Chemother.* 61(10): e00954-17. 2017.
- 7- ZHANG Y., HU Z. *Biotechnol. Bioeng.* 110(1): 286-295. 2013
- 8- KNEZEVIC P., OBREHT, D. PETROVIC O. *Curr. Microbiol.* 59(2): 173-180. 2009.
- 9- AHIWALE S., PRAKASH D., GAJBHIYE M. JAGDALE, S. PATIL, N., KAPADNIS B. *Curr. Microbiol.* 64(4): 305-311. 2012.
- 10-PIRES D., VILAS BOAS D., SILLANKORVA S., AZEREDO J. *Infections. Virol.* 89:7449 -7456. 2015.
- 11- DEL CASTILLO C., GÓMEZ A., NOÉ M. *Manual de laboratorio. Prácticas de virología.* FMVZ-UNAM. México DF (México). 2003.
- 12-GAVIRIA, A., GONZÁLEZ, M., CASTAÑO, O. *Rev. MVZ Córdoba* 17(1): 2852-2860. 2012.
- 13-BEDOYA L., BUSTAMANTE A., JURADO A., NIÑO C., ZAMBRANO C., VERGEL Z. A., PORTILLA L., NAVIA D., GAVIRIA A., ALBORNOZ G. *Aislamiento y detección de bacteriófagos específicos para Pseudomona sp obtenidos a partir de muestras de tierra.* Universidad Del Quindío. Armenia (Colombia). 2013.
- 14-KNEZEVIC P., OBREHT D., PETROVIC O. *Curr. Microbiol.* 59(2): 173-180. 2009.
- 15-CEYSSENS J., NOBEN P., ACKERMANN W., VERHAEGEN J., DE VOS D., PIRNAY P., MERABISHVILI M., VANECHOUTTE M., CHIBEU A., VOLCKAERT G., LAVIGNE R. *Environ. Microbiol.* 11(5): 1303-1313. 2009.
- 16-COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). Norma N° 2986-93. 1993.
- 17-LEGNANI P., LEONI E., RAPUANO S., TURIN D., VALENTI C. *Int. J. Food Microbiol.* 53(2-3):153-158. 1999.
- 18-PAYARES B., VILLASMILF., MATOS R., LARREAL Á., BARBOZA Y., LEVY A. *Multiciencias* 13(1): 16-22. 2013.
- 19-PRADA, C., HOLGUIN, A., GONZÁLEZ, A., VIVES, M. Univ. Sci. (Pontif. Univ. Javeriana, Fac. Cienc.) 20(1): 43-59. 2015.
- 20-CONCEPCIÓN R., VÁZQUEZ M., LÓPEZ R. *Rev. Aquatic* 18:3-10. 2003.
- 21-Jensen E., Schrader H., Rieland B., Thompson T., Lee K., Nickerson K., Kokjohn T. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(2): 575-580. 1998.
- 22-DINI C. Aislamiento y caracterización molecular de bacteriófagos de bacterias enteropatógenas para biocontrol de enfermedades transmitidas por alimentos (Para obtener el título de Doctor en Ciencias Exactas). Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. Buenos Aires (Argentina) 142pp. 2011.

- 23-GUTTMAN, B., RAYA, R., KUTTER, E. *Basic phage biology*. En: KUTTER, E. Y A. SULAKVELIDZE (eds) *Bacteriophages: Biology and Applications*. CRC Press. New York (USA). 29-66. 2004.
- 24-FORTIER L., MOINEAU S. *Phage production and maintenance of stocks, including expected stocks lifetimes*. En: CLOKIE M., KROPINSKI A. (eds) *Bacteriophages: Methods and Protocols, Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions*. Humana Press. Michigan (USA). 203-219. 2009.
- 25-BERNHARDT G., WANG N., STRUCK K., YOUNG R. *Science* 292(5525): 2326-2329. 2001.
- 26-MANIV I., JIANG W., BIKARD D., MARRAFFINI L. *J. Bacteriol.* 198(6): 941-950. 2016.
- 27-AMITAI G., SOREK R. *Nat. Rev. Microbiol.* 14(2): 67-76. 2016.
- 28-MAXWELL K. *PLoS Pathog.* 12(1): e1005282. 2016.
- 29- LANDER E. *Cell* 164(1): 18-28. 2016.
- 30-SPRICIGO D. La desinfección basada en bacteriófagos como herramienta de biocontrol de *Salmonella* en alimentos (para obtener el título de Doctor en Ciencias). Facultat de Biociències. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona (España). 181pp. 2011.
- 31-TANJI Y., SHIMADA T., FUKUDOMI H., MIYANAGA K., NAKAI Y., UNNO H. *J. Biosci. Bioeng.* 100(3): 280-287. 2005.
- 32-RUSSO, T. *Capsule and Lipopolysaccharide*. En: DONNENBERG M. S. (ed). *Escherichia coli: virulence mechanisms of a versatile pathogen*. Academic Press. Boston (USA). 379-403 pp. 2002.
- 33-HASSAN A., FRANK J. *Int. J. Food Microbiol.* 96(1): 103-109. 2004.
- 34-SHARMA M., RYU J., BEUCHAT J. *J. Appl. Microbiol.* 99(3): 449-459. 2005.
- 35-ABEDON T. *Bacteriophage ecology: population growth, evolution, and impact of bacterial viruses*. Cambridge University Press. New York (USA). 508 pp. 2008.
- 36-SEGUNDO A., HERNÁNDEZ E., LÓPEZ O., TORRES O. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* 41(3): 17-26. 2010.
- 37- DE SMET J., ZIMMERMANN M., KOGADEEVA M., CEYSSENS P., VERMAELEN W., BLASDEL B., HO B., JANG U.; LAVIGNE R. *ISMEJ*. 10(8):1823-1835. 2016.

SITUALIZ: Software para la simulación de planes situacionales

*Noelia Cegarra Ospino, Gerardo Pirela Morillo**

cegarranoelia@gmail.com, gepirela@fec.luz.edu.ve
Laboratorio de Lenguajes y Modelos Computacionales. Facultad Experimental de Ciencias.
La Universidad del Zulia

Recibido: 22-12-2017 Aceptado: 27-01-2018

Resumen

La planificación automática estudia la construcción de planes como secuencias de acciones, dado un conjunto de precondiciones y efectos, para llegar a satisfacer una meta. La lógica situacional ofrece un lenguaje formal para modelar y razonar sobre situaciones: objetos, acciones con precondiciones y efectos, y las condiciones para que las metas sean satisfechas. Asimismo, el cálculo situacional define mecanismos computacionales para la construcción de planes, aplicando razonamiento automático sobre los axiomas de la lógica situacional. Se desarrolló una herramienta de software que permite, a través de una interfaz gráfica, definir los elementos de lógica situacional para casos generales; se implementó un planificador situacional basado en búsqueda en anchura para garantizar hallar planes con la menor cantidad de acciones posibles; se integró un visualizador para el grafo y el plan situacional explorado hasta el momento de satisfacer la meta. Siguiendo una metodología de ciclo de vida de software, se utilizó Prolog para la representación e implementación de lógica y cálculo situacional, Java para la interfaz gráfica, TuProlog para la conexión entre la interfaz y el planificador, y GraphViz para la visualización de los grafos y planes situacionales.

Palabras clave: Planificación automática, lógica situacional, grafo de situaciones, Prolog, GraphViz.

SITUALIZ: Situational planning simulation software

Abstract

Automatic planning studies building plans as action sequences to satisfy goals given a set of constraints such as preconditions and other conditions depending on specific modeling strategies. Situational logic provides a formal framework to define situations: their elements, actions, and constraints (preconditions and effects), as well as the conditions to call all goals satisfied. Situational calculus provides computational approaches to build situational plans reasoning over the axioms of situational logic. The resulting software provides a graphic interface to define situations' elements, both the initial and goal situations, and the permitted actions with their preconditions and effects; the core situational planner was implemented based on the breadth-first search algorithm to guarantee finding fewest-action (shortest-length) plans. The software also displays graphical rendering of the situational plans which the algorithm explores up to the point where the goal situation is found, as well as the fewest-action plan found. Following a software life-cycle methodology, the authors used Prolog for representing and implementing situational logic and calculus, Java for the graphical interface, TuProlog for the connection between the interface and the situational planner, and GraphViz for rendering the situational graph and the resulting plan.

Keywords: Automatic Planning, Situational Logic, Situational Graph, Prolog, GraphViz

Introducción

De los casi 70 años de historia de la inteligencia artificial, en las últimas dos décadas ha alcanzado un auge muy importante que la han vuelto ubicua en casi todos los aspectos de la vida cotidiana y a la cabeza en los principales avances científicos y tecnológicos. Dentro de ésta, la planificación automática se encarga de la construcción de principios computacionales para la representación de objetos y acciones permitidas (con sus precondiciones y efectos) en el entorno y la subsecuente construcción de planes en la forma de secuencias de acciones para llegar de una condición inicial a la satisfacción de metas (1).

El estudio de técnicas de programación lógica, razonamiento automático y especialmente planificación automática es fundamental dentro del estudio más amplio de la inteligencia artificial.

Planificación automática sigue siendo un tema importante en el currículo de inteligencia artificial. Herramientas de software que faciliten la edición, simulación y visualización de elementos de planificación automática serían de gran ayuda, tanto en el contexto académico como en el contexto exploratorio general de tales conceptos. Sin duda serían positivamente conducentes al proceso de enseñanza-aprendizaje.

Existen varias herramientas de apoyo a la enseñanza de temas importantes de inteligencia artificial y modelos computacionales. Por ejemplo, la suite Fenix-Logios-Asix consiste en tres herramientas desarrolladas para apoyar la enseñanza de conceptos fundamentales de teoría de la computación: Fénix permite la construcción, manipulación y simulación de autómatas finitos determinísticos y no determinísticos (2). Logios integra la manipulación y simulación de máquinas de Turing estándares y de acceso aleatorio (3). Logios incorpora la edición, simulación y visualización de modelos de *parsing* universal basados en gramáticas libres de contexto: proceso de cómputo del autómata de pila equivalente a la gramática y algoritmo YCK de la forma normal de Chomsky equivalente de la gramática dada (4).

Con el mismo espíritu de crear una herramienta para facilitar el proceso de enseñanza-aprendizaje de algunos conceptos básicos de planificación automática, se creó el software acá presentado. Se tomó de Logios la arquitectura general de conectar una interfaz gráfica de usuario con un motor de razonamiento automático sobre el que se implementó el planificador, así como la visualización del espacio de planes explorados a través de la conexión con un generador de grafos.

Planificación automática

Es una rama de la inteligencia artificial para la producción de planes como secuencias de acciones para alcanzar una meta (1). Para efectuar un plan es necesaria la creación de un lenguaje que defina los estados iniciales, las acciones a tomar, el resultado de la toma de dichas acciones y la meta a alcanzar, y esto es realizado por parte de un planificador que trabaja con algoritmos que generan dichos planes.

Un planificador descompone el mundo en condiciones lógicas y representa los estados iniciales como una secuencia de literales positivos conectados y estos deben ser simples y sin dependencias funcionales; las acciones son especificadas en términos de las precondiciones que deben cumplirse antes de ser ejecutadas y de las consecuencias que se siguen cuando se ejecutan; la meta es representada como una secuencia de literales positivos y simples, un estado proposicional s satisface un objetivo g si s contiene todos sus elementos en g . El esquema general de acción consiste en tres partes:

- El nombre de la acción y la lista de parámetros.
- La precondición: unión de literales positivos sin dependencia funcional, estableciendo lo que debe ser verdad en un estado antes que una acción sea ejecutada.
- El efecto: unión de literales positivos sin dependencia funcional que describe cómo cambia el estado cuando la acción es ejecutada.

Russell y Norvig (1) indican que la planificación automática en el campo de la inteligencia artificial surgió de la investigación en búsqueda en espacio de estados, demostración automática de teoremas, entre otras áreas. Uno de los primeros planificadores basados en lógica de primer orden fue el STRIPS (de la Universidad de Stanford). De éste empezaron a evolucionar versiones cada vez más sofisticadas, con aplicaciones principalmente en el área de robótica industrial. En la década de los 2000 se logró estandarizar un lenguaje de descripción de acciones y un lenguaje descripción de dominio. Se crearon competencias y se tipificaron los problemas de planificación automática y basada en grafos de espacios de búsqueda como NP-Duros. Las herramientas de planificación se volvieron cada vez más específicas a los dominios de aplicación.

Planificación situacional

La idea detrás de la planificación situacional es que los estados pueden ser definidos en términos de las acciones necesarias para llegar a ellos (5). Cada relación que pueda cambiar con el tiempo se

maneja dando una situación adicional al predicado correspondiente.

Según describen Russell y Norvig (1), en la planificación situacional solo se consideran ambientes completamente observables y acciones determinísticas. De tal manera que una situación se describe completamente en el lenguaje formal de lógica de primer orden, como la conjunción de hechos observables sobre los elementos del entorno y sus interrelaciones. Asimismo, se definen las acciones legales en cualquier situación, especificando sus precondiciones y efectos. Las precondiciones se definen como una lista de hechos que deben cumplirse en cualquier situación para poder tomar la acción descrita. Los efectos se describen como una lista de hechos que serán ciertos en la siguiente situación si se ejecutara la acción descrita.

Siguiendo este esquema, a partir de una situación dada S_i se pueden calcular las situaciones siguientes posibles con los efectos de las acciones válidas desde S_i , según los hechos que son ciertos en S_i ; cada una de dichas acciones potencialmente generaría exactamente una situación nueva S_j , dependiendo de los efectos de la acción tomada. Este tipo de cálculo se denomina cálculo situacional. De esta forma, se genera dinámicamente un grafo de situaciones, en el que los nodos son situaciones y cada arco es una acción legal para el nodo situación hacia el nodo situación resultante.

Definiendo una situación inicial y una situación meta, un planificador situacional es cualquier algoritmo que utilice cálculo situacional para generar dinámicamente el espacio de soluciones parciales (grafo situacional), hasta llegar a la situación meta o cumplir un criterio de divergencia que permita detectar si no existen planes posibles. De existir al menos un plan posible, la salida del planificador es un camino en el grafo de situaciones, desde la situación inicial hasta la situación meta; el plan se representaría como la secuencia de acciones indicadas por los arcos del camino.

Metodología

Para el desarrollo de esta investigación se utilizó la metodología del ciclo de vida para el desarrollo de sistemas (6). Esta metodología específica que un sistema sigue una estructura bien organizada y claramente planteada a lo largo de cuatro fases fundamentales: investigación preliminar, diseño, desarrollo de la herramienta y pruebas del producto final.

Durante la fase de investigación preliminar se revisaron herramientas para el apoyo al proceso de enseñanza de temas específicos del área de modelos computacionales e inteligencia

artificial. La herramienta descrita por (4) resultó particularmente pertinente para el presente trabajo por cuanto combina interfaz gráfica para definición de elementos, generación de código en lógica de primer orden y construcción de resultados en forma de grafos de espacio de búsqueda y caminos sobre dicho grafo. Se requirió, entonces, conectar un motor de razonamiento automático para el planificador, una herramienta gráfica para la visualización de los grafos y los planes situacionales, y una interfaz gráfica para la edición e integración con el planificador y el visualizador. La herramienta resultante se bautizó "Situalliz".

Arquitectura de Situalliz

El planificador situacional se implementó en SWI-Prolog, utilizando un algoritmo de recorrido en anchura (7) para garantizar que, de existir un plan, el planificador halle uno de menor longitud (menor cantidad de acciones posibles entre la situación inicial y la meta). Para la integración de este módulo se migró el código del planificador a TuProlog: una versión de Prolog ligero aplicaciones e infraestructura distribuidas (8); también se creó un lenguaje de alto nivel para la especificación de los elementos de lógica situacional. Se usó el entorno de desarrollo IntelliJ IDEA, en conjunto con JavaFX Scene Builder, creando una interfaz amigable que ofrece al usuario la oportunidad de una interacción abierta con la herramienta. Se creó un módulo de visualización de grafos de situaciones con la ayuda de la herramienta Graphviz en su versión 2.38. Esta arquitectura a alto nivel se aprecia en la figura 1.

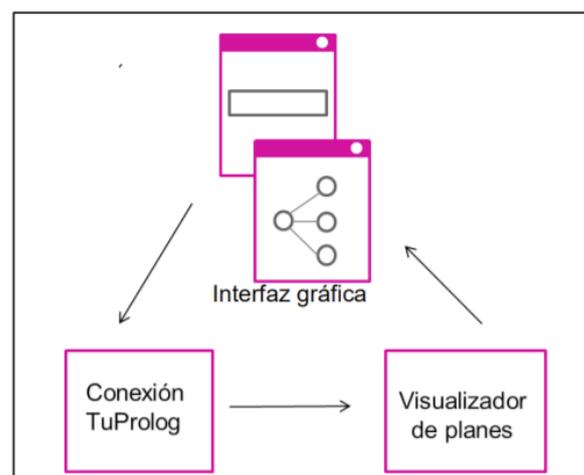


Figura 1. Arquitectura de Situalliz

La interfaz gráfica de la herramienta se desarrolló en el lenguaje de programación Java. Este módulo permite que el usuario edite los elementos de un plan situacional, especificando los elementos de

entorno, características del entorno, estado inicial, meta, acciones, precondiciones y efectos. Luego estos datos son convertidos al código Prolog que es ejecutado usando la herramienta TuProlog, produciendo el plan situacional en este módulo que posteriormente es enviado al visualizador de planes. En el módulo de visualización de planes se crea un archivo .dot a partir del plan situacional generado para así establecer comunicación con GraphViz y poder crear la imagen del grafo de situaciones que es mostrado al usuario por medio de la interfaz gráfica.

Situzal fue diseñado con una interfaz minimalista que proporciona al usuario una interacción clara, haciendo sencillo el ingreso de los objetos necesarios para el planificador situacional: elementos y características del entorno, situaciones inicial y meta, acciones: precondiciones y efectos. Esta interfaz fue creada en Java, mediante el EDI IntelliJ IDEA y JavaFX Scene Builder; para el diseño de este módulo también se utilizó el lenguaje FXML que es un lenguaje basado en XML, que provee la estructura para construir una interfaz de usuario separada de la lógica del código de la aplicación (9). La figura 2 muestra el menú principal de la herramienta.

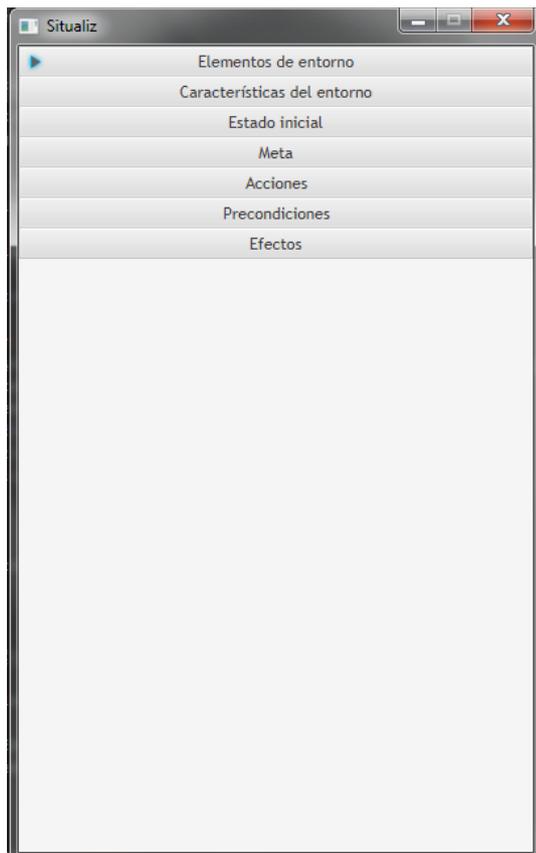


Figura 2. Ventana principal de Situzal

Una vez que el usuario por medio de la interfaz haya definido los elementos básicos de un planificador situacional, se puede simular el planificador a través de la conexión con la librería TuProlog: las definiciones ingresadas por la interfaz gráfica se convierten en código Prolog con la sintaxis y el formato que espera el planificador situacional, el resultado de cuya ejecución contiene la información del grafo situacional y el camino que representa el plan hallado. Esta información es convertida a lenguaje .dot para que GraphViz lo interprete como grafo y se pueda visualizar en la ventana respectiva.

La visualización del grafo de situaciones que se genera con los datos que el planificador devuelve se muestra como una imagen generada con GraphViz, a partir del archivo .dot generado en la sección de simulación. Este grafo tiene coloreado de azul los nodos que representan las situaciones resultantes de la secuencia de acciones que llevan a la meta; las aristas están etiquetadas con la acción que conecta las dos situaciones. Esta ventana permite realizar zoom al grafo mostrado.

Resultados y discusión

Para mostrar un caso de uso desarrollado con Situzal, se introduce el “Mundo de Bloques”: sobre una mesa se disponen un número finitos de bloques, en una configuración inicial (algunos bloques sobre la mesa, otros bloques sobre algún otro bloque) y se desea realizar una secuencia de movimientos para llevar los bloques a una configuración meta. La figura 3 muestra un ejemplo de tal escenario.

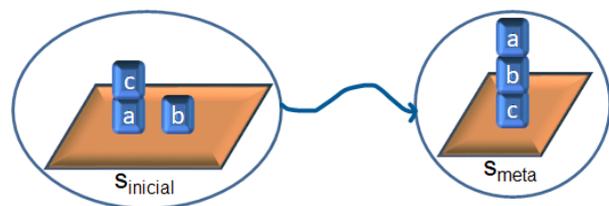


Figura 3. Mundo de Bloques – bloques etiquetados con las letras a,b,c sobre una mesa. La configuración de la izquierda es la situación inicial; la configuración de la derecha es la situación meta. Se desea llegar de una a la otra con movimientos sucesivos de bloques.

En este “Mundo de Bloques”, los elementos del mundo serían la mesa y los bloques, identificados con alguna etiqueta distintiva; la descripción de las situaciones sería la conjunción de relaciones sobre (X, Y) que representaría que el objeto X (algún bloque) está encima del objeto Y (algún otro bloque o la mesa) y despejado (X) para indicar que

el objeto X (bloque o mesa) no está despejado (no tiene ningún otro bloque encima); la única acción permitida sería mover(X, Y) que representaría el movimiento del objeto X (algún bloque) hacia otro objeto Y (otro bloque o la mesa). Los planes serían, entonces, una secuencia de movimientos que permitan transformar la configuración descrita por la situación inicial en la configuración definida en la situación meta.

La figura 4 muestra la interfaz gráfica donde se definiría los bloques y la mesa, así como la definición de las relaciones para describir las situaciones. En el caso de uso, se definen tres bloques (a, b, c), la mesa (m) y las relaciones sobre y despejado. La notación sobre/2 indica que es una relación binaria: admite dos argumentos (el objeto indicado por el primer argumento está encima del objeto representado por el segundo argumento); mientras que despejado/1 indica una relación unaria: admite solo un argumento (el objeto indicado por el argumento no tiene ningún otro objeto encima).

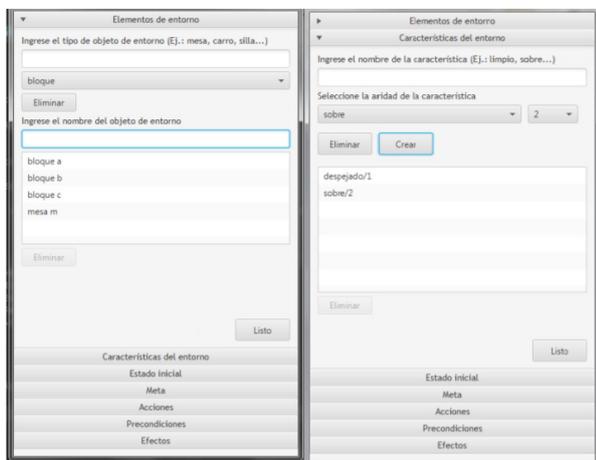


Figura 4. Definición de los elementos del mundo y las relaciones para definir las situaciones.

En la figura 5 se puede observar el uso de la interfaz gráfica para la definición de las situaciones inicial y final. En la situación inicial, los tres bloques están despejados sobre la mesa; la situación meta, los tres bloques están apilados sobre la mesa: a sobre b, b sobre c, c sobre la mesa (el hecho de que el bloque a está despejado resulta redundante en este caso).

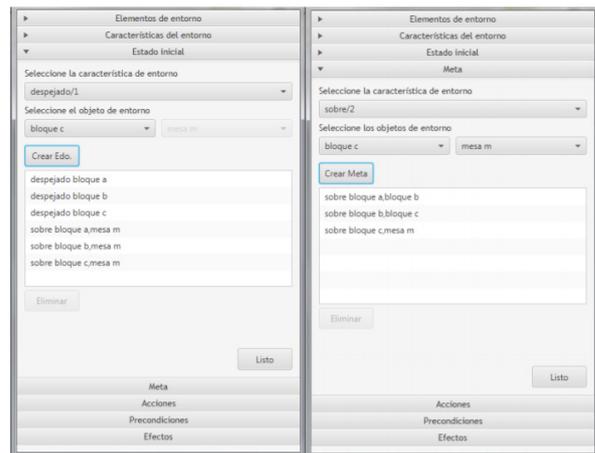


Figura 5. Definición de las situaciones inicial y meta.

Para definir la acción mover(X, Y) se deben definir primero las precondiciones que deben cumplirse en una situación para que se pueda ejecutar el movimiento del objeto X hacia el objeto Y: el objeto a mover, X, debe ser un bloque (no puede ser la mesa) y estar despejado; además, el objeto que recibirá el movimiento, Y, debe estar despejado. Luego se definen los efectos: en la situación resultante, X quedará sobre Y; Y ya no estará despejado (a menos que Y sea la mesa, la cual siempre tendrá espacio para recibir bloques), el objeto sobre el cual estaba X quedará despejado, X seguirá despejado y todos los demás bloques que no estuvieron involucrados en la acción permanecerán sin cambio. Estas definiciones, a través de la interfaz gráfica de Situaliz, se observan en las figuras 6 y 7.

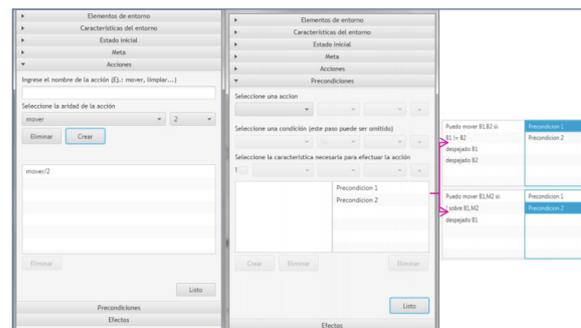


Figura 6. Definición de las acciones: precondiciones.

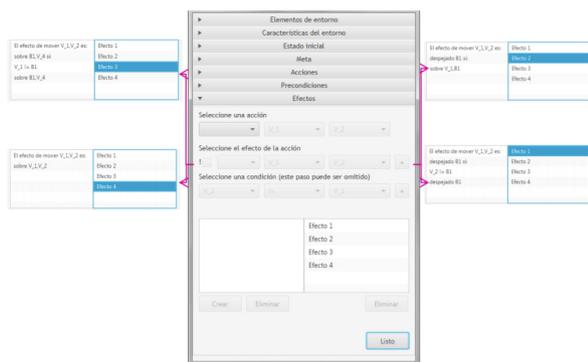


Figura 7. Definición de las acciones: efectos.

Una vez definidos todos los elementos de lógica situacional, el botón de “Listo” activa la generación del código Prolog, tal como se muestra en la tabla 1. Este código es integrado con el resto del planificador situacional basado en búsqueda de anchura y se ejecuta el planificador. En el proceso de salida, el grafo situacional es generado dinámicamente y, paso a paso, la salida es transformada en formato .dot, tal como se muestra en la tabla 2. El grafo resultante, en formato .dot, es pasado por GraphViz para generar una imagen que es visualizada en la ventana final del simulador, tal como se muestra en la figura 8.

Tabla 1. Código Prolog generado

<pre>% Elementos del mundo bloque(a). bloque(b). bloque(c). mesa(m).</pre>	<pre>% Situación inicial cierto(sobre(a,m),sito). cierto(sobre(b,m),sito). cierto(sobre(c,m),sito). % Situación meta: Meta=y(y(sobre(a,b), sobre(b,c)), sobre(c,m)).</pre>
<pre>% Acciones: Precondiciones puedo(mover(B1,B2),Sit):- bloque(B1), bloque(B2), B1\==B2, despejado(B1), despejado(B2) \+cierto(sobre(B1,B2),Sit). puedo(mover(B1,B2),Sit):- bloque(B1), mesa(B2), \+cierto(sobre(B1,B2),Sit).</pre>	<pre>% Acciones: Efectos cierto(sobre(B1,V_4), result(mover(V_1,V_2),Sit)):- bloque(B1), V_1\==B1, cierto(sobre(B1,V_4),Sit). % Se generan otros efectos</pre>

Tabla 2. Segmento de archivo .dot generado

Salida del planificador	Formato .dot equivalente
<pre>sito result(mover(a,b),sito) sito result(mover(b,a),sito) sito result(mover(b,m),sito)</pre>	<pre>“Sito” -> “Sit1” [label=“mover(a,b)”]; “Sito” -> “Sit2” [label=“mover(b,a)”]; “Sito” -> “Sit3” [label=“mover(b,m)”];</pre>

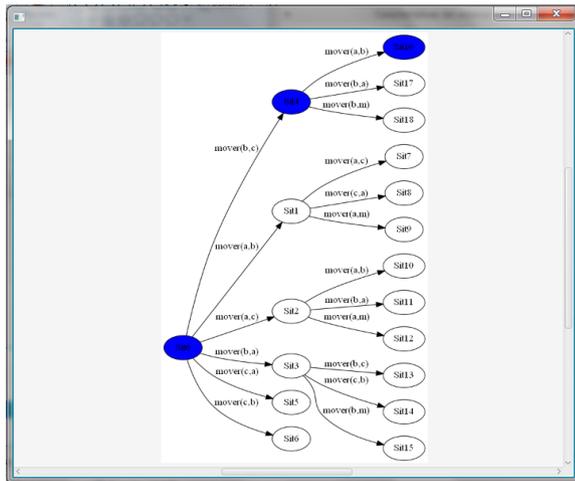


Figura 8. Grafo situacional con el plan resultante resaltado en azul sus nodos.

En caso de que no exista plan posible para llegar a la situación meta a partir de la situación inicial definidas, se muestra un error como el descrito en la figura 9. El software se diseñó con buenas prácticas de desarrollo de software, así que se captura y se reporta cualquier otro error que ocurra durante la edición o la simulación del planificador situacional.

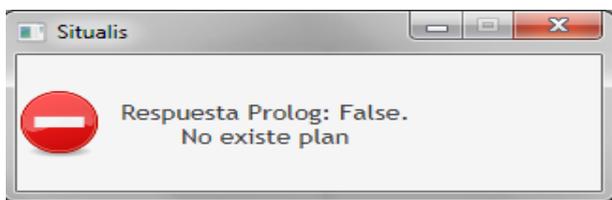


Figura 9. Respuesta cuando el planificador diverge y no halla plan válido.

Conclusiones

Situallis se presenta como una herramienta de software para apoyo al proceso de enseñanza de cálculo y planificación situacional, en el contexto del área de planificación automática en el campo de la inteligencia artificial. Esta herramienta para el modelaje y simulación de resolución de problemas en estas técnicas de planificación situacional, a través de una interfaz gráfica intuitiva que permite la edición de los elementos de lógica situacional: objetos del mundo, acciones, precondiciones y efectos; luego simula la construcción de planes situacionales y genera la visualización del grafo de situaciones.

Durante el desarrollo de la herramienta se creó un lenguaje de alto nivel que facilita al usuario especificar de manera detallada los elementos de

lógica situacional, por medio de una interfaz gráfica amigable. Luego de esta interacción se da paso a los procesos necesarios para realizar las consultas al planificador, para lo cual fue indispensable la comunicación entre los lenguajes Java y Prolog, lo que permitió que la herramienta tomara ventaja de dicha unión para su buen funcionamiento.

El planificador situacional se implementó en Prolog, basado en el algoritmo de búsqueda en anchura sobre el grafo de situaciones que se va generando dinámicamente. La búsqueda en anchura garantiza que el planificador se ejecute con una complejidad computacional temporal lineal sobre el tamaño del grafo (cantidad de nodos situaciones más cantidad de arcos acciones), además de garantizar que el planificador no explore ciclos de forma redundante y que el plan resultante siempre contenga la menor cantidad de acciones posibles.

Se construyó un módulo para la visualización del grafo de situaciones, que permite al usuario observar las acciones tomadas por el planificador y la secuencia que conduce a la solución. El resultado del planificador en Prolog es traducido a formato .dot que GraphViz convierte en imagen para ser visualizada en la ventana final del simulador.

Las pruebas funcionales a la herramienta permitieron detectar y corregir errores a lo largo del desarrollo de la misma. Se probaron varios casos de uso. En este manuscrito se describió el caso del mundo de bloque; también se probó otros casos de uso, que permitieron explorar las limitaciones tanto de la herramienta como de la planificación situacional. Por ejemplo, una limitante conocida del cálculo situacional es la necesidad de modelar explícitamente como efectos las características que no cambian de una situación a la siguiente, para poder calcularse nuevamente como parte de la construcción de la situación resultante.

Finalmente, se plantean las siguientes vías de trabajo futuro:

- Optimizar la interactividad de la herramienta, de manera que el usuario observe paso a paso las acciones tomadas por parte del planificador.
- Explorar los límites de lógica situacional con la que está programada el planificador, pudiéndose detectar los mismos a través de la interfaz.
- Limitar las iteraciones realizadas por parte del planificador mediante la detección de alguna entrada que conlleve a un ciclo infinito.

- Darle continuidad a la investigación en esta materia para fortalecer las líneas de investigación de modelos computacionales y la simulación de agentes inteligentes.

Referencias bibliográficas

1. RUSSELL S., NORVING P. **Artificial Intelligence: A Modern Approach**. Prentice Hall. Kent (USA). 1152pp. 2009.
2. FERRER D. Herramienta Integrada para la construcción, manipulación y simulación de autómatas finitos (Para obtener el título de Licenciado en Computación). Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo (Venezuela). 99 pp. 2011.
3. CASPERSEN S. Herramienta integrada para la manipulación y simulación de **máquinas de Turing** estándares y de acceso aleatorio (Para obtener el título de Licenciada en Computación). Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo (Venezuela). 127 pp. 2011.
4. NÚÑEZ H., PIRELA-MORILLO G. **REDIELUZ**. 5(1 y 2): 49-58. 2015.
5. POOLE D., MACKWORTH, A. **Artificial Intelligence: Foundations of Computational Agents**. Cambridge University Press. Cambridge (USA). 820 pp. 2017.
6. <http://analisideinformacion.blogspot.com/2012/09/metodologia-senn.html>. Fecha de consulta: 05/12/2016.
7. CORMEN T., LEISERSON C., RIVEST R., STEIN C. **Introduction to Algorithms**. The MIT Press. Cambridge (USA). 1251 pp. 2010.
8. DENTI E. **TuProlog Manual version: 2.9.0**. Alma Mater Studiorum – Università di Bologna. Bologna (Italy). 255 pp. 2014.
9. <https://www.java.com/es/about/>. Fecha de consulta: 01/04/2017.

Estudio químico preliminar de los frutos secos de *Sterculia apetala* Druce

Néstor Peña^{*1}, Yimi Dulcey¹, Nilibeth Becerra¹, José Ortega¹

¹ Universidad del Zulia, Facultad Experimental de Ciencias, Departamento de Química,
Laboratorio de Productos Naturales

Recibido: 13-11-2017 Aceptado: 08-01-2018

Resumen

A partir de los frutos secos de *Sterculia apétala* Druce, mediante maceración con metanol se obtuvo el extracto metanólico crudo (EMC) de, éste fraccionado con acetato de etilo se obtuvieron las fracciones: soluble (S1) e insoluble (I1), Del extracto S1, se obtuvo una fracción oleosa, la cual analizada mediante CG-MS, permitió la identificación del alcaloide 4,5-epoxy-N-metil-(5 α ,6 α) morfina-6-ol y el terpeno biciclosesquifelandreno, ambos se reportan por primera vez para este género; también se identificó el 14-metilheptadecanato de metilo y el etenonaftaleno. De la fracción S1, mediante la utilización de técnicas espectroscópicas (IR, RMN) se identificó el kaempferol-3-O- β -D-(6-coumaroil)-glucopiranosido y una mezcla de β -sitosterol/estigmasterol, Por otro lado, en la fracción I1, se logró determinar la presencia de compuestos fenólicos, terpénicos y carbohidratos.

Palabras clave: *Sterculia apetala*, fitoquímica, Frutos

Preliminary chemical study of dry fruits of *Sterculia apetala* Druce

Abstract

From the dried fruits of *Sterculia apétala* Druce, by maceration with methanol, the crude methanolic extract (EMC) was obtained, this fractionated with ethyl acetate, the fractions were obtained: soluble (S1) and insoluble (I1), From extract S1, an oily fraction was obtained, which analyzed by CG-MS, allowed the identification of the alkaloid 4,5-epoxy-N-methyl- (5 α , 6 α) morfinan-6-ol and the terpene bicyclosesquifelandrene, both are reported for the first time for this genre; Methyl 14-methylheptadecanate and ethenonaphthalene were also identified. From the S1 fraction, by using spectroscopic techniques (IR, NMR), kaempferol-3-O- β -D-(6-coumaroyl)-glucopyranoside and a mixture of β -sitosterol/stigmasterol were identified. In fraction I1, the presence of phenolic, terpenic and carbohydrate compounds was determined.

Key Words: *Sterculia apetala*, Phytochemistry, Fruits

* nestorspa@hotmail.com

Introducción

La familia *Sterculiaceae* es bastante conocida, a ella pertenecen los géneros *Guazuma* y *Theobroma*. En el primero se incluye al *Guazuma ulmifolia* “guácimo”, como una planta de alto valor forrajero, puesto que sus frutos y partes vegetativas tienen un mucílago que es apetecible al ganado; en el segundo, al *Theobroma cacao* L. “cacao” especie explotada comercialmente.¹

La familia comprende aproximadamente 68 géneros y 1000 especies.² Entre dichos géneros se encuentran: *Waltheria*, *Melochia*, *Sterculia*, *Helicteres* y *Theobroma* entre otros.¹ Las plantas de esta familia son reconocidas por ser ricas en alcaloides, particularmente, los alcaloides ciclopéptidos, quinolinona e isatin los cuales han sido empleados en la medicina tradicional para aliviar la inflamación de garganta, para curar la hinchazón abdominal, disentería y mordedura de culebra además también son utilizados como agentes antitumorales.³ Además, se ha reportado la presencia de terpenos, flavonoides y polisacáridos, muchos de estos metabolitos han resultado ser biológicamente activos, razón por la cual resultan buenos candidatos para su estudio como fármacos.^{4,5,6} Con estos antecedentes, resulta de interés continuar con los estudios en las diferentes especies de esta familia, como lo es la *Sterculia apetala* Druce, con la finalidad de contribuir al desarrollo, caracterización y evaluación de nuevos compuestos de interés biológico y farmacológico.^{7,5}

Hoy en día las investigaciones en torno a la búsqueda de metabolitos biológicamente activos han tomado gran importancia, ya que éstos son el punto de partida para la obtención de nuevos fármacos.

Considerando los escasos estudios relacionados a la química y farmacología de este género, sumado a la presencia de metabolitos como alcaloides, terpenos y flavonoides; en esta investigación se sugiere el estudio de *S. apetala*, que crece en Venezuela, y determinar la composición química de los frutos del vegetal, lo cual contribuiría al estudio del posible potencial biológico de sus extractos.

Materiales y métodos

Tratamiento del Material Vegetal

Los frutos de la especie *S. apetala*, fueron recolectados en las zonas aledañas al módulo III de la FEC en la Universidad del Zulia en el 2013. Se realizó un muestreo del tipo aleatorio sobre especies silvestres, La especie vegetal fue identificada por el Botánico Dr. Miguel Pietrangeli coordinador del Laboratorio de Sistemática de Plantas Vasculares de la Facultad de Biología de la Universidad del

Zulia. El material recolectado (frutos), se dejó secar bajo sombra a temperatura ambiente por aproximadamente 15 días hasta adquirir un color marrón claro. Luego, se molió finamente hasta obtener 1,5 Kg. de material seco y molido, éste material, fue extraído con metanol grado técnico; el extracto obtenido fue concentrado a presión reducida en un rota vapor hasta obtener el extracto metanólico crudo (EMC) (157,23 g). El EMC, se fraccionó utilizando acetato de etilo, para obtener las fracciones soluble (S1) (4,29 g, 2,7%) e insoluble (I1) (152,94 g, 97%).

Estudio Químico

Una porción (4 g) de la fracción S1, fue cromatografiada sobre sílica gel, se separaron 13 fracciones. De la fracción 1 (237 mg) se obtuvo una fracción oleosa, de color amarillo, la cual se caracterizó por GC-MS.

Análisis químico de la fracción oleosa (CG-MS)

El análisis de la fracción oleosa, se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard HP 6890 acoplado a un detector de masa Hewlett Packard modelo 5973, equipado con una columna HP-5MS de sílice fundida (30 m x 0.25 mm d.i, con un grosor de película de 0.25 µm). Se inyectó 1.0 µL con relación de *split* de 10:1, el gas de arrastre fue helio a 0.8 mL/min. La temperatura del inyector y detector varió de 200 a 280 °C.; La temperatura de la cámara de ionización y de línea de transferencia fue de 150 a 280 °C; el gas de arrastre fue helio ajustado a una velocidad lineal de 34 cm/s. La energía de ionización fue de 70 eV. Los espectros de masa se obtuvieron por barrido automático en el rango de m/z 20-400 u.m.a, a 3.9 scan/s.

La identificación de los componentes se basó en la comparación computarizada de sus espectros de masas, con los de la librería Wiley MS Data y NIST, además de los descritos por Adams,²⁷ así como por la comparación de sus índices de retención con los datos de la literatura.²⁸

Obtención del Flavonoide

La fracción 9 (401,3 mg) obtenida a partir del extracto S1; se separó nuevamente por cromatografía en sílica gel, utilizando acetato de etilo como eluyente; lo que permitió aislar un sólido amorfo de color amarillo con un punto de fusión de 254 °C, el cual dio positivo a la prueba del ácido difenilborico, correspondiente a flavonoides. A continuación, se muestran sus datos espectroscópicos:

RMN ^1H (DMSO) δ (ppm): 3.16 (dd, $J= 9.1, 8.6$ Hz); 3.21 (dd, $J= 8.6, 7.3$ Hz); 3.25 (t, $J=8.6$ Hz); 3.38 (ddd, $J= 9.1, 6.5, 1.4$ Hz); 4.0 (dd, $J= 11.8, 6.5$ Hz); 4.28 (dd, $J= 11.8, 1.4$ Hz); 5.15 (sa, OH); 5.20 (sa, OH); 5.45 (d, $J= 7.3$ Hz); 6.11(d, $J= 15.9$ Hz); 6.15 (d, $J= 1.7$ Hz); 6.38 (d, $J= 1.7$ Hz); 6.79 (d, $J= 8.6$ Hz); 6.86 (d, $J= 8.6$ Hz); 7.34 (d, $J= 15.9$ Hz); 7.36 (d, $J= 8.6$ Hz); 7.99 (d, $J= 8.6$ Hz); 10.2 (sa, OH).

Obtención del Esteroil

La fracción 4 del Extracto S1, eluída con cloroformo permitió separar un sólido amorfo de color blanco, el cual fue recristalizado a partir de metanol presentando un punto de fusión: p.f. 137-139°C. Este resultó positivo frente a la prueba con el reactivo de Liebermann-Burchard, lo que es indicativo de compuestos del tipo terpeno o esteroil. Sus datos espectroscópicos son los siguientes.

FTIR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3.500 cm^{-1} (C=O), 2.960 cm^{-1} (C-H), 1380 cm^{-1} (C-H), 1670 cm^{-1} (C=C).

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm): 0,66 (s, Me); 0,78 (s, Me); 0,81 (d, Me, $J=6,7$ Hz); 0,90 (d, Me, $J=6,7$ Hz); 0,98 (s, Me); 3,5 (m, 1H, $W_{1/2}=28$ Hz); 5,3 (d, 1H, $J=4,7$ Hz)

Del extracto I1 se determinó la presencia de terpenos, carbohidratos y compuestos fenólicos, su alta polaridad y la característica de oscurecerse y polimerizarse, dificultan la separación de sus componentes.

Resultados y discusión

Caracterización de la fracción oleosa

A partir de la fracción 1 (237 mg) del extracto S1, se separó una fracción oleosa, de color amarillo, la cual se caracterizó por GC-MS mostrando 4 compuestos mayoritarios con tiempos de retenciones próximos, los cuales se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Composición química de la fracción oleosa de las vainas de *Sterculia apetala*.

Compuestos	T.R (Min)	Abundancia (%)
β --etenonaftaleno (I)	13,08	4,417
4,5-epoxy-N-metil-(5, α -6, α) Morfinan-6-ol (II)	14,10	24,20
Biciclosesquifelandreno (III)	15,12	2,62
14-metilheptadecanato de metilo (IV)	16.19	17,99

T.R: Tiempo de retención en min

El compuesto mayoritario resulto ser un alcaloide identificado como 4,5-epoxy-N-metil-(5 α ,6 α) Morfinan-6-ol) del tipo morfinano. Es importante mencionar que, con la amplia revisión bibliográfica realizada no se encontraron datos reportados sobre la presencia de este compuesto en el género *Sterculia*, por lo que se podría sugerir que es la primera vez que se reporta para el género. Alcaloides de este tipo, poseen una buena actividad analgésica, por ser del tipo morfinano, lo que resulta de gran importancia su evaluación, analgésica y antipirética.

También se identificó el biciclosesquifelandreno un sesquiterpeno bicíclico con esqueleto del tipo eudesmanos. Los reportes previos sobre aceites esenciales, particularmente sobre este compuesto, muestran actividad antioxidante, actividad antifúngica sobre los géneros *Aspergillus*, *Candida* y sobre promastigotes de *Leishmania chagasi*, además el mismo compuesto también ha presentado efecto antibiótico sobre algunas bacterias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella typhimurium* ATCC.46

El patrón de fragmentación que presenta el compuesto sesquiterpénico se muestra en la figura 1. La formación de los distintos iones, ocurre principalmente a partir del ion pico de base ($\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7$) $^+$ en m/z 161, siguiendo rupturas del tipo retro-Diels-Alder y reordenamiento de hidrogeno, se forman los iones m/z 133 (57%), 105 (19%), 119 (71%), 91 y 79.

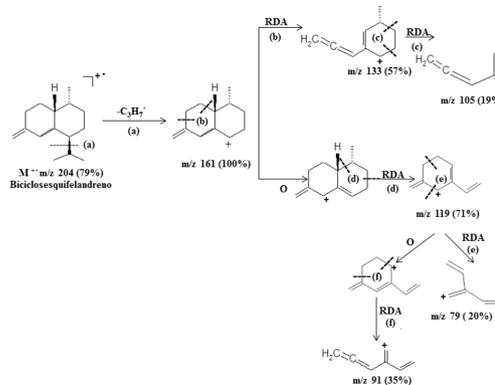


Figura 1. Rutas de fragmentación del biciclosesquifelandreno

También fue identificado el β -etenonaftaleno y el 14-metilheptadecanato de metilo, siendo este último un ácido graso encontrado comúnmente en los aceites de las diferentes especies del género *Sterculia*.

Identificación del Kaempferol-3-O- β -D-(6-coumaroil)-glucopiranosido.

El espectro de RMN C^{13} mostro una señal a δ 177,3 perteneciente al grupo carbonílico de la flavona; Una señal desplazada a δ 62,9 de un grupo metileno junto con señales a δ 69,9; 74,1; 76,2; 100,9 sugiriendo la existencia de una hexopiranosica, siendo la última señal la del carbono anomérico. Otras señales observadas fueron dobles a y un protón cada una $J=16$ Hz) indicando un resto olefinico *trans*-sustituido, el cual podría atribuirse a la olefina de un grupo cinamoilo, p-hidroxisustituido (p-coumarilo), el cual constituye un resto muy común desde el punto de vista biogénico.⁷ La comparación de los datos experimentales y los reportados en la literatura propone la presencia del Kaempferol-3-O- β -D-(6-coumaroil)-glucopiranosido⁸ (Figura 2)

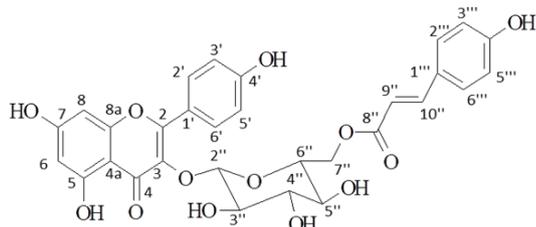


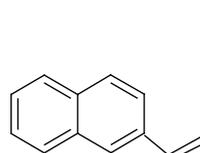
Figura 2. Kaempferol-3-O- β -D-(6-coumaroil)-glucopiranosido (tilirosido)

Identificación de β -sitosterol y estigmasterol.

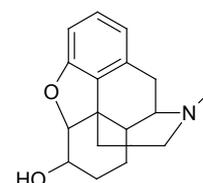
La Cromatografía del extracto S1, permitió aislar un sólido de punto de fusión: p.f. 137-139°C y que dio positivo a la prueba de terpenos y esteroides, el espectro FTIR permitió observar una banda de tensión O-H a 3600 cm^{-1} y una banda de tensión C=C olefínico en 1670 cm^{-1} . El espectro de RMN 1H mostro a campo alto seis señales atribuibles a grupos metilo, típicas de una estructura del tipo terpénica o esteroidal, además de la existencia de una señal doblete a δ 5,3 ($J = 4,7$ Hz) que integra para un protón, cuyo desplazamiento es característico del protón H-6 de esteroides Δ^5 -insaturados y a campo bajo se observaron dos señales características de la parte AB de un sistema ABX, perteneciente a protones olefínicos (δ 5,1 dd, $J = 15,4$; 8,1 Hz; δ 4,9 dd, $J = 15,1$; 8,0 Hz), los datos espectroscópicos obtenidos indicaron la presencia de una mezcla de β -sitosterol y estigmasterol en una relación 1:0,4; respectivamente.

Conclusiones

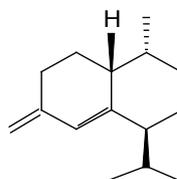
A partir de los frutos del vegetal se obtuvieron los extractos EMC, S1 e I1; A partir del extracto S1 se obtuvo una fracción oleosa, su análisis mediante GC-MS permitió identificar los compuestos: 4,5-epoxy-N-metil-(5, α -6, α) Morfinan-6-ol, biciclosquifelandreno, β -etenonaftaleno y 14-metilheptadecanato de metilo; hasta los momentos basados en una amplia revisión bibliográfica no se han encontrado reportes sobre los compuestos antes mencionados por lo que se puede inferir que es la primera vez que se reportan para el género *Sterculia* y a especie *apetala*



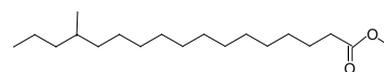
β -etenonaftaleno (I)



4,5-epoxy-N-metil-(5, α -6, α)
Morfinan-6-ol (II)



biciclosquifelandreno (III)



14-metilheptadecanato de metilo (IV)

Del extracto S1 se aisló una mezcla de β -sitosterol y estigmasterol, además se identificó el Kaempferol-3-O- β -D-(6-coumaroil)-glucopiranosido.

Del extracto I1 se determinó la presencia de terpenos, carbohidratos y compuestos fenólicos.

En virtud de los resultados obtenidos es de vital importancia realizar estudios biológicos con la finalidad de sugerir aplicaciones farmacológicas tanto a los compuestos identificados como a los extractos del vegetal.

Agradecimientos

Los autores agradecen al CONDES, proyecto CC-0286-13 por el financiamiento de este trabajo

Referencias bibliográficas

- MEYER B.N., FERRIGNI N.R., PUTNAM J.E., NICHOLS DE., MC LAUGHLIN, J.L. BRINE SHRIMP: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. **Planta Med** 45: 31-43. 1982

2. RAJU S., ANJANEYULU A. Terpenoids and phenolic from the bark and heartwood of *Sterculia urens roxb.* **Plant biochem** 108: 323-324. 1988
3. FERNÁNDEZ B. Aislamiento y caracterización del tiliroside a partir de las semillas de *Heliocarpus terebintaceus* (cuetla) trabajo especial de grado. Universidad Tecnológica de la Mixteca, Instituto Agroindustrial de la UTM, Departamento de Química, Oaxaca, pp. 32-44. 2006
4. CASTAÑEDA B., CASTRO M., FUJITA R., IBÁÑEZ L., MANRIQUE R., MENDOZA E. Estudio fitoquímico y farmacológico de 4 plantas con efectos hipoglicemiantes. **Horiz Med** 8: 6-34. 2008
5. MONAGAS M.B., ROCHA F.N., SUAREZ P.A., MENEGHETTI S.M., BARBOSA D.C., DOS SANTOS R.B., CARVALHO. SOLETTI J.I. Caracterización of Biodiesel and Bio-Oil from *sterculia striata* (chicha) Oil. **IND CROP PROD** 36: 349-354. 2012
6. SINGH B., SHARMA N., PAL L. Formation of *Sterculia Polysaccharide* Networks by Gamma Rays Induced Graft Copoly Merization for Biomedical Applications. **Carbohydr. Polym.** 8: 1314-1380. 2011
7. KALE S., VIJAYA D., THAKUR H. Analysis of fired oil from *Sterculia foetida linn.* **IJPSR** 2: 11, 2908-2914. 2011
8. WANG R.F., WU X.W., GENG D. Two Cerebrosides Isolated from the Seeds of *Sterculia lychnophora* and their Neuroprotective Effect. **Molecules** 18: 1181-1187. 2013

Effect of Sn addition in alumina- and silica-supported palladium catalysts for n-butane dehydrogenation (Dehydrogenation of n-butane over supported palladium catalysts)

*Jonathan E. Mendez **, *Douglas R. Rodríguez*, *Jorge L. Sánchez*, *Geomar J. Arteaga*.

Instituto de Superficies y Catálisis, Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia, P. O. Box 15251, Maracaibo 4003A, Venezuela.

Recibido: 15-01-18 Aceptado: 06-02-18

Abstract

Dehydrogenation of n-butane was studied over alumina- and silica-supported Pd and Pd-Sn catalysts with 0.5 wt. % of Pd. The reaction was carried out at 500 °C in both continuous flow and pulses systems. The catalysts were prepared by incipient wetness impregnation. For the bimetallic catalysts, the sequential impregnation method was used adding first Sn and then Pd, with Sn/Pd atomic ratios of 0.1, 0.25 and 0.5. The samples were characterized by XRF, UV-DRS, N₂ adsorption, TPR, CO chemisorption and FTIR-CO techniques. On the supported-alumina catalysts, Pd oxychloride were formed, which is highly resistant to the reduction, and it is responsible for the high Pd dispersion. On the supported-silica catalysts, the addition of Sn modifies both the reducibility and adsorption capacity of Pd. The effects of Sn were mainly of geometric nature when supported on alumina, and both geometric and electronic nature when supported on silica. On the supported-alumina catalysts, the Sn addition increases the selectivity toward butenes, due to the high stabilization of Pd species; while on the supported-silica catalysts, greater Pd-Sn interactions are evidenced, where the catalyst properties are strongly influenced at the lowest content of Sn added. The alumina-supported bimetallic catalysts showed the best performance for n-butane dehydrogenation among the catalysts investigated herein.

Keywords: Palladium-tin catalysts; Sn/Pd ratio; FTIR-CO; n-butane dehydrogenation.

Efecto de la adición de estaño en catalizadores de paladio soportados sobre alúmina y sílice para la deshidrogenación de n-butano (Deshidrogenación de n-butano en catalizadores de paladio soportado)

Resumen

Se estudió la deshidrogenación del n-butano en catalizadores de Pd y Pd-Sn soportados sobre alúmina y sílice, con una carga de Pd de 0,5 % p/p. La reacción se llevó a cabo a 500 ° C tanto en flujo continuo como por pulsos. Los catalizadores fueron preparados mediante impregnación a humedad incipiente. Para los catalizadores bimetalicos, se utilizó la impregnación secuencial, añadiendo primero Sn y luego Pd, para obtener relaciones atómicas Sn/Pd nominales de 0,1, 0,25 y 0,5. Las muestras se caracterizaron mediante las técnicas de XRF, UV-DRS, adsorción de N₂, TPR, quimisorción de CO y FTIR-CO. En los catalizadores soportados sobre alúmina, se formó un complejo de oxiclorigo de Pd, que es altamente resistente a la reducción y es responsable de la alta dispersión de Pd. En los catalizadores soportados sobre sílice, la adición de Sn modificó tanto la reducibilidad como la capacidad de adsorción del Pd. Los efectos del Sn sobre el Pd fueron principalmente del tipo geométrico en los catalizadores soportados sobre alúmina, y de naturaleza tanto geométrica como electrónica en aquellos soportados sobre sílice. En los catalizadores soportados sobre alúmina, la adición de Sn aumentó la selectividad, debido a la alta estabilidad de las especies de Pd; mientras que en los catalizadores soportados sobre sílice, se evidenciaron mayores interacciones Pd-Sn, donde las propiedades de los catalizadores se vieron fuertemente influenciadas con el menor contenido de Sn adicionado. Los catalizadores bimetalicos soportados sobre alúmina mostraron el mejor desempeño para la deshidrogenación de n-butano.

* Corresponding Author: Tel-fax.: +58 (261) 4128791/97. E-mail: jomendez@fing.luz.edu.ve.
Other E-mail addresses: dorodriguez@fing.luz.edu.ve, jlsanchez@fing.luz.edu.ve, garteaga@fing.luz.edu.ve

Palabras Claves: Catalizadores de paladio-estaño; relación Sn/Pd; FTIR-CO; Deshidrogenación de n-butano.

Introduction

The importance of catalytic dehydrogenation of light paraffins to olefins has been growing due to the demand for these unsaturated hydrocarbons [1]. They are the starting material for some of the most important chemical products, such as polymers, synthetic rubbers and oxygenated compounds for reformulated fuels. Unfortunately, light olefins are not available as a natural resource; they are obtained in stream cracking furnaces and produced in FCC (fluid catalytic cracking) plants in refineries. Catalytic dehydrogenation of light paraffins (like the widely available normal-butane) provides a second way to obtain light olefins, which in turn can be transformed into more valuable chemicals, including the methyl tertiary-butyl ether (MTBE), ethyl tertiary-butyl ether (ETBE), and tertiary amyl methyl ether (TAME) [1-3].

Nevertheless, the conversion of light paraffins to the corresponding olefins is limited by thermodynamics restrictions due to the strong endothermic character of this reaction. High temperatures (530–730 °C) are required to reach conversions of nearly 50% for paraffins C₂–C₆. The dehydrogenation temperatures are higher for light paraffins than for heavy ones [1].

Side reactions like isomerization, thermal cracking and coking, which are thermodynamically and kinetically favoured over dehydrogenation reactions, can occur under operating conditions (>530 °C). Therefore, it is highly desirable a catalyst with a suitable conversion and high selectivity towards the desired olefin, working at lower reaction temperatures. Besides, the unavoidable formation of coke on the catalyst surface that results in a progressive reduction of catalytic activity, could be minimized at these more benevolent conditions [2]. The use of weak acid supports in a catalytic system is also essential to avoid side reactions, like cracking and isomerization.

Many researchers have been devoted to study the dehydrogenation of light paraffins over Pt-based catalysts, particularly on bimetallic Pt-Sn supported catalyst [4-8], due to the beneficial effects of tin as a promoter: tin decreases the size of platinum ensembles; reducing hydrogenolysis and coking that require large ensembles of platinum, and/or acts as electronic modifier of Pt, thereby enhancing the catalyst selectivity and stability. However, few studies are related to the performance of these reactions on supported Pd catalysts [1, 9-11]. Particularly, the Pd-Sn system has been studied for nitrates removal [12, 13], methane oxidation [14, 15] and selective hydrogenation reactions [16-18].

A catalytic system based on Pd can be an alternative to the more expensive metals for dehydrogenation reactions, such as Pt, Ru and Ir. Studies carried out earlier [9] on the performance of Pd-Sn/SiO₂ catalysts for propane dehydrogenation, revealed the effects of tin addition in low proportions (Sn/Pd atomic ratio = 0.14-0.84), and an optimal in both adsorption capacity of Pd and catalytic activity was found. Rodriguez et al. [1] studied the n-butane dehydrogenation over Pd-Ga/Al₂O₃ catalysts with different atomic Ga/Pd ratios, and they found that the effects of Ga were the same as those caused by Sn for dehydrogenation in Pd-Sn/Al₂O₃ catalysts.

The aim of this work is to study the effect of Sn/Pd ratio on the catalytic properties of supported Pd catalysts for n-butane dehydrogenation reaction in both continuous flow and pulses at a relatively low temperature (500 °C). Alumina and silica were chosen as support due to its low acid strength, in order to do not promote cracking reactions that affect selectivity towards olefins. Catalysts were characterized by X-ray fluorescence spectroscopy (XRF), diffuse reflectance UV-vis spectroscopy (UV-DRS), N₂ adsorption, temperature programmed reduction (TPR), CO chemisorption and FTIR spectroscopy of adsorbed CO (FTIR-CO).

Experimental

Catalysts preparation

Monometallic Pd and Sn samples were prepared by incipient wetness impregnation of γ -Al₂O₃ (Alfa Aesar, SBET = 210 m²/g, V_{pore} = 0.76 cm³/g) and SiO₂ (Cabosil M-5, Scintran, SBET = 224 m²/g), using a rotavapor at 80 °C, with an aqueous solution of PdCl₂ (Fisher Scientific, 99%) or SnCl₄·5H₂O (Fisher Scientific, > 99%) in HCl, in order to obtain Pd and Sn nominal contents of 0.5 and 0.56 wt. %, respectively. Bimetallic Pd-Sn/Al₂O₃ and Pd-Sn/SiO₂ catalysts were prepared by sequential impregnation, adding first Sn and then Pd. Supports were previously crushed and sieved (60/80 mesh), and then calcined at 700 °C for 4 h. The nominal contents of metals in bimetallic catalysts were 0.5 wt. % Pd and 0.056–0.28 wt. % Sn, (Sn/Pd atomic ratios between 0.1 and 0.5). After impregnating, the samples were dried at 120 °C overnight, and then calcined at 500 °C for 2 h. Pd, Sn and Cl contents were measured by energy dispersive X-ray fluorescence spectroscopy (XRF) using a Shimadzu EDX-700HS spectrometer, provided with an Rh gun operated at 50 keV. Al₂O₃ and SiO₂ supports will be named Al and Si, respectively. Table 1 summarizes the notation and chemical composition of the catalysts.

Table 1. Chemical composition, surface area and CO/Pd ratio

Catalysts	Pd (wt. %)	Sn (wt. %)	Cl (wt.%)	Sn/Pd atomic ratio	S _{BET} (m ² /g)	CO/Pd ^a
Pd _{0.40} Al	0.40	-	0.70	0	-	0.56
Pd _{0.55} Sn _{0.045} Al	0.55	0.045	0.54	0.073	210	0.53
Pd _{0.52} Sn _{0.091} Al	0.52	0.091	0.58	0.16	-	0.58
Pd _{0.54} Sn _{0.19} Al	0.54	0.19	0.66	0.32	215	0.51
Sn _{0.43} Al	-	0.43	0.70	∞	-	-
Pd _{0.34} Si	0.34	-	n.d.	0	-	0.20
Pd _{0.31} Sn _{0.061} Si	0.31	0.061	n.d.	0.18	218	0.08
Pd _{0.36} Sn _{0.12} Si	0.36	0.12	n.d.	0.30	-	0.09
Pd _{0.31} Sn _{0.22} Si	0.31	0.22	n.d.	0.64	218	0.06
Sn _{0.51} Si	-	0.51	n.d.	∞	-	-

n.d.: not detected

a: Based on the Pd loading values obtained by XRF.

Characterization techniques

BET surface areas of supports and catalysts were determined from the N₂ adsorption isotherms at -196 °C, using an automatic Micromeritics ASAP 2010 apparatus after the samples were outgassed at 150 °C for 2 h. The specific surface area of selected catalysts are also listed in Table 1.

The catalysts were studied by UV-vis diffuse reflectance spectroscopy (UV-DRS) at atmospheric conditions, in a Perkin-Elmer spectrometer model Lambda 2 equipped with a diffuse reflectance accessory, consisting of an integrating sphere of 50 mm coated with BaSO₄ to collect the reflected light. The wavelength range varied from 190 to 700 nm.

TPR profiles were measured from -50 to 700 °C in a Vycor U-tube reactor connected to a stainless steel apparatus provided with a thermal conductivity detector (TCD), using a mixture of 5% H₂/Ar as reducing gas. Prior to measurements, the sample (100 mg) was pretreated in air flow at 500 °C for 1 h, then cooled down in flowing Ar to room temperature and, then, to -50 °C, using an isopropanol-liquid nitrogen bath, before admitting the flow of reducing gas. The reactor was freely heated from -50 to room temperature (RT) by removing the cool bath, and immediately heated up to 700 °C at 10 °C/min, using a temperature-controlled furnace.

Dynamic CO chemisorption measurements were carried out in the same stainless steel apparatus used in TPR experiments, which was equipped with a gas injection valve (Valco). Successive CO pulses (58 μL STP) were sent to the reactor until reaching

the saturation, using He (30 mL/min) as carrier gas. The catalysts (100 mg) were previously reduced at 400 °C in flowing H₂ for 1 h, and then the adsorbed hydrogen was removed by flushing He at the same temperature for 1 h.

Fourier transform infrared spectra of adsorbed CO (FTIR-CO) were recorded at RT on a Shimadzu IR Prestige 21 spectrometer, at a resolution of 2 cm⁻¹ using around 100 scans. Self-supported samples (20-24 mg/cm²) were put into an infrared cell equipped with a KCl window, designed for treating the samples in a controlled atmosphere. The samples were submitted to the following pretreatment: (i) drying in Ar flow at 120 °C for 1 h; (ii) reduction under flowing hydrogen at a programmed temperature rate (10°C/min) from 120 to 400°C, plus 60 min at 400 °C; (iii) outgassing in Ar at 400°C for 30 min, and finally cooled down in flowing Ar from 400 °C to room temperature. Successive CO pulses in a He flow were sent to the sample, registering the IR spectrum elapsed 5 min after each injection, to follow the formation of the absorption bands. To obtain the IR spectrum corresponding to saturation, a CO flow was used for 5 min, and then outgassing in Ar for 15 min. The spectra presented here were obtained after subtracting the gas phase and solid contributions.

Catalytic activity test

Two different n-butane dehydrogenation tests were carried out, one of them in a continuous flow reactor and the other one in a system where

pulses of *n*-butane were sent to the catalyst. The continuous flow experiment was performed at 500 °C and atmospheric pressure, in a conventional reaction line built in stainless steel. The switching of gases was done without mixing or access of air. A Vycor U-tube (6 mm OD) reactor was charged with 20 mg of catalyst. Samples were pretreated in Ar flow at 120 °C for 1 h and then reduced in H₂ flow at 500 °C for 2 h. The reaction mixture contained *n*-C₄H₁₀ and H₂, with a H₂:*n*-C₄H₁₀ ratio of 10. A total flow of 66 mL/min and a GHSV of 200 L·g⁻¹·h⁻¹ were used. Taking into account that H₂ is a by-product of the dehydrogenation reaction, its presence as a reagent would not be thermodynamically favorable. However, it is very important to include H₂ in the feedstock in order to decrease the carbon formation and hence to moderate the activity decrease along the reaction time [19].

The pulse experiments were performed by injecting pulses of the same hydrogen and *n*-butane mixture, at the same conditions as the continuous flow experiments. The catalytic bed was kept under flowing He (30 mL/min) between the injections of successive pulses. The exit gases were analyzed in a Perkin-Elmer GC, equipped with an Al₂O₃/KCl 50 m x 0.25 mm capillary column and a flame ionization detector (FID).

Specific activity (A), *n*-butane conversion and selectivity were calculated on a carbon basis, using the FID areas (A_{*i*}) and the corresponding response factors (rf_{*i*}), according to the following equations:

$$A (\text{min}^{-1}) = F_{n-C4} \cdot \frac{\text{conversion}}{n_{Pd}}$$

$$\text{Conversion}(\%) = \left[1 - \frac{A_{n-C4} \cdot rf_{n-C4}}{\sum A_i \cdot rf_i} \right] \times 100$$

$$\text{Selectivity}(\%) = \left[\frac{\sum_{i=1}^4 A_{C4s} \cdot rf_{C4s}}{(\sum A_i \cdot rf_i) - A_{n-C4} \cdot rf_{n-C4}} \right] \times 100$$

where F_{n-C4} is the *n*-butane molar flow = 0.000245 mol/min; n_{Pd} = Pd moles in the sample (based on XRF results)

Results and discussion

1. Catalysts characterization

Table 1 shows the values of Pd and Sn loadings obtained by XRF. It is observed that catalysts supported on alumina have a Pd loading near to the nominal composition of 0.5 wt %, meanwhile the ones

supported on silica have lower values of Pd contents (0.31-0.36 wt. %). This could be caused by the low affinity of palladium precursor with silica, hindering the anchoring of Pd anions (as PdCl_n(H₂O)_{4-n-2-n}) on this support [20]. According to Toebe et al. [21], the nature of the interactions of the precursor metal salt with a given support depends on the pH of the solution, the zero point charge (ZPC) of the support, and the nature of ions to be adsorbed. The ZPC varies from 7.0 to 9.0 for γ -alumina, and 1.0 to 2.0 for silica [21]. Therefore, during the impregnation with the Pd solution (PdCl₂ in HCl 0.1 N, pH \approx 1), the surface of the alumina support becomes positively charged, and tends to adsorb compensating anions like PdCl₄²⁻, but the opposite occurs in the case of silica, because of the pH value is in the range of its ZPC. For the case of Sn content, the values were slightly lower than the nominal (0.056 – 0.28 wt. %) for all of the catalysts.

Chlorine contents were also determined by XRF. Only the catalysts supported on alumina showed significant contents of Cl⁻ ions, in the range of 0.54 - 0.70 wt. %, that increased in bimetallic catalysts, i. e., the Cl content increased with the Sn loading, from 0.54 to 0.66%. This fact was expectable, as the Cl⁻ ion sources came from both the Pd and Sn solutions in the preparation of the bimetallic catalysts.

The significant Cl content found in the Al₂O₃-supported catalysts after the calcination treatment at 500 °C for 2 hours, suggests that this anion was initially well anchored to the surface of the alumina, probably as a superficial complex of Pd and chlorine (Pd_{*x*}O_{*y*}Cl_{*z*}) which has a high thermal stability [22]. Rodriguez et al. [1] concluded that this palladium superficial complex was also formed during the calcination of Pd-Ga/Al₂O₃ catalysts, considering these species as mobile complexes that spread over the alumina surface, which can improve the Pd dispersion upon reduction.

The BET surface areas (SBET) of some catalysts are also listed in Table 1. Regardless of the amount of Pd and Sn added, the values of BET surface area of the catalysts remain as the corresponding supports (210 m²/g for alumina and 224 m²/g for silica). Similar results were found for pore volumes (values not shown). As expected, the textural properties of the catalysts are almost the same as those of their respective supports, due to small amounts of Pd and Sn on the surface of the alumina and silica.

UV-DRS spectra of Pd-Sn catalysts supported on alumina and silica are presented in Figures 1 and 2, respectively. It can be observed that samples containing palladium (Fig. 1(a) – (d)) display similar spectra, exhibiting bands at 214, 245, 275 and 425 nm.

The band observed at 214 nm can be associated to the charge transfer (Pd \square Cl) of PdCl₂ [22], whereas the strong band at 245 nm is assigned to charge transfer Pd \square O, and the band at 275 nm has been attributed to Pd_xO_yCl_z surface complex [22]. The band at 425 nm is related to d-d transition in PdO species interacting strongly with the alumina support. It is noteworthy that the unsupported PdO phase, exhibits a signal around 490 nm, which was not observed in the spectra shown in Fig. 1. Furthermore, the UV spectrum of the Sn_{0.43}Al sample (Fig. 1e) shows a broad band in the range 225-300 nm. This broad signal is also assigned to the charge transfer Sn \square O [22]. In summary, these results lead to the existence of a Pd and Cl phase on the surface of the support, which can be strongly stabilized.

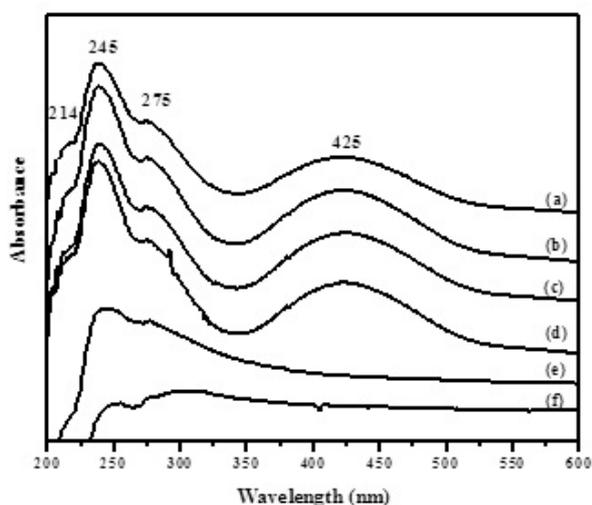


Figure 1. UV-DRS spectra for Al₂O₃-supported catalysts: (a) Pd_{0.40}Al; (b) Pd_{0.55}Sn_{0.045}Al; (c) Pd_{0.52}Sn_{0.091}Al; (d) Pd_{0.54}Sn_{0.19}Al; (e) Sn_{0.43}Al; and (f) Al.

On the other hand, samples supported on silica show UV-DRS spectra different from those observed for the ones supported on alumina. UV-DRS spectrum of Pd_{0.34}Si (Fig. 2a) presented a wide band in the d-d transition region around 490 nm, related to the electronic structure of PdO crystals in supported Pd catalysts [23]. The other signals in the charge transfer region at 250-300 nm are contributions of the silica. In the spectra of the bimetallic Pd_{0.31}Sn_{0.061}Si and Pd_{0.31}Sn_{0.22}Si catalysts (Fig. 2(b) – (c)), similar bands as those in the monometallic Pd_{0.34}Si catalyst can be observed, which indicates the presence of PdO phase without any interaction with the silica support. Finally, the signals at 200-350 nm exhibited for Sn_{0.51}Si sample (Fig. 2d), are ascribed to the Sn \square O charge transfer and silica support.

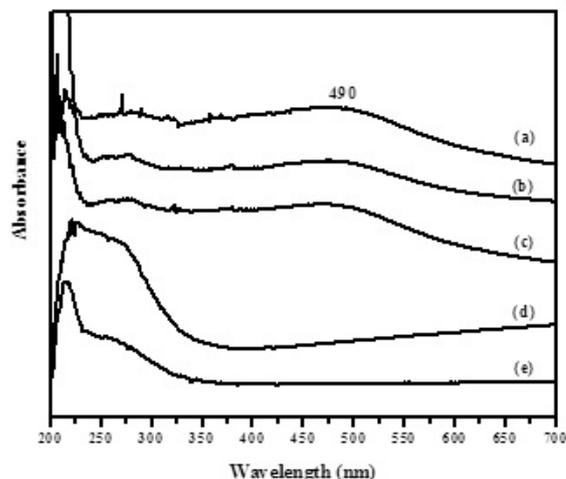


Figure 2. UV-DRS spectra for SiO₂-supported catalysts: (a) Pd_{0.34}Si; (b) Pd_{0.55}Sn_{0.061}Si; (c) Pd_{0.31}Sn_{0.22}Si; (d) Sn_{0.51}Si; and (e) Si.

The TPR profiles of the catalysts supported on alumina are shown in Figure 3. The monometallic and bimetallic Pd-Sn catalysts show very similar reduction profiles (Figs. 3a-3d) with low intensity signals at 19, 50-80, and 300 °C, and a wide and extensive signal in the temperature range of 80-260 °C. The peaks at 19 and 50-80 °C can be assigned to the reduction of crystalline PdO with different sizes, where the largest particles are reduced at lower temperatures [1, 11, 24]. The signal with the great broadness (80-260 °C) has been associated to the reduction of different species of Pd_xO_yCl_z [1, 11], while the peak at 300 °C is attributed to the reduction of PdO particles interacting strongly with the support [25].

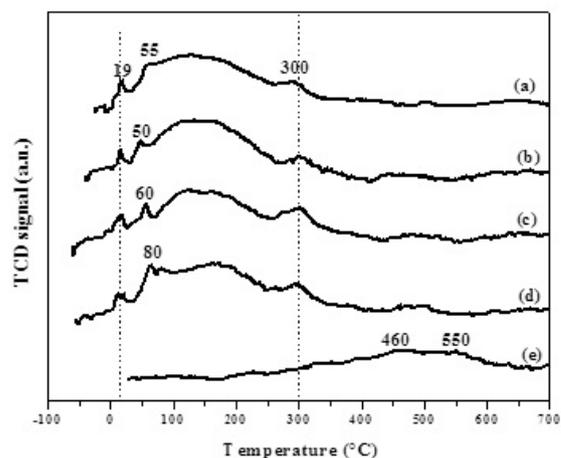


Figure 3. TPR profiles for Al₂O₃-supported catalysts: (a) Pd_{0.40}Al; (b) Pd_{0.55}Sn_{0.045}Al; (c) Pd_{0.52}Sn_{0.091}Al; (d) Pd_{0.54}Sn_{0.19}Al and (e) Sn_{0.43}Al.

For Sn_{0.43}Al sample, a broad reduction signal between 300 and 650 °C is observed. This signal could be attributed to reduction of Sn⁴⁺ to Sn²⁺ and/or SnO [4, 26, 27], so that it indicates some resistance to reduction.

TPR profiles of the catalysts supported on silica are presented in Figure 4. For bimetallic catalysts (Figs. 4b-4d), the reduction peaks observed at low temperatures (< 100 °C), correspond to the reduction of large PdO particles [1, 11, 24], in contrast to that observed in the catalysts supported on alumina. For Pd_{0.34}Si (Fig. 4a), the reduction peaks observed at 21 and 38 °C, could be associated to the reduction of PdO particles with different sizes. In addition, the negative signal at 60 °C is ascribed to the decomposition of β -hydride Pd phase (β -PdHx), whose presence indicates the existence of large palladium particles [24].

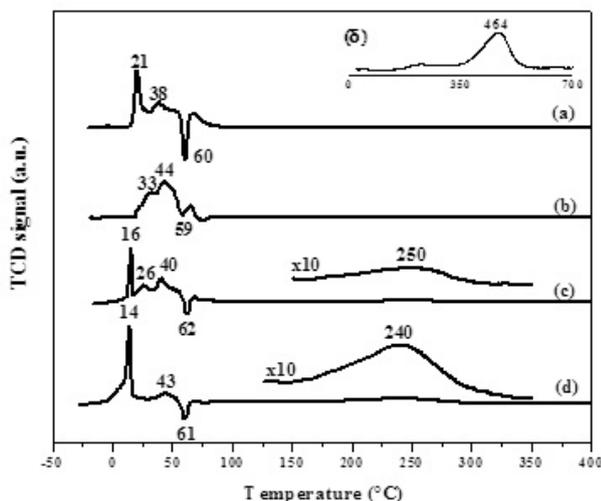


Figure 4. TPR profiles for SiO₂-supported catalysts: (a) Pd_{0.34}Si; (b) Pd_{0.31}Sn_{0.061}Si; (c) Pd_{0.36}Sn_{0.12}Si; (d) Pd_{0.31}Sn_{0.22}Si and (δ) Sn_{0.51}Si (insert)

Some changes occurred in the reducibility of these catalysts when increasing the Sn/Pd ratio. For the Pd_{0.31}Sn_{0.061}Si catalyst, the TPR profile shows signals at 33 and 44 °C, followed by the decomposition of β -hydride Pd phase (PdHx) at 59 °C. For the Pd_{0.36}Sn_{0.12}Si and Pd_{0.31}Sn_{0.22}Si catalysts (Fig. 4(c) – (d)), similar reduction signals to those obtained in the monometallic sample are observed, and can also be attributed to the reduction of PdO particles and decomposition of palladium hydride. However, in these bimetallic samples with the highest Sn/Pd ratio, the negative signal decreases in intensity, probably due to a geometric effect of Sn on palladium ensembles, hindering the β -PdHx phase, either by the formation of bimetallic

Pd-Sn particles [28] or by the dilution of Pd particles by Sn atoms [29].

Other signals centered at 240-250 °C observed for Pd_{0.36}Sn_{0.12}Si and Pd_{0.31}Sn_{0.22}Si catalysts, can be ascribed to the reduction of Sn⁴⁺ catalytically assisted by PdO, thus indicating a close interaction between Pd and Sn in the bimetallic catalysts. As can be seen in the insert in Fig. 4, the reduction of Sn⁴⁺ occurred at higher temperatures (around 464 °C) in the Sn_{0.51}Si sample [27].

The values of CO/Pd ratio obtained from chemisorption measurements are also listed in Table 1. For catalysts supported on alumina, the values of CO/Pd ratio remained in the range of 0.51-0.58, despite of the presence of tin. These results display a high Pd dispersion, probably as a result of the formation of Pd_xO_yCl_z, promoted by the presence of Cl [29]. Pd species were strongly stabilized, which is in agreement with UV-DRS (Fig. 1) and TPR (Fig. 3) results. On the other hand, the high values of the CO/Pd ratio corresponded with that obtained by Daley *et al.* [30], who reported a high Pd dispersion (ca. 50%) when the catalysts were subjected to chlorination treatment, and it was ascribed to the interactions between hydroxyl groups of the support and anions of precursor salt.

For the catalysts supported on silica, the values of CO/Pd ratio were significantly lower. In this case, they were highly dependent on the presence of Sn. For the monometallic Pd_{0.34}Si catalyst, a CO/Pd ratio of 0.20 was obtained, decreasing with the content of tin to 0.06-0.09 for the bimetallic Pd-Sn/SiO₂ catalysts.

The decrease in CO chemisorption with the presence of tin can be attributed to a possible blocking and/or substitution of Pd atoms by Sn and/or the formation of alloys at high tin content [29]. Moreover, the Sn atoms could also cause a weakening of the strength of CO adsorption on Pd. Changes in the stoichiometry of CO adsorption on Pd due to the Sn addition, considering the different forms of adsorbed CO, has been reported by Sales *et al.* [29].

FTIR-CO spectra are presented in Figures 5-8. The results were expressed as a function of CO coverage on Pd (θ_{CO}). For the monometallic catalyst Pd_{0.40}Al (Fig. 5b), four bands were observed at 2155, 2125, 1990 and 1945 cm⁻¹. The intensity of these bands progressively increased with θ_{CO} , and another band arose at 2085 cm⁻¹ when the saturation was reached (Fig. 5f). Besides, the band at 1990 cm⁻¹ shifted to lower frequency (1980 cm⁻¹).

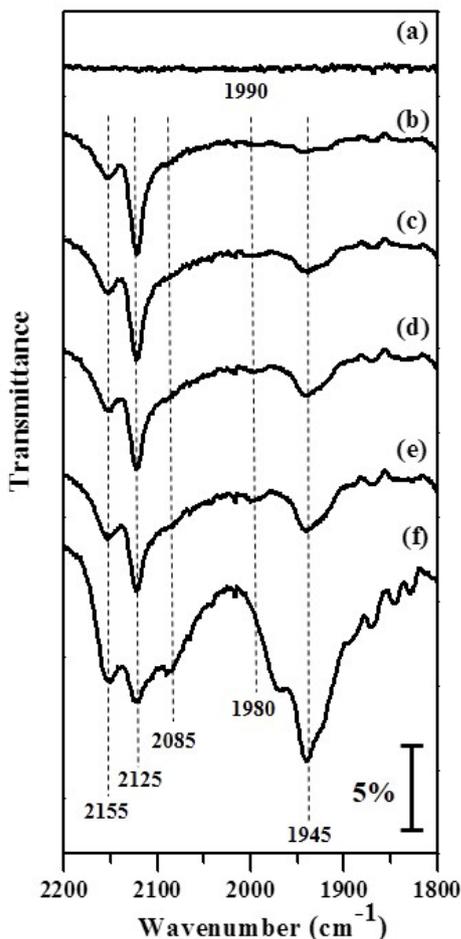


Figure 5. FTIR spectra of CO adsorbed for the Pd_{0.40}Al catalyst at increasing CO coverages: (a) $\theta=0$, (b) $\theta=0.20$, (c) $\theta=0.27$, (d) $\theta=0.31$, (e) $\theta=0.36$ y (f) $\theta=1$.

CO adsorption on supported Pd catalysts depends greatly on the Pd oxidation state [31], and the location of Pd atoms in different Pd crystal planes (111, 100, 110), with different coordination numbers (9, 8, and 7, respectively) [29]. Hence, the band at 2155 cm⁻¹ is attributed to the interaction of CO with residual surface Pd²⁺ ions (linear carbonyls Pd²⁺ - CO), which are stabilized by neighbouring chloride ions, present in all supported alumina catalysts after calcination (Table 1), and were not removed by the reduction treatment (400 °C for 60 min under H₂). The band at 2125 cm⁻¹ was attributed to the linear CO adsorption on Pd⁺ ions [31], which are also stabilized by neighbouring chloride ions. The weak band at 2085 cm⁻¹ is ascribed to linear CO species adsorbed on metallic Pd [32]. The rest of the bands located at 1980 and 1945 cm⁻¹ are ascribed to CO bridged species located on different Pd crystal

planes and/or submitted to dipole-dipole coupling of different intensities. Therefore, the CO:Pd stoichiometry ratio can be far from 1.

In the bimetallic Pd-Sn/Al₂O₃ catalysts, the spectra exhibited the same bands observed for the monometallic one (2155, 2125, 2085, 1990 and 1945 cm⁻¹), but slightly shifted to lower wavenumbers. Thereby, only the infrared spectra obtained for the bimetallic Pd_{0.55}Sn_{0.045}Al catalyst (Sn/Pd = 0.073) are shown (Fig. 6).

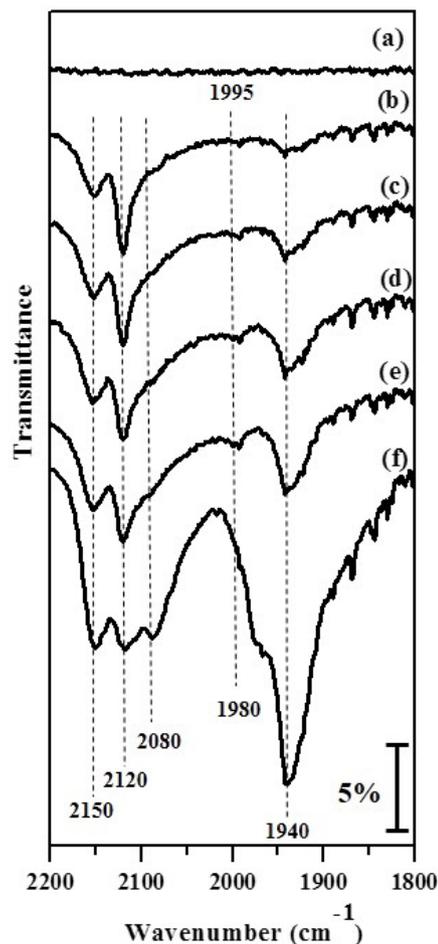


Figure 6. FTIR spectra of CO adsorbed for the Pd_{0.55}Sn_{0.045}Al catalyst at increasing CO coverages: (a) $\theta=0$, (b) $\theta=0.19$, (c) $\theta=0.25$, (d) $\theta=0.30$, (e) $\theta=0.36$ y (f) $\theta=1$.

The assignments of the IR bands for the Al₂O₃-supported catalysts, indicate that a fraction of Pd species remained in oxidized state, as Pd⁺ and/or Pd²⁺, even after reduction at 400 °C in H₂ for 1 h, while the rest of Pd is completely reduced to Pd⁰. It is worth noticing in the FTIR-CO spectra in Figs. 5 and 6 that the intensity of the band in the region

of linear carbonyls is greater than bridged ones, at lower θ_{CO} (Figs. 5b and 6b), i. e., CO is preferentially adsorbed on Pd sites stabilized with Cl⁻ ions. As θ_{CO} increased, Pd⁺ and Pd²⁺ were saturated, allowing to increase CO adsorption on Pd⁰ atoms.

For the silica-supported catalysts, FTIR-CO spectra of monometallic and bimetallic catalyst are shown in Figures 7 and 8, respectively. For the Pd_{0.34}Si catalyst, bands are observed initially at 2087 and 1905 cm⁻¹ (Fig. 7b). As θ_{CO} increased, a band appeared at 1990 cm⁻¹, and then the bands at 1905 and 1990 cm⁻¹ become shoulders, which are overlapped with a new band at 1975 cm⁻¹ when saturation was reached. The band at 2087 cm⁻¹ is assigned to the linear adsorption of CO on metallic Pd [32], while the bands located between 1990 and 1905 cm⁻¹ are ascribed to bridged CO species, also over metallic Pd [29, 32]. According to the spectrum in Fig. 7f, there is a higher proportion of bridged CO (COB) than linear CO (COL) species, resulting in a value of COL/COB ratio of 0.30 after integration of the signals, which indicates the largest Pd ensembles in this sample.

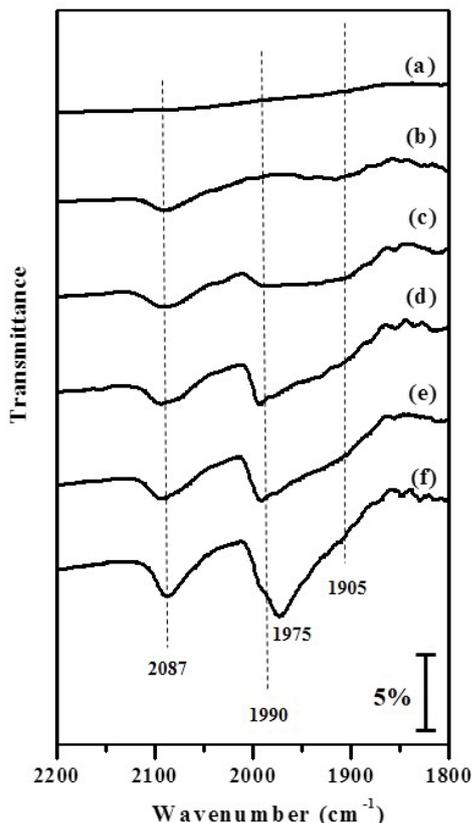


Figure 7. FTIR spectra of CO adsorbed for the Pd_{0.34}Si catalyst at increasing CO coverages: (a) $\theta=0$, (b) $\theta=0.23$, (c) $\theta=0.43$, (d) $\theta=0.67$, (e) $\theta=0.72$ y (f) $\theta=1$.

However, for the bimetallic catalysts (Fig. 8), the COL/COB ratio increased from 0.30 to 0.68. This is explained by a dilution of Pd by Sn on the catalyst surface layer, and an ensemble effect should account for the preferential suppression of bridged CO species which requires the presence of adjacent Pd atoms [29, 32]. Nevertheless, the presence of tin seems to weaken the CO adsorption strength, as linear entities are less firmly bonded than bridged ones.

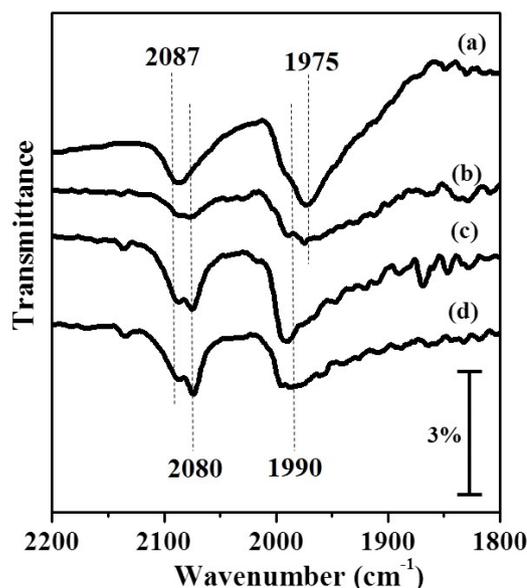


Figure 8. FTIR spectra of CO adsorbed for the samples after saturation ($\theta_{CO}=1$) with flowing CO: (a) Pd_{0.34}Si; (b) Pd_{0.31}Sn_{0.061}Si; (c) Pd_{0.36}Sn_{0.12}Si and (d) Pd_{0.31}Sn_{0.22}Si.

On the other hand, the maxima of the signals in FTIR-CO spectra tend to change progressively with the Sn/Pd atomic ratio, i.e., peaks initially located at 2087 and 1975 cm⁻¹ for the monometallic Pd_{0.34}Si, shifted to 2080 and 1990 cm⁻¹, respectively, for the bimetallic Pd-Sn/SiO₂ catalysts. Therefore, the presence of tin can be affecting the electronic properties of palladium in these silica-supported catalysts [32].

2. Catalytic activity measurements.

2.1 Continuous flow reactor

The measurements were carried out at 500 °C in a differential flow reactor (n-butane conversion less than 10%), and the results were expressed as moles of n-butane converted per mole of Pd per minute, i.e., specific activity (min⁻¹), as a function of time on-stream (TOS). It is known that dehydrogenation

reactions are metal-catalyzed non-demanding reactions [33]. On the other hand, it is important to indicate that the $\text{Sn}_{0.43}\text{Al}$ and $\text{Sn}_{0.51}\text{Si}$ catalysts did not exhibit catalytic activity for the n-butane dehydrogenation under the reaction conditions.

The specific activity of the Al_2O_3 -supported catalysts as a function of TOS is shown in Fig. 9. The $\text{Pd}_{0.40}\text{Al}$ catalyst displayed an initial specific activity of 44 min^{-1} , suffering a fast deactivation in the first 15 min of TOS, and then the activity decreased progressively along the reaction time. Deactivation was also observed in the rest of the catalysts, probably as a result of coke deposition on the catalyst surface [19]. At these reaction conditions, the formation of coke would build up on both the metal and support sites [34, 35]. However, at the beginning of the reaction, first coke is deposited on Pd atoms of high coordination number (cluster or ensembles) and, then, coke blocks the Pd atoms of low coordination number like corners or edges. Therefore, low coordinated Pd palladium atoms are more resistant to deactivation by coke [35].

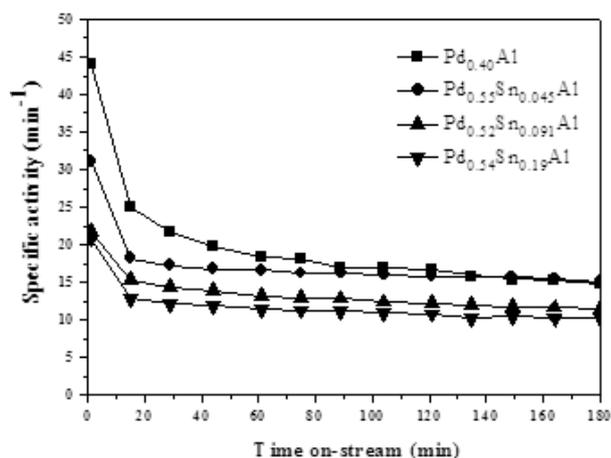


Figure 9. Specific activity at $500 \text{ }^\circ\text{C}$ as a function of TOS for the Al_2O_3 -supported catalysts.

The initial activity and deactivation rate decreased upon Sn addition, in good agreement with that observed by other researchers in Pt-Sn [4] and Pd-Sn catalysts [10]. This deactivation occurred mainly in the first 15 minutes of TOS, and the catalyst with the highest Sn content ($\text{Pd}_{0.54}\text{Sn}_{0.19}\text{Al}$, Sn/Pd = 0.32) displayed the smallest activity. These effects of the Sn addition on the catalytic behavior of Pd supported on alumina can be explained mainly in terms of geometric effects, as the majority of Sn in the bimetallic catalysts blocked the Pd atoms of high coordination number. Besides, the FTIR-CO results (Figs. 5 and 6) show the lack of any electronic effect

of tin on palladium, probably because the electronic properties of palladium were already modified by the presence of chlorine.

Fig. 10 shows the specific activity for n-butane dehydrogenation on SiO_2 -supported catalysts. Specific activities of these catalysts were lower than those obtained in alumina supported catalysts (Fig. 9). The $\text{Pd}_{0.34}\text{Si}$ catalyst exhibited an initial activity of 31 min^{-1} , then the activity decreased monotonically with TOS. The addition of a small amount of Sn ($\text{Pd}_{0.31}\text{Sn}_{0.061}\text{Si}$) decreased the initial activity, but after 15 min of TOS, this catalyst showed the same activity as the monometallic one.

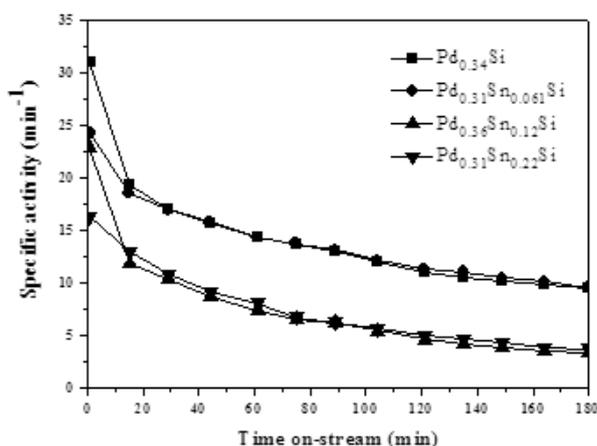


Figure 10. Specific activity at $500 \text{ }^\circ\text{C}$ as a function of TOS for the SiO_2 -supported catalysts.

The addition of a greater amount of Sn (Sn/Pd = 0.30 and 0.64) decreased the catalytic activity from initial values of 23 and 16 min^{-1} , respectively, to final values around 3 min^{-1} . This decrease can be attributed to both geometric and electronic effects of Sn on Pd in concordance with CO chemisorption and FTIR-CO results. Moreover, TPR results suggested that Pd and Sn were in intimate contact on this support, due to the possible formation of bimetallic Pd-Sn particles after reduction. In the silica-supported Pd catalysts, predominates the existence of high coordination Pd atoms, indicated by the low Pd dispersion (CO measurements). Furthermore, all of the silica-supported Pd catalysts were deactivated at the same extent in spite of the presence of Sn (Fig. 10).

Table 2 compiles the selectivity to all butenes (initial: SD,0 and final: SD,f), selectivity to isomerization (initial: SI,0 and final: SI,f) and the deactivation parameter $\Delta R/\text{RO}$, where ΔR is the difference between the final and initial reaction rates (RO and Rf, respectively).

Table 2. Initial and final selectivity for dehydrogenation (SD,o, SD,f), selectivity for isomerization (SI,o, SI,f) and deactivation parameter ($\Delta R/RO$; ΔR : initial reaction rate [RO]–final reaction rate [Rf]) in the continuous flow reactor at 500 °C.

Catalyst	S _{D,o}	S _{D,f}	S _{I,o}	S _{I,f}	$\Delta R/R^o$ (%)
Pd _{0.40} Al	50	89	3	4	40
Pd _{0.55} Sn _{0.045} Al	44	83	3	4	17
Pd _{0.52} Sn _{0.091} Al	63	92	3	3	25
Pd _{0.54} Sn _{0.19} Al	68	94	2	2	20
Pd _{0.34} Si	77	98	-	-	51
Pd _{0.31} Sn _{0.061} Si	100	100	-	-	48
Pd _{0.36} Sn _{0.12} Si	100	100	-	-	72
Pd _{0.31} Sn _{0.22} Si	100	100	-	-	71

SD,o, SI,o: measured at 1 min of the reaction beginning. SD,f, SI,f: measured at 180 min of time of stream.

Ro: measured at 15 min of the reaction beginning. Rf: measured at 180 min of time of stream.

The addition of Sn decreased the $\Delta R/RO$ values only in the Al₂O₃-supported Pd catalysts, and this decrease seems to be determined by the minimum quantity of the promoter added. For the Al₂O₃-supported catalysts, the deactivation parameter values are similar to that obtained by Ballarini *et al.* [19] and Bocanegra *et al.* [36] in monometallic Pt(0.5%) and bimetallic Pt(0.5%)Sn(0.3%) catalysts supported on γ -Al₂O₃/ α -Al₂O₃ and MgAl₂O₄, respectively. In the case of SiO₂-supported catalysts, the surface modification caused by Sn affected structure-sensitive reactions, such as hydrogenolysis rather than coking.

The Sn addition increased the selectivity toward butenes in both Al₂O₃- and SiO₂-supported catalysts. For the Pd-Sn/Al₂O₃ catalysts, the selectivity increased with the Sn content and the time on-stream, achieving a selectivity of 94% for the Pd_{0.54}Sn_{0.19}Al catalysts at 180 min of TOS; probably Sn and coke blocked the most active Pd sites, responsible for the reactions leading to hydrogenolysis. Pd in the PdxClyOx phase appears to be the most active species, because the electronic properties of Pd were modified by means of charge transfer Pd□Cl [22]. It should be pointed out that an electronic effect of Sn on Pd was not observed for this series of catalyst. In addition to dehydrogenation and hydrogenolysis products, isobutene was also observed: an isomerization selectivity between 2-4 % was registered in all Pd-Sn/Al₂O₃ catalysts [37].

For the silica-supported catalysts, higher selectivity values toward butenes were observed. The monometallic Pd_{0.34}Si exhibited dehydrogenation selectivity of 77 % at the beginning (1 min) and 98% at the end (180 min of TOS) of the experiment. These results indicate that Pd in metallic state (Pd⁰), as in the silica support, exhibits high selectivity toward dehydrogenation. In all Pd-Sn/SiO₂ catalysts, the

dehydrogenation selectivity was 100 %. The SiO₂-supported catalyst with the lowest Sn loading (Sn/Pd = 0.18) showed the best performance of these catalysts, considering both the selectivity toward butenes and the dehydrogenation activity. It is worth mentioning that isobutene was not observed as a product, probably due to the low acidity of the support, that could not catalyze skeletal isomerization reactions.

2.2 Pulse experiments.

In order to elucidate the catalytic behavior for n-butane dehydrogenation over the different mono and bimetallic supported catalysts during the first steps of reaction, a study of the catalytic performance was carried out by sending pulses of the H₂/n-butane reactant mixture to the reactor.

The n-butane conversion for the indicated Al₂O₃- and SiO₂-supported Pd-Sn catalysts as a function of the number of H₂/n-butane pulses, are shown in Figure 11. For the Al₂O₃-supported catalysts, it can be seen that the Pd_{0.40}Al sample showed a conversion of 49% in the 1st pulse and 43% in the 12th pulse, while the Pd_{0.55}Sn_{0.045}Al and Pd_{0.54}Sn_{0.19}Al catalysts showed higher conversions of 64-68% in the 1st pulse and 46-47% in the 12th pulse. The lower conversion obtained on the Pd_{0.40}Al catalyst is due to the smaller amount of Pd atoms exposed on the surface, considering both the lower Pd loading and the similar Pd dispersion (Table 1). The conversion for the bimetallic catalysts supported on alumina are in agreement to CO chemisorption results (Table 1), where the CO/Pd ratio was unaffected by the Sn content. Therefore, conversion values observed in Figure 11 confirm that Pd active sites were unaffected by Sn. Also, the conversion decreases with pulse number, due to the

significant coke deposition at this stage. This fact was also observed by Pirngruber et al. [37] in their studies of n-butane dehydroisomerization.

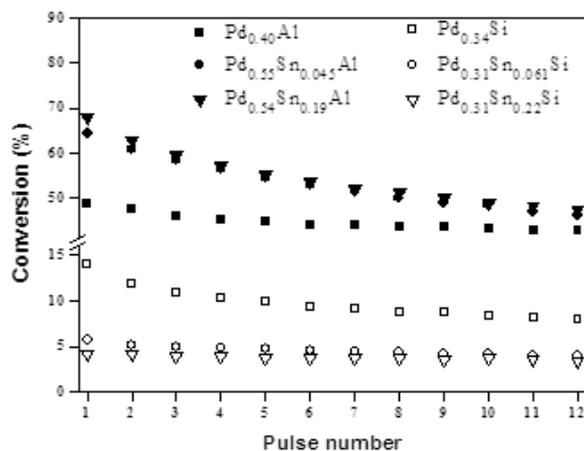


Figure 11. n-butane conversion at 500 °C as a function of the pulse number for the indicated catalysts.

In the case of the catalysts supported on silica, the Pd_{0.34}Si sample showed a conversion of 14% in the 1st pulse, and then gradually decreases with subsequent pulses, until reaching about 8% in the 12th pulse. For the Pd_{0.31}Sn_{0.061}Si and Pd_{0.31}Sn_{0.22}Si catalysts, lower conversion values

were obtained, ranging between 3-6% along the twelve pulses sent to the reactor. In this case, the n-butane conversion decreased with the Sn loading (or Sn/Pd atomic ratio). Similar to the continuous flow experiments, the catalytic activity of the SiO₂-supported catalysts were lower than the Al₂O₃-supported ones, but it should be taken in account that both Pd loading and dispersion were lower in these catalysts (Pd = 0.31-0.34% and CO/Pd = 0.06-0.20, respectively). The decrease in n-butane conversion with the amount of Sn is in agreement with CO/Pd ratio. Nevertheless, the lower deactivation degree in the n-butane dehydrogenation with the pulse number indicates a lower coke deposition rate in these catalysts.

The initial and final selectivity for the n-butane dehydrogenation in pulse experiments are listed in Table 3. For the Al₂O₃-supported catalysts, was observed a high selectivity for hydrogenolysis in all of the pulses of reactant mixture sent to the reactor, while the selectivity toward butenes were unaffected by Sn content, ranging from 2-4% in the 1st pulse and 5-8% in the 12th pulse, which means that, as mentioned above, in the course of the reaction coke deposition affected the hydrogenolysis reactions. On the other hand, it is worth noticing that the deactivation parameter increased in the bimetallic catalysts, from 12 to 28-31%, but this change was attributed to a higher amount of Pd active sites available for the reaction (and, thus, the higher coke formation rate) rather than the presence of Sn.

Table 3. Initial^a and final^b selectivity for dehydrogenation (S_{D,o}, S_{D,f}), selectivity for hydrogenolysis (S_{H,o}, S_{H,f}) and deactivation parameter ($\Delta X/X_0$; ΔX : initial conversion [X₀]–final conversion [X_f]) in the pulse experiments at 500 °C.

Catalyst	S _{D,o}	S _{D,f}	S _{H,o}	S _{H,f}	$\Delta X/X_0$ (%)
Pd _{0.40} Al	4	8	96	92	12
Pd _{0.55} Sn _{0.045} Al	2	5	98	95	28
Pd _{0.54} Sn _{0.19} Al	2	6	98	94	31
Pd _{0.34} Si	19	29	81	71	43
Pd _{0.31} Sn _{0.061} Si	72	90	28	10	31
Pd _{0.31} Sn _{0.22} Si	78	89	22	11	19

a: measured at 1st pulse of the reactant mixture.

b: measured at 12th pulse of the reactant mixture.

For the catalysts supported on silica, all of them exhibited higher selectivity toward butenes, especially the bimetallic ones. The monometallic catalyst showed a selectivity to dehydrogenation between 19-29 %, meanwhile selectivity values were from 72% to 90% for the bimetallic catalysts. As it was expected from previous results (Table 1, Fig. 10), deactivation parameter decreased with Sn content

in these catalysts, from 43 to 19 %, as an evidence of Pd-Sn interactions on the surface of the silica.

The differences in the selectivity between the catalysts supported on alumina and those supported on silica, point out the support's role in Pd active sites. From results obtained in the pulse experiments, it can be concluded that coke deposition rate was lower in the catalysts supported on silica, and the

selectivity toward butenes increased with the Sn addition. These results are explained by a geometric and electronic effects of Sn on Pd, through the dilution of Pd ensembles and the change in the Pd nature upon Sn addition.

From results discussed above, it could be proposed a model of the arrangement of metal particles on the surface of the alumina and silica, in bimetallic catalysts. On alumina, Pd atoms are highly stabilized by chlorine species, which increased d-state vacancies due to a charge transfer from palladium to chlorine, as it was mentioned in the UV-DRS results of these solids (Figure 1), which in turn hinder the Pd-Sn interactions. The representation of these particles on the surface of alumina is schematized in Fig. 12, where two groups of Pd sites predominate: "sites A" representing the Pd particles interacting with Cl- by means of $Pd_xO_yCl_z$ surface complex, and "sites B" representing the Pd particles interacting with Sn. Most of the Pd is included in "site A", which explains why similar characterization results were obtained (UV-DRS, TPR, CO chemisorption, FTIR-CO). Also, these Pd species are the most active in the n-butane dehydrogenation, and the strength of n-butane adsorption on Pd is high enough to favor the rupture of C-C (cracking) rather than C-H (dehydrogenation) bonds [9]. Instead, on "sites B" Pd particles are free of Cl, allowing the interaction with Sn, and represent the minority of Pd. On this type of sites, the hydrocarbon adsorption is weakened, hindering C-C bond ruptures, and favoring the dehydrogenation reactions toward butenes. During the n-butane dehydrogenation in continuous flow reactor, "sites A" were blocked by coke deposition at the beginning (first 15 min of TOS) and, then, the reaction proceeded on "sites B", where differences in catalytic performance of the Al_2O_3 -supported catalysts upon Sn addition were observed. This statement is supported by FTIR-CO results, which indicated that CO is preferentially absorbed on Pd^+/Pd^{2+} species.

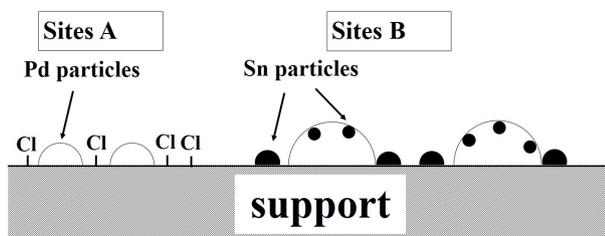


Figure 12. Schematic representation of the distribution of metal particles on the surface of the supports.

On silica, only the "sites B" predominates, as the characterization results (XRF, UV-DRS, TPR and FTIR-CO) showed the absence of any chlorinated

species, and the existence of large Pd ensembles, which showed lower activity and higher selectivity toward butenes and coking. Therefore, it is proposed that both geometry and electronic effects of Sn on Pd are involved in the catalysts supported on silica.

The results obtained herein showed a commitment in the activity-selectivity relationship for the n-butane dehydrogenation. In a continuous flow reactor, Al_2O_3 -supported catalysts displayed better activity and stability for TOS higher than 15 min, with a selectivity toward butenes up to 94% for the $Pd_{0.54}Sn_{0.19}Al$ catalyst. In the case of the SiO_2 -supported catalysts, all the samples displayed a high dehydrogenation selectivity (100%), but low activity and the worse stability on TOS.

Conclusions

The Pd species present in the Pd and Pd-Sn supported catalysts depends on the nature of the support. In this sense, when supported on alumina, palladium exists primarily in two forms: (i) as Pd oxychloride ($Pd_xCl_yO_z$), where the electronic properties of the metal are modified by the presence of chlorine, by means of a charge transfer $Pd \square Cl$. This phase is highly resistant to reduction, as some of the palladium species remained as Pd^+/Pd^{2+} even after reduction at $400^\circ C$ for 1 h. Besides, this Pd-Cl interaction leads to a high metal dispersion and high activity in the n-butane dehydrogenation, but poor selectivity towards butenes; (ii) as Pd metallic (Pd), where a Pd-Sn interaction can be involved, and a higher selectivity toward butenes can be obtained. Over silica, only PdO exists after reduction, with a very low dispersion and activity. The Al_2O_3 -supported bimetallic (Pd-Sn) catalysts showed a better behavior for n-butane dehydrogenation than the SiO_2 -supported ones, considering both the activity and stability. Also, high selective toward butenes was observed for the $Pd_{0.54}Sn_{0.19}Al$ catalysts ($Sn/Pd = 0.32$). These catalysts showed the best performance for n-butane dehydrogenation between all catalysts investigated here.

In spite of the poor performance showed by the SiO_2 -supported catalysts, a better Pd-Sn interaction was evidence in these catalysts. The performance of the Al_2O_3 -supported catalysts tested herein for n-butane dehydrogenation can be compared with the Pt-base catalysts, which encourages to further studies of the supported Pd catalysts for this reaction.

Acknowledgements

This research was partially supported by the Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico of the Universidad del Zulia (CONDES), Venezuela,

under the Projects CC-0145-08 and CC-0090-12. The authors also thanks to Dr. Alberto Campos, of the Laboratorio de Desarrollo de Métodos de Análisis, of the Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia, by his assistance in the chemical analysis of the catalysts.

References

- RODRIGUEZ, L., ROMERO, D., RODRIGUEZ, D. SANCHEZ, J., DOMINGUEZ, F. ARTEAGA, G. *Appl. Catal. A: Gen* 373:66-70.2010.
- MIRACCA, I., PIOVESAN, L. *Catal. Today* 52: 259. 1999.
- KOBAYASHI, S., KANEKO, S., OHSHIMA, M., KUROKAWA, H., MIURA, H. *Appl.Catal. A: Gen* 417- 418:306- 312. 2012.
- RODRÍGUEZ, D., SÁNCHEZ, J., ARTEAGA, G. *J. Mol. Catal.* 228:309-317. 2005.
- SAHEBDELFAH, S., TAKHTRAVANCHI, M., TAHRIRIZANGENEH, F., MEHRAZMA, S., RAJABI, S. *Chem. Eng. Res. Des.* 90:1090-1097. 2012
- IGLESIAS-JUEZ, A., BEALE, A., MAALJEN, K., CHIENWENG, T., GLATZEL, P., WECKHUYSEN, B. *J. Catal.* 276:268-279. 2010.
- KANEKO, S., ARAKAWA, T., OHSHIMA, M., KUROKAWA, H., MIURA, H. *Appl. Catal. A: Gen* 356:80-87. 2009.
- PISDUANGDAW, S., PANPRANOT, J., METHASTIDSOOK, M., CHAISUK, C., FAUNGNAWAKIJ, K., PRASERTHDAM, P., MEKASUWANDUMRONG, O. *Appl. Catal. A: Gen* 370:1. 2009**
- Mendez, J., Rodriguez, D., Sanchez, J. Arteaga, G. *Ciencia* 20:132-141. 2012.
- VALECILLOS, J., RODRÍGUEZ, D., MENDEZ, J., SOLANO, R., GONZÁLEZ, C. ACOSTA, T., SÁNCHEZ, J., ARTEAGA, G. *Ciencia* 14 (Special Number):1.2006.
- VIRLA, L., MEDINA, V., RODRÍGUEZ, D., SOLANO, R., MENDEZ, J., ARTEAGA, G. *FARAUTE Ciens. y Tec.* 4(2):68-77. 2009.
- HAMID, S., ARUN KUMAR, M., LEE, W. *Appl. Catal. B: Environ* 187:37-46. 2016.
- PIZARRO, A.H., MOLINA, C.B., RODRIGUEZ, J.J., EPRON, F. *J. Environ. Chem. Eng.* 3: 2777-2785. 2015.
- LIN, W., LIN, L., ZHU, Y.X., XIE, Y.C., SCHEURELL, K., KEMNITZ, E. *Appl. Catal. B* 57:175-181. 2004.
- LOVÓN-QUINTANA, J.J., SANTOS, J.B.O., LOVÓN, A.S.P., LA-SALVIA, N., VALENÇA, G.P. *J. Mol. Catal. A: Chem.* 411:117-127. 2016
- ZHAO, J., XU, X., LI, X., WANG, J. *Catal. Commun.* 43:102-106. 2014.
- VICENTE, A., LAFAYE, G., ESPECEL, C., MARÉCOT, P., WILLIAMS, C.T. *J. Catal.* 283:133-142. 2011.
- PATTAMAKOMSAN, K., EHRET, E., MORFIN, F., GÉLIN, P., JUGNET, Y., PRAKASH, S., BERTOLINI, J. C., PANPRANOT, J., CADETE, SANTOS AIRES, F. *J. Catal. Today* 164:28-33. 2011.
- BALLARINI, A.D., ZGOLICZ, P., VILELLA, I.M.J., DE MIGUEL, S.R., CASTRO, A.A., SCELZA, O.A. *Appl. Catal. A: Gen* 381:83-91. 2010.
- ELDING, L.I., OLSSON, L.F. *J. Phys. Chem.* 82:69-74. 1978
- TOEBES, M. L., VAN DILLEN, J. A., DE JONG, K. P. *J. Mol. Catal. A: Chem* 173:75-98. 2001.
- GASPAR, A. B., DIEGUEZ, L. C. *Appl. Catal. A: Gen* 201:241-251. 2000.
- FERRER, V., FINOL, D., RODRIGUEZ, D., DOMINGUEZ, F., SOLANO, R., ZÁRRAGA, J., SÁNCHEZ, J. *Catal. Lett.* 132:292-298. 2009.
- FERRER, V., MORONTA, A., SÁNCHEZ, J., SOLANO, R., BERNAL, S., FINOL, D. *Catal. Today* 107-108:487-492. 2005
- FERRER, V., FINOL, D., SOLANO, R., MORONTA, A., RAMOS. M. *J. Environ Sci.* 27:87-96. 2015.
- LIESKE, H., VÖLTER. J. *J. Catal.* 90:96-105. 1984.
- DAUTZENBERG, F. M., HELLE, J. N., BILOEN, P., SACHTLER. W. M. H. *J. Catal.* 63:119-128. 1984
- LEE, A.F., BADDELEY, C.J., TIKHOV, M.S., LAMBERT, R.M. *Surf. Sci.* 373:195-209. 1997.
- SALES, E.A., JOVE, J., MENDES, M.J., BOZON-VERDURAZ, F. *J. Catal.* 195:88-95. 2000.
- DALEY, R.A., CHRISTOU, S.Y., EFSTATHIOU, A.M., ANDERSON, J.A. *Appl. Catal. B: Environ* 60:117-127. 2005.

-
31. VALDEN, M., KEISKI, R. L., XIANG, N., PERE, J., AALTONEN, J., PESSA, M., MAUNULA, T., SAVIMÄKI, A., LAHTI, A., HÄRKÖNEN, M. **J. Catal.** 161:614-625. 1996.
 32. SCIRÈ, S., BURGIO, G., CRISAFULLI, C., MINICÒ, S. **Appl. Catal. A: Gen** 274:151-157. 2004.
 33. MAZZIERI, V. A., GRAU, J. M., YORI, J. C., VERA, C. R., PIECK, C. L. **App. Catal. A: Gen** 354:161-168. 2009.
 34. SRIHIRANPULLOP, S., PRASERTHDAM, P. **Catal. Today** 93-95:723-727. 2004.
 35. MARECOT, P., AKHACHANE, A., MICHEAUD, C., BARBIER, J. **Appl. Catal. A: Gen** 169:189-196. 1998.
 36. BOCANEGRA, S.A., GUERRERO-RUIZ, A., DE MIGUEL, S.R., SCELZA, O.A. **Appl. Catal. A: Gen** 277:11-22. 2004.
 37. PIRNGRUBER, G. D., SESHAN, K., LERCHER, J. A. **J. Catal.** 186:188-200. 1999.

Capacidad de remoción de H₂S de óxidos de níquel y cobre soportados sobre sílice mesoporosa (Remoción de H₂S sobre óxidos metálicos soportados)

Sinahi Morillo¹, Roselin Briceño¹, Santiago Valbuena¹, Roger Solano², Gema González³, Alexander Moronta¹, Douglas Rodríguez y Eduardo González^{1}.*

1 Instituto de Superficies y Catálisis “Prof. Eduardo Choren” (INSUC), Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia, Maracaibo 4003, Venezuela.

2 Grupo Catalizadores y Adsorbentes, Universidad de Antioquia, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia.

3 Centro de Ingeniería de Materiales y Nanotecnología, IVIC. Carretera Panamericana, Km. 11. Altos de Pipe. Caracas, Venezuela.

Recibido:12-04-18 Aceptado:25-05-18

Resumen

Se sintetizó una sílice mesoporosa (MSU-1) y luego se impregnó con diferentes contenidos de Cu o Ni mediante el método de impregnación a humedad incipiente. Se evaluó el desempeño de los materiales preparados para la remoción de H₂S a temperatura ambiente. La caracterización de los materiales se realizó mediante fluorescencia de rayos X (XRF), reducción a temperatura programada (TPR), difracción de rayos X (XRD), microscopía electrónica de barrido (SEM) y adsorción física de nitrógeno. Los valores de área superficial y volumen de poro decrecieron con el aumento de la carga de cobre, mientras que la deposición de óxido de níquel no afectó significativamente las propiedades texturales. Los difractogramas de rayos X mostraron las señales típicas de la formación de CuO y NiO, poco dispersas por la intensidad de las señales, y con tamaños entre 1 y 2 µm según lo observado por SEM. Los perfiles de reducción de las muestras sintetizadas presentaron un comportamiento similar, observándose una reducción en varias etapas. Las muestras con cobre presentaron máximos alrededor de 230, 265 y 350°C, mientras que los sólidos con níquel presentaron temperaturas de reducción de 330, 360 y 515 °C. Las curvas de ruptura de H₂S mostraron que la capacidad de remoción aumentó con el contenido metálico. Los sólidos impregnados con cobre mostraron una capacidad de remoción de H₂S entre 7,3 y 22,5 mg/g, mayor a la observada en los sólidos sintetizados con níquel, la cual estuvo comprendida entre 3,4 y 7,4 mg/g.

Palabras Claves: curvas de ruptura, material MSU-1, capacidad de remoción de H₂S, sólidos mesoporosos.

H₂S removal capacity of supported nickel and copper oxides on mesoporous silica
(H₂S removal over supported metallic oxides)

Abstract

A mesoporous silica (MSU-1) was synthesized and then impregnated with different Cu or Ni contents by the incipient wetness impregnation method. The performance of the materials prepared for H₂S removal at room temperature was evaluated. The materials were characterized by X-ray fluorescence (XRF), temperature programmed reduction (TPR), X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM) and nitrogen physical adsorption. The surface area and pore volume values decreased with increasing copper loading, while nickel oxide deposition did not significantly affect the textural properties. X-ray diffractograms showed the typical signals of CuO and NiO formation, poorly dispersed by the intensity of the signals, and with sizes between 1 and 2 µm as observed by SEM. The reduction profiles of the synthesized samples showed a similar

* Autor para la correspondencia: egonzalez@fing.luz.edu.ve

behavior, with a reduction observed in several stages. Copper samples showed peaks at around 230, 265 and 350°C, while nickel solids showed reduction temperatures at 330, 360 and 515°C. The rupture curves of H₂S showed that the removal capacity increased with the metal content. Copper-impregnated solids showed a H₂S removal capacity between 7.3 and 22.5 mg/g, higher than that observed in nickel-synthesized solids, which was between 3.4 and 7.4 mg/g.

Keywords: breakthrough curves, H₂S removal capacity, mesoporous solids, MSU-1 material.

Introducción

Las plantas de petróleo y gas deben tratar el sulfuro de hidrógeno, gas denso y altamente tóxico, generado en sus procesos operacionales para cumplir con las regulaciones ambientales, y así evitar daños a la salud, al medioambiente, el envenenamiento de los catalizadores de refinación, y daños a las instalaciones por corrosión (1,2). El H₂S es generado en mayor proporción en las plantas de hidrodesulfuración de naftas, y además, está presente en el gas natural. Comúnmente es removido por absorción con aminas, como la etanolamina y la dietalnoalmina en fase líquida (2). Las corrientes enriquecidas en sulfuro de hidrógeno son sometidas a un proceso de recuperación de azufre conocido como proceso Claus, el cual consiste en hacer reaccionar el H₂S con SO₂ para obtener azufre elemental, que luego se destina a la producción de ácido sulfúrico y fertilizantes (3). La remoción del sulfuro de hidrógeno ha sido estudiada en procesos que involucran la reacción del sulfuro de hidrógeno con óxidos metálicos (4-9), adsorción en zeolitas (10), líquidos iónicos (11), y tratamientos microbiológicos (2). Para el caso de los óxidos soportados, dado que la remoción involucra una reacción superficial, es importante lograr incrementar la superficie activa, así como el tamaño y número de las partículas que son capaces de reaccionar con el sulfuro de hidrógeno presente en la corriente de alimentación. Esto último puede ser logrado mediante el uso de sólidos porosos de elevada área superficial y con tamaños de poro grande, que sirvan de soporte a dichos óxidos, y que sus propiedades texturales eviten el taponamiento que causa la deposición de la fase activa (12). Los materiales mesoporosos tipo MSU-1 (13) poseen dichas propiedades texturales, haciéndolos potencialmente útiles como soportes de metales u óxidos de baja área superficial específica, permitiendo incrementar la accesibilidad del reactante con los centros activos para la reacción o adsorción. En este trabajo, se evalúa la capacidad de remoción de H₂S de óxidos de níquel y cobre soportados sobre un material mesoporoso tipo MSU-1, bajo conceptos de química suave, como una forma viable y razonable en la obtención y diseño de nuevos adsorbentes de sulfuro de hidrógeno.

Materiales y métodos

Síntesis del soporte

El material mesoporoso fue preparado a partir de un surfactante no iónico Brij C-10 y tetraetilortosilicato (TEOS) como fuente de silicio usando un procedimiento similar al descrito por Bagshaw y col. (13) para el material MSU-1. Se disolvieron en 510 mL de agua de-ionizada 46,1 g de Brij C-10 a temperatura ambiente y se sometió a agitación durante 3 h. Luego se agregaron 100 mL de TEOS y se dejó en agitación por 24 h. Posteriormente, se dejó reposar la solución durante 48 h hasta su gelificación. Finalmente, el gel obtenido fue secado en la estufa a 75 °C por 24 h y calcinado a 550 °C por 15 h usando una rampa de calentamiento de 1 °C/min.

Impregnación con Ni y Cu:

Este material luego fue impregnado con una solución acuosa de nitrato de cobre (Cu(NO₃)₂) o nitrato de níquel (Ni(NO₃)) a humedad incipiente, secados a 120°C durante 18 h y calcinados a 450°C por 4 h a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. Los contenidos nominales de cobre fueron de 2, 5, 8 y 12 % p/p y 2, 7, 12, 16 % p/p para el Níquel. La nomenclatura usada fue xNiMSU y xCuMSU, donde x representa la carga metálica.

Caracterización de los sólidos mesoporosos:

La composición química de los sólidos preparados se estudió mediante la técnica de fluorescencia de rayos X, usando un espectrómetro Shimadzu EDX-700 HS con una fuente de rayos X de rodio. El perfil de reducción se obtuvo mediante la técnica de reducción a temperatura programada (TPR), como gas de reducción se usó una mezcla de 5 % v/v de hidrógeno en argón, para ello 50 mg de muestra fueron inicialmente secados por 1 h a 120 °C bajo una corriente de nitrógeno de 30 mL/min, luego se hizo pasar un flujo de 30 mL/min del gas de reducción por el reactor y se incrementó la temperatura a una velocidad de 10 °C/min. Las variaciones de la concentración de hidrógeno en la corriente de salida fueron detectadas continuamente por un TCD con filamentos de

tungsteno-oro. Para determinar las propiedades texturales se utilizó un equipo Micromeritics ASAP 2010. El área superficial aparente de las muestras se determinó usando el método de Brunauer, Emmett y Teller (BET), la distribución de tamaño de poro fue calculada mediante la adsorción de nitrógeno usando el método de BJH (Barrett-Joyner-Halenda). Las microfotografías de electrones retrodispersados fueron obtenidas a 2000 y 16000X de magnificación, usando un microscopio electrónico de barrido INSPECT FEG, modelo F50. El instrumento utiliza un cañón de electrones por emisión de campo que alcanza 30.000 V. Las muestras fueron analizadas en vacío (130 Pa) y 20 kV. La evaluación de la estructura se llevó a cabo en un difractor PANalytical Empyrean. Los análisis fueron realizados empleando una radiación Cu K α a 45 kV y 40 mA bajo una velocidad de barrido correspondiente a 2,4 θ /min con un tamaño de paso de 0,026°, un tiempo por paso de 0,5 s en el rango de 2 - 50° de 2 θ .

Capacidad de remoción de H₂S:

Se realizaron experimentos dinámicos a temperatura ambiente para evaluar la capacidad de remoción. En un reactor de vidrio tipo U de 4 mm de diámetro interno se colocaron 200 mg de muestra. Posteriormente se hizo pasar un caudal de 5 mL/min de una mezcla de 5 % v/v H₂S en metano por el reactor a temperatura ambiente. Los gases de salida fueron diluidos 100X con aire antes de pasar por un sensor de H₂S InterScan LD-17. Los ensayos fueron detenidos cuando la concentración a la salida alcanzó los 100 ppm. La capacidad de remoción, expresada en mg de H₂S por g de material (X/M), fue estimada por ecuación 1:

$$\frac{X}{M} = \left(\frac{Q \cdot MW}{W \cdot VM} \right) \cdot \left(C_0 \cdot t_s - \int_0^{t_s} C \cdot dt \right) \quad [1]$$

Donde Q es el caudal (m³ s⁻¹), MW es el peso molecular del H₂S (34,06 g mol⁻¹), W es la masa del sólido (g), VM es el volumen molar (22,4 cm³ mmol⁻¹), C₀ es la concentración de alimentación de H₂S (ppm), C(t), es la concentración al tiempo t y t_S es el tiempo de saturación a 10000 ppm de H₂S.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se muestra la composición química, área superficial y el volumen total de poro de los sólidos preparados con diferentes contenidos de cobre o níquel. Se aprecia una disminución del área superficial y volumen de poro con el aumento de la carga de Cu, atribuido a la formación de partículas metálicas que bloquean los poros, mientras que la incorporación de níquel no afectó apreciablemente las propiedades texturales. Los resultados del análisis estructural por difracción de rayos X, mostrados en la Figura 1, se notó para ambas series de materiales que las partículas tendieron a aumentar su tamaño al incrementar la carga metálica. Los materiales con cobre presentaron señales a 35 y 39°, correspondientes a los planos cristalográficos (-1 1 1) y (1 1 1) del CuO con una estructura monoclinica (6), mientras que la muestras con Ni, presentaron señales a 37 y 43°, correspondientes a los planos cristalográficos (1 1 1) y (2 0 0) de la fase de NiO con estructura cúbica, consistente a lo observado por Rynkowski y col. (14).

Tabla 1. Contenido metálico y propiedades texturales de los materiales preparados.

Muestras	Ni (% p/p)	Cu (% p/p)	S _{Bet} (m ² /g)	V _{tBJH} (cm ³ /g)
2CuMSU	-	1,8	336	0,65
5CuMSU	-	4,5	312	0,60
8CuMSU	-	7,8	307	0,62
12CuMSU	-	12,1	288	0,54
2NiMSU	2,4	-	279	0,59
7NiMSU	7,1	-	270	0,60
12NiMSU	11,5	-	288	0,58
16NiMSU	15,5	-	255	0,60

SBET: área superficial específica por el método BET, Vt: Volumen total de poro por el método de BJH.

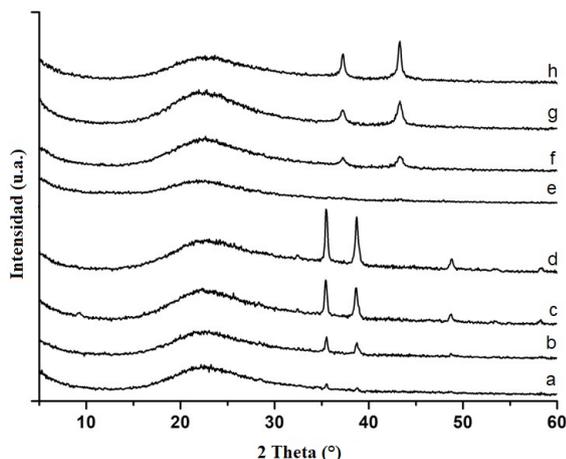


Figura 1. Difractogramas de rayos X de los materiales: a) 2CuMSU, b) 5CuMSU, c) 8CuMSU, d) 12CuMSU, e) 2NiMSU, f) 7NiMSU, g) 12NiMSU y h) 16NiMSU.

Las micrografías de los sólidos con cargas de 12 % p/p de Cu y Ni son mostradas en la Figura 2. Las imágenes revelan la formación de partículas de gran tamaño, relativamente dispersas sobre la superficie del soporte la MSU-1 con tamaños entre 1 y 2 μm para ambos materiales. La reducibilidad de dichas partículas se muestra en las Figuras 3 y 4.

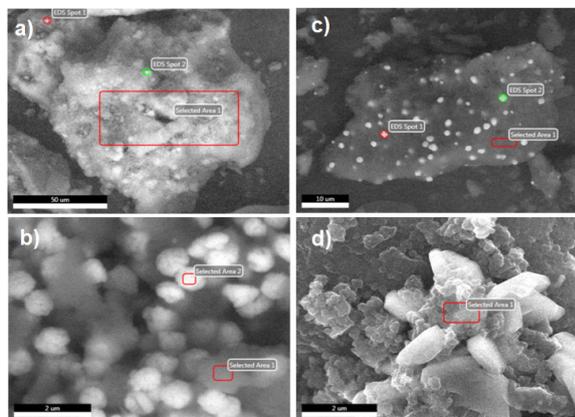


Figura 2. Micrografías tomadas por SEM. Las imágenes a y b corresponden al material 12CuMSU. Las imágenes c y d al corresponden al material 12NiMSU.

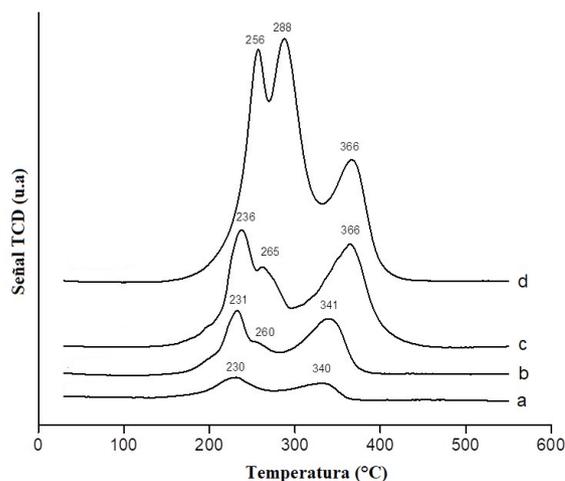


Figura 3. Perfiles de reducción del material MSU impregnado con distintas cargas de cobre: a) 2 % b) 5 %, c) 8 % y d) 12 %.

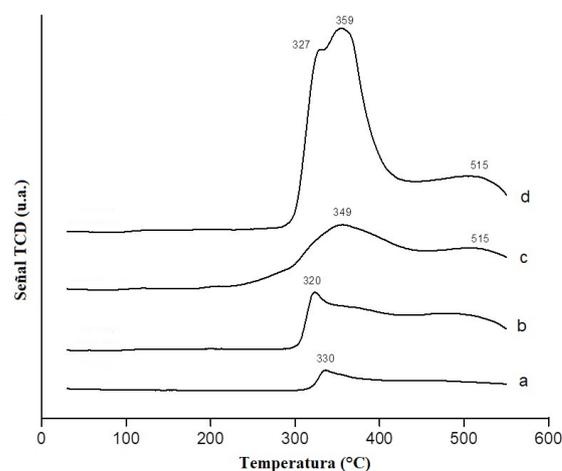


Figura 4. Perfiles de reducción del material MSU impregnado distintas cargas de níquel: a) 2 % b) 7 %, c) 12 % y d) 16 %.

El perfil de reducción de los sólidos preparados con diferentes cargas de cobre presenta tres picos bien definidos. El máximo alrededor de 230 - 260 $^{\circ}\text{C}$ es atribuido a la reducción de especies de CuO a Cu_2O , la señal a temperaturas entre 270 - 290 $^{\circ}\text{C}$ puede ser atribuida a la reducción de aglomerados de CuO , o bien, a partículas de CuO que interactúan más fuertemente con el soporte. La señal entre 341 - 366 $^{\circ}\text{C}$ correspondería a la reducción parcial de Cu_2O a cobre metálico, la cual ocurre según Kim y col. (15) a temperaturas no inferiores a 300 $^{\circ}\text{C}$. En general, los perfiles de reducción demuestran que las especies de cobre son reducidas a Cu casi totalmente a una temperatura cercana a los 380 $^{\circ}\text{C}$ para todas las muestras soportadas. Respecto a las muestras

con níquel (Figura 3), el perfil de reducción del NiO muestra una señal de reducción con un máximo alrededor de los 330°C para la muestra con menor carga. Al incrementar la carga metálica se observa el ensanchamiento de la señal a 330°C y la aparición de nuevos máximos a 350 y 515 °C. Basado en el trabajo de Miles y col. (16), la reducción del níquel no soportado ocurre alrededor de los 400°C, por lo que se puede asignar las señales de reducción a bajas temperaturas a especies Ni (II) en forma de aglomerados de NiO que se reducen a níquel metálico, mientras que la señal a 515°C es asignada a especies de Ni (II) que interaccionan con el soporte.

La Figura 5 y 6 muestra las curvas de ruptura de H₂S de los sólidos preparados con diferentes contenidos de cobre o níquel. La forma de las curvas sugiere un mecanismo de remoción similar en todos los sólidos, ya que no se observan cambios de pendiente, es decir, la velocidad de reacción es casi constante, alcanzando la concentración de ruptura de H₂S de manera lineal.

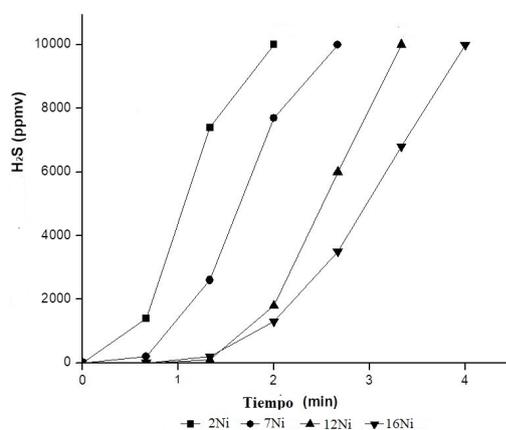


Figura 5. Curvas de ruptura de H₂S los materiales impregnados con NiO.

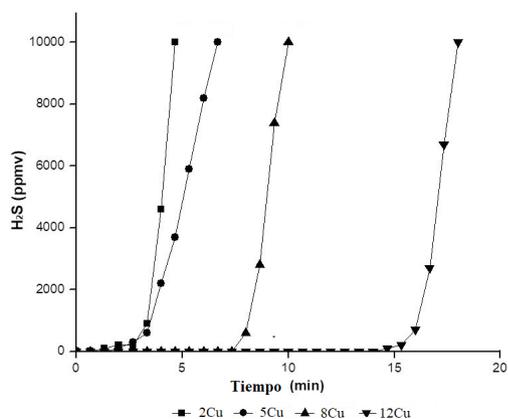


Figura 6. Curvas de ruptura de H₂S los materiales impregnados con CuO.

La remoción de H₂S depende del número de partículas en superficie o área metálica expuesta, más que del área superficial específica del sólido. A medida que se incrementa la carga metálica, aumenta la capacidad de remoción, a pesar de que disminuye el área superficial como consecuencia del aumento del tamaño de las partículas metálicas y bloqueo parcial de los poros, siendo solamente los sitios activos que se encuentran en la superficie los que interactúan con el sulfuro de hidrógeno. Los materiales con CuO mostraron capacidades de adsorción entre 7 y 22 mg/g, siendo mucho más altas que las observadas para las muestras con NiO (ver Tabla 2), donde la mayor capacidad de remoción fue de 7 mg/g para un contenido de Ni de 16 % p/p, la cual fue la misma capacidad encontrada para la muestra con 2% p/p de Cu. Los valores de metal activo, muestran una mayor disponibilidad superficial de átomos activos para las muestras con CuO, respecto a las de NiO, debido a una mayor dispersión de las especies, adicionalmente, dicho comportamiento es posible que también esté influenciado por la habilidad del cobre para activar el enlace S-H (6). A la menor carga, casi todo el cobre (95 %) reaccionó con el H₂S, mientras que un 30 % del níquel estuvo expuesto al H₂S. Al aumentar la carga metálica, el porcentaje decreció hasta valores de 43 y 10 % para las muestras con Cu y Ni, respectivamente. Dado que se favorece el crecimiento de partículas de mayor tamaño al aumentar el contenido metálico, los resultados indican la disminución de la superficie metálica, donde la capacidad de remoción aumenta solo por el mayor número de partículas presentes en la superficie del soporte.

Tabla 2. Valores de capacidad de remoción de H₂S a temperatura ambiente y porcentaje de metal activo.

Muestras	X/M mg/g	% Metal Activo *	Muestras	X/M mg/g	% Metal Activo *
2CuMSU	7,3	94,6	2NiMSU	3,5	31,9
5CuMSU	10,7	55,4	7NiMSU	4,3	13,3
8CuMSU	15,2	45,4	12NiMSU	5,9	11,2
12CuMSU	22,5	43,4	16NiMSU	7,4	10,5

$$\% M_{\text{activo}} = \left(\frac{\text{mol de S/g}}{\text{mol de Ni o Cu/g}} \right) \cdot 100;$$

Estequiometría S:M de 1:1.

Comparando los valores de capacidad encontrados en este trabajo con sólidos similares reportados en la literatura, se puede inferir que los materiales con óxido de cobre mostraron un desempeño similar al reportado por Montes y col. (6) para el mismo material, 10CuMSU (10,9 mg/g),

inferior al reportado por Nguyen-Thanh y Bandosz (17) para el cobre soportado sobre una arcilla pilareada con aluminio, AlCuM (48,6 mg/g) con un contenido de Cu de 8 % p/p, y superior al cobre soportado sobre una saponita sintética pilareada con óxido de magnesio, 8CuTS3M (2,9 mg/g) reportado por Carruyo y col (18). Esto sugiere, que el método de incorporación de los óxidos y la interacción con el soporte también deben ser considerados para incrementar la dispersión de las partículas y mejorar su capacidad de remoción.

Conclusiones

Se obtuvieron materiales mesoporosos impregnados con níquel y cobre con excelentes propiedades texturales. La deposición superficial de los óxidos de cobre por el método empleado afecta apreciablemente las propiedades texturales del material MSU-1, sin embargo, la deposición de Ni no mostró dicho comportamiento. Los análisis XRD y TPR indicaron la formación de óxidos de Cu(II) y Ni(II) fundamentalmente. Las muestras de níquel soportado poseen una capacidad de remoción significativamente menor a las observadas para las muestras con Cu, debido a la menor dispersión del óxido de níquel. La capacidad de remoción de los metales soportados sobre materiales porosos depende del número de partículas (dispersión) y del tamaño de las mismas, más que del área superficial del soporte, el cual es fundamental para conseguir una elevada dispersión y reducción del tamaño de las mismas, es decir, la mayor superficie metálica expuesta para la reacción.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Técnico, Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) por el financiamiento otorgado a la presente investigación mediante el Proyecto CC-191-17.

Referencias bibliográficas

- NASSAR I., EL-DIN M., MORSI R., EL-AZEIM A., HASHEM A. **Renew Sust Energ Rev** 65 (1):101-112. 2016.
- JENSEN A., WEBB C. **Enzyme Microb Technol** 17(1):1-10. 1995.
- GUPTA A., IBRAHIM S., SHOABI A. **Progress Energ Comb Sci** 54(1):65-92. 2016.
- WANG J, YANG C., ZHAO Y., FAN H., WANG Z., SHANGGUAN J., MI J. **Ind Eng Chem Res** 57(44):12621-12629. 2017.
- ZHAO Y., ZHANG Z., YANG C., FAN H., WANG J., TIAN Z. ZHANG H. **Ind Eng Chem Res** 57(45): 15366-15374. 2018.
- MONTES D., TOCUYO E., GONZÁLEZ E., RODRÍGUEZ D., SOLANO R., ATENCIO R., RAMOS M., MORONTA A. **Microporous Mesoporous Mater** 168 (1): 111-120. 2013.
- HUANG G., HE E., WANG Z., FAN H., SHANGGUAN J., CROISSET E, CHEN Z. **Ind Eng Chem Res** 54 (34): 8469-8478. 2015.
- PORTELA R., RUBIO-MARCOS F., LERET P., FERNÁNDEZ J., BAÑARES M., ÁVILA P. **J Mater Chem A** 3 (1):1306-1316. 2015.
- REZAEI S, TAVANA A., SAWADA J., WU L., JUNAID A., KUZNICKI S. **Ind Eng Chem Res** 51 (38): 12430-12434. 2012.
- OZEKMEKCI M., SALKIC S., FELLAH M. **Fuel Processing Technol** 139 (1):49-60. 2015.
- HUANG K., ZHANG X., ZHOU L., TAO D., FAN J. **Chem Eng Sci** 173 (14): 253-263. 2017.
- TRONG D., DESPLANTIER-GISCARD D., DANUMAH C., KALIAGUINE S. **Appl Catal A** 222 (2): 299-357. 2001.
- BAGSHAW S., PROUZET E., PINNAVAIAT. **Science** 269 (5228): 1242-1244. 1995.
- RYNKOWSKI J., PARYJCZAK T., LENIK M. **Appl Catal A** 106(1) 73-82. 1993.
- KIM J. RODRIGUEZ J., HANSON J., FRENKEL A., LEE P. **J Am Chem Soc** 125 (35): 10684-10692. 2003
- MILE B., STIRLING D., ZAMMIT M., LOVELL A., WEBB M. **J Catal** 114 (2): 217-229. 1988.
- NGUYEN-THANH D., BANDOSZ T. **J Phys Chem B** 107(1): 5812-5817. 2003.
- CARRUYO G., GONZÁLEZ E., RAMOS M., ATENCIO R., BANDOSZ T., SEREDYCH M., MORONTA A. **Rev Téc Ing Univ Zulia** 35 (2): 1-9. 2012.

Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en chayota (*Sechium edule* Jacq. Sw. cv. "virens levis")

Viluzca Chiquinquirá Fernández Palmar*, María José Rivas Bravo, Kairelys Beatriz
Bencomo Santamaria, Laura Rolymags Soto Arrieta

Laboratorio de Alimentos. Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia.

Recibido: 16-05-2018 Aceptado: 21-06-2018

Resumen

Los compuestos fenólicos son sustancias con propiedades antioxidantes que están ampliamente distribuidas en plantas y forman parte de muchos alimentos de origen vegetal, como las frutas. El propósito de esta investigación fue evaluar el contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante en chayota (*Sechium edule* Jacq., var. *Virens levis*). Para la caracterización fisicoquímica se emplearon las normas A.O.A.C. La determinación de compuestos fenólicos totales se realizó por el **método de Folin-Ciocalteu** mientras que para la determinación de la actividad antioxidante se siguió el método del ión radical ABTS. El contenido de compuestos fenólicos totales (mg GAE/100g) en la pulpa de chayota fue de $41,71 \pm 5,42$ para extractos sin purificación y $23,10 \pm 3,58$ extractos purificados. La actividad antioxidante (mg VEAC/100g) fue de $14,57 \pm 1,22$ para extractos sin purificación y $8,07 \pm 0,20$ para extractos purificados empleando ácido ascórbico como patrón de referencia. La actividad antioxidante expresada como VEAG/100 mg (empleando **ácido gálico** como patrón de referencia) fue de $27,63 \pm 2,52$ para extractos sin purificación y $14,81 \pm 0,74$ mg para extractos purificados. La presencia de estructuras tipo fenolicas fue verificada empleando espectrometría infraroja. La pulpa de chayota es una fuente de compuestos fenólicos con actividad antioxidante.

Palabras clave: Chayota, compuestos fenólicos y actividad antioxidante,

Total phenolic compounds and antioxidant activity in chayotas (*Sechium edule*
Jacq., variety *Virens levis*)

Abstract

Phenolic compounds are substances with antioxidant properties that are widely distributed in plants and are part of many foods, such as fruits. The purpose of this research was to evaluate the content of total phenolic compounds and antioxidant activity in chayote (*Sechium edule* Jacq., variedad *Virens levis*). For the physicochemical characterization, the methodology of A.O.A.C was used. The determination of total phenolic compounds was carried out by the Folin-Ciocalteu method, while for the determination of the antioxidant activity the ABTS radical ion method was followed. The content of total phenolic compounds (mg GAE /100g) in chayote pulp was 41.71 ± 5.42 for extracts without purification and 23.10 ± 3.58 for purified extracts. The antioxidant activity (mg VEAC/100g) was 14.57 ± 1.22 for extracts without purification and 8.07 ± 0.20 for purified extracts using ascorbic acid as a reference standard. The antioxidant activity expressed as VEAG/100 mg (using gallic acid as the reference standard) was 27.63 ± 2.52 for extracts without purification and 14.81 ± 0.74 mg for purified extracts. The presence of phenolic-type structures was verified using infrared spectrometry. Chayote pulp is a rich source of phenolic compounds with antioxidant activity.

Keywords: Chayote, phenolic compounds antioxidant activity

* fvlu12@gmail.com

Introducción

Las frutas y verduras se consideran un excelente reservorio de compuestos bioactivos que afectan diversos procesos fisiológicos relacionados con los beneficios para la salud¹. Las frutas y vegetales, en adición a los nutrientes esenciales y a una serie de micronutrientes tales como minerales, fibras y vitaminas, aportan diversos metabolitos secundarios de naturaleza fenólica, denominados compuestos fenólicos², que constituyen la fuente más importante de antioxidantes con una ingesta diaria de 1 g/día, la cual es 10 veces mayor a la ingesta de vitamina C y 100 veces mayor a la de vitamina E³.

Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal. La capacidad de los compuestos fenólicos para modular la actividad de diferentes enzimas y para interferir consecuentemente en mecanismos de señalización y en distintos procesos celulares puede deberse, al menos en parte, a las características fisicoquímicas de estos compuestos, que les permiten participar en distintas reacciones metabólicas celulares de óxido-reducción. En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos⁴.

La chayota (*Sechium edule*) es ampliamente cultivada en América. El cultivo fue introducido en América del Sur durante los siglos XVIII y XIX. El género *Sechium* pertenece a la familia de las Cucurbitáceas y a la tribu Scyocae (Schrad). El *Sechium edule* es una planta vivaz, trepadora, monoica y vivípara. Asimismo, es una hortaliza muy versátil, ya que de ella se aprovechan las raíces, los tallos, las hojas, los zarcillos, la semilla, los frutos y las puntas de las guías⁵. La actividad antioxidante del fruto es alta, reportándose porcentajes de inhibición de 80% en extractos metanólicos, por lo cual se puede considerar una fuente importante de estos compuestos en la dieta⁶. Además, el fruto y la semilla contienen varios aminoácidos, entre los cuales se encuentran la lisina, histidina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, valina, isoleucina serina, alanina y tirosina⁵.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante en chayota (*Sechium edule* Jacq. Sw. cv. "virens levis") con el propósito de identificar sus potencialidades nutricionales y fitoquímicas y sus potencialidades como agente protector de la salud mediante la reducción de enfermedades propagadas por el estrés oxidativo.

Materiales y métodos

Todos los reactivos químicos utilizados en esta investigación fueron de grado analítico. El material volumétrico de vidrio fue colocado por 24 h en una disolución acuosa de ácido nítrico diluido posteriormente se lavaron con detergente y se enjuagaron con agua desionizada secándose posteriormente en la estufa a una temperatura de 35 ± 5 °C. El solvente metanol para la extracción de compuestos fenólicos fue empleado directamente sin previa purificación. Así mismo, para la evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos se empleó como patrones el ácido gálico ($C_6H_6O_5$, Riedel-de Haën, 99% de pureza) y ácido ascórbico ($C_6H_2(OH)_3COOH$, Riedel-de Haën, 99% de pureza). La generación química del radical se realizó empleando ABTS marca SIGMA y persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$, J.T Baker). Para la preparación de las soluciones y muestras se empleó agua destilada, especificación ASTM D1193.

Obtención de la materia prima

Se colectaron 3 Kg de la hortaliza chayota (*Sechium edule*) la cual fue muestreado de forma aleatoria y sistemática⁷. La recolección se realizó en la población Siquisay, municipio Bocono, estado Trujillo. La hortaliza fue recolectada en su estado de madurez de consumo y posteriormente fueron lavadas con agua con el fin de eliminar partículas extrañas de su superficie y separadas en sus partes constituyentes para su posterior análisis.

Caracterización fisicoquímica de la muestra

Se analizaron las siguientes variables: humedad (A.O.A.C. 22008), cenizas (A.O.A.C 22.026), grasas (A.O.A.C 960.39), proteínas (A.O.A.C 968.06) contenido de fibra (A.O.A.C 14.020)^{8,9}. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Obtención de los extractos

Para la obtención del extracto se pesaron, en envases de vidrio (7cm alto x 3 de diámetro), 1 g de pulpa y se adicionaron 10 mL de una solución hidroalcohólica de metanol al 70% v/v, posteriormente la muestra se llevó a un baño ultrasónico durante 20 min^{10,11}. Después de la extracción, el sobrenadante se removió en una centrífuga automática (Internacional Equipment Company modelo IEC- Centra MP-4R) a 8.500 rpm durante 20 min a 8 °C. Todos los ensayos se realizaron a 50- 55°C por lo cual se controló continuamente la temperatura del baño ultrasónico, haciendo recircular agua templada en el baño cuando la temperatura se elevaba por encima de

este intervalo. El extracto obtenido fue almacenado en envases ámbar a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis, el cual se realizó en un tiempo máximo de cuarenta y ocho (48) horas luego de la obtención del extracto.

Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales

En un tubo de ensayo, se añadieron $1580\text{ }\mu\text{L}$ de agua destilada, $20\text{ }\mu\text{L}$ de muestra, y $100\text{ }\mu\text{L}$ del reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 1 min, se adicionaron $300\text{ }\mu\text{L}$ de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20% m/v, se mezcló y se almacenó protegido de la luz por 120 min. La absorbancia se midió a 750 nm (Genesys 10S UV-Vis Spectrophotometer) y la concentración total de compuestos fenólicos se calculó utilizando una curva de calibrado de ácido gálico como estándar ($0\text{-}600\text{ mg/L}$). Los resultados se expresaron en equivalentes de ácido gálico (GAE, por sus siglas en inglés: "Galic Acid Equivalents")¹².

Separación de compuestos fenólicos

Para confirmar que los compuestos fenólicos son los responsables de la actividad antioxidante, los extractos fueron separados empleando cartuchos C18 (Alltech® Maxi-Clean™ Cartridges, High Flow tamaño de partícula; $100\mu\text{m}$ y tamaño de poro: 60 \AA). Los extractos fueron concentrados a sequedad y presión reducida en un rotaevaporador giratorio (Buchi Rotavapor R-215, Suiza) unido a una bomba de aspiración a 45°C . Las muestras se rediluyeron con agua acidificada (HCl al $0,01\%$ v/v) y fueron pasadas por los cartuchos C18 previamente activados con 20 mL de metanol acidificado, seguido de 30 mL de agua acidificada. Los compuestos solubles en agua, incluyendo azúcares y ácidos, se eluyeron con 30 mL de agua acidificada y los compuestos fenólicos se recuperaron con 15 mL de metanol acidificado. Los extractos se emplearon para la cuantificación de contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante¹³.

Espectros Infrarrojo

Se tomaron los espectros infrarrojos en discos de KBr en un espectrofotómetro Shimadzu IR- Prestige 21 con transformada de Fourier y software IR-resolution versión 1.4.0, cubriendo el rango de 4000 a 4000 1/cm .

Determinación de la Actividad Antioxidante

Método del Cation Radical ABTS•+

El radical catión $\text{ABTS}\bullet+$ se generó químicamente a partir de una solución de la sal diamónica ABTS $7,4\text{ mmol/L}$ y persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) $2,6\text{ mmol/L}$. Los extractos o solución patrón (Ácido ascórbico y ácido gálico) se mezclaron con la solución de $\text{ABTS}\bullet+$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. La absorbancia fue medida pasados 5 minutos de reacción. Los resultados fueron expresados en mg de VEAC/100g y mg de VEAG/100g (actividad antioxidante equivalente a ácido ascórbico y ácido gálico, por sus siglas en inglés).

Análisis Estadístico

Los tratamientos fueron dispuestos en un Diseño Completamente al Azar (DCA) y la existencia de diferencias significativas entre los parámetros evaluados se analizaron considerando una distribución normal mediante el análisis de la varianza (ANOVA) con un α de $0,0514$.

Resultados y discusión

Caracterización fisicoquímica de chayota

La caracterización fisicoquímica de la pulpa de chayota se muestra en la Tabla 1. El agua es uno de los factores esenciales en las hortalizas y todos los tejidos vegetales, es un valor nutritivo de los alimentos, éste, diluye o concentra los nutrientes y otros componentes presentes en el alimento, sin embargo, la alta actividad acuosa provoca el ataque de microorganismos y descomposición rápida. Los alimentos con mayor contenido de agua, tienen mayor tasa respiratoria y actividad enzimática que reduce su vida de anaquel¹⁵. El contenido de humedad de la pulpa de chayota en esta investigación fue de $93,39 \pm 0,15\%$, similar al reportado por otros autores¹⁵ de $94,0 \pm 0,40\%$. Estudios recientes indican un contenido de humedad de $91,37 \pm 0,12\%$ ¹⁶. El contenido de cenizas totales, representa la cantidad de minerales en el alimento, en esta fracción se encuentran sales minerales, trazas de elementos y metales como: P, K, Na, Fe, Mg, Mn, Zn y Cu¹⁷. En la pulpa el contenido de cenizas fue de $0,31 \pm 0,003\text{ g/100 g}$, estos resultados son similares a los reportados por otros autores en un rango de $0,4\text{-}0,6\%$ ¹⁸. Estudios recientes señalaron un valor de cenizas de $3,66\%$ superior para esta investigación¹⁷. Este tipo de variación en esta investigación pudo deberse a las distintas condiciones climáticas y tipo de suelo.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica de la chayota

Parámetro	Promedio \pm DE (n = 5)
Humedad (%)	93,39 \pm 0,15
Cenizas (%)	0,31 \pm 0,003
Grasa (mg /100 g)	ND
Proteína (g /100 g)	0,63 \pm 0,012
Fibra (g /100 g)	0,82 \pm 0,02
Carbohidratos (g /100 g)	4,84
Aporte Calórico (Cal)	22,88

Valores promedios de un triplicado (Promedio \pm DE). ND: No detectable.

En esta investigación no se detectaron cantidades cuantificables de grasas en la pulpa del fruto, el cual difiere con lo reportado por otro estudio¹⁹ que señaló 0,32 g. Sin embargo, otros estudios¹⁷ reportan un contenido de grasas de 0,02%. Las diferencias observadas en esta investigación y las reportadas previamente, pueden atribuirse a las características específicas de la zona de cultivo.

El contenido de proteínas totales en la pulpa de *Sechium edule* Jacq. Sw. cv. "virens levis" fue de 0,63 g/100g similar al valor de 0,70 g/100g¹⁵ reportado en la literatura. Dentro de la composición proteica es importante considerar que este fruto presenta siete de los nueve aminoácidos esenciales (e.g. lisina, leucina, metionina, fenilalanina, valina, isoleucina e histidina)¹⁵.

El contenido de fibra en la pulpa de chayota fue de 0,82 g/100g. Se ha reportado valores en un rango de 0,4-1,0%²⁰, similar al obtenido en esta investigación, las partes comestibles de la chayota son bajas en fibras, proteínas y vitaminas. Otros estudios indican una composición proximal de 2,13% superior al adquirido en esta investigación. Además, indicaron la presencia de inulina (fibra soluble) en el fruto¹⁷.

El contenido de carbohidratos fue de 4,84 g/100g el cual es similar al valor de 4,80 g/100g reportado por otros autores^{5,20}.

Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Los estudios sobre las propiedades de captación de radicales libres de los flavonoides han permitido la caracterización de los principales componentes fenólicos de origen natural como antioxidantes²¹.

El contenido de compuestos en pulpa fue de 0,41 mg GAE/g (extractos sin purificación) y 0,23 mg GAE/g (extractos purificados) los cuales se encuentran los rangos de 0,15-2,06 mg GAE/g; 0,06-2,81mgGAE/g y 0,13-5 mg/g en una variedad no identificada de *S. edules*²², sin embargo resultaron inferiores a los rangos reportados para diversos vegetales y frutas cultivados en Taiwan entre los que señalan zanahoria 1,56 mg GAE/g y brócoli 2,9 mg GAE/g. El contenido de compuestos fenólicos en muestras de calabacín fue de 0,38 mg GAE/g similar al obtenido en este estudio²³. El empleo de diferentes métodos de extracción con los usados en esta investigación, así como el solvente de extracción pueden explicar las diferencias observadas en el contenido de compuestos fenólicos totales obtenidos y reportados. En el caso del solvente la capacidad de extracción está determinada por la afinidad entre el mismo y la naturaleza de los metabolitos presentes en el fruto, a mayor afinidad entre ambos la extracción se vuelve más eficiente.

Investigaciones reportaron la presencia de alcaloides no fenólicos, saponinas, esteroides y triterpenos, en frutos de *S. edule*, además de las actividades antiinflamatorias y cardiotónica del extracto metanólico, y de las fracciones etérea, clorofórmica y metanólica²⁴. El contenido de compuestos fenólicos totales es muestras de origen vegetal también puede verse afectado por la genética del fruto, factores ambientales, variedad del fruto, el método del cultivo, el estado de madurez, la época del cultivo, el clima y manejo poscosecha del fruto.

Separación de compuestos fenólicos

En la Tabla 2 se muestran los resultados del contenido de compuestos fenólicos totales en extractos purificados empleando microextracción en fase sólida con cartuchos C18 selectivos para el aislamiento de compuestos fenólicos en pulpa de frutos de chayota. Se puede observar que los valores obtenidos para el contenido de compuestos fenólicos totales purificados son menores (disminución de 45%) a los obtenidos en extractos no purificados, esto es debido la técnica permite la extracción selectiva de compuestos fenólicos, descartando azúcares, ácidos y otros componentes no fenólicos presentes. La microextracción en fase sólida (MEFS) se puede usar en combinación con otros sistemas de extracción, permite concentrar al analito de interés en la muestra aislándolo selectivamente de otros componentes presentes en la misma, de técnica se puede introducir selectividad en el proceso de extracción de fase sólida utilizando distintos absorbentes y variando la naturaleza del eluyente.²⁵

Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos totales purificados con cartuchos C18 para la pulpa de chayota (*Sechium edule*).

Contenido de fenoles totales purificados con C ₁₈ (mg GAE/100g)			
Hortaliza	Solvente	Condiciones de extracción	CV
		Relación masa: volumen 1:10	
Chayota	Metanol	23,10 ± 3,58	15,49 %

En la Figura 1 se muestra el espectro de absorción infrarrojo del extracto de pulpa de chayota (*Sechium edule*). La señal ancha intensa centrada en 3373,50 cm⁻¹ corresponde a la vibración de tensión O-H característica de compuestos fenólicos. Las vibraciones en 2926,01 y 2854,65 cm⁻¹ corresponden a estiramientos C-H tipo alifático. La señal en 1732,08 cm⁻¹ es característica de la vibración de tensión del grupo C=O. La poca intensidad observada indica la baja concentración de las especies químicas con este grupo funcional en su estructura. Las señales que se pueden observar a 1651,07 y 1637,56 cm⁻¹ corresponden a las vibraciones de tensión C=C aromáticas (vibraciones esqueléticas). Las vibraciones de flexión C-O-H se muestran a 1452,40 y 1384,89 cm⁻¹. Las bandas de 1145,72; 1099,43; 1078,21 y 1058,92 cm⁻¹ corresponden a las vibraciones de tensión C-O. Finalmente, el grupo de señales de pequeña intensidad entre 800-600 cm⁻¹ corresponden a las vibraciones de flexión C-H aromáticas fuera del plano. El tratamiento de este extracto empleando cartuchos C18 con metanol acidificado para concentrar los compuestos fenólicos presentes permitió obtener una fracción cuyo espectro infrarrojo se muestra en la Figura 2. La vibración de tensión O-H ancha y centrada 3404 cm⁻¹ es característica de los fenoles. Las señales en 2955; 2928 y 2857 cm⁻¹ que se atribuyen a las vibraciones de tensión C-H tipo alifático aparecen más definidas. La vibración de tensión C=O puede observarse más intensa y centrada en 1721 cm⁻¹ lo que indica que la fracción fenólica obtenida presenta un contenido significativo de especies químicas con este grupo funcional en su estructura. Se mantienen las señales correspondientes a las vibraciones de tensión C=C aromáticas en 1665 y 1640 cm⁻¹, las vibraciones de flexión C-O-H en 1402 y 1385 cm⁻¹, así como las correspondientes a las vibraciones de tensión C-O en 1200; 1123, 1068 cm⁻¹. Por último, el grupo de señales de pequeña intensidad entre 800-600 cm⁻¹ corresponden a las vibraciones de flexión C-H aromáticas fuera del plano. Estos resultados evidencian la existencia de compuestos de fenólicos en el extracto de pulpa de chayota. Almeida y col., 31 evaluaron residuos vegetales en chayota como un

coagulante para el tratamiento de aguas residuales textiles, en las que se identificaron varias bandas de absorción características, las cuales fueron similares a las indicadas en esta investigación, como las vibraciones de estiramiento para el grupo -OH en 3400 cm⁻¹, estiramiento C-H en 2900 cm⁻¹, y la banda C-O en 1000 cm⁻¹ característica de compuestos fenólicos.

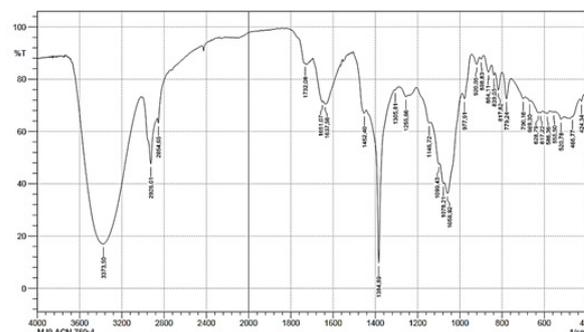


Figura 1. Espectro IR del extracto de pulpa de chayota (*Sechium edule*) sin purificación.

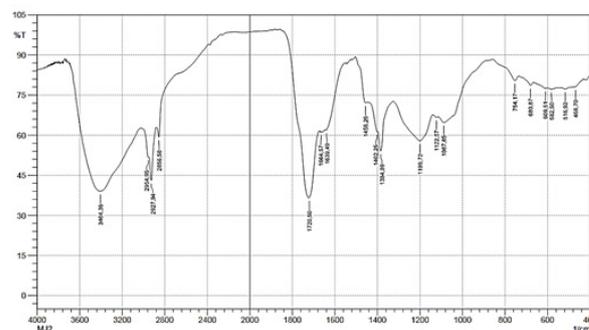


Figura 2. Espectro IR del extracto de pulpa de *Sechium edule* purificado con C18.

Actividad antioxidante

Los resultados de la actividad antioxidante por el método ABTS empleando como patrones el ácido ascórbico y ácido gálico se muestran en la Tabla 3. La chayota presentó una actividad antioxidante (mg de ácido ascórbico/100g) de 14,57 ± 1,22 y 8,07 ± 0,20 para extractos purificados y no purificados respectivamente, estos valores son inferiores a los reportados por Chaparro y col., (34) en frutos de curuba (*Passiflora mollisima*) quienes indican un valor de 3574,09 ± 4,46 mg de ácido ascórbico/100g de fruto. La actividad antioxidante empleando ácido gálico como patrón de referencia en los extractos sin purificación fue igual a 27,63 ± 2,52 mg de ácido gálico/100g y 14,81 ± 0,74 mg de ácido gálico/100g para extractos purificados, estos valores no pueden ser comparados con los reportados en la

literatura ya que en su mayoría los resultados son expresados en unidades de TROLOX / masa, un análogo sintético de la vitamina E, sin embargo se considera que dado que el patrón de ácido gálico es más accesible este puede ser una referencia para próximas investigaciones.

Finalmente es importante señalar que Los factores ambientales tales como la condición climática de crecimiento, etapa de maduración, la temperatura, la duración del almacenamiento y el tratamiento térmico pueden influir en la actividad antioxidante de los productos vegetales (35).

Tabla 3. Actividad antioxidante en la pulpa de *Sechium edule var. Virens levis*.

Actividad Antioxidante								
Método ABTS								
Muestra	(mg VEAC/100 g)				(mg VEAG/100 g)			
Chayota	ESP	CV	EP C ₁₈	CV	ESP	CV	EP C ₁₈	CV
	14,57 ±	8,37 %	8,07 ±	2,47 %	27,63 ±	9,12 %	14,81 ±	4,99 %
	1,22		0,20		2,52		0,74	

ESP: extractos sin purificación; EP: Extractos purificados

Los resultados del contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante mostraron una correlación positiva y alta con la actividad antioxidante (R^2 : 0,0041 y 0,6738 respectivamente para el método ABTS, lo que sugiere que los compuestos fenólicos tienen una importante contribución en la actividad antioxidante de los extractos analizados en esta investigación. Diversas investigaciones han reportado una relación directa entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante 2,31,32, mientras que otros autores no reportan ninguna relación entre ambos parámetros33.

Conclusiones

Los resultados del contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante mostraron una correlación positiva y alta con la actividad antioxidante (R^2 : 0,0041 y 0,6738) respectivamente para el método ABTS, lo que sugiere que los compuestos fenólicos tienen una importante contribución en la actividad antioxidante de los extractos analizados en esta investigación.

Referencias bibliográficas

1. GEORGIADOU, E., GOULAS, V., MAJAK, I., IOANNOU, A., LESZCZNSKA, J., FOTOPOULOS, V. **BIOTECHNOLOGY AND FOOD SCIENCE**, 3-14. 2018.
2. Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, A., Manciani, J., Fett, F. **Ciencia y tecnología alimentaria**. 25, 4, 726-732. 2005.
3. García, I., López, J., Betancur, D. **Universidad Tecnológica de la Mixteca**, pp. 10-16. 2003
4. Quiñones, M., Miguel, M., Aleixandre, A. **Nutrición hospitalaria**. 76-89. 2011.
5. Gamboa, W. **1era Edición, San José. Universidad de Costa Rica**. 7-10, 12, 38. 2005.
6. Peña, M., Sosa, M., Cerón, A. **Jóvenes en la ciencia, revista de divulgación científica**, 101-106. 2017.
7. COVENIN. Norma Venezolana 1769. Frutas. Ministerio de fomento. Caracas, Venezuela. Pp. 1-12. 1981.
8. A.O.A.C. 13 th., Washington, D.C., 19.078, 19.079, 19.080. 2000.
9. A.O.A.C. 13 th., Washington, D.C., Estados Unidos de America Association of Official Analytical Chemists, pp 125-13. 1980.
10. Araya, H., Clavijo, C., Herrera C. **ALAN**, 56, 4, 361-365. 2006.
11. Halvorsen, B., Blomhoff, R. **Food Chem**, 115, 785- 788. 2011.
12. Marinova, D., Ribarva F., Atanassova M. **J. Chem Technol. Metallurgy**, 40, 3. 255- 260. 2005.
13. Cevallos- Casals, B., Cisneros- Zevallos, L. **Food Chem**, 51, 3313-3319. 2003.
14. Montgomery, D. Diseño y análisis de experimentos. 2da Edición. Distrito Federal, México.; Limusa Wiley. 589. 2004.
15. Avendaño, C., Iñiguez, J., Arévalo, M., Rojas, E., Solano, V., Medina, J. **Grupo Interdisciplinario de Investigación en Sechium Edule en México**. pp 1-88. 2010.
16. Mejía-Doria, C., Duque-Cifuentes, A., García-Alzate, L., Giraldo-Castaño, Y., Padilla-Sanabria, L. **Agronomía Colombiana**, 34. 1211-1214. 2016.
17. Moreira, R. **Universidad Técnica de Ambato**. 1-90. 2018.

18. Rodríguez, C., Díaz, T., Galdón, R., Molina, P., Rodríguez-Rodríguez, E., Romero, C. **ALAN**, 168-179. 2015.
19. Yurivilca, C. Universidad Nacional Agraria de la Selva Tingo María. Facultad de Industrias Alimentarias, para optar al título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. **Tingo María-Perú**. 1-130. 2002.
20. Lira, R. **International Plant Genetic Resources Institute**, 7-10, 19-28. 1996.
21. Rice-Evans, C., Miller, N., Paganga, G. **Elsevier**, 152-159. 1997.
22. Riviello-Flores, M., Arévalo-Galarza, L., Cadena-Iñiguez, J., Soto-Hernández, R., Ruiz-Posadas, L., Gómez-Merino, F. **Beverages**. 4, 37. 2018.
23. Huang, H., Chang, Ch., Tso, T., Huang, J., Chang, W., Tsai, Y. **Food Sci and nutr**, 423-429. 2004.
24. FRÍAS, J., RAMIREZ, G., DE LA PAZ C., PACHECO, C., ACOSTA Y. **Medisur**. 14:6. 2016.
25. Peña, A. Universidad politécnica de Valencia. 1-67. 2011.
26. De Corta Hernáez, J. Universidad de la Rioja. 1-94. 2013.
27. Chao, Y., Lin, Y., Lin, K., Liu, Y., Hsu, J., Yang, Ch., Lai, J. **Nutrients**, 2115-2130. 2014.
28. Loizzo, M., Bonesi, M., Menichini, F., Tenuta, M., Leporini, M., Tundis, R. **Plant food**, 1-7. 2016.
29. Koehnlein, E., Bracht, A., Nishida, V., Peralta, R. **Food Nutr Surveys**, 293-298. 2013.
30. Yang, R., Tsou, S., Lee, T., Wu, W., Hanson, P., Kuo, G., Engle, L., Lai, P. **J Sci. food Agric.**, 2395-2403. 2006.
31. Almeida, C., De Souza, M.T., Freitas, T.K., Ambrósio, E., Geraldino, H.C., García, J.C. **Int. J. Energ. Water Resour**, 37-46. 2016.
32. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Cevalloz, L., Hawkings, B., **J. Food Comp Anal.**, 1, 3, 669-675. 2006.
33. Ismail, A., Marjan, M., Z., Foong, W. Chin. **Food Chem**, 581-586. 2004.
34. Chaparro-Rojas, D; Maldonado, M; Franco-Londoño, M; Urango-Marchena, L. **Perspect Nutr Humana**, 6, 203-212. 2005.
35. Prior, R.; Wu, X.; Schaich, K. **J Agr Food Chem**, 53, 4290-4302. 2005.



Autoridades Universitarias Universidad del Zulia

Jorge Palencia

Rector

Judith Aular de Durán

Vicerrectora Académica

María Artigas

Vicerrectora Administrativa

Marlene Primera

Secretaria

Gilberto Vizcaíno

Coordinador-Secretario - CONDES

Merlin Rosales

Decano - Facultad Experimental de Ciencias

CONDES

Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico



Vicerrectorado Académico
Universidad del Zulia (LUZ)
República Bolivariana de Venezuela

CONDES

Aliado firme del investigador

OBJETIVOS DE DESARROLLO

- Consolidar una plataforma de investigación en LUZ que ofrezca al país y a la comunidad científica avances y resultados de investigación científica innovadores y comprometidos con el entorno social.
- Generar y desarrollar conocimiento competitivo y de alto valor social.
- Formar profesionales capaces de generar soluciones alternativas e innovadoras a los problemas del contexto venezolano y mundial a partir de una investigación científica rigurosa y exigente.
- Difundir los resultados y avances de la investigación científica que se cumple en LUZ a través de diversas estrategias (publicaciones, eventos científicos, intercambios, ruedas de negociación, etc.)
- Lograr que todos los docentes a dedicación exclusiva y a tiempo completo de LUZ participen activamente en actividades de investigación.
- Generar vínculos y alianzas entre las unidades y grupos de investigación de LUZ y sus homólogos en las otras universidades y centros de producción de conocimiento de Venezuela y el mundo.
- Intercambiar la investigación científica y el posgrado en LUZ.

ESTRUCTURA ORGANIZACIONAL

Comisiones CONDES

Para llevar a cabo sus funciones, el CONDES cuenta con la Comisión de Desarrollo Científico y la Comisión de Estudios Humanísticos y Socia-

les, las cuales están conformadas por un delegado representante de cada Facultad y un delegado representante del Consejo Universitario.

Coordinación Secretaría

La Coordinación Secretaría preside ambas comisiones, las cuales forman un equipo y cumplen con las actividades planteadas para la aprobación y ejecución de cada uno de los programas de apoyo que este organismo financia, además de fijar lineamientos de políticas de investigación para el desarrollo y fomento de dichas actividades.

Departamento de Planificación, Gestión y Control

Se encarga de:

1. Planificar y gestionar adecuada y oportunamente las solicitudes de financiamiento de programas del CONDES, a fin de verificar el cumplimiento de los aspectos de carácter académico, así como la distribución presupuestaria de los recursos solicitados, previo a la evaluación de las Comisiones Técnicas del CONDES.
2. Asesorar de forma acertada a los delegados de las Comisiones y a la comunidad científica intra y extrauniversitaria respecto a los trámites y políticas del CONDES para el otorgamiento de subvenciones así como de brindar información sobre las decisiones tomadas.

Este Departamento cuenta con el apoyo de la Sección Evaluación de Proyectos el cual tiene bajo su responsabilidad la evaluación académico-administrativa de los diferentes programas que financian el CONDES.

Departamento de Administración

Tiene a su cargo planificar y ejecutar los desembolsos financieros, para lograr la entrega oportuna de los requerimientos contemplados en los partidas e ejecutar por el investigador, cuenta con el apoyo de la Sección de Compras.

Sección de Compras:

Verifica, procesa y garantiza la adquisición de equipos y materiales de apoyo a la investigación.

Departamento de Divulgación y Relaciones Públicas

Es el responsable de:

1. Difundir los resultados de las investigaciones financiadas por el CONDES.
2. Organizar, coordinar y supervisar los eventos institucionales del CONDES.
3. Diagramar los diseños de divulgación relativos a la actividad científica generada en luz a fin de mantener informada a la comunidad universitaria.
4. Difundir información sobre políticas de investigación CONDES y de otros organismos promotores de la actividad científica a nivel nacional e internacional.

Departamento de Informática

Responde del Sistema Automatizado de Información sobre la Investigación en LUZ (SAINVELUZ) y de la presentación y actualización del sitio web: www.condesluz.org.ve. Asimismo, se encarga de velar por el funcionamiento de los equipos de computación utilizados en los departamentos del CONDES y de proveer a todos los usuarios de herramientas tecnológicas para el cumplimiento de sus funciones. Además de brindar asistencia necesaria a los usuarios del CONDES como a los investigadores, en términos de manejo y aplicación de software y hardware.

Departamento de Archivo

Clasifica, codifica y silencia toda la documentación que se recibe y se genera en el CONDES, a fin de poder suministrar la información solicitada por las Comisiones, el personal administrativo y la comunidad científica en general.

FINANCIAMIENTOS

Programas y Proyectos de Investigación:

Contribuye con el desarrollo de la investigación científica y humanística a través del financiamiento de los programas y proyectos de los miembros del personal Docente y de Investigación en LUZ.

Asistencia a Eventos Nacionales e Internacionales:

Promueve y apoya a la comunidad científica de investigadores a participar en diferentes eventos nacionales e internacionales con el fin de enriquecer la formación académica a través del intercambio entre pares integrados.

Organización de Eventos Científicos:

Este financiamiento es asignado a las diferentes facultades, siempre y cuando los mismos, estén enmarcados en el desarrollo de las actividades de investigación.

Publicaciones de Revistas Arbitradas:

Para cumplir sus funciones de divulgación científica, el CONDES asigna fondos para la edición de revistas arbitradas, siempre y cuando cumplan con la rigurosidad científica exigida a nivel nacional e internacional.

Apoyo a la Investigación Científica Estudiantil:

El CONDES estimula y asesora la conformación de sociedades científicas estudiantiles. Financia la participación de estudiantes de pregrado en los programas/proyectos en condición de colaboradores y subvenciona la asistencia de los mismos a eventos científicos nacionales.

DIRECCIÓN:

Av. 4 de Julio Vista con Calle 74, Edificio FUNDA LUZ,
Piso 10 y 1. Maracaybo, Estado Zulia. Venezuela.
Código Postal: 4002. Tel. fax: (0261) 4126860,
7926307, 7926308.

E-mail: condes@luz.ve WebSite:
www.condesluz.org.ve





UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

CIENCIA

Vol.26 N°1, 2

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada
en junio de 2018, por el Fondo Editorial Serbiluz,
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve

CIENCIA

Revista Científica de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia
Vol. 26 Número Especial 1, 2, Enero - Junio 2018

Pg.

BIOLOGÍA/BIOLOGY

Caracterización de fagos líticos-específicos de *Pseudomonas aeruginosa* con un amplio espectro infectivo

Characterization of lytic-specific phages of *Pseudomonas aeruginosa* with a broad infective spectrum 5

Lenín González-P, Carla Lossada, Gabriela Galué-Durán, Irene Zabala, Aleivi Pérez, Ysaías Alvarado
Maracaibo (Venezuela)

CIENCIAS DE LA COMPUTACIÓN/COMPUTER SCIENCES

SITUALIZ: Software para la simulación de planes situacionales

SITUALIZ: Situational planning simulation software 15

Noelia Cegarra Ospino, Gerardo Pirela Morillo
Maracaibo (Venezuela)

QUÍMICA/CHEMISTRY

Estudio químico preliminar de los frutos secos de *Sterculia apetala* Druce

Preliminary chemical study of dry fruits of *Sterculia apetala* Druce 23

Néstor Peña, Yimi Dulcey, Nilibeth Becerra, José Ortega
Maracaibo (Venezuela)

Effect of Sn addition in alumina- and silica-supported palladium catalysts for n-butane dehydrogenation

Efecto de la adición de estaño en catalizadores de paladio soportados sobre alúmina y sílice para la deshidrogenación de n-butano 28

Jonathan E. Mendez, Douglas R. Rodríguez, Jorge L. Sánchez, Geomar J. Arteaga
Maracaibo (Venezuela)

Capacidad de remoción de H₂S de óxidos de níquel y cobre soportados sobre sílice mesoporosa

H₂S removal capacity of supported nickel and copper oxides on mesoporous silica 42

Sinahi Morillo, Roselin Briceño, Santiago Valbuena, Roger Solano, Gema González, Alexander Moronta, Douglas Rodríguez y Eduardo González.
Maracaibo (Venezuela), Caracas (Venezuela), Medellín (Colombia)

Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en chayota (*Sechium edule* Jacq. Sw. cv. "virens levis")

Total phenolic compounds and antioxidant activity in chayotas (*Sechium edule* Jacq., variety *Virens levis*) 48

Viluzca Chiquinquirá Fernández Palmar, María José Rivas Bravo, Kairelys Beatriz Bencomo Santamaria, Laura Rolybags Soto Arrieta
Maracaibo (Venezuela)