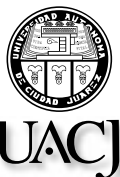


# **Ciencia en la frontera**

Revista de ciencia y tecnología de la UACJ



*Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez*

#### DIRECTORIO

**Felipe Fornelli Lafón**  
*Rector*

**Héctor Reyes Leal**  
*Secretario General*

**Javier Llera Pacheco**  
*Director General de Investigación Científica*

**Ernesto Morán García**  
*Director del ICB*

**Eduardo Pérez-Eguía**  
*Coordinador de Investigación del ICB*

#### CONSEJO EDITORIAL

Emilio Alvarez Parrilla  
Leonel Barraza Pacheco  
Alejandro Donohue Cornejo  
Esaúl Jaramillo  
Alejandro Martínez  
Francisco Molinar Holguín  
Roberto de J. Mendoza de E.  
Antonio de la Mora  
Helvia Pelayo Benavides  
Luis Fernando Plenge  
Joaquín Rodrigo García  
Laura de la Rosa  
Hugo Staines Orozco

#### DIRECTOR

Luis Fernando Plenge

#### CORRECCIÓN

Mayola Renova González

#### FORMATO

Raúl Betances Sáenz

## CONSEJO EDITORIAL INTERNACIONAL

#### Alvaro Alvarez Parrilla

Fac. Ciencias, Matemáticas, UABC,  
Ensenada, B. C.

#### Francisco Fernández Belda

Depto. de Bioquímica y  
Biología Molecular (A), Universidad  
de Murcia, Murcia, España.

#### Alex Frago Sierra

Fac. de Química. Universidad  
de La Habana, Cuba.

#### Jorge Gardea Torresdey

Chemistry, UTEP, El Paso, Texas.

#### Armando Gómez Puyou

Investigador Emérito. Instituto de  
Fisiología Celular, Depto. Bioquímica,  
UNAM. México, D. F.

#### Gustavo González

Tecnología de Alimentos de  
Origen Vegetal, CIAD  
Hermosillo, Sonora, México.

#### Louis Irwin

Biological Science, UTEP, El Paso, Texas.

#### José Luis Ochoa

CIBNOR, La Paz, B.C.S.

#### Esther Orozco

CINVESTAV, México, D. F.  
Biomedicina Molecular.

#### María Jesús Periago

Depto. de Bromatología e Inspección de Alimen-  
tos, Universidad de Murcia, Murcia, España.

#### Gaspar Ros Berruezo

Depto. de Bromatología e Inspección  
de Alimentos, Universidad de Murcia,  
Murcia, España.

#### Rocío Salceda Sacanelles

Instituto de Fisiología Celular, Depto.  
Neurociencias, UNAM, México, D. F.

#### Fernando Soler

Depto. de Bioquímica y Biología  
Molecular (A), Universidad de  
Murcia, Murcia, España.

#### Marieta Tuena de Gómez Puyou

Investigadora Emérita. Instituto de Fisiología  
Celular, Depto. Bioquímica, UNAM.  
México, D. F.

#### José Vázquez Tato

Fac. de Ciencias, Depto. de  
Química Física. Universidad de  
Santiago de Compostela,  
España.

#### Ricardo Tapia Ibarguengoytia

Neurociencias  
IFC-UNAM

#### Herminia Pasantes

Neurociencias  
IFC-UNAM

#### Thomas Kretzschmar Steinle

Área de Geofísica  
CICESE en Ensenada  
Baja California, México

Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ/ Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Dirección General de Investigación Científica. Vol. III, núm. 1 (mar 2005). Ciudad Juárez, Chih.: UACJ, 2003.  
v. ; 21 cm.

Seriada

1. Ciencias Puras – Publicaciones Periódicas
2. Ciencias Aplicadas – Publicaciones Periódicas
3. Ingeniería – Publicaciones Periódicas

Q4.R48 1999

505.R48 1999

Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ es una publicación seriada del Instituto de Ciencias Biomédicas a través de la Dirección General de Investigación Científica de la UACJ, vol. 3, núm. 2, marzo de 2005, precio por ejemplar: \$50.00 pesos en México y \$10.00 dólares al extranjero (incluye gastos de envío). Publicidad, anuncios y suscripciones, dirigirse a: Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, Heroico Colegio Militar 3775, 32310 Ciudad Juárez, Chihuahua, México. Tel. (656) 688 18 85, fax (656) 688 18 83. Hecho en México/Printed in Mexico. Copyright © UACJ

Los manuscritos propuestos para publicación en esta revista deberán ser inéditos y no haber sido sometidos a consideración a otras revistas simultáneamente. Al enviar los manuscritos y ser aceptados para su publicación, los autores quedan que todos los derechos se transfieren a Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, quien se reserva los de reproducción y distribución, ya sean fotográficos, en micropelícula, electrónicos o cualquier otro medio, y no podrán ser utilizados□

Permisos para otros usos: el propietario de los derechos no permite utilizar copias para distribución en general, promociones, la creación de nuevos trabajos o reventa. Para estos propósitos, dirigirse a Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, correo electrónico fplenge@uacj.mx.

## CONTENIDO

Resúmenes/ <i>Abstracts</i> .....	5
<b>Presentación</b>	
Emilio Álvarez Parrilla .....	9
<b><i>Influencia de los parámetros fisicoquímicos en la distribución de los principales grupos fitoplanctónicos en las costas del estado de Colima durante el 2002</i></b>	
Aramis Olivos Ortiz; Sonia I. Quijano Scheggia; Geraldine García Uribe; Marco A. Galicia Pérez; Juan H. Gaviño Rodríguez .....	13
<b><i>Aspectos ecológicos y diversidad de hongos ectomicorrízicos en bosque de pino y encino de 5 localidades del Municipio de Bocoyna, Chihuahua</i></b>	
Miroslava Quiñónez-Martínez, Fortunato Garza Ocañas y Mariana Vargas Medrano.....	29
<b><i>Funciones de la enzima 5'-nucleotidasa (5'-NT) en la naturaleza (Revisión)</i></b>	
Ángel Gabriel Díaz Sánchez, Jesús Ángel Araujo-González, José R. Peralta-Videa, Jorge L. Gardea-Torresdey y Alejandro Martínez-Martínez.....	39
<b><i>Reducción de deterioro en frutos de mango, durazno y nectarina utilizando irradiación ultravioleta (UV-C)</i></b>	
G. A. González-Aguilar, J. F. Ayala-Zavala, J. Rivera-López, R. Zavaleta-Gatica, M. A. Villegas-Ochoa y W. Tejedor Espinoza .....	49
<b><i>Aplicaciones no biomédicas de la MRI: evaluación del transporte de agua en alimentos</i></b>	
Pedro Ramos Cabrer, John P. M. Van Duynhoven, Gerard van Dalen y Klaas Nicolay.....	59
<b><i>Propiedades de reconocimiento molecular de ciclodextrinas inmovilizadas en soportes sólidos</i></b>	
Alex Frago, Roberto Cao y Eduardo Almirall.....	67
<b><i>The improved bioavailability of cyclodextrin complexed drug is a disadvantage for their approval</i></b>	
József Szejtli.....	75
<b><i>Mecanismo de reacción para la reducción de óxidos de nitrógeno usando arcillas y amonía</i></b>	
Alba Yadira Corral-Avitia y Antonio S. Lara.....	87
<b><i>Autómatas: modelo matemático para sistemas complejos</i></b>	
Alvaro Álvarez Parrilla .....	93
<b><i>Revisión de un programa Internacional de Sismología Estelar</i></b>	
Manuel Álvarez Pérez-Duarte.....	107



## C O N T E N T S

**Presentation**

Emilio Álvarez Parrilla ..... 9

***Influence of physicochemical parameters on the distribution of the main phytoplankton groups off the coasts of the state of Colima on the year 2002***

Aramis Olivos Ortiz; Sonia I. Quijano Scheggia; Geraldine García Uribe; Marco A. Galicia Pérez and Juan H. Gaviño Rodríguez ..... 13

Four oceanographic campaigns were carried out off the coast of Colima, during spring, summer, autumn and winter of 2002. Diatoms were the main phytoplankton group during autumn, winter and spring, while dinoflagellates were dominant during summer. *Coscinodiscus granii* Gough showed marked temperature dependence between 22 and 25°C, in both ocean and coast transects. Circulation patterns, usually southbound, showed seasonal variations which caused net transport towards open sea on summer and winter, and towards the coastline on spring and autumn. Maximal velocities, as high as 0.6 m seg-1, were reached on spring. The concentration of nutrients was little affected by continental discharges, but depended mainly on the fertilization mechanisms of the circulation dynamics on the study zone. Nutrients reached maximal concentrations near the thermocline which was found approximately at 35 m of depth during the entire year.

***Ecological aspects and diversity of ectomycorrhizal fungi found in 5 locations of the municipality of Bocoyna, Chihuahua***

Miroslava Quiñónez-Martínez, Fortunato Garza Ocañas and Mariana Vargas Medrano... 29

A register is presented which comprises 52 species of mushrooms that form ectomycorrhizal associations with some arboreal species. Samples were taken from 40 transects traced in the locations of: Bocoyna, Gumeachi, Choguita, San Juanito and Arareco, covering a 100 ha area. The species *Laccaria laccata* showed the maximal abundance in most of the sampling sites. The highest diversity index was found in the location of Choguita, having 22 different species belonging mainly to the genus *Amanita*, *Boletus*, *Russula* and *Laccaria*, in association with species of *Pinus*, *Quercus*, *Arbutus arizonica* and *Arctotaphylus pungens*.

***Role of the enzyme 5'-nucleotidase in nature***

Ángel Gabriel Díaz Sánchez, Jesús Ángel Araujo-González, José R. Peralta-Videa, Jorge L. Gardea-Torresdey and Alejandro Martínez-Martínez ..... 39

The enzyme 5'-nucleotidase (5'-NT) is an ubiquitous protein present in organisms such as bacteria and humans. As enzyme, it hydrolyzes phosphate esters present in complex nucleotides such as AMP, IMP, UDP-glucose, FAD and NAD. In addition to its catalytic role, in higher organisms (plants and animals), the enzyme 5'-NT operates as extracellular adhesion protein and as a differentiation marker for lymphocyte differentiation (CD 73).

***UV-C irradiation reduces breakdown and chilling injury of mangoes, peaches and nectarines***

G. A. González-Aguilar, J. F. Ayala-Zavala, J. Rivera-López,  
R. Zavaleta-Gatica, M. A. Villegas-Ochoa and W. Tejedor Espinoza ..... 49

The effect of Different ultraviolet irradiation treatments (UV-C, 254 nm) on quality was evaluated on mango (10 and 20 minutes), peaches (3, 5, 10, 15 and 20 minutes) and nectarine (1 and 3 minutes). Deterioration index, chilling injury, weight and firmness loss, browning and polyamine content were studied after storage under different conditions, depending on the fruit (14 days at 20°C for mango and 14 days at 5°C plus 7 days at 20°C for peach and nectarine). UV-C treatments maintained the quality of the fruit, the best experimental conditions were irradiation for 10 minutes for mangos, 5 minutes for peaches and 1 and 3 minutes for nectarines. UV-C treatments increased the polyamine concentration on mangos and peaches which was correlated with the tolerance induced by treatment. We conclude that UV-C irradiation could be used to control deterioration of mango, peach and nectarine tissues.

***Non-biomedical applications of mri: assessment of water transport in food***

Pedro Ramos Cabrer, John P. M. Van Duynhoven, Gerard van  
Dalen and Klaas Nicolay ..... 59

Production of multi-component foodstuffs is a major challenge for modern food industry. Differences in water content and activity among different components on these products inevitably lead to water (re)distribution phenomena, which moreover lead to deterioration of quality during shelf life. Therefore, it is imperative to study water transport processes in multi-component food materials, by means of non-invasive methodologies, in order to design effective water migration control technologies. In this work we report a novel MRI based method to characterize water transport in multi-component food products (e.g. snacks). In particular the detection of components with low molecular mobility requires state of the art solid-state MRI techniques. We have successfully applied this methodology to quantify water transport among different elements of sandwiches with adequate temporal and spatial resolution.

***Molecular recognition properties of cyclodextrins immobilized on solid supports***

Alex Frago, Roberto Cao and Eduardo Almirall ..... 67

The different strategies for the immobilization of cyclodextrins on solid supports are reviewed, making special emphasis in the systems formed by the chemisorption of sulfur-containing cyclodextrins on metallic surfaces. Some of the most recent analytical applications of these systems are also presented.

***The improved bioavailability of cyclodextrin complexed drug is a disadvantage for their approval***

József Szejtli, Cyclolab ..... 75

Taking into consideration the numerous advantages of the cyclodextrin (CD) complexation of drugs, it is not evident why are not approved and marketed many more long known (generic) drugs in CD-complexed form. The price and approval status of the CDs is not any more a serious restricting factor for their use. The crucial problem is, that for approval of any new formulation of a known (generic) drug a bioequivalence test has to be performed. A CD-formulated drug is practically never bioequivalent with the reference product (the old, earlier approved formulation), but significantly better, results in improved solubility, faster and more complete absorption, in enhanced biological activity, etc. The average increase of AUC values (Area Under Curve of drug blood level versus time) of 35 drugs in different species (human, rat, rabbit, dog, pig) is  $1,81 \pm 0,53$  fold the average increase in  $c_{max}$  (peak concentration of the drug blood level) of 26 drugs is  $1,71 \pm 0,47$  fold, attained in an 0,55 fold shorter time ( $T_{max}$ ) after oral administration of the drug/CD complex as compared with the plain drug, or its classical formulation. The CD-formulated drug will not be a simple generic but a “super generic”\* drug.

***Reaction mechanism for the reduction of nitrogen oxides using clay and ammonia***

Alba Yadira Corral-Avitia, and Antonio S. Lara ..... 87

Copper modified Bentonite and Arizona clays have shown potential for the selective catalytic reduction of nitrogen oxide (NO<sub>x</sub>) with ammonia (NH<sub>3</sub>). The objective of this project was to characterize the clays to determine the NO/NH<sub>3</sub> reaction mechanism. These clays were characterized using surface area analyzer, AAS, XRD, ESR, TGA, IR, GC and catalytic activity measurements. These data suggest the Langmuir-Hinshelwood mechanism. The copper Lewis acid sites on the catalyst adsorb NH<sub>3</sub>. NO<sub>x</sub> is adsorbed on sites that are adjacent to NH<sub>3</sub>. This arrangement on the clay surface provides the necessary orbital symmetry that allows the reaction between the two molecules to form nitrogen. CuO enhance the catalytic activity; however, there is an optimum amount of copper loading. All these data suggests that CuO, the clay structure and the charge density are important in this reaction.

***Automata: Mathematical model for complex systems***

Álvaro Álvarez Parrilla ..... 93

In this work we first explain for a general audience the concept of an automaton. In order to do this we start with a description of an automaton and then we briefly describe the historical context, continuing with some basic theory. We proceed to present some simple examples and generalize the concept to include diffusion limited aggregation as an example of a molecular automaton. As a last example we propose a modified model to explain the growth of cyclodextrin trimers using automata over a triangular lattice. We present the results obtained so far with this model.

***STEPHI -- Stellar Photometry International  
(An Internacional Stellar Seismology Program Review)***

Manuel Álvarez Pérez-Duarte..... 107

In our present work, we show the advances we have achieved with the STEPHI-FOTESI program we started more than fifteen years ago, to observe a selected group of variable stars of the  $\delta$ -Scuti type. This is an international program with French, Spanish, Chinese and Mexican Astronomers. We have measured several oscillation frequencies with small amplitudes that are characteristics of most of these stars. Our results are of the utmost importance in this field of research. We have been the pioneers on this research and our work is one of the most complete and representative of the Stellar Seismology.



# Presentación

Este nuevo número de *Ciencia en la frontera* continúa con la idea inicial de la revista, es decir, dar a conocer a los alumnos y docentes del Instituto de Ciencias Biomédicas, así como al resto de la Comunidad Universitaria, las investigaciones que se hacen tanto en nuestro instituto como en otras instituciones a nivel nacional e internacional, con la finalidad de ampliar el panorama de la investigación que se desarrolla en las diferentes áreas de las ciencias naturales y exactas.

Este número queremos dedicarlo a Jorge Gardea-Torresdey, miembro del Comité Editorial Internacional de esta revista y gran colaborador en la revisión y coordinación de los volúmenes anteriores de la misma. Es un honor felicitar al doctor Gardea-Torresdey por recibir el prestigioso premio Benedetti-Pichler 2004, por sus significativas aportaciones al área de la microquímica.

Gardea-Torresdey trabaja entre otras líneas, en el desarrollo de biofiltros para eliminar metales pesados de disoluciones acuosas, esto lo hace mediante el uso de plantas capaces de bioacumular dichos metales pesados (fitorremediación), otra de sus aportaciones al ámbito de la química es la aplicación de biomasa en la producción de nanopartículas.

Gardea-Torresdey colabora con los doctores Helvia Pelayo Benavides y Alejandro Martínez Martínez, docentes de este instituto, en un proyecto que pretende identificar plantas capaces de eliminar las altas concentraciones de metales pesados del cauce del Río Bravo en la zona Paso del Norte.

Siendo químico, podría decir que este nuevo número de la *Revista Ciencia en la frontera* abarca un área bastante amplia del espectro de radiación electromagnética, ya que en él se incluyen artículos de temas tan diversos, que van desde la biodiversidad de hongos, hasta la fotometría estelar. Esta amplitud en los temas de los artículos podría enriquecer la visión del lector en los diversos campos de la investigación en las áreas naturales y exactas.

Siguiendo con la analogía del espectro de radiación electromagnética, se ha intentado darle un orden a los artículos según la rama de las

ciencias naturales y exactas en la cual se encuentra enmarcado dicho escrito. Así, los artículos del inicio abarcan temas de áreas biológicas, el primero de ellos estudia el efecto de los parámetros fisicoquímicos en la distribución de fitoplancton en las costas de Colima durante las cuatro estaciones del año 2002, observando que la modificación de los parámetros fisicoquímicos determinan la prevalencia de diferentes especies fitoplanctónicas. A continuación se presenta un artículo que estudia la distribución y diversidad de hongos que viven en asociación con diversos tipos de árboles (ectomicorrízicos) en la sierra tarahumara. El siguiente artículo es una revisión de la actividad de la enzima 5' nucleotidasa tanto en microorganismos como organismos superiores, prestando especial atención a sus diferentes funciones.

En el espectro de radiación, se incluyen dos artículos que abordan temas sobre conservación de alimentos. El primero estudia el efecto de la radiación ultravioleta en la conservación de diferentes frutos, midiendo para ello diversos parámetros de calidad como son oscurecimiento de la piel y pulpa, pérdida de peso y daño por frío. El segundo artículo estudia el transporte de agua en productos alimenticios multicomponentes mediante resonancia magnético-nuclear de imagen (técnica normalmente utilizada con fines médicos) como alternativa para estudiar la vida útil de los alimentos, así como su deterioro.

En el centro del espectro tenemos dos artículos sobre la química de las ciclodextrinas, carbohidratos cíclicos de interés tecnológico. El primero de ellos habla sobre las estrategias de síntesis existentes para inmovilizar las ciclodextrinas en soportes sólidos, haciendo hincapié en las posibles aplicaciones analíticas de dichos derivados de ciclodextrinas como electrodos específicos. El segundo, escrito por el doctor József Szejtli, uno de los pioneros a nivel mundial de las aplicaciones de estas moléculas, es una revisión de las ventajas e inconvenientes de utilizar ciclodextrinas en la formulación de medicamentos. Dentro de este grupo también se puede incluir un artículo sobre el uso de arcillas y amoniaco como catalizadores en la reducción de óxidos de nitrógeno, que constituyen un importante contaminante ambiental.

Por último, en lo que podríamos clasificar la región de los rayos gama, tenemos dos artículos de ciencias exactas. El primero de ellos describe el uso de los autómatas celulares (modelo matemático) para describir procesos físicos, químicos y biológicos de agregación. Finalmente se presenta un artículo sobre sismología estelar, el cual, aunque nos parezca tan alejado de nuestra realidad cotidiana, es un buen ejemplo de la importancia de la cooperación internacional entre grupos de inves-

tigación de diferentes países, debido a que nos indica cómo mediante esta colaboración han podido desarrollar estudios pioneros, siendo en la actualidad uno de los grupos de investigación más sobresalientes en dicho campo.

No me queda más que agradecer a cada uno de los autores de estos artículos su participación en este nuevo número de la revista *Ciencia en la frontera*, y esperar que esta amplia recopilación de conocimiento nos sirva para comprender que la ciencia es muy vasta y compleja y no centrada en un conocimiento específico.

Antes de terminar esta presentación quisiera dedicar este número de la revista *Ciencia en la Frontera* al Profesor Jozsef Szejtli e informar con gran pesar de su fallecimiento ocurrido el día 26 de noviembre de 2004. El Dr. Szejtli (1933-2004) fue uno de los pioneros y uno de los principales expertos en el área de las ciclodextrinas. La lectura de sus artículos me inspiró a lo largo de mi formación doctoral, y aún recuerdo la amabilidad y entusiasmo con que acepto colaborar en nuestra revista cuando lo invité a escribirnos un artículo. Espero que su ejemplo sirva de inspiración a todos nuestros lectores.

It is with great sadness to let you know, that Prof. Jozsef Szejtli, a internationally acknowledged pioneer and leading expert of cyclodextrin science and technology died on 26 November 2004. I will like to dedicate this number of our journal to Prof. Szejtli (1933-2004).



INFLUENCIA DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS EN LA

# Distribución de los principales grupos fitoplanctónicos en las costas del estado de Colima durante el 2002\*

Aramis Olivos Ortiz;\*\* Sonia I. Quijano Scheggia; Geraldine García Uribe;  
Marco A. Galicia Pérez; Juan H. Gaviño Rodríguez

*Se realizaron cuatro cruceros oceanográficos durante primavera, verano, otoño e invierno de 2002. El grupo fitoplanctónico dominante fue el de las diatomeas durante otoño, invierno y primavera llegando a un 75%, mientras que en verano dominaron los dinoflagelados con un 70%. Coscinodiscus granii Gough mostró una marcada relación con el rango de temperaturas entre 22 y 25°C en los transectos oceánicos y costeros. El patrón de circulación mostró tendencia general hacia el sur con una variabilidad estacional que se reflejó en la presencia de giros con transporte neto hacia mar abierto durante invierno y verano, mientras que en primavera y otoño fue hacia continente, las mayores velocidades se alcanzaron en primavera al sur de la zona de estudio, llegando a ser de 0.6 m seg<sup>-1</sup>. La concentración de nutrientes mostró una relación puntual con descargas continentales, su comportamiento estuvo más bien influenciado por los mecanismos de fertilización de la dinámica de circulación de la zona de estudio, alcanzando las máximas concentraciones cerca de la termoclina, que en promedio se situó a una profundidad de 35 metros a lo largo del periodo anual.*

**Palabras clave:** Fitoplancton, nutrientes, circulación, distribución, abundancia.

## INTRODUCCIÓN

El fitoplancton marino requiere de ciertos elementos disueltos para su desarrollo, entre los más importantes se encuentran micronutrientes como el nitrógeno, fósforo y sílice, los cuales son tomados del agua e influyen en su crecimiento (Riley y Chester, 1989); por otra parte, fenómenos climáticos que se traducen en fenómenos físicos en la columna de agua generan algunos de los mecanismos que pueden afectar la disponibilidad de este tipo de micronutrientes disueltos, y por ende, afectar la distribución de este fitoplancton (Olivos-Ortiz y col., 2002).

El efecto espacio-temporal de los cambios en la concentración de micronutrientes del medio sobre el fitoplancton y su relación con fenómenos de dispersión, ha permitido diferenciar que existen distintos requerimientos de micronutrientes entre las especies fitoplanctónicas, lo cual se ve reflejado en la distribución y la sucesión de las especies en el mar, lo que a su vez guarda una estrecha relación con fenómenos de circulación y comportamiento de las masas de agua en

ambientes oceánicos o costeros (Rudek y col., 1991; Justic y col., 1995; Balls; 1994; Maso y col., 1998).

Hasta la fecha y sobre la zona de estudio (Pacífico Occidental Mexicano, 18° 41' 17" y 19° 31' 20" N. 103° 19' 20" y 104° 41' 12" W) existen algunos trabajos puntuales en su mayoría enfocados a cuerpos costeros semicerrados, sobre la zona costera del estado de Colima, México; no se tienen registros de este tipo de estudios, por lo que el objetivo de este trabajo es describir la distribución de algunas de las principales especies fitoplanctónicas en relación con los micronutrientes y los factores fisicoquímicos que intervienen en la concentración y distribución de los mismos en la columna de agua.

## Materiales y métodos

En colaboración con la Armada de México, se realizaron cuatro campañas oceanográficas dentro del Programa Oceanografía Descriptiva del Estado de Colima (ODECOL), los muestreos se llevaron a cabo durante los meses de febrero, mayo, agosto y noviembre de 2002, los cuales se tomaron

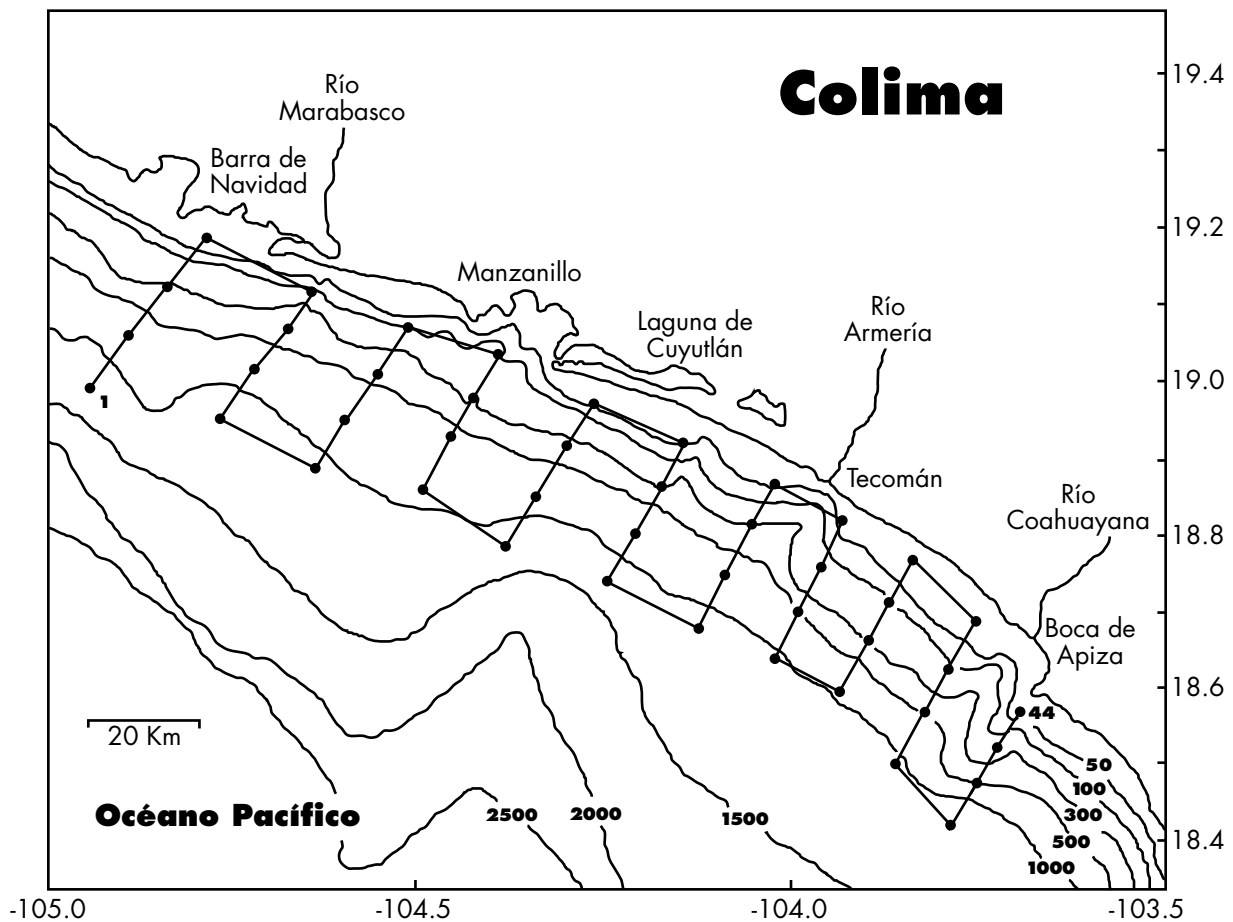
\* Lugar donde se realizó la investigación: Centro Universitario de Investigaciones Oceanológicas. Carretera Manzanillo-Barra de Navidad km 20. Col. El Naranjo. C. P. 28860, Manzanillo, Colima, México.

\*\* Aramis Olivos Ortiz, domicilio: Centro Universitario de Investigaciones Oceanológicas (CEUNIVO), Universidad de Colima. Apartado Postal No. 300, C.P. 28860. Santiago-Manzanillo, Colima, México. Teléfono: + 314 3311209, Fax: + 314 3311209, correo electrónico: aolivos@cgcic.ucol.mx

como representativos del invierno, primavera, verano y otoño. El área de estudio se dividió en 11 transectos perpendiculares a la costa, cada transecto contó de 4 estaciones a 2, 5.5, 11 y 18 kilómetros de la costa (Figura 1).

velocidad geostrofica.

Para nutrientes se utilizó una botella Niskin de 5 l, tomándose muestras a 5, 10, 25, 50, 100 y 200 m cuando la batimetría lo permitió, las cuales permanecieron congeladas (-4°C) hasta



**Figura 1.** Área de estudio que muestra los 11 transectos y las estaciones de muestreo.

La temperatura y salinidad de la columna de agua se registraron con un CTD Sea Bird SBE-19 a través de la columna de agua en intervalos  $\Delta Z=1$  m (precisión  $\pm 0.01^\circ\text{C}$  y  $\pm 0.0001$  S  $\text{m}^{-1}$ ), con estos parámetros se determinó la corriente geostrofica, la malla de muestreo fue dividida en celdas cuadriculadas con estaciones en los vértices, usando los parámetros hidrográficos con datos medios a cada metro, se procedió a una extrapolación con una ecuación de difusión usada para asignar valores a los puntos correspondientes a estaciones secas a esa profundidad. Asumiendo velocidades de cero a una profundidad de 200 m. Las velocidades geostroficas ortogonales a los lados de las cuadrículas fueron encontradas, pero sólo aquellas velocidades en puntos donde sí había agua fueron consideradas. Entonces un promedio fue utilizado para obtener la velocidad del vector a cada punto del vórtice a la mitad de cada celda, dentro de cada celda se realizaron más interpolaciones para generar los vectores de

su análisis mediante un autoanizador de flujo segmentado Skalar San Plus II con las técnicas descritas por Solórzano (1969); Strickland & Parsons (1972); Grasshoff y col., (1983) con una precisión de  $0.001 \mu\text{M}$ . Se realizaron arrastres de fitoplancton verticales desde los 50 m con red cónica de  $80 \mu\text{m}$  de luz de malla en todas las estaciones más cercanas y más alejadas de la costa, las muestras se preservaron en formol neutralizado. Para su identificación se utilizó un microscopio óptico con contraste de fases Zeiss K7. La separación de los principales grupos fitoplanctónicos se realizó en muestras frescas contando como mínimo 300 organismos por estación. La identificación hasta especie se realizó con preparaciones fijas de muestras libres de materia orgánica, previo proceso de digestión e inclusión en Storax. Algunas especies problema se observaron con un microscopio electrónico de transmisión modelo Zeiss EM-906 en el Centro de Investigación Biomédica de Occidente del Instituto Mexicano del Seguro Social.

### Resultados

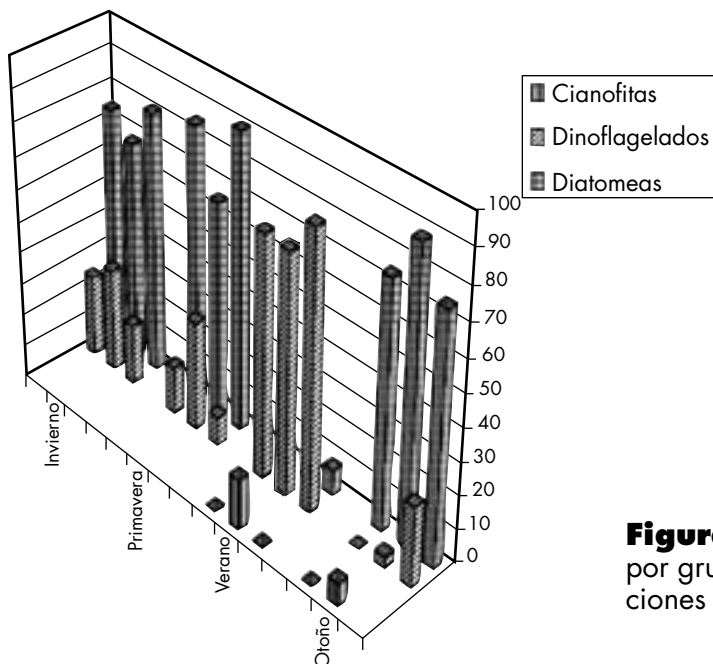
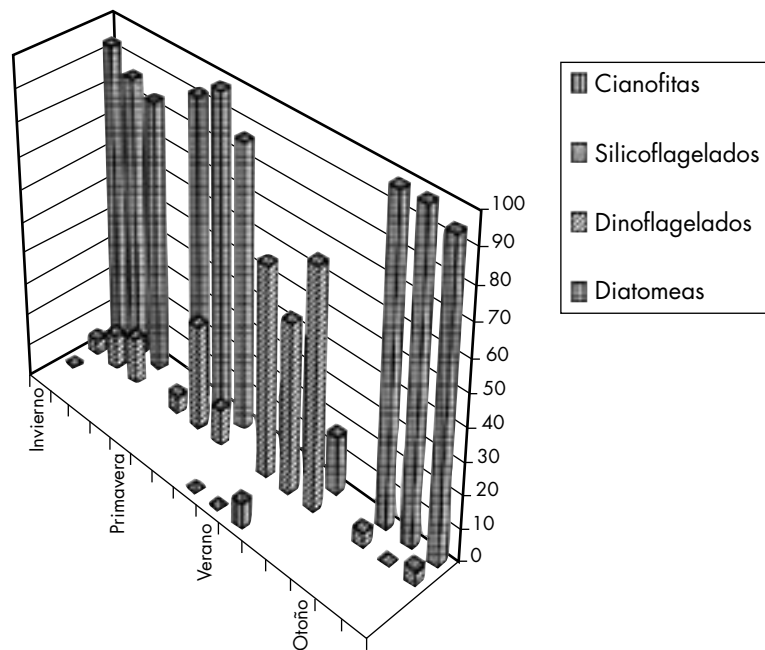
En las cuatro campañas oceanográficas, por medio del disco de Secchi se determinó que el límite de la zona eufótica (1% de penetración de luz) no estuvo por debajo de los 50 metros de profundidad, razón por la cual la abundancia de especies fitoplanctónicas se toma hasta esta profundidad. En el caso de la dirección e intensidad de la corriente geostrofica, así como la concentración de nutrientes disueltos debido a las variaciones de la profundidad en el área de estudio y las características del modelo de circulación, se consideró la dinámica descrita a 25 m de profundidad como representativa de las condiciones del medio; por esta razón los mapas de distribución de nutrientes

se elaboraron a esta misma profundidad.

### Distribución de los principales grupos fitoplanctónicos

Durante invierno, primavera y verano los organismos fitoplanctónicos más abundantes tanto en los transectos oceánicos como costeros fueron las diatomeas, con una abundancia relativa mayor al 75%. Los dinoflagelados están fuertemente representados en verano en las estaciones costeras y oceánicas con valores de hasta 70%. En verano y otoño se registró un aumento significativo de cianofitas con valores del 8% sobre su abundancia relativa (figuras 2 y 3).

**Figura 2.** Distribución espacial por grupos fitoplanctónicos, estaciones costeras.



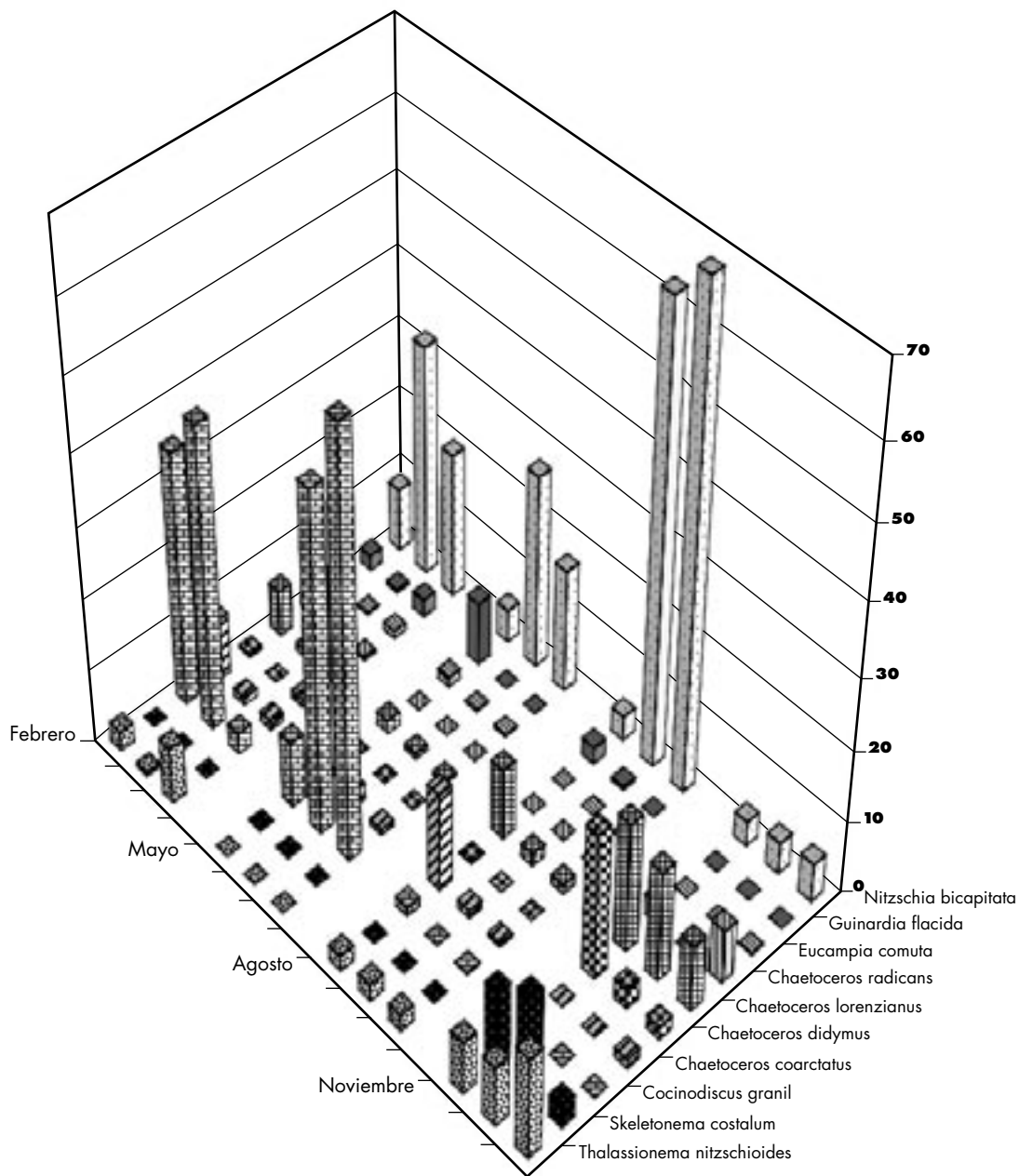
**Figura 3.** Distribución espacial por grupos fitoplanctónicos, estaciones oceánicas.

## DISTRIBUCIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE DIATOMEAS

### Estaciones oceánicas

Entre las diatomeas con mayor abundancia relativa en invierno, se encuentra *Coccinodiscus granii* Gough en las estaciones norte y central con valores de abundancia relativa de hasta 35%, en primavera se registran valores altos en las

estaciones central y sur del estado con valores de hasta 45%. En verano y otoño no es significativa su presencia. *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve presenta gran abundancia únicamente durante la primavera hacia el sur de la zona de estudio con valores de 20% de abundancia relativa. *Nitzschia bicapitata* Cleve fue frecuente durante todo el periodo de muestreo, destacando en verano sobre las estaciones centrales y sur de la zona de estudio, en verano alcanza un 60% de



**Figura 4.** Diatomeas frecuentes, estaciones oceánicas.

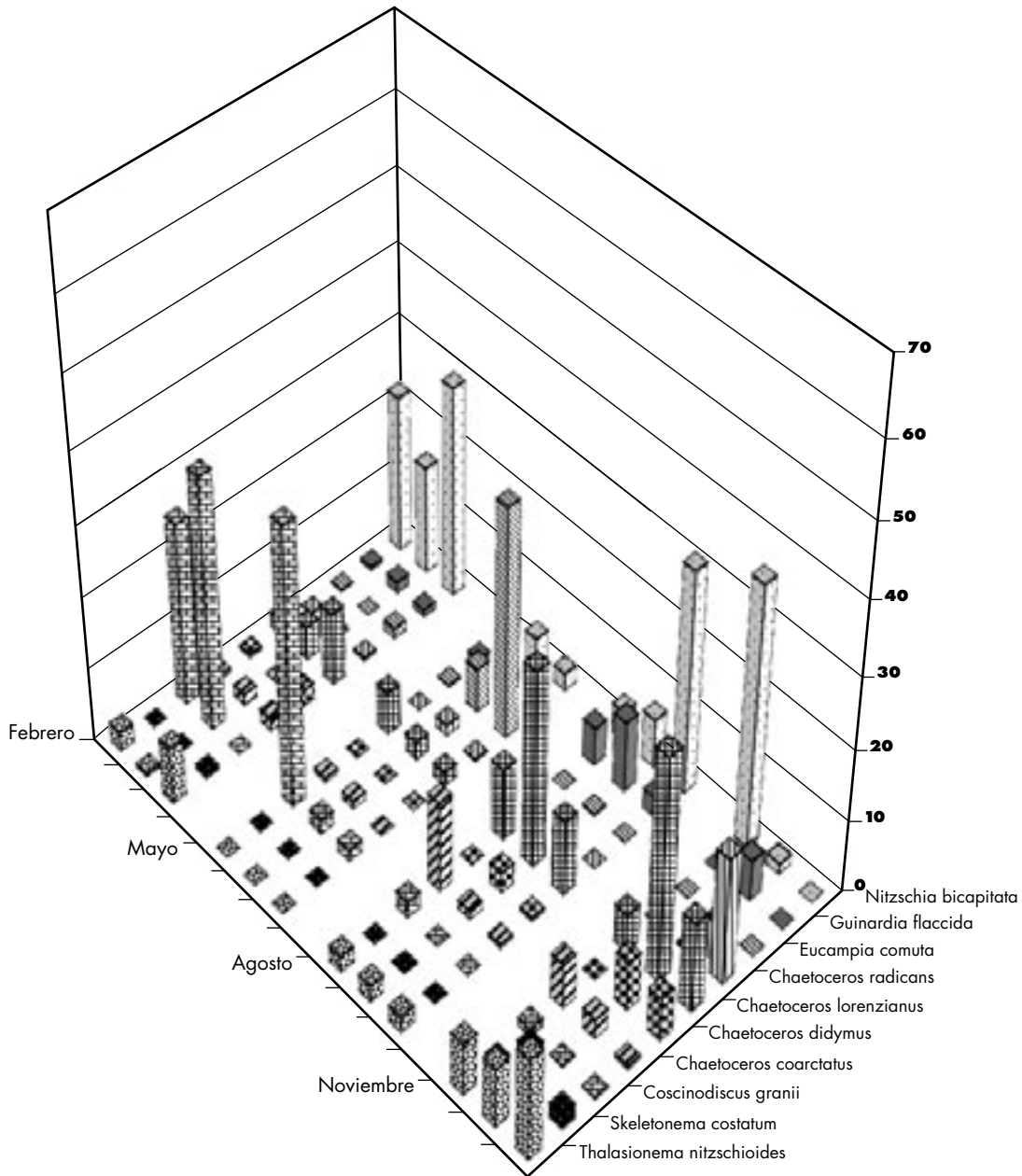


abundancia relativa promedio (figuras 4 y 5).

#### Estaciones costeras

*Coscinodiscus granii* Gough es dominante en las estaciones del norte y centro durante invierno y primavera con abundancias del 32%. *Chaetoceros lorenzianus* Grunow se presenta en las cuatro estaciones del año destacando en verano en la zona centro del área

de estudio con valores del 30% de abundancia relativa. *Chaetoceros radicans* Schütt fue abundante en otoño en las estaciones del sur con abundancia del 18%. *Eucampia cornuta* (Cleve) Grunow solo destacó en primavera en las estaciones del sur de la zona de estudio con abundancia del 32%. *Nitzschia bicapitata* Cleve es común en invierno en toda la zona de estudio con valores de hasta 27%, en verano es abundante al sur con un 28% y en otoño al norte con valores de 33% (figura 5).

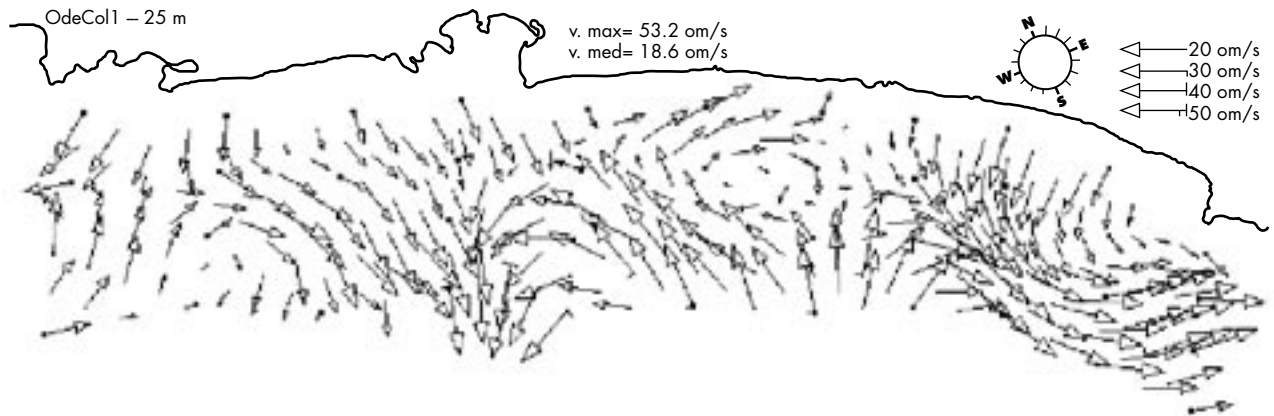


**Figura 5.** Diatomeas frecuentes, estaciones costeras.

*Circulación geostrófica y distribución espacio-temporal de la temperatura*

Durante invierno, frente a la bahía de Manzanillo se presenta una circulación hacia la parte oceánica con una velocidad promedio de 0.22 m seg<sup>-1</sup>. En la parte suroeste, frente a la Laguna de Cuyutlán y el Río Armería, se observa un giro anticiclónico con velocidades máximas de 0.53 m seg<sup>-1</sup>. Entre el Río Armería y Boca de Apiza se presenta una corriente con dirección sureste con velocidades de hasta 0.45 m seg<sup>-1</sup>, en esta región existe la tendencia a generarse un giro cicló-

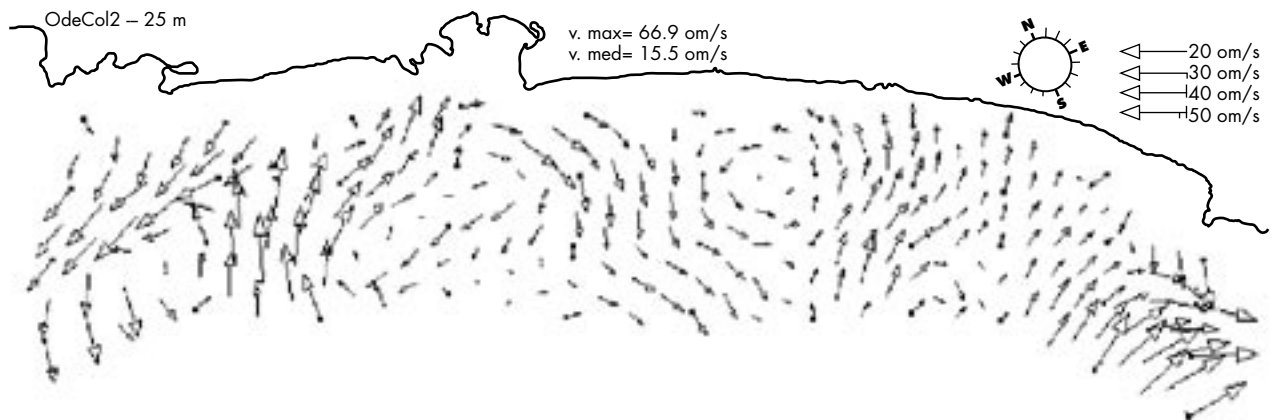
En primavera, entre Barra de Navidad y Manzanillo se presenta una corriente con dirección neta hacia la costa (noreste) con velocidad máxima de 0.30 m seg<sup>-1</sup>, que se bifurca en un giro ciclónico frente a Barra de Navidad y uno anticiclónico frente a la bahía de Manzanillo. Se mantiene el giro ciclónico frente a la parte central de la Laguna de Cuyutlán con menores velocidades (0.12 m seg<sup>-1</sup>). Entre Tecmán y Boca de Apiza se genera una zona de inestabilidad con transporte general paralelo a la costa en dirección sur, registrando velocidades máximas de 0.35 m seg<sup>-1</sup> (Figura 7). La temperatura presentó un comportamiento similar al de



**Figura 6.** Circulación geostrófica a 25 m durante invierno.

nico (Figura 6). Respecto a la temperatura, se registraron bajas desde Manzanillo hasta Boca de Apiza en todas las estaciones, alcanzando valores mínimos de 23.64°C frente a Boca de Apiza. La temperatura más alta se presentó en la región oceánica con máximas de 26.88°C frente a la Bahía de Manzanillo.

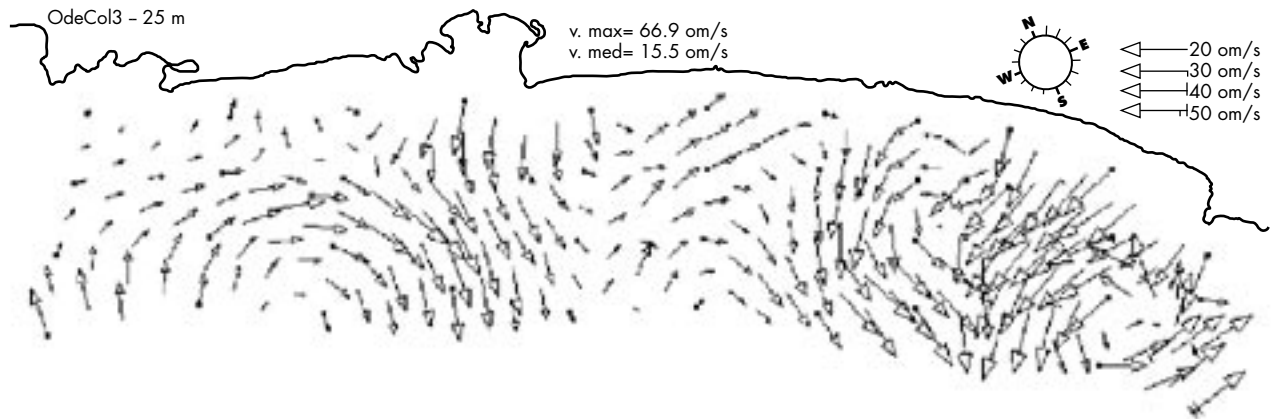
invierno con valores mínimos de 20.29°C desde Boca de Apiza hasta el norte de Manzanillo y máximos de 24.61°C en las estaciones oceánicas, entre Barra de Navidad y Manzanillo. En esta época se registraron las temperaturas más bajas de todo el periodo anual de muestreo.



**Figura 7.** Circulación geostrófica a 25 m durante primavera.

En la parte del noroeste durante el verano se forma un giro anticiclónico abarcando desde Barra de Navidad hasta Manzanillo, donde se genera un transporte neto hacia la parte oceánica con velocidad promedio de  $0.22 \text{ m seg}^{-1}$ . En la parte sur entre Tecomán y Boca de Apiza, se establece un giro ciclónico sobre las estaciones intermedias con velocidades máximas de  $0.62 \text{ m seg}^{-1}$  (Figura 8). En esta época se registraron las

el otoño existe un transporte neto hacia el continente con velocidades promedio de hasta  $0.18 \text{ m seg}^{-1}$ . Cerca a la parte central de la laguna de Cuyutlán se forma un giro anticiclónico que se contrapone con un giro ciclónico que va desde Boca de Apiza hasta Tecomán, generando un flujo neto hacia el océano con velocidades máximas promedio de hasta  $0.23 \text{ m seg}^{-1}$  (Figura 9). Las temperaturas más altas tienen amplia

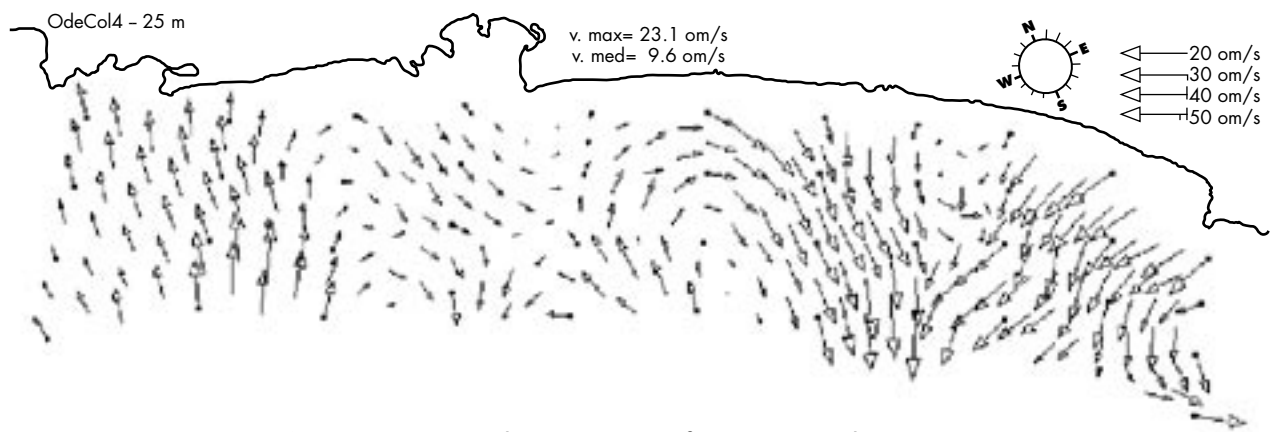


**Figura 8.** Circulación geostrofica a 25 m durante verano.

temperaturas más altas de todo el año y el menor rango de variación ( $1.1^\circ\text{C}$ ), las temperaturas mínimas se registraron al sur de Manzanillo y Boca de Apiza ( $28.84^\circ\text{C}$ ) y las máximas en la parte oceánica ( $29.81^\circ\text{C}$ ).

distribución tanto en las estaciones oceánicas como en las costeras, con valores promedio máximos de  $29.81^\circ\text{C}$ , las temperaturas más bajas se encontraron en la zona costera frente a Boca de Apiza ( $28.84^\circ\text{C}$ ).

En la zona noroeste frente a Barra de Navidad, durante

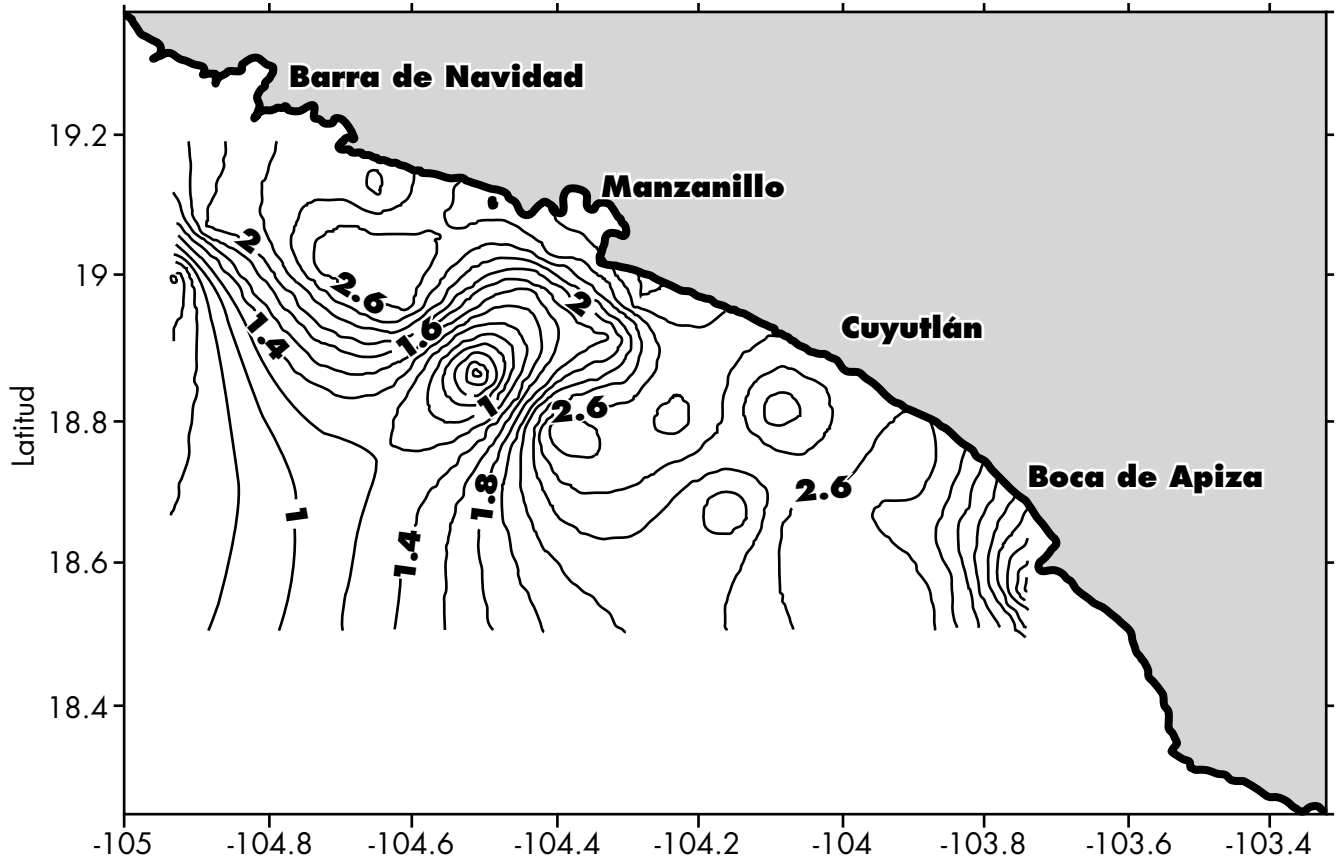


**Figura 9.** Circulación geostrofica a 25 m durante otoño.

### Distribución espacio-temporal de nutrientes

Longitudinalmente, durante invierno las máximas concentraciones para nitratos ( $\text{NO}_2+\text{NO}_3$ ), amonio ( $\text{NH}_4$ ), fosfatos ( $\text{PO}_4$ ) y silicatos ( $\text{SiO}_2$ ) se localizaron en las estaciones intermedias con valores medios de  $2.78 \mu\text{M}$ ,  $1.59 \mu\text{M}$ ,  $0.25 \mu\text{M}$ , y

$6.48 \mu\text{M}$  respectivamente, mientras que los valores mínimos se presentaron en las estaciones costeras, con valores medios de  $2.55 \mu\text{M}$  ( $\text{NO}_2+\text{NO}_3$ ),  $1.58 \mu\text{M}$  ( $\text{NH}_4$ ),  $0.19 \mu\text{M}$  ( $\text{PO}_4$ ) y  $5.25 \mu\text{M}$  ( $\text{SiO}_2$ ), la figura 10 muestra un ejemplo de estas distribuciones, se aprecia que frente a las bahías de Manzanillo y Boca de Apiza existen estructuras que corresponden con los

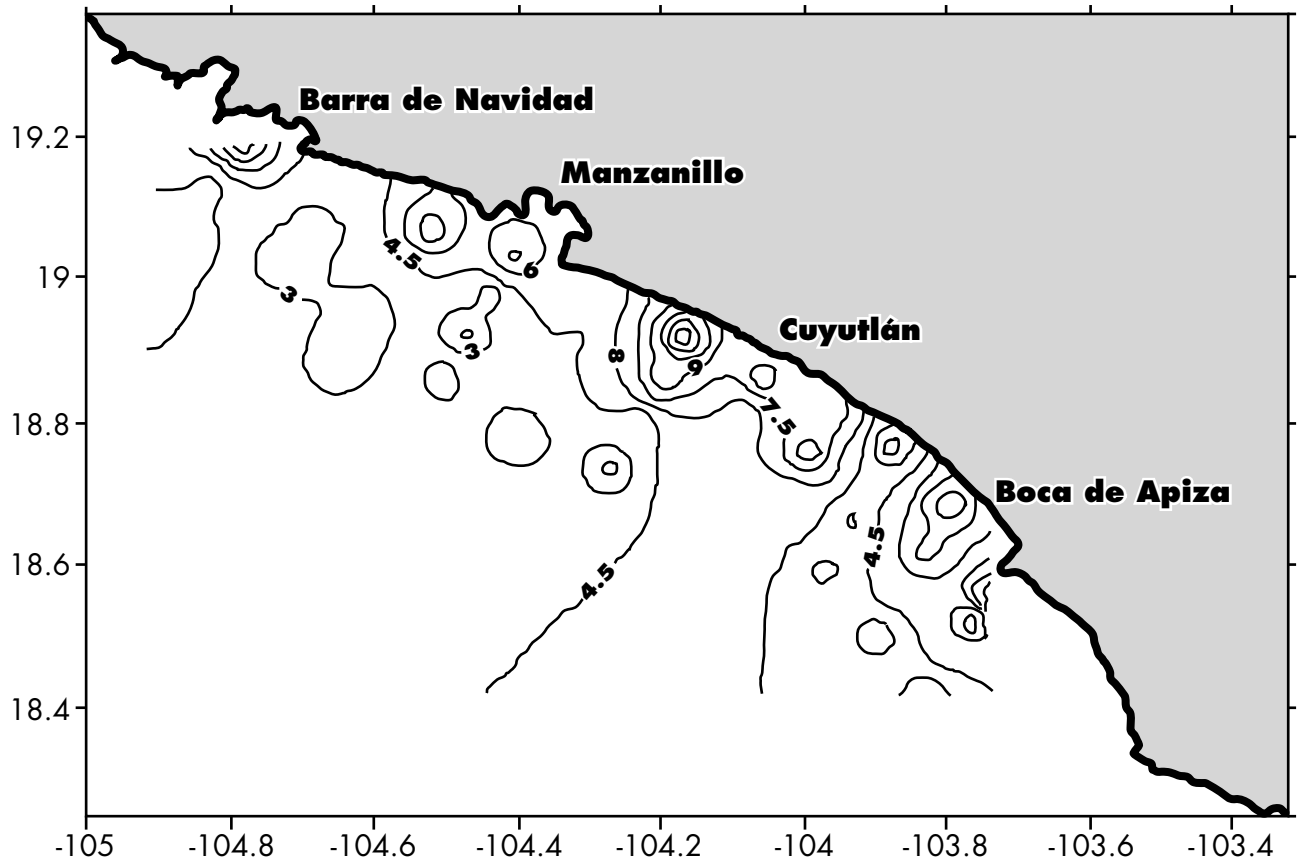


**Figura 10:** Distribución longitudinal de  $\text{NO}_3+\text{NO}_2$  ( $\mu\text{M}$ ) durante invierno a 25 m.

diagramas de circulación (Figura 6).

Para primavera, las máximas concentraciones de nitratos y silicatos se encontraron en las estaciones oceánicas con un valor promedio de  $3.81 \mu\text{M}$  y  $6.45 \mu\text{M}$  respectivamente, mientras que para amonio, los máximos valores medios se

localizaron en las estaciones costeras ( $1.27 \mu\text{M}$ ), la concentración máxima promedio para fosfatos se encontró en la parte intermedia con un valor de  $1.71 \mu\text{M}$ , en la Figura 11 se observa cómo frente a la parte media de la Laguna de Cuyutlán se forma un giro que corresponde a la circulación

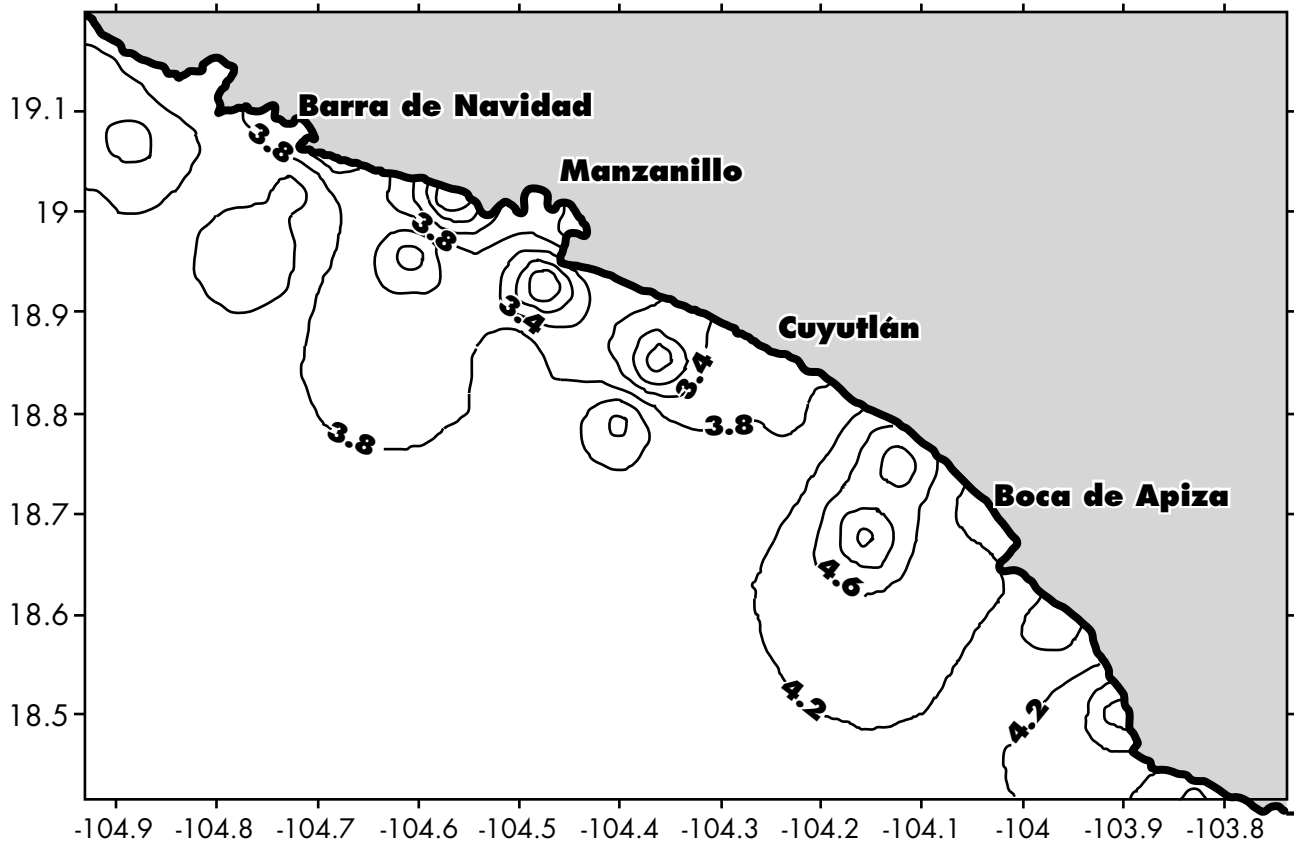


**Figura 11.** Distribución longitudinal de  $\text{SiO}_2$  ( $\mu\text{M}$ ) durante primavera a 25 m.

de la zona (Figura 7).

En verano, la concentración máxima de nitratos, amonio y silicatos se localizó en las estaciones oceánicas con valores promedio de  $3.34 \mu\text{M}$ ,  $3.29 \mu\text{M}$  y  $6.36 \mu\text{M}$  respectivamente, y la concentración máxima de fosfatos se encontró en la parte intermedia con un valor promedio de  $1.78 \mu\text{M}$ , mientras que los valores mínimos  $2.17 \mu\text{M}$  ( $\text{NO}_2+\text{NO}_3$ )  $1.53 \mu\text{M}$  ( $\text{PO}_4$ )

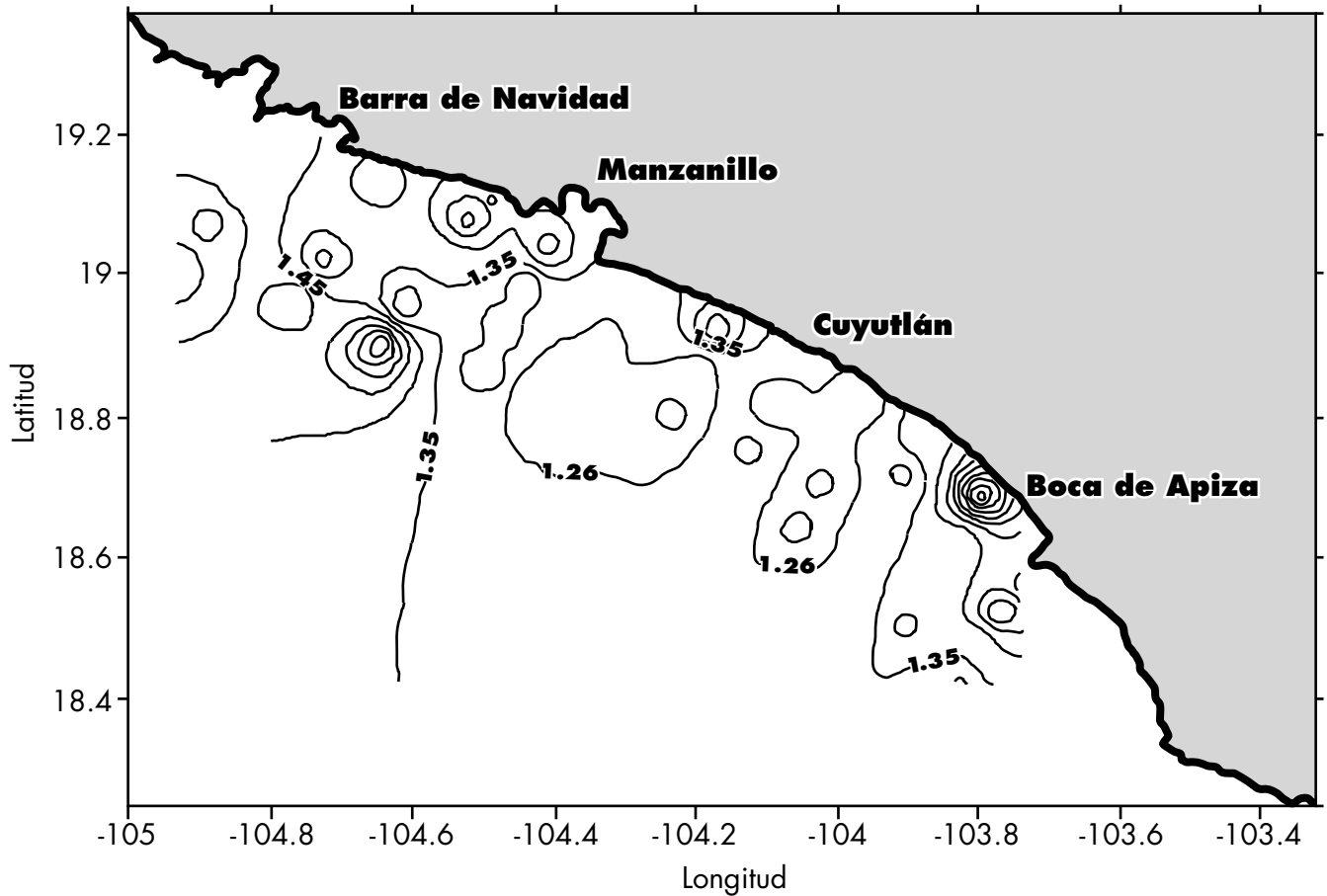
y  $4.39 \mu\text{M}$  ( $\text{SiO}_2$ ) se localizaron en las estaciones costeras con excepción del amonio, que se encontró el valor mínimo promedio en la región intermedia externa ( $3.07 \mu\text{M}$ ), en la Figura 12 se observa que frente a Barra de Navidad y Boca de Apiza existen estructuras cíclicas que se asemejan con los giros de circulación detectados para esta época (Figura 8).



**Figura 12.** Distribución longitudinal de  $\text{NO}_3+\text{NO}_2$  ( $\mu\text{M}$ ) durante verano a 25 m.

Para otoño, el comportamiento fue similar al de verano: los máximos valores promedio de nitratos, fosfatos y silicatos ( $3.58 \mu\text{M}$ ,  $1.54 \mu\text{M}$  y  $6.08 \mu\text{M}$ ) se localizaron en las estaciones oceánicas, mientras la máxima concentración promedio de amonio se encontró en la región costera ( $2.28 \mu\text{M}$ ). Los valores mínimos de nitratos ( $2.60 \mu\text{M}$ ), fosfatos ( $1.17 \mu\text{M}$ ) y

silicatos ( $4.19 \mu\text{M}$ ) se localizaron en las estaciones costeras, a su vez, la mínima concentración de amonio ( $2.01 \mu\text{M}$ ) se encontró en la parte intermedia, en la Figura 13 una vez más se muestra que frente a las bahías de Manzanillo y al norte de Boca de Apiza existe concordancia en la distribución de silicatos conforme al patrón de circulación (Figura 9).



**Figura 13.** Distribución longitudinal de  $\text{SiO}_2$  ( $\mu\text{M}$ ) durante otoño a 25 m.

## DISCUSIÓN

Se observó correlación en el comportamiento de la abundancia de los dos principales grupos fitoplanctónicos y la temperatura, de tal manera que durante el verano, cuando se registra un aumento de temperatura en la columna de agua (29.48°C promedio), los dinoflagelados se tornan el grupo dominante en toda la zona de estudio, mientras que durante otoño, primavera y verano cuando las temperaturas promedio son más bajas (28.78, 25.81 y 22.72°C), las diatomeas son dominantes. Estos resultados concuerdan con otros trabajos donde se señala que en el Pacífico a partir de los 20° de latitud, cuando las aguas se tornan templadas (entre 18 y 25°C), las diatomeas son el grupo dominante, constituyendo frecuentemente cerca del 70% del total de especies fitoplanctónicas (Meave del Castillo y col., 2003, Hernández-Becerril y col., 2003).

La distribución espaciotemporal de diatomeas mostró que el análisis de la composición del grupo de diatomeas indica que *Coscinodiscus granii* Gough estuvo fuertemente representado con temperaturas del agua promedio entre 22 y 25°C registradas en febrero y mayo de 2002. Se observa que con valores bajos de temperatura, en estas épocas disminuye la abundancia relativa de dicha especie.

*Nitschia bicapitata* Cleve es abundante en muestras oceánicas, siendo dominante en el mes de agosto cuando los dinoflagelados predominan en las muestras. Por su parte, *Thalassionema nitschioides* Grunow Mereschowsky, *Chaetoceros lorenzianus* Grunow, *Ch. didymus* Ehrenberg y *Ch. radicans* Schütt dominan en el mes de noviembre, con la cual se puede inferir que la distribución de estas especies es variable a lo largo de la zona de estudio y en las distintas épocas de muestreo debido a que su comportamiento está influenciado por las inestabilidades de circulación que se presentan a través de la plataforma continental, más que por las condiciones de temperatura de la columna de agua.

La circulación y la estructura térmica sobre la plataforma continental del litoral de Colima, mostró que la velocidad y dirección de la corriente varían estacionalmente debido a distintos campos de mezcla que forman inestabilidades (giros) en la columna de agua, ya que se ha señalado que la temperatura y salinidad superficial de esta zona presenta fluctuaciones estacionales debido a evaporación, precipitación y calentamiento solar (Filonov y col., 2000; González, 2000).

La circulación geostrofica calculada para el nivel de 25 metros, señala que para invierno y verano se presenta un flujo hacia la parte oceánica, frente a la Bahía de Manzanillo, alcanzando velocidades máximas de 0.50 m seg<sup>-1</sup>, mientras que para primavera y otoño se presenta el mismo flujo pero invertido, es decir, hacia la Bahía de Manzanillo, alcanzando velocidades de 0.40 m seg<sup>-1</sup>; entre Armería y Boca de Apiza,

esta inversión de flujos puede estar influenciada por el cambio estacional que genera diferencias en densidades y por las inestabilidades topográficas aledañas al cañón submarino que se encuentra en la desembocadura del Río Armería, lo cual influye en la circulación de la Costa de Colima según la modelación numérica reportada por Galicia y Gaviño, 1996 y las observaciones hechas por Hernández-Becerril y col., 2003.

Por otra parte, se observó que el comportamiento vertical de la temperatura y la salinidad difiere entre las estaciones costeras y oceánicas en 2°C y 0.5 UPS respectivamente, siendo el reflejo de las inestabilidades generadas por la dinámica de la zona que promueven una constante entrada y salida de agua desde la costa al océano y viceversa, coincidiendo con lo señalado por Filonov y col. (2000), quienes sobre esta zona identifican radios de deformación baroclínica de 36 km en verano y 18 km en invierno, lo cual podría generar vórtices en la capa superficial del agua como los que se han detectado.

A pesar de que cuenta con asentamientos urbanos sobre las Bahías de Manzanillo y Barra de Navidad principalmente, la zona costera de Colima no sobrepasa los 250 mil habitantes (INEGI, 2002), también cuenta con la influencia natural de ríos y cuerpos costeros con un régimen temporal de aportes con un caudal máximo puntual en eventos de tormenta y su caudal máximo no ha sobrepasado los 350 m<sup>3</sup> seg<sup>-1</sup> en la última década (Ortiz, 2000). Por tanto, y debido a que no se registran concentraciones de nutrientes elevadas, puede considerarse que las descargas continentales tienen una influencia puntual a lo largo del transecto longitudinal costero durante todo el año, lo cual podría indicar que los aportes continentales tienen un carácter secundario frente a los mecanismos de fertilización generados por la circulación que muestran la existencia de giros. Para este fin se aplicó un análisis de varianza entre los valores de los cuatro transectos longitudinales, obteniendo una F menor a 2.35 (cuando el valor límite de  ${}_3F_{\infty}$  es 2.60), lo cual dio pauta para aceptar la  $H_0$  que nos indica que no hay diferencia significativa entre las medias de los cuatro transectos, es decir, que los aportes continentales no son significativos para alterar la concentración a lo largo del transecto costero y mostrarse diferente a los demás como indicativo de una fertilización continental a lo largo de la costa.

La abundancia de nutrientes en la zona de estudio mostró que durante el invierno, por encima de la termoclina (35 metros) se encontraron valores máximos de NO<sub>2</sub>+NO<sub>3</sub> y (2.37 μM) y SiO<sub>2</sub> (4.61 μM) asociados con las mayores abundancias de organismos fitoplanctónicos para esta época, lo cual concuerda con trabajos previos que señalan la menor biomasa de fitoplancton en la zona de estudio sucede en invierno cuando la termoclina es más superficial y se presentan las temperaturas más bajas (Navarro-Rodríguez y col., 2001; Filonov & Tereshchenko, 2000), aunque existen otros trabajos



que también indican que el fitoplancton durante invierno presenta las menores concentraciones de clorofila-a debido a una baja penetración de luz a través de la columna de agua y las bajas temperaturas que no favorecen su desarrollo a pesar de la mayor disponibilidad de nutrientes (Ferrier-Pagès & Rassoulzadegan, 1994; Estrada, 1996; Maso y col., 1998) lo cual explica que aunque la abundancia de organismos haya sido alta, no fue la mayor de todo el año de estudio. Sin embargo, en verano, cuando las condiciones de temperatura del agua y la penetración de luz en el océano son favorables para el fitoplancton (Riley & Chester, 1989), encontramos los máximos valores de  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ , lo cual es un indicador de actividad fitoplanctónica (Vidal & Duarte, 2002; Shen, 2001), lo que se tradujo en un incremento en la abundancia fitoplanctónica en la zona de estudio.

## CONCLUSIONES

El grupo fitoplanctónico dominante fue el de las diatomeas durante otoño, invierno y primavera, en verano dominaron los dinoflagelados. *Coscinodiscus granii* Gough mostró una mayor relación con el rango de temperaturas entre 22 y 25°C. El patrón de circulación mostró tendencia general hacia el sur, con una variabilidad estacional que se reflejó en la presencia de giros con transporte neto hacia mar abierto durante invierno y verano, mientras que en primavera y otoño fue hacia continente. La concentración de nutrientes no mostró relación directa con los aportes continentales, su comportamiento estuvo más bien influenciado por los mecanismos de fertilización de la dinámica de circulación de la zona de estudio, lo que también se reflejó en la abundancia de organismos fitoplanctónicos.

## REFERENCIAS

- Balls, P.W. (1994). Nutrient inputs to estuaries from nine Scottish East Coast Rivers; Influence of Estuarine processes on inputs to the North Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 39:329-352.
- Barreiro-Güemes, M. T., M. E. Meave del Castillo., M. Signoret-Poillon y G. Figueroa-Torres, (2003). *Planctología Mexicana*. ISBN 968-7623-13-6 .La Paz Baja California sur. Pág.284
- Cupp, E.E.(1943). "Marine plankton diatoms of the west coast of North America". *Bull. Scripps Inst. Oceanogr.*, 5: 1-238.
- Estrada M. (1996). "Primary production in the northwestern Mediterranean". *Scientia Marina*. 60 (supl 2):55-64.
- Filonov A. and I. Tereshchenco. (2000). "El niño 1997-98 monitoring in mixed layer at the Pacific Ocean near Mexico's west coast". *Geophysical Research Letters*. 27(5):705-707.
- Filonov A. E., I. E. Tereshchenco. C.O. Monzon. M.E. Gonzales-Ruelas and E. Godinez-Dominguez. (2000). "Season variability of the temperature and salinity fields in the coastal zone of the states of Jalisco and Colima Mexico". *Ciencias Marinas*. 26(2):303-321.
- Ferrier-Pages. and F. Rassoulzadegan. (1994). "Seasonal impact of the microzooplankton on pico-and nanoplankton growth rates in the northwest Mediterranean Sea". *Marine Ecology Progress Series*. 108:283-294.
- Fryxell, G.A. (1983). "New evolutionary patterns in diatoms". *Bio Sci*. 33(2):92-98.
- Galicia-Pérez, M. A. y J. Gaviño-Rodríguez. (1996). "Estudio Numérico de Refracción de Oleaje y Circulación en la Costa de Colima", *Revista GEOS*, Vol. 16, No. 4. Unión Geofísica Mexicana.
- Grasshoff K. M. Ehrhardt and K. Kremling. 1983. *Methods of Seawater Analysis*. 2 ed. Verlag Chemie. Germany. 419 pp.
- Gonzalez-Ruelas, M. E., (2000). "Estructura Termohalina de las Aguas, Corrientes y Ondas Internas en la Costa Occidental de México". Tesis de Doctorado. Universidad de Colima.
- Hasle G. G. 1972. "Two types of valve processes in centric diatoms". *Nova Hed.*, 39: 111-119.
- Hustedt F. (1927-1966): "Die Kieselalgen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz". *Rabenhorst's Kryptogamen-Flora* 7(1): 1-920 (1927-1930); 7(2): 1-845 (1931-1959); 7(3): 1-816 (1961-1966). Leipzig
- . (1930). Bacillariophyta. In: *A. Pascher, Süßwasserflora von Mitteleuropas*, Heft 10: 1- 466, Jena (Reprint. 1976, Koeltz Publ., Koenigstein).
- . (1955). Marine littoral diatoms of Beaufort, North Carolina.- *Duke Univ. Marine Station Bull.*, 6:1- 67.
- Hernández-Becerril, D.U. (1985). "Estructura del Fitoplancton del Golfo de California". *Ciencias Marinas*, 11(2): 23-38.
- . (1991a). "The morphology and taxonomy of the planktonic diatom *Chaetoceros coarctatus* Lauder (Bacillariophyceae)". *Diatom research*, 6(2), 281-287.
- . (1991b). "Note on the morphology of *Chaetoceros didymus* and *C. protuberans*, with some considerations on their taxonomy". *Diatom Research*, 6(2). 289-297.
- . (1991c). "*Chaetoceros bermejensis* sp. nov., a new planktonic diatoms from the Gulf of California". *Botanica Marina*, 34:521-526.
- . (1992). "Nota sobre la presencia de la diatomea *Asteromphalus cleveanus* Grunow en aguas de Baja California y su relación con *A flabellatus*" (Breb.) Grev. *Acta Botánica Mexicana*, 17:39-44.

- . (1993). "Study of the morphology and distribution of two planktonic diatoms: *Chaetoceros paradoxus* and *Ch. filiferus* (Bacillariophyceae)". *Crypt.Bot.* 3:169-175.
- . (2000). "Morfología y taxonomía de algunas de las especies de diatomeas del género *Coscinodiscus* de las costas del Pacífico Mexicano". *Revista de Biología Tropical* 48:7-18.
- Hernández-Becerril D., Meave del Castillo M.E., y Flores Granados C. (2003). "Dinoflagelados del orden Dinophysiales en las costas mexicanas", Cap. 2:19-42. En: Barreiros-Güemes M. T., M. E. Meave del Castillo, M. Signoret-Poillon y M. G. Figueroa-Torres (Eds). *Planctología Mexicana*, 300p. Sociedad Mexicana de Planctología, A. C. México, ISBN 968-7623-13-6.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI). (2002). Anuario estadístico del Estado de Colima. 520 pp.
- Justic, D., Rabalais, N.N., Turner, R.E. and Dortch Q. (1995). Changes in nutrient structure of river-dominated coastal waters: Stoichiometric nutrient balance and its consequences. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.40:339-356.
- Krammer, K. y H. Lange-Bertalot. (1986). Bacillariophyceae. 1 Teil: Naviculaceae. Band 2/1 von: *Die Süßwasserflora von Mitteleuropa* (begr. von A. Pascher), p. 1-876 mit 206 Taf. Stuttgart.
- . (1988). Bacillariophyceae. 2 Teil: Epithemiaceae, Bacillariaceae, Surirellaceae. Band 2/2 von: *Die Süßwasserflora von Mitteleuropa* (begr. von A. Pascher), p. 1-596 mit 184 Taf. Stuttgart.
- Licea-Duran, S. (1992). Especies de diatomeas del sur México, estudiadas en microscopio de luz y electrónico. Tesis doctorado, Colegio de Ciencias y Humanidades, Unidad Académica de los ciclos profesionales y posgrado, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Especialización Maestría y doctorado en ciencias del mar. 1-66, 3 fig, 15 tab., 5 apend., 30 láms
- Licea-Duran, S., P. Torres y R. Luna. (1991). Ciclo nictemeral del Fitoplancton de Cabo Catoche. In: *IV Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar, Coquimbo, Chile*, 30 sep. 4 oct. 1991, 24p.
- Maso M., A. Sabates and M.P. Olivar. (1998). Short-term physical and biological variability in the shelf-slope region of the NW Mediterranean during the spring transition period. *Continental Shelf Research*. 18:661-675.
- Meave del Castillo, M. E., Zamudio-Resendiz M. E., Ake-Castillo J., Guerra-Martínez S.L. y Barbosa-Ledezma I F. (1988). Biodiversidad de diatomeas (Bacillariophyta) en la columna de agua del Pacífico mexicano, Cap.3:43-84. En: Barreiros-Güemes M. T., M. E. Meave del Castillo, M. Signoret-Poillon y M. G. Figueroa-Torres (Eds). *Planctología Mexicana*, 300 p. Sociedad Mexicana de Planctología, A. C. México, ISBN 968-7623-13-6.
- Navarro, J.N. (1981). A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. I. Suborders Coscinodiscineae and Rhizosoliineae.- *Bot. Mar*, 24(8): 427-439.
- . (1982). A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. III. Suborder Biddulphiineae: Family Chaetoceraeae.- *Bot. Mar*, 25(7): 305-319.
- Navarro-Rodríguez M. C., S. Hernández Vázquez., R. Funez Rodríguez y R. Flores Vargas. (2001). Distribución y abundancia de larvas de peces de las familias haemulidae, sciaenidae y caragidae de la plataforma continental de Jalisco y Colima, México. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*. 35(1):1-24.
- Olivos Ortiz A., M. Maso A. AND J. Camp Sancho. (2002). "Continental runoff of nutrients and their possible influence over stoichiometric ratios (DIN:P:Si) in the northeastern Mediterranean waters of Spain (Catalan Sea)". *Ciencias Marinas*. 28(4):393-406.
- Ortiz G. (2000). "Administración del agua". Instituto Mexicano de Tecnología del Agua-Comisión Nacional del Agua. 159 pp.

- Riley J.P. and R. Chester. (1989). "Introducción a la Química Marina". *AGT editor*; México, D.F. 459 pp.
- Rudek, J., Paerl H.W., Mallin M.A. and P.W. BATES. (1991). "Seasonal and hydrological control of phytoplankton nutrient limitation in the Lower Nurse River Estuary, North Carolina". *Marine Ecology Progress Series*, 75:133-142.
- Round, F.E. y R.M. Crawford. (1981). "The lines of evolution of the Bacillariophyta I". Origin. *Proc. Roy. Soc. London, Biol. Sci.* 211:237-260
- Round, F.E., R.M. Crawford y D.G. Mann. (1990). "The diatoms, biology and morphology of the genera". *Cambridge Univ. Press, Cambridge*, 728 p.
- Shen L. S. (2001). "Historical changes in nutrient structure and its influences on Phytoplankton composition in Jiaozhou Bay". *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 52:211-224.
- Solorzano L. 1969. "Determination of ammonia in natural waters by the phenol hipoclorite method". *Limnology and Oceanography*. 14(5): 799-801.
- Strickland J.D. and T.R. Parsons. 1972. "A practical handbook of sea water analysis". *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*. 184 pp.
- Strickland J.D. and T.R. Parsons. 1972. "A practical handbook of sea water analysis". *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*. 184 pp.
- Vidal M. and C.A. Duarte. (2000). "Nutrient accumulation at different supply rates in experimental Mediterranean planktonic communities". *Marine Ecology Progress Series*. 207:1-11.

## ASPECTOS ECOLÓGICOS Y DIVERSIDAD DE HONGOS ECTOMICORRÍZICOS EN

# Bosque de pino y encino de 5 localidades del Municipio de Bocoyna, Chihuahua

Mirolava Quiñónez-Martínez,<sup>1</sup> Fortunato Garza Ocañas<sup>2</sup> y Mariana Vargas Medrano<sup>1</sup>

*Se presenta un registro que comprende a 52 especies de hongos que forman asociaciones ectomicorrízicas con algunas especies arbóreas. Se realizaron 40 transectos comprendiendo: Bocoyna, Gumeachi, Choguita, San Juanito y Arareco, cubriendo un área de 100 ha. Laccaria laccata es la especie de hongo con la mayor abundancia para la mayoría de las localidades muestreadas. El mayor índice de diversidad de hongos ectomicorrízicos se registra para la localidad de Choguita con 22 especies diferentes, destacando los géneros Amanita, Boletus, Russula y Laccaria asociándose a diferentes especies de Pinus, Quercus, Arbutus xalapensis y Arctostaphylos pungens.*

### INTRODUCCIÓN

Bocoyna es uno de los municipios madereros que forma parte de la Sierra Tarahumara en el estado de Chihuahua. Los bosques mixtos de pino-encino son predominantes en esta región, abrigando una gran variedad de especies de flora y fauna que interactúan entre sí. Sin embargo, existen muchas zonas fuertemente perturbadas dentro del municipio, debido principalmente a los disturbios antropogénicos relacionados con la destrucción del hábitat por cambio de uso del suelo y aprovechamiento del recurso maderable sin planeación ni control, lo cual genera una estructura heterogénea del paisaje.

Por otra parte, en los bosques de coníferas del municipio existe una infinidad de hongos asociados con las raíces de los árboles, los cuales facilitan un mejor crecimiento y desarrollo en ambos. Estas asociaciones se llaman micorrizas y como resultado, las plantas son más competitivas, capaces de tolerar más el estrés ambiental que las plantas no micorrizadas, mayor eficiencia de absorber nutrientes del suelo, mayor capacidad de retener la humedad en condiciones de sequía, protegen a las raíces de las plantas contra ciertos patógenos y por lo tanto determinan en gran medida el mantenimiento ecológico de las comunidades forestales. Asimismo, muchas especies de hongos que forman micorrizas son comestibles, lo que significa que además de contribuir al desarrollo de los árboles, son fuente de alimento para la comunidad, siendo algunas de las especies de alto valor comercial a nivel nacional e internacional.

La ectomicorriza se presenta normalmente en los bosques templados de la Sierra Madre Occidental e involucra a diversos hongos que se asocian con especies de *Pinaceae*, *Fagaceae*, *Cupressaceae*, *Ericaceae* y muchas otras que tienen gran impor-

tancia forestal.

La composición de especies de hongos que incluyen tanto su número como abundancia, definen la estructura biológica de la comunidad vegetal. La abundancia relativa es una medida que nos ayuda determinar en qué porcentaje contribuye cada especie al conjunto de la comunidad (Smith y Smith, 2001). Asimismo la disimilitud hasta la semejanza completa nos permiten cuantificar el área de distribución de las especies en zonas con diferentes características físicas, indicando las relaciones de distribución de las especies de hongos asociadas a una vegetación específica o de mayor amplitud (Krebs, 1985).

Por ello, la determinación del nivel taxonómico, principalmente a nivel de especie de los hongos ectomicorrízicos, abundancia, diversidad y correlación con la vegetación, son fuente de investigación que indicarán el estatus ecológico de la comunidad forestal y permitirá plantear estrategias para su restauración ecológica y mantenimiento a través del uso de las diferentes especies que se desarrollan de manera silvestre en la región.

### MATERIALES Y MÉTODOS

*Área de estudio.* El Municipio de Bocoyna se localiza en el macizo montañoso de la Sierra Madre Occidental a 220 km al suroeste de la ciudad de Chihuahua, México. Se encuentra ubicado entre las coordenadas 27° 30' y 28° 30' latitud norte y entre los 107° 00' y 108° 00' longitud oeste y una altitud que va desde 1,600 a 2,400 msnm (Silva-Rodríguez, 1990).

Las variables climáticas registradas reportan valores de temperatura media anual de 10.5°C. El mes más caliente es junio, con media máxima de 28.5°C y el mes más frío es enero con media mínima de -3.8°C. La precipitación promedio anual es de 685 mm,

<sup>1</sup> Departamento de Ciencias Básicas, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Forestales, UANL, Campus Linares.

de los cuales 496 mm ocurren en el periodo de verano, 136 mm durante el otoño y el resto (53 mm), en primavera e invierno.

En general, las comunidades vegetales presentes en el área de estudio formada son: Bosque de pino (P), Bosque de pino-encino (Pq) y Bosque de encino-pino (Qp), pero alternando con otras especies arbóreas que representan un considerable espectro de asociación vegetal.

*Trabajo de campo.* Se realizaron 40 transectos de 2,500 m<sup>2</sup> para el área de estudio, dividido en 8 transectos para cada localidad comprendiendo: Bocoyna, San Juanito, Gumeachi, Arareco y Choguita en el municipio de Bocoyna, cubriendo un área muestral de 100,000 m<sup>2</sup>, a través de 4 muestreos durante los meses de julio a septiembre de 2003.

Se ubicaron los puntos de muestreos para las diferentes localidades considerando algunos factores del área tales como: tipo de vegetación, suelo, pendiente, fragmentación, accesibilidad, perturbación, aspectos topográficos, etc.

En cada zona seleccionada se lanzaron transectos de 50 x 50 m<sup>2</sup> para el conteo y colecta de los carpóforos, con el fin de calcular algunos parámetros ecológicos importantes tales como: abundancia relativa, riqueza de especies, equitatividad, índice de diversidad de Shannon-Weiner por localidad e índice de similitud de Sorensen. Se colectó sólo un ejemplar por especie fúngica, el cual fue caracterizado y herborizado siguiendo las técnicas de Cifuentes y col. (1986).

La identificación taxonómica se obtuvo a través del estudio y caracterización de las estructuras microscópicas en preparaciones temporales de cortes del himenóforo en KOH 5% y solución de Melzer y su comparación con literatura especializada tales como: Guzmán (1985), Medel (1997), Miller (1980) Pacioni (1982), Singer (1986), Lincoff (1988), Hanlin (1990) y García y col. (1998), entre otros.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinaron 52 especies consideradas como probables hongos ectomicorrízicos para el municipio de Bocoyna, destacando principalmente especies del género *Amanita*, *Boletus*, *Lactarius*, *Russula*, *Laccaria*, *Lycoperdum* y *Astraeus*.

Las localidades de Bocoyna y Gumeachi registraron una composición de 29 y 23 especies, de las cuales la mayor abundancia se presentó en las especies de *Laccaria*, *Astraeus*, *Russula* y *Suillus*; los primeros son hongos ectomicorrízicos indicadores de plantaciones juveniles de pino (Tabla 1 y 2). Las especies de hongos se registraron asociadas a una vegetación conformada por *Pinus arizonica*, *Quercus depressipes*, *Arbutus xalapensis* y *Arctostaphylos pungens* en una zona de muestreo de bajo impacto pero de un sotobosque con una densidad elevada.

Arareco, es una zona ecoturística establecida por una vegetación de gran diversidad, incluyendo además de las existentes en las localidades anteriores, otras especies de *Pinus* y *Quercus*, *Abies*, *Picea*, *Juniperus* y *Prosopis* entre otras, que enriquecen la heterogeneidad del paisaje. La zona de muestreo presentó una compo-

sición de 29 especies ectomicorrízicas al igual que Bocoyna, sin embargo, a diferencia de las comunidades estudiadas, *Laccaria laccata* no se presenta con la mayor abundancia, esta es atribuible a *Suillus granulatus* asociada principalmente a *Pinus engelmannii* y *P. arizonica*. Destacan principalmente como especies de hongos con capacidad de formar ectomicorrizas, la familia *Amanitaceae*, *Russulaceae* y *Boletaceae* (Tabla 3).

El área de muestreo de la localidad de San Juanito corresponde a una zona de regeneración de *Pinus arizonica*, interactuando espacialmente con algunas especies de *Quercus depressipes* y *Juniperus deppeana* pero en baja densidad. Se registraron 24 especies diferentes de hongos ectomicorrízicos, destacando igualmente especies de *Laccaria*, *Suillus*, *Astraeus* y *Russula*. Sin embargo, *Laccaria laccata* genera el mayor número de ejemplares para esta zona (Tabla 4).

Las localidades de Gumeachi y San Juanito presentaron el mayor porcentaje de abundancia relativa respecto a hongos ectomicorrízicos, destacando el 69 y 67% para *Laccaria laccata*, sin embargo es importante mencionar que todas las áreas de muestreo presentaron la mayor abundancia en esta especie, representando ser un indicador del estado inmaduro de los bosques muestreados.

Asimismo, presentaron los más bajos índices de diversidad y equitatividad, atribuible a que los puntos de muestreo eran más o menos homogéneos con respecto a la vegetación, correspondiendo a zonas de regeneración de *Pinus arizonica* asociada a *Quercus depressipes*, un encino pequeño que aprovecha los espacios entre pinos para desarrollarse. Sin embargo se registran para estas áreas 23 especies más de hongos ectomicorrízicos, indicando que no existe una especificidad en el proceso de micorrización por parte de la especie de pino.

El mayor índice de diversidad y equitatividad de hongos ectomicorrízicos se presentan en la localidad de Choguita, lo cual significa que aunque no se registró la mayor riqueza de especies, la distribución de la abundancia es más o menos equiparable, esto se correlaciona eficientemente con la vegetación, destacando mayormente las especies del género *Quercus*, creciendo sobre un suelo con pendientes muy pronunciadas, calizo y de poca perturbación en cuanto a tala maderable en el área (Tabla 6).

El índice de similitud o coeficiente de comunidad no considera la abundancia relativa. El principal interés es la presencia o ausencia de las especies en dos localidades. Al comparar las 5 localidades evaluando las semejanzas o diferencias de especies ectomicorrízicas, se determinó la similitud entre áreas muestreadas, revelando una heterogeneidad ambiental en la cual se asienta la comunidad de Arareco hacia las localidades restantes, debido precisamente a la diversidad del paisaje ecoturístico y de conservación en contraste con las zonas de plantación forestal y de tala de las cuatro localidades muestreadas. Los índices de similitud más bajos fueron de 0.44 para Arareco-Choguita; 0.52 Arareco-Bocoyna; 0.53 Arareco-San Juanito; y 0.56 Arareco-Gumeachi, a excepción de Gumeachi-Bocoyna, generando una similitud baja de 0.50, debido probablemente al contraste inverso de valores en la diversidad y uniformidad de las especies (Figura 1).

Exceptuando la comunidad de Arareco, los valores más altos de similitud, aunque no tan significativos estuvieron presentes en la relación de San Juanito-Bocoyna (0.71), Choguita-Gumeachi (0.61), Gumeachi-San Juanito (0.65) y Choguita-Bocoyna (0.62).

Estos resultados muestran la importancia de la correlación de la diversidad y abundancia de los hongos ectomicorrízicos sobre la vegetación y viceversa. Por lo tanto, los hongos ectomicorrízicos pueden ser utilizados como factores potenciales para determinar la diversidad y equilibrio de los ecosistemas forestales. Así, cualquier cambio drástico en la población de estos hongos puede tener consecuencias en la composición de las comunidades vegetales causando cambios en la biología del ecosistema. Asimismo, la composición de la comunidad vegetal puede afectar aquella de la comunidad fúngica. Además, los diferentes factores abióticos y antropogénicos como la tala inmoderada, contaminación,

escasez de lluvia, etc., provocan modificaciones de plantas y como consecuencia el estatus micorrízico del ecosistema, por ello es importante establecer programas de uso sustentable de los recursos del bosque integrando el manejo y conservación de las especies arbóreas y hongos ectomicorrízicos.

Las prácticas silviculturales como control de malezas, manejo de la densidad del rodal, quemadas prescritas y otras que promueven el hospedero de cierta especie de hongo en particular, pueden ser herramientas muy útiles para elevar la producción en el futuro.

Asimismo, el aprovechamiento de la madera de una plantación forestal de pinos requiere de 20 a 400 años, sin embargo, la realización de plantaciones forestales inoculadas con mezclas de hongos ectomicorrízicos comestibles, producirán carpóforos de dichas especies anualmente, redituando en alimentos e ingresos económicos antes del turno de aprovechamiento de madera, permitiendo la maduración del bosque y su conservación.

## REFERENCIAS

- Cifuentes, J., M. B. Villegas, L. Pérez-Ramírez (1986). "Hongos". *Manual de Herbario*. México, D. F.: Consejo Nacional de la Flora de México A.C. Pp 55-64.
- García, J., D. Pedraza, C. I. Silva, R. L. Andrade y J. Castillo (1998). *Hongos del Estado de Querétaro*. 1a. edición. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Forestales. P. 263.
- Guzmán, G. (1985). *Hongos* 1ª edición. México, D.F. P. 194.
- Hanlin, T. R. (1990). *Illustrated Genera of Ascomycetes*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.
- Krebs J. Ch. (1985). *Ecología. Estudio de la distribución y abundancia*. 2ª. Edición. México: Harla, S. A.
- Lincoff, G. H. (1981). *The Audubon Society Field Guide to North American Mushrooms*. New York: Alfred A. Knopf.
- Medel R. (1997). "La diversidad de los Ascomicetos en México". VI Congreso Nacional de Micología/IX Jornadas Científicas Montoya, 1993. IX s. Tapachula, Chiapas.
- Miller, O. K. (1980). *Mushrooms of North America*. New York: E. P. Dutton.
- Pacioni, G. (1982). *Guía de hongos*. 1ª edición. Barcelona, España: Grijalbo, S. A. P. 507.
- Pérez-Silva, E., E. Aguirre-Acosta (1985). "Micoflora del estado de Durango". *Rev. Mex. Mic.*, 1, 315-329.
- Silva-Rodríguez, S. (1990). "Caracterización de la flora y fauna silvestre de la Unidad de Conservación y Desarrollo Forestal No. 5". San Juanito-Creel: *U.C.D.F.* No.5.
- Singer, R. (1986). *Agaricales in modern taxonomy*. 4ª Ed. Koenigstein: Koeltz Scientific Books.
- Smith R. L. y T. M. Smith (2001). *Ecología*. 4ª. edición. Addison Wesley.



<b>Tabla 1</b>		
Abundancia de hongos ectomicorrízicos en		
<b>BOCOYNA, CHIHUAHUA</b>		
<b>Especie</b>	<b>No. de ejemplares registrados</b>	<b>Abundancia relativa (%)</b>
<i>Laccaria laccata</i>	662	48.64
<i>Astraeus hygrometricus</i>	173	12.71
<i>Suillus granulatus</i>	149	10.94
<i>Cortinarius sp.</i>	129	9.47
<i>Hygrophorus russula</i>	124	9.11
<i>Russula emetica</i>	31	2.27
<i>Russula brevipes</i>	17	1.24
<i>Lycoperdon equinatum</i>	12	0.88
<i>Russula mexicana</i>	8	0.58
<i>Russula delica</i>	6	0.44
<i>Lycoperdon perlatum</i>	5	0.36
<i>Amanita virosa</i>	5	0.36
<i>Laccaria bicolor</i>	5	0.36
<i>Amanita gemata</i>	4	0.29
<i>Boletellus russelli</i>	4	0.29
<i>Amanita vaginata</i>	3	0.22
<i>Amanita rubescens</i>	3	0.22
<i>Amanita muscaria</i>	3	0.22
<i>Xerocomus durangensis</i>	3	0.22
<i>Cantharellus cibarius</i>	2	0.14
<i>Lactarius lilacinus</i>	2	0.14
<i>Amanita pantherina</i>	2	0.14
<i>Amanita citrina</i>	2	0.14
<i>Suillus tomentosus</i>	2	0.14
<i>Tricholoma</i>	1	0.07
<i>Russula cyanoxantha</i>	1	0.07
<i>Boletus edulis</i>	1	0.07
<i>Boletus pinophilus</i>	1	0.07
<i>Boletus variipes</i>	1	0.07
<b>TOTAL</b>	<b>1,360</b>	<b>99.8%</b>

<b>Tabla 2</b>		
Abundancia de hongos ectomicorrízicos en		
<b>GUMEACHI, CHIH.</b>		
<b>Especie</b>	<b>No. de ejemplares registrados</b>	<b>Abundancia relativa (%)</b>
<i>Laccaria laccata</i>	812	69.7
<i>Laccaria amethystina</i>	197	16.9
<i>Suillus granulatus</i>	41	3.52
<i>Astraeus hygrometricus</i>	35	3.0
<i>Russula emetica</i>	26	2.23
<i>Amanita fulva</i>	19	1.63
<i>Suillus granulatus</i>	4	0.34
<i>Amanita rubescens</i>	3	0.25
<i>Boletus pinophilus</i>	3	0.25
<i>Russula cyanoxantha</i>	3	0.25
<i>Amanita vaginata</i>	3	0.25
<i>Cantharellus cibarius</i>	2	0.17
<i>Melanoleuca melaleuca</i>	2	0.17
<i>Lactarius deliciosus</i>	2	0.17
<i>Lactarius torminosus</i>	2	0.17
<i>Amanita muscaria</i>	1	0.08
<i>Clitocybe gibba</i>	1	0.08
<i>Boletus brevipes</i>	1	0.08
<i>Russula delica</i>	1	0.08
<i>Amanita verna</i>	1	0.08
<i>Russula mexicana</i>	1	0.08
<i>Lycoperdon equinatum</i>	1	0.08
<i>Amanita caesarea</i>	1	0.08
<b>Total</b>	<b>1,164</b>	<b>99.6 %</b>

<p align="center"><b>Tabla 3</b>            Abundancia de hongos ectomicorrízicos en  <b>ARARECO, CHIH.</b></p>		
<b>Especie</b>	<b>No. de ejemplares registrados</b>	<b>Abundancia relativa (%)</b>
<i>Suillus granulatus</i>	174	38.0
<i>Laccaria laccata</i>	167	36.5
<i>Hygrophorus russula</i>	42	9.19
<i>Suillus americanus</i>	10	2.18
<i>Lycoperdon perlatum</i>	7	1.53
<i>Amanita vaginata</i>	7	1.53
<i>Amanita muscaria</i>	6	1.31
<i>Boletus pinophilus</i>	5	1.09
<i>Astraeus hygrometricus</i>	4	0.87
<i>Russula emetica</i>	4	0.87
<i>Amanita verna</i>	3	0.65
<i>Lactarius torminosus</i>	3	0.65
<i>Boletus subtomentosus</i>	2	0.437
<i>Suillus pictus</i>	2	0.437
<i>Xerocomus durangensis</i>	2	0.437
<i>Russula delica</i>	2	0.43
<i>Amanita polipiramis</i>	2	0.43
<i>Amanita caesarea</i>	2	0.43
<i>Laccaria bicolor</i>	2	0.437
<i>Melanoleuca melaleuca</i>	2	0.437
<i>Amanita flavorubescens</i>	1	0.218
<i>Amanita gemmata</i>	1	0.218
<i>Amanita variabilis</i>	1	0.218
<i>Amanita virosa</i>	1	0.218
<i>Lactarius deliciosus</i>	1	0.21
<i>Boletus sp.</i>	1	0.21
<i>Lactarius uvidus</i>	1	0.218
<i>Russula cyanoxantha</i>	1	0.00218
<i>Boletus frostii</i>	1	0.00218
<b>Total</b>	<b>457</b>	<b>99.8 %</b>

<b>Tabla 4</b> Abundancia de hongos ectomicorrízicos en <b>SAN JUANITO, CHIH.</b>		
<b>Especie</b>	<b>No. de ejemplares registrados</b>	<b>Abundancia relativa (%)</b>
<i>Laccaria laccata</i>	1,190	67.5
<i>Laccaria bicolor</i>	158	8.9
<i>Russula emetica</i>	103	5.84
<i>Suillus granulatus</i>	95	5.39
<i>Astraeus hygrometricus</i>	46	2.6
<i>Laccaria amethystina</i>	24	1.36
<i>Amanita muscaria</i>	20	1.13
<i>Amanita virosa</i>	20	1.13
<i>Russula cyanoxantha</i>	19	1.07
<i>Russula mexicana</i>	19	1.07
<i>Amanita pantherina</i>	16	0.9
<i>Boletus pinophilus</i>	11	0.62
<i>Lycoperdon equinatum</i>	11	0.62
<i>Amanita vaginata</i>	6	0.34
<i>Lycoperdon perlatum</i>	6	0.34
<i>Amanita rubescens</i>	5	0.28
<i>Amanita gemata</i>	3	0.17
<i>Boletellus russelli</i>	2	0.11
<i>Tricholoma sp.</i>	2	0.11
<i>Boletus aff. edulis</i>	2	0.11
<i>Amanita verna</i>	1	0.056
<i>Lactarius deliciosus</i>	1	0.056
<i>Lactarius zonatus</i>	1	0.056
<i>Russula delica</i>	1	0.056
<b>Total</b>	<b>1,762</b>	<b>99.8 %</b>

<b>Tabla 5</b> Abundancia de hongos ectomicorrízicos en <b>CHOGUITA, CHIH.</b>		
<b>Especie</b>	<b>No. de ejemplares registrados</b>	<b>Abundancia relativa (%)</b>
<i>Laccaria laccata</i>	74	36.27
<i>Russula emetica</i>	28	13.72
<i>Xerocomus duranguensis</i>	13	6.37
<i>Suillus granulatus</i>	12	5.88
<i>Russula cyanoxantha</i>	11	5.39
<i>Laccaria purpurea</i>	7	3.43
<i>Lycoperdon equinatum</i>	7	3.43
<i>Amanita vaginata</i>	7	3.43
<i>Tricholoma sp.</i>	7	3.43
<i>Astraeus hygrometricus</i>	5	2.45
<i>Boletus sp.</i>	5	2.45
<i>Russula delica</i>	3	1.47
<i>Amanita muscaria</i>	3	1.47
<i>Russula mexicana</i>	3	1.47
<i>Leccinum manzanitae</i>	3	1.47
<i>Leccinum auriantacum</i>	2	0.98
<i>Amanita pantherina</i>	2	0.98
<i>Amanita rubescens</i>	2	0.98
<i>Amanita alexander</i>	2	0.98
<i>Boletus frostii</i>	1	0.49
<i>Boletus edulis</i>	1	0.49
<b>Total</b>	<b>208</b>	<b>97.0 %</b>

<b>Tabla 6</b>			
<b>PARÁMETROS ECOLÓGICOS POR LOCALIDAD</b>			
<b>Localidad</b>	<b>Riqueza de especies</b>	<b>Índice de diversidad</b>	<b>Equitatividad</b>
San Juanito	24	0.58	0.18
Bocoyna	29	2.53	0.75
Arareco	29	2.38	0.70
Gumeachi	23	1.58	0.50
Choguita	22	3.46	0.89

<b>FIGURA 1</b>					
<b>ÍNDICE DE SIMILITUD</b>					
<b>Localidad*</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
1	0.60	0.65	0.53	0.71	1
2	0.62	0.50	0.52	1	
3	0.44	0.56	1		
4	0.68	1			
5	1				

\* 1: San Juanito, 2: Bocoyna, 3: Arareco, 4: Gumeachi, 5: Choguita

**(Diagrama de Treillis)**

## FUNCIONES DE LA

# Enzima 5'-nucleotidasa (5'-NT)

## en la naturaleza

Ángel Gabriel Díaz Sánchez, Jesús Ángel Araujo-González, José R. Peralta-Videa,  
Jorge L. Gardea-Torresdey y Alejandro Martínez-Martínez\*\*

*La enzima 5'-nucleotidasa (5'-NT) se encuentra presente tanto en organismos unicelulares (bacterias) como en organismos multicelulares, incluyendo al humano. Como enzima, hidroliza ésteres de fosfato presentes en nucleótidos complejos tales como el AMP, IMP, UDP-glucosa, FAD y el NAD. En animales superiores funciona como proteína de adhesión extracelular y como marcador de diferenciación del linfocito (CD 73).*

### INTRODUCCIÓN

Las enzimas son proteínas que reducen la barrera energética de transformación de un compuesto (sustrato) en su(s) respectivo(s) producto(s); tienen un alto grado de especificidad en las reacciones de los sistemas biológicos, por lo que es común llamarlas “catalizadores biológicos”. Las enzimas permiten mantener los procesos bioquímicos de las células y con ello, la integridad y estabilidad que caracteriza a los organismos.

Debido a que las enzimas pueden funcionar como catalizadoras y proteínas, se han realizado estudios para utilizarlas en numerosas aplicaciones de la industria y en la medicina, esto es, como catalizadoras y como moléculas de señalización. El estudio de las reacciones enzimáticas es necesario para entender las adaptaciones anatomofuncionales que han adquirido las células a lo largo de la evolución, así como para su potencial uso en aplicaciones biotecnológicas.

La 5'-nucleotidasa (5'-NT), se descubrió en 1934 cuando Reís (1934) publicó que las suspensiones de músculo esquelético y de corazón contenían un catalizador capaz de hidrolizar de una manera altamente específica a pH neutro varios nucleósidos 5' monofosfato (Figura 1); posteriormente a esta enzima se le asignó el nombre de 5'-nucleotidasa (EC 3.1.3.5).

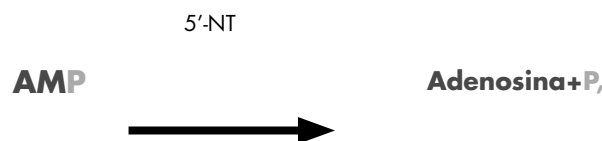
### NUCLEÓTIDOS

Los nucleótidos (Figura 2) se pueden definir químicamente como moléculas de bajo peso molecular constituidos por un azúcar de cinco carbonos (la ribosa o la desoxirribosa), una base nitrogenada (anillo de purina o pirimidina) y un residuo del ácido orto-fosfórico enlazado al azúcar en el carbono 5'.

Los nucleótidos tienen tres funciones importantes en los procesos metabólicos de los seres vivos: 1) son los monómeros de los ácidos nucleicos que conforman el genoma de los organismos, 2) son portadores de la energía química necesaria para llevar a cabo distintos procesos metabólicos, y 3) son coenzimas necesarias para la catálisis de distintas reacciones enzimáticas (como el NAD y FAD mencionados anteriormente).

Los nucleótidos que tienen el azúcar ribosa se conocen como ribonucleótidos, y los nucleótidos que tienen el azúcar desoxirribosa (sustitución de un grupo -OH por un H en carbono 3') se conocen como desoxirribonucleótidos. Una base nitrogenada y el azúcar ribosa o desoxirribosa sin el grupo fosfato recibe el nombre de ribonucleósido o desoxirribonucleósido, respectivamente (en forma genérica, nucleósido).

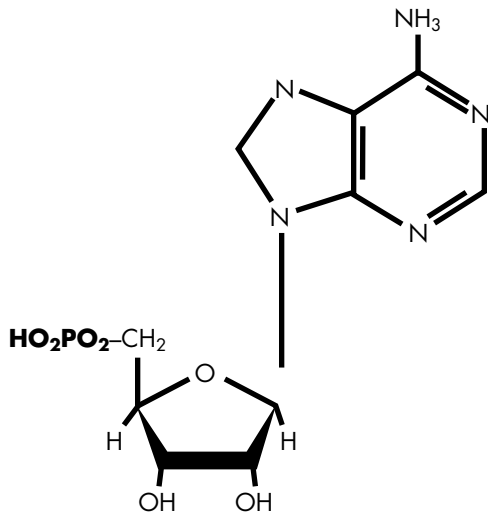
Los nucleótidos son conocidos como monofosfato, difosfato o trifosfato, dependiendo del número de fosfatos que contenga.



**Figura 1.** Hidrólisis de adenosina monofosfato (AMP) catalizada por la 5'-NT. Los productos son adenosina y fosfato inorgánico (Pi). La flecha indica que bajo condiciones fisiológicas, la reacción está desplazada a la derecha.

\*Ver acerca de los autores, al final del artículo

También hay nucleótidos cíclicos que se unen al azúcar mediante un enlace fosfodiéster entre los carbonos 3' y 5' del azúcar.



**Figura 2.** Esquema de un nucleósido 5'-monofosfato (AMP)

#### LA 5'-NT Y SUS IMPLICACIONES METABÓLICAS

Las suspensiones y extractos de distintos tejidos que presentan actividad 5'-NT, después de un periodo de incubación con nucleósidos monofosfatados, producen fosfato inorgánico y el correspondiente ribo o desoxirribonucleósido. Según la nomenclatura sistemática, la 5'-NT es una fosfohidrolasa (E.C.3.1.3.5); sin embargo, en términos de adecuación se ha postulado que la reacción identificada como EC 3.1.3.5 incluye un grupo de enzimas (isoenzimas) relacionadas y ampliamente distribuidas tanto en organismos eucarióticos como procarióticos (Zimmermann, 1992). A la fecha no se han descrito fármacos capaces de discriminar las distintas isoenzimas con actividad E.C.3.1.3.5.

Desde la década de los sesenta hasta la fecha, la 5'-NT ha sido objeto de numerosos estudios dirigidos a establecer sus propiedades fisiológicas dentro de los tejidos humanos y su uso potencial como marcador de patologías, ya que su valoración es de gran utilidad para el diagnóstico de diversas enfermedades hepáticas, hematológicas y neoplásicas (Sunderman, 1990).

Es importante investigar las propiedades de la enzima purificada a partir de distintos tejidos y fluidos biológicos para entender su adecuación funcional y las implicaciones patológicas de su incremento o disminución.

#### ESPECIFICIDAD

La 5'-NT cataliza la hidrólisis del enlace éster entre el grupo fosfato y el grupo hidroxilo del carbón 5' del anillo del azúcar de los nucleósidos monofosfato (ver Figura 1 y 2). Aunque la afinidad por el AMP presenta el común denominador de todas las nucleotidasas, estas enzimas son capaces de hidrolizar diversos nucleósidos di y trifosfatos, tanto en anillos purínicos como

pirimidínicos (Dornand y col., 1978; Zimmermann, 1992; Itoh, 1993). También muestran actividad sobre algunos nucleótidos complejos como el FAD (Takei y col, 1969) y la UDP-glucosa (Beachman y Wilson, 1982), además de actividad fosfotransferasa (Itoh, 1993., Pesi y col., 1994,1996).

El hallazgo de formas membranales y solubles de 5'-NT en los tejidos de los mamíferos, así como la presencia de 5'-NT en bacterias y vertebrados invita a estudiar a todas las proteínas con actividad de nucleotidasa a la luz de la selección evolutiva (Zimmermann, 1992). Las formas solubles de la 5'-NT regulan el nivel intracelular de nucleósidos 5' monofosfatos; la forma ligada a la membrana cataliza la reacción final de hidrólisis hasta el correspondiente nucleósido, que después por sistemas específicos son introducidos al interior de la célula en donde seguramente regeneran a los nucleótidos correspondientes (Johansson y Eriksson, 1996).

Los nucleótidos de adenina y la adenosina tienen actividad neuromoduladora sobre receptores purinérgicos (Burnstock, 1989; Ribeiro y Sebastián, 1987; James y Richardson, 1993). Por tanto, la excitabilidad neural depende de: 1) la concentración relativa de los nucleótidos y nucleósidos, 2) de las enzimas implicadas en la génesis y degradación de los nucleótidos y nucleósidos, y 3) de la afinidad de los sistemas de captura de los nucleósidos. Se ha sugerido que la 5'-NT, tiene implicaciones en la adhesión extracelular por medio de complejos de laminina y de nidogen (Stochaj y col. 1989; Vogel y col., 1991). Además, se encontró que la enzima es un marcador de diferenciación celular llamado CD73 (complejo de diferenciación) (Synnestvedt y col. 2002), y que está presente en las membranas de todas las células de vertebrados. Lo más probable en términos de adecuación funcional, es que el papel fisiológico de las nucleotidasas sea diferente, dependiendo del tejido y del organismo de donde se extraiga.

#### LAS NUCLEOTIDASAS EN LA NATURALEZA

Existe actividad nucleotidasa en una gran gama de organismos que va desde las bacterias, hongos y levaduras, hasta plantas y tejidos de vertebrados (Zimmermann, 1992). Sin embargo, como ya se mencionó, las propiedades bioquímicas de la proteína son diferentes en cada organismo. Así por ejemplo, en la bacteria marina *Vibro parahaemolyticus*, la función hidrolítica de la 5'-NT depende de iones Cl<sup>-</sup> y su secuencia aminoacídica muestra una identidad de 60% con la UDP-hidrolasa de *E. coli* (Burns y Beacham, 1986). La enzima de la levadura *Saccharomyces oviformis* desfosforila todos los desoxi y ribonucleósidos 5'-monofosfato, pero no tiene actividad sobre los ésteres de fosfatos de los azúcares. Además, esta enzima posee actividad pirofosfatasa frente a NAD<sup>+</sup>, NADH, FAD o ATP (Takei y col. 1969). Se ha sugerido que los sitios activos implicados en las propiedades catalíticas de la actividad de pirofosfatasa y fosfatasa se encuentran en distintos dominios de la enzima (Sträter y col. 1995).

En extractos de patata, tomate, maíz, uva y fracciones microsomales ricas en membrana de Golgi y membrana plasmática, se han encontrado formas de la enzima solubles en la matriz fluida extramitocondrial y formas ligadas a la membrana plasmática



vegetal (Gupta y Sharma, 1996). Sin embargo, las 5'-NT de membrana plasmática y membrana de Golgi difieren en tamaño molecular e interacción con sueros de anticuerpos contra 5'-NT. De manera que un antisuero preparado contra la enzima de la membrana plasmática no reconoce a la enzima de Golgi (Gupta y Sharma, 1996). Además, los anticuerpos preparados contra la enzima extraída de membrana plasmática de cotiledones de cacahuate no reconoce tampoco las 5'-NT's de membrana plasmática de guisante, soja, garbanzo o trigo (Gupta y Sharma, 1996). La eficiencia catalítica de 5'-NT varía considerablemente dependiendo de la planta de donde se extraiga, pero al parecer todas las 5'-NT del reino vegetal muestran una actividad máxima a pH ácido, lo que podría favorecer la extracción de fosfatos a partir del suelo (Polya, 1974; 1975; Chong-Maw Kristopeit, 1981; Carter y Tipton, 1986).

#### CLASIFICACIÓN DE LAS 5'-NT

Se han descrito varios tipos de 5'-NT en diversos tejidos y fluidos de vertebrados. En general estos tipos de enzimas se han clasificado en cuatro clases de acuerdo a su localización subcelular y eficiencia catalítica por diversos sustratos (Zimmermann, 1992).

1. eNT es la enzima de membrana, con  $K_m$  por AMP del orden del  $\mu M$
2. cNT-I es una proteína citosólica con preferencia por AMP, con una  $K_m$  del orden del mM
3. cNT-II es una proteína citosólica e hidroliza inositol monofosfato de forma más eficiente que frente a AMP.
4. eNTs, forma soluble de la enzima, al parecer derivada de la enzima asociada a la membrana (eNT), ya que comparte sus características cinéticas y estructurales.

Se han identificado formas de 5'-NT en bacterias y plantas. Pero la mayor parte de la información en relación con la función fisiológica de la proteína se ha obtenido a partir de tejidos de verte-

brados. Las bacterias contienen formas solubles y membranales de la enzima, probablemente codificadas por genes distintos. En plantas también se han identificado formas solubles y asociadas a la membrana en fracciones microsomales de maíz (Carter y Tipton, 1986) y en extractos de los nódulos de raíz de soja (Oestergaard y col. 1991). Pero, como siempre, es difícil determinar si las formas solubles de la enzima son intrínsecas al tejido, o bien, si son productos degradativos de las enzimas asociadas a las membranas.

#### CATÁLISIS

Se han publicado numerosas investigaciones sobre la capacidad hidrolítica de la enzima, sin embargo queda por aclarar su regulación y las funciones concretas que desempeña la enzima en el organismo. Es posible diferenciar varios tipos de nucleotidasas, según el sustrato de preferencia (Tabla 1). Las nucleotidasas citosólicas difieren de las membranales por su cinética. Las eNT's además de hidrolizar nucleósidos monofosfatos en algunas ocasiones tienen la capacidad de hidrolizar nucleósidos tri y difosfatos.

La capacidad de la eNT para hidrolizar los 5'-desoxirribonucleósidos depende del organismo y el tejido de donde se extraiga. La eNT no hidroliza a los ribonucleósidos 2' y 3' monofosfato ni tampoco hidroliza los estereoisómeros L de los nucleótidos (Zimmermann, 1992). En cuanto a cinética enzimática, la eNT hidroliza preferentemente AMP con una relación de  $V_{max}/K_m$  de 5 a 20  $\mu M$  (Camici y col., 1985; Dieckhoff y col., 1985; Grondal y Zimmermann, 1987; Flocke y Mannherz, 1991; Zimmermann, 1992).

Las formas citosólicas de 5'-NT parece ser que están implicadas en la regulación de la concentración de AMP e IMP intracelulares. cNT-I ha sido solamente estudiada en el corazón de vertebrados (Skladanowski y col. 1996). Por el contrario, se ha encontrado que la cNT-II abunda en diversos tejidos de vertebrados y que también se encuentra presente en el corazón dentro de células del miocardio

<b>Tabla 1*</b>			
<b>ECTONUCLEOTIDASAS EN TEJIDO NERVIOSO</b>			
<b>Ecto-nucleotidasa</b>	<b>Clasificación EC</b>	<b>Sustrato</b>	<b>Producto</b>
Ecto-ATPasa	3.6.1.3	ATP	ADP + Pi
Ecto-ADPasa	3.6.1.6	ADP	AMP + Pi
Ecto-ATP-difosfohidrolasa	3.6.1.5	ATP	AMP + 2Pi
Ecto-adenilato-cinasa	2.7.4.3	ATP + AMP	ADP
Ecto-ATP-pirofosfatasa	3.6.1.8	ATP	AMP + 2Pi
Ecto-5'-nucleotidasa (eNT)	3.1.3.5	AMP	Adenosina + Pi
Ecto-fosfatasa alcalina	3.1.3.1	ATP → ADP → AMP	Adenosina + 3Pi

\*Ectonucleotidasas en tejido nervioso (Zimmermann, 1992).

(Darvish y Meeting, 1993). (Ver Tabla 2, Pag. 42)

Las formas citosólicas de 5'-NT hidrolizan los ribonucleósidos 5'-monofosfatos. Sin embargo, son capaces de hidrolizar a los desoxirribonucleósidos 5'-monofosfatos. La enzima cNT-I hidroliza AMP mejor que IMP y es estimulada por ADP, pero no por ATP; en presencia de ADP, su  $K_m$  cambia desde una  $K_m$  del orden mM a una del orden  $\mu$ M (Zimmermann, 1992) ver Tabla 2. La enzima cNT-II prefiere como sustrato a IMP presentando

una cinética hiperbólica frente a IMP y sigmoideal frente a AMP. Sus valores de  $K_m$  oscilan entre 0.1 y 0.6 mM para IMP y de entre 1 y 15 mM frente a AMP (Zimmermann, 1992) La cNT-II es ocasionalmente llamada IMPasa (Itoh, 1993).

Numerosos estudios realizados en relación de la actividad de la cNT-I frente a análogos de AMP e IMP, parecen mostrar que el sustrato preferente de la cNT-I es el AMP (Skladanowski y col., 1996). Por esta razón, se ha propuesto que la cNT-I funciona como

**Tabla 2\***  
**PROPIEDADES ESTRUCTURALES DE NUCLEOTIDASAS**

Tipo de Nucleotidasas	ENT y eNT's	cNT-I	cNT-II
Masa molecular aparente			
(kDa):			
Nativa	120-160		
Monomerizada	60-80	150	200-265
Km aparente por:	40	52-70	
AMP	1-50 $\mu$ M	2-8mM	1-15mM
IMP	10-50 $\mu$ M	-	0.1-0.6mM
Efectores: inhibición (I), Activación (a), sin efecto (0)			
ATP	I	0	a*
ADP	I	a*	a*
Pi	0	I	i
$\alpha,\beta$ -MADP	I	0	0
$\beta$ GP	-	-	a
Con A	I	0	0
Metal nativo:	Zn +2	-	-
Hidrólisis de pNPP	No	No	No
pH óptimo	7-8	6.5	6-7
Anclaje a la membrana	GPI	-	-
Sustratos hidrolizados:			
	NMP,UDP-Glc(Torpedo)		
		NMPy dNMP	
			NMPy dNMP
Sustrato preferido:	AMP	AMP	IMP
*Propiedades de nucleotidasas. Las abreviaturas son las siguientes: $\alpha,\beta$ -MADP ( $\alpha,\beta$ -metiladenosina, 5'-difosfato); $\beta$ GP( $\beta$ -glicerolfosfato); Con A (concanavalina A); GPI (glicosil-fosfatidil inositol). a* la km se ajusta en el rango del $\mu$ M. Zimmermann (1992).			

una proteína sensora de AMP en las células del miocardio, degradando rápidamente AMP proveniente de la hidrólisis de ATP.

Es probable que la naturaleza del sitio activo de la eNT de hígado de bovino sea de carácter hidrofóbico, ya que se sabe que en el centro catalítico participan uno o más restos aminoacídicos de carga negativa-Asp o Glu y uno o dos restos de His (Harb y col., 1986).

En la Tabla 3 se muestra que algunas enzimas con capacidad hidrolítica sobre restos fosfato de mononucleótidos presentan tres regiones conservadas denominadas "motivos secuenciales de fosfoesterasa" (Koonin, 1994).

Las tres regiones conservadas de las fosfoesterasas también se encuentran en fosfoproteinfosfatasa, esfingomielin fosfomonoesterasa, apirasa de mosquito, 5'-NT de vertebrados y bacterias. Además, estos motivos están presentes en diadenosín tetrafosfatasa de bacteria y en una forma muy semejante a 5'-NT de garrapata (*Boophilus*). Todos estos hallazgos sugieren que dichas enzimas utilizan una estrategia catalítica similar para cortar el enlace éster fosfato.

#### LA 5'-NT Y SU PAPEL EN LA NEUROTRANSMISIÓN

Se ha observado que después del daño cerebral aparece inmunorreactividad para eNT en microglía, células de Schwann, células satélite proliferantes y fibroblastos (Kreutzberg y Barron, 1978), lo

(Schoen y col., 1988; 1990; Bailly y col., 1990). Todas estas observaciones sugieren que la 5'-NT participa en las modificaciones de los circuitos corticales que dependen de la actividad motriz (Schoen y col., 1988; 1990). Sin embargo, también es posible que la hidrólisis del AMP observada en el tejido neural tenga lugar por la acción de fosfatasa de la superficie celular distintas de la 5'-NT.

Dado que los receptores de adenosina en cerebro se localizan sólo parcialmente junto a la eNT, parece poco probable que en todos los casos haya una correlación entre producción de adenosina, vía eNT, y la acción neuromoduladora del nucleósido. La eNT posee alta proporción de restos de azúcares, por lo que ejerce otras funciones además de la hidrólisis del AMP. La enzima del órgano eléctrico de peces y del córtex cerebral de gato contiene el epítipo glicosídico HNK-1, una cadena oligosacárida identificada en otras proteínas de membrana que participan en las asociaciones célula-célula y célula-matriz extracelular (Stochaj y col., 1989; Vogel y col., 1991). Por tanto, es posible que la enzima esté implicada en el reconocimiento celular. Diversos datos experimentales favorecen esta hipótesis: 1) la fibronectina y laminina (proteínas de la matriz extracelular) se unen específicamente a la eNT (Risse y col., 1989; Stochaj y col., 1989a), de modo que la laminina produce la estimulación y la fibronectina la inhibición de la enzima (Dieckhoff y col., 1986; Tsushima, 1986; Stochaj y col., 1989a; 1990; Yamazaki y col., 1991; Hito y Yamada,

<b>Tabla 3*</b>			
<b>DOMINIOS CONSERVADOS EN LAS FOSFOESTERASAS</b>			
<b>Fosfoesterasa</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>
Ap4Ase (E. coli)	YLIGDVHGCYD	LWLTGDLVAR	LVLGNHDLHL
5'-Nucleotidasa (Rata)	MHTNDVHSRLE	LLDAGDQYQG	MALGNHEFDN
5'-Nucleotidasa (Raya)	LHTNDVHARVE	LLDAGDQYQG	MALGNHEFDN
Apirasa (Mosquito)	IHINDLHARFE	YLNAGDNFQG	MATGNHEFDN
UshA (E. coli)	LHTNDHHGHFW	LLSGGDINTG	MAIGNHEFDN
Calineurina (rata)	TVCGDIHGQFF	YLFLGDYVDR	LLRGNHECRH
*Dominios conservados en algunas enzimas con capacidad fosfoesterasa (negritas)			

que seguramente indica que la 5'-NT participa de alguna manera en los procesos regenerativos del tejido endoneural del sistema nervioso (Kreutzberg y Barron, 1978). Por otra parte, en el cerebro maduro la 5'-NT se encuentra principalmente asociada a células gliales, pero en cerebro inmaduro de rata, la enzima abunda en la superficie de células nerviosas en migración (Schoen y col., 1988), lo que lleva a admitir que la enzima puede participar en la neurogénesis.

En corteza visual de cachorros de gato (estadio en proceso de remodelación de los centros oculares), la 5'-NT se expresa de manera transitoria de forma paralela al fenómeno de morfogénesis

1991), 2) la interacción de la eNT con fibronectina y laminina se bloquea con anticuerpos contra la enzima (Stochaj y col., 1989a), 3) la eNT incorporada en liposomas fija fibronectina en forma específica y saturable (Stochaj y col., 1989a; 1990), y 4) los anticuerpos anti 5'-NT inhiben el desplazamiento de los fibroblastos cuando se les cultiva sobre una base de laminina (Dieckhoff y col., 1986; Codogno y col., 1988; Stochaj y col., 1989a). Todos estos resultados apuntan hacia la posible implicación de la enzima en la asociación de las células con la matriz extracelular o con otras células. Puesto que la laminina y la fibronectina pueden ser importantes para la regulación de la proliferación celular y

metástasis, es posible que la eNT se comporte como un receptor de los componentes de la matriz extracelular, de modo que la ecto-enzima de las células tumorales permita su implantación en otros tejidos a través de los elementos del citoesqueleto.

Recientes estudios sugieren que la 5'-NT es responsable de la producción de adenosina proveniente del ATP liberado en sinapsis nerviosas. Se desconoce el estado de agregación molecular de la enzima en las terminaciones nerviosas y la localización exacta de la enzima(s) responsable de la hidrólisis del ATP hasta adenosina.

### CONCLUSIÓN

La 5'-NT es una enzima multifacética que parece haber surgido muy temprano en la escala evolutiva. Es interesante estudiar cómo ha pasado de ser una enzima que participa en la recuperación de nucleótidos extracelulares hasta en su posible participación en la regulación de las vías purinérgicas de los sistemas nerviosos. Además, la actividad nucleotidasa se ha relacionado con enfermedades como la diabetes y neoplasias. Se desconoce si su incorporación en las sinapsis es un fenómeno de especialización o una reminiscencia evolutiva. Hasta el conocimiento de los autores, sería la primera enzima en cumplir con las características de liberación sináptica de un neurotransmisor. En un futuro toda la información del funcionamiento de la enzima permitiría manejar fármacos que ejerzan su efecto sobre el dolor.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al CONACYT el financiamiento para estudios de la 5'-nucleotidasa (J41836-Q), así como a los fondos internos de la UACJ.

Ángel Gabriel Díaz Sánchez agradece al apoyo del CONACYT durante la elaboración de esta revisión.

The authors acknowledge the financial support from the National Institutes of Health (Grant S06GM8012-33) and the NIH Center for the Border Health (grant No. 26-8600-29)".

### ACERCA DE LOS AUTORES

Díaz Sánchez, A. G. es estudiante del área terminal de Química con especialidad en genética aplicada, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. *al50404@uacj.mx*

Araujo-González Jesús A. es estudiante de la Maestría del programa PBION del CINVESTAV, realiza su tesis de maestro en ciencias en la carrera de Química, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. *jaraujo@uacj.mx*

Martínez-Martínez, A. es investigador/docente de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. *amartine@uacj.mx*.

Peralta-Videa José R. es investigador asociado en el Departamento de Química de la Universidad de Texas en El Paso. *jperalta@utep.edu*

Gardea-Torresdey Jorge L. es Jefe del Departamento de Química de la Universidad de Texas en El Paso. *jgardea@utep.edu*

### CORRESPONDENCIA

En la UACJ: Laboratorio V205, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciencias Básicas, Programa de Química, Anillo Envolverte del Pronaf y Estocolmo, Ciudad Juárez, Chihuahua, C. P. 32310, Tel. 52(656) 688-1800, EXT 1984; Fax. 52(656) 688-1836.

En UTEP: Department of Chemistry and <sup>3</sup> Environmental Science and Engineering PhD Program; University of Texas at El Paso, El Paso, Texas 79968-0513. (Phone +915-747-5359, Fax: +915-747-5748.

## REFERENCIAS:

- Anner, B., Moosmayer M. (1975). "Rapid Determination of Inorganic Phosphate in Biological Systems by a Highly Sensitive Photometric Method". *Analytical Biochemistry*, 65, 305-309.
- Bailly, Y., Schoen S. W., Delhay-Bouchaud N., Kreutzberg G. W., Mariani, J. (1990). "Synaptic localization of 5'-nucleotidase activity in the cerebellar cortex in adult rats irradiated by X rays after birth". *C R Acad Sci III*, 311:487-93.
- Beachman, I. R y Wilson, M. S. (1982). "Studies of UDP-sugar hidrolases from *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*". *Arch. Biochem. Biphys.* 218, 603-608.
- Burns, D. M. y Beacham, I. R. (1986). "Identification and sequence analysis of silent gene (*ushA*) in *Salmonella typhimurium*". *J. Mol. Biol.*, 192, 163-175.
- Burnstock, G. (1981). "Neurotransmitters and trophic factors in the autonomic nervous system". *J. Physiol. London*, 313, 301-305.
- Camci, M., Fini, C. y Ipata, P. L. (1985). "Isolation and kinetic properties of 5'-nucleotidase guinea pig skeletal muscle". *Bichim. Biphys. Acta.*, 840, 6-12.
- Carter, S. G. y Tipton, C. L (1986). "Purification and characteritaton of 5'-nucleotidase from *Zea mays* microsomes". *Phytochemistry*, 25, 33-37.
- Chong-Maw, C. y Kristopeit, S. M. (1981). "Metabolism of citokinin". *Plant Physiol.*, 67, 494-498.
- Codogno, P., Doyonnette-Moyne, M. A., Aubery, M., Dieckhoff, J., Lietzke, R. y Mannhertz, H. G. (1988). "Polyclonal and monoclonal antibodies against chicken gizzard 5'-nucleotidase inhibit the sprading process of chicken embrionic fibroblast on laminin substratum ". *Exp. Cell Res.*, 174, 344-354.
- Cunha, R. A., Brendel P., Zimmermann H. y Ribeiro J. A. (2000). "Immunologically Distinct Isoforms of Ecto-59-Nucleotidase in Nerve Terminals of Different Areas of the Rat Hippocampus". *J. Neurochemistry*, 74(1), 334-338.
- Darvish, A. y Metting, P. J. (1993). "Purification and regulation of AMP-specific cytosolic 5'-nucleotidase from dog heart". *Am. J. Physiol.*, 264, 1528-1534.
- Dieckhoff, J., Mollenhauer, J., Kuhl, U., Niggemeyer, B., Von der Mark, K. y Mannhertz, H. G. (1986). "The extracellular matrix protins laminin and fibronectin modify the AMPase activity of 5'-nucleotidase from chicken gizzard smooth muscle". *FEBS Lett.*, 195, 82-85.
- Dieckhoff, J. Knebel, H., Heidemann, M. y Mannhertz, H. G. (1985). "An improved procedure for purifying 5'-nucleotidase from varius sources: evidence for tissue and species differnces in their molecular mass and affinity for F-actin". *Eur. J. Biochem.*, 151, 377-383.
- Donard, J., Bonnafous, J. C. y Mani, J. C. (1978). "Effects of Con-A and other lectins on pure 5'-nucleotidase isolated from lymphocyte plasma membrane". *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 82, 685-692.
- Egloff, M.-P., W. Cohen P. T., Reinemer P. & Barford D. (1995). "Crystal structure of the catalytic subunit of human protein phosphatase 1 and its complex with tungstate". *J. Mol. Biol.* 254, 942-959.
- Fiske, C. H. y Subbarow Y. (1925). "Colorimetric determination of phosphorus". *J. Biol. Chem.*, 66, 375-400.
- Flocke, K. y Mannhertz, H. G. (1991). "Isolation and cahacterization of 5'-nucleotidase of human pancreatic tumor cell line". *Biochim. Biophys. Acta*, 1076, 273-281.
- Goldberg, J., Huang H., Kwon Y., Greengard P., Nairn A. C. & Kuriyan J. (1995). "Three-dimensional structure of the catalytic subunit of protein serine/threonine phosphatase-1". *Nature* 376, 745-753
- Griffith, J. P., Kim J. L., Kim E. E., Sintchak M. D., Thomson J. A., Fitzgibbon M. J., Fleming M. A., Caron P. R., Hsiao K., Navia M.A. (1995). "X-ray structure of calcineurin inhibited by the immunophilin-immunosuppressant FKB12-FK506 complex". *Cell* 82, 507-522.

- Grondal, E. J. M. y Zimmermann, H. (1987). "Purification, characterization and cellular localization of 5'-Nucleotidase from torpedo electric organ". *Biochem. J.*, 245, 805-810.
- Gupta, A. y Sharma, C. B. (1996). "Purification to homogeneity and characterization of plasma membrane and Golgi apparatus-specific 5'-adenosine monophosphatases from peanut cotyledons". *Plant Sci.*, 117, 65-74.
- Itho, R. (1993). "IMP-GMP 5'-nucleotidase". *Comp. Biochem. J.*, 105B, 13-19.
- Itho, R. y Yamada, K. (1991). "Determination of cytoplasmic 5'-nucleotidase which preferentially hydrolyses 6-hydroxipurine nucleotides in pig, rat and human tissues by immunotitration". *Int. J. Biochem.*, 23, 461-465.
- James, S. y Richardson, P. J. (1993). "Production of adenosin from extracellular ATP at the striatal cholinergic synapse". *J. neurochem.*, 219, 219-227.
- Johansson, N. G. y Eriksson, S. (1996). "Structure-activity relationships for phosphorylation of nucleoside analogs to monophosphates by nucleoside kinases". *Acta. Biochim. Pol.*, 43, 143-160.
- Kissinger, C. R. y col. (1995). "Crystal structures of human calcineurin and the human FKBP 12-FK506-calcineurin complex". *Nature* 378, 641-644.
- Klabunde, T., Sträter, N., Fröhlich, R., Witzel, H., & Krebs, B. (1996). "Mechanism of Fe(III)-Zn(II) purple acid phosphatase based on crystal structures". *J. Mol. Biol.* 259, 737-748.
- Kreutzberg, G. W. & Barron K. D. (1978). "5'-nucleotidase of microglial cells in the facial nucleus during axonal reaction". *J. Neurocytol.*, 7, 610
- Oestergaard, J., Larsen, K. y Jochimsen, B. U. (1991). "5'-nucleotidase from soybean (*Glycine max*) root nodules: partial purification and characterization. regulation in sterile tissue culture". *J. Plant Physiol.*, 138, 387-393.
- Pesi, R., Baiocchi, C., Tozzi, M. G. y Camci, M. (1994). "Sinergic action of ADP and 2,3-bisphosphoglycerate on the modulation of cytosolic 5'-nucleotidase". *Biochim. Acta*, 1294, 191-194.
- Polya, G. M. (1974). "Regulation of plant 5'(3')-ribonucleotide phosphohidrolase by cyclic nucleotides and pyrimidine, purine and cytokinin ribosides". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71, 1299-1303.
- Polya, G. M. (1975). "Purification and characterization of cyclic nucleotide regulated 5'-nucleotidase from potato". *Biochim. Biophys. Acta*, 384, 443-457.
- Reis, J. (1934). "La nucleotidase et sa relation avec la désamination des nucléotides dans la coeur et dans la muscle". *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 16, 385-394.
- Ribeiro, J. A. y Sebastiao, A. M. (1987). "On the role, inactivation and origin of endogenous adenosine at the frog neuromuscular junction". *J. physiol. London*, 384, 571-585.
- Rise, G., Stochaj, U., Elsasser, K. y Dieckhoff, J. (1989). "Structural comparison of the 68 kDa laminin-binding protein and 5'-nucleotidase from chicken muscular sources: evidence against a gross structural similarity of both proteins". *Biochim. Biophys. Acta*, 994, 258-263.
- Schoen, S. W., Graeber, M. B., Tóth, L. y Kreutzberg, G. W. (1988). "5'-nucleotidase in postnatal ontogeny of rat cerebellum: a marker for migrating nerve cells?". *Dev. Brain Res.*, 39, 125-136.
- Schoen, S. W., Leutenecker, B., Kreutzberg, G. W. y Singer W. (1990). "Ocular dominance plasticity and developmental changes of 5'-nucleotidase distributions in the kitten visual cortex". *J. Comp. Neurol.*, 296, 379-392.
- Skladanowski, A.C. Hoffmann, C., Krass, J., Jastorff, B. y Makarewics, W. (1996). "Structure-activity relationships of cytoplasmic 5'-nucleotidase substrate sites". *Biochim. J.*, 334, 1001-1007.

- Stochaj, U., Dieckhoff, J., Mollenhauer, J., Cramer, M., Mannherz H. G. (1989). "Evidence for direct interaction of chicken gizzard 5'-nucleotidase with laminin and fibronectin". *Biochim. Biophys. Acta*, 992(a), 385-392.
- Stochaj, U., Flocke, K., Methes, W. & Mannherz (1989). "5'-nucleotidase from chicken gizzard and human pancreatic adenocarcinoma cells are anchored to the plasma membrane via phosphatidylinositol-glycan". *Biochem. J.*, 226(b), 33-40.
- Stochaj, U., Richter, H. & Mannherz, H. G. (1990). "Chicken gizzard 5'-nucleotidase is a receptor for the extracellular matrix component fibronectin". *Eur. J.*, 51, 335-338.
- Sträter, N., Klabunde, T., Tucker, P., Witzel, H., & Krebs, B. (1995). "Crystal structure of a purple acid phosphatase containing a dinuclear Fe(III)-Zn(II) active site". *Science* 268, 1489-1492.
- Sunderman, F. W. Jr. (1990). "The clinical biochemistry of 5'-nucleotidase". *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 20, 123-139.
- Svetlana T. Mihaylova-todorova, Latchezar D. Todorov, & Westfall, D. P. (2002). "Enzyme Kinetics and Pharmacological Characterization of Nucleotidases Released from the Guinea Pig Isolated Vas Deferens during Nerve Stimulation: Evidence for a Soluble Ecto-Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase-Like ATPase and a Soluble Ecto-5'-Nucleotidase-Like AMPase". *JPET* 302, 992-1001.
- Synnestvedt, K., Furuta, G. T., Comerford, K. M., Louis, N., Karhausen, J., Eltzschig, H. K., Hansen, K. R., Thompson, L.F., & Colgan, S.P. (2002). "Ecto-5'-nucleotidase (CD73) regulation by hypoxia-inducible factor-1 mediates permeability changes in intestinal epithelia". *J. Clin. Invest.* 110, 993-1002.
- Takei, S., Totsu, J. I. y Nakanichi, K. (1969). "Metabolic Pathway of NAD in yeast cells V. Properties of nucleotide pyrophosphatase and its relation to 5'-nucleotidase". *Agr. Biol. Chem.*, 33, 1251-1256.
- Tsushima, K. (1986). "Properties of cytosol 5'-nucleotidase and its role in purine nucleotide metabolism". *Advan. Enzyme Regul.*, 25, 181-200.
- Vogel, M., Kowalewski, H. J., Zimmermann, H., Janetzko, A., Margolis, R. U. y Wollny, H. E. (1991). "Association of the HNK-1 epitope with 5'-nucleotidase from torpedo marmorata (electric-ray) electric organ". *Biochem. J.*, 284, 261-264.
- Yamazaki, Y., Truong, V. L. & Lowenstein, J. M. (1991). "5'-nucleotidase I from rabbit heart". *Biochemistry*, 30, 1503-1509.
- Zimmermann, H. (1992). "5'-nucleotidase: molecular structure and functional aspects". *Biochem. J.*, 285, 345-365.





## REDUCCIÓN DE DETERIORO EN FRUTOS DE

# Mango, durazno y nectarina utilizando irradiación ultravioleta (UV-C)

G. A. González-Aguilar,<sup>1</sup> J. F. Ayala-Zavala,<sup>1</sup> J. Rivera-López,<sup>2</sup> R. Zavaleta-Gatica,<sup>1</sup>  
M. A. Villegas-Ochoa<sup>1</sup> y W. Tejedor Espinoza<sup>3</sup>

*Se determinó el índice de deterioro, daño por frío, pérdida de peso, firmeza, oscurecimiento, poliaminas y el daño causado por la aplicación de luz ultravioleta (UV-C, 254 nm) en frutos de mango (10 y 20 min), durazno (3, 5, 10, 15 y 20 min) y nectarina (1 y 3 min). Después del tratamiento, los frutos de mango fueron almacenados durante 14 días a 20°C y los duraznos y nectarinas durante 14 días a 5°C, más 7 días a 20°C. La irradiación ultravioleta mejoró los parámetros de calidad evaluados, siendo los mejores tiempos de exposición de 10 min para mango, 5 min para durazno, 1 y 3 min para nectarina. Sin embargo, la exposición por un tiempo mayor de 5 min, favoreció el oscurecimiento de la piel y el deterioro para durazno y nectarina. El tratamiento con UV-C provocó el incremento de los niveles de poliaminas para mango y durazno. Al parecer, todos estos eventos podrían estar relacionados con la tolerancia inducida por el tratamiento. De acuerdo con estos resultados, se concluye que el tratamiento de UV-C a determinados tiempos de exposición, podría utilizarse para controlar los síntomas de daño por frío, la pérdida de peso, el oscurecimiento de la piel y pulpa en frutos de mango, durazno y nectarina. **Palabras clave:** Irradiación UV-C, Deterioro, Durazno, Nectarina, Mango.*

## INTRODUCCIÓN

Las pérdidas poscosechas de frutas y hortalizas alcanzan entre el 25-50% y son causadas principalmente por: mal manejo, deterioro por diferentes microorganismos y almacenamiento inadecuado, es decir, por debajo de la temperatura crítica (Snowdon, 1990). Esto puede inducir los síntomas de daño por frío (DF), el cual es desorden fisiológico que afecta un amplio rango de cultivos hortícolas (Mier y col., 1996).

El daño por frío (DF) es un desorden fisiológico que afecta un amplio rango de cultivos hortícolas. En un principio se pensó que este fenómeno era únicamente en frutos de origen tropical, sin embargo, en cultivos de origen templado se ha encontrado también desarrollo de desórdenes fisiológicos cuando son sujetos a estrés de bajas temperaturas (Bramlage, 1982; Wang, 1990). Entre los frutos de zona templada susceptibles al daño por frío se encuentran: arándanos, duraznos, nectarinas y ciruelas (Gross y col., 2002). La presencia de este desorden asociado con el almacenamiento a bajas temperaturas, aumenta la susceptibilidad de los frutos al ataque por patógenos. En estudios previos se ha reportado el efecto de la UV-C en la fisiología y otros parámetros bioquímicos en frutos de durazno (González-Aguilar y col., 2004). Sin embargo, no se conoce si el tratamiento de UV-C tiene el mismo modo de acción en otros tejidos vegetales con diferente susceptibilidad al frío.

El uso de fungicidas para el control del deterioro no es suficiente, además de los posibles daños que puede ocasionar a la salud humana y al medio ambiente (Pusey, 1992). Por esta razón, se han restringido estos tratamientos químicos en diferentes países.

Los tratamientos que utilizan atmósferas modificadas, controladas, temperaturas de acondicionamiento, encerrado, baja presión, choques térmicos, entre otros, son ampliamente utilizados para conservar la calidad y reducir diferentes desórdenes durante el almacenamiento, sin embargo, en algunas ocasiones su uso es limitado por el tiempo requerido para el tratamiento y los daños que pueden provocar en la calidad organoléptica del producto (Stevens y col., 1996). Por lo tanto, existe la necesidad de la búsqueda de nuevos métodos con cortos tiempos de aplicación, como nuevas alternativas para mantener la calidad de los frutos en estado fresco.

En diferentes estudios se ha observado que los tratamientos con luz ultravioleta UV-C (190-280 nm) ofrecen nuevas alternativas para el control de patógenos en poscosecha. Se ha descrito que la radiación UV afecta varios procesos fisiológicos en los tejidos vegetales (Levitt, 1980). El uso de longitudes de onda apropiadas y exposición del producto por tiempos determinados, puede producir una respuesta de estrés ligero, la cual puede inducir un aumento en la tolerancia contra diferentes patógenos (Nigro y col., 1998). La inducción de esta resistencia, especialmente a longitudes

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal. A. P. 1735, Hermosillo, Sonora, México.

<sup>2</sup> Instituto Tecnológico de Los Mochis. Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica. A. P. 766, Los Mochis, Sinaloa, México.

<sup>3</sup> Universidad Tecnológica de Panamá. Centro de Producción e Investigaciones Agroindustriales (CEPIA). Vía Tocumen, Panamá.

de onda de 254 nm, se ha relacionado con el aumento de algunas sustancias (principalmente fenoles) tóxicos para los patógenos, debido al aumento en la actividad de las enzimas involucradas en su síntesis (Fritzenheimer y Kindl, 1981; Winkel-Shirley, 2002), así como un incremento en el contenido de poliaminas.

Las poliaminas son inhibidores de muchos procesos relacionados con la senescencia (Galston y Kaur-Sawhney, 1990). El incremento de estos compuestos se ha asociado con los diferentes tipos de estrés bióticos y abióticos del tejido vegetal (Faust y Wang, 1992). Se ha observado que dicha actividad antisenescente podría estar relacionada con la reducción de los procesos de oxidación de la membrana, puesto que las poliaminas tienen el poder de retardar el deterioro de esta, posiblemente por interacción con componentes aniónicos de la membrana y estabilizando la bicapa lipídica (Roberts y col., 1986). Se ha observado que los altos niveles de poliaminas presentes en el tejido vegetal, están relacionados con la reducción de la susceptibilidad al frío de diferentes frutas y hortalizas (Wang y Faust, 1992). González-Aguilar y col. (2000) encontraron que la aplicación de tratamientos térmicos inducen el contenido de poliaminas en chile morrón.

Estudios recientes demuestran que el uso de irradiación ultravioleta tipo C (UV-C) en varias frutas y vegetales frescos, reduce la incidencia de patógenos y la carga microbiana y prolonga la vida poscosecha, sin afectar la calidad del producto (Lu y col., 1991; Mercier y col., 1993; Stevens y col., 1996; Nigro y col., 1998). Se ha encontrado que los tratamientos de UV-C inducen resistencia contra diferentes desórdenes, pero es muy limitada la información disponible sobre su uso en frutos tropicales y sensibles al frío y el efecto en los cambios físicos y bioquímicos asociados a la pérdida de calidad.

El objetivo del presente estudio fue investigar el efecto de la aplicación de irradiación UV-C sobre los cambios provocados en frutos sensibles al daño por frío, como mango, duraznos y nectarinas, así como su efecto en la calidad poscosecha del producto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Materiales*

#### *Mango*

Se utilizaron frutos de mango (*Mangifera indica* cv. Keitt) en estado maduro obtenidos en una distribuidora de frutas y hortalizas de Hermosillo, Sonora, México. Los frutos se seleccionaron de acuerdo a su tamaño y peso, descartándose aquellos que presentaban lesiones físicas. Se agruparon en tres lotes de 40 frutos. El lote 1 se almacenó directamente a 20°C y a los lotes 2 y 3, se aplicaron diferentes tiempos de exposición a la irradiación UV-C (10 y 20 min). La selección del tiempo de exposición se determinó de acuerdo a estudios preliminares. Después del tratamiento, los frutos se almacenaron a 20°C durante 14 días; se tomaron muestras al inicio y durante el almacenamiento para evaluar el contenido de poliaminas (González-Aguilar y col., 1998). Al final del almacenamiento se evaluó el efecto del tratamiento de UV-C sobre la calidad del producto, porcentaje de pérdida de peso, de firmeza y de deterioro.

### *Duraznos*

Los frutos fueron obtenidos de la misma abastecedora de frutas y hortalizas, Jessup, Maryland, USA siguiéndose el mismo proceso de selección que en mango. Los frutos se agruparon en 6 grupos de 30 y se aplicaron los siguientes tratamientos: 1) control (sin tratamiento), 2) UV-C, 3 min; 3) UV-C, 5 min; 4) UV-C, 10 min; 5) UV-C, 15 min; 6) UV-C, 20 min. Posteriormente, los frutos se almacenaron durante 14 días a 5°C, seguido de 7 días a 20°C. Al terminar el periodo de almacenamiento, se tomaron muestras de cada tratamiento para evaluar los cambios en calidad de los frutos, evaluándose el porcentaje de pérdida de peso, manchado de la piel, índice de daño por frío (IDF) y daño por UV-C, de acuerdo a González-Aguilar y col. (1999).

### *Nectarinas*

Los frutos se trataron con UV-C durante 1 y 3 min. Posteriormente se almacenaron durante 14 días a 5°C, más 7 días a 20°C. Durante el periodo de almacenamiento se evaluó el efecto del tratamiento en los principales cambios de calidad del fruto, pérdida de peso, manchado de la piel, índice de daño por frío (DF), y daño por UV-C.

### *Tratamiento con luz UV-C*

Para la aplicación de los tratamientos con irradiación UV-C se utilizó una fuente de irradiación de lámparas germicidas (UV-C) (General Electric 15 watts G15 T8). Los frutos fueron colocados en una red con las lámparas germicidas a ambos lados de la superficie (superior e inferior del fruto), a una distancia de 15 cm a los diferentes tiempos de exposición señalados para cada fruto. Durante este periodo los frutos se rotaron periódicamente para asegurar la exposición de toda la superficie a la fuente de irradiación.

## MÉTODOS

### *Porcentaje de pérdida de peso y firmeza*

El porcentaje de pérdida de peso del fruto se determinó utilizando una balanza digital Mettler PE 2000 (Mettler Instrument Corp. Highstown, NY), asimismo, se registró el peso del fruto al inicio del experimento y periódicamente durante su almacenamiento.

La firmeza se evaluó mediante la utilización de un analizador de firmeza, Apresure Ester Model EPT-1R (Lake City Technical Products, Inc., Kelowa, B.C. Canadá) con un punzón cilíndrico de 8 mm, el cual se introdujo en cuatro lados del fruto; los resultados se expresaron como la fuerza necesaria (N) para penetrar la corteza del fruto.

### *Índice de daño por frío*

El daño por frío se evaluó subjetivamente de acuerdo al porcentaje del área total que presentó hundimiento y daño superficial del fruto. Se utilizó una escala de 0 a 3. En donde 0 = sin daño; 1 = ligero (hasta 10 % de la superficie del fruto); 2 = moderado (hasta 20 % de la superficie del fruto) y 3 = severo (> 20 %). El índice de daño por frío se determinó en 3 subgrupos de cada tratamiento

y fue obtenido multiplicando el número de frutos por el número de la escala del daño. Los productos resultantes se sumaron y se dividieron entre el número total de frutos, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$IDF = (n * 0 * + n * 1 + n * 2 + n * 3) / N$$

Donde:

**n** = Número de frutos dañados

**N** = Número de frutos por subgrupo

#### *Índice de deterioro*

El porcentaje de deterioro se evaluó de acuerdo a una escala visual basada en el grado de deterioro del fruto; calidad visual, hundi-miento y manchas presentes en la piel. Asignando valores a los frutos desde 0 a 4 en donde: 0 = frutos sin daño, 1 = ligeramente dañados, 2 = moderadamente dañados, 3 = severamente dañados, 4 = no comercializable (González-Aguilar y col., 1998).

#### *Índice de oscurecimiento en piel*

El índice de oscurecimiento en piel se evaluó de acuerdo a una escala visual basada en el grado de manchas extrañas a la piel normal de los frutos asignándoles valores desde 0 a 4 en donde: 0 = frutos libres de manchas, 1 = ligeramente manchados, 2 = moderadamente manchados, 3 = severamente manchados, 4 = extremadamente manchados (González-Aguilar y col., 1998).

#### *Daño por UV*

Este parámetro se evaluó de acuerdo a la técnica descrita por Erkan y col. (2000). Asignando valores a los frutos desde 0 a 3, en donde; 0 = sin daño, 1 = ligeramente dañado, 2 = moderadamente dañado y 3 = severamente dañado.

#### *Determinación de poliaminas*

Se hizo un extracto al 13% (p/v) en ácido perclórico al 5% con 2 g del exocarpo de los frutos en 15 mL de ácido perclórico usando un homogenizador de tejidos Polytron (Brinkmann Instruments, Westbury, NY). Se agregó 1.6-hexanodiamina (500 nmol g<sup>-1</sup> de peso fresco) como estándar interno; el vástago fue lavado con 15 mL de ácido perclórico al 5%. Las alícuotas se mezclaron, y el homogenizado se centrifugó a 47,000 g por 20 minutos usando una centrífuga Beckman Coulter, Allegra 64R. El sobrenadante

se usó para el análisis, el cual se llevó a cabo usando un equipo de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) Varian 9012. Se le agregó 400 µL de cloruro de dansilo (18.5 mM en acetona) y 150 µL de una solución saturada de carbonato de sodio con 200 µL del extracto. Después, se incubó a temperatura ambiente por 12 horas, agregando 200 µL de prolina 0.43 M y se continuó la incubación por una hora más. Se centrifugó la mezcla por 10 minutos en una centrífuga Beckman Coulter, Allegra 64R. El pH del sobrenadante se ajustó a 7.0 con HCl. Finalmente se tomaron muestras de 100 µL para ser inyectadas en el cromatógrafo. El análisis por HPLC se llevó a cabo usando una columna C-18. Las poliaminas fueron identificadas utilizando los tiempos de retención de la muestra comparadas con los tiempos de retención de los estándares conocidos y la cuantificación se realizó usando curvas de calibración individuales para cada compuesto identificado (Wang y Buta, 1994).

#### *Análisis estadístico*

Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de rango múltiple de Tukey para la comparación de medias (p<0.05) utilizando el paquete estadístico SAS 6.03 System (1990).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### *Mango*

El Cuadro 1, muestra los cambios de calidad en frutos de mango irradiado durante 10 y 20 min. Se puede observar que el tratamiento de UV-C, redujo significativamente los síntomas de deterioro y mantuvo la textura del fruto durante el almacenamiento. Después de 14 días a 20°C, los frutos tratados con UV-C por 10 min presentaron una menor pérdida de peso y deterioro, manteniendo en mayor grado la firmeza que los frutos control. Al final del almacenamiento, los frutos de mango tratados con UV-C por 10 min presentaron mejor apariencia y mantuvieron la calidad inicial. Resultados preliminares mostraron que tiempos de exposición <10 min, no tuvieron un efecto benéfico en frutos de mango maduros y tiempos >20 min, favorecieron los daños en la superficie del tejido (manchado de la piel y deshidratación).

Se observó que el tratamiento de UV-C incrementó los niveles

<b>Cuadro 1</b>			
<b>EFFECTO DEL TRATAMIENTO DE UV-C EN LA CALIDAD DE MANGO "KEITT", DESPUÉS DE 14 DÍAS A 20°C</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>% Pérdida</b>	<b>Firmeza (Nw)</b>	<b>Deterioro%</b>
Control	7.93 <sup>a</sup>	9.3 <sup>b</sup>	25.42 <sup>a</sup>
UV-C, 10 min	6.05 <sup>b</sup>	15.9 <sup>a</sup>	2.58 <sup>c</sup>
UV-C, 20 min	7.65 <sup>a</sup>	14.3 <sup>a</sup>	6.42 <sup>b</sup>
Medias con diferente letra son diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey (p<0.05)			

de fenoles, modificando el perfil cromatográfico en la piel de frutos de mango (datos no mostrados). Estos niveles parecen estar relacionados con la tolerancia inducida por el tratamiento. Los mecanismos por los cuales los tratamientos de UV-C confieren tolerancia contra patógenos, parecen estar relacionados con el incremento en los niveles de sustancias antifúngicas como fitoalexinas o fenoles (Droby y col., 1993; Adrian y col., 2003), inducción de enzimas de defensa como glucanasas y quitinasas (Birgit y col., 2003), así como el contenido de poliaminas.

El tiempo de exposición de 10 min incrementó significativamente el contenido de putrescina y espermidina (Cuadro 2). En el presente estudio se observó que la mejor calidad de los frutos fue asociada con altos niveles de poliaminas. La espermidina, fue

se observó que los niveles de espermidina variaron ampliamente durante el tiempo de almacenamiento dependiendo del tiempo de exposición a la luz UV-C.

Los niveles de espermina no fueron afectados significativamente por los tratamientos de UV-C. Al parecer, los cambios en el contenido de poliaminas son una respuesta del tejido de los frutos al tiempo de exposición a la irradiación. Sin embargo, los niveles más bajos de poliaminas observados en los frutos irradiados por 20 min, comparados con los niveles encontrados en los frutos tratados por 10 min, podrían estar relacionados con las diferencias encontradas en deterioro y ablandamiento entre los tratamientos.

Las poliaminas poseen propiedades antioxidantes, debidas

<b>Cuadro 2</b>			
<b>EFFECTO DEL TRATAMIENTO DE UV-C EN EL CONTENIDO DE POLIAMINAS DE FRUTOS DE MANGO Y DURAZNOS, DESPUÉS DE 14 DÍAS A 20°C Y 14 DÍAS A 5°C, MÁS 7 DÍAS A 20°C, RESPECTIVAMENTE</b>			
Peso fresco (P.F.)			
	<b>Putrescina</b>	<b>Espermidina</b>	<b>Espermina</b>
<b>MANGO</b>			
Control	16.3 <sup>b</sup>	28.3 <sup>b</sup>	1.25 <sup>a</sup>
UV-C, 10 min	63.3 <sup>a</sup>	35.2 <sup>a</sup>	2.37 <sup>a</sup>
UV-C, 20 min	32.4 <sup>b</sup>	27.3 <sup>b</sup>	2.05 <sup>a</sup>
<b>DURAZNO</b>			
Control	15.5 <sup>a</sup>	22.3 <sup>c</sup>	2.51 <sup>b</sup>
UV-C, 3 min	14.5 <sup>a</sup>	42.8 <sup>a</sup>	5.24 <sup>a</sup>
UV-C, 5 min	16.2 <sup>a</sup>	25.8 <sup>b</sup>	2.93 <sup>b</sup>
UV-C, 10 min	7.1 <sup>b</sup>	35.8 <sup>a</sup>	3.14 <sup>b</sup>
UV-C, 15 min	6.9 <sup>b</sup>	28.2 <sup>b</sup>	2.71 <sup>b</sup>
UV-C, 20 min	7.4 <sup>b</sup>	20.3 <sup>b</sup>	2.44 <sup>b</sup>
Medias con diferente letra son diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey (p<0.05)			

la poliamina en mayor abundancia en frutos de mango no irradiados, seguida por la putrescina y espermina. De igual forma, se ha observado que tratamientos térmicos incrementan el contenido de putrescina y disminuyen los desórdenes fisiológicos en cítricos (McDonald, 1989). González-Aguilar y col. (1998) encontraron que tratamientos térmicos en cítricos reducían el DF y causaban un aumento en el contenido de putrescina.

Existen estudios en los que se señala que las concentraciones de espermidina disminuyeron después de 14 días de almacenamiento a 5°C y después del almacenamiento a 20°C, se indujo un aumento en los niveles de espermidina en los frutos tratados durante 10 minutos (González-Aguilar y col., 2001). En general,

a su característica policatiónica, lo cual les permite capturar radicales libres que pueden interactuar con los fosfolípidos de la membrana estabilizando la bicapa lipídica y retardar su deterioro (Drolet y col., 1986). Nuestros resultados son consistentes con los publicados por Maharaj (1995) en frutos de tomate expuestos a UV-C. Este autor observó que los tratamientos óptimos en la conservación de la calidad, generalmente producían altos niveles de poliaminas, particularmente putrescina.

#### *Durazno*

Se ha observado que la efectividad del tratamiento de UV-C puede variar de acuerdo al tipo de fruto o vegetal utilizado. Los frutos de

durazno fueron más sensibles al tratamiento de UV-C que los de mango. En general, el tratamiento de UV-C redujo el porcentaje de pérdida de peso de los frutos (Cuadro 3). Los tratamientos de UV-C 10 y 15 minutos, fueron los más efectivos para reducir los síntomas de deterioro, después de 14 días a 5°C y 7 días a 20°C. Sin embargo, los frutos tratados durante 20 minutos favorecieron el oscurecimiento del tejido vegetal, afectando la calidad de los duraznos. Por otro lado, los tratamientos de UV-C 3 y 5 minutos redujeron el deterioro y oscurecimiento sin causar daño por UV-C. Los frutos tratados con UV-C por 20 minutos desarrollaron algunos síntomas de deterioro muy parecidos a los observados en los frutos control. Sin embargo, se observaron algunas manchas de color rojizo, probablemente ocasionadas por el tratamiento de UV-C. Al parecer los frutos de durazno no toleran la exposición por tiempos superiores a los 15 minutos, por lo tanto se recomienda evitar la exposición de estos frutos por tiempos prolongados.

Este trabajo coincide con reportes anteriores en donde el tratamiento con UV-C fue muy efectivo en la prevención del deterioro fúngico causado por diferentes microorganismos en frutos como: uva de mesa, cítricos, fresas, mangos (Cantos y col., 2001; Ben-Yehoshua y col., 1992; Ben-Yehoshua, 2002; Nigro y col., 1998; Mercier y col., 1999; González-Aguilar y col., 2001), cebolla (Lu y col., 1987), papas (Stevens y col., 1990), zanahorias (Mercier y col., 1993) y tomates (Lu y col., 1993; Maharaj, 1995).

El daño por UV-C fue más evidente en los frutos de durazno tratados por tiempos mayores a 10 minutos. Sin embargo, se notaron ligeros daños en aquellos tratados con UV-C por 3 y 5 minutos después de 21 días a 5°C, más 7 días a 20°C. En frutos de calabaza después de un almacenamiento de 12 días a 10°C, se observó un ligero daño, manifestándose como una coloración rojiza en los frutos tratados por 10 y 20 minutos, sin embargo, estos mismos frutos almacenados a 5°C no mostraron síntomas de daño por irradiación UV-C (Erkan y col., 2001). En otros estudios se ha visto que estos daños se manifiestan en forma de manchado de la piel, así como estrías irregulares en la superficie del tejido tratado (Ben-Yehoshua y col., 1992).

El Cuadro 2 muestra el contenido de poliaminas de frutos de duraznos tratados con UV-C, después del periodo de almacenamiento. Se encontró que los frutos tratados con UV-C por 10 min presentaron los mayores niveles de putrescina, espermidina y espermina. Los niveles de espermidina incrementaron inicialmente después del tratamiento con luz UV-C. Este aumento fue significativamente mayor en los duraznos tratados por 10 y 15 minutos. Después de esto, los frutos fueron almacenados a 5°C donde el contenido de espermidina se incrementó para los frutos tratados durante 3 y 10 minutos.

Los mayores niveles de poliaminas podrían estar relacionados con el incremento en la tolerancia al frío y mayor resistencia al ataque por patógenos, inducida por el tratamiento de UV-C. En otros estudios se ha observado que la tolerancia al frío y mayor resistencia al ataque de patógenos inducida por diferentes tratamientos, va acompañada con un aumento en los niveles de poliaminas (Wang, 1994).

Higasho y col. (1999) observaron que el tratamiento de UV-C (310 nm) por 5 min aumentó los niveles de  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno y redujo los niveles de ácido ascórbico en espinacas, los cuales pueden actuar como antioxidantes y secuestradores de radicales libres y prevenir el deterioro de la membrana celular. Se ha reportado que el tratamiento de UV-C (254 nm) incrementa la actividad de la enzima fenilalanina amonioliase en la piel de pomelo, la cual es clave en la síntesis de fenoles (Droby y col., 1993). En estudios previos se ha observado que el tratamiento de metil jasmonato redujo los síntomas de DF y de deterioro y al parecer por mecanismos que involucran el aumento en el contenido de poliaminas (Gustavo-Aguilar y col., 1999). En el presente estudio, la tolerancia inducida por el tratamiento de UV-C parece estar relacionada con el aumento en los niveles de poliaminas.

#### *Nectarina*

En frutos de nectarina se obtuvieron resultados similares al experimento con duraznos. El tratamiento de UV-C redujo el deterioro y los síntomas de DF, sin provocar daños en el producto (Cuadro 3). La aplicación de irradiación UV-C promueve el inicio de mecanismos de defensa del fruto, tales como la producción de fitoalexinas.

Lamikanra y Richard (2004) observaron que en el proceso de adaptación al estrés inducido por la aplicación de irradiación UV a piña cortada se indujo la producción de fitoalexinas, lo cual demuestra que el uso de irradiación UV inicia los mecanismos de defensa del fruto.

Los tiempos de exposición >3 min provocaron el rompimiento interno del tejido y el deterioro (aspecto esponjoso de la pulpa) comúnmente observado durante el almacenamiento en frío de nectarinas. Los resultados encontrados en el presente estudio concuerdan con los observados previamente en diferentes productos tratados, donde diferentes dosis de UV-C fueron efectivas para reducir el deterioro y diferentes fisiopatías en papa (Stevens y col., 1990), duraznos y manzanas (Stevens y col., 1996), zanahorias (Mercier y col., 1993), tomate (Lu y col., 1993) y pomelo (Droby y col., 1993).

Al parecer, la exposición del fruto a cortos tiempos de irradiación, es suficiente para reducir la pérdida de textura del tejido. Sin embargo, con la exposición del fruto a tiempos prolongados (mayores a 10 minutos), se aumenta la susceptibilidad al ablandamiento, a pesar que a mayor dosis de radiación favorece el ablandamiento de los frutos, los datos obtenidos por los frutos control fueron mucho más altos. El ablandamiento de los frutos control puede relacionarse con la producción de radicales libres como un resultado de la senescencia (Leshem y col., 1986) y su efecto en la pared celular.

Stevens y col. (1996) encontraron que el tratamiento con UV-C en frutos de durazno a diferentes tiempos de exposición, redujo el ablandamiento. A su vez, Barka y col. (2000) también observaron que la exposición a UV-C mantiene la pérdida de firmeza y la actividad de las enzimas que degradan la pared celular en tomate y sugieren que estas enzimas podrían ser el blanco de la irradiación

**Cuadro 3****EFFECTO DEL TRATAMIENTO DE UV-C EN LA CALIDAD DE DURAZNOS Y NECTARINAS, DESPUÉS DE 14 DÍAS A 5°C Y 7 DÍAS A 20°C**

	<b>% Pérdida de peso</b>	<b>% manchado piel</b>	<b>Índice de DF</b>	<b>Daño UV-C</b>
<b>DURAZNO</b>				
Control	18.5 <sup>a</sup>	23.5 <sup>a</sup>	2.55 <sup>a</sup>	0
UV-C, 3 min	14.2 <sup>b</sup>	2.4 <sup>d</sup>	0.35 <sup>c</sup>	0
UV-C, 5 min	15.4 <sup>b</sup>	3.5 <sup>d</sup>	0.64 <sup>c</sup>	0
UV-C, 10 min	14.3 <sup>b</sup>	8.5 <sup>c</sup>	1.20 <sup>b</sup>	1.0
UV-C, 15 min	14.4 <sup>b</sup>	14.2 <sup>b</sup>	1.45 <sup>b</sup>	2.5
UV-C, 20 min	16.5 <sup>ab</sup>	20.5 <sup>a</sup>	1.25 <sup>b</sup>	3.5
<b>NECTARINA</b>				
Control	13.4 <sup>a</sup>	22.4 <sup>a</sup>	2.32 <sup>a</sup>	0
UV-C, 1 min	11.4 <sup>a</sup>	4.3 <sup>b</sup>	0.52 <sup>b</sup>	0
UV-C, 3 min	11.3 <sup>a</sup>	3.2 <sup>b</sup>	0.44 <sup>b</sup>	0
Medias con diferente letra son diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey (p<0.05).				

UV-C induciendo su proteólisis o reduciendo su síntesis de novo y que esto podría explicar por qué las dosis pequeñas de UV-C disparan los mecanismos que retrasan los procesos de maduración y la senescencia.

El daño por UV aumentó con el tiempo de exposición del fruto a la irradiación, Mercier y col. (2001), encontraron que altas dosis de UV-C (2.2 KJ.m<sup>-2</sup>) causan algunos daños en pimiento morrón, por lo que para evitar tales problemas es necesario usar bajas dosis. Se ha reportado que en cítricos el daño por UV-C fue más evidente en frutos inmaduros (Ben-Yehoshua y col., 1992).

Los mecanismos de defensa inducidos por la aplicación de luz UV-C, así como las propiedades germicidas de este tipo de tratamientos, promueven la conservación de la calidad de frutas y hortalizas. Allende y Artes (2003) publicaron que la aplicación de 2.44 KJ/m<sup>2</sup> de irradiación UV-C, redujo el crecimiento microbiano e incrementó la vida de anaquel de hojas de lechuga, sin afectar los atributos sensoriales del producto, durante 10 días de almacenamiento a 5°C. Confirmando que bajas dosis de aplicación de UV-C son efectivas en la

reducción del proceso de senescencia y deterioro de vegetales frescos, debido a una reducción del crecimiento microbiano y a la inducción de compuestos de defensa del producto.

**CONCLUSIONES**

De acuerdo a los resultados encontrados en el presente estudio, se concluye que dosis específicas de UV-C por tiempos cortos ( $\leq 10$  min) pueden ser utilizadas para reducir el deterioro y otras fisiopatías durante el almacenamiento y para mantener la calidad de frutos de mango, durazno y nectarinas. Las ventajas de este tipo de tratamientos es el tiempo corto de exposición del fruto y su efectividad para reducir la carga microbiana inicial del fruto, sin dejar residuos en el producto. Estas y otras ventajas que se deben de considerar para su implementación práctica.

En la actualidad, al igual que otras tecnologías consideradas no térmicas, estos tratamientos han sido sometidos a la FDA (Food Drug Administration) para su uso en productos frescos y mínimamente procesados.

## REFERENCIAS:

- Adrian, M., Jeandet, P., Douillet-Breuil, A. C., Tesson, L. y R. Bessis (2003). "Stilbene content of mature *Vitis vinifera* berries in response to UV-C elicitation". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 6003-6005.
- Allende, A. y F. Artés (2003). "Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of fresh processed lettuce". *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 36, 779-786.
- Ait-Barka, E., Kalantari, S., Makhlouf, J. y J. Arul. (2000). "Impact of UV-C irradiation on the cell wall-degrading enzymes during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit". *J. Agric. Food Chem.*, 48, 667-671.
- Ben-Yehoshua, S. (2002). "Effects of the postharvest heat and UV applications on decay, chilling injury and resistance against pathogens of citrus and other fruits and vegetables". *Postharvest Unlim.*, 11-14.
- Ben-Yehoshua, S. B., Rodov, V., Kim, J. J. y S. Carmeli (1992). "Preformed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments". *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1217-1221.
- Birgit, K., Leubner-Metger G. y E. Wellmann (2003). "Distinct ultraviolet-Signaling Pathways in Bean Leaves. DNA Damage Is Associated whit  $\beta$ -1,3-glucanase gene induction, but not whit flavonoid formation". *Plant Physiology*, 133, 1445-1452.
- Bramlage, W. J. (1982). "Chilling injury of crops of temperature origin". *HortScience*, 17 (2), 165-168.
- Bridge, M. A. y W. L. Klarman (1972). "Soybean phytoalexin, hydroxyphaseolkin, induced by UV irradiation". *Phytopathology*, 63, 606-609.
- Cantos, E., Espín, J. C. y F. A. Tomás-Barberán (2001). "Postharvest Induction modeling Method Using UV Irradiation Pulses for Obtaining Resveratrol-Enriched Table Grapes: A New "Functional". *Fruit. J. Agric. Food Chem.*, 49, 5052-5058.
- Droby, S., Chalutz, E., Horev, B., Cohen, L., Gaba, V., Wilson, C. L. y M. E. Wisniewski (1993). "Factors affecting UV-induced resistance in grapefruit against the green mould decay caused by *Penicillium digitatum*". *Plant Physiol.*, 42, 418-425.
- Drolet, G. Dumbroff, E. B., Legge, R. L., y J. E. Thompson (1986). "Radical scavenging properties of polyamines". *Phytochemistry*, 25, 367-371.
- Erkan, M., Wang, C. Y. y D. T. Krizek (2000). "UV-C exposure reduce decay and improves quality of fresh-cut squash". *Posth. Biol. Technol.*, 45, 1-9.
- Faust, M., y S. Y. Wang (1992). "Polyamines in horticultural important plants". *Hortic. Rev.*, 14, 333-356.
- Frietzenheimer, K. H. y H. Kinbdl (1981). "Coordinate induction by UV light of stilbene synthase, phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate 4-hydroxylase in leaves of *Vitaceae*". *Planta*, 151, 48-52.
- Galston, A. W., R. Kaur-Sawhney (1990). "Polyamines in plant physiology". *Plant Physiol.*, 94, 406-410.
- González-Aguilar, G. A., C. Y Wang, y J. G. Buta (2004). "UV-C irradiation prevents breakdown and chilling injury of peaches during cold storage". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84 (5), 415-422.
- González-Aguilar, G. A., Gayosso, L., Cruz, R., Fortiz, J. Baez, R. y C. Y. Wang (2000). "Polyamines induced by hot water treatment reduced chilling injury and decay of bell pepper fruit". *Postharv. Biol. Technol.*, 18, 19-26.

- González-Aguilar, G. A., Wang, C. Y. y G.J. Buta (1999). "Improving quality of fresh-cut mangos using antibrowning agents and modified atmosphere packaging". *J. Agric. Food Chem.*
- González-Aguilar, G. A., Zacarias, L. y M. T., Lafuente (1998). "Ripening affects high-temperature-induced polyamines and their changes during cold storage of hybrid 'Fortune' mandarins". *J. Agric. Food Chem.*, 46 (9), 3503-3508.
- Gross, K. C., Wang, C. Y. y M. Saltveit. (Editores) (2002). "Agricultural handbook 66- The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery crops".
- Higashio, H., Ippoushi, H., Ito, H. y K. Azuma (1999). "Induction of an oxidative defense system against UV-Stress and applications to improve quality of green vegetables". Proc. Int. Symp. On Quality of Fresh and Fermented Vegetables. Lee, J. M., Gross, K. S., Watada, A. E. y S. K. Lee (Eds.) Acta Hort. 483. ISHS 1999. pp. 299-302.
- Lamikanra, O. y A.O. Richard (2004). "Storage and ultraviolet-induced tissue stress effects on fresh-cut pineapple". *J. Sci. Food Agric.*, 84, 1812-1816.
- Leshem Y.Y., Wills R. B. H, y V-V. V. Ku (1998). "Evidence for the function of the free radical gas-nitric oxide (NO<sub>2</sub>)- as endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants". *Plant Physiol. Biochem.*, 36, 825-833
- Levitt, J. (1980). "Response of plants to environmental stresses". Vol. 2: *Water, radiation, salt and other stresses*. New York: Academic Press.
- Lu, J., Stevens, C., Khan, V. A. y M. Kabwe (1991). "The effect of ultraviolet irradiation on shelf-life and ripening of peaches and apples". *J. Food Quality*, 14, 299-305.
- Lu, J., Stevens, C., Khan, V. A., Lu, J. Y., Wilson, C. L. Adeyeye, O. Kabwe, M. K., Pusey, P. L., Chalutz, E., Sultana, T. y S. Droby (1993). "Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes". *J. Food Protec.*, 56 (10), 868-872.
- Lu, J. Y., Stevens, C., Yakubu, P. y P. A. Loretan (1987). "Gamma, electron beam and ultraviolet radiation on control of storage rots and quality of Walla Walla onions". *Journal Food Process. and Preserv.*, Trumbull, 12, 53-62.
- Maharaj, R. (1995). "The effect of ultraviolet radiation (UV-C) on the postharvest storage behaviour of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill, cv. Capello)" PhD. Dissertation. Québec, Canada: Université Laval.
- McDonald, R. E. (1989). "Temperature conditioning affects polyamines of lemon fruits stored at chilling temperature". *HortScience*, 24, 475-777.
- Mercier, J., Arul, J. y C. Cohen (1993). "Effect of UV-C on phytoalexin accumulation and resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrots". *J. Phytopathology*, 139, 17-25.
- Mercier, J., Baka, M., Reddy, B. Corcuff, R. y J. Arul (2001). "Shortwave ultraviolet irradiation for the control of decay caused by *Botrytis cinerea* in Bell pepper: Induced resistant and germicidal effects". *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 126, 128-133.
- Mier, S., Philosoph-Hadas, S., Lurie, S., Droby, S., Akerman, M., Zauberman, G., Shapiro, B., Cohen E. y Y. Fuchs (1996). "Reduction of chilling injury in stored avocado, grapefruit, and bell pepper by methyl jasmonate". *Can. J. Bot.*, 74, 870-874.
- Nigro, F., Ippolito, A. y G. Lima (1998). "Use of UV-C light to reduce *Botrytis* storage rot of table grapes". *Postharv. Biol. and Technol.*, 13, 171-181.
- Pusey, P. L., Wilson, C. L. y M. E. Wisniewski (1992). "Management of postharvest diseases of fruits and vegetables: strategies to replace vanishing fungicides". In: Altman, J. (ed.). *Pesticide interaction in Crop Production: Beneficial Deleterious Effect*. Boca Raton, Florida: CRC Press. 477-492.
- Roberts, D. R., Dumbroff, E. B., y J. E. Thompson (1986). "Exogenous polyamines alter membrane fluidity in bean leaves-a basis for potential misinterpretation of their true physiological role". *Planta*, 167, 395-401.



- Snowdon, A. L. (1990). "A color atlas of post harvest diseases and disorders of fruit and vegetables". Vol. 1. General Introduction and Fruits. Boca Raton: CRC Press.
- Stevens, C., Khan, V. A., Tang, A. Y. y J. Y., Lu (1990). "The effect of ultraviolet radiation on mold rots and nutrients of stored sweet potatoes". *J. Food Protection*, 53, 223-226.
- Stevens, C., Wilson, C. L., Lu, J. Y., Khan, V. A., Chalutz, E., Droby, S., Kabwe, M. K., Haung, Z., Adeyeye, O., Pusey, L. P., Wisniewski, M. E. y M. West (1996). "Plant hormesis induced by ultraviolet light-C for controlling postharvest diseases of tree fruits". *Crop Prot.*, 15, 129-134.
- Wang, C. Y. (1990). *Chilling injury of horticultural crops*. Boca Raton: CRC.
- Wang, C. Y. (1994). "Combined treatment of heat shock and low temperature conditioning reduces chilling injury in zucchini squash". *Postharv. Biol. and Technol.*, 4, 65-73.
- Wang, C. Y y J. G., Buta (1994). "Methyl jasmonate reduces chilling injury in *Curcubita pepo* through its regulation of abscisic acid and polyamine levels. Environ". *Exp. Bot.*, 34, 427-432.
- Winkel-Shirley B. (2002). "Biosynthesis of flavonoids and effects of stress". *Curr Opin Plant Biol.*, 5, 218-223.



# NON-BIOMEDICAL APPLICATIONS OF MRI: assessment of water transport in food

(APLICACIONES NO BIOMÉDICAS DE LA MRI: EVALUACIÓN DEL TRANSPORTE DE AGUA EN ALIMENTOS)

Pedro Ramos Cabrer,<sup>1</sup> John P. M. Van Duynhoven,<sup>2</sup> Gerard van Dalen<sup>2</sup> and Klaas Nicolay<sup>3</sup>

*La producción de alimentos multicomponente es un gran desafío para la industria alimentaria moderna. Las diferencias en contenido y actividad de agua existente entre los diferentes componentes de estos productos, inevitablemente conduce a fenómenos de (re)distribución de agua, lo que a su vez produce un deterioro en la calidad del producto durante el almacenamiento. En consecuencia, resulta imperativo estudiar los procesos de transporte de agua en productos alimenticios multicomponente, por medio de técnicas no invasivas, con el fin de poder definir estrategias para el control del transporte de agua. En particular, la detección de componentes con baja movilidad molecular requiere el uso de las más modernas técnicas de MRI para estado sólido. Nosotros hemos aplicado con éxito esta tecnología para la cuantificación del transporte de agua entre diferentes componentes en sandwiches, con una resolución espacial y temporal adecuada.*

## INTRODUCTION

In the western world, food products are increasingly consumed 'on-the-go' in the so-called out-of-home channels. As a consequence, the consumer's demand for ready-to-eat food products, such as snacks, has been largely increased in the last decade. In general, consumers demand finished products without renouncing to certain standards of quality and freshness. In most snacks, consumer appreciation is mainly provided by contrast in texture between different components of the product. With the current technology, this also implies contrast in water abundance. However, combination of elements with different water content, inevitable implies water transport between the different components in the product. The driving force for water transport is not so much the difference in water content, as the difference in the interaction strength of water with the surrounding matrix. In food science the concept of 'water activity' is frequently used to describe how strongly water is associated with a food component.<sup>1</sup> In general, such processes lead to a loss in texture and quality of the product during shelf life. Therefore, the major challenge in the development of multi-component snack products with ambient stable texture contrast is to find strategies to control water migration. An indispensable requisite to control water transport in food is the characterization and quantification of those processes, which can only be achieved by using non-invasive measurement tools to assess the efficacy of control strategies.

One of these techniques, perhaps the most outstanding one, is MRI that can be defined better by calling it "NMR spectroscopy with spatial resolution". MRI enables us to obtain spatially

located information (images) from the interior of intact macroscopic objects, being the contrast of such images governed by the local physicochemical properties of the system. In this work we describe how MRI can be used to follow quantitatively water transport in snacks consisting of components with low and high water activities. Based on the information obtained, it is possible to define strategies to control such water transport and to ensure quality of the product during its shelf life, which is an important goal in food technology.

## METHODOLOGY

### a) MRI basics

It is beyond the scope of this paper to explain the principles of MRI (many literature sources are available for that propose)<sup>2-5</sup> but some important concepts are mentioned here.

MRI is a tool widely used in medicine for diagnosis. In this technique, protons (mainly from water and fat present in body tissues) are excited by a non-ionizing radiation (radio-frequencies). Depending on the physicochemical environment of those protons in the system, a response signal is emitted. Such signal, which is spatially encoded by using magnetic-field gradients, is lately recorded and transformed in an image. By using different combination of magnetic-field gradients, 2D and 3D images can be obtained from an opaque (semi-)solid sample.

In general, the intensity of a specific voxel (3D equivalent of a pixel in a 2D image) on a MRI image can be expressed as:<sup>6</sup>

$$S(r) = \rho(r) \times F1(r) \times F2(r) \times F3(r) \quad (1)$$

Where the  $\rho(r)$  represents the proton density on a spatial loca-

<sup>1</sup> Department of Experimental *in vivo* NMR. Image Sciences Institute. UMC Utrecht. The Netherlands. (Current address: Max Planck Institute for Neurological Research. Gleueler straÙe 50, D50931 Cologne. Germany. Tel. (49) 221 4726 339, Fax. (49) 221 4726 337. e-mail: ramos@mpin-koeln.mpg.de)

<sup>2</sup> Foods Research Center. Unilever Research Vlaardingen. The Netherlands

<sup>3</sup> Biomedical Engineering Department. Eindhoven University of Technology. Eindhoven, The Netherlands.

tion  $r$ , and  $F1(r)$ ,  $F2(r)$  and  $F3(r)$  are signal-attenuating factors of different nature.

According to equation 1, it is possible to quantify water content (proton densities) in a (semi)solid object by acquiring a MRI image of it and analyzing the pixel intensities ( $S$ ) on it, once the factors  $F1$ ,  $F2$  and  $F3$  are known (or set to 1).

$F1(r)$  represents the NMR longitudinal relaxation process of protons, characterized by a physical property of the system: the spin-lattice relaxation time ( $T1$ ). The influence of this factor in the image contrast can be modulated by two experimental parameters: the repetition time ( $TR$ ) and the tip angle of the excitation pulse ( $\theta$ ), according to the following equation:<sup>5, 6</sup>

$$F1(r) = \frac{\left(1 - e^{-TR/T1(r)}\right)}{\left(1 - \cos\theta e^{-TR/T1(r)}\right)} \sin\theta \quad (2)$$

When long repetition times and/or short pulse angles are used,  $F1$  tends to 1 (absence of  $T1$  contrast on the image).

$F2(r)$  represents the NMR transversal relaxation process of protons, characterized by another physicochemical property of the system: the spin-spin relaxation time ( $T2$ ). Again, influence of this factor in the image contrast can be modulated by one experimental parameter: the echo time ( $TE$ ), according to the following equation:<sup>5, 6</sup>

$$F2(r) = e^{-TE/T2(r)} \quad (3)$$

In this case, it is impossible to completely avoid this mechanism ( $T2$  contrast) because  $TE$  cannot be set to zero (a minimal time is always required to spatially encode the information from the system). This is a crucial issue for MRI of solid-like food products that we will discuss later.

Both parameters ( $T1$  and  $T2$ ) usually have different local values in heterogeneous systems (e.g. a patient) and that is how we can distinguish different components (e.g. tissues) in them.  $T1$  and  $T2$ , represent the degree of interaction between water molecules and the environment where they are located. Generally speaking, when water molecular mobility is restricted,  $T2$  values are low, and water molecules in a more mobile state have high associated  $T2$  values (it's more complex to establish a direct relationship for  $T1$  values). This is only a simplistic explanation for these parameters and there are other factors like pH, air-water interfaces, presence of ferromagnetic substances, etc. that also have a great influence in their values.

Finally, factor  $F3(r)$  represents the signal attenuation caused by diffusion processes when water molecules encoded in one voxel move to a contiguous one before signal is recorded (even diffusion *within* a large voxel can be observed).  $F3$  can be expressed as:<sup>5, 6</sup>

$$F3(r) = e^{-\left(\frac{\gamma^2 G^2 TE^3}{12}\right) D(r)} = e^{-bD(r)} \quad (4)$$

Introducing in this equation general values for the experimental parameters, used in conventional MRI methods ( $TE \sim 10$ ms,  $G < 40$  mT/m), this factor is negligible ( $F3 > 0.99$ ), becoming only important in specific applications of MRI.

b) Conventional vs. solid-like MRI techniques in food research

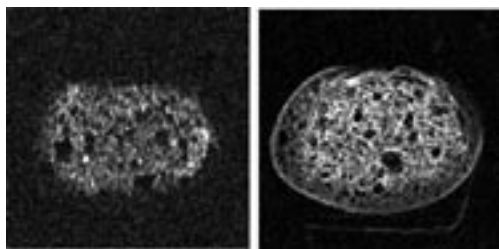
Keeping in mind the concepts depicted in the previous section, we can explain now one of the biggest problems we face when trying to apply MRI techniques to the study of water transport in multi-component snacks. Most of MRI applications have been developed to study human or animal tissues, which usually contain high amounts of water (70-90%) in a relative free state (liquid-like systems). Proton densities,  $T1$  and  $T2$  values are high in these conditions. The application of these conventional techniques (spin-echo most commonly) to fruits or fresh vegetables is not problematic, as it is shown in figure 1, because they also contain high amounts of mobile water.



**Figure 1.** 2D MRI sections obtained from different intact fruits using a conventional spin-echo (SE) pulse sequence. Starting from left: an orange, a banana, an apple and a kiwi.

Problems arise when we try to apply these conventional techniques to food systems that contain components with low water content, such as bread. Multi-component snacks are a good example of food systems where materials with high and low water content are combined. For low water content components (<20%), water molecules usually interact strongly with the matrix where they are located, yielding in very short  $T2$  values. According to equation 1, having a natural low proton density ( $p$ ), we should avoid any kind of signal attenuation if we still want to detect some signal from the system, and that is precisely the problem. Meanwhile  $T1$  weighting can be avoided by using a long repetition time and a low tip angle (see equation 2),  $T2$  weighting cannot be easily avoided because there is always a period of time required for spatially encoding of the signal between excitation of water molecules and recording of a response signal (the encoding time, in some techniques called echo time  $TE$ ). In conventional imaging techniques this time is in the order of a few milliseconds, long enough to cause a strong reduction of signal intensity for systems with very short  $T2$  values according to equations 1 and 3. For these materials, special MRI techniques are required to acquire a suitable signal from the system, making use of ultra-short encoding times. These techniques are usually called solid-state

MRI techniques.<sup>7,8</sup> An example showing the differences of using a conventional spin-echo sequence and a solid-state MRI pulse sequence is presented in figure 2.



**Figure 2.** 2D MRI section of an intact piece of bread. Left, image acquired with a spin-echo sequence ( $TE = 4$  ms). Right, image acquired using a solid-state MRI sequence (SPI with  $TE = 100$   $\mu$ s). The influence of the attenuating factor F2 in signal intensity is very clear, especially in the outer (drier) part.

Looking at the pictures presented in figure 2, one can easily deduce that we cannot use a conventional MRI technique to study water transport in snacks with components with low water content (and activity). Among all solid-state MRI techniques<sup>7,8</sup> we have chosen the so-called Single-Point Imaging methods (SPI),<sup>9,10</sup> mainly because they can be implemented on standard scanners without any hardware modification (other techniques like STRAFI,<sup>7</sup> which is also common, require specialized equipment).

It is beyond the scope of this work to explain the basis of SPI methods, and to fully understand the next section of this paper it would be enough to say that with SPI methods, encoding times are strongly reduced (tens or hundreds of microseconds) yielding very low T2 weighting in the images (factor F2 in equation 3 is very close to 1). Being able to provide images with very low T2 weighting, SPI methods still are limited because of the long scanning time they usually require. For this reason, temporal resolution has to be sacrificed when using this methodology, making SPI not suitable to study very fast processes. However, SPI methods are still convenient to study water transport in multi-component snacks, which is a process that typically occurs on a time scale of hours/days.

### c) Samples and equipment

The example of a multi-component snack used in our experiment was a sandwich prepared by placing two slices of tomato, a slice of ham, a leaf of lettuce and some blocks of mozzarella cheese inside two pieces of white-thaw bread. The sandwich was kept all the time in a close plastic container to allow only internal water transport but excluding exchange of water with the atmosphere. Experiments were conducted at room temperature.

Solutions for absolute water content calibration were prepared by solving Gd-DTPA (Magnevist, USA) in distilled water.

MRI images were acquired using a 4.7 T (200 MHz) horizontal bore (30 cm diameter) super-conducting magnet (Oxford Instruments, UK) with a XYZ auto-shielded, 12 cm diameter gradient insert, with maximal amplitude of 540 mT/m (MagneX scientific, UK). The system was operated using a Varian Unity-INOVA console (Varian Inc., CA Palo Alto, USA). Single-Point based pulse sequences were implemented in-house. Images were acquired using a birdcage RF coil with an internal diameter of 9 cm and an effective length of approximately 10 cm.

Obtaining of images from acquired FID (free-induction decay) files was performed off-line in a UNIX based computer, using self-developed routines for IDL (*Interactive Data Language*, Research Systems Inc., USA). Further image processing and presentation was performed using the public domain software ImageJ.<sup>11</sup>

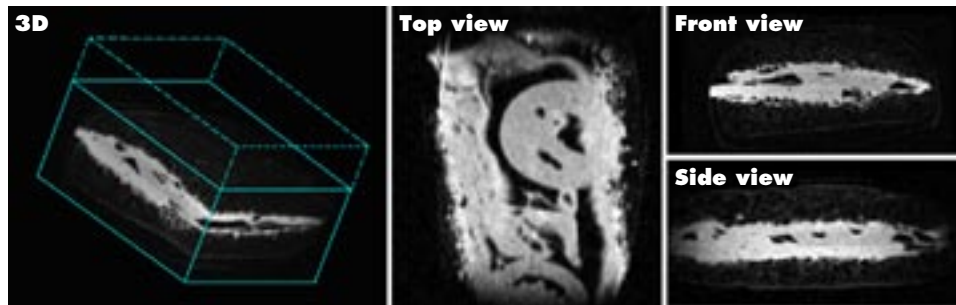
### d) Imaging parameters

3D images of the sandwiches were acquired using SPRITE<sup>11</sup> (a variant of SPI), covering a Field-of-view of  $4.5 \times 9 \times 10$  cm<sup>3</sup> with a matrix of  $90 \times 180 \times 100$  points (zero-filled to  $180 \times 360 \times 200$  during reconstruction), giving a spatial resolution of  $0.5 \times 0.5 \times 1$  mm<sup>3</sup> (250  $\mu$ l). Water migration is expected to happen primarily in radial direction thus, spatial resolution in longitudinal direction was sacrificed for the sake of time resolution. Encoding time used was  $t_p = 100$   $\mu$ s. Steps sizes of  $TR = 1$  ms and resting time between SPRITE ramps of 300 ms resulted in acquisition times of 2 hours (temporal resolution), which was found to be adequate to follow the kinetics of water transport in these kind of products. Experiments were conducted for 60 hours, acquiring a total of 30 consecutive images. Starting point was two hours after preparation of the sandwich (acquisition of first image finished 4 hours after preparation).

### Results and discussion

A typical 3D image cube of the sandwich acquired using SPI is presented in figure 4. By processing the image cube, 2D slices through the object can be extracted in any plane.

At the first time point, all the components of the sandwich are clearly distinguishable (figure 5 a and b). After 24 hours, some elements of the sandwich collapse (figure 5 c and d) due to water transport processes. These elements do not really fuse (physi-



**Figure 4.** 3D representation of the MRI image acquired. From this 3D image 2D slices through the sandwich can be extracted in any plane to be analyzed.

In the images, all components of the sandwiches are well distinguishable, where the brighter elements correspond with higher water content. In some of the presented images, a thin layer around the sandwich is clearly visible. This layer corresponds to the plastic material used to hold the sandwich, and this demonstrates the ability of SPI to detect components with ultra-short T2 relaxation times.

A 3D set of images similar to the one showed in figure 4 was obtained for each time point (30 in total).

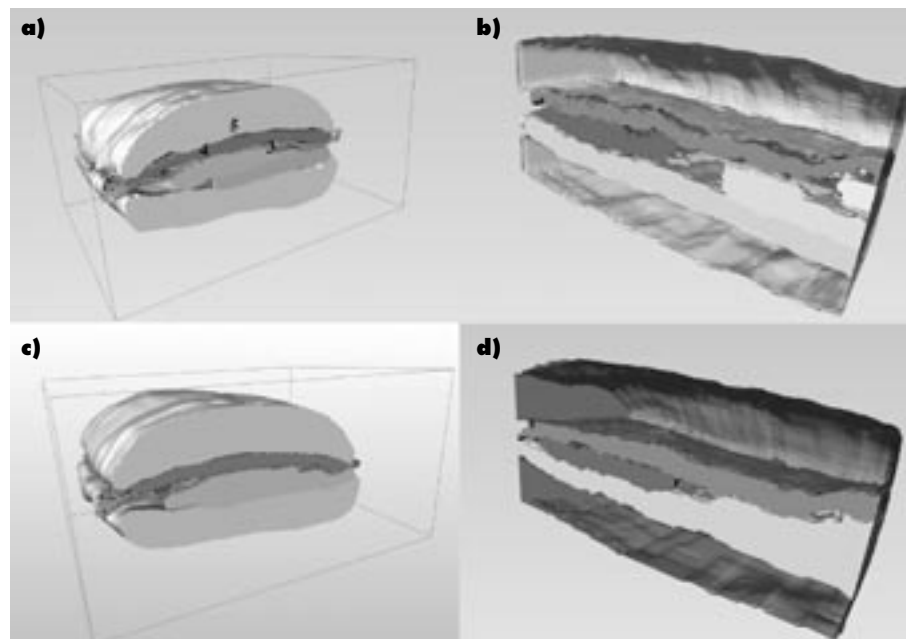
MRI images can be used to reconstruct the sandwich in 3D using surface rendering methods, as we show in figure 5 for two MRI images acquired at different time points (first time point an 24 hours later). These images can be used to perform structural analysis on the sandwich.

cally), but contrast among them is lost in the MRI images when differences in the relevant parameters (proton densities, T1 and T2) are reduced. The changes in water content of the different components not only lead to loss of mechanical stability, but also to loss of texture. It is particular the loss of texture contrast between the crisp bread and the chewy cheese that leads to loss of consumer appreciation.

According to equation 1, signal intensity of any voxel in the 3D image is directly related to the water content (proton density) of the matter contained in it. Thus, knowing the values of the F1, F2 and F3 factors, we can assess local water contents in the sandwiches and follow water transport in time.

Introducing in equation 4 the values used for the correspondent experimental parameters ( $TE=100\mu s$  and  $N/\Delta r=20\text{ cm}^{-1}$ ), factor

**Figure 5.** Surface rendered reconstruction of the sandwich, from a 3D-MRI image corresponding to the first time point studied (a and b), and 24 hours later (c and d). At the beginning, the different elements can be well distinguished (1 is tomato, 2, 3 and 4 are pieces of cheese and 5 is ham). After 24 hours, cheese is no longer discernable.



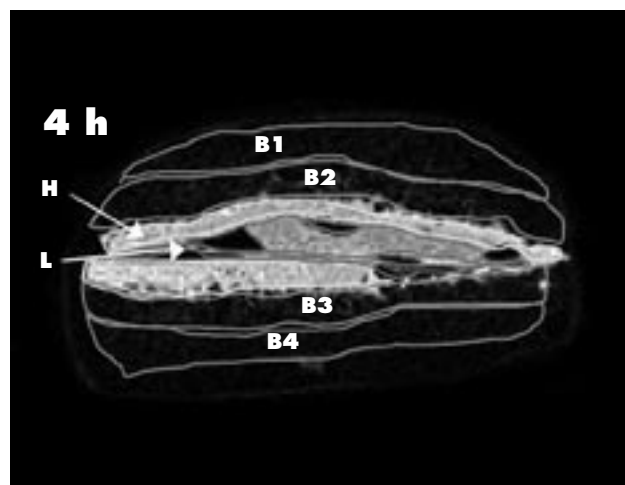
F3 becomes higher than 0.999, in these conditions, this factor can be neglected in equation 1.

To estimate the factor F2, local values of T2 have to be known for which additional experiments should be performed at every time point, since T2 values change as water transport happens. This would decrease the time resolution of the experiments to unacceptable levels (water transport would be faster than the time resolution of the MRI experiment). This is

a potential drawback of the proposed technique. Nevertheless, considering the ultra-short encoding time used in our experiments (100 $\mu$ s), only signal produced by the fraction of protons with ultra-short T2 values (10-20  $\mu$ s) would be attenuated. On the other hand, is not too bad to have no access to such range of T2 values, to avoid overestimation of water concentration because of the signal produced for protons belonging to macromolecules, like starch. Signal produced by water fractions with larger mobility (T2 in the scale of hundreds of microseconds or milliseconds) will be not attenuated appreciably. As an approximation we consider a minor influence of the factor F2 in signal intensity and, therefore, we have ignored it in our calculations. Nevertheless, further studies should be performed to evaluate the extent of F2 effects.

Finally, the most important drawback we found in obtaining water concentrations from signal intensities of MRI images is the T1 relaxation process, quantified by the attenuating factor F1. Because SPI techniques require the use of long acquisition times, repetition times (TR) are usually set to minimum values. In SPRITE,<sup>11</sup> the length of any step of the ramp is usually shorter than 1 ms, which in general produces a strong reduction of signal intensity in the images. The use of short angle excitation pulses (usually  $\theta < 10^\circ$ ) helps to partially correct for this effect, but still an important fraction of signal will be attenuated. This phenomenon has to be analyzed from two different points of view. Firstly, the signal-to-noise ratios (SNR) of the images are reduced by this T1 signal attenuation. Certainly, noise levels in the presented images (figure 4) are higher than the ones obtained in figure 2b (acquired with a longer TR value) but still image 4 has a much higher SNR than an image obtained using conventional spin-echo methods (like the one showed in figure 2a). Secondly, considering that variations of T1 values are minor in the time frame used in the experiment, factor F1 can be considered as a constant in our experiments which can be calculated by attaching to the sandwich package a 0.5 mm NMR glass tube filled with a solution with T1 values similar to those found in the sandwich (water doped with

Component	ROI	Signal
Bread	B1	15.86
	B2	20.81
	B3	23.30
	B4	17.93
Tomato	T	85.80
Lettuce	L	82.20
Ham	H	112.10
Cheese	L	117.50



**Figure 6.** Different regions of interest (ROIs) selected to assess water content on a 2D MRI slice of the sandwich. Table 1. Correspondent signal intensities of the ROIs, which has been assigned to water concentration (100% corresponds to signal from free water)

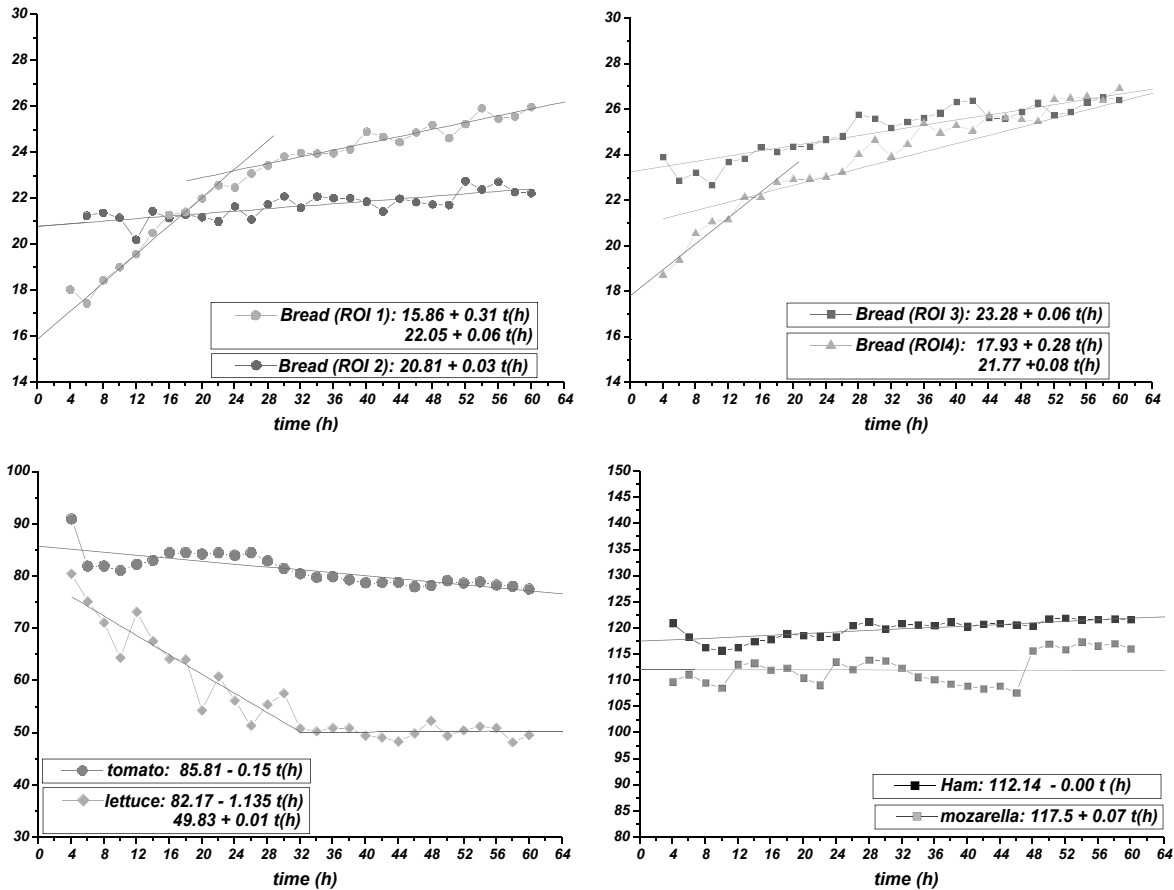
Gd-DTPA). Dividing pixel intensities of the sandwich by signal of the reference solution and multiplying them by a value of 100 (corresponding to signal produced by free water), pixel intensities will directly reflect water concentrations.

In Figure 6 we show different regions of interest (ROI) selected in a transversal 2D slice of the sandwich. Mean values of “water content” of these ROIs are calculated and presented in table 1.

The reason for choosing two different ROIs in each slice of bread is because water content is expected to be higher near the center of the sandwich, due to its direct contact with wet products. For those elements containing only water (bread, tomato and lettuce) values of water content calculated are in agreement with values obtained by gravimetric methods. This confirms that, after correction for T1 weighting, the acquired images reflect water concentration (no T2 weighting in our images). For mozzarella cheese and ham, observed values are higher than 100% (pure water) and almost double of those found by gravimetry (~60% for both). The explanation for this fact is that those elements contain not only water but also fat. Since in MRI we actually detect proton densities, signal builds up with the contribution of both water and fat. Fat usually has T1 values shorter than water and therefore, it always appears brighter in T1-weighted images. The correction of signal intensities using solutions containing only water is not strictly correct, and the construction of calibrating system with the correct local water/fat ratio for all components of the sandwich is not feasible. On the other hand, in conventional MRI methods there are ways to suppress signals from fat in the images, but none of them are suitable when using SPI methods and signal from fat would be always present. On the other hand, since SPI is time-inefficient (compared with conventional spin-echo methods) it is very unlikely that T1-weighting could be completely avoided using these techniques. None of the mentioned solutions is easy to perform but we still believe that results presented here are valuable. Considering that absolute values don't correspond to the actual water contents in elements where also fat is present,

we still can analyze changes in relative values. Any change in signal intensity of a voxel with time can be associated with water transport in the system (fat transport is much less significant than water transport) thus, we can still quantify water transport in those elements.

In figure 7, corrected water concentrations (signal intensities, in fact) for the different ROIs showed in image 6 are plotted versus time.



**Figure 7.** Plots of changes on water concentration (signal intensity) with time of different ROIs selected in the sandwich.

Main water transport is expected to happen from wet elements (like tomato) to bread in axial directions (*front view* in figure 4). Plots obtained in other transversal 2D slices were practically identical to those showed here and therefore they will not be presented. No appreciable water transport was detected in parallel direction to the longitudinal axis of the sandwich (*lateral* or *top views* in figure 4).

Several conclusions can be drawn from these plots. In the first place, it seems clear that water concentrations change linearly with time for all systems. For some of them, (bread regions 1 and 4 and lettuce) there is a marked difference in behavior between the first 24-30 hours and the rest of the sampled period (faster transport at the beginning, when water gradients are higher). As expected

water migration follows the direction marked by water gradients and thus, lettuce and tomato, the fresh vegetables with high water concentrations, act as water sources in the center of the sandwich, and the driest layers of bread, at the outer part of the sandwich, act as targeted regions where water moves to.

The element that releases more water is the lettuce, where water concentration drops from 82% to 50% in the first 24-30 hours. After that period of time plot reaches a plateau (slope is

0.01 %/h), indicating that lettuce is unable to lose more water. The tomato, in the other hand, releases water on a continuous way passing from approximately an 85% to an 80% at the end of the measuring period. We have to distinguish between water concentration (what we measure) and absolute water mass. The tomato slice has a very large mass, as compared with the lettuce leaf and tomato is probably releasing more water mass than the lettuce, but this causes less effect on water concentration for the larger object. Nevertheless, it is local water concentration/activity and not absolute water mass that influences the textural properties of food products.

In the bread, we observed the existence of an initial gradient on water concentration, being the outer parts drier than the inner



ones. This can be basically explained by the fact that baking of bread causes the outer parts of the bread to be drier. From the crust to the center of the crumb, water content diminishes (as can be easily observed in figure 2b). Because of this initial gradient, water demand is higher at these regions (ROI1 and ROI4) and water transport towards them is faster. Thus, ROI1 that has the lowest water concentration (16%) presents the highest water uptake rate (0.31 % / h) followed by ROI4, with an initial concentration slightly higher (18%) and a water uptake rate slightly slower (slope = 0.28 % / h). After a period of approximately 24 hours, these water gradients between outer and inner parts of the bread practically disappear (ROI1=23% vs. ROI2=22% and ROI3=25% vs. ROI4=25%). From this time point, all regions show similar behavior with a mean rate of  $0.057 \pm 0.018$  (%)/h. ROI2 seems to show a slightly different behavior (lower slope) and probably we should extend our measuring time to see if the system stabilizes at longer periods of time (more than 60 h).

Finally, no net changes were observed for the ham, meanwhile a slight uptake of water was observed on the mozzarella cheese blocks. This is probably caused by the relatively low water activity of this component. In future work we hope to establish a measure for water activity by means of T2 and or T1 relaxation measurements.

Finally, to show that mass balance is respected in the system, we have calculated a mean water concentration with all the elements of the sandwich (squares in figure 8), together with a mean water concentration of all elements that release (tomato and lettuce, represented by triangles in figure 8) or uptake (bread and cheese, represented by circles in figure 8) water on the system. The plot of such mean concentrations versus time is presented in figure 8.

After an initial period of faster water release, the system reaches an equilibrated state in which both, water release and water uptake, happen at similar rates ( $+0.08$  vs.  $-0.05$  %/h). Plots depict a logical behavior on the system showing how high water concentration elements tend to lose water tending to reach the mean value of 58%, and dryer elements tend to uptake water to reach similar value.

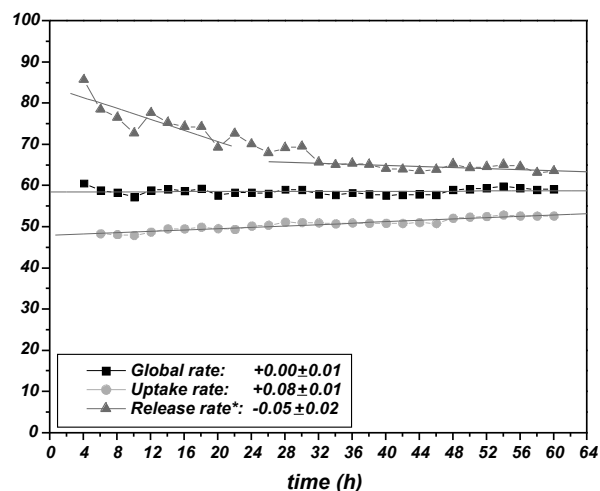
From the linear plots we can estimate that they will reach such values at approximately  $t=120$ h. From that point, water gradients will disappear and net water transport should also be ceased. We have to insist in the fact that sandwich elements have different mass and therefore changes in water concentration don't reflect changes in water mass, otherwise positive and negative slopes should be the same to preserve mass equilibrium. What we can confirm from the net concentration plot in figure 8 is that only internal water transport is taking place in the system since this plot shows no net water concentration changes on time (slope for the whole sandwich was  $0.00 \pm 0.01$ ), confirming the ability of the depicted method to quantify water transport since results don't violate the principle of mass conservation.

## CONCLUSIONS

A new method to study water transport in food by means of MRI has been described. With this method, water concentrations in low-water content food components can be obtained non-invasively and in a localized manner with high spatial resolution. Temporal resolution, a potential drawback of the method, resulted good enough to follow the kinetics of water transport in multi-component food systems. Water activity gradients, are the driving force for water migration. The kinetics of water migration is governed by the microstructures of the different components and their spatial arrangement. Characterization of water transport for in multi-component foodstuffs can help to define models to describe, and ultimately predict water transport processes, and provide technological routes to preserve the quality of these product during shelf life.

## AKNOWLEDGEMENTS

This work has been supported by BTS Dutch program (Dutch Ministry of Economical affairs). Project BTS00103.



**Figure 8.** Net water concentration changes on the sandwich as revealed by MRI.

## REFERENCES

- Mlabuza, T. P. and Hyman, C. R. (1998) "Moisture migration and control in multi-domain foods". *Trends in Food Sci Techn.* 9(2):47-55
- Nessaiver, M. (1997). *All you really need to know about MRI physics*. Baltimore: Baltimore MD.
- Vlaardingerbroek, M. T. and den Boer J. A. (2003) *Magnetic Resonance Image 3<sup>rd</sup> Ed.* Berlin: Springer-Verlag.
- Hornak, J. P. (2004) *The Basics of MRI*. <http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/>
- Haacke, E. M. ; Brown R. W. ; Thompson M. R. and Venkatesan R. (1999) *Magnetic Resonance Imaging. Physical Principles and Sequence Design*. New York: Wiley-Liss.
- Leisen, J. and Beckham, H. W. (2001) "Quantitative magnetic resonance imaging of fluid distribution and movement in textiles". *Textile Res. J.* 71(12):1033-1045
- Demco, D. E. and Blümich, B. (2000) "Solid-state NMR imaging methods. Part I: Strong field gradients". *Concepts in Magn. Reson.* 12(4):188-206
- Demco, D. E. and Blümich, B. (2000) "Solid-state NMR imaging methods. Part II: Line narrowing". *Concepts in Magn. Reson.* 12(5):269-288
- Emid, S. and Creyghton, J. H. N. (1985) "High resolution NMR imaging in solids" *Physica B* 128:81-83
- Gravina, S. and Cory, D. G. (1994) "Sensitivity and resolution of constant-time imaging" *J. Magn. Reson. Ser. B* 104:53-61
- Rasband, W. S. (1997-2004) ImageJ (public domain software) developed at the U.S. National Institutes of Health (MD Bethesda, USA). Available at <http://rsb.info.nih.gov/ij/>.
- Balcom, B. J. ; MacGregor, R. P. ; Beyea, S. D. ; Green, D. P. ; Armstrong, R. L. and Bremmer, T. W. (1996) "Single-point ramped imaging with T1 enhancement (SPRITE)" *J. Magn. Reson. Ser. A* 123:131-134

## PROPIEDADES DE RECONOCIMIENTO MOLECULAR DE

# Ciclodextrinas inmovilizadas en soportes sólidos

Alex Fragoso,\* Roberto Cao y Eduardo Almirall

*En el presente artículo se resumen las diferentes estrategias empleadas para la inmovilización de ciclodextrinas en superficies sólidas, haciendo especial énfasis en los sistemas formados por ciclodextrinas sulfuradas quimisorbidos en superficies metálicas. Se recogen además algunas de las aplicaciones analíticas más recientes de estos sistemas.*

### CARACTERÍSTICAS Y APLICACIONES DE LAS CICLODEXTRINAS

Las ciclodextrinas son una familia de oligosacáridos cíclicos naturales no reductores, constituidos por 6, 7, u 8 unidades de D(+)-glucopiranosas unidas por enlaces  $\alpha(1\rightarrow4)$  glicosídicos, que se denominan  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -ciclodextrina, respectivamente (Szejtli, 1998)

Como resultado de la conformación silla  ${}^4C_1$  de las unidades glucopiranosicas, las ciclodextrinas presentan una forma tridimensional de cono anular truncado (Figura 1-Pag. 68). Los grupos hidroxilo primarios enlazados al carbono 6 de la cara primaria de cada unidad quedan orientados hacia el borde más estrecho del cono, mientras que los hidroxilos secundarios situados en los carbonos 2 y 3 de la cara secundaria, quedan por consiguiente, dirigidos hacia el borde más ancho del cono anular. Así, todos los grupos hidrofílicos se ubican alrededor de las aberturas de la cavidad y orientados hacia afuera. De esta forma, la ciclodextrina presenta un revestimiento externo de naturaleza altamente hidrofílica. Los átomos de hidrógeno metínicos de los carbonos 3 y 5, así como los pares electrónicos de los enlaces glicosídicos quedan orientados hacia el interior de la cavidad, dándole un carácter marcadamente hidrofóbico y apolar (Figura 2-Pag. 68).

Las ciclodextrinas son receptores moleculares que al poseer una cavidad hidrofóbica central, les permite la formación de complejos de inclusión con una gran variedad de compuestos inorgánicos y orgánicos. Esta propiedad contribuyó al desarrollo de un gran número de aplicaciones de las ciclodextrinas en la tecnología de los alimentos, las industrias farmacéutica, textil, biotecnológica y cosmética (Hedges, 1998). Otra de las aplicaciones de las ciclodextrinas ha sido en el diseño de enzimas artificiales, existiendo algunos casos notables en los que la sustitución de grupos hidroxilo por ciertos grupos funcionales ha permitido obtener enzimas artificiales con una actividad catalítica superior a la

enzima natural que se desea modelar (D'Souza, 1987).

### SENSORES DE RECONOCIMIENTO MOLECULAR BASADOS EN DERIVADOS DE LAS CICLODEXTRINAS

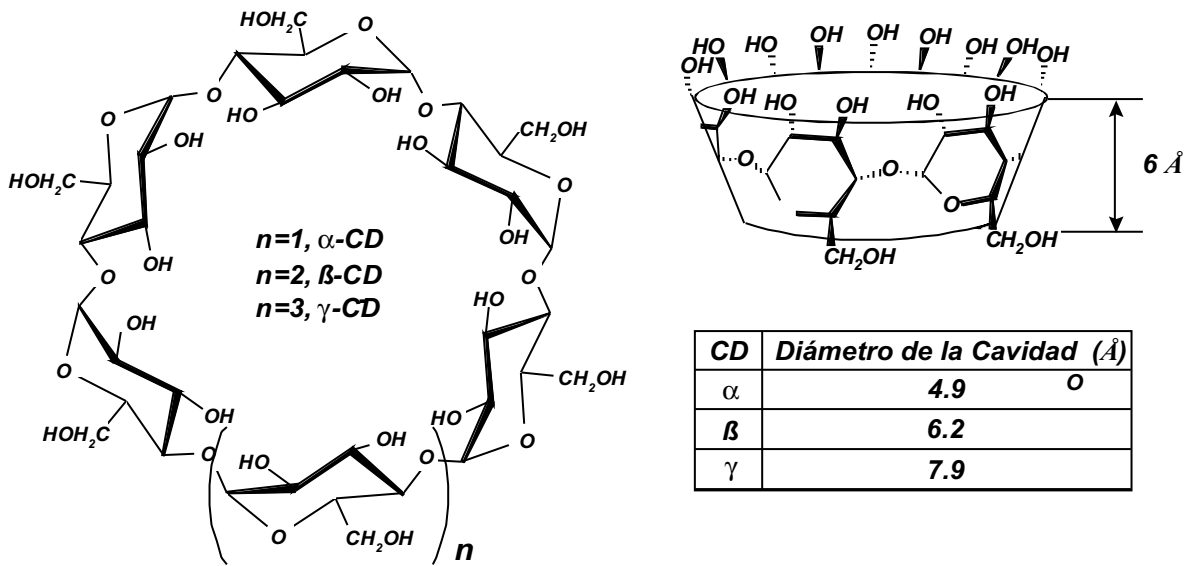
Las ciclodextrinas también se pueden comportar como sensores moleculares artificiales capaces de detectar de forma selectiva un tipo específico de sustrato, ya sea por su tamaño, disposición de los grupos funcionales en la molécula o por la posibilidad de provocar cambios en alguna de las propiedades físicas del sistema receptor. De manera general, estos dispositivos pueden actuar en dos formas diferentes:

1. En solución, o sea, sin estar fijos a un soporte.
2. Inmovilizados en un soporte.

El primer tipo de sensor es un derivado soluble de las ciclodextrinas que contiene algún grupo cromóforo o fluoróforo ocluido en su cavidad. Este sustituyente posee una señal analítica determinada, que al ser desplazado de la cavidad por un sustrato huésped, origina una nueva señal analítica diferente (Figura 3-Pag. 68) la cual es característica del huésped ocluido y la magnitud del cambio en posición o intensidad con respecto a la señal inicial, depende del grado de penetración del huésped en la cavidad (Ueno, 1992). Un rasgo fundamental de estos sensores es que las propiedades fisicoquímicas del sustituyente se ven modificadas notablemente al pasar al exterior de la cavidad de la ciclodextrina. Las señales analíticas más empleadas en este tipo de sensores han sido las de fluorescencia (Kuwabara, 1996) y absorción en el ultravioleta-visible (Ueno, 1992).

El segundo tipo de sensor está formado por un derivado de las ciclodextrinas, pero en este caso, la modificación química tiene como objetivo fijar el sensor a una superficie sólida, generalmente

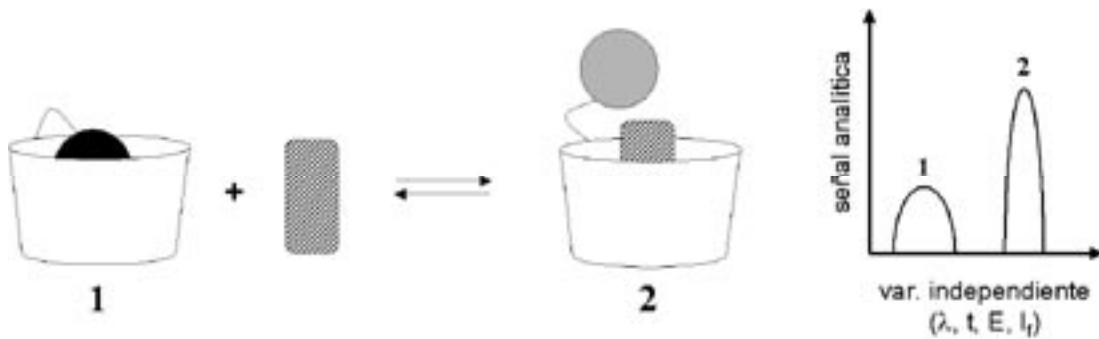
\* Laboratorio de Bioinorgánica, Facultad de Química, Universidad de La Habana, La Habana, 10400, Cuba. E-mail: fragoso@fq.uh.cu



**Figura 1.** Estructura cíclica y dimensiones de las ciclodextrinas.



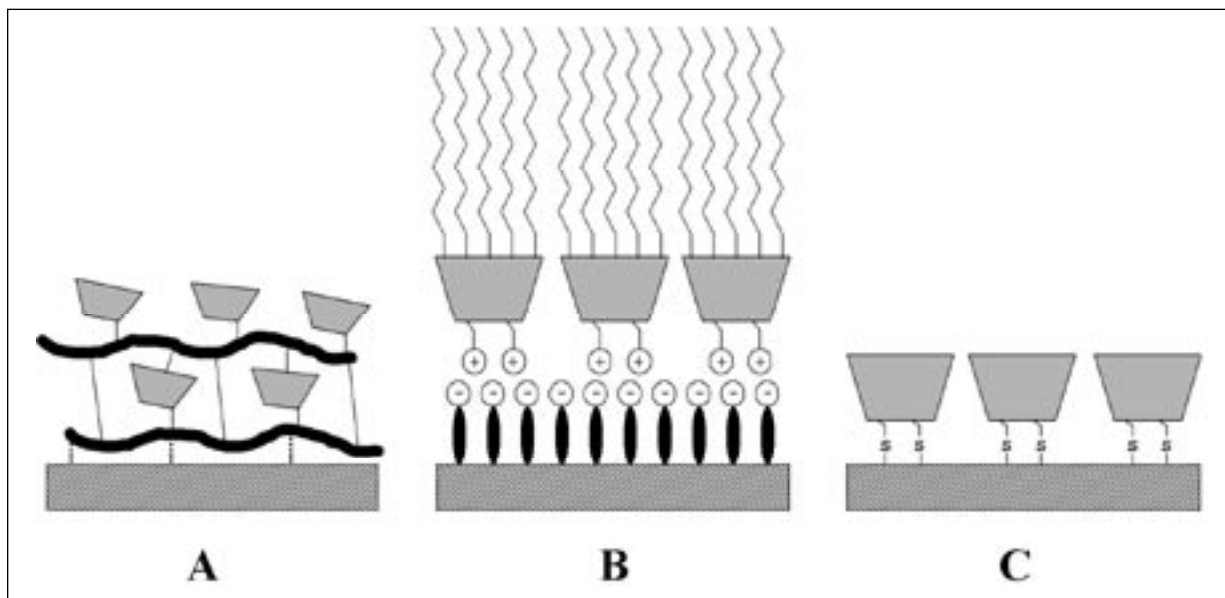
**Figura 2.** Ubicación de los diferentes grupos funcionales en la molécula de ciclodextrina.



**Figura 3.** Representación esquemática de un sensor no fijo a un soporte.

un electrodo. En este tipo de sensor las ciclodextrinas se pueden inmovilizar de tres formas diferentes (Figura 4):

- A. Formando películas poliméricas (Ferancová, 2001).
- B. Formando monocapas de derivados anfifílicos autoensamblados mediante interacciones hidrofóbicas y electrostáticas (Godínez, 1997).
- C. Formando monocapas en superficies de metales nobles mediante enlaces M-S (Rojas, 1995).



**Figura 4.** Métodos de inmovilización de ciclodextrinas en superficies sólidas.

La formación de películas se puede realizar adsorbiendo físicamente materiales poliméricos de derivados de ciclodextrinas sobre electrodos de pasta de carbón (composites), carbón vítreo o diferentes metales (Figura 4-A). Los polímeros, al estar formados por múltiples receptores unidos mediante enlaces covalentes, favorecen en muchas ocasiones la capacidad de las ciclodextrinas de formar compuestos de inclusión con diferentes sustratos, mejorando la sensibilidad del dispositivo.

La segunda estrategia consiste en la modificación selectiva de todos los grupos hidroxilo de un mismo tipo por grupos apolares para obtener derivados anfifílicos que poseen una cara hidrofóbica (sustituida por grupos apolares) y otra cara hidrofílica (sustituida por grupos polares), los cuales pueden ser inmovilizados en soporte de naturaleza adecuada (Figura 4-B). Este tipo de autoensamblaje organizado se asemeja al que ocurre en las membranas biológicas, además de poseer propiedades de reconocimiento molecular.

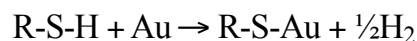
La tercera estrategia de modificación consiste en formar monocapas de compuestos sulfurados en superficies de metales preciosos (Figura 4-C). Este fenómeno, llamado quimisorción, se origina en la interfase que existe entre una superficie sólida

(p. e. una barra metálica) y una sustancia activa en disolución, que trae consigo la formación de bloques estructurales supra-moleculares.

#### ELECTRODOS MODIFICADOS CON DERIVADOS SULFURADOS DE LAS CICLODEXTRINAS

La reacción química general que representa la quimisorción de un alcanotiol en una superficie de oro es considerada como

una reacción de oxidación-adición del grupo tiol seguido de una posterior eliminación reductiva del hidrógeno, como se muestra en la ecuación siguiente (Ulman, 1996):



Estas monocapas muestran, en general, un óptimo grado de organización, compactación y estabilidad como resultado de los fuertes enlaces Au-S. Es evidente que la naturaleza de las moléculas adsorbidas le puede conferir al soporte determinadas propiedades que pueden ser útiles para construir determinados dispositivos. Es por ello que a partir de mediados de la década de los noventa, se inició el estudio de nuevas generaciones de sensores voltamétricos basados en derivados tiolados de determinados receptores quimiadsorbidos en electrodos de oro, tales como ciclodextrinas (Rojas, 1995) y calixarenos (van Elzen, 1995). La idea consistió en dotar a la superficie de propiedades de reconocimiento molecular aprovechando las características del receptor inmovilizado.

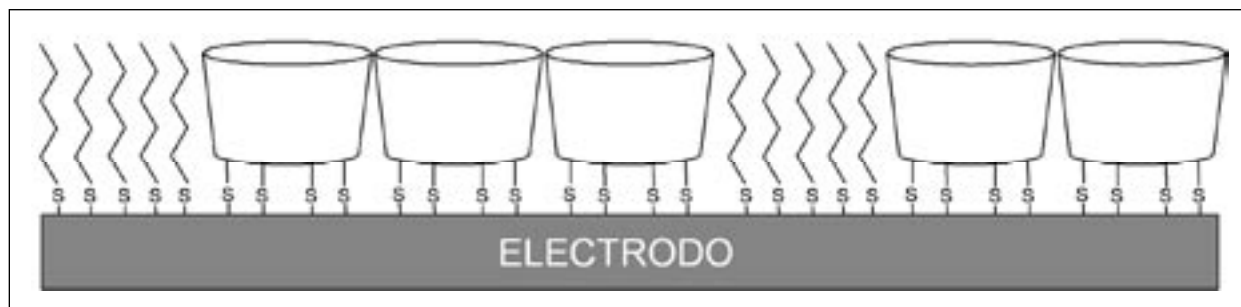
El primer trabajo en este tema fue publicado por Kaifer en 1995 al reportar la síntesis y quimisorción del *heptakis*-(6-tio-6-desoxi)- $\beta$ -ciclodextrina sobre un electrodo de oro (Rojas,

1995). La monocapa fue caracterizada por medidas de capacitancia y desorción reductiva. Como resultado, se obtuvo que los receptores forman una monocapa relativamente imperfecta que recubría alrededor del 65% de la superficie. Los defectos en el proceso de recubrimiento fueron sellados con pentanotiol, para de esta forma obligar a que toda reacción redox del sustrato en la superficie electródica se llevara a cabo a través de la cavidad de la ciclodextrina (Figura 5). Este electrodo fue estudiado como

ser descrita mediante tres etapas fundamentales:

1. Proceso físico de adsorción,
2. Enlace y orientación.
3. Formación de la monocapa.

Posteriormente, Reinhoudt desarrolló métodos novedosos de síntesis de derivados de ciclodextrinas conteniendo grupos tioéter



**Figura 5.** Sensor de reconocimiento molecular basado en un derivado heptatiolado de la  $\beta$ -ciclodextrina y pentanotiol quimiadsorbido en un electrodo de oro.

sensor voltamétrico de reconocimiento molecular del ferroceno, encontrándose que la constante de acomplejamiento interfacial era relativamente alta ( $3.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ). Por otro lado, la formación del complejo de inclusión ferroceno/ $\beta$ -ciclodextrina fue comprobada a través del fenómeno de competición selectiva con un sustrato no electroactivo, el ácido 3-metilbenzoico. Se observó que la señal redox del ferroceno disminuyó en la medida que la concentración del ácido aumentó en solución. Este trabajo marcó la pauta en el estudio y caracterización de otros electrodos modificados con derivados sulfurados de las ciclodextrinas como sistemas de reconocimiento molecular.

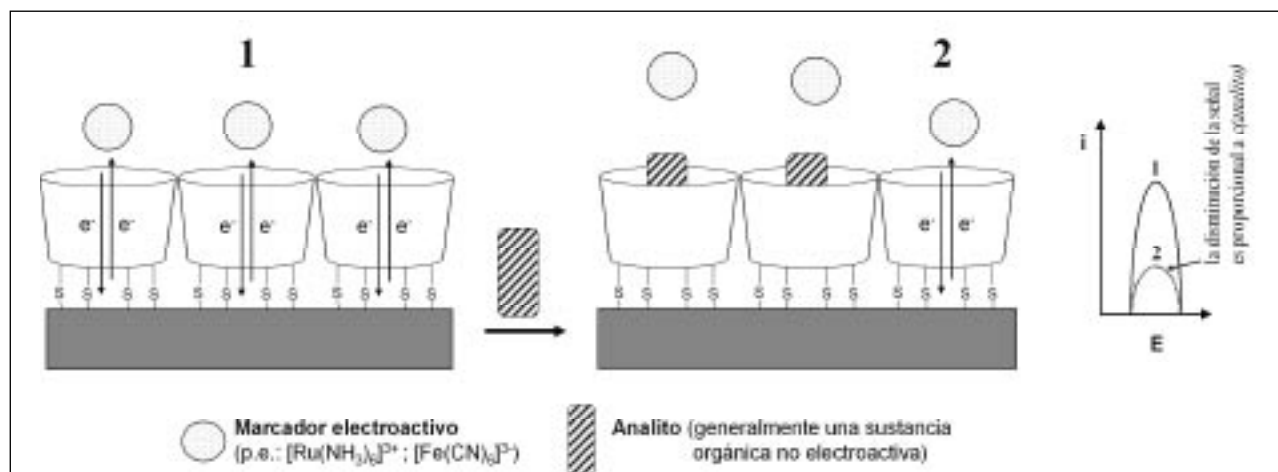
Wenz estudió mediante diferentes métodos electroquímicos y espectroscópicos la influencia de la separación que se origina entre la superficie del electrodo y la cavidad de las ciclodextrinas (Nelles, 1996a, b). Para ello, sintetizó una serie de derivados mono- y *per*-tiolados con espaciadores de diferente longitud y naturaleza. Estos estudios demostraron la influencia de la estructura química del derivado tiolado en la arquitectura de la monocapa, donde la orientación, permeabilidad de la cavidad, así como la cinética del proceso de quimisorción, varían con el número de grupos tiol inmovilizados y su distancia a la cavidad de la ciclodextrina. La permeabilidad de las monocapas con diferentes espaciadores fue demostrada desde el punto de vista cualitativo, a través del estudio voltamétrico del proceso redox del anión hexacianoferrato en solución. Además, se estudió mediante voltametría cíclica la inclusión de diversos sustratos orgánicos como el ácido ferrocenocarboxílico, el metilnaranja, el ácido 4-*ter*-butilbenzoico y el ciclohexanol.

A partir de estos trabajos se pudo concluir que la cinética del proceso de quimisorción en una superficie sólida es influenciada, entre otros factores, por la estructura química del receptor y puede

con diferentes grados de ramificación y estudió mediante métodos electroquímicos y espectroscópicos la formación de monocapas en electrodos de oro (Beulen, 2000). La arquitectura de la monocapa resultó ser dependiente del tipo de ciclodextrina, siendo los derivados de  $\beta$ -CD los que formaron las monocapas más compactas. Estas monocapas son capaces de acomplejar sustratos orgánicos fluorescentes con valores de constante de asociación superiores a los obtenidos con el receptor en disolución. Los trabajos citados anteriormente fueron muy importantes en el estudio de los factores que afectan la estructura, orientación y permeabilidad de las monocapas de ciclodextrinas. Además, demostraron que la arquitectura y orientación de los bloques supramoleculares formados dependen de la estructura del derivado inmovilizado que conforma la interfase. Pero más importante, quizás, resultó ser que demostraron las potencialidades de estos electrodos modificados para comportarse como sensores voltamétricos de reconocimiento molecular capaces de detectar moléculas de la más diversa naturaleza. A pesar de esto, existen relativamente pocos trabajos en la literatura orientados con fines aplicativos por lo que el tema tiene amplias posibilidades de desarrollo en un futuro muy próximo.

Un trabajo muy interesante fue el desarrollado por Osa y colaboradores (Pingang, 1997) a partir de la modificación de un electrodo de oro con el derivado *hepta*-(6-lipoil-6-desoxi)- $\beta$ -ciclodextrina. El electrodo modificado fue utilizado como sensor de reconocimiento molecular de sustratos no electroactivos empleando marcadores electroactivos (Figura 6). La intensidad de la señal del marcador electroactivo disminuye y es proporcional a la concentración del sustrato que compite por los receptores de ciclodextrina, y al valor de su constante de inclusión interfacial.

Otro trabajo en la misma línea fue el desarrollado por Ferri



**Figura 6.** Sensor voltamétrico para sustratos no electroactivos empleando ciclodextrinas inmóviles.

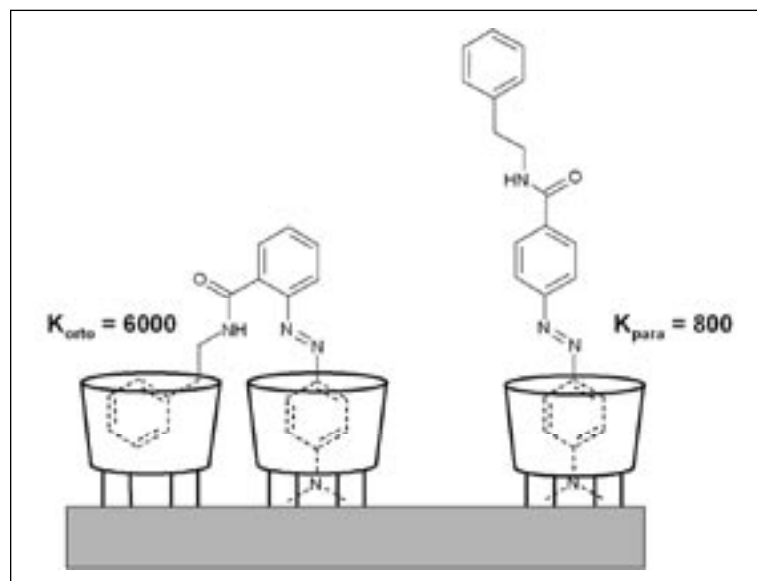
mediante la modificación de un electrodo de oro según el método propuesto por Kaifer. La monocapa fue utilizada como sensor en la determinación voltamétrica de una serie de sustancias orgánicas no electroactivas, tales como sales biliares y detergentes (D'Annibale, 1999). Estos sensores constituyen una alternativa a la detección de sustancias no electroactivas y pudieran encontrar aplicaciones diversas.

La misma estrategia fue empleada por Kitano para determinar las constantes de inclusión de los isómeros *orto* y *para* del conjugado del rojo de metilo con la fenilamina en una monocapa de  $\alpha$ -ciclodextrina (Maeda, 1997). El valor obtenido para el isómero *orto* resultó ser mayor que el del isómero *para*, lo cual se pudiera explicar considerando que la forma en "V" del primero le permite interactuar, a la vez, con dos de los receptores inmóviles (Figura 7).

Nuestro grupo también ha incursionado en este campo, al reportar la diferenciación selectiva de nitrocompuestos aromáticos disustituidos por electrodos modificados con ditiocarbamatos de ciclodextrina (Almirall, 1999; Almirall, 2003). En este caso, el reconocimiento se origina por las diferentes geometrías que forman los diferentes isómeros con los receptores inmóviles, que hacen que el grupo  $-NO_2$  quede orientado de diferente forma hacia el electrodo, facilitando o dificultando la transferencia electrónica con el electrodo (Figura 8-Pag. 72).

Recientemente, nuestro grupo ha desarrollado una novedosa estrategia para la inmovilización de enzimas en electrodos por medio de interacciones supramoleculares (Fragoso, 2002). La estrategia consistió en la formación de complejos de inclusión entre la metaloproteína citocromo c (Cyt c) modificada con unidades de adamantano (Cyt c-A) y el derivado pertiolado de la  $\beta$ CD quimiadsorbido en un electrodo de oro (Figura 9-Pag. 72). Como es lógico, la idea

se pudiera extender a otras proteínas, lo que en nuestra opinión, abre nuevas perspectivas en el campo de los biosensores. Una ventaja importante del método es la de ser muy poco sensible a cambios de fuerza iónica, que se conoce que afecta grandemente la adsorción de las proteínas. Además, este tipo de inmovilización de naturaleza supramolecular presenta la ventaja de no afectar la actividad de la proteína y es lo suficientemente estable como para



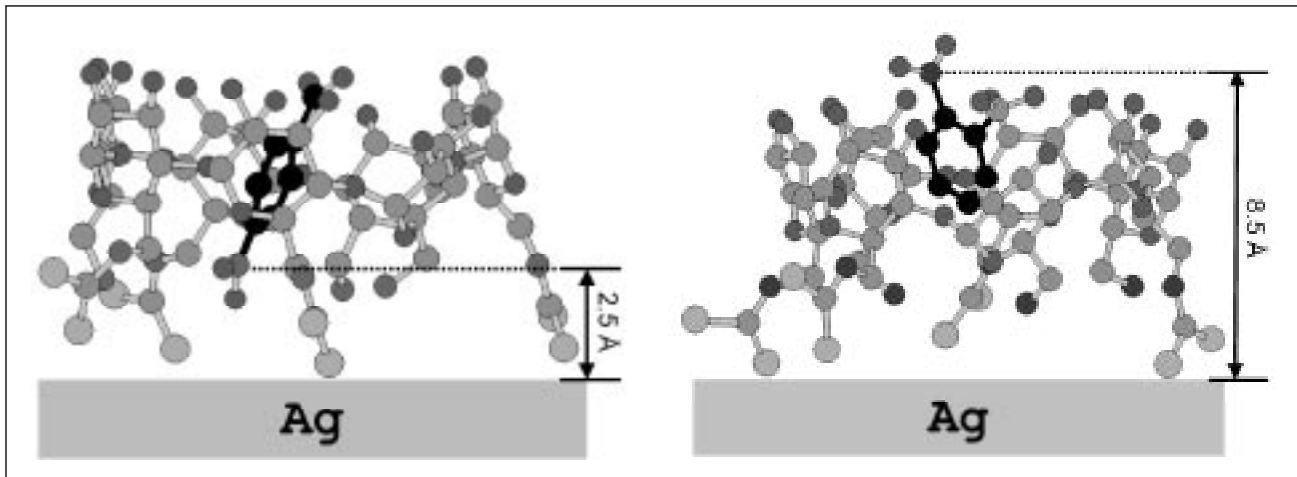
**Figura 7.** Diferenciación de isómeros de posición por ciclodextrinas inmóviles.

garantizar una durabilidad del dispositivo. Finalmente, y no menos importante, la deposición de la proteína a nivel de una monocapa de espesor conocido y controlable garantizaría la reproducibilidad de la respuesta electroquímica.

## CONCLUSIONES

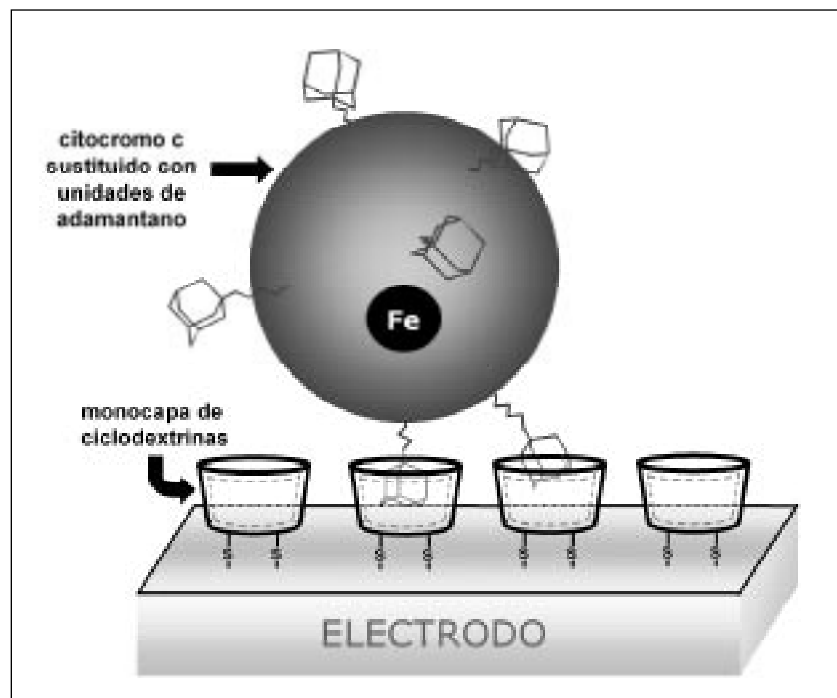
Como ha podido verse, las ciclodextrinas constituyen una familia de compuestos muy versátiles, que han encontrado aplicación en campos muy diversos. A pesar de ser conocidas desde hace más de un siglo, cada día se descubren y explotan nuevas

posibilidades de aplicación. Un ejemplo de ello es el desarrollo de sistemas de reconocimiento molecular basados en ciclodextrinas inmovilizadas en electrodos, los cuales han comenzado a estudiarse hace apenas 10 años. Esto hace que el tema sea de gran actualidad, abriendo numerosas posibilidades de estudio y desarrollo futuro.



**Figura 8.** Geometrías de mínima energía (PM3) obtenidas para los complejos de inclusión del orto-nitrobenzoato (izquierda) y el para-nitrobenzoato (derecha) con el (6<sup>A</sup>,6<sup>B</sup>,6<sup>D</sup>,6<sup>F</sup>)- $\beta$ -ciclodextrin-tetraditiocarbamato. Los átomos de carbono del huésped han sido resaltados en color negro y los átomos de hidrógeno han sido omitidos para ganar en claridad. C: azul claro, O: rojo, N: azul oscuro, S: amarillo.

**Figura 9.** Inmovilización de proteínas en electrodos modificados con ciclodextrinas. La adsorción tiene lugar a través de la inclusión de los residuos de adamantano en las cavidades de ciclodextrina.





REFERENCIAS:

- Almirall, E.; Fragoso, A.; Cao, R. (1999). *Electrochem. Comm.*, 1, 10.
- Almirall, E.; Fragoso, A.; Cao, R.; González-Jonte, R. (2003). *Supramol. Chem.*, 15, 417.
- Beulen, M. W. J.; Bugler, J.; DeJong, M. R.; Lammerink, B.; Huskens, J.; Schonherr, H.; Vancso, G. J.; Boukamp, B. A.; Wieder, H.; Offenhauser, A.; Knoll, W.; van Veggel, F. C.; Reinhoudt, D. N. (2000). *Chem. Eur. J.* 6, 1176.
- D'Annibale, A.; Regoli, R.; Sangiorgio, P.; Ferri, T. (1999). *Electroanalysis*. 7, 11.
- D'Souza, V. T.; Bender, M. L. (1987). *Acc. Chem. Res.* 20, 146.
- Ferancová, A.; Korgova, E.; Buzinkaiova, T.; Kutner, W.; Stepanek, I.; Labuda, J. (2001). *Anal. Chim. Acta*, 447, 47.
- Fragoso, A. Caballero, J.; Almirall, E.; Villalonga, R.; Cao, R. (2002). *Langmuir*, 18, 5051.
- Godinez, L. A.; Lin, J.; Muñoz, M.; Coleman, A. W.; Rubin, S.; Parikh, A.; Zawodzinski, T. A.; Loveday, D.; Ferraris, J. P.; Kaifer, A. E. (1998). *Langmuir*. 14, 137.
- Hedges, A. R. (1998). *Chem. Rev.* 98, 2035.
- Kuwabara, T.; Nakamura, A.; Ueno, A.; Toda, F.; (1994). *J. Phys.. Chem.* 98, 6297.
- Maeda, Y.; Fukuda, T.; Yamamoto, H.; Kitano, H. (1997). *Langmuir*, 13, 4187.
- Nelles, G.; Weisser, M.; Back, R.; Wenz, G.; Mittler-Neher, S. (1996a). *J. Am. Chem. Soc.* 118, 5039.
- Nelles, G.; Weisser, M.; Wohlfahrt, P.; Wenz, G.; Mittler-Neher, S. (1996b). *J. Phys. Chem.* 100, 17893.
- Pingang, He.; Jiannong, Ye.; Fang, Y.; Suzuki, Y.; Osa, T. (1997). *Anal. Chim. Acta*, 337, 217.
- Rojas, M. T.; Koniger, R.; Stoddart, J. F.; Kaifer, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* 117, 336 (1995).
- Szejtli, J. (1998). *Chem. Rev.* 98, 1743.
- Ueno, A.; Kuwabara, T.; Nakamura, A.; Toda, F. (1992). *Nature*. 356, 136.
- van Elzen, E. U.; Engberzen, J.; de Lange, P.; Mahy, J.; Reinhoudt, D. N. (1995). *J. Am. Chem. Soc.* 117, 6853.



## THE IMPROVED BIOAVAILABILITY OF

# Cyclodextrin complexed drug is a disadvantage for their approval

József Szejtli\*

*Teniendo en cuenta las ventajas que representa la complejación de fármacos por ciclodextrinas, es difícil entender el motivo por el cual no existen en el mercado un mayor número de medicamentos genéricos en su forma de complejos con ciclodextrinas. El costo de las ciclodextrinas ya no es un factor crucial que limite su uso. El principal problema es que para la aprobación de cualquier nueva formulación de medicamentos genéricos complejados con ciclodextrinas, es necesario llevar a cabo un estudio de bioequivalencia. En el presente artículo, se hace una revisión sobre los problemas que existen para la aprobación de una formulación de un medicamento genérico complejado con ciclodextrinas.*

### INTRODUCTION

Difficult to find a drug which has not yet been studied for complexability with cyclodextrins (CDs), and almost in all cases some significant advantage has been reported.

Altogether more than 5000 papers and patents described the improvement of practically all known problematic drugs by CD complexation. From 1995 to middle of 2003 the monthly newsletter Cyclodextrin News (1) published the abstract of 1741 drug/CD related papers and of 715 patents/applications for 515 drug actives. Generally CD complexation of a poorly soluble drug (the absolute majority of orally administered drugs) results in improved (accelerated, enhanced) dissolution rate, solubility and bioavailability. (Fig 1.-Page 76)

The concerns about eventual toxic effects of CDs are largely eliminated, the industrially produced and available CDs are involved into the Pharmacopoeias.

The bioavailability of a drug even in the same person might be very different, depending on the conditions of the absorption, for example in case of widely differing gastric pH values. Ketoconazole at a gastric pH of 6,5 (for example after swallowing an antacid, or a proton pump inhibitor, like omeprazole) will not be practically absorbed. From its  $\beta$ CD/tartaric acid ternary complex even at this extreme gastric pH a quite acceptable absorption will be attained. Ketoconazole AUC values in rabbits at a gastric pH of 6,5 (after an omeprazole treatment)

for identical doses of plain ketoconazole, ketoconazole/ $\beta$ CD binary and ketoconazole/ $\beta$ CD/tartaric acid ternary complexes were 0,053, 0,651 and 3,858  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ , respectively. The binary complexation resulted in a 12 fold, the ternary complexation in a 73 fold enhancement of bioavailability.

A very large number of papers and monographies compiled the advantageous effects of CD on drugs, or when is it worth to formulate a drug with a CD (2,3,4). The limits of this technology is largely explored (4,5).

The approval status for the available CDs is slowly but steadily advancing and is regularly summarized by the CD-News. In most cases can be found a CD or a CD derivative which is appropriate for improvement of a given drug and will not be retarded by approval barrier. (Table 1.)

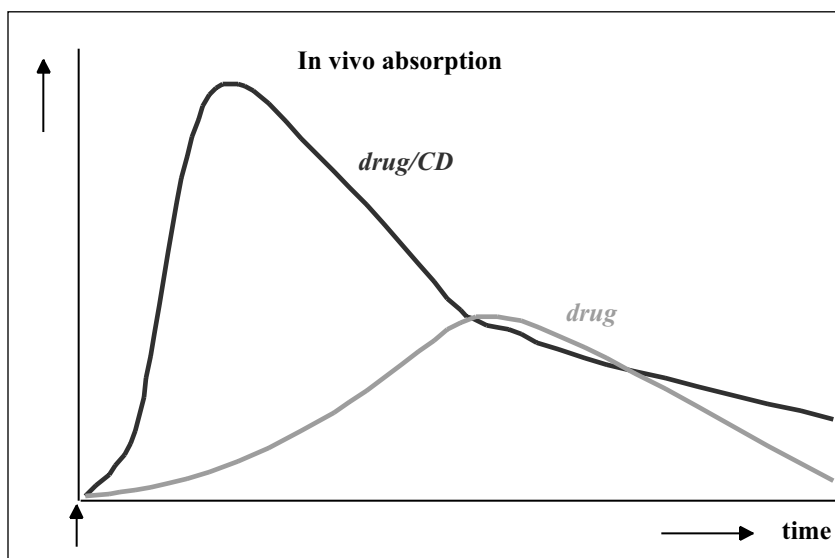
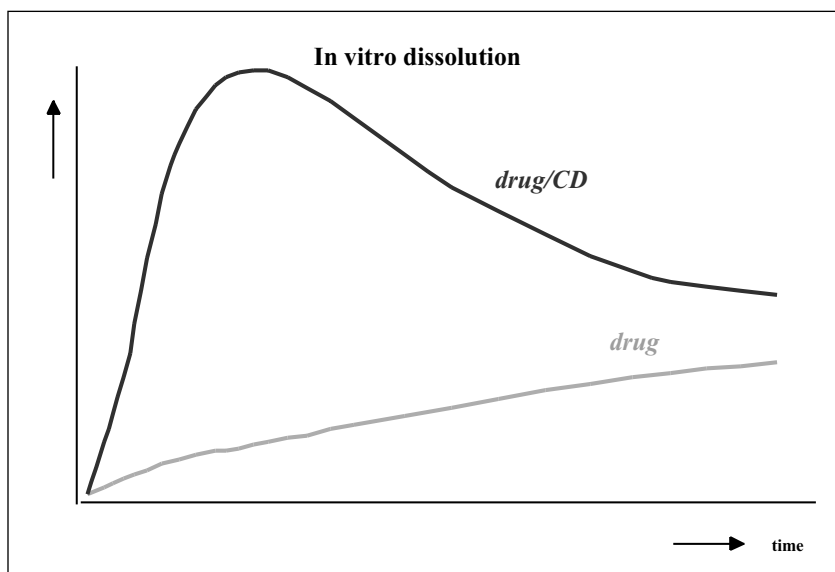
The fundamental problem is that a CD formulated drug is "better than it should be".

### THE ECONOMICAL FEASIBILITY

When an **original drug** (which previously never has been approved and consumed) is developed (and patented) in form of a CD complex i.e. all preclinical and clinical studies are performed with the drug/CD complex (formulation), then no reference product exists for a comparative bioequivalence test. In this case all preclinical studies (stability, toxicology, pharmacology) and all clinical studies –i.e. the usual long

\* (Falleció en noviembre de 2004) Cyclolab Ltd., 1525 Budapest P.O.B. 435 Hungary, E-mail: Cyclolab@cyclolab.hu

**Note:** When the patents and other  
of this drug (general  
original, must contain the sam  
perform identical dissolution, stability, biological absorption and effectivity. If the formulation (other ingredients) or the route of delivery (e.g. injection instead of tablet) are different, then  
one) in form of a CD-compl  
formulation as a "super generic" – except of course those cases when the drug substance is itself an original drug.



**Fig. 1.** The bioavailability of a poorly soluble drug will be improved by CD complexation, because it

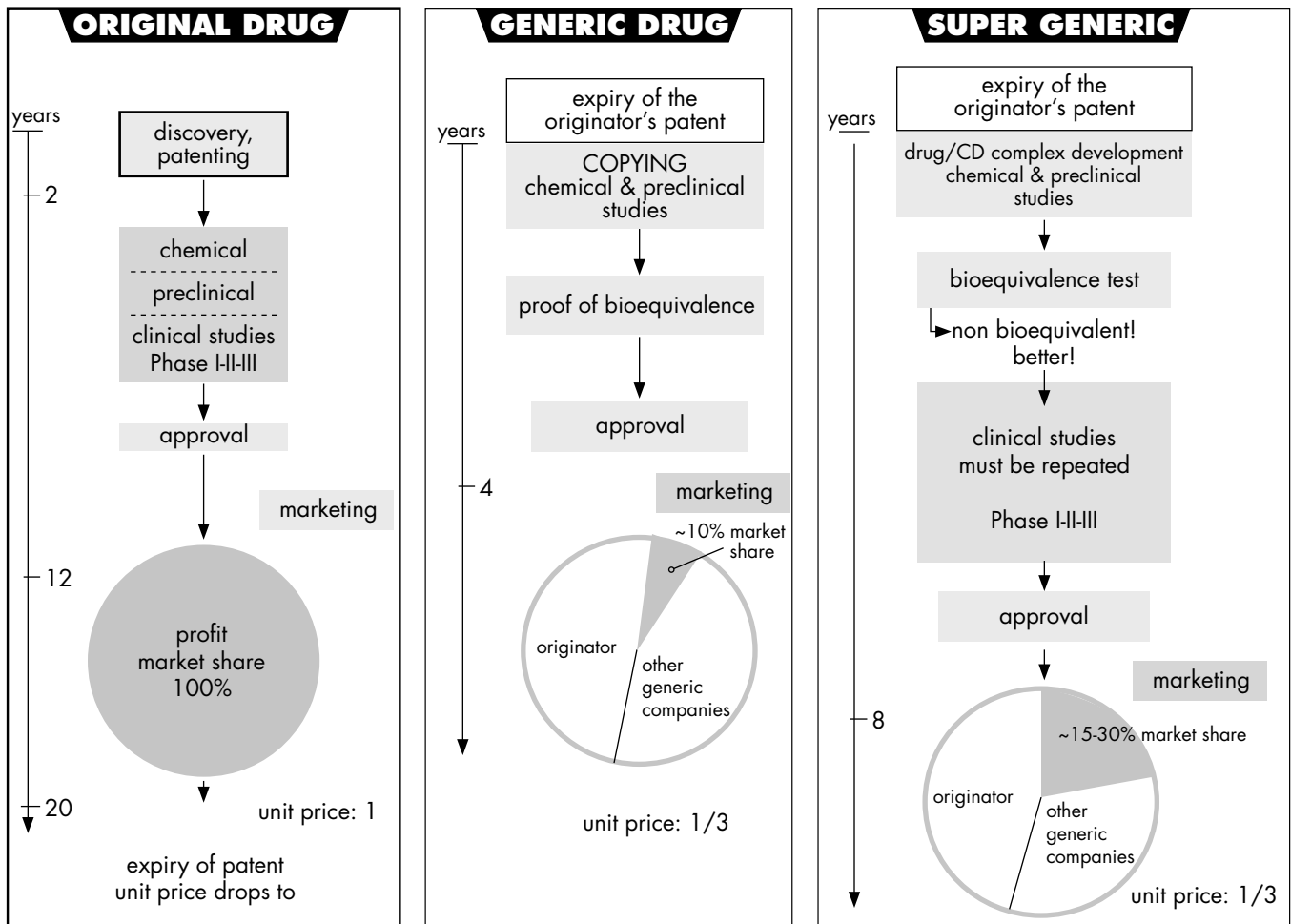
- will be dissolved faster
- will attain a higher solubility
- will be absorbed faster: the time between administration and onset of biological effect (e.g. pain-reduction) will be shorter (shorter  $T_{max}$ )
- will result in a more complete absorption (higher AUC)

lasting and very expensive procedure has to be done resulting in an original, patent protected drug. The originator company in 8-12 years spends hundreds of millions of USD on development and marketing but then –till expiry of the patent enjoys the exclusivity on the market for at least 8 to 12 years. (Fig.2) Being alone on the market a successful drug brings an extra profit which covers the costs of the development of a series of other new drugs.

The situation is quite different in case of a **generic drug**. (Fig.2). Years before the expiry of the patent of an original drug a number of generic companies start to copy the original drug. Their goal: to develop a generic formulation of the original drug (a clone), which is bioequivalent with the original one, and to launch it on the market immediately, as soon as the patent expires. The costs of a bioequivalence study are relatively modest, the tests take not more than a few weeks. All development process takes no more than 3 to 4 years, therefore shortly after the expiry of the originator's patent the same drug under various names are marketed by a series (5 to 10 or more) generic companies, most of them is present on the market only in one country. The originally high price drops to about 1/3 of the original one. The originator can keep only about half of its earlier exclusive market the other half is divided between 5, 10 or even more generic companies. Consequently their profit will be only a few percent of that of the originator's one, because their market share will be only 5 to 10%, at the price reduced to about 1/3 of the original one. Nevertheless it is generally a rewarding business, because their development and marketing costs reaches only a small fragment of the total cost of the originator, mainly due to avoiding the most costly phase of the development –the clinical trials.

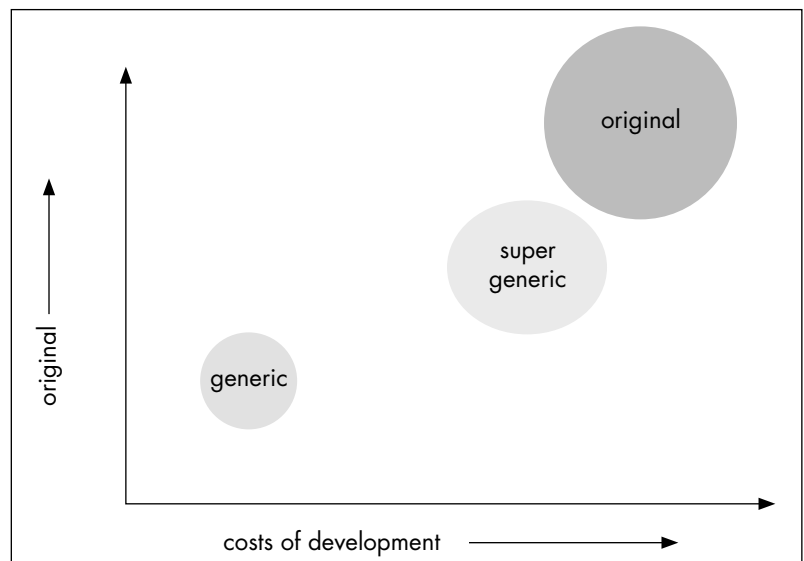
The new drug formulation, superior in its performance when compared to other products which contain the same known active ingredient (drug) (which is not patent protected anymore, eventually never has been, being a long known substance) is called a **specialty**, or **super generic**. Most drug/CD complexes - studied and reported in the literature - belong to these groups of drugs.

Their active ingredient is generally known, (available, approved, may be used and marketed without any restriction in the known, accepted formulation) or the patent for the drug just expired (or near to expiry). The formulation, the chemical-analytical, preclinical works- including toxicological, stability and bioequivalence tests need just as much time and costs as the development of a generic formulation. But in most cases the bioequivalence tests lead to Janus-faced results: the performance of the super generic (CD)-formulation is too good!- because blood level shows shorter  $T_{max}$ , higher  $c_{max}$ , larger AUC values. (Table 2). Performing also pharmacodynamic



**Fig. 2.** Schematic representation of the development and costs for an original drug, a generic drug, and a super generic drug.

studies, the drug shows higher (eventually too high) and quicker therapeutic effect. To reduce the drug dose is an obvious idea, but this super generic formulation is not bioequivalent with any already approved formulation, consequently all the clinical trials have to be repeated. It means that the development of a super generic formulation is nearly as expensive, as the development of a new, original drug. (Fig.2) Nevertheless, its market share hardly will approach more than the half of the original drug's (during its patent life). At any rate, the order of magnitude of the development costs is similar than in case of the original drug, therefore it is beyond of the horizon for the majority of generic companies. (Fig.3) Only a few examples are known, when a patent-expired drug has been developed to a successfully marketed product in a series of countries. Of course similar marketing and scientific promotion (large number of publications, and presentations at medical



**Fig. 3.** Correlation between the total profit, or risks and costs of development for an original drug, a generic and a super generic drug formulation.

conferences) are preconditions for such a success. An illustrative example is the piroxicam  $\beta$ CD complex (BREXIN = BREXIDOL = CICLADOL) which is marketed by CHIESI FARM (Parma, Italy) since 1987 in a steadily increasing number of countries.

During the last 20 years, since the first publication on the piroxicam/ $\beta$ CD complex in 1985, 145 publications have been dedicated to its preparation, structure, chemical-physical properties, toxicology, pharmacokinetics, clinical test, in five years intervals:

between 1985 and 1989 = 14  
1990 and 1994 = 53  
1995 and 1999 = 44 and  
since 2000 = 34 publications.

There are cases, when the use of a CD for formulation of a drug is inevitable, because no other way is known for preparation of an injectable (or oral) solution from the poorly soluble drug (prostaglandin, itraconazole) or it is so bitter, that no pediatric oral solution can be prepared without CD (dextrometorphan).

#### Conclusion

Complexation of a drug with an appropriate CD (available at acceptable price, involved in Pharmacopoeia) upon oral administration generally results in a considerable increase of the blood level peak ( $c_{max}$  = 7147%) in a shorter time

( $T_{max}$  = ~55%) and a very significant increase in the AUC value, 8150%, as compared with the plain drug, and in many cases with the old, long approved and marketed formulation.

The most sophisticated (non-CD-based) formulation hardly can surpass the performance of the CDs regarding the above mentioned pharmacokinetic parameters.

It is assumed, that in many cases with a simple reduction of the drug dose the same AUC could be attained as with the reference product. The only significant deviation from the reference product in the bioequivalence study will be the shorter  $T_{max}$ , i.e. the time between the drug administration and the time at attaining the drug blood level peak. In absolute majority of the cases the shortening of the  $T_{max}$  to nearly half of its original value is a positive result.

The reduced total doses very probably leads to reduction of the side effects, too.

Probability of any new unexpected, undesired effects is insignificant. Therefore repetition of the same complete clinical II and III phases which were performed with the old approved reference product used in the bioequivalence test does not seem to be justified.

Taking into consideration the very voluminous literature with the unambiguous positive effects of CDs on the improvement of bioavailability a more flexible evaluation and judgement of the bioequivalence test results –after due reduction of the drug doses in the CD-containing formulation– would accelerate explosions like the number of approved and marketed drug/CD formulations.

**Table 1****APPROVED AND MARKETED DRUG/CD FORMULATIONS (2003)**

<b>Drug/cyclodextrin</b>	<b>Trade name</b>	<b>Indication</b>	<b>Formulation</b>	<b>Company/country</b>
PGE <sub>2</sub> /βCD	Prostarmon E	induction of labour	Sublingual tablet	Ono, Japan
PGE <sub>1</sub> /αCD 20 μg/amp.	Prostavasin Edex	chronic arterial occlusive disease erectile disfunction	Intraarterial inj. Intracavern inj.	Ono, Japan Schwarz, Germany
PGE <sub>1</sub> /αCD 500 μg/amp.	Prostandin 500	controlled hypotension during surgery	Infusion	Ono, Japan
OP-1206/γCD	Opalmon	Buerger's disease	Tablet	Ono, Japan
Piroxicam/βCD	Cicladol, Brexin	antiinflammatory, analgesic	Tablet, sachet and suppository	Masterpharma, Chiesi, Italy
Garlic oil/βCD	Xund, Tegra, Allidex, Garlesence	antiatherosclerotic	Dragees	Bipharm, Hermes, Germany Pharmafontana, H, CTD, USA
Benexate/βCD	Ulgut, Lonmiel	antiulcerant	Capsules	Teikoku, Japan, Shionogi, Japan.
Iodine/βCD	Mena-Gargle	throat disinfectant	Gargling	Kyushin, Japan.
Dexamethasone, Glyteer/βCD	Glymesason	analgesic, antiinflammatory	Ointment	Fujinaga, Japan.
Nitroglycerin/βCD	Nitropen	coronary dilator	Sublingual tablet	Nippon Kayaku, Japan.
Cefotiam-hexetil/αCD	Pansporin T	antibiotics	Tablet	Takeda, Japan.
Cephalosporin (ME 1207)/βCD	Meiact	antibiotics	Tablet	Meiji Seika, Japan.
Tiaprofenic acid/βCD	Surgamyl	analgesic	Tablet	Roussel-Maestrelli, Italy
Diphenhydramine.HCl chlortheophylline+βCD	Stada-Travel	travel sickness	Chewing tablet	Stada, Germany
Chlordiazepoxide/βCD	Transillium	tranquilizer	Tablet	Gador, Argentina.
Piroxicam/βCD	Flogene	antiinflammatory, analgesic for pediatric use	Liquid	Aché, Brasil
Hydrocortisone/HPβCD	Dexacort	mouth wash against aphta, gingivitis, etc.	Liquid	Island
Itraconazole/HPβCD	Sporanox	esophageal candidiosis	Liquid	Janssen, Belgium
Cloramphenicol/methyl βCD	Clorocil	eye drop, antibiotic agent	Liquid	Oftalder, Portugal
Cisapride/βCD	Coordinax Prepulsid	gastrointestinal mobility stimulant	Rectal suppository	Janssen, Belgium
Nimesulide/βCD	Mesulid Fast Nimedex	non-steroid antiinflammatory	Oral sachet	Novartis (LPB), Italy
Ziprasidone mesylate/sulphobutyl βCD	Zeldox, Geodon	antischizophrenic	i.m. inj.	Pfizer, USA

continue...

**Table 1****APPROVED AND MARKETED DRUG/CD FORMULATIONS (2003)**

<b>Drug/cyclodextrin</b>	<b>Trade name</b>	<b>Indication</b>	<b>Formulation</b>	<b>Company/country</b>
Nicotine/ $\beta$ CD	Nicorette Nicogum		sublingual tablet chewing gum	Pharmacia Upjohn, Sveden, Pierre Fabre, France
Dextromethorphan/ $\beta$ CD	Rynathisol	antitussive		Synthelabo, Italy
Cetirizine/ $\beta$ CD	Cetirizin	antiallergic	chewing tablet	Losan Pharma, Germany
Voriconazole/ sulfo- butyl- $\beta$ CD	VFEND®	antimycotic	i.v. inj.	Pfizer, USA
Mitomycin/HP $\beta$ CD	MitoExtra Mito- zytrex	antiinflammatory	infusion	Novartis, Switzerland
Diclofenac Na/HP $\gamma$ CD	Voltaren ophtha	non-steroid antiinflam- matory	Eye drop	Novartis, Switzerland
Omeprazole/ $\beta$ CD	Omebeta	proton pump inhibitor	Tablet	Betapharm, Germany
Tc-99 Teboroxime/ HP $\gamma$ CD	Cardiotec	radioactive imaging agent	i.v. inj.	Bracco, USA
17- $\beta$ -Estradiol/ Me $\beta$ CD	Aerodiol	nasal pray	liquid	Servier, France



**Table 2****EXAMPLES FOR ENHANCEMENT OF BIOAVAILABILITY OF DRUGS BY CDS**

(reference: the same drug, in non-complexed form or as commercial product)

Drug	CD	Adm. Route	AUC** enhance- ment X fold	Cmax** enhancement X fold	Tmax** reduction X fold	Species	Ref.
Cephalosporin	$\alpha$	oral	1,6	-	-	dog	8
Menaquinone	DIMEB	oral	2,46	2,2	0,73	dog	9
Cefotiam hexetil	$\alpha$	oral	1,02	1,22	0,75	human	10
Ipriflavin	$\beta$	oral	1,35	1,72	-	rat	11
Digoxin	$\gamma$	oral	2,10	1,21	0,85	human	12
		sublingual	1,1 1	1,75	0,70	human	12
Danazol	$\beta$	oral	2,36	1,53	-	dog	13
Dexamethasone	HP $\beta$	i.v.	1,9 (0-1h)*	-	-	dog	14
	HP $\beta$	i.v.	1,13 (0-1h)*	-	-	dog	17
RS 82856	$\beta$	oral	2,5	2,5	-	dog	15
Chlotazole	RAMEB	oral	1,12	1,42	0,5	rat	16
	$\beta$	oral	1,09	1,18	0,66	rat	16
Carbamazepine	HP $\beta$	oral	2,39	-	-	rat	22
	HP $\beta$	oral	2,09	2,37	0,38	rat	23,24
Spironolactone	$\beta$	oral	2,33	-	-	human	18
	$\beta$	oral	2,15	-	-	human	19
	DIMEB	oral	3,0	-	-	rat	20,41
	SBE-7 $\beta$	oral	3,0	-	-	rat	20,41
1-Hexylcarbamoyl-5-fluorouracil	O-carboxy-methyl-O-ethyl- $\beta$ CD	oral	1,20	-	-	dog	21
Piroxicam	$\beta$	oral	1,8	-	-	rabbit, human	27,32
			1,8			human	28
	$\beta$	oral	1,35	1,43-	0,32	human	29

continues...

**Table 2**

**EXAMPLES FOR ENHANCEMENT OF BIOAVAILABILITY OF DRUGS BY CDS**

(reference: the same drug, in non-complexed form or as commercial product)

Drug	CD	Adm. Route	AUC** enhance- ment X fold	Cmax** enhance- ment X fold	Tmax** reduction X fold	Species	Ref.
Renin inhibitor	$\beta$	oral	1,69	1,27	-	rat	30
Rutin	HP $\beta$	oral	3,0	-	-	dog	31
Diclofenac-Na	$\beta$	oral	1,4	1,4	0,16	rat	32
Danazol	HP $\beta$	oral	2,37	-	-	rat	33
Deflazacort	$\beta$	oral	1,52	1,70	0,57	rabbit	34
	$\beta$ +tartaric acid	oral	1,37	1,69	0,56	rabbit	34
Ketoconazole	$\beta$ +tartaric acid	oral	1,42	1,75	0,78	rabbit	35
Tolbutamide	HP $\beta$	oral	1,6	1,87	0,47	rabbit	36,37
Ibuprofen	HP $\beta$	oral	1,15	1,19	0,33	dog	38
Phenitoin	SBE-7 $\beta$	oral	2,0	1,6	-	dog	39
Albendazole	HP $\beta$	oral	1,35	1,8	0,7	sheep	40
Flurbiprofen	$\beta$	dermal	3,0*	-	-	rat	42
Clomipramine	HP $\beta$	sublingual	1,57	-	-	rat	43
Fluoxetine	$\gamma$	oral	2,50	-	-	human	44
Artemisin	$\beta$	oral	1,5-2,0	1,7-2,9	-	human	45
	$\gamma$	oral	1,3-1,7	1,4-2,4	-	human	45
Furosemide	$\beta$	oral	1,8	-	-	human	46
Nimesulide	$\beta$	oral	2,22	1,05	0,46	human	47
Nitrendipine	HP $\beta$	oral	1,84	2,13	0,81	rat	48
Amiodarone	$\alpha$	oral	1,68	-	-	pig	49
	$\beta$	oral	1,41	-	-	pig	49
	DIMEB	oral	1,61	-	-	pig	49
Dehydroepi- androsterone	$\alpha$ CD+glycine	oral	2,00	-	0,23	human	50

continues...

continuación

**Table 2**

**EXAMPLES FOR ENHANCEMENT OF BIOAVAILABILITY OF DRUGS BY CDS**

(reference: the same drug, in non-complexed form or as commercial product)

Drug	CD	Adm. Route	AUC** enhance- ment X fold	Cmax** enhance- ment X fold	Tmax** reduction X fold	Species	Ref.
Glibenclamide	βCD	oral	5,4*	6*	0,53	rabbit	51
Lonidamine	βCD	oral	1,46	4,26	0,66	rat	25
	HPβCD	oral	1,85	1,12	0,66	rat	25
Prednisolone	βCD	oral	1,35	1,48	0,5	human	26
average			1,8 0,53 (n=44)	1,710,47 (n=26)	0,550,20 (n=19)		

\* not involved in the average

$$** = \frac{AUC_{CD-complex}}{AUC_{ref. formulation}} \cdot \frac{C_{max \text{ with CD complex}}}{C_{max \text{ with ref. formulation}}}, \quad \frac{T_{max \text{ with CD complex}}}{T_{max \text{ with ref. formulation}}}$$

## REFERENCES

- CD-News (a monthly abstracting newsletter since 1986, dedicated exclusively to CD literature, production, marketing, related conferences, etc.), edited and published by Cyclolab Ltd., Budapest
- Szejtli, J., *Med. Res. Rev.* 14, 353, 1994.
- Thompson D.O.: *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, **14** (1) 1-104, 1997.
- Frömming, K.H.; Szejtli, J.: *Cyclodextrins in Pharmacy*. Kluwer Academic, Dordrecht, 1993.
- Szejtli, J.: *Cyclodextrin Technology*. p. 450. Kluwer Academic, Dordrecht, 1988.
- CD-News: *Approval status of CDs in 2003/2004*, **18** 1-3, 2004.
- Gerlóczy, A.; Szemán, J.; Csabai, K.; Kolbe, L.; Jicsinszky, L.; Acer, G.D.; Ventura, P.; Redenti, E.; Szejtli, J.: *Proc. 8<sup>th</sup> Int. CD Symp.* (Budapest), Kluwer Acad Publ. Dordrecht, 1996, p.515-518.
- Hirai, S.; Makino, T.; Koyama, H.: *Eur. Pat. Appl.*, 1985, EP 163433 4 Dec. 1985.
- Horiuchi, Y.; Kikuchi, M.; Hirayama, F.; Uekama, K.; Ueno, M.; Ijitsu, T. : *J. Pharm. Soc. Jpn.* 108(11), 1093-100 1988.
- Tateno, M.; Sugiyama, I.; Ebi, O.: *Chemotherapy* **36 Suppl.6** 180-202, 1988.
- Levai, F.; Szatmari, I.; Vargay, Z.: *Proc. Int. Symp. Cyclodextrins, 4<sup>th</sup>*, 343-7. Edited by: Huber, O.; Szejtli, J. Kluwer: Dordrecht, Neth.,1988PI.
- Seo H.; Uekama K.: *J. Pharm. Soc. Jpn.* 109(10) 778-82, 1989.
- Kurihara, H.; Hashimoto, A.: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, 1989 JP 01287094 17 Nov 1989.
- Yu, C.D.; Sweetana, S.A.; Chu, N.I.; Lee, G.J.L.; Massey, I.J.: *Drug. Dev. Ind. Pharm.* **15** 609, 1989.
- Dietzel, K.; Estes, K. S.; Brewster, M. E.; Bodor, N. S.; Dendendorf, H.: *Pharm. Res.* **6** No.9 S131, 1989.
- El-Din, Esmat E. Zein; Tantawy, Atif S.: *J. Drug Res.*, **19**(1-2), 45-53, 1990.
- Dietzel, K.; Estes, K. S.; Brewster, M. E.; Bodor, N. S.; Dendendorf, H.: *Int. J. Pharm.*, **59**(3), 225-30, 1990.
- Yusuff N.T.; York P.; Chrystyn H.; Swallow R.D.; Bramly P.N.; Losowsky M.S.: *British Pharmaceutical Conf., 127<sup>th</sup> Meeting, Cardiff*, 10-13 Sept., 1990.
- Abosehmah A.Z.; York P.; Bramley P.N.; Burgul R.; Wong V. Swallow R.D.: *Pharm. Res.* **9**(10), Suppl. S306, 1992.
- Kaukonen, A.M.; Lennernas, H.; Mannermaa, J.P.: *J. Pharm. Pharmacol.* (1998), **50**(6), 611-619, 1998.
- Horiuchi Y.; Hirayama F.; Uekama K.; *J. Pharm. Soc. Jpn.* (111, No. 10, 592-99), 1991.
- Choudhury S.; Nelson K.F.; *Pharm. Res.* (8, No. 10, Suppl., S136), 1991.
- Choudhury, S.; Nelson, K. F.: *Minutes Int. Symp. Cyclodextrins, 6<sup>th</sup>* (1992), 452-5.: Edited by Hedges, A.R. Publisher: Ed. Sante, Paris, 1992.
- Choudhury, S.; Nelson, K.F.: *Int. J. Pharm.*, **85**(1-3), 175-80, 1992.
- Palmieri, G.P.; Cantalamessa, F.; Martino, P.; Nasuti, C.; Martelli, S.: *Drug Dev. & Ind. Pharmacy*, **28** 1241-20, 2002.
- Uekama, K.; Otagiri, M.; Uemura, Y.; Fujinaga, T.; Arimori, K.; Matuo, N.; Tasaki, K.; Sugii, A.: *J. Pharmacobio-Din.* **6** 124, 1983.
- Xu Gui-fen; Shi Ting-son; Shen Guo-wei; *The Sixth International Cyclodextrin Symposium, Chicago*, April 21- 24, 1992.
- Woodcock B. G.; Rietbrock S.; Merz P. G. Br. *J. Clin. Pharmacol* **35**(5), 546P-547P 1993.

- Acerbi, D. Lebacqz, E., Rondelli, I., Stockis, A., Venture, P.: *Drug Invest.* 2(Suppl.4.) 50-55 1990.
- Yamaguchi, H.; Hattori, M.; Ibuki, R.; Yoshida, H.; Shimazaki, Y.; Kawamura, A.; Takahashi, T.; Ohnishi, N.; Hata, T.: *PCT Int. Appl.*, 1994, WO 9425062 941110.
- Miyake, K.; Horikawa, T.; Yamamoto, M.; Hirayama, F.; Uekama, K., Sumiyoshi, H.; Noda, H.: *7th Int. Symp. on Cyclodextrins, Tokyo, 25-28 April*, pp. 435-438, 1994.
- Kim, Jong Hwan; Kim, Joo Il; Lee, Kyung Tae; Kim, Seung Jo; Seo, Hee Kyoung; Seo, Seong Hoon: *Yakche Hakhoechi* (1996), 26(3), 169-174, 1996.
- Badawy, Sherif I. Farag; Ghorab, Mahmoud M.; Adeyeye, Christianah Moji: *Int. J. Pharm.* (1996), 128(1,2), 45-54, 1996.
- Kolbe, I.; Gerloczy, A.; Szeman, J.; Vikmon, M.; Szejtli, J.; Ventura, P.; Redenti, E.; Amari, G.; Acerbi, D.: *Conference on Pharmaceutical Application of Cyclodextrins*, Lawrence, Kansas, USA, June 29-July 2, 1997.
- Gerloczy, A.; Vikmon, M.; Szeman, J.; Szejtli, J.; Redenti, E.; Acerbi, D.: *Conference on Pharmaceutical Application of Cyclodextrins*, Lawrence, Kansas, USA, June 29-July 2, 1997.
- Veiga, F.; Teixeira, F.: *Conference on Pharmaceutical Application of Cyclodextrins*, Lawrence, Kansas, USA, June 29-July 2, 1997.
- Veiga, F.; Fernandes, C.; Teixeira, F.: *Int. J. Pharm.*, 202(1-2), 165-171, 2000.
- Rekkas, D.M.; Kagkadis, C.A.; Dallas, P.P.; Reppas, C.: *Conference on Pharmaceutical Application of Cyclodextrins*, Lawrence, Kansas, USA, June 29-July 2, 1997.
- Savolainen, J.; Järvinen, K.; Matilainen, L.; Järvinen, T.: *Int. J. Pharm.* (1998), 165(1), 69-78, 1998.
- Evrard, B.; Piel, G.; Van Hees, T.; Ghalmi, F.; Losson, B.; Delattre, L.: *2nd World Meeting on Pharmaceutics Biopharmaceutics Pharmaceutical Technology*, Paris 25to 28 May, 1998.
- Kaukonen, A. M.; Lennernas, H.; Mannermaa, J-P.: *Proc. Int. Symp. Cyclodextrins, 9th* (1999),(Meeting Date, 1998), p. 227-230. Editor(s): Labandeira, J. J. Torres; Vila-Jato, J. L. Publisher: Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Neth., 1999.
- Ono, Y.; Takahashi, M.; Koide, N.: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, JP 11199518, 19990727; JP 1997-369142 19971226; 1999.
- Yoo, Sun Dong; Yoon, Byung Mun; Lee, Hye Suk; Lee, Kang Choon: *J. Pharm. Sci.* 88(11), 1119-1121, 1999.
- Geczy, J.; Bruhwylter, J.; Scuvee-Moreau, J.; Seutin, V.; Masset, H.; Van Heugen, J. C.; Dresse, A.; Lejeune, C.; Decamp, E.; Szente, L.; Szejtli, J.; Liegeois, J.-F.: *Psychopharmacology* (Berlin), 151(4), 328-334, 2000.
- Wong, J. W.; Yuen, K. H.: *International Journal of Pharmaceutics*, 227(1-2), 177-185, 2001.
- Ozdemir, N.; Ordu, S.; Ozkan, Y.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* (2000), 26(8), 857-866, 2000.
- Piel, G.; Delneuve, I.; Delattre, L.: *Proc. Int. Symp. Cyclodextrins 8th* (1996) p487-490, Ed. Szejtli, J.; Szente, L. Kuwer Academic Publishers 1996.
- Chul-Soon, Y.; Yong-Dal, R.; Han-Gou, C.; Pong-Kyu, Y.: *AAPS Meeting Abstract*, 2003.
- Palmer, C.F.: *PCT Int. Appl.* WO9104026 Apr 4, 1991.
- Mora, P.C.; Cirri, M.; Allolio, B.; Carli F.; Mura, P.: *J. Pharm. Sci.*, 91 2177-84 2003.
- Szejtli, J.; Vikmon, M.; Szente, L.; Gerlóczy, A.: *To be published 2004.*



## MECANISMO DE REACCIÓN PARA LA

# Reducción de óxidos de nitrógeno usando arcillas y amonía

Alba Yadira Corral-Avitia<sup>1</sup> y Antonio S. Lara<sup>2</sup>

*Las arcillas bentonita y arizona intercambiadas con cobre son catalizadores potenciales para la reducción catalítica selectiva de NO<sub>x</sub> con NH<sub>3</sub>. El objetivo de este proyecto fue caracterizar las arcillas para determinar el mecanismo de la reacción. Se utilizaron: analizador de superficie de área, AAS, XRD, ESR, TGA, IR, GC y mediciones de capacidad catalítica. Los resultados sugieren el mecanismo de Langmuir-Hinshelwood. El cobre (sitio ácido de Lewis) reacciona con el NH<sub>3</sub>. El NO<sub>x</sub> es adsorbido en los sitios que están en posición adyacente al NH<sub>3</sub>. Este arreglo en la superficie de la arcilla provee cierta simetría de orbitales que permite la reacción entre las moléculas para formar nitrógeno. El CuO mejora la capacidad catalítica, pero existe una cantidad óptima para el buen funcionamiento de la arcilla. El CuO, la estructura y la densidad de carga de la arcilla son importantes para que ocurra esta reacción.*

### INTRODUCCIÓN

La contaminación del aire por óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>) es un problema mundial. Los óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>), que consisten principalmente de monóxido de nitrógeno (NO•) y dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), se producen en procesos de combustión a temperaturas muy altas. Los NO<sub>x</sub> son compuestos tóxicos para el hombre, los animales y las plantas. Las altas concentraciones de NO<sub>x</sub> en la atmósfera ocasionan daños a la salud, lluvia ácida y producción de ozono en la troposfera, es por esto que es muy importante encontrar medidas adecuadas para la disminución de NO<sub>x</sub>.

Los NO<sub>x</sub> son un contaminante primario producido por fuentes naturales y antropogénicas. En 1999, las cantidades de NO• a la atmósfera fueron de 5'825,982 y 280,931 toneladas en EU y México, respectivamente (IFRH, 2003). Dentro de las fuentes antropogénicas, las que más contribuyen a la formación de NO<sub>x</sub> son los automóviles (50%) y las plantas eléctricas (41%). En 1990 se estableció una ley que regula las cantidades de NO<sub>x</sub> permisibles a la atmósfera. La cantidad máxima de NO<sub>x</sub> permitida para las plantas eléctricas es de 0.45 a 0.50 libras por millón de Btu (Wooley, 1997).

Actualmente, la mayoría de las plantas eléctricas necesitan implementar tecnologías para cumplir con lo estipulado por la ley de aire limpio "Clean Air Act".

Los métodos para la disminución de NO<sub>x</sub> se enfocan en reducir la formación de NO<sub>x</sub> (cambios de combustible y modificaciones en la combustión) o en disminuir las emisiones de NO<sub>x</sub> una vez que ellos se han formado (reducción selectiva no-catalítica

[SNCR] y reducción selectiva catalítica [SCR]). Para lograr una reducción de NO<sub>x</sub> eficiente, es necesario combinar tecnologías (Wood, 1994). Sin embargo existen algunas desventajas: en ocasiones estos métodos decrecen las ganancias de la industria porque implican cierta disminución en producción de energía. La aplicación de otros métodos repercuten en la salud, ya que al disminuir las cantidades de NO• se incrementa la concentración de otros gases tóxicos (Wood, 1994). Otros métodos, como el SCR, logran una gran disminución de NO<sub>x</sub>, pero el costo de implementación es muy alto. Por todo lo anterior, se observa que el encontrar un método óptimo es un gran reto.

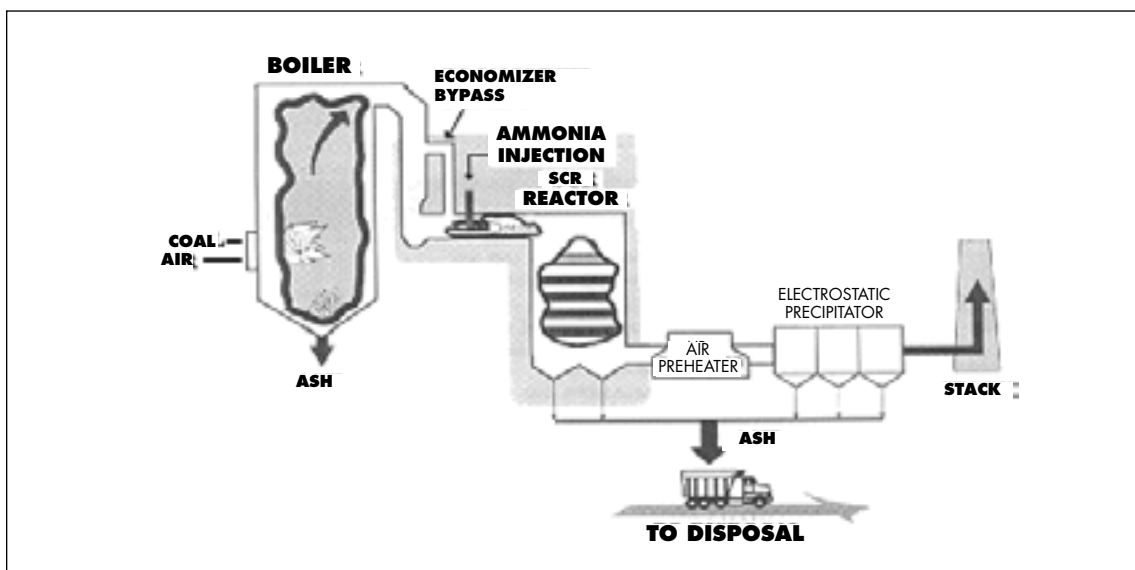
El SCR es la mejor tecnología para la disminución de NO<sub>x</sub> una vez que estos compuestos se han formado. La formación de NO• es una reacción termodinámicamente favorable pero cinéticamente prohibida. Para que esta reacción sea cinéticamente favorable es necesario el uso de un catalizador, por lo que SCR involucra el uso de un catalizador y un agente reductor para la reducción química del NO• (Figura 1).

La desventaja de este método es el alto costo de implementación. El catalizador es una de las principales causas de este alto costo, por lo que es necesario encontrar un catalizador económico y eficiente. A pesar de que se ha explorado el uso de varios catalizadores para SCR; el uso de arcillas no se había investigado (Corral, 2001). El propósito de este proyecto fue el de determinar el mecanismo de reacción que rige la reducción de NO• cuando se utilizan arcillas y amonía.

Existen dos mecanismos para los catalizadores heterogéneos: el Eley Ridael y el Langmuir-Hinshelwood (Steinfeld, 1989). En el mecanismo Eley Ridael (ER) uno de los gases se adsorbe

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Instituto de Ciencias Biomédicas. Departamento de Ciencias Básicas. Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

<sup>2</sup> New Mexico State University. Chemistry and Biochemistry Department. Las Cruces, New Mexico. 88003.



**Figura 1.** Planta de demostración de SCR. The Gulf Power Company Plant Crist in Pensacola, FL. Control of Nitrogen Oxide Emissions: Selective Catalytic Reduction (SCR) Clean Coal Technology. Topical Report Number 9. July 1997. Adapted from: [www.fe.doe.gov](http://www.fe.doe.gov).

a la superficie del catalizador y un segundo gas reacciona con él para formar los productos deseados. En el mecanismo Langmuir Hinshelwood (LH) los dos gases en cuestión se adsorben en la superficie del catalizador de forma adyacente o vecinal. Una vez adsorbidos reaccionan para formar los productos no tóxicos. El objetivo de este proyecto fue el de proponer y probar experimentalmente un mecanismo para la reducción de  $\text{NO}_x$  usando  $\text{NH}_3$  y arcillas como catalizadores.

### METODOLOGÍA

Las arcillas utilizadas en este proyecto fueron la bentonita y la arizona (fuente: Source Clay Minerals Repository at the University of Missouri, Columbia, Mo.). Las técnicas utilizadas para la caracterización de las arcillas fueron: análisis de área superficial, análisis elemental (AAS), difracción de rayos X (XRD), infra-rojo (IR), resonancia de electrones (ESR), análisis termo-gravimétrico (TGA), y medición de actividad catalítica.

Para la determinación del mecanismo de reacción se utilizó espectrofotometría de infra-rojo (IR) y cromatografía de gases (GC).

### RESULTADOS

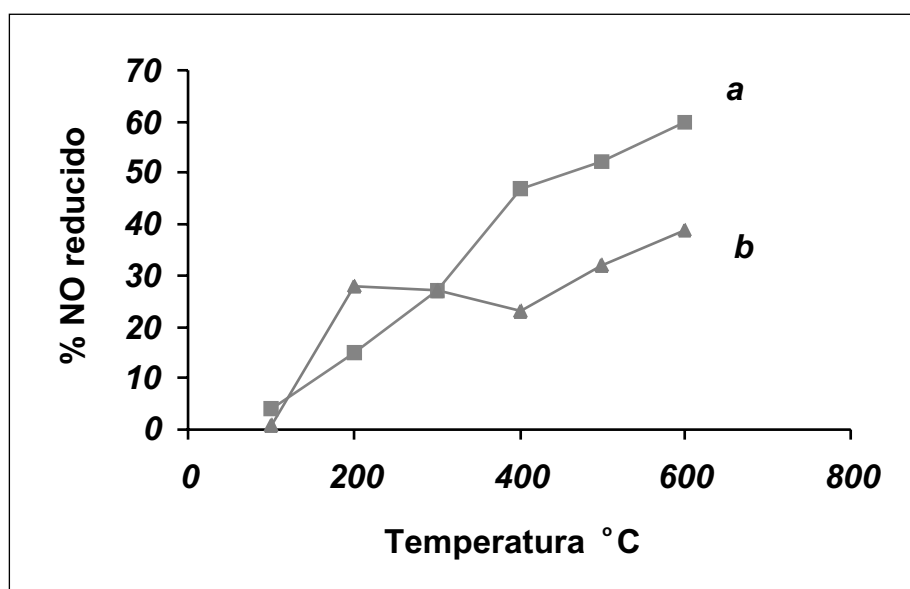
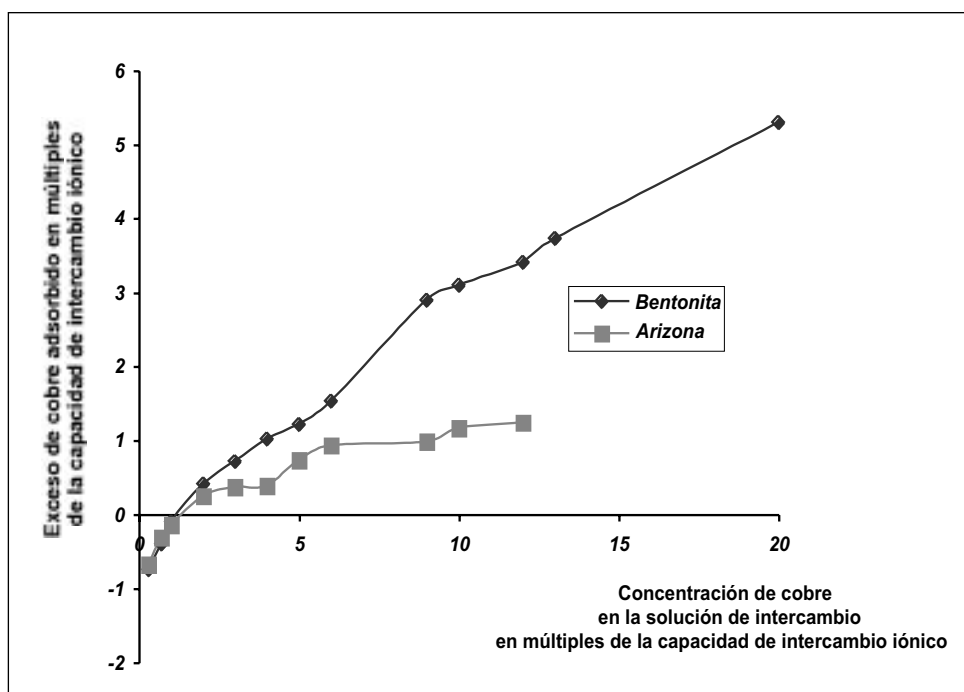
Hipotéticamente, el mecanismo Langmuir-Hinshelwood aplica en la reducción de  $\text{NO}_x$  utilizando  $\text{NH}_3$  y arcillas modificadas con

cobre. De acuerdo con Steinfeld (1989), para que este mecanismo ocurra se necesita la adsorción de los dos gases en la superficie del catalizador. Con el fin de probar la hipótesis, la verificación del mecanismo se dividió en tres áreas. Primeramente, la arcilla modificada con cobre fue caracterizada para determinar cambios en las propiedades fisicoquímicas de la arcilla y para determinar las formas de cobre presentes en la superficie de la arcilla. En segundo término, se evaluó la actividad catalítica de la arcilla modificada con cobre para determinar los efectos de la concentración de cobre y la temperatura en la reducción de  $\text{NO}$ . Finalmente, se desarrollaron experimentos de absorción para caracterizar los sitios activos y para así definir el mecanismo de reacción. Estos experimentos incluyeron la adsorción de  $\text{NH}_3$  y  $\text{NO}$  de manera individual y el análisis de la reacción al introducir ambos gases.

Existe cierta interdependencia entre el cobre, la arcilla y la actividad catalítica. La densidad de carga de la arcilla, la presencia del cobre, y la energía de deshidratación de la arcilla modificada con cobre, son ejemplo claro de esta interdependencia.

Primeramente, se encontró que la densidad de carga es inversamente proporcional a la cantidad de cobre adsorbido, y en consecuencia, la actividad catalítica es muy dependiente de la densidad de carga de la arcilla. La arcilla bentonita, que tiene una capacidad de intercambio pequeño, adsorbió más cobre que la arcilla arizona que tiene una capacidad de intercambio mayor, bajo las mismas condiciones. Esto resultó en una mayor actividad catalítica (Figura 2).





**Figura 2.** A) Cantidad de cobre adsorbido en la arcilla de acuerdo a su capacidad de intercambio. B) Actividad catalítica de cada arcilla a diferentes temperaturas (a. Bentonita, b. Arizona (Corral, 2001)).

La segunda evidencia que se encontró es que el óxido de cobre (CuO) en la superficie de la arcilla es la forma de cobre responsable de mejorar la actividad catalítica de la arcilla. Sin embargo, existe una cantidad óptima de cobre intercambiado con la arcilla que produce la mejor actividad catalítica. Se sospechó de la presencia de CuO desde el inicio; durante el intercambio del cobre con la arcilla, esta última adquirió un color negro cuando el cobre se encontraba en exceso. Sin

embargo, ocurrió solo al intercambiar la arcilla bentonita y no con la arcilla arizona. Esto sugiere que al igual que el cobre, la estructura fisicoquímica de la arcilla es importante. Por otro lado, cuando se analizó la actividad de la arcilla bentonita conteniendo diferentes cantidades de cobre, se encontró que la actividad catalítica de la arcilla se incrementa cuando la cantidad de cobre es mayor, alcanzando un máximo para finalmente decrecer en actividad cuando la cantidad de cobre está en

exceso. De lo anterior puede que exista una cantidad de cobre óptima que genera una mejor actividad catalítica.

La tercera evidencia de la interdependencia del cobre y la arcilla es la energía necesaria para deshidratar la arcilla. Se encontró que la energía requerida para la deshidratación de la arcilla sin cobre es diferente a la de la arcilla con cobre. La química de la arcilla se ve afectada por el cobre y viceversa.

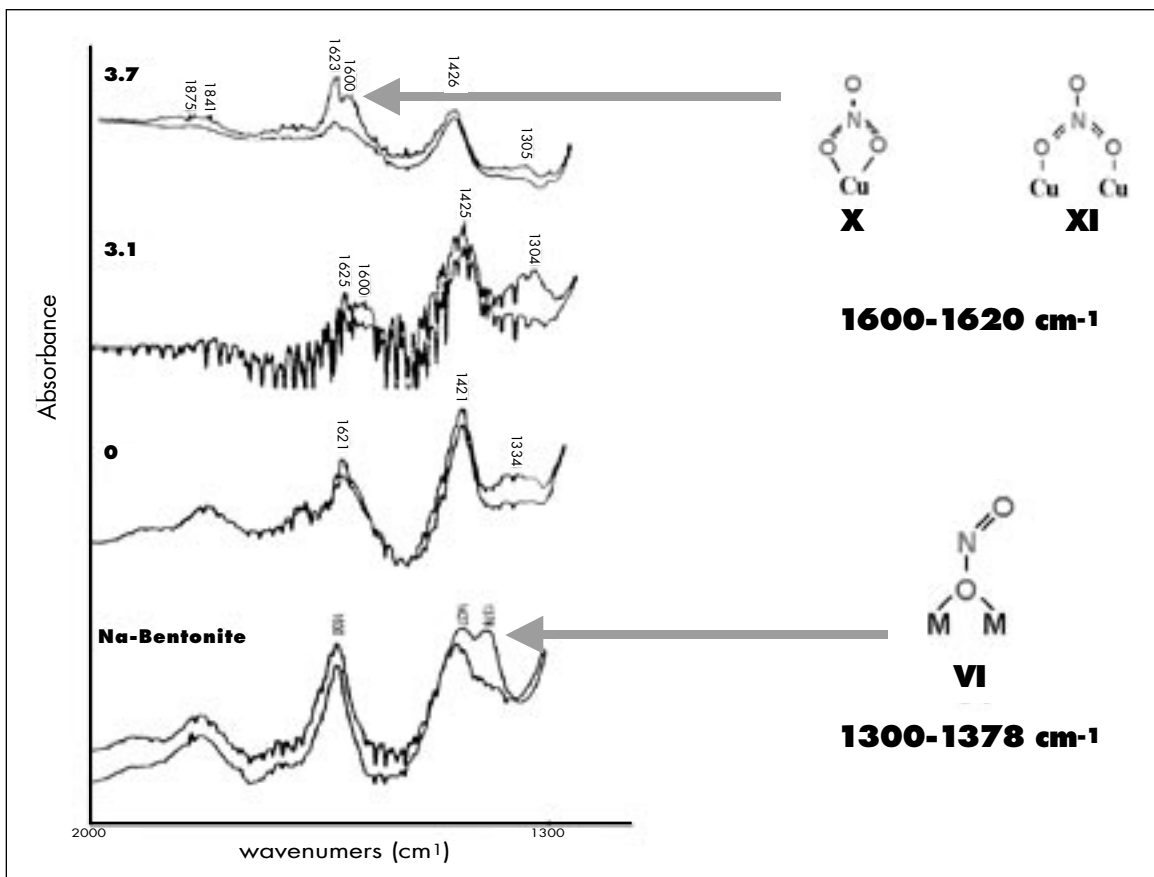
Los resultados de los experimentos de adsorción en espectrofotometría de infrarrojo y cromatografía de gases también muestran la interdependencia de cobre, arcilla y actividad catalítica. Primeramente, se encontró que los sitios ácidos "Lewis" de las arcillas son responsables de la adsorción de  $\text{NH}_3$ . La reacción entre el gas  $\text{NH}_3$  y arcilla fue muy similar para las dos arcillas, por lo que no se pudo derivar ninguna conclusión acerca de la importancia de la arcilla. Sin embargo, la adsorción de  $\text{NO}^\bullet$  nos permitió definir cierta interdependencia entre el cobre y la arcilla. El  $\text{NO}^\bullet$  se adsorbe a la superficie de la arcilla vía el oxígeno que está unido al cobre y vía el oxígeno que enlaza los grupos de sílice en la arcilla (grupo siloxano Si-O-Si). La adsorción en este último fue más notoria en la arcilla bentonita modificada con diferentes cantidades de cobre. Los resultados de los experimentos

de infrarrojo muestran la interacción entre el  $\text{NO}$  y la arcilla sin modificar y modificada con cobre (Figura 3).

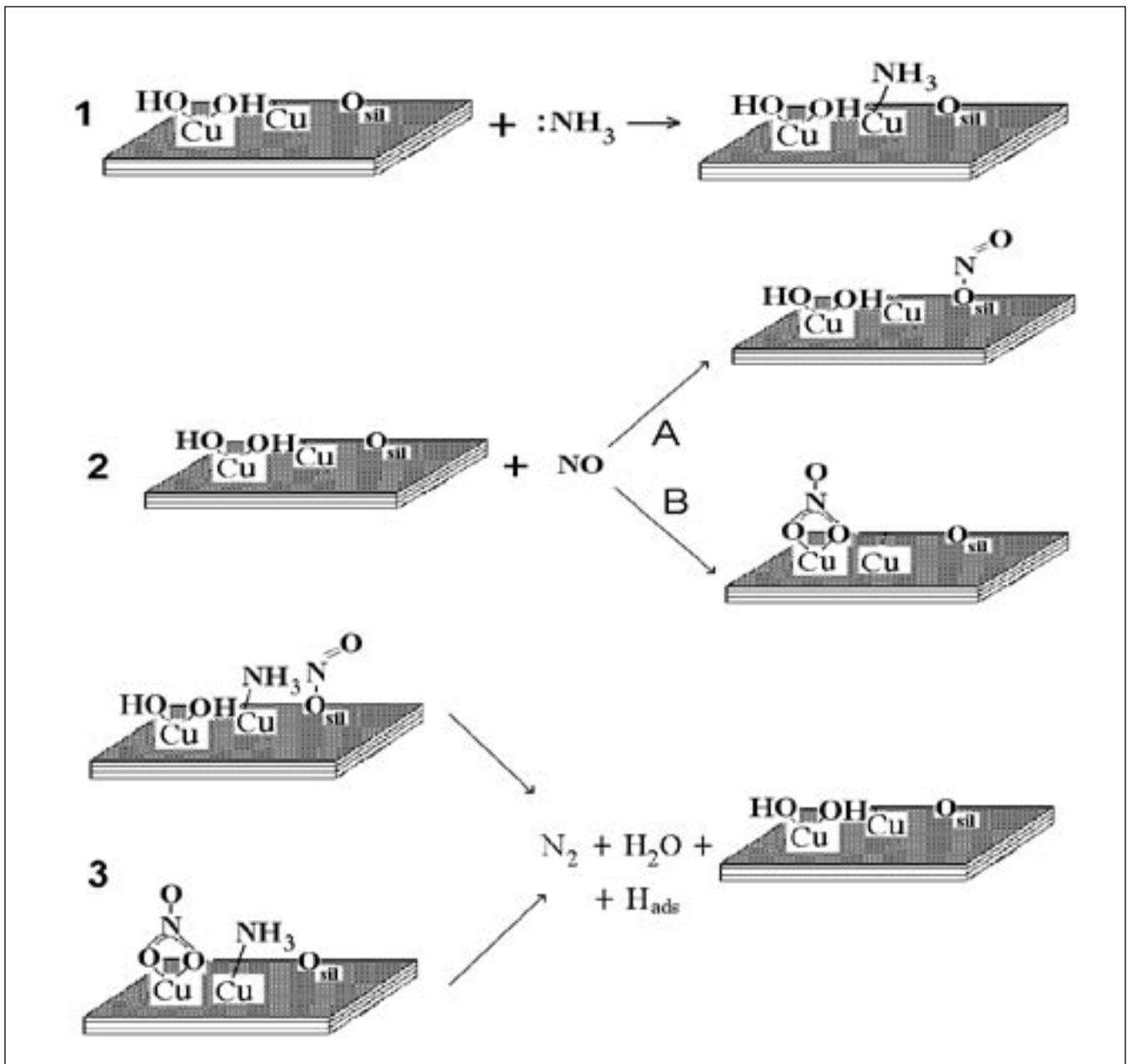
Al incrementar las cantidades de cobre en la arcilla se observa la presencia de complejos de nitritos y nitratos provenientes de la interacción Cu-O-NO y Si-O-NO.

Una mejor evidencia de la participación de la arcilla en la reacción es la interacción de  $\text{NO}^\bullet$  con  $\text{NH}_3$  que ha sido preadsorbida en la arcilla. Las bandas de infrarrojo se desplazan y se hacen más anchas. Además se observan diferencias muy notables entre las dos arcillas estudiadas. La reacción entre  $\text{NH}_3$  y  $\text{NO}^\bullet$  con la arcilla bentonita con cobre fue mucho mejor que la de la arcilla arizona con cobre. La producción de  $\text{N}_2$  (GC) y los experimentos de actividad catalítica confirman esta aseveración. Esto puede ser atribuido a la presencia de CuO en la arcilla bentonita. Se piensa que los agregados de CuO proporcionan el ambiente necesario que permite cierta simetría de orbitales entre el  $\text{NH}_3$  y el  $\text{NO}^\bullet$  para la formación de  $\text{N}_2$ . Esto no sucede en la arcilla arizona, por lo que se observa que existe una cantidad de cobre óptima que permite la reducción máxima de  $\text{NO}^\bullet$  y obviamente, es altamente dependiente del tipo de arcilla.

En conclusión, la caracterización de la arcilla y los experi-



**Figura 3.** Los espectros de infrarrojo muestran la longitud de onda característica de la adsorción de  $\text{NO}^\bullet$  tanto en la arcilla ( $1300\text{-}1378\text{ cm}^{-1}$ ) como en los cobres presentes en la misma ( $1600\text{-}1620\text{ cm}^{-1}$ ).



**Figura 4.** Mecanismo de reducción de NO utilizando arcillas y NH<sub>3</sub>.

mentos de adsorción prueban que la hipótesis establecida en este estudio es verdadera (Figura 4). Se observó que la adsorción del NH<sub>3</sub> en la superficie de la arcilla ocurre directamente en sus sitios ácidos Lewis y la adsorción de NO<sup>•</sup> en sitios adyacentes al NH<sub>3</sub>. Este arreglo en la superficie de la arcilla proporciona la simetría orbital óptima que permite la reacción entre las dos moléculas para la formación de N<sub>2</sub>. Se encontró que el óxido de cobre incrementa la actividad catalítica; y que sin embargo, existe una cantidad óptima de cobre. Esto sugiere que además del óxido

de cobre, la estructura de la arcilla es importante en la reacción y la densidad de carga es crucial en este aspecto.

#### AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se realizó con el apoyo económico de New Mexico State University, Eastern New Mexico University, El Paso Electric Company, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Waste-Management Education and Research Consortium.

REFERENCIAS:

www.fe.doe.gov

IFRH, *International Forum on Regional Haze*. El Paso, TX. Marzo 4-5, 2003. Organizado por Central Regional Air Planning Association 2003

Corral, A.Y. (2001) *Caracterización y mecanismo de reacción para la reducción catalítica selectiva de NO<sub>x</sub> usando arcillas naturales y arcillas modificadas con cobre como catalizadores con NH<sub>3</sub> de agente reductor*. Disertación. New Mexico State University, Las Cruces, NM.

Steinfeld, J. I., Francisco, J. S., and Hase, W. L. (1989) *Chemical Kinetics and Dynamics*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. 548 pp.

Wood, S.C. (1994) Select the Right NO<sub>x</sub> Control Technology. *Chemical Engineering Progress*, 1, 32-38.

Wooley, D.R. (1997) *Clean Air Act Handbook. A Practical Guide to Compliance*. 6<sup>th</sup> Ed. Clark Boardman Callaghan, New York, pp 4-14.

AUTÓMATAS:

# Modelo matemático para sistemas complejos

Alvaro Alvarez-Parrilla<sup>1</sup>

*En el presente trabajo primero se explica el concepto de autómatas a una audiencia general de manera sencilla. Para esto se comienza con una descripción de un autómata seguido de un breve contexto histórico, continuando con un poco de la teoría básica de los autómatas celulares. Enseguida se presentan ejemplos sencillos de autómatas celulares y se generaliza el concepto para poder explicar la agregación limitada por difusión como un ejemplo de autómata celular molecular. Como último ejemplo, se propone una modificación del modelo para explicar el crecimiento de trómeros de ciclodextrina mediante autómatas celulares utilizando una latiz triangular. Se exponen los resultados parciales obtenidos para este modelo.*

## INTRODUCCIÓN

Los autómatas son una clase de objetos matemáticos que permiten el modelado de diversos sistemas complejos a partir de conceptos básicos de manera discreta. Para ser más claros, los autómatas tienen la propiedad de modelar fenómenos que puedan ser descritos por la interacción de objetos elementales o atómicos. Entre las propiedades de los autómatas resaltan la facilidad de paralelizarlos y la localidad de sus descripciones, lo que permite que sean candidatos para simulación por computadora. Diversos trabajos (Wolfram, 2002, otros) indican que existe un cierto tipo de universalidad en la complejidad de ciertos sistemas, entre los cuales destacan los autómatas. De ser cierta esta universalidad, aunado con la facilidad de simulación de los mismos, nos permitimos hipotizar que los autómatas permiten identificar y analizar la base matemática de sistemas naturales que hasta ahora han desafiado el análisis cualitativo. De esta manera, los autómatas han servido para simular sistemas complejos en una gran variedad de campos como los son: matemáticas, física, biología, química, ciencias computacionales, economía, tráfico vehicular y muchos otros más (lista de referencias).

Entonces ¿qué se entiende por un autómata? *una especie de colección de celdas básicas que interactúan entre sí por medio de reglas sencillas, de manera que el comportamiento macroscópico está regido por la dinámica individual de las celdas básicas.* A pesar de su descripción sencilla, existen diferentes tipos de autómatas. El más común es el caso totalmente discreto: tanto las distribuciones espacial y temporal y los posibles valores que

toman las celdas son descritos por elementos discretos; el espacio donde las celdas interactúan corresponde a una latiz o arreglo, el tiempo se incrementa por pasos finitos y las celdas solo pueden tomar un número finito de estados.

Surge entonces la pregunta de cómo explicar la dinámica; uno de los factores que pueden afectar la dinámica global del autómata es la regla de transición (o de evolución) que rige la dinámica individual de cada celda básica: el caso más común es aquel en que todas las celdas se actualizan al unísono con una sola regla de transición. Sin embargo, existen variantes en las cuales no todas las celdas son actualizadas al unísono y también hay otras variantes como aquella en que las reglas de transición son escogidas de una manera estocástica de entre un conjunto de reglas.

Otro factor en la descripción dinámica de un autómata son los distintos valores que puedan tomar las celdas: normalmente las celdas básicas toman un número finito de valores, sin embargo existen autómatas en los cuales las celdas básicas pueden tomar valores en un rango continuo, pero debido a que para especificar completamente a un número real se requiere de una cantidad infinita de información y como no es eficiente manejar números reales<sup>2</sup> en la computadora, por lo general se recurre a aproximaciones o a utilizar autómatas que tomen solo un número finito de valores.

Un tercer factor que viene a influenciar la dinámica global del autómata, es la distribución espacial: se pueden considerar autómatas unidimensionales en los cuales las celdas están distribuidas en una secuencia de celdas y cada una tiene solamente dos vecinos como máximo, también hay autómatas bidimensionales,

<sup>1</sup> Carrera de Matemáticas Aplicadas, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California, México. e-mail: alvaro@uabc.mx

<sup>2</sup> La mayor parte del software que las computadoras digitales utilizan, manejan solamente aproximaciones de los números reales, generalmente solo un subconjunto de los racionales, lo que nos indica que la computadora es solamente una herramienta con limitaciones para hacer matemáticas. Existe manera de manejar la representación completa de los números reales por medio de software, sin embargo es ineficiente su uso y nada más se utiliza en casos especiales.

los hay tridimensionales y en general de cualesquier dimensión. Conforme aumenta la dimensionalidad, la complejidad de los modelos aumenta, pues el número de posibles vecinos incrementa de acuerdo a las geometrías o distribuciones espaciales que se tengan y estas a su vez aumentan con la dimensionalidad; en el caso unidimensional hay solo una geometría periódica discreta con un solo tipo de celda, mientras que en el caso bidimensional existen únicamente dos<sup>3</sup> básicas: la triangular y la cuadrada, esto último debido a que solo existen estas dos latices regulares que cubren el plano.<sup>4</sup> Aun más, aumenta la aparente complejidad si permitimos geometrías no periódicas, por ejemplo permitiendo sucesiones cuasiperiódicas unidimensionales o en dimensiones mayores (e.g. sucesiones de Fibonacci unidimensionales y su análogo bidimensional los mosaicos de Penrose).

Finalmente, podemos considerar la movilidad y/o el tipo de celdas básicas: los autómatas cuyas celdas básicas se mueven sobre la distribución espacial son comúnmente llamados autómatas moleculares; mientras que también los hay cuyas celdas básicas se encuentran fijas, en este caso se les llama autómatas celulares; pero también existen unos que tienen más de un tipo de celda básica: unas fijas y otras móviles. Una diferencia entre los autómatas celulares y los moleculares (los móviles) es que la descripción de la regla de evolución suele ser más complicada pues se debe tener cuidado de qué va a suceder si una celda básica llega a estar ocupada por más de dos estados después de un paso en su evolución.

Veamos ahora unos ejemplos sencillos de autómatas celulares: *consideremos un auditorio o salón de clases con sillas fijas arregladas en una latiz cuadrada* (esta es nuestra distribución espacial, en este caso bidimensional y como normalmente en un salón las sillas están por filas, esto da como resultado una latiz cuadrada), *cada silla es una celda básica y puede estar ocupada por una mujer por un hombre o no estar ocupada* (esto es el estado de la celda y puede tener 3 diferentes estados M = hombre, F = mujer, V = vacío), *y por último consideremos algunas distintas reglas de evolución para las celdas básicas.*

1. Consideremos primero una regla de evolución de la celda básica muy sencilla: *El estado de la celda no cambia.* En este caso la dinámica global es aburrida, pues con el transcurrir del tiempo los estados de ocupación de las sillas no cambian. Tenemos lo que se llama un **estado estacionario**.
2. Consideremos ahora otra regla de transición de la celda básica: *Si una silla está ocupada y a su derecha se encuentra una silla sin ocupar, entonces se intercambian los estados de las sillas; en cualquier otro caso no pasa nada.* En este caso la dinámica global no es tan sencilla dependiendo de la

configuración inicial, sin embargo lo que sí se puede deducir es que después de un tiempo suficientemente grande (que depende del número de sillas por fila) en el lado izquierdo del salón se van a encontrar las sillas vacías.

3. Otra regla que podemos considerar es la siguiente: *Si una silla está ocupada y a su derecha se encuentra una silla sin ocupar, entonces se intercambian los estados de las sillas; si una silla está ocupada por una mujer y a su derecha se encuentra un hombre, entonces se intercambian los estados de las sillas; si una silla de la orilla derecha del salón está ocupada por un hombre y a su izquierda se encuentra una mujer, entonces se intercambian los estados de las sillas; en cualquier otro caso no se cambia el estado de la silla.* En este caso de nueva cuenta la dinámica global del salón puede aparecer un tanto complicada, sin embargo después de un tiempo suficientemente largo sucede que encontraremos las sillas vacías en el lado izquierdo del salón seguidas de sillas ocupadas por mujeres y finalmente por sillas ocupadas por hombres.
4. Una regla más interesante aún es la siguiente: *Si una silla tiene como primeros vecinos<sup>5</sup> a alguna silla con un hombre, entonces desocupamos esa silla (la persona en esa silla se sale del salón), en cualquier otro caso no sucede nada.* ¿Cuál es la dinámica a largo plazo de esta regla?

Como se puede observar en estos ejemplos, la descripción de la regla de evolución de la celda básica tiene consecuencias en la evolución global y en la dinámica a largo plazo del autómata. Al mismo tiempo vemos que para describir la regla de evolución de la celda básica (lo que se llama una regla de evolución local), es preciso especificar la **vecindad** de la celda básica. Veremos estos conceptos con más detalle en la sección titulada teoría básica. Pero por lo pronto examinemos un poco de la historia de los autómatas.

## CONTEXTO HISTÓRICO

Es comúnmente aceptado que los primeros en introducir el concepto de autómata celular fueron John Von Neumann y Stanislaw Ulam (Neumann, 1965; Ulam, 1974) quienes independientemente de estar involucrados en el proceso de innovación de las primeras computadoras, estaban estudiando la base lógica y/o matemática de la vida. En sus estudios, Von Neumann pretendía construir un modelo matemático que tuviera la característica primordial de autorreproducción en el sentido de crear un modelo que pudiera construirse él mismo. A pesar de pasar por numerosos

<sup>3</sup> Dependiendo como se cuenten, pues si pensamos en la geometría hexagonal, esta misma se puede describir como una sublatiz de la geometría triangular. También estamos considerando que el espacio subyacente al autómata es euclídeo, si por ejemplo consideramos como espacio subyacente al espacio hiperbólico, entonces tendremos muchos más posibilidades para latices periódicas.

<sup>4</sup> En realidad existen 17 latices o mosaicos periódicos en el plano euclídeo, sin embargo estos a su vez tienen como base geometrías basadas en el paralelogramo (2), el rectángulo (5), el rombo (2), el cuadrado (3) y el hexágono (5). A su vez el paralelogramo, el rectángulo, el rombo y el cuadrado están basados en la cuadrada mientras que el hexágono en la triangular (véase por ejemplo la página de Hans Kuiper: <http://web.inter.nl.net/hcc/Hans.Kuiper/17system.htm>).

<sup>5</sup> Aquí es preciso decidir qué se entiende como primer vecino: una posibilidad es considerar las sillas que están a la derecha, a la izquierda, enfrente y detrás de la silla, también se considera a la silla misma como parte de la vecindad.

modelos, algunos con realizaciones bastante físicas, no lograba simplificar el modelo lo suficiente. Fue entonces cuando Ulam, como es costumbre en los matemáticos, optó por un modelo abstracto que aparentemente capturaba la esencia de las ideas que él consideraba importantes.

El modelo de Von Neumann, llamado modelo cinemático, estaba dirigido a dar una explicación reduccionista de ciertos aspectos de la biología y en particular sufría de una debilidad muy grande consistente en que contaba con demasiados elementos. Stanislaw Ulam sugiere olvidar algunas de las características físicas del modelo cinemático, y en su lugar introduce un medio ambiente consistente en una red infinita donde cada cuadro de la red podía ser considerado como una célula que interactuaría mediante un conjunto compartido de reglas y la configuración de la red infinita cambiaría a medida de que ocurrieran pasos de tiempo discretos. A partir de las ideas surgidas en la red infinita de Stanislaw Ulam, Von Neumann hizo un replanteamiento de su autómata autorreproductor para lograr el concepto de lo que sería el primer autómata celular. Los mecanismos que propuso para alcanzar estructuras autorreproductoras, como se descubrió posteriormente, se semejan bastante a los organismos vivos.

El proceso de generar progenie del modelo de Neumann y Ulam era lógicamente coherente, sin embargo necesitaba de 29 distintos estados para cada celda básica en una red bidimensional infinita considerando vecindades consistentes en 5 celdas básicas. Lograba el objetivo de mostrar que se podían tener mecanismos autorreproductores a costa de una complejidad que no era apta para estudios sistemáticos.

En los años sesenta John Conway retomó el estudio de los modelos de Neumann y pudo simplificarlos lo suficiente de manera que efectivamente lograba estructuras autorreproductoras. Gracias a la labor de difusión de Martin Gardner en su columna de recreaciones matemáticas en la revista *Scientific American*, el mundo conoció el modelo de Conway: *el juego de la vida*, consistente en una red o latiz bidimensional, la cual solo contaba con dos estados posibles y con vecindades de 9 celdas básicas. La simplificación de 29 a solo 2 estados posibles rápidamente permitió que se pudiera implementar el modelo de Conway en computadoras personales y esto impulsó el interés en los autómatas aún mucho más, lográndose mostrar que el juego de la vida tenía las características de una máquina de cómputo universal.<sup>6</sup>

Por otra parte, a principios de la década de los cuarenta, McCullough y Pitts se encontraban estudiando la posibilidad de modelar los procesos mentales. Aunque sus modelos se basaban en sus conocimientos de la fisiología del sistema nervioso, sus modelos querían reflejar más bien las distintas características topológicas de los sistemas neuronales, así como las interacciones de las señales booleanas que circulaban por la red neuronal. Ni la forma estricta de las señales ni la composición de las neuronas se consideraban como esenciales para el modelo. Su trabajo vino a formar la base del estudio de los lenguajes formales, puesto que

su modelo representaba solo uno de los muchos posibles circuitos digitales y se necesitaba una teoría que los pudiera explicar, de manera semejante a como el álgebra booleana explicaba los circuitos combinatoriales.

De forma paralela, a Von Neumann, Ulam, McCullough y Pitts, el ingeniero alemán Konrad Zuse también desarrolló el concepto de autómatas celulares. Sin embargo, Zuse estaba interesado en la construcción de modelos digitales de la mecánica donde los conceptos físicos tienen un papel preponderante. Por la escasa difusión, sus trabajos no tuvieron tanto impacto como los de Von Neumann.

En los años ochentas Edward Fredkin y Tommaso Tofoli (Tofoli, 1987) estudiaron la pregunta de que si los autómatas celulares pueden servir para modelar no solo aspectos fenomenológicos, sino también para modelar las propias leyes físicas. Esto dio lugar a una gran cantidad de trabajos relacionados con aplicaciones de los autómatas a varias áreas de las ciencias, de estas aplicaciones hablaremos con más detenimiento en la última sección de este artículo.

Cabe destacar que a mediados de los ochenta, Stephen Wolfram comenzó una larga labor de estudiar a los autómatas celulares en forma sistemática, comenzando con ejemplos unidimensionales aplicando métodos algebraicos y computacionales, pasando por aplicaciones en computación, mecánica estadística, encriptamiento, dinámica de fluidos y produce, entre otras cosas, una clasificación heurística de los autómatas celulares en cuatro clases de acuerdo a su comportamiento. Wolfram deja de publicar sus resultados a finales de los ochenta, pero no hace a un lado sus investigaciones, muy al contrario; aprovechando su compañía *Wolfram Research* continúa explorando el mundo de los autómatas celulares para culminar en 2002 con un libro titulado *A new kind of science*, donde expone sus descubrimientos computacionales y algunas ideas que considera vendrán a revolucionar a la ciencia.

Las personas dedicadas a las ciencias computacionales también han estudiado a los autómatas desde un punto de vista más pragmático: los ven como “cajas negras” donde el usuario les provee de “datos” y el autómata provee el “resultado”, de esta manera les interesa encontrar autómatas equivalentes en el sentido de que les interesa saber cuáles son los autómatas que pueden proveer de ciertos resultados específicos. Este tipo de punto de vista se utiliza como modelos de ciertas estructuras estudiadas en ciencias computacionales, tales como compiladores y/o lenguajes de alto nivel.

Por otro lado, en el mundo de las matemáticas tradicionales, los autómatas aparentemente salieron de la escena (para entrar en el campo de la física) cuando en 1984 la revista *Physica* dedicó todo un tomo a ellos y pasaron a ser parte del ámbito de los físicos. Sin embargo siguen teniendo un lugar en la matemática tradicional estudiándose principalmente por personas dedicadas a los sistemas dinámicos discretos, ya que existe una correspondencia entre los mapas iterados discretos del intervalo y los autómatas celulares

<sup>6</sup> Una máquina de cómputo universal es capaz de implementar cualquier algoritmo de tiempo finito, algunos ejemplos de máquinas de cómputo universal son: las computadoras digitales, la máquina de Turing, el juego de la vida.

deterministas. Esta correspondencia es relativamente simple: dado que un autómata celular discreto con  $k$  valores puede ser descrito por una secuencia de enteros en  $\{0,1,2,\dots,k-1\}$ :<sup>7</sup>

$$\sigma^t = 01020135202010110220\dots$$

podemos leer esta secuencia como la parte fraccionaria de un número en el intervalo  $[0,1)$  escrito en base  $k$ :<sup>8</sup>

$$x(t) = 0.01020135202010110220\dots$$

lo que permite establecer una correspondencia entre las secuencias  $\sigma^t$  permitidas por el autómata celular con puntos en el intervalo  $[0,1)$ , y la regla que describe la dinámica del autómata celular será ahora un mapa  $f$  del intervalo en sí mismo  $x(t+1) = f(x(t))$ . En general el mapa es muy estructurado, lo que ha permitido realizar estudios de conceptos como entropía, medidas de probabilidad, ciclos límite, exponentes de Lyapunov, cadenas de Markov y otros utilizando herramientas propias de los sistemas dinámicos discretos.

Normalmente los matemáticos se han dedicado a caracterizar las propiedades de los autómatas como lo son las configuraciones permitidas, configuraciones límites, ciclos de configuraciones, longitudes de los ciclos, relaciones entre las longitudes de los ciclos, descripción de los diagramas de transición de estados, clasificaciones de los autómatas de acuerdo a su comportamiento, sincronización de autómatas acoplados, distintas condiciones de frontera, etc., aunque también han atacado problemas de otras áreas de las matemáticas, tales como problemas de combinatoria, teoría de números, teoría de grafos, series (generalizadas) de potencias, teoría de juegos y otros. (Belitsky, 1998; Gale, 1995; Sarkar, 2003)

En las siguientes secciones elaboraremos sobre algunas de las ideas y aplicaciones de las que hemos estado hablando hasta el momento. Para comenzar veremos la teoría básica de los autómatas, para terminar con diversas aplicaciones en algunas ciencias.

## TEORÍA BÁSICA Y ALGUNOS EJEMPLOS

Desde el punto de vista matemático formal, existen varias maneras equivalentes de definir un autómata, aquí presentamos dos. Comenzaremos por restringirnos al caso de autómatas celulares (aquellos en los cuales todas las reglas de transición locales son las mismas, esto es podemos considerar que las celdas básicas están fijas).

**Definición:** Un **autómata celular** es una cuádruple  $(L, K, V, f)$  donde

- $L$  es una latiz o arreglo donde cada elemento de la latiz corresponde a una celda básica,
- $K$  es el conjunto de posibles estados de cada celda básica (usualmente finito),
- $V$  es un conjunto de índices vecinos tal que si  $c \in L$  y  $r \in V$  entonces  $c + r \in L$  ( $V$  es una vecindad de una celda básica),
- $f: K^V \rightarrow K$  es una regla de transición local que asigna un valor a cada celda básica dependiendo de los valores de las celdas en su vecindad.

Una **configuración** o **estado** es una elección de los posibles valores de las celdas de la latiz, así pues incluye la latiz  $L$  junto con los valores de las celdas de la latiz en un tiempo dado.

### EJEMPLO 1

En el caso unidimensional, los estados o configuraciones de la latiz  $L$  consisten en una secuencia (posiblemente infinita) de celdas básicas que se representan por la secuencia  $\langle \dots a_3, a_2, a_1, a_0, a_1, a_2, a_3, \dots \rangle = \langle a_n \rangle$ ,  $K$  es usualmente el conjunto  $\{0, 1, 2, 3, \dots, k-1\}$  (los posibles valores de las celdas básicas, o sea los valores  $a_n$ ),  $V = \{-1, 0, 1, 2\}$  es una vecindad (así en este ejemplo, los valores de la vecindad de la celda indexada por  $n$  son  $\{a_{n-1}, a_n, a_{n+1}, a_{n+2}\}$ ), y la función  $f$  de transición local tiene como entradas los valores en la vecindad  $\{a_{n-1}, a_n, a_{n+1}, a_{n+2}\}$  y asigna el valor  $f(a_{n-1}, a_n, a_{n+1}, a_{n+2})$  a la celda  $n$ -ésima (o sea, a la celda representada por el elemento de la secuencia  $a_n$ ). Es preciso señalar que el valor  $f(a_{n-1}, a_n, a_{n+1}, a_{n+2})$  es un elemento del conjunto de  $K$ .

### EJEMPLO 2

Sean

$$L = \{\dots, -2, -1, 0, 1, 2, \dots\} = \mathbf{Z},$$

$$K = \mathbf{N} = \{1, 2, 3, \dots\}$$

$$V = \{-1, 0, 1\},$$

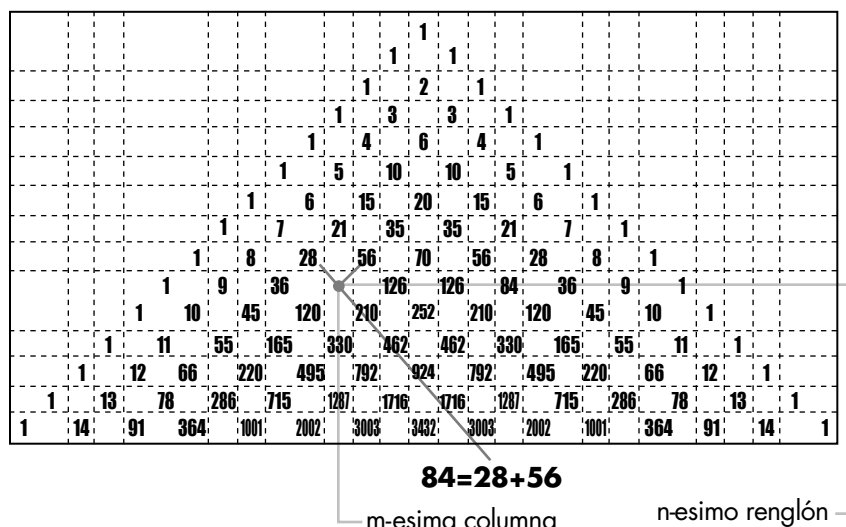
$$f(a_{n-1}, a_n, a_{n+1}) = a_{n-1} + a_{n+1}$$

entonces la evolución del autómata anterior da como resultado el triángulo de Pascal cuando se le permite evolucionar a partir de una configuración inicial dada por la secuencia  $\{\dots, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 0, \dots\}$

<sup>7</sup> En el caso de un autómata celular finito, la secuencia que lo representa es finita, en el caso de un autómata celular infinito la secuencia es infinita, sin embargo una secuencia finita se puede representar como una secuencia infinita precediéndola con un número infinito de ceros. De esta manera, un estado o configuración de un autómata celular con  $k$  valores se puede pensar como una secuencia infinita de enteros comprendidos entre 0 y  $k-1$ .

<sup>8</sup> Un número real  $x$  en el intervalo  $[0, 1)$  se puede representar en base  $k$  como la secuencia  $\langle a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, a_6, a_7, a_8, \dots \rangle_k$  de manera que  $x = \sum a_i / k^i$ , o sea que los coeficientes estarán dados por  $a_1 = \text{Int}[x \cdot k]$  y  $a_i = \text{Int}[x \cdot k^{i+1}] - a_1/k - a_2/k^2 - a_3/k^3 - \dots - a_{i-1}/k^{i-1}$  para  $i \geq 2$ , y serán enteros comprendidos entre 0 y  $k-1$ . Como ejemplo vemos que  $5/8 \leftrightarrow \langle 1, 0, 1, 0, 0, 0, \dots \rangle_2$  ya que  $5/8 = 1/2 + 0/4 + 1/8 + 0/16 + 0/32 + 0/64 + \dots$





**Figura 1.** Triángulo de Pascal obtenido del autómatas celular dado en el ejemplo 2.

Es interesante notar que a partir de esta observación es posible probar ciertos teoremas relacionados con los coeficientes binomiales  $C(n,m)$ , puesto que estos aparecen como las entradas del triángulo de Pascal: por ejemplo, se puede observar a partir de la regla de transición local, que

$$C(n+1,m+1) = C(n,m) + C(n,m+1).$$

### EJEMPLO 3

Sean  $L$  y  $V$ , como en el ejemplo anterior, sea  $K=\{0,1\}=\mathbb{Z}_2$  y sea

$$f(a_{n-1}, a_n, a_{n+1}) = a_{n-1} + a_{n+1} \pmod{2}$$

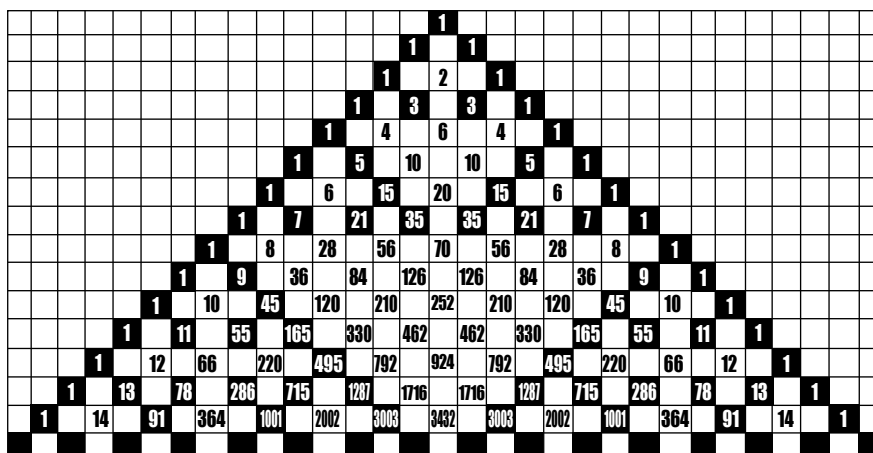
esto corresponde a la misma evolución anterior, pero considerando solamente si la celda es par (en cuyo caso se le asigna el valor 0) o non (en cuyo caso se le asigna el valor 1). Si de nueva cuenta se considera la evolución del autómatas celular a partir de la configuración o estado inicial  $\{\dots, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 0, \dots\}$  se obtiene:

Cabe aclarar que para enfatizar que la evolución es la misma, en lugar de asignar los valores 0 o 1 a las celdas, se han coloreado de blanco o rojo respectivamente.

Enseguida definimos un autómatas molecular, donde la característica principal es que la celda básica es móvil, este modelo sirve de base para un modelo conocido como Agregación por Difusión Limitada (DLA por sus siglas en inglés).

**Definición:** Un **autómatas molecular** es una quintupla  $(L, K, V, f, p)$  donde

- $L$  es una latiz o arreglo donde cada elemento de la latiz corresponde a una celda básica,
- $K$  es el conjunto de posibles estados de cada celda básica (usualmente finito),
- $V$  es un conjunto de índices vecinos tal que si  $c \in L$  y  $r \in V$  entonces  $c + r \in L$  ( $V$  es una vecindad de una celda básica),



**Figura 2.** Triángulo de Sierpinski obtenido del autómatas celular del ejemplo 3.

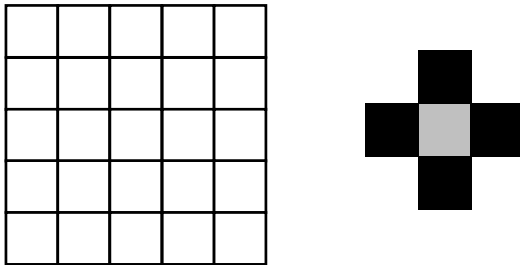
- $f: L \times KV \rightarrow L \times KV$  es una regla de transición que asigna un valor a cada vecindad dependiendo de los valores de las celdas en esa vecindad.
- $p \in L \times K$  es una configuración inicial que sirve de punto de partida para la evolución.

A diferencia del caso de un autómata celular, en este la regla de transición también depende explícitamente de la latiz, en otras palabras, la regla de transición no es homogénea.

Veamos ahora un ejemplo prototípico de un autómata molecular:

#### EJEMPLO 4 (AGREGACIÓN POR DIFUSIÓN LIMITADA O DLA POR SUS SIGLAS EN INGLÉS):

Sea  $L$  una latiz bidimensional cuadrada y  $V = \{\text{Norte, Sur, Este, Oeste}\}$  de manera que la vecindad de una celda básica consista de 5 elementos como lo indica la figura 3 donde se muestra una latiz, de  $5 \times 5$ , y la vecindad básica con la celda básica de color gris.



**Figura 3.** Latiz cuadrada y vecindad básica para el modelo DLA

El conjunto  $K$  de valores o estados de cada celda es  $K = \{\text{desocupado, ocupado, fijo}\}$ , la regla de transición se puede describir como sigue:

1. Si la celda central de la vecindad tiene el estado **desocupado** o **fijo** no sucede nada con la vecindad, esto es queda igual,
2. Si la celda central tiene el estado **ocupado** entonces
  - a. si alguna celda de la vecindad tiene el estado **fijo** entonces la celda central pasará a tener el estado **fijo**, y las otras celdas de la vecindad quedarán igual,
  - b. si ninguna celda de la vecindad tiene el estado **fijo** entonces se elige un elemento *al azar* del conjunto de índices  $V$  y la celda correspondiente a ese índice pasará a tener el estado **ocupado**, independientemente del estado que tenga, y la celda central pasará a tener el estado **desocupado**.

Finalmente, la configuración inicial  $p$  es tal que por lo menos una celda de la latiz tenga el valor o estado **fijo** y otra celda el estado **ocupado**.

La dinámica de este ejemplo es una dinámica que *a priori* no se puede describir puesto que las celdas ocupadas se mueven sobre la latiz de manera azarosa: las celdas pasan de estar ocupadas a desocupadas de acuerdo al modelo de movimiento browniano y se van agregando al azar alrededor de las celdas fijas de tal forma que se observa un crecimiento arbóreo que en principio no tiene ningún patrón (véase Figura 4).



**Figura 4.** Crecimiento arbóreo típico del modelo DLA.

Sin embargo, al calcular la dimensión fractal de las figuras resultantes, se observa que a pesar de ser distintas, todas tienen la misma dimensión fractal  $d = 1.42$ .

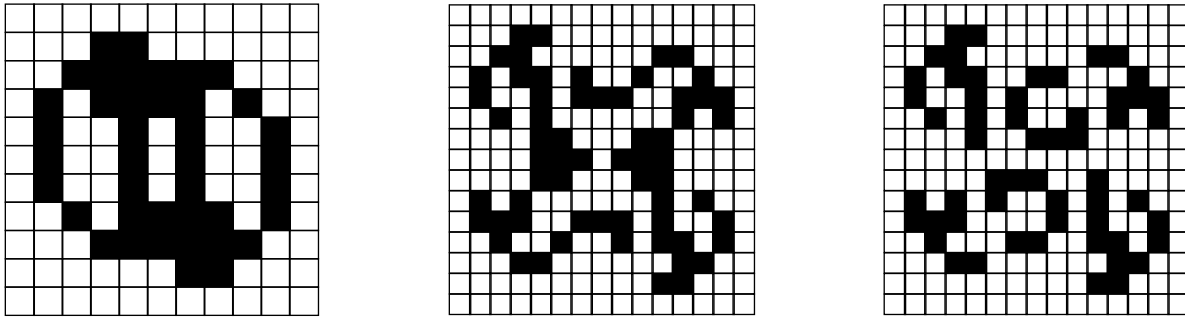
Otro ejemplo de un autómata molecular es el siguiente:

#### EJEMPLO 5 (LA HORMIGA):

Sea  $L$  una latiz bidimensional cuadrada infinita y  $V = \{\text{Norte, Sur, Este, Oeste}\}$  de manera similar al ejemplo anterior. Cada celda inicialmente tiene un estado o valor inicial (o sea se tiene una configuración inicial  $p$ ) de entre un número finito de valores  $K$ . Ahora imaginemos que una hormiga camina por esta latiz y que cambia el estado de cada celda de acuerdo a una regla predefinida y que a la vez el valor que tiene la celda le indica a la hormiga la dirección en la que debe caminar (de entre los valores de la vecindad). Un ejemplo específico originalmente estudiado por Chris Langton sigue: Los posibles estados son dos  $K = \{I, D\}$ , indicando Izquierdo y Derecho respectivamente, originalmente la hormiga está en alguna celda y se mueve a una celda vecina en alguna de las direcciones indicadas por la vecindad  $K$  (en el primer paso se escoge una dirección por ejemplo Oeste), al salir de la celda le cambia el estado a la celda de manera que si la celda tenía un valor  $I$  lo pasa a  $D$  y viceversa. Al llegar a la nueva celda la hormiga “se fija” en el valor que tiene esta nueva celda y da una vuelta de  $90^\circ$  en la dirección indicada por la celda (así por ejemplo si la hormiga entra por la dirección Este a una celda que tiene un valor  $D$ , entonces saldrá por la dirección Norte de esta celda).

El recorrido que la hormiga realiza muestra comportamientos interesantes, algunos de los cuales han sido explicados y otros no, aquí solo mencionaremos uno: Imaginemos que originalmente todas las celdas tienen el valor  $I$ , y que la hormiga inicialmente

escoge la dirección Oeste, entonces se observa qué configuración es centralmente simétrica para ciertos tiempos (véase la figura 5) sin embargo, pasado un tiempo suficientemente grande (del orden de 10,000 unidades de tiempo) la hormiga entra en un comportamiento periódico y se aleja de la celda inicial en dirección suroeste. Este comportamiento de “simetría transiente” no tiene explicación, aunque sí se tienen algunos avances. Véase (Gale, 1995) donde también podrá encontrar generalizaciones de este ejemplo.



**Figura 5** Configuraciones simétricas correspondientes a los tiempos 184, 368 y 472 respectivamente. Figura tomada de Gale (1995).

El siguiente ejemplo muestra cómo un autómata celular sencillo puede llegar a simular un sistema complejo que presenta comportamiento temporal y espacial muy rico en estructura.

#### EJEMPLO 6 (MÁQUINA DE HODGEPODGE):

Dress, Gerhardt y Schuster (Dress, 1989) desarrollaron un modelo de autómata celular (máquina de *hodgepodge*) que emula el comportamiento de una reacción catalítica heterogénea (que en lugar de evolucionar hacia un estado estable de máxima entropía, presenta variaciones periódicas en el tiempo y patrones geométricos sobre su superficie); se trata de la oxidación del monóxido de carbono (CO) para producir CO<sub>2</sub>, catalizada por cristales de paladio. La presencia de un gran número de cristales de paladio sugiere una distribución discreta de dichas unidades catalíticas a nivel microscópico; es por eso que la idea del autómata celular se hace pertinente, derivándose su regla de transición de la reacción que genera la oxidación del CO.

El espacio celular de la máquina de Hodgepodge está formado por un retículo rectangular de  $m$  filas por  $n$  columnas, esto es la latiz  $\mathbf{L} = \{x_{ij} : 1 \leq i \leq m, 1 \leq j \leq n\}$  es en este caso finita. El conjunto de estados posibles para cada celda  $x_{ij}$  es finito  $\mathbf{K} = \{0, 1, 2, \dots, V\}$ . Cuando  $x_{ij}(t) = 0$ , la celda está sana, cuando  $x_{ij}(t) = V$ , enferma y en cualquier otro caso se dice que está *infectada*. Las

vecindades que se consideran obedecen al esquema de Moore (los ocho vecinos más próximos) y en la frontera no hay continuidad (frontera absorbentes). La evolución de cada celda según su estado actual  $x_{ij}(t)$  se determina de la siguiente manera:

**Unidad sana** ( $x_{ij}(t) = 0$ ). Se infectará si tiene un determinado número de unidades vecinas infectadas. Sea  $k_{ij}(t)$  el número de vecinos enfermos (esto es que tienen valor  $V$ ) de la celda  $x_{ij}$  en el tiempo  $t$ , y  $l_{ij}(t)$  el número de vecinos infectados, entonces la

regla de transición es:

$$x_{ij}(t+1) = \text{Min} \{ V, k_{ij}(t) / k_1 + l_{ij}(t) / k_2 \}$$

donde  $k_1$  y  $k_2$  son los niveles mínimos necesarios de celdas enfermas e infectadas, respectivamente, para que se produzca la infección de la celda sana.

**Unidad infectada** ( $0 < x_{ij}(t) < V$ ). El nivel de infección de cada celda crece de un instante al siguiente una cantidad fija  $g$  llamada *velocidad de infección* y es un número natural. Además, existe una interacción local que sincroniza la infección mediante un proceso de semisuma local. Definiendo la suma de niveles de infección como

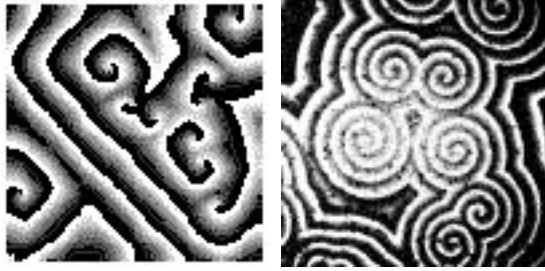
$$S_{ij}(t) = \sum x_{rs}(t)$$

donde la suma toma las celdas de la vecindad (o sea los ocho vecinos más próximos), se tiene que

$$x_{ij}(t+1) = \text{Min} \{ V, S_{ij}(t) / l_{ij}(t) + g \}.$$

**Unidad enferma** ( $x_{ij}(t) = V$ ). La celda enferma pasa a la fase sana en un único paso  $x_{ij}(t+1) = 0$ .

La ejecución del autómata exige fijar las cantidades  $V, k_1, k_2$  y  $g$ , todas ellas números naturales. En la Figura 6 se observa a la izquierda una simulación del autómata *hodgepodge* para los valores  $V = 100, k_1 = 2, k_2 = 3$  y  $g = 20$ , desde el instante 800 al 810. A la derecha una fotografía de una reacción catalítica heterogénea. Obsérvese la similitud de las espirales.



**Figura 6.** A la izquierda se muestra una máquina hodgepodge de 100 x 100 para el tiempo  $t = 1001$  partiendo de un estado inicial aleatorio, a la derecha una fotografía de una reacción catalítica heterogénea. Obsérvese la similitud de las espirales. Figura tomada de [http://es.geocities.com/riotorto/ace/ace\\_hodge/ace\\_hodge.htm](http://es.geocities.com/riotorto/ace/ace_hodge/ace_hodge.htm)

**EJEMPLO 7 (MODELACIÓN DE TRÁFICO VEHICULAR):**

En 1992, Nagel y Schreckenberg (Nagel, 1992) introdujeron un modelo sencillo de tráfico vehicular utilizando el autómata celular que a continuación se describe. La latiz  $L$  es un arreglo de celdas unidimensional (la calle) y cada celda puede estar ocupada (si un carro está ocupando la celda) o desocupada (en cuyo caso no hay un carro en dicha celda), al mismo tiempo cada carro tiene una velocidad asociada ( $v = 0, 1, 2, \dots, v_{max}$ , donde  $v_{max}$  es la velocidad máxima que pueden alcanzar los carros). De esta manera el conjunto de valores que puede tomar cada celda es  $K = \{(\text{ocupado}, v), (\text{desocupado}, \emptyset) : v = 0, 1, 2, \dots, v_{max}\}$ . La regla de transición consiste de cuatro pasos que se aplican a todas aquellas celdas que se encuentran ocupadas (en otras palabras es una regla que se aplica a cada uno de los carros al unísono).

**Paso 1 (Aceleración).** Todas las celdas ocupadas que no tengan la velocidad máxima pasan a tener una unidad más de velocidad:

$$v \rightarrow v + 1$$

**Paso 2 (frenado).** Si un carro tiene  $d$  celdas desocupadas enfrente de él y si su velocidad  $v$  es mayor que  $d$ , entonces reduce su velocidad a  $d$ :

$$v \rightarrow \text{Min}\{d, v\}$$

**Paso 3 (azar).** Con una probabilidad  $p$  se reduce la velocidad por una unidad:

$$v \rightarrow v - 1$$

**Paso 4 (avanzar).** El carro en la celda  $n$  avanza de acuerdo a la velocidad calculada por los pasos anteriores:

$$X_{n+1} \rightarrow X_n + v_n$$

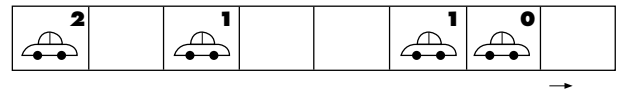
En la figura 7 se muestra cómo se implementan estos 4 pasos

para una configuración específica.

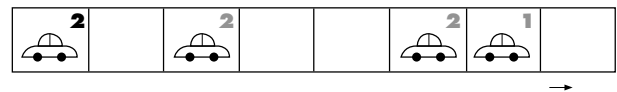
Estos 4 pasos permiten una descripción real del tráfico vehicular: el paso 1 describe el deseo de los conductores de avanzar a la máxima velocidad permitida; el paso 2 codifica la interacción entre los carros, es de notar que esto evita colisiones, asimismo esto muestra que la vecindad  $V$  que se considera es de  $v_{max}$  celdas en la dirección positiva del tráfico; el paso 3 codifica de una manera sencilla aquellos procesos complejos que suceden en un tráfico real (por ejemplo que un conductor frene porque un pasajero lo distrajo); finalmente el paso 4 mueve al carro de acuerdo a su nueva velocidad.

La dinámica de este sencillo modelo muestra comportamiento como el que se observa en las carreteras: si la densidad de carros es baja, el flujo es proporcional a la densidad, puesto que casi no existe interacción entre los carros y los carros viajan a la velocidad deseada  $v_{max}$  (excepto por pequeñas fluctuaciones). Si la densidad es alta entonces se observa que el flujo disminuye. En el caso intermedio se presenta comportamiento no lineal en el cual se llega a observar cómo se forman embotellamientos espontáneos por aquellos carros que llegan a tener velocidad 0.

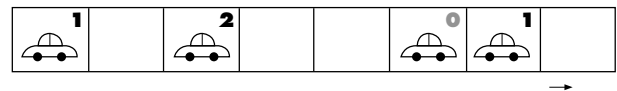
Configuration at time  $t$ :



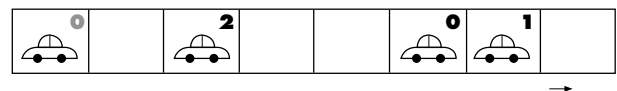
a) Acceleration ( $v_{max} = 2$ ):



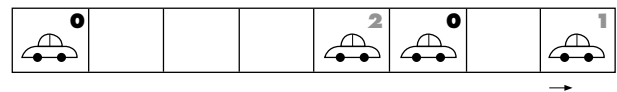
a) Breaking:



c) Randomization ( $p = 1/3$ ):



d) Driving (= configuration at time  $t + 1$ ):



**Figura 7** Implementación de los 4 pasos para un ejemplo específico. Figura tomada de <http://www.thp.uni-koeln.de/~as/Mypage/traffic.html>

Este ejemplo muy sencillo nos muestra el comportamiento real de tráfico vehicular. Modificaciones al mismo muestran comportamientos más realistas incluso llegando a mostrar ejemplos donde existen regiones “embotelladas” y regiones de flujo libre.

**EJEMPLO 8 (PILAS DE ARENA):**

Una pila de arena a la cual se le agrega arena, puede ser representada por un autómata celular bidimensional homogéneo y consiste en dividir una región plana mediante una malla, donde a cada cuadrado de la red con las coordenadas  $(x,y)$  se le asigna un número de granos de arena mediante la función  $Z(x,y)$ . La adición de un grano de arena a los cuadrados de la malla se hace al azar

$$Z(x,y) \rightarrow Z(x,y) + 1,$$

Este proceso se repite hasta que el número de granos en un sitio alcance un valor crítico que normalmente se considera de 4 granos. Cuando la condición crítica es alcanzada en alguno de los puntos de la malla, se aplican las siguientes reglas:

$$\begin{aligned} Z(x,y) &\rightarrow Z(x,y) - 4, \\ Z(x\pm 1,y) &\rightarrow Z(x\pm 1,y) + 1, \\ Z(x,y\pm 1) &\rightarrow Z(x,y\pm 1) + 1, \end{aligned}$$

El proceso se repite en cada ocasión en los sitios que alcancen el estado crítico hasta que se llegue a la estabilidad. Se dice que una avalancha ocurre cuando este proceso ocurre.

La cantidad de sitios que se dispararon antes de alcanzar la estabilidad constituye la magnitud de la avalancha y el número de pasos para llegar a la posición estable es igual a la duración del evento. Se han encontrado leyes de potencias para la magnitud y el tiempo de duración.

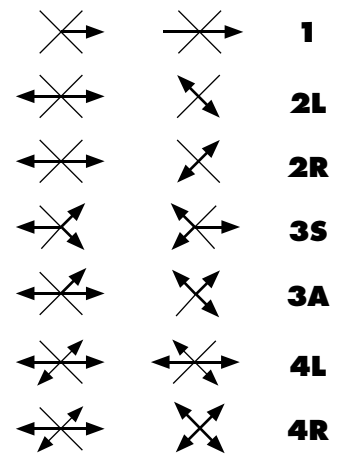
Este modelo sencillo ha sido estudiado en detalle y ha servido incluso para modelar sismos (Gálvez, 2000).

**EJEMPLO 9 (DINÁMICA DE FLUIDOS):**

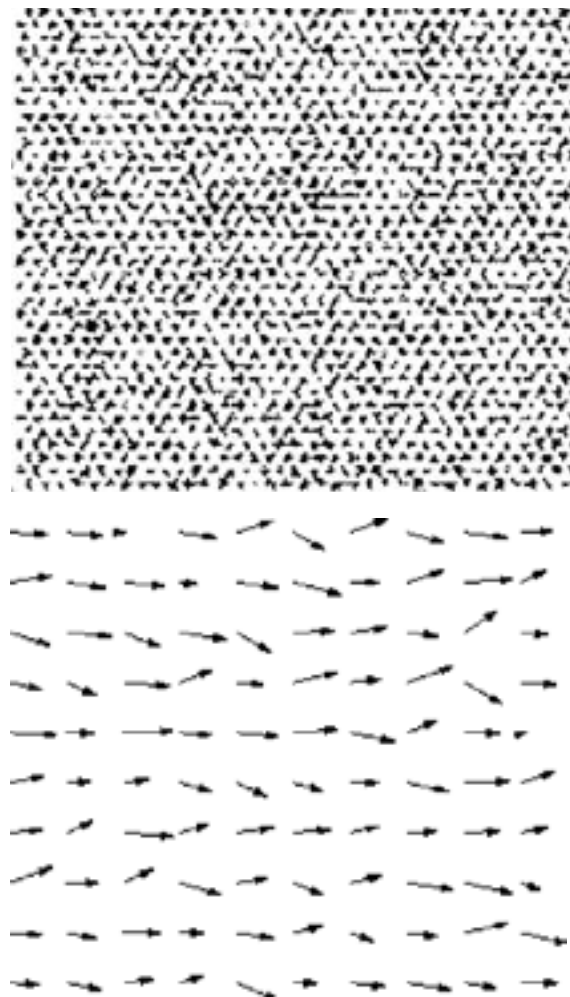
Un ejemplo asombroso de cómo los autómatas celulares han servido para modelar sistemas aparentemente muy complejos, es el que a continuación se describe. Considérese un fluido bidimensional, este puede ser modelado con una malla hexagonal (o triangular) en la cual se considera que una partícula de fluido se encuentra en cada vértice de la misma. La velocidad de cada partícula de fluido se representa por medio de un vector que puede tomar solo 6 distintas direcciones (y un rango finito de valores). La regla de transición se representa en forma esquemática en la figura 8, donde en la columna de la izquierda se muestra el estado de la celda en el tiempo  $t$  y del lado derecho se muestra el estado en el tiempo  $t+1$ . Cabe señalar que se muestran varios casos para economizar espacio.

Al modelar este sistema sencillo se observa que el comportamiento se apega a la realidad en cuestiones que van más allá de lo

esperado a priori. Si se examina lo que sucede para los nodos individuales no se observa un flujo neto (véase Figura 9) sin embargo cuando se promedian bloques de 30 x 30 nodos se observa un flujo neto. Esto es característico de lo que sucede a escala microscópica en un fluido.



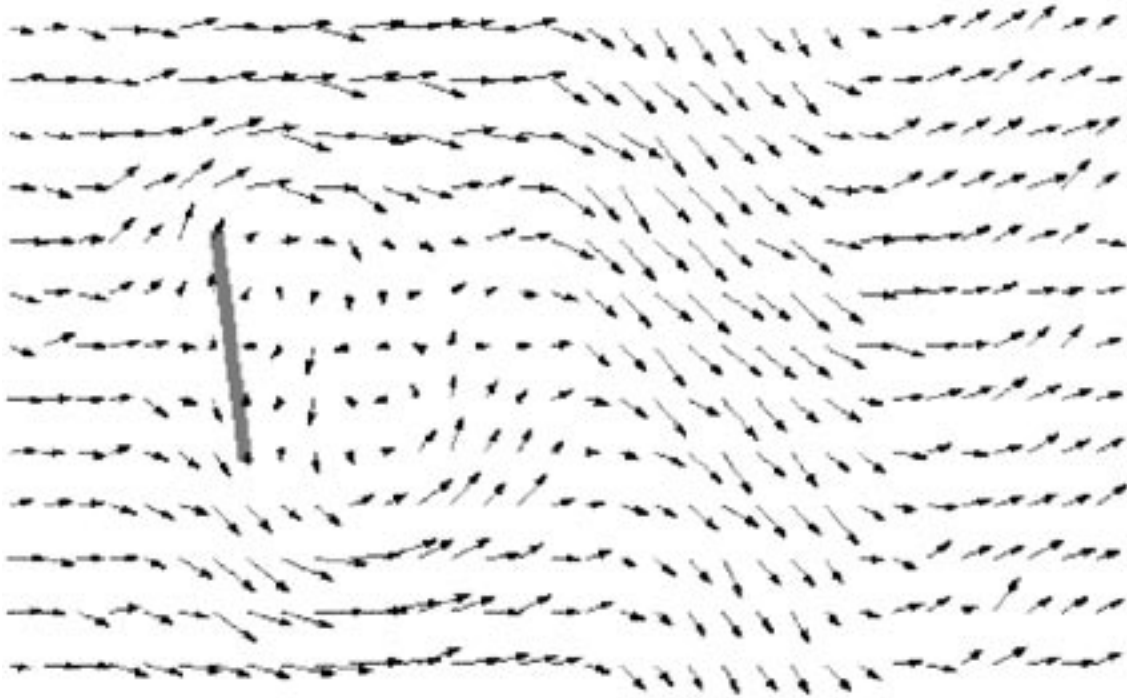
**Figura 8.** Reglas de transición



**Figura 9.** Autómata donde se muestra del lado izquierdo los vectores que representan la velocidad de las partículas individuales de fluido (no se observa un flujo neto), y del lado derecho lo que sucede después de promediar en bloques de 30 x 30 nodos (el flujo neto es claramente evidente).

Por demás, cuando se introduce de manera adecuada un obstáculo, se observan vórtices y un flujo en concordancia con la realidad (véase Figura 10).

cíclicas formadas por varias glucosas unidas mediante enlaces entre el carbono 1 de una unidad de glucosa con el carbono 4 de la siguiente. Se obtienen por la degradación enzimática del



**Figura 10.** Flujo cuando un obstáculo se encuentra presente. Nótese los vórtices que ocurren detrás del obstáculo.

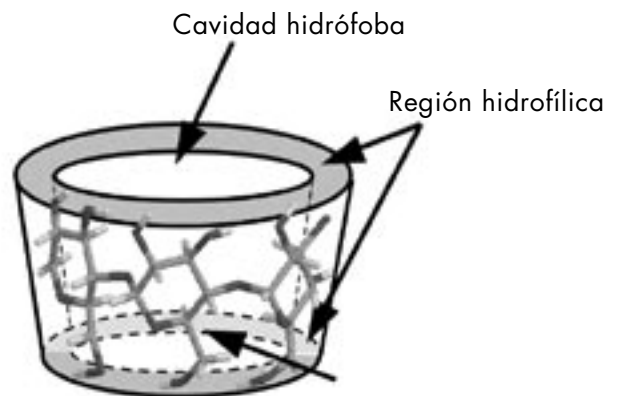
Finalmente, como último ejemplo de una aplicación de los autómatas celulares presentamos un trabajo desarrollado en conjunto con Emilio Álvarez Parrilla y Laura de la Rosa del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

**EJEMPLO 10 (CRECIMIENTO DE TRÍMEROS DE CICLODEXTRINA):**

Las ciclodextrinas son un grupo de moléculas naturales

almidón mediante la enzima glucosiltransferasa (CGT amilasa) de la bacteria *Bacillus macerans*. Fueron descubiertas en 1891 por Villiers que las llamó celulosinas (debido a la semejanza que observó con la celulosa). Doce años después, en 1903, Schardinger describió los primeros detalles para su preparación y purificación.

En la Figura 11 se muestra de manera esquemática la forma de una ciclodextrina. Como se puede observar, tienen una estructura cíclica hueca, donde los grupos OH se encuentran en los bordes



**Figura 11.** Representación esquemática de la  $\beta$ -ciclodextrina, en la que se muestra la estructura cíclica hueca.

superior e inferior, mientras que en su interior se hallan los átomos de hidrógeno. Esto hace que mientras que su exterior sea polar o hidrófilo, el interior es apolar o hidrófobo. Es gracias a esta característica que son capaces de formar complejos de inclusión con diferentes moléculas orgánicas.

Cuando se tiene una disolución acuosa de ciclodextrina y de algún compuesto orgánico (huésped) ocurren dos cosas; las moléculas de agua que se encuentran dentro de la ciclodextrina son retiradas al exterior (debido al carácter hidrófobo de su interior), a su vez la molécula orgánica tiende a repeler a las moléculas de agua que tiene a su alrededor, tal como se muestra en la Figura 12, con lo cual la molécula orgánica entra en el interior de la ciclodextrina formando el complejo de inclusión.

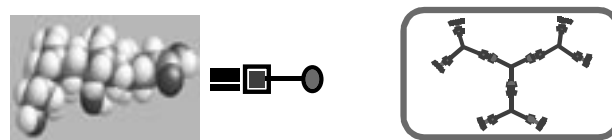
Para que esto sea posible, es necesario que actúen las fuerzas intermoleculares. Las moléculas incluidas se orientan en el interior de la ciclodextrina de manera que se alcance el máximo contacto entre la parte hidrófoba del huésped y la cavidad apolar de la ciclodextrina. De manera general se da por sentado que la estabilidad y estructura de los complejos formados *depende fundamentalmente de factores geométricos y de polaridad*. (Szejtli, 1988; Easton 1999; Saenger 1980).

Recientemente E. Álvarez-Parrilla describió el uso de la capacidad de complejación de las ciclodextrinas para generar polímeros supramoleculares, a partir de la complejación de huéspedes ditópicos por dímeros (Cabrer, 1999; Álvarez-Parrilla, 2000-2001, 2000-2002) y trímeros (Álvarez-Parrilla, 2000-2003) de ciclodextrina, para obtener un polímero lineal y una estructura dendrímica, tipo árbol de Cayley, respectivamente. Nuevamente, en estos estudios se observó la influencia de los factores electrostáticos y del impedimento estérico en la fortaleza y cinética de formación de las estructuras moleculares.

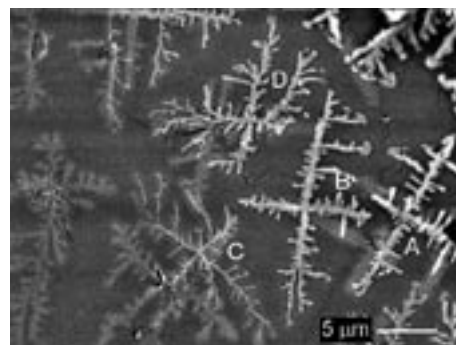
Estos estudios ponen de manifiesto que durante el proceso de reconocimiento molecular entre una ciclodextrina (o sus derivados) y un huésped, además de los factores comúnmente aceptados como responsables de la formación del complejo de inclusión (factores de polaridad y geométricos), parece evidente la participación de otras interacciones en la fortaleza y geometría de la estructura supramolecular formada. Sin embargo como primer paso para el entendimiento de un modelo matemático y siguiendo las ideas presentadas en los ejemplos anteriores sobre la universalidad de los sistemas físicos y la capacidad de los autómatas celulares para modelar sistemas complejos, se desarrolló un modelo matemático, que reproduce las estructuras tipo árbol de Cayley observadas en la complejación de huéspedes ditópicos por trímeros de ciclodextrina.

En la Figura 13 se muestran la molécula huésped ditópica de NaDC utilizada para generar los trímeros de ciclodextrina, y en la Figura 14 se muestran las estructuras dendrímicas observadas experimentalmente.

Como se menciona en la Figura 14 las estructuras observadas son reminiscentes de aquellas producidas por el modelo de agregación por difusión limitada o DLA (ejemplo 4), sin embargo existen diferencias notablemente, las dimensiones fraccionarias observadas difieren. Esto nos hizo pensar que quizá modificando el modelo se pudiera obtener mejores resultados. Así se procedió,



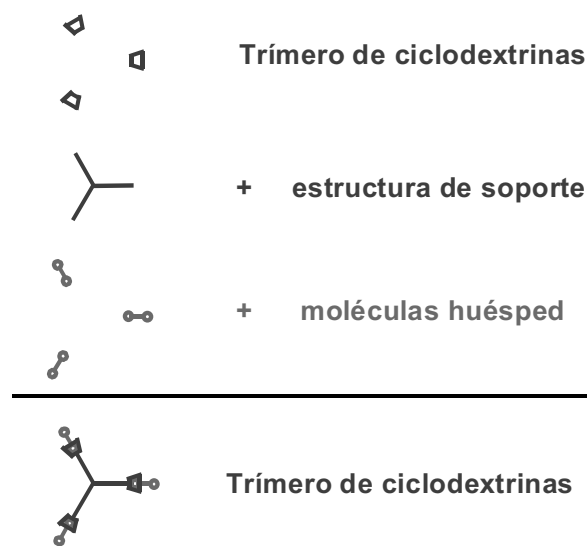
**Figura 13.** Del lado izquierdo se muestra la molécula huésped ditópica de NADC utilizada para la generación de las estructuras supramoleculares, del lado derecho se muestra la estructura de trímero esperada.



**Figura 14.** Estructuras dendrímicas experimentales donde se observa la estructura en forma de árbol de Cayley reminiscente de aquellas formadas por el modelo de DLA. Sin embargo se observan estructuras que tienen dimensiones fractales de 1.48, 1.58 y 1.63 a diferencia del caso del modelo de DLA donde la dimensión era de 1.42.

y el primer parámetro que se modificó fue la latiz  $L$  subyacente para poder explotar la geometría triangular natural de los trímeros de ciclodextrina. Esto se muestra en las figuras 15 y 16.

El modelo de agregación por difusión limitada con geometría



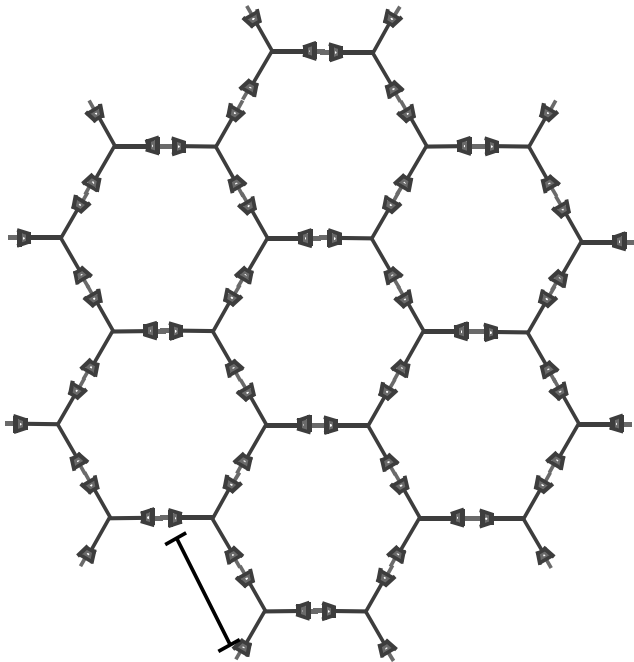
**Figura 15.** Estructura geométrica básica de formación de un trímero de ciclodextrina.

subyacente hexagonal que se utilizó, consta de una malla hexagonal donde en cada vértice se puede colocar un trímero.

En primera instancia se procedió a colocar una molécula semilla en el centro de la red hexagonal de  $10,000 \times 10,000$ . Al evolucionar el modelo con un total de 30,000 trímeros se obtuvo un agregado como el que se muestra en la Figura 17 con una dimensión fractal de 1.547.

Después se realizó el experimento con tres semillas colocadas en un triángulo separadas entre sí por aproximadamente 2,000 elementos de la malla encontrándose que la dimensión fractal variaba entre 1.406 hasta 1.485 dependiendo de la cantidad de trímeros que se inyectaran al modelo (véase la Figura 18).

Estos resultados sugieren que la dimensión del agregado



**Figura 16.** Agregación de trímeros de ciclodextrina donde se muestra la malla hexagonal (triangular) natural subyacente.

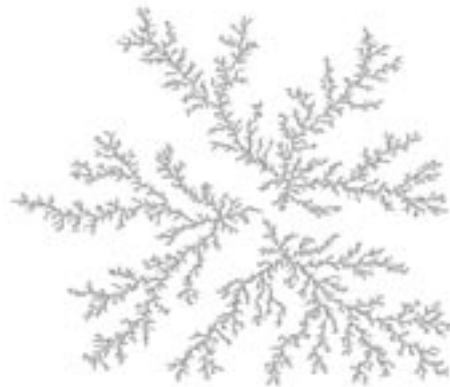
dependen de la malla subyacente, así como del número y la disposición geométrica de las semillas que se utilicen como condición inicial.

A futuro se pretende proseguir con el estudio pero tomando en cuenta algunos parámetros que involucren la fisicoquímica de manera más precisa. En primera instancia se pretenden asignar probabilidades de agregación tomando en cuenta la geometría

de los primeros vecinos, en segunda instancia utilizar no solo los primeros vecinos, sino también los segundos vecinos para asignar la probabilidad de interacción. Para identificar claramente las probabilidades es necesario también considerar el aspecto fisicoquímico y así poder formar modelos más realistas que permitan una mejor descripción de las propiedades fisicoquímicas de las interacciones no covalentes involucradas. Más a futuro aun se pueden considerar estudios teóricos de los DLA utilizando medida armónica, y mapeos conformes.



**Figura 17.** Corrida del modelo de DLA con malla hexagonal de  $10,000 \times 10,000$  con una semilla colocada en el centro y a la cual se le agregaron 30,000 trímeros. La dimensión fractal obtenida fue de 1.547.



**Figura 18.** Se muestra el modelo con 3 semillas al cual se le agregaron 46,872 trímeros obteniéndose una dimensión fractal de 1.485



## REFERENCIAS:

- Álvarez-Parrilla, E. (2000-1). “*Estructuras supramoleculares generadas por ciclodextrinas*”, Universidad de Santiago de Compostela: Lugo, 2000, pp 242.
- Álvarez-Parrilla, E.; Ramos Cabrer, P.; Singh, P. A.; Meijide, F.; Rodríguez Núñez, E.; Vázquez Tato, J. (2000-2). “*Complexation of bile salts by cyclodextrin dimers: supramolecular structures formation*”, Schmid, G., Ed.: Ann Arbor, 2000.
- Álvarez-Parrilla, E.; Ramos Cabrer, P.; Al-Soufi, W.; Meijide, F.; Rodríguez Núñez, E.; Vázquez Tato (2000-3). *J. Angew. Chem. Int. Ed.* 2000, 39, 2856-2858.
- P.H. Bardell (1990). “*Analysis of cellular automata used as pseudorandom pattern generators*”, Proceedings of the IEEE 21st International Test Conference, Washington, D.C., Sept. 1990, pp. 762–768.
- Vladimir Belitsky and Pablo A. Ferrariy (1998). “*Invariant Measures and Convergence for Cellular Automaton 184 and Related Processes*”. arXiv: math.PR/9811103 v1 17 Nov 1998.
- Ramos Cabrer, P.; Alvarez-Parrilla, E.; Meijide, F.; Seijas, J. A.; Rodríguez Núñez, E.; Vázquez Tato, J. (1999). *Langmuir* 1999, 17, 5489-5495.
- Dress Andreas W. M., Gerhardt Martin, Schuster Heike (1998). “*Cellular Automata Simulating the Evolution of Structure through the Synchronization of Oscillators*”, American Institute of Mathematics reprints,
- Easton, C. J.; Lincoln, S. F. (1999). “*Modified cyclodextrins*”, 1st ed.; Imperial College Press: London, 1999.
- David Gale, Jim Propp, Scott Sutherland, and Serge Troubetzkoy (1995). “*Further Travels with My Ant*”, *Math. Intelligencer* 17 (1995), 48-56.
- Gonzalo Gálvez Coyt (2000). “*Un modelo autómatas fractal para sismos*”, XIII Congreso Nacional de Ingeniería Sísmica, Guadalajara, Jalisco, México, 2000.
- Moore, E. (1966). “*Machine models of self-reproduction*”. In Proc. Symp. Appl. Math. 14, 17 (1962) reprinted in: *Essays on cellular automata*, A. W. Burks. Univ. of Illinois Press (1966).
- K. Nagel and M. Schreckenberg (1992), “*A cellular automaton model for freeway traffic*”, *J. Physique I* 2, 2221 (1992)
- von Neumann, J. (1965). “*The Theory of self-reproducing Automata*”. A.W. Burks, ed., Univ. of Illinois Press, Urbana and London, 1965.
- Palash Sarkar (2000). “*A brief history of cellular automata*”, *ACM Comput. Surveys* 32 (1) (2000) 80–107.
- Palash Sarkar (2003). “*Computing Shifts in 90/150 cellular automata sequences*” *Finite Fields and Their Applications* 9 (2003) 175–186.
- Saenger, W. (1980). *Angew. Chem. Int. Ed.* 1980, 19, 344-362.
- Szejtli, J. (1988). “*Cyclodextrin Technology*”, Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, the Netherlands, 1988; Vol. 1.
- Toffoli, T. (1987). “*Cellular Automata: A new environment for modeling*”. MIT Press Cambridge (1987).
- S. Tezuka, M. Fushimi (1994). “*A method of designing cellular automata as pseudo random number generators for built-in self-test for VLSI*”, *Finite Fields: Theory, Applications and Algorithms*, Contemporary Mathematics, American Mathematical Society, Providence, RI, 1994, pp. 363–367.
- Ulam, S. (1974). “*Some ideas and prospects in biomathematics*”. *Ann. Rev. Bio.*, 1974.
- Stephen Wolfram (1983). “*Statistical mechanics of cellular automata*”, *Rev. Mod. Phys.* 55 (1983) 601–644.
- Stephen Wolfram (1988). “*Theory and Applications of Cellular Automata*”, World scientific publishing Co. Ltd. (1988) Pages 485-557.
- Stephen Wolfram (2002). “*A new kind of science*”, Wolfram Media Inc. Champaign Il. 2002



## FOTESI

# Fotometría Estelar Internacional

(REVISIÓN DE UN PROGRAMA INTERNACIONAL DE SISMOLOGÍA ESTELAR)

Manuel Alvarez Pérez-Duarte\*

*En el presente trabajo indicamos los logros que hemos alcanzado con el programa FOTESI-STEPHI que iniciamos desde hace más de tres lustros, observando un grupo seleccionado de estrellas variables del tipo  $\delta$ -Scuti, en una colaboración internacional con astrónomos franceses, españoles, chinos y mexicanos. Hemos medido varias frecuencias de oscilación con pequeñas amplitudes que son características de la mayoría de estas estrellas. Nuestros resultados, además de haber sido pioneros en este campo, son aún uno de los grupos más completos y representativos del campo de la sismología estelar.*

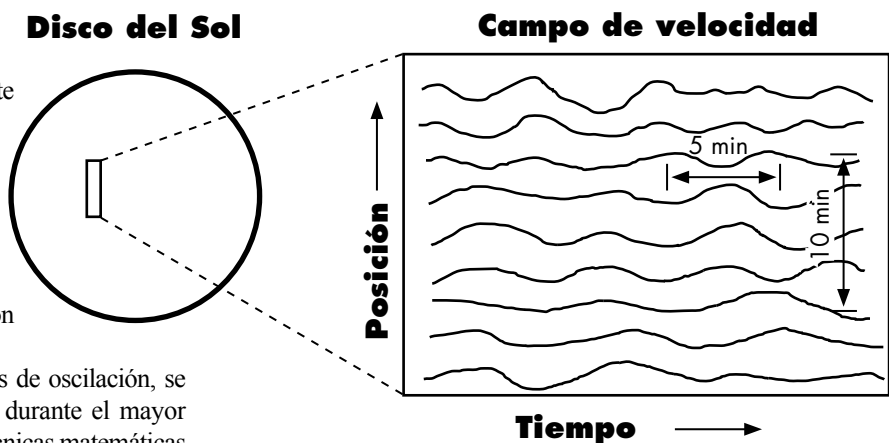
### UN POCO DE HISTORIA

Desde principios de la década de los sesenta, los astrónomos solares Leighton, Noyes y Simon (1962), habían detectado que algunas líneas espectrales en absorción provenientes del sol, se desplazaban de su posición de equilibrio. Por el efecto Doppler, esto significaba que la superficie del sol efectivamente se movía hacia arriba y hacia abajo con un periodo aproximado de cinco minutos. Ulrich en 1970, propuso que las ondas observadas en la superficie del sol eran la manifestación de oscilaciones acústicas (ondas de sonido) atrapadas bajo la superficie del sol y ahora sabemos que efectivamente el sol oscila con este periodo.

Para la determinación de estas frecuencias de oscilación, se requiere tener una *serie continua de datos* durante el mayor tiempo posible, con el objeto de aplicar las técnicas matemáticas adecuadas como son las *transformadas de Fourier* y determinar sin ambigüedad los modos de oscilación, así como sus amplitudes. Por ello, en el invierno del año 1979-1980, una expedición francesa se desplazó a la estación de investigación científica en el Polo Sur Geográfico y después de una exitosa campaña de observación, lograron medir durante más de 120 horas consecutivas la luminosidad del sol. Esto fue inmediatamente reportado por Grec, G.; Fossat, E.; Pomerantz, M. (1980), dando clara evidencia de la existencia de modos de pulsación en el rango de periodos de 5 minutos. Esta histórica medición dio inicio a un novedoso campo de investigación que actualmente se le conoce como *Sismología Solar*.

Los estudios teóricos que resultaron del análisis de esta novedosa información, fueron sorprendentes: *¡todo el sol, incluyendo su interior, oscila con varios cientos de modos de oscilación y*

*con muy pequeñas amplitudes!* y de la misma manera en que los *sismólogos* estudian el interior de la tierra, podemos, en principio, determinar la estructura de las capas internas del sol a partir de estas observaciones hechas en su superficie.



**Figura 1.** Campo de velocidades del disco del sol.

Las investigaciones en este campo de la *Sismología solar* han continuado y en la actualidad hay programas coordinados por diversos grupos de investigación, además de los estudios espaciales con satélites como el SOHO, entre muchos otros. La amplitud de estas ondas en la atmósfera del sol es de solo algunos metros cada minuto y gracias a las nuevas técnicas de medición, incluidas las sondas espaciales, sabemos hasta el momento que hay más de un millón de modos de oscilación en la atmósfera del sol.

Casi de inmediato, los astrónomos estelares se dieron a la tarea de obtener medidas de un comportamiento similar en algunas estrellas. Se inició con las estrellas más brillantes como Alfa

\* Observatorio Astronómico Nacional. Instituto de Astronomía, UNAM, Ensenada, Baja California. Correo: alvarez@astro.unam.mx

Centauro, Proción, Betelgeuse y otras, aunque con muy poco éxito, debido a que la amplitud de oscilación era muy difícil de detectar, debido entre otras causas al poco flujo luminoso que emiten las estrellas en el firmamento.

### IMPORTANCIA DE LA SISMOLOGÍA SOLAR Y ESTELAR

En el caso terrestre, el estudio de las ondas que se propagan sobre la superficie de la tierra y de aquellas que penetran hacia el interior, nos permiten obtener información sumamente valiosa de la *estructura interna* de la tierra.

De igual forma, el estudio de las variaciones que observamos en la luz del sol y de las estrellas, nos permite modelar la distribución de la presión y de la temperatura en el interior de estos astros.

Pero, ¿cómo podemos “ver” el interior del sol y de las estrellas? La información que recibimos del sol y de las estrellas, proviene del espectro electromagnético a través del flujo de luz y partículas que recibimos. Estos flujos vienen directamente de la superficie y de sus regiones externas, pero ¿podemos observar las regiones internas del sol y de las estrellas? La respuesta es SÍ, utilizando dos técnicas de enorme interés en la astrofísica. Una de ellas es por medio de la observación de los *neutrinos solares* y la otra por medio de la técnica conocida como la *sismología solar o estelar*. En los próximos párrafos señalaré los aspectos básicos de la Sismología en general, para aplicarla al sol y a las estrellas.

### ¿EN QUÉ CONSISTE LA SISMOLOGÍA SOLAR Y ESTELAR?

Puesto que el sol es una enorme masa de gas<sup>(1)</sup>, las oscilaciones de esta masa gaseosa están descritas, en una primera aproximación, por las ecuaciones de la hidrodinámica, que describen el movimiento de los fluidos alrededor de un estado de equilibrio de las fuerzas dominantes. Estas ecuaciones básicas son las siguientes:

- Conservación de masa.
- Equilibrio de fuerzas.
- Conservación de energía.
- Ecuación de estado del gas del interior solar.
- Descripción del campo gravitacional.

También necesitamos conocer el campo magnético predominante en el sol y para ello utilizamos:

- Las ecuaciones de Maxwell,

- La ley de Ohm, así como otras relaciones adecuadas para describir el fenómeno.

Como el ejemplo más simple para analizar, tomemos el caso de una *atmósfera plano-paralela*, en un *medio compresible, estratificado y delgado* respecto a la estrella misma y localizada en un *campo gravitacional*. Consideremos que este medio sufre una ligera perturbación de fuerzas de presión o de gravedad alrededor de su posición de equilibrio, produciendo *oscilaciones pequeñas*. En este caso, podemos entonces, *linearizar* el sistema suponiendo que cada una de las variables se puede expresar como la suma de un valor promedio más una pequeña perturbación. Bajo estas condiciones las ecuaciones se simplifican considerablemente y pueden resolverse para algunos casos sencillos.

La solución de la ecuación que describe la velocidad de propagación de la onda, se puede expresar por medio de dos componentes independientes entre sí, es decir, ondas de tipo *longitudinal* en donde la fuerza restauradora es la *presión* que está caracterizada por la *velocidad del sonido* y ondas de tipo *transversal* en la cual la fuerza restauradora es la *gravedad* y queda caracterizada por la frecuencia de Brünt-Vaisala. Esta solución se expresa como una *relación de dispersión* entre la frecuencia de oscilación  $\omega$  y los números de onda en las direcciones horizontal y vertical  $\kappa_x$  y  $\kappa_z$ .

En cada una de las dos direcciones podrá haber *propagación* cuando se satisfagan las siguientes condiciones: para las ondas de *presión* o *acústicas*, la frecuencia debe ser *mayor que la frecuencia acústica de corte* y para las ondas *transversales* o *de gravedad*, la frecuencia debe ser menor o igual que la *frecuencia de Brünt-Vaisala*. La *velocidad del sonido*  $V_s = \{k T / m\}^{1/2}$  es la velocidad a la que se propaga una onda sonora en un medio gaseoso de masa  $m$ , caracterizado por una temperatura  $T$  y para el cual la frecuencia acústica de corte  $N_{AC} = V_s / 2H$ , es la frecuencia abajo de la cual el número de onda ( $k^2$ ), es negativo y por lo tanto no existe propagación,  $H$  es la escala de altura en el medio.

La *frecuencia de Brünt-Vaisala*  $N_{BV} = \{g/T\}^{1/2}$  es la frecuencia natural de oscilación de un elemento de gas desplazado de su posición de equilibrio en un campo gravitacional  $g$ . En la siguiente tabla resumimos estas características:

**Tabla 1** Características de las ondas tipo  $p$  y  $g$  en el sol

CARACTERÍSTICAS	ONDAS $p$	ONDAS $g$
Tipo de movimiento	Longitud	Transversal
Fuerza restauradora	Presión	Gravedad
Magnitud característica	Velocidad de Sonido ( $V_s$ )	Frecuencia de Brünt-Vaisala
Propagación cuando	$\omega > V_s/H$	$\omega \leq \eta^2_{BV}$

<sup>1</sup> El sol es una enorme masa gaseosa principalmente formado por hidrógeno, con algunas migajas de la mayoría de los elementos químicos conocidos, incluyendo el helio observado durante los eclipses solares en las prominencias y en la cromósfera solar y finalmente descubierto en la tierra en el año de 1895 por el químico escocés Ramsay.

La detección de algunos modos de oscilación solares se puede lograr con facilidad por medio del *efecto Doppler* de la luz que viene del espectro solar. Las oscilaciones de presión son el resultado de las ondas (acústicas) atrapadas en el interior del sol entre dos regiones que actúan como *cavidad resonante*. Hacia el exterior, la superficie solar actúa como pared reflectora debido al fuerte gradiente en densidad que existe; la onda se refleja dirigiéndose hacia el interior del sol, pero a medida que la onda se propaga hacia adentro, sufre una refracción debido al aumento de la temperatura, llegando a un lugar en donde la onda se mueve horizontalmente. A partir de ese lugar, la onda se dirige nuevamente hasta la superficie, donde se repite el proceso.

Otros modos son causados por *variaciones del brillo de la luz* y medidos como fluctuaciones térmicas de la superficie solar. Las oscilaciones acústicas de 5 minutos (*ondas de presión*), que han sido estudiadas desde 1967, son oscilaciones de gran amplitud y se manifiestan con facilidad en las mediciones de los *espectros de potencia, tanto temporal, como espacial*.

Las llamadas *ondas de gravedad*, son perturbaciones que sufre la atmósfera en contra de la acción del campo gravitacional. Estas ondas se manifiestan con movimientos de tipo *transversal* en donde el campo gravitacional actúa como fuerza restauradora; la frecuencia de *Brint-Vaisala* es la magnitud característica de esta onda. Habrá propagación cuando la potencia de la onda sea menor que el cuadrado de esta frecuencia característica. En el caso de la atmósfera de la tierra, por ejemplo, estas ondas se manifiestan a escala global como ondas que se propagan alrededor de los polos produciendo algunos efectos climáticos que forman las condiciones imperantes durante el invierno en las regiones de latitudes arriba de los 30 grados, y que reciben el nombre de "vaguadas polares".

### EL MISMO CASO PERO AHORA EN COORDENADAS POLARES

Para el caso de una geometría esférica que se acerca un poco

más a la configuración del sol o de una estrella, la aproximación lineal de la solución de la *ecuación de onda* para pequeñas perturbaciones se expresa como el producto de una *parte que depende únicamente de la posición (r)*, otra *parte que depende de los ángulos (θ, φ)* y otra *parte que depende del tiempo*, por lo que la solución al sistema de ecuaciones la expresamos como sigue:

$$D^2 \underline{r} = U(\underline{r}, \theta, \phi) e^{i st} = F(\underline{r}) Y_{m_l}(\theta, \phi) e^{i st}$$

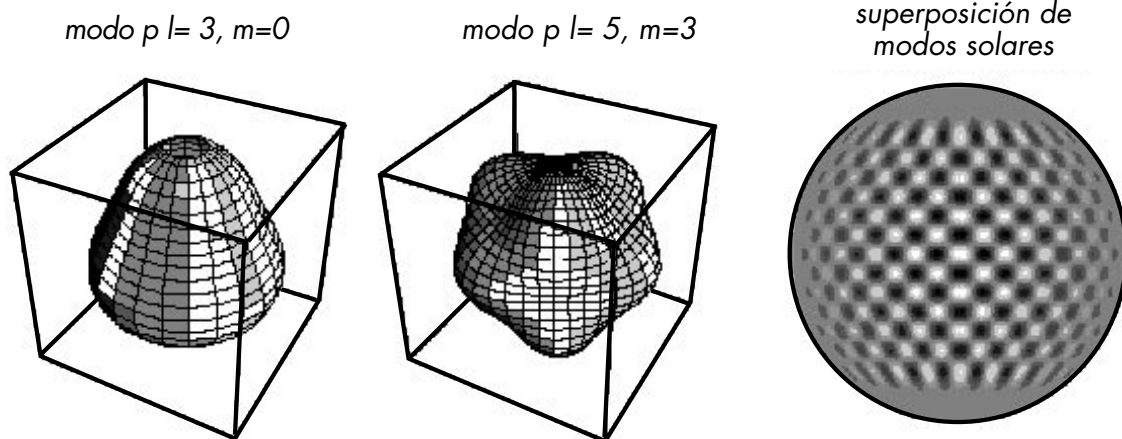
en la cual la dependencia del tiempo  $e^{i st}$  está dada por una solución periódica (del tipo  $\sin[\omega t]$ ); \*  $s = \omega^2$  es el cuadrado de la frecuencia de oscilación;

- $F(\underline{r})$  es una función que depende únicamente de la posición;
- $Y_{m_l}(\theta, \phi)$  es el armónico esférico que es función de los ángulos  $(\theta, \phi)$  del sistema,
- en donde el índice  $m$  es el orden del armónico y representa el número de nodos en la dirección radial;
- el índice  $l$  es el grado del armónico y representa el número de nodos en la superficie en dirección horizontal.

Mostramos a continuación un diagrama de algunos modos de oscilación bajo estas condiciones (tomados de <http://apwww.stmarys.ca/~quenther/quenther.htm>):

Es decir, podemos identificar que hay regiones en la atmósfera del sol (y de las estrellas) para las cuales pueden ocurrir los dos distintos *modos de oscilación*, caracterizadas por los correspondientes índices  $m$  y  $l$ .

Las oscilaciones que ocurren en el Sol y las estrellas son en realidad una mezcla de un gran número de estos modos, por lo que la tarea de los investigadores en este campo de la ciencia, es la de deducir la información física y la estructura interna de estos astros, a partir del *conocimiento empírico obtenido* de las distintas frecuencias observadas, de los *métodos matemáticos* a disposición, así como la información de las distintas regiones de donde se origina el proceso resonante.



**Figura 2.** Modos de oscilación en simetría esférica

## INFORMACIÓN DE LOS DISTINTOS TIPOS DE ONDAS

- a. La energía del movimiento ondulatorio que ocurre en algunas regiones de la atmósfera del sol y de las estrellas puede aumentar continuamente hasta que finalmente se disipa en forma de calor y/o energía mecánica.
- b. En otras regiones, el movimiento ondulatorio se atenúa, disipando su energía, de modo que no tenemos ningún tipo de información asociada a estos movimientos.
- c. Finalmente, en aquellas regiones en donde la onda queda 'atrapada' en una *cavidad resonante*, su comportamiento queda descrito por el análisis que hemos hecho arriba y es para estos casos de donde podemos obtener información de gran interés, debido a la comunicación que existe entre las diferentes regiones del interior solar. La onda producida en algún lugar de la atmósfera solar se *refleja* entre dos regiones definidas: una *zona interior* que queremos conocer y otra *zona exterior* que pueda ser observada. El análisis teórico de los posibles modos de oscilación, nos indica varias cosas:
  - Cuando observamos ondas de *modo-p*, con *grado pequeño*, podemos obtener información del mismo *núcleo del Sol*, (para  $l \leq 3$ , la onda puede penetrar hasta el mismo centro del sol).
  - Hacia el exterior, sólo podremos observar aquellas ondas que se *reflejen en la parte alta de la zona convectiva o en la fotosfera*. Esto ocurre para los *modos-p* con *periodos mayores de 3 minutos y valores pequeños de grado l*. Las *oscilaciones de 5 minutos* es el caso preciso de estas ondas que han podido ser muy estudiadas debido a la amplitud relativamente grande que tienen.

En la realidad, el sol (y las estrellas), pueden oscilar con varios miles (o millones) de modos de pulsación, por lo que podemos ver la gran importancia que tienen estos estudios, tanto desde el punto de vista teórico, como desde el campo observacional, para determinar con precisión y sin ambigüedades las propiedades que tienen estos objetos estelares. De esta forma, podemos modelar no sólo a partir de los parámetros globales como la Luminosidad total, la Temperatura superficial, la Masa, el Campo Gravitacional, y otros, sino tomando en cuenta nuevas restricciones que obtenemos a partir de la nueva información de las variaciones del Sol y de las estrellas.

### MÉTODOS Y TÉCNICAS DE OBSERVACIÓN

Continuando con el sol, los métodos más usados para el estudio de las ondas son:

- La *espectroscopia* que utiliza el *método de dispersión resonante* con la línea del doblete del Sodio Na D1 en 5,890-5,896 Å (como se hizo en las primeras medidas en el Polo Sur en 1979-80), ó la línea del Potasio K1 en 7,699 Å y

- La *fotometría* que estudia las oscilaciones de la atmósfera, ya sean globales y/o localizadas en alguna región pequeña de la atmósfera, cosa que es posible hacer por la cercanía de nuestro astro.

En el *método de dispersión resonante* se compara la línea del Sodio Na D1 (o la del Potasio K1) observada en el sol, con la misma línea en el laboratorio, midiendo con mucha precisión la diferencia entre estas longitudes de onda. Con este método, podemos medir velocidades de aproximadamente 10 km/seg y oscilaciones con una precisión de unos pocos cm/seg. Es posible mejorar esta precisión trabajando dentro de una campaña de varios días consecutivos, pudiendo medir cambios del orden de pocos mm/seg.

Por *métodos fotométricos* se utilizan instrumentos para medir las fluctuaciones globales de la intensidad del sol. Con estas técnicas, podemos detectar cambios muy pequeños (del orden de unos *pocos millonésimos de la intensidad del disco del sol*). Ambas técnicas se utilizan en la actualidad, tanto en redes sobre la superficie terrestre, como con los satélites y sondas espaciales.

### EXTENSIÓN A LA SISMOLOGÍA ESTELAR

Pocos meses después de la exitosa observación de la estación del Polo Sur en 1979-1980, varios astrónomos estelares se dieron a la tarea de tratar de determinar de manera experimental las posibilidades de medir oscilaciones similares a las aquí descritas para algunas estrellas brillantes.

La similitud y las enormes diferencias aparecieron de inmediato:

- El flujo luminoso entre el sol y las estrellas (aún las más brillantes), es de muchos órdenes de magnitud.
- La observación de las estrellas requiere de condiciones e instrumentos especiales que deben ser considerados desde el diseño mismo de los instrumentos.
- Se requiere asegurar la continuidad de las observaciones.
- Para modelar el interior de las estrellas nos hace falta conocer otros parámetros poco conocidos para algunos tipos de estrellas.

### EL PROGRAMA STEPPI—FOTESI

Un grupo de investigadores mexicanos y franceses, consideramos que la técnica más adecuada para lograr nuestros propósitos observacionales sería la de utilizar la *fotometría diferencial continua* para determinar las pulsaciones en algún tipo particular de estrellas variables.

Bajo estas condiciones, un grupo de investigadores del Observatorio de Paris-Meudon, diseñaron y construyeron un fotómetro de tres canales para observar simultáneamente la luz de dos o tres estrellas en un campo relativamente pequeño del cielo, con el fin de medir con mucha precisión y de manera simultánea la luz

emitida por varios objetos; al menos una *estrella variable* y una o dos estrellas cuyo comportamiento se supone *es constante*, de manera que al analizar su comportamiento, podemos determinar las frecuencias de pulsación de la *estrella variable* para la que queremos determinar sus propiedades.

Desde el inicio del programa tomamos la decisión de trabajar con un grupo de estrellas del tipo  $\delta$ -Scuti, por varias razones:

- A partir de observaciones y estudios previos, conocemos que muchas de ellas son multiperiodicas; es decir, tienen un periodo principal relativamente bien conocido (del orden de algunas decenas o centenas de minutos), y además, muestran un comportamiento particular que asegura la presencia de otros periodos de pulsación que queremos medir.
- Además, existen modelos de la distribución de la atmósfera de algunas de estas candidatas, basados en el conocimiento de los parámetros globales de la estrella. La información que obtengamos permitirá mejorar sustancialmente el conocimiento de su interior, dándonos nuevos elementos para mejorar los modelos de estas interesantes estrellas.

### LA RED DEL PROGRAMA FOTESI-STEPHI

Para asegurar la continuidad (temporal) de las observaciones, establecimos una *red de tres observatorios*, localizados estratégicamente alrededor de la tierra. Estos observatorios son el Observatorio de San Pedro Mártir (31.0 N, 115.5 W) en Baja California, México, el Observatorio de Teide (28.2 N, 16.4 W) en las Islas Canarias, España, y la estación de Observación de

Xing-Long (39.5 N, 116.2 E), en Beijing, China. Como podemos ver de la figura, con estos observatorios, logramos el cubrimiento necesario para nuestro propósito.

Por la diferencia de horas que existe entre estos tres observatorios, nos aseguramos de medir en forma continua durante las 24 horas la intensidad luminosa de nuestras estrellas durante los meses del invierno y aproximadamente el 85% del tiempo en los meses del verano. La experiencia nos ha dado un cubrimiento real entre el 60% y el 70%, incluyendo ya las condiciones del clima en los tres observatorios que deben ser siempre las mejores para llevar a cabo este experimento.

Esto elimina casi de manera total la *ventana de observación* que es una seria limitación cuando observamos desde un solo observatorio. Mostramos en la siguiente figura, el *espectro de frecuencia* de la *ventana de observación* en donde comparamos esta ventana de observación para uno, dos y los tres sitios de la red.

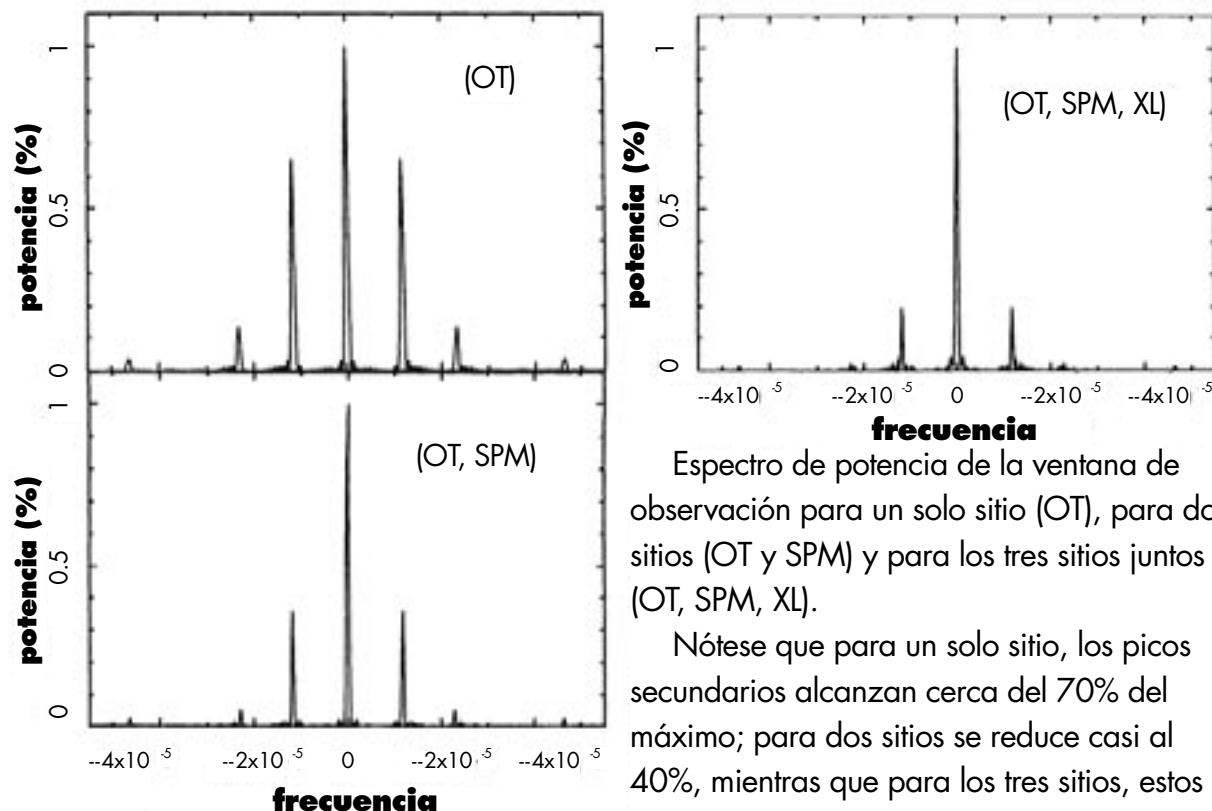
En este diagrama, cuando consideramos el Observatorio de Tenerife (OT), además de la señal que buscamos (con el 100% de la intensidad relativa), aparecen *picos secundarios* a ambos lados, que tienen una intensidad relativa cercana al 70% de la señal principal; cuando consideramos dos lugares (OT, SPM), la señal de los dos picos secundarios disminuye hasta casi el 40% de la señal que deseamos medir; finalmente, si tenemos los tres sitios de la red (OT, SPM, XL), entonces la señal secundaria disminuye todavía más, alcanzando alrededor del 20% de la intensidad que queremos determinar, asegurándonos de esta manera, la precisión necesaria para la determinación de las frecuencias y amplitudes de las estrellas.

### PRIMERAS OBSERVACIONES

**Figura 3.** Localización geográfica de los tres observatorios del programa FOTESI-STEPHI.



**Figura 4.** Espectro de potencia de la “ventana de observación” para uno, dos y tres sitios



Espectro de potencia de la ventana de observación para un solo sitio (OT), para dos sitios (OT y SPM) y para los tres sitios juntos (OT, SPM, XL).

Nótese que para un solo sitio, los picos secundarios alcanzan cerca del 70% del máximo; para dos sitios se reduce casi al 40%, mientras que para los tres sitios, estos picos secundarios son cercanos al 20%.

Iniciamos nuestro trabajo en el mes de junio de 1987, observando una estrella variable de la constelación de Hércules; desde entonces hemos llevado a cabo 14 exitosas campañas de observación y reducción de la información (cada año y medio aproximadamente), estudiando estrellas de los cúmulos de las Pleiades, así como del cúmulo de Perseo, además de algunas otras estrellas que hemos considerado de gran interés para su estudio. En la Tabla 2 señalamos las estrellas que hemos observado en el programa, así como la fecha de las observaciones.

Tomamos estrellas relativamente brillantes para lograr nuestros objetivos, puesto que requerimos el mayor flujo de luz posible. Con el mismo propósito, utilizamos telescopios de tamaño intermedio (1.5 m en México y en España, y 2 m en China) y observamos desde los mejores lugares sobre la superficie de la tierra. Durante todas las temporadas hemos recibido el apoyo decidido de los observatorios e institutos de investigación en donde trabajamos y tanto el CONACYT en México, el CNRS en Francia, la DGICYT de España y la Academia de Ciencias de China, nos han brindado un apoyo decidido durante este proyecto de larga duración en el que estamos involucrados además de los

observadores, el equipo técnico de los observatorios sin los que la exitosa operación que hemos tenido, hubiera sido aún más difícil de lograr.

#### EL INSTRUMENTO UTILIZADO

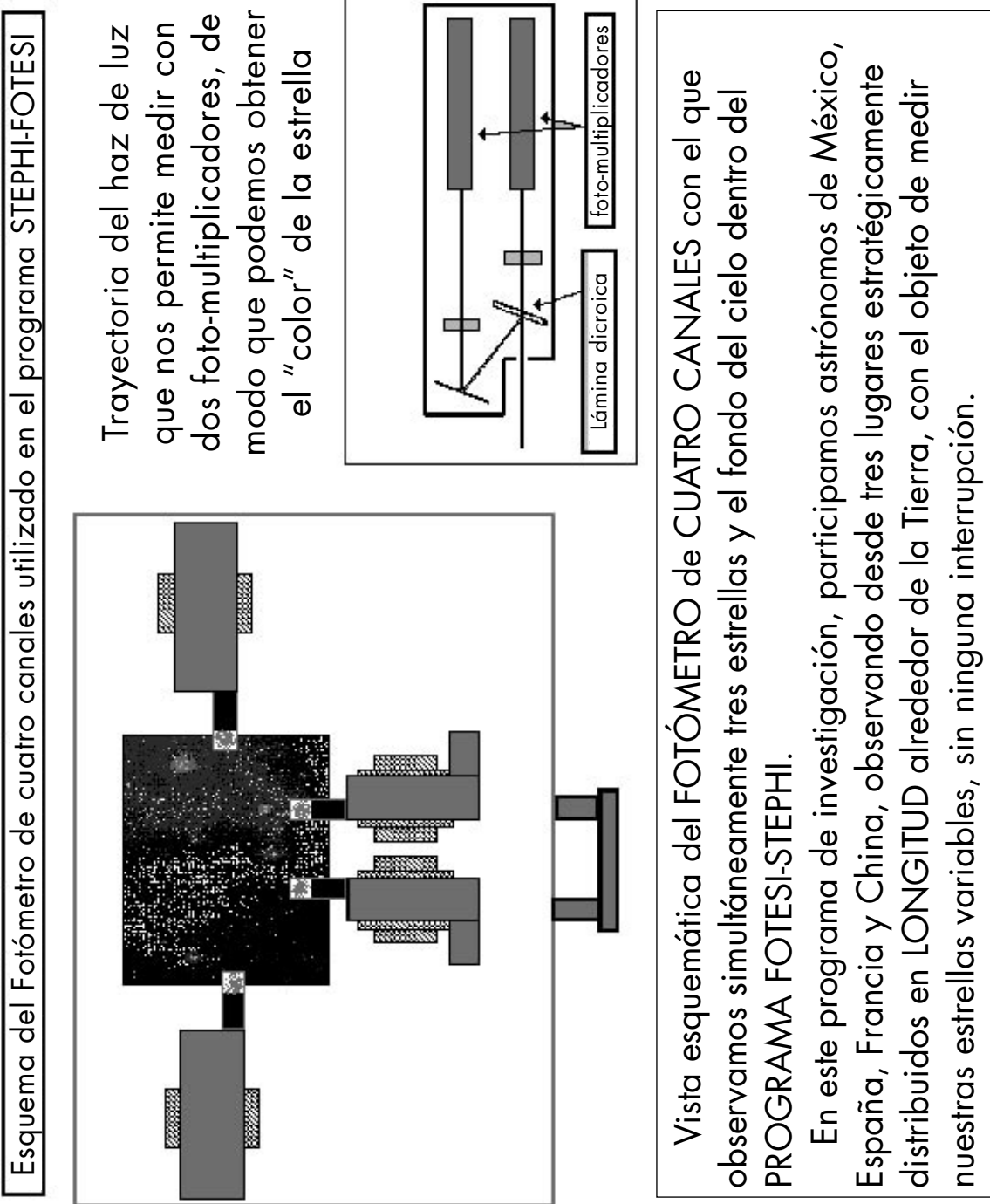
En la Figura 5, mostramos el esquema del fotómetro que actualmente utilizamos. El instrumento originalmente diseñado con tres canales ha evolucionado y en la actualidad tiene cuatro fotomultiplicadores de un solo canal para medir con un filtro en una longitud de onda del visible ( $\lambda = 5,000 \text{ \AA}$ ).

Próximamente, a partir de un primer prototipo ya en operación, mediremos en dos filtros simultáneamente en todos los instrumentos de la red. Este instrumento, junto con la electrónica de control y guiado, está construido dentro de un pequeño maletín de viaje de fácil transporte y adaptación a los telescopios de los tres observatorios desde donde trabajamos.

La información obtenida en cada observatorio es amplificada electrónicamente y registrada en una computadora para su análisis posterior después de unir la información de toda la red.



**Figura 5.** Esquema del fotómetro utilizado en la campaña FOTESI-STEPHI



**Tabla 2.** Campañas de observación en el programa FOTESI-STEPHI

Temp. STEPHI	Fecha Observ.	Estrellas observadas	num. freqs.	período MAX. (horas)	período MIN. (horas)	amplitud máx. (mmag)	Referencias principales relacionadas con el programa STEPHI
I	06/87	63 Her HD 155514 (6.2 - A8V) HD 155543 (6.95 - F2V)	8 §	6.00	0.92	7.50	Belmonte <i>et al.</i> , 1991 Belmonte <i>et al.</i> , 1990
II	06/87	GX Peg HD 213534 (6.3 - A5m)	8	1.49	1.16	1.00	Michel <i>et al.</i> , 1992
III	11/90	V650 Tau HD 23643 (7.8 - A3V)	4	1.41	0.74	5.56	Suárez J.C., <i>et al.</i> , 2002, Michel <i>et al.</i> , 1997
IV	02/92	BU Cnc HD 73576 (7.6 - A7Vn)	6	2.45	1.21	2.90	Belmonte <i>et al.</i> , 1994-a  Belmonte <i>et al.</i> , 1994-b
		BN Cnc HD 73763 (7.8 - A9V)	5	1.05	0.85	2.70	
		KW284 HD 73712 (6.8 - A9V)	1+1	4.0*	3.39	3.0	
V	09/93	VW Ari HD 15165 (6.7 - A3)	8	3.85	1.77	22.0	Liu <i>et al.</i> , 1996
VI	02/95	BQ Cnc HD 73729 (8.2 - F2Vn)	3	2.03	1.38	2.50	Alvarez <i>et al.</i> , 998
		BW Cnc HD 73798 (8.5 - FOVn)	9	4.07	0.77	2.40	
VII	02/96	BS Cnc HD 73450 (8.6 - A9V)	3	1.55	0.70	6.10	Hernández <i>et al.</i> , 1998,a b
		BT Cnc HD 73575 (6.66 - FOIII)	2	3.42	2.45	10.60	
VIII	11/97	V647 Tau HD 23607 (8.26 - A7V)	7	1.28	0.63	3.27	Liu Y.Y., <i>et al.</i> , 1999
IX	11/98	V534 Tau HD 23567 (8.30 - A9V)	9	1.55	0.53	2.09	Li Z.P., <i>et al.</i> , 2004
		HD 23628	6	2.20	0.74	1.37	Li Z.P., <i>et al.</i> , 2002
X	12/99	v624 tAU hd 23156 (8.22 - A7V)	7+2	1.28	0.52	1.50	Fox-Machado L. <i>et al.</i> , 2002
		HD 23194 (8.07 - A5V)	2+2	0.72	0.48	2.00	Fox-Machado L. <i>et al.</i> , 2002
* Arentoft <i>et al.</i> (1998), encuentra que para la estrella KW 284 HD 73712, el periodo de 4.0 horas (que es un múltiplo exacto de 1 día), desaparece en el ruido.							
§ Belmonte y compañeros encuentran que la estrella HD 155543 de tipo espectral F2V, muestra oscilaciones con periodos alrededor de 5 a 10 minutos como en el Sol							
Hemos continuado con el programa de observación y quedan por analizar y reducir los datos de otras temporadas efectuadas en 2001 (HD 107855 y HD 107533), en 2002 (de nuevo V534 Tau) en 2003 (QT Ser) y en 2004 (HD 172365 y HD 172189).							

## PROCEDIMIENTO DE OBSERVACIÓN

Por razones del diseño del propio instrumento, se deben cumplir algunos requisitos que señalamos a continuación:

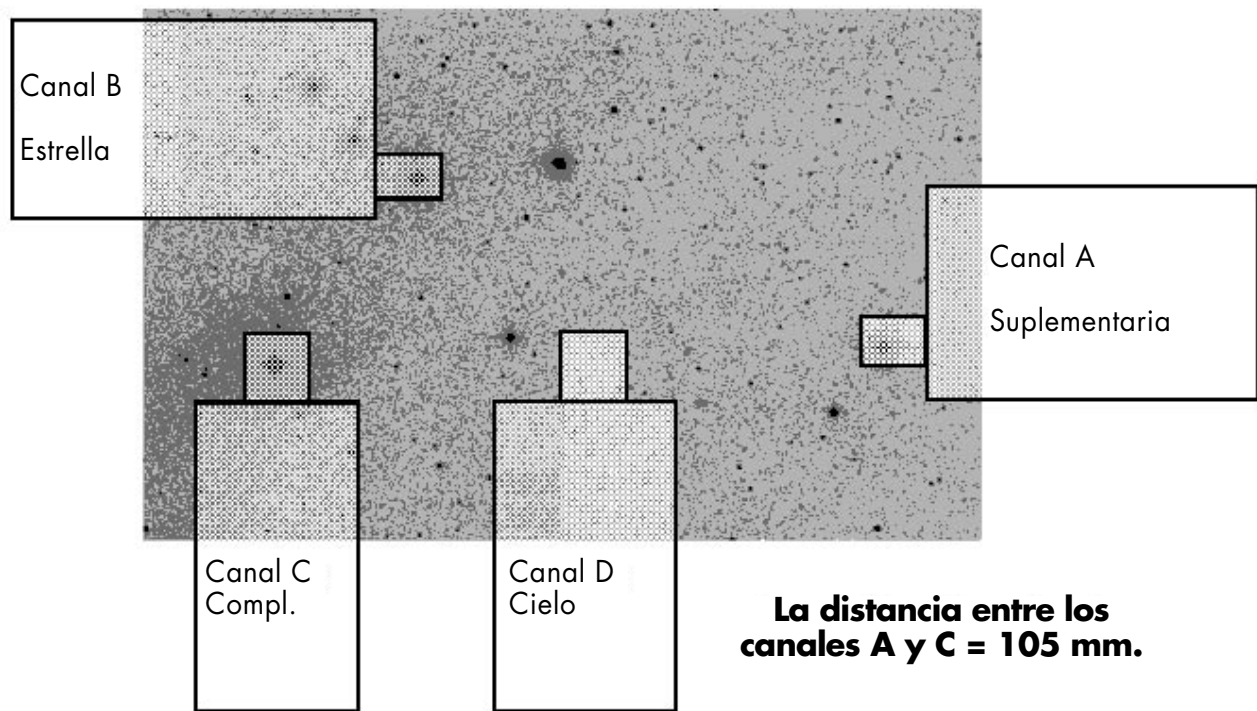
- El grupo de estrellas a observar deben estar dentro de un campo pequeño (menor de 15 minutos de arco), y deben ser de tipos espectrales similares.
- Debemos asegurarnos que una de las estrellas a observar sea variable y que también (al menos), otra de las estrellas sea constante, para poder comparar nuestras mediciones con suficiente precisión.
- Además, puesto que este es un programa en el que están involucrados astrónomos de diversos países, debemos coordinar nuestro trabajo con detalle y anticipación; esta época moderna de la comunicación por medios electrónicos, nos ha facilitado muchos aspectos de este trabajo.

Al inicio de la temporada, colocamos los brazos del fotómetro para apuntar a las estrellas que queremos observar y después de un ajuste fino en el propio telescopio, procedemos a medir simultáneamente en los cuatro canales, obteniendo el valor de la intensidad de las tres estrellas medidas y del fondo del cielo cada 10 segundos.

La duración típica de nuestras campañas de observación ha sido de tres semanas en donde la participación y el esfuerzo continuo y dedicado de un equipo internacional ha permitido mejorar el conocimiento que tenemos de estas estrellas.

En la Figura 7 mostramos (como ejemplo) las curvas obtenidas en la temporada FOTESI-STEPHI de 1992, para tres estrellas del cúmulo de Perseo en la constelación del Cangrejo, las dos estrellas variables: BU Cnc (HD 73576) y BN Cnc (HD 73763) y la estrella de comparación HD 73712. En este ejemplo, se observa con claridad la curva debida a la extinción de la atmósfera

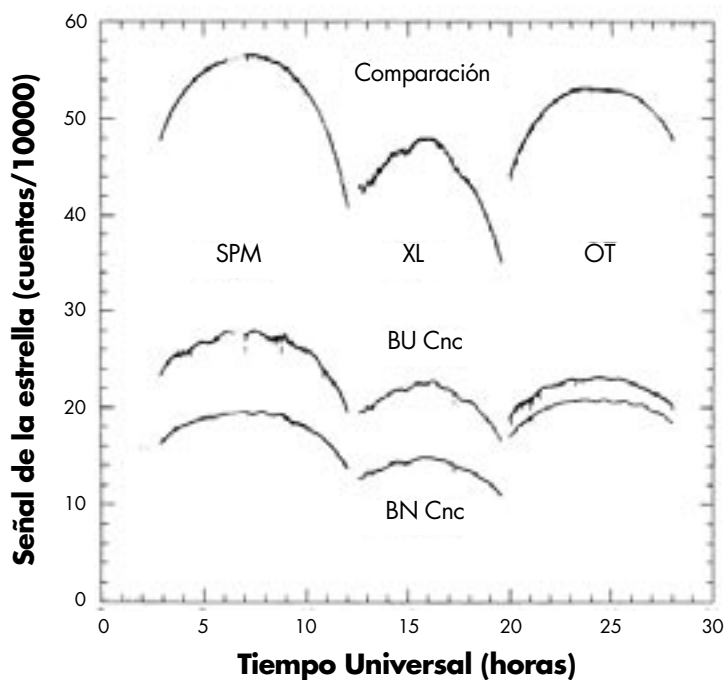
**Figura 6.** Distribución de los brazos del fotómetro en el campo de observación



**El maletín de mano se fija al telescopio con la manija en la dirección ESTE.**

**El campo estelar nos muestra la posición de los fotomultiplicadores sobre las estrellas que se observarán por tres semanas consecutivas desde tres observatorios estratégicamente ubicados alrededor de la Tierra.**

**Figura 7.** Curvas de luz obtenidas en los observatorios del Programa FOTESI-STEPHI.



Curvas de luz obtenidas en los tres observatorios de San Pedro Mártir en Baja California (SPM), en la estación de XIN-LONG en Beijing, China (XL) y en el Observatorio de Tenerife en las Islas Canarias, España (OT), para las tres estrellas del programa STEPHI-FOTESI de 1992. La parte superior es la estrella de comparación HD 73712 y las otras curvas corresponden a las estrellas variables BN Cnc - HD 73763 y BU Cnc - HD 73576.

y se puede apreciar la pequeña variabilidad de las dos estrellas (especialmente en BU Cnc), mientras que la constante no muestra ningún cambio aparente durante cada noche.

#### PROCEDIMIENTO DE REDUCCIÓN DE DATOS

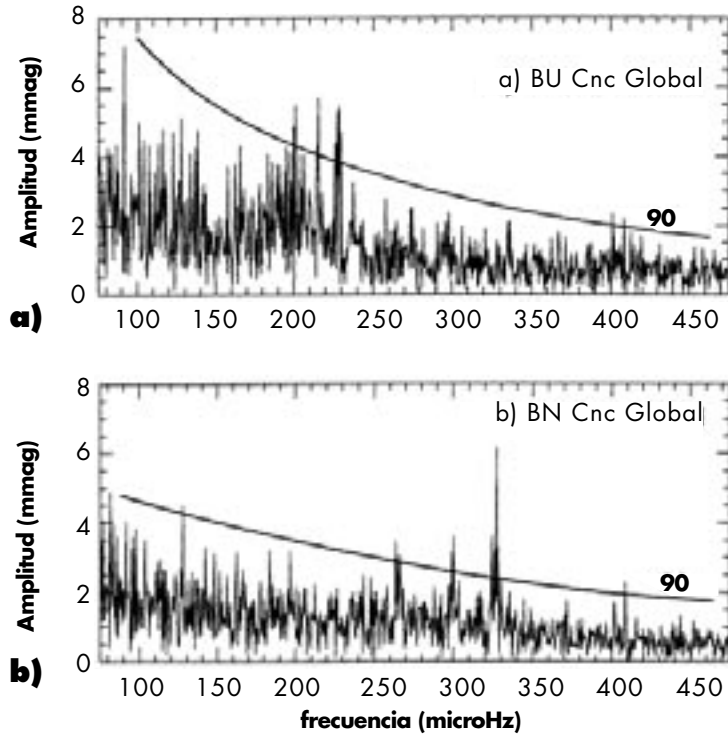
Con el fin de entender el procedimiento de la reducción de los datos, mismo que está descrito en los trabajos originales ya publicados en revistas de investigación y presentados en congresos y reuniones de trabajo, damos un breve resumen del mismo.

- El primer paso que hacemos para la reducción de la información es el de obtener la curva de la intensidad de la estrella fuera de la atmósfera, aplicando el coeficiente de extinción que resulta de nuestras propias mediciones de la estrella constante, y que aplicamos a la(s) estrella(s) variable(s).
- Como señalamos arriba, la fotometría diferencial continua que utilizamos al medir simultáneamente tres o más estrellas, facilita notablemente este primer paso.
- Posteriormente unimos la información de los tres observatorios, con el fin de obtener una cadena de datos lo más completa, homogénea y larga posible.
- Enseguida aplicamos alguno de los métodos de análisis de transformada de Fourier y de ese modo obtenemos el espectro de potencia de nuestra señal.
- Con el cual determinamos las frecuencias y las amplitudes de la señal periódica que se presenta en la superficie de la atmósfera estelar.
- En este paso, determinamos la frecuencia con mayor amplitud, misma que sustraemos del cuerpo de datos.

Continuamos con este proceso iterativo y mediante el mismo procedimiento obtenemos una a una las demás frecuencias y sus amplitudes hasta que la señal que queda de la estrella se confunde con el ruido y ya no podemos obtener más información útil.

- En la Figura 8 reproducimos el espectro de potencia obtenido para las dos estrellas BN Cnc y BU Cnc observadas en 1992. Podemos ver un comportamiento diferenciado en estas dos estrellas:
  - Las señales arriba de la línea continua representan a las frecuencias con un grado mayor al 90% de confianza de que dicha señal provenga de la estrella que observamos.
  - Para BU Cnc los picos que sobresalen a la curva de confianza del 90%, se encuentran localizados un rango pequeño entre 190 y 230 microHz, y alrededor de los 400 microHz, hay otros dos picos de pequeña amplitud, los que efectivamente desaparecen durante el análisis matemático. Para esta estrella, encontramos además dos frecuencias muy cercanas entre sí que se hallan en los límites teóricos para su determinación. Al aplicar técnicas especiales para su análisis, finalmente pudimos determinar que sí corresponden a modos de oscilación de la estrella.
  - Para BN Cnc, las frecuencias de pulsación parecen encontrarse en otro rango diferente —entre 260 y 330 micro\_Hz— aunque en la figura 7 podemos ver que hay un pequeño pico (posible frecuencia) a 130 microHz, y otro alrededor de los 400 microHz, encontramos en el análisis, que finalmente tampoco fueron significativos.

**Figura 8.** Espectro de frecuencias de BU Cnc y de BN Cnc en 1992.



Espectro de frecuencias de BU Cnc (arriba) y de BN Cnc (abajo), en donde vemos que para BU Cnc las frecuencias de oscilación se encuentran localizadas entre 200 y 230 microHz, mientras que para BN Cnc, las frecuencias están repartidas en un rango mucho mayor que cubre desde 260 hasta 330 microHz.

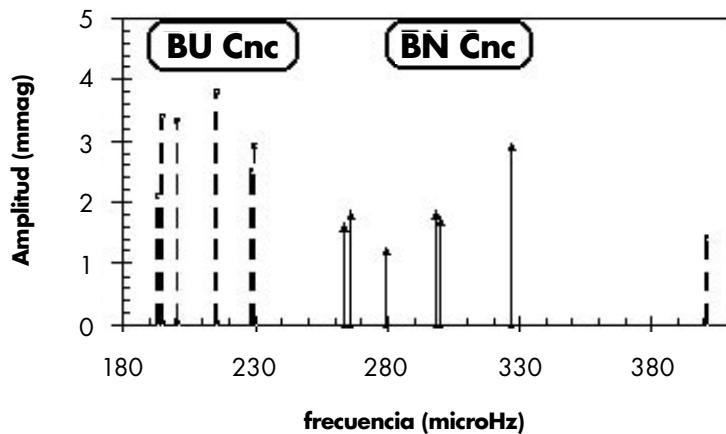
El trazo continuo con número, significa el grado de confianza que nos dan las posibles frecuencias que salen arriba de la señal “ruidosa” del espectro de la estrella.

\* La Figura 9 que mostramos a continuación, nos muestra la amplitud de la oscilación para las seis frecuencias de las dos estrellas BU Cnc y BN Cnc, encontradas en nuestro estudio, que mostramos aquí.

Para asegurarnos que las frecuencias encontradas sean características de las estrellas independientemente del método usado, utilizamos por lo general cuando menos dos métodos distintos, mismos que ya hemos probado en varias ocasiones, con diversas estrellas.

Nuestros resultados nos dan nuevos elementos que, junto con las características globales y evolutivas de las estrellas las utilizamos para modelar su estructura interna.

**Figura 9.** Espectro de las oscilaciones de BU y BN Cancri en 1992.



Espectro de las oscilaciones de BU (línea punteada) y de BN Cnc (sólida), obtenidas en FOTESI-STEPHI IV en 1992.

Se utilizaron dos métodos, CLEAN e ISWF, obteniéndose una credibilidad de más de 90% en el análisis de los resultados.

Para cada caso tenemos situaciones diferentes, por lo que aplicamos, además del conocimiento matemático, el criterio más adecuado para aprovechar al máximo la información que nos dan nuestros datos experimentales. Para algunas estrellas, encontramos que las frecuencias de oscilación están concentradas en rangos pequeños del espectro, mientras que en otros, las oscilaciones cubren un rango mucho mayor.

Buscamos la mejor correlación entre los distintos parámetros de las estrellas y las frecuencias medidas; sabemos que es necesario tomar en consideración los efectos de rotación, de composición química, de edad, de duplicidad, de posibles campos magnéticos, así como de otros parámetros físicos para poder discernir entre estos aspectos. De esta forma, queremos obtener una mejor descripción de los fenómenos asociados con estas estrellas y poder aplicar posteriormente estos criterios para otras estrellas y mejorar de este modo el conocimiento de las mismas.

### PRINCIPALES RESULTADOS OBTENIDOS EN EL PROGRAMA

La información que nosotros obtenemos a partir de este programa, es utilizada por el equipo teórico del grupo para asignar nuevos elementos observacionales en los cálculos que se hacen

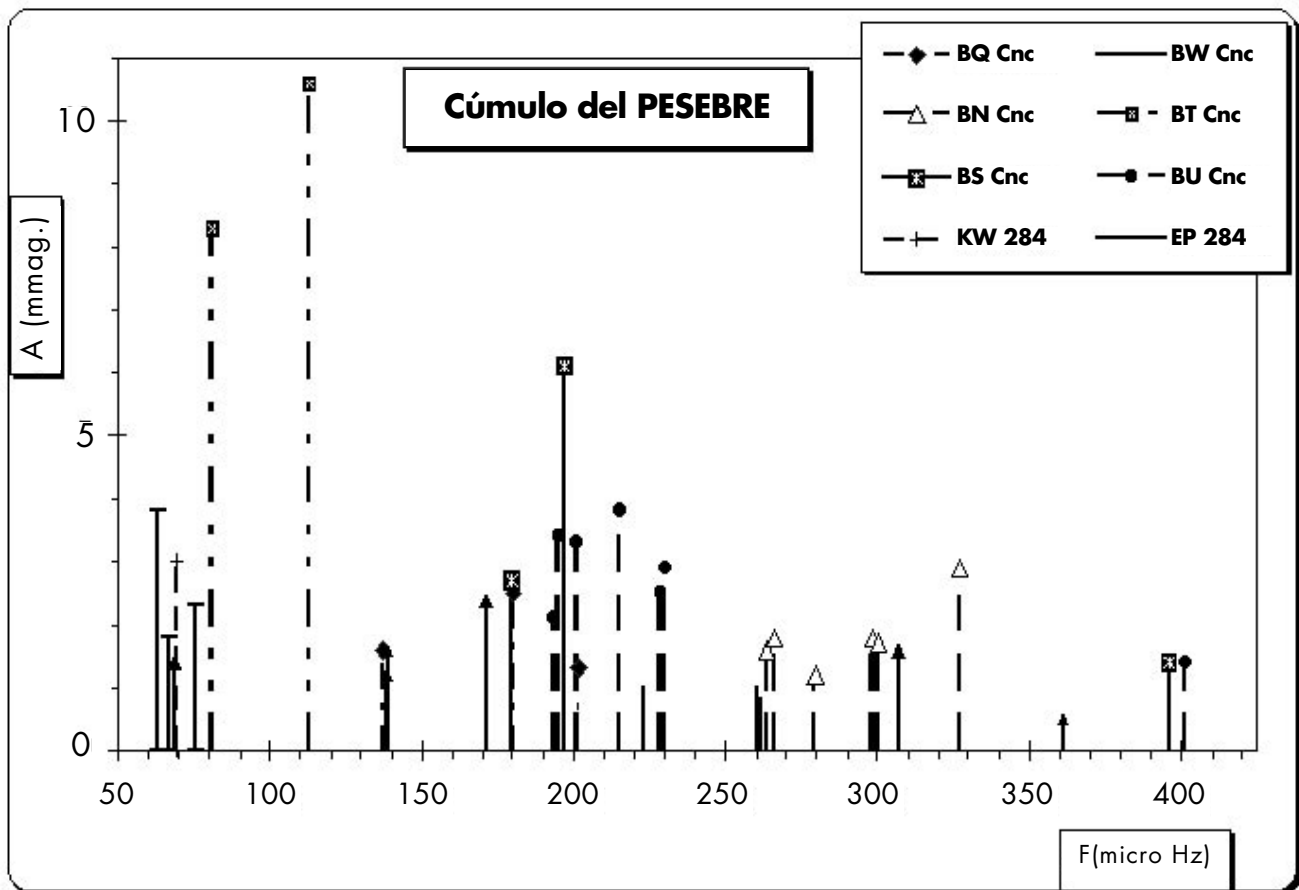
para determinar los parámetros que definen la distribución del interior de la estrella.

En las 14 campañas de observación hemos detectado entre dos y hasta nueve frecuencias de pulsación en las estrellas que estudiamos, principalmente en los cúmulos de Perseo y en las Pleiades. Decidimos observar estrellas  $\delta$ -Scuti en estos cúmulos, debido, entre otras cosas, a que todas las estrellas que los constituyen fueron formadas en la misma región y en tiempos similares, por lo que esperamos que la evolución de las estrellas del cúmulo nos facilite su comparación y entender mejor los procesos que le ocurren en sus componentes.

En la Figura 10 tenemos las frecuencias determinadas en las ocho estrellas observadas en el cúmulo del pesebre en la constelación del Cangrejo, y en la Figura 11 seis estrellas de la constelación de Tauro en el cúmulo de las Pleiades.

En las estrellas del cúmulo del Pesebre, vemos que BW Cnc oscila con nueve periodos en un rango que va desde 46 minutos hasta 4.1 horas, con una amplitud máxima de 2.4 mmag. BU Cnc muestra siete periodos entre los 42 minutos y 1.44 horas, con una amplitud máxima de 3.8 mmag. BN Cnc muestra seis periodos entre 51 minutos y 1.1 horas, con una máxima amplitud de 2.9 mmag. BQ Cnc al igual que BS Cnc muestran la presencia de sólo tres periodos, la primera entre 1.4 y 2.0 horas, mientras que la

**Figura 10.** Espectro de frecuencias de las estrellas observadas en el cúmulo del PESEBRE.



segunda los tiene entre los 42 minutos y 1.55 horas. BT Cnc oscila con dos periodos de 3.4 horas, y una amplitud de 8.3 mmag, y otro periodo de 2.4 horas, con una amplitud de 10.6 mmag.

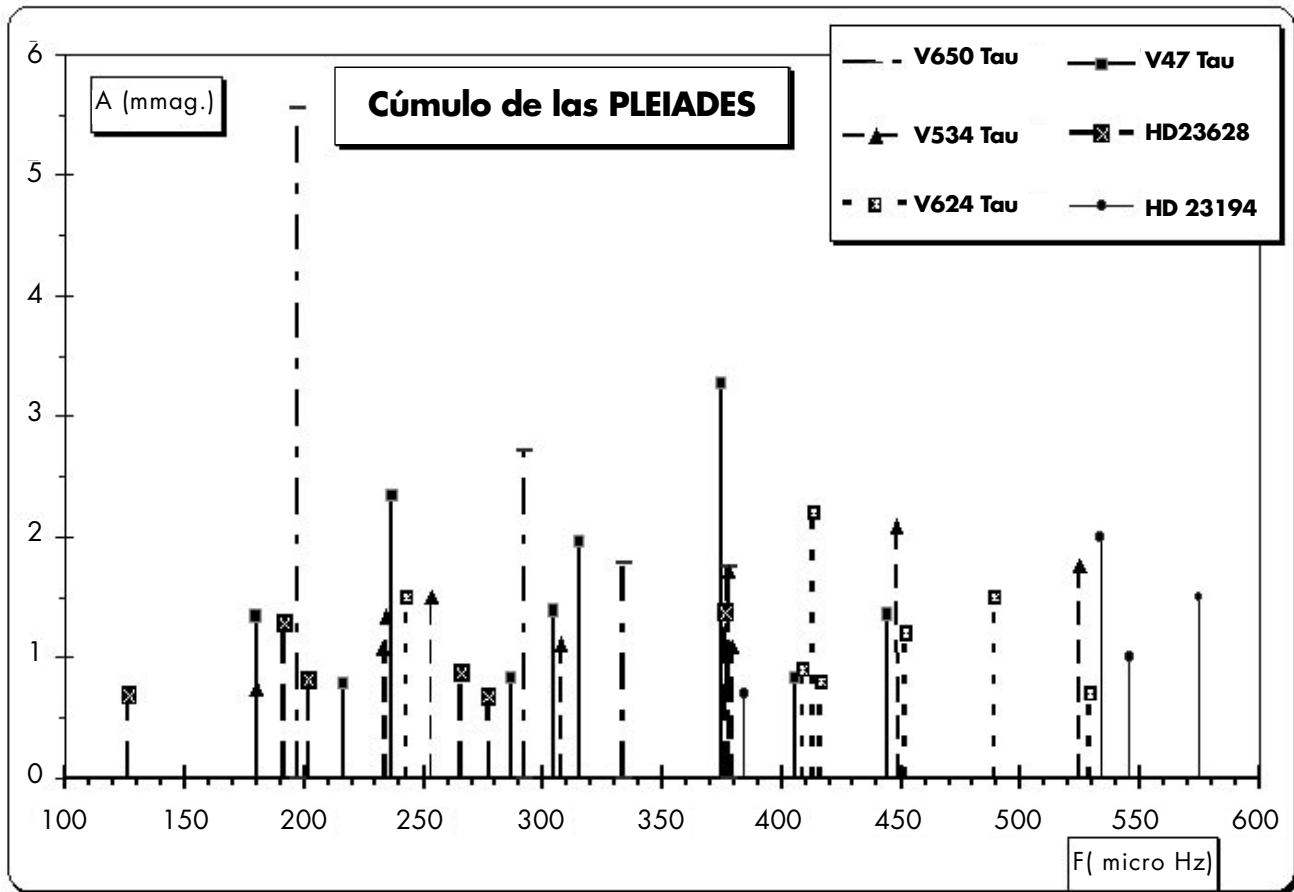
Durante la campaña STEPHI IV en 1992, detectamos que la estrella HD 73712 (KW 284) del cúmulo, muestra al menos, un periodo de 4 horas con una amplitud de 3 mmag. En la misma figura, mostramos los resultados de EP Cnc HP 73819, estrella que muestra 3 periodos entre 3.7 y 4.4 horas con una amplitud máxima de 3.8 mmag.

V 534 Tau muestra nueve periodos desde 32 min hasta 1.5 horas oscilaciones con amplitudes menores a 2.09 mmag. Junto con HD 23628 muestran un rango de periodos de más de una hora.

#### RANGO DE FRECUENCIAS

Agrupamos las estrellas observadas en tres categorías de acuerdo al rango de frecuencias observadas, para buscar la correlación que puede existir entre este rango y otras propiedades

**Figura 11.** Espectro de frecuencias de las estrellas observadas en el cúmulo de las PLEIADES.



Para el cúmulo de las Pleiades en la constelación de Taurus, todas las amplitudes son menores a 6 milimagnitudes, como podemos ver en la figura. La estrella HD 23194 recientemente reportada por Fox-Machado (2002), muestra cuatro periodos en un rango pequeño desde 29 a 43 minutos con una amplitud máxima de 2.0 mmag. V 624, reportada por el mismo autor, muestra nueve periodos con una amplitud máxima de 2.2 mmag. La estrella V 647 Tau, oscila con ocho periodos desde 37 minutos hasta 1.28 horas y con una amplitud máxima de 3.27 mmag, mientras que V 650 Tau, muestra tres periodos desde 40 min hasta 1.4 h y con una amplitud de 5.56 mmag. La estrella HD 23628 fue recientemente descubierta como variable tipo  $\delta$ -Scuti, y oscila con seis periodos desde 44 min hasta 2.2 h y con amplitudes menores a 1.37 mmag.

físicas, con el fin de determinar de manera estadística algunas propiedades.

En el cúmulo del Pesebre, las estrellas BQ Cnc, BN Cnc, BT Cnc, EP Cnc muestran un rango pequeño de frecuencias (menor a 60 microHz), lo mismo que a las estrellas HD 23628, HD 23194 del cúmulo de las Pleiades —dos de las frecuencias de estas dos estrellas están separadas entre sí por menos de 40 microHz, aunque ambas estrellas tienen otra frecuencia a más de 160 microHz.

Las estrellas BS Cnc y BU Cnc del Pesebre, muestran un rango de frecuencias del orden de 200 microHz, lo mismo que V650 Tau de las Pleiades.

Finalmente las estrellas BW Cnc del cúmulo del Pesebre, así como V 624 Tau, V 534 Tau y V647 Tau, tienen un rango de

**Tabla 3.** Rango de frecuencias en las estrellas observadas.

Rango de frecuencias en el cúmulo del PESEBRE											
RANGO PEQUEÑO			RANGO MEDIO			RANGO GRANDE					
Estrella	# frec.	micro Hz	Estrella	# frec.	micro Hz	Estrella	# frec.	micro Hz			
BQ Cnc	3	140-200	60	BQ Cnc	3	180-400	220	BW Cnc	9	70-360	290
				BU Cnc	7	195-410	215				
BN Cnc	6	260-330	70								
BT Cnc	2	80-110	30								
EP Cnc	3	60-80	20								
KW 284	1	65									

Rango de frecuencias en el cúmulo de las PLEIADES											
RANGO PEQUEÑO			RANGO MEDIO			RANGO GRANDE					
Estrella	# frec.	micro Hz	Estrella	# frec.	micro Hz	Estrella	# frec.	micro Hz			
HD 23628	2+1	190-375	10	V650 Tau	4	175-360	185	V624 Tau	7+2	210-650	440
								V534 Tau	7	250-520	270
HD 23194	2+2	380-575	35					V647 Tau	8	180-445	265
			185								
			195								

frecuencias mayor a 265 microHz.

#### FUTURO TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Gracias a nuestras observaciones de las estrellas de los Cúmulos de las Pleiades y del Pesebre, tenemos a nuestra disposición un grupo homogéneo de datos.

Hemos comenzado a utilizar esta información para revisar las frecuencias de pulsación teóricas que obtenemos a partir de los modelos.

En un trabajo presentado en un congreso científico, Fox-Machado (2001) y colaboradores hacen una comparación entre las frecuencias observadas y las calculadas por medio de modelos de la estructura de estas estrellas. De esta manera, nuestro trabajo de tipo observacional se utiliza en conjunto con las investigaciones teóricas en que participamos algunos miembros de nuestro equipo.

Es por supuesto bien conocido que necesitamos incluir en los modelos de las estrellas y su interior, los efectos de la rotación, de los campos magnéticos, de la composición química del interior de la estrella, de la edad de formación del cúmulo y otros

aspectos diversos.

Pero de la misma importancia es tener parámetros de comparación como los que podemos obtener de este experimento en el que a lo largo de un poco más de tres lustros hemos trabajado un equipo internacional y multidisciplinario de astrónomos y técnicos mexicanos, franceses, españoles y chinos.

Actualmente están en proceso de análisis los datos obtenidos en las temporadas FOTESI—STEPHI XI de 2001, donde comenzamos a estudiar el cúmulo de Coma Ber, con resultados previos aún pendientes; la temporada XII de 2002 fue poco exitosa desde el punto de vista observacional, con múltiples problemas instrumentales y asociados con el clima, FOTESI XIII en el 2003, fue dedicado a observar una estrella candidata para un programa espacial llamado COROT<sup>2</sup> y la información está siendo analizada; el año de 2004, FOTESI XIV, observamos otra estrella candidata del mismo programa COROT<sup>2</sup> y los resultados serán pronto publicados por nuestro grupo de investigación.

#### APOYOS RECIBIDOS

Para llevar a cabo estos trabajos hemos recibido el apoyo deci-

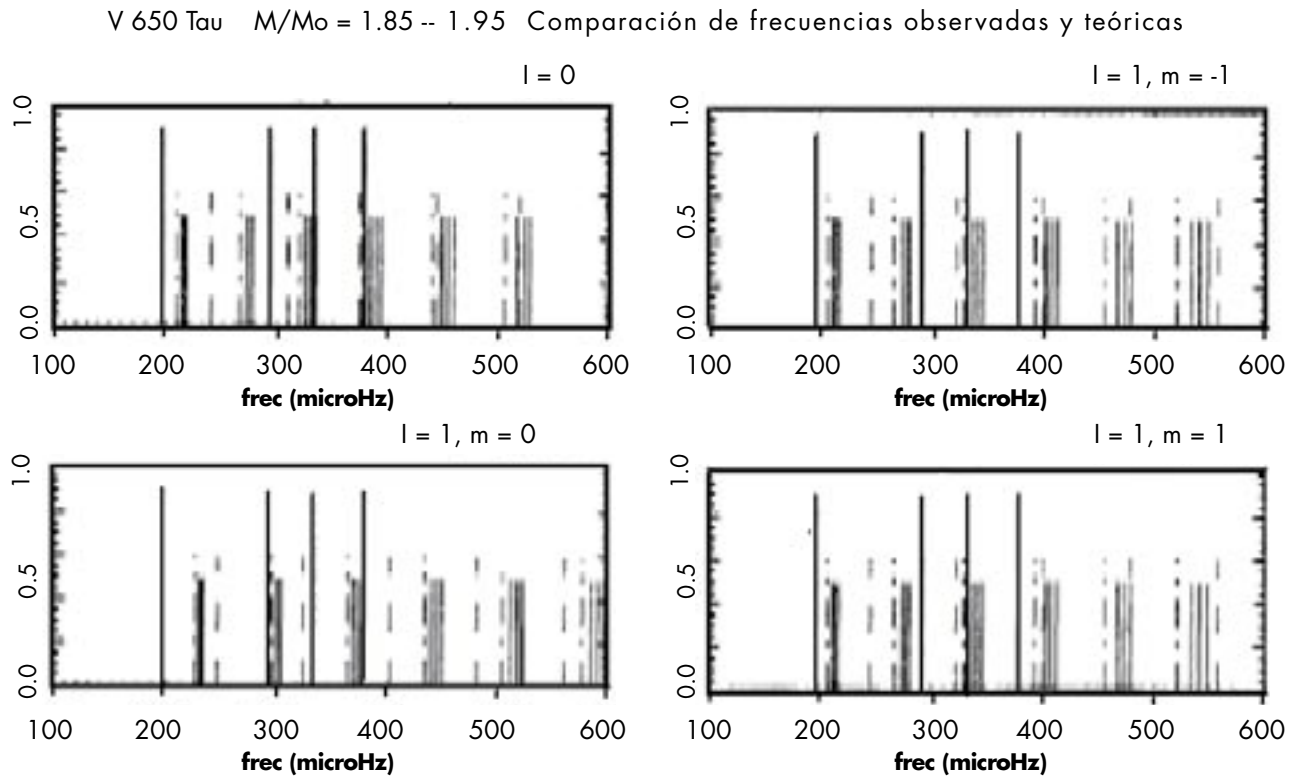
<sup>2</sup> COROT (Convection Rotation and Planetary Transits Space), misión espacial aprobada por la Agencia Espacial Francesa, con la participación de Austria, Bélgica, Brasil, Alemania, España, ESA y ESTEC. Este programa espacial será dedicado a la sismología estelar y al estudio de los planetas extrasolares. La nave espacial será lanzada en junio de 2006 por la Agencia Espacial Europea (ESA) y se estudiarán las curvas de luz de algunas estrellas previamente seleccionadas.



dido del personal y autoridades del Observatorio Astronómico Nacional del Instituto de Astronomía de la UNAM, México, del Observatorio de París, Meudon, Francia, del Instituto de Astrofísica de Canarias, España, de la Estación de Observación

de Xin Long, en China, así como del CONACYT en México, el CNRS francés, la DGICYT de España y la Academia de Ciencias de China, a quienes todo el equipo de FOTESI-STEPHI, agradecemos.

**Figura 12.** Comparación de las frecuencias observadas y las calculadas para diversos modelos estelares.



Muestra de la comparación entre las frecuencias observadas y calculadas para la estrella V 650 Tau del cúmulo de las Pleiades. Las líneas grandes sólidas corresponden a las frecuencias observadas y las líneas más cortas a valores diferentes de la masa de la estrella para los modelos diferentes. De esta manera tenemos a nuestra disposición elementos observacionales que podemos utilizar para comparar con los modelos teóricos y mejorarlos.

REFERENCIAS:

Grec, G; Fossat, E.; Pomerantz, M. *Solar oscillations- Full disk observations from the geographic South Pole. Nature*, vol. 288, 541-544. (1980). (2000)

Leighton, Robert; Noyes, Robert y Simon, George . *Velocity Fields in the Solar Atmosphere. I. Preliminary Report. ApJ*, 135, 474. (1962)

Ulrich, Roger K.. *The Five-Minute Oscillations on the Solar Surface. ApJ*. 162, 993. (1970)

REFERENCIA ESPECIALIZADA  
EN EL PROGRAMA FOTESI-STEPHI:

- Li, Z.-P.; Michel, E.; Fox Machado, L.; Álvarez, M.; Chevreton, M.; Hernández, M. M.; Zhou, A. Y.; Barban, C.; Dolez, N.; Belmonte, J. A.; and 10 coauthors. (2004). "9+ frequencies for V534 Tauri, a  $\delta$  Scuti variable in the Pleiades. Results of the STEPHI IX campaign". *Astron Astrophys.*, 420, 283-L
- Breger, M.; Rodler, F.; Pretorius, M. L.; Martín-Ruiz, S.; Amado P. J.; Costa, V.; Garrido, R.; López de Coca, P.; Olivares, I.; Rodríguez, E.; and 8 coauthors. (2004). *Astron. Astrophys.*, 419, 695.
- Li, Z. P.; Michel, E.; Fox Machado, L.; Álvarez, M.; Hernández, M. M.; Chevreton, M.; Zhou, A. Y.; Barban, C.; Dolez, N.; Belmonte, J. A.; and 10 coauthors, (2002). *Astron. Astrophys.*, 395, 873--L.
- Fox-Machado, L.; Álvarez, M.; Michel, E.; Li, Z. P.; Pérez Hernández, F.; Chevreton, M.; Barban, C.; Belmonte, J. A.; Dolez, N.; Fernández, A.; Guo, J. P.; Haywood, M.; Liu, Y. Y.; Pau, S.; Planas, H.; Servan, B., (2002). "Pulsational frequencies in the delta Scuti stars V624 Tauri and HD 23194". Results of the STEPHI X campaign on the Pleiades cluster, *Astron. Astrophys.*, 382, p.556-562 (2002)
- Fox Machado, L.; Álvarez, M.; Michel, E.; Li, Z. P.; Pérez Hernández, F.; Chevreton, M.; Belmonte, J. A.; Alonso, R.; Barban, C. Dolez, N.; and 8 coauthors, (2002), 2002rnpp.conf..338F
- Li, Z. P.; Michel, E.; Fox Machado, L.; Álvarez, M.; Hernández, M. M.; Chevreton, M.; Zhou, A. Y.; Barban, C.; Dolez, N.; Belmonte, J. A.; Fernández, A.; Fremy, J.; Pau, S.; Servan, B.; Pérez Hernández, F.; Jiang, S. Y.; Liu, Z. L.; Ringot, O.; Suárez, J. C.; Xu, Y. (2002), "New  $\delta$  Scuti variable in the Pleiades: HD 23628". *Astron. Astrophys.*, 395, 873-876.
- Fox Machado, L.; Liu, Z. P.; Michel, E.; Álvarez, M.; Hernández, M. M.; Chevreton, M.; Zhou, A.; Barban, C.; Dolez, N.; Belmonte, J. A.; Fernández, A.; Fremy, J.; Pau, S.; Servan, B.; Pérez Hernández, F.; Liu, Y. Y.; Fu, J. N.; Ringot, O. (2000). "Frequency Oscillations in the Delta Scuti Star V534 Tauri: Preliminary Results of the STEPHI IX Campaign". *The Impact of Large-Scale Surveys on Pulsating Star Research*, Astronomical Society of the Pacific Conference Series, 2000, 203, 477-480.
- Liu, Y. Y.; Michel, E.; Barban, C.; Garrido, R.; Álvarez, M.; Hernández, M. M.; y Belmonte, J. A. (2000). "Pulsation Investigation of V647 Tau -- Preliminary Results of STEPHI Campaign in 1997" en: *The Impact of Large-Scale Surveys on Pulsating Star Research*, Astronomical Society of the Pacific Conference Series, 2000, 203, 481-482.
- Michel, E.; Chevreton, M.; Belmonte, J. A.; Liz, Z. P.; Álvarez, M.; and the Stephi Team (2000). "Ten Years of STEPHI Multiple Campaigns on Delta Scuti Stars" en: *The Impact of Large-Scale Surveys on Pulsating Star Research*, Astronomical Society of the Pacific Conference Series, 203, 483-486.
- Liu, Y.-Y.; Michel, E.; Hernández, M. M.; Álvarez, M.; Chevreton, M.; Zhou, A.-Y.; Li, Z.-P.; Fang, M.-J.; Barban, C., (1999). "Multi-site observation of the delta Scuti star V 647 Tau. Primary results of the eighth STEPHI campaign". *CHINESE ASTRON ASTR* 23: (3) 349-360.
- Liu, Y.-Y.; Michel, E.; Hernandez, M. M.; Álvarez, M.; Chevreton, M.; Zhou, A.-Y.; Li, Z.-P.; Fang, M.-J.; Barban, C. (1999). "Multi-site observation of the delta Scuti star V 647 Tau". Primary results of the eighth STEPHI campaign, 1999 AcApS..19.201L.

Hernández, M. M., Michel, E., Belmonte, J. A., Jiang, S. Y., Álvarez, M., Chevreton, M., Paparo, M., Kjeldsen, H., Auvergne, M., Baglin, A., Bauduin, D., Dolez, N., Fromage, J., Goupil, M. J., Li, Z. P., Liu, Y. Y., Mangeney, A., Ringot, O., Roca Cortés, T., Servan, B., and Vidal, I. (1998). "New multi-site observations on the delta Scuti stars BS and BT Cnc". Results of the STEPPI VII campaign on the Praesepe Cluster. *Astron. Astrophys.*, 337, 198-206.

Álvarez, M., Hernández, M. M., Michel, E., Jiang, S. Y., Belmonte, J. A., Chevreton, M., Massacrier, G., Liu, Y. Y., Goupil, M. J., Roca Cortés, T., Mangeney, A., Dolez, N., Valtier, J. C., Vidal, I., Sperl, M., and Talon, S. (1998). "Pulsation, binarity and close frequency spacing in delta Scuti stars: BQ and BW Cancri". Results of the STEPPI VI campaign in Praesepe Cluster, *Astron. Astrophys.*, 340, 149-159.

E. Michel, M. Chevreton, M. J. Goupil, J. A. Belmonte, S. Y. Jiang, M. Álvarez, M. Suran, F. Soufi, M. Auvergne, A. Baglin, Y. Y. Liu, I. Vidal, M. Hernandez, J. N. Fu., (1995). The STEPPI network. Results and Prospects.

"Proceedings of the Fourth SOHO Workshop: Helioseismology", California, 2-6 april, 1995. (ESA SP-376, June 1995).

# Guidelines for authors

The Editorial Board of the journal *Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ*, invites authors to submit manuscripts under three categories: research articles, short manuscripts (which will be short articles showing results of undergraduate thesis and written by the undergraduate students, reviewed by their advisers), and invited reviews. Manuscripts should be sent to the Editor in Chief, according to the following specifications:

- 1) Papers should be from original research and with scientific content.
- 2) Once published, articles cannot be published elsewhere in the same form, in any language, without the consent of UACJ publishers.
- 3) Papers may be: research articles, short manuscripts and invited reviews, belonging to the fields of natural or exact sciences (biology, life sciences, chemistry, mathematics, physics, etc). Final decisions concerning acceptability of the manuscripts will be made by the Editorial Board.
- 4) Papers may be written in English, Spanish or any Romance language. If a translation to Spanish is submitted, the text in original language should also be provided.  
Abstracts written both in Spanish and English should also be provided.
- 5) Originals are not sent back.
- 6) If the author fails to respond to the final comments of the Editorial Board of *Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ*, the journal can make editing changes which do not modify the original content of the article.
- 7) Papers should meet the following format:
  - a) Short and concise title, written in both English and Spanish or Romance languages.
  - b) A brief abstract between 40 and 150 words, which should also be written in both languages.
  - c) Name and nationality of authors.
  - d) Affiliation of authors, including highest degree and research field of all authors.
  - e) Author affiliations should be included as footnotes starting from number 1.  
Ex. Ramírez, J. L.<sup>1</sup> y Martínez, R.<sup>2</sup>  
1 Universidad de Puebla, México.  
2 Universidad de Santiago Compostela, España.  
Footnotes should be posted at the bottom left side of the page where they are mentioned.
  - f) Specify type of paper, i.e. Research article, Short manuscript or Invited Review.
  - g) Postal address of the corresponding author, which includes: telephone, fax and e-mail. Corresponding author should be highlighted with an asterisk (\*) mark.
  - h) Manuscripts should be submitted in triplicate, printed in one side only, letter or A4 size paper, double-spaced, with margins of 3 cm.
  - i) A disk copy of the manuscript in Win/Word 6.0 or higher, should also be provided. Figures and tables should be sent in Excel or WinWord 97, each saved in a different file.
  - j) For Research articles, manuscript length should be between 10 and 30 pages, plus figures and tables. Short manuscripts should be shorter than 10 pages, plus figures and tables.

- k) Figures and tables should be mentioned in the text, and numbered in Arabic numbers. The software in which they were created, should be mentioned.
- l) Figure and table legends should be concise and understandable, and should be listed at the end of the manuscript (after references).
- m) Bibliographic references should be quoted in the text by writing the last name of the first author and publication year between parentheses. References will be included at the end of the text, ordered alphabetically.
- n) In references for book titles, capital letters should be used only at the beginning of the title and on authors names.
- o) When using abbreviations, the full meaning of them should be provided, when mentioned for the first time.
- p) Bibliographic references should be formatted as follows:

#### BOOK REFERENCES:

- Author's last name, name (year). "*Book title*". City: Editorial. Total pages.

Ex:

Foucault, Michael (1984). "*Las palabras y las cosas*". México: Siglo XXI. 200 pp.

#### BOOK SECTION REFERENCES:

- Author's last name, first name (year). "Section title". En: Editor's name and last name (ed.). *Book title*. City: Editorial. Pages.

Ex:

Levine, Frances (1991). "Economic perspectives on the Comanchero trade". En: Catherine A Spielmann (ed.). *Farmers, hunters and colonists*. Tucson, AZ: The University of Arizona Press. 155-169.

#### JOURNAL REFERENCES:

- Author's last name, first name(s) initial(s); other authors. (year). "Article's title". *Journal abbreviation*, volume, pages.

Ex:

Sagara, Y., Fernandez-Belda, F., de Meis, L. e Inesi, G. (1992). "Characterization of the inhibition of intracellular Ca<sup>2+</sup> transport ATPases by thapsigargin". *J. Biol. Chem.*, 267, 12606-12613.

Rivas-Cáceres, R. (1999). "Médanos de Samalayuca. Un urgente reclamo, una estrategia emergente". *Ciencia en la Frontera*, 1, 29-32.

# Normas de publicación para colaboradores

El comité editorial de la revista *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ* acoge con gusto propuestas de artículos para su publicación, bajo dos modalidades: artículos de investigación y avances de investigación (artículos derivados de tesis de pregrado, escritos por los estudiantes y avalados por sus asesores). Las normas establecidas para la publicación son las siguientes:

- 1) Los trabajos deberán ser de *calidad científica e inéditos*, avalados por un investigador de carrera.
- 2) Una vez publicado el artículo, los derechos de autor pasan a la UACJ.
- 3) Los artículos pueden ser de fondo (de investigación), revisiones invitadas (actualizaciones en temas de investigación) o comunicaciones breves (avances de investigación), los cuales deberán referirse a las áreas de ciencias naturales y exactas, ajustándose al dictamen del Comité Editorial, quien evalúa su contenido científico de calidad y decide sobre la pertinencia de su publicación.
- 4) Los trabajos pueden ser enviados para su publicación en el idioma inglés, el español u otras lenguas romances. Si se envía una traducción al español, hay que adjuntar el texto también en forma original. Los artículos deberán incluir resumen en español seguido de uno en inglés (y viceversa).
- 5) No se devuelven los originales.
- 6) En caso de que el autor no responda después de haberse presentado las correcciones o dudas de su trabajo, la revista *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, se reserva el derecho de hacer los cambios de edición sin modificar el contenido original de la obra.
- 7) Los trabajos deben ajustarse a los siguientes requisitos (de no cumplirse con ellos, no se considerarán para su publicación):
  - a) Título del trabajo, breve y conciso en inglés y español.
  - b) Un resumen del contenido de una extensión aproximada de 40 palabras como mínimo y 150 palabras como máximo que deberá estar en inglés y español.
  - c) Nombre y nacionalidad del autor.
  - d) Adscripción de todos los autores, incluyendo el máximo grado de estudios y área de especialización.
  - e) La institución de adscripción de los autores participantes deberá incluirse como un pie de página, comenzando con el número 1.  
  
Ejem. Ramírez, J. L.<sup>1</sup> y Martínez, R.<sup>2</sup>  
1 Universidad de Puebla, México.  
2 Universidad de Santiago Compostela, España

Los pies de página, que denotan tanto la institución de adscripción como ciertos tipos de notas, etc; aparecerán en el margen inferior izquierdo de la página en la que se mencionen.

- f) Naturaleza del trabajo: artículo de investigación, avance de investigación, etc.
- g) Dirección para correspondencia que incluya: teléfono, fax y correo electrónico. El nombre del autor al cual se dirigirá la correspondencia debe indicarse con un asterisco (\*).
- h) Presentar tres originales impresos en una sola cara, en papel Bond tamaño carta o A4, a doble espacio y con márgenes de 3 cm.
- i) Adjuntar el texto con una copia del trabajo en disquet, en formato Win/Word 6.0 en adelante, los cuadros y figuras en hoja de Excel o Win/Word '97 en adelante. Cada figura deberá estar grabada en un archivo individual.

- j) La extensión del trabajo deberá ser de un mínimo de 10 cuartillas de texto más las figuras, y de un máximo de 30 cuartillas más las figuras para un artículo de investigación. La extensión de los avances de investigación deberá ser de un máximo de 10 cuartillas de texto más las figuras.
- k) Las ilustraciones, cuadros y fotografías, deberán referirse dentro del texto, enumerándose en el orden que se cita en el mismo, e indicar el programa de cómputo en el que están elaborados.
- l) Los pies de figura deberán ser claros, de forma que se entiendan sin necesidad de leer el texto. Estas deberán incluirse en un listado después de la bibliografía.
- m) Las referencias bibliográficas deben asentarse de la forma convencionalmente establecida en español, es decir, indicando éstas en el cuerpo del texto con los apellidos del primer autor y año de publicación entre paréntesis, y los datos bibliográficos al final del escrito. La bibliografía se presenta al final del artículo por orden alfabético.
- n) Al citar los títulos de libro se deben utilizar mayúsculas sólo al inicio y en nombres propios.
- o) Al menos la primera vez, se deben proporcionar la equivalencia de las siglas empleadas en el texto, en la bibliografía y en los cuadros y las figuras.
- p) Distribuir los datos de las referencias bibliográficas de la siguiente manera:

#### REFERENCIA DE LIBRO:

- Apellidos, nombre del autor (año). *Título del libro*. Lugar: Editorial. Número de páginas totales.

Ejemplo:

Foucault, Michael (1984). *Las palabras y las cosas*. México: Siglo XXI. Pp. 30-45.

#### REFERENCIA DE CAPÍTULO DE LIBRO:

- Apellidos, nombre del autor (año). “Título del capítulo”. En: Nombre y apellido del editor (ed.). *Título del libro*. Lugar: Editorial. Páginas.

Ejemplo:

Levine, Frances (1991). “Economic perspectives on the Comanchero trade”. En: Catherine A Spielmann (ed.). *Farmers, hunters and colonists*. Tucson, AZ: The University of Arizona Press. 155-169.

#### REFERENCIA DE REVISTA:

- Apellido(s) del autor, inicial(es); otros autores. (año). “Título del artículo”. *Nombre de la revista*, abreviado según el citation index o como aparezca en el artículo original, volumen, páginas.

Ejemplos:

Sagara, Y., Fernández-Belda, F., de Meis, L. e Inesi, G. (1992). “Characterization of the inhibition of intracellular Ca<sup>2+</sup> transport ATPases by thapsigargin”. *J. Biol. Chem.*, 267, 12606-12613.

Rivas-Cáceres, R. (1999). “Médanos de Samalayuca. Un urgente reclamo, una estrategia emergente”. *Ciencia en la Frontera*, 1, 29-32.



*Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ,*  
se terminó de imprimir en julio de 2005 en los talleres  
en la Imprenta Universitaria, Hermanos Escobar y Plutarco Elías Calles,  
Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

Tiraje: 750 ejemplares



Rafael Vaquera  
*Coordinador de la Imprenta Universitaria*

Juvenal Rodríguez  
*Jefe de Taller*