



ISSN 0370-3908

REVISTA DE LA ACADEMIA COLOMBIANA de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 38 · Suplemento · Págs. 1-225 · 2014 · Bogotá - Colombia





ISSN 0370-3908

REVISTA DE LA ACADEMIA COLOMBIANA de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 38 · Suplemento · Págs. 1-225 · 2014 · Bogotá - Colombia

Comité editorial

Editoras

Elizabeth Castañeda
Instituto Nacional de Salud,
Bogotá, Colombia

Carmenza Duque
Universidad de La Sabana, Chía, Colombia
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Editores asociados

Ciencias físicas y matemáticas

Bernardo Gómez
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Pedro Fernández de Córdoba
Universidad Politécnica de Valencia, España

Rubén Antonio Vargas
Universidad del Valle,
Cali, Colombia

Victor Albis
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Ciencias naturales (biología, botánica, zoología, ecología, bioquímica)

Gabriel Roldán
Universidad Católica de Oriente,
Rionegro, Antioquia, Colombia

M. Gonzalo Andrade
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Jaime Ricardo Cantera
Universidad del Valle,
Cali, Colombia

José Luis Fernández
Real Jardín Botánico, Consejo Superior de
Investigaciones Científicas, Madrid, España

Thomas Defler
Universidad Nacional de Colombia,
Leticia, Colombia

Ciencias de la tierra

Germán Poveda
Universidad Nacional de Colombia,
Medellín, Colombia

Armando Espinosa
Universidad del Quindío,
Armenia, Colombia

Carlos Alberto Vargas
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

José Ignacio Martínez
Universidad EAFIT, Medellín, Colombia

Ciencias humanas

Guillermo Páramo
Universidad Central, Bogotá, Colombia

Rubén Ardila
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Ciencias biomédicas

Felipe Guhl
Universidad de Los Andes,
Bogotá, Colombia

Luis Fernando García
Universidad de Antioquia,
Medellín, Colombia

Ciencias químicas

Fanor Mondragón
Universidad de Antioquia,
Medellín, Colombia

Moisés Wasserman
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Sonia Moreno
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Comité científico internacional

Ángela María Guzmán
University of Central Florida,
Orlando, Estados Unidos

Antoine M. Cleef
University of Amsterdam, Holanda

Carlos Jiménez
Universidad de La Coruña, España

Gioconda San Blas
Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas
y Naturales, Caracas, Venezuela

José Rubens Pirani
Universidade de São Paulo, Brasil

Wolfgang Gieren
Universidad de Concepción, Chile

Asistencia y coordinación editorial Carolina Acosta

Corrección de estilo y ortografía
Marta Renza

Diagramación
Johanna Morales

Impresión y acabados
Gente Nueva

Reseñada en los siguientes índices nacionales e internacionales:

Actualidad Iberoamericana

Agris

CIRS

Current Mathematical Publications

Dialnet

EBSCO

Historia Mathematica

Index Kewensis

Latindex

Mathematical Reviews

MathSciNet (on line data base)

OCLC (Online Computer Library Center)

PERIODICA

Publindex, Colciencias

RLG

SciELO

Zentralblatt für Mathematik

Zoological Record

Periodicidad: trimestral

Fecha de inicio: 1936

Tamaño: 21,5 x 27 cm

Papel: propalmate de 90 gr.

Solicitud de canje

Esta publicación se ha financiado mediante la transferencia de recursos del Gobierno Nacional a la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.

La Academia no es responsable de las opiniones aquí expresadas.

Reservados todos los derechos. El contenido de la presente publicación no puede ser reproducido, ni transmitido por ningún procedimiento electrónico, mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética, ni registrado por ningún sistema de recuperación de información, en ninguna forma, ni por ningún medio, sin la previa autorización por escrito del titular de los derechos de explotación de la misma.

Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra solo puede ser realizada con la autorización previa de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales.

Impreso en Colombia



Portada:

La especie *Mutisia clematis* fue dedicada por Linneo a José Celestino Mutis y luego una especie de este género, *Mutisia grandiflora* fue adoptada como símbolo en el escudo de la Academia de Ciencias Exactas Físicas y Naturales. En la parte superior: "clavellino". Nombre científico: *Mutisia clematis*, Familia: Asteraceae. A la izquierda, en posición vertical: *Cissampelos sp.* Familia: Menispermaceae.

Página web de la revista: www.raccefyn.co

Correo electrónico: revista@accefyn.org.co

Sede de la Academia: Cra. 28a No.39a - 63
Bogotá, Colombia

Teléfonos: (571) 244 3186 - 268 3290 -
268 2846



Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

ISSN 0370-3908

REVISTA DE LA ACADEMIA COLOMBIANA de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 38 · Suplemento · Págs. 1-225 · 2014 · Bogotá - Colombia

Contenido - Contents

Ciencias físicas

- Colisiones elásticas y sección eficaz total hadrón - hadrón a altas energías**
Elastic scattering and hadron-hadron total cross sections at high energies
Carlos Ávila Bernal 5
- La Superconductividad: sus orígenes, sus teorías, sus problemas candentes hoy.**
Superconductivity: discovery, theories and some topics of current research
Rafael Baquero 18
- Búsquedas de Materia Oscura Supersimétrica en el LHC**
Search for Supersymmetric Dark Matter in the LHC
Juan Carlos Sanabria 34
- High-field fluctuation magnetoconductivity and Hall reversal response in the Hg(Re)
Ba₂Ca₂Cu₃O_{8+δ} superconductor**
Fluctuaciones en la magneto conductividad de alto campo y respuesta Hall inversa
en el superconductor Hg(Re)Ba₂Ca₂Cu₃O_{8+δ}
Jairo Roa-Rojas, Jorge Andrés Cardona-Vásquez, David Landínez-Téllez 56
- Aceleradores para Colombia**
Particle accelerators for Colombia
Bernardo Gómez Moreno 71

Ciencias naturales

- Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites
esenciales de algunas plantas del género *Lippia* (Verbenaceae) cultivadas en Colombia.**
Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of essential oils of some
plants from genus *Lippia* (Verbenaceae) grown in Colombia.
*Elena E. Stashenko, Jairo René Martínez, Diego Camilo Durán, Yuri Córdoba,
Deyanira Caballero* 89

Ciencias naturales	<p>Biología reproductiva y placentotrofia en lagartijas del género <i>Mabuya</i> Reproductive biology and placentotrophy in lizards of the genus <i>Mabuya</i> <i>Martha Patricia Ramírez-Pinilla</i> 106</p>
Ciencias biomédicas	<p>Entendiendo el papel del sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) en la regulación funcional del trofoblasto humano Understanding the role of the insulin-like growth factor (IGF) system in the functional regulation of the human trophoblast <i>Myriam Sánchez-Gómez</i> 118</p>
Ciencias químicas	<p>Conexión de Biología y Química vía Síntesis Orgánica dirigida a la Diversidad molecular Connection between Biology and Chemistry via Diversity Oriented Synthesis <i>Vladimir V. Kouznetsov</i> 129</p> <p>Modelos relativistas de discos de polvo magnetizados en un espacio-tiempo conformestático axialmente simétrico Relativistic models of magnetized dust disks in an axially symmetric conformastatic spacetime <i>Guillermo A. González</i> 142</p> <p>Calentamiento por Fotoactivación de NanoTubos de Carbono de pared simple Funcionalizados con Ácido Fólico (NTC-AF) Photo-activation Heating of Carbon Nanotubes Functionalized with Folic Acid (NTC-AF) <i>Fernando Martínez O.</i> 152</p> <p>Estudio de Parámetros de Síntesis de las estructuras zeolíticas Linde Tipo A (LTA) y Faujasita (FAU) X a partir de aluminio post-consumo y diatomita, para la remoción de metales pesados Study of synthesis parameters of the sodic Linde Tipe A (LTA) and Faujasite (FAU) X zeolite frameworks from post-consumer aluminium and diatomite for removal of heavy metals <i>Jose H. Quintana, Andrea P. Aparicio, Leidy K. Parra, José A. Henao, Carlos A. Ríos</i> 167</p> <p>Modificación Química en Fase Sólida de Lipasa B de <i>Candida antarctica</i> para mejorar sus propiedades de actividad, estabilidad y enantioselectividad Chemical Modification in Solid Phase Chemistry of Lipase B from <i>Candida antarctica</i> for improving its properties of activity, stability and enantioselectivity <i>Rodrigo Gonzalo Torres-Sáez</i> 181</p>
Ciencias humanas	<p>Filogénesis y ontogénesis de la moral Phylogenesis and ontogeny of morals <i>Rubén Ardila</i> 205</p>
	<p>Enfoque y alcance Focus and Scope 216</p>

Colisiones elásticas y sección eficaz total hadrón - hadrón a altas energías

Carlos Ávila Bernal

Departamento de Física, Universidad de Los Andes, Colombia

Resumen

Presentamos un estudio de la sección eficaz diferencial para colisiones $\bar{p}p$ y pp basado en una parametrización de la amplitud de dispersión en función de dos términos exponenciales que difieren en una fase. Esta parametrización describe correctamente los datos experimentales, incluyendo el mínimo de difracción que es diferente para ambos tipos de colisiones. Se presenta también un estudio detallado de la sección eficaz total, σT , para colisiones $\bar{p}p$, pp , $\pi^\pm p$ y $K^\pm p$. Para este estudio se usa una parametrización basada en un crecimiento logarítmico de σT con la energía de la colisión. Se hace uso de relaciones de dispersión integrales para maximizar la muestra de datos estudiada. Todos los datos existentes hasta la fecha (incluidos los datos del experimento TOTEM) son tenidos en cuenta. El estudio concluye que σT aumenta con la energía de la forma $\ln^2(s)$ y predice un valor para σT en colisiones pp a la energía de 14 TeV de $\sigma_{pp}^{pp} = 109,1 \pm 1,6$ mb. El documento adicionalmente presenta una revisión de los métodos usados para estudiar colisiones elásticas.

Palabras clave: dispersión elástica, sección eficaz total, amplitud de dispersión, relaciones de dispersión, teoría de Regge.

Elastic scattering and hadron-hadron total cross sections at high energies

Abstract

We present a study of the differential cross section for $\bar{p}p$ and pp collisions based on the use of a parametrization of the scattering amplitude as a function of two exponential terms with a phase difference. This parametrization describes correctly the experimental data, including the diffraction minimum which is different for both processes. Also, a detailed study of the total cross section, σT , for $\bar{p}p$, pp , $\pi^\pm p$ and $K^\pm p$ collisions is presented. This study uses a parametrization based on the logarithmic increase of σT with the energy of the collision. Integral dispersion relations are used in order to maximize the data sample studied. All the existing experimental data up to date (including data from the TOTEM experiment) are taken into account. The study concludes that σT increases with energy as $\ln^2(s)$ and predicts a value for σT in pp collisions at the energy of 14 TeV of $\sigma_{pp}^{pp} = 109,1 \pm 1,6$ mb. The document additionally presents a review of the methods used to study elastic collisions.

Key words: Elastic scattering, total cross section, scattering amplitude, dispersion relations, Regge theory.

I. INTRODUCCIÓN

Entre el 20% al 25% de las colisiones entre hadrones son elásticas. En estas colisiones ambos hadrones incidentes salen intactos después de la colisión, sin producir partículas adicionales, sufriendo una pequeña desviación con respecto a sus trayectorias iniciales (con ángulos de dispersión menores a unos pocos miliradianes), pero manteniendo la magnitud de su momento inicial y conservando todos sus números cuánticos. Dado que el momento transferido en este tipo de colisiones es muy bajo, no se pueden usar los métodos perturbativos de la cromodinámica cuántica (QCD) para describirlos, porque la constante de acoplamiento fuerte toma valores muy grandes y hace que la serie perturbativa sea divergente [1]. La única forma de entender la dinámica de los procesos elásticos es a partir de observaciones experimentales y del uso de modelos fenomenológicos basados en propiedades de la amplitud de dispersión y en algunas suposiciones adicionales sobre la estructura interna de los hadrones. Las suposiciones

de los diferentes modelos son probadas a medida que nuevos datos experimentales son accesibles, lo que permite ajustar los modelos sobre la evidencia experimental de una manera iterativa y así ir acercándonos a una descripción aproximada de los fenómenos internos que ocurren en los hadrones en el momento de la colisión.

La principal observable experimental es la sección eficaz diferencial, $d\sigma/dt$, donde t es el cuadrado del cuadrimomento transferido que explicaremos en la sección II. La estructura que presenta $d\sigma/dt$ es la herramienta que tenemos para descifrar la dinámica interna del proceso de dispersión elástica. A partir de $d\sigma/dt$ podemos medir otras variables experimentales como son: la sección eficaz elástica (σ_{el}), la sección eficaz total (σT), el cociente de la parte real a la parte imaginaria de la amplitud de

Correspondencia:

Carlos Ávila Bernal, cavila@uniandes.edu.co

Recibido: 27 de agosto de 2013

Aceptado: 13 de agosto de 2014

dispersión (ρ) y el parámetro de pendiente nuclear (B). En la sección III describimos cada uno de estas variables. Durante mas de 50 años diferentes experimentos han proporcionado mediciones de $d\sigma/dt$ a varias energías de centro de masa y tipos de colisiones hadronicas, lo que ha permitido entender cómo la estructura de $d\sigma/dt$ y demas variables de dispersión elástica cambian con la energía, y así tratar de establecer que fenómenos internos de dispersión dominan en diferentes regímenes de energía.

En este trabajo hacemos una revisión de los datos experimentales que se tienen actualmente en colisiones pp , $\bar{p}p$, $\pi^\pm p$ y $K^\pm p$. Usamos la parametrización propuesta por Amaldi [2] y relaciones de dispersión integrales que nos permiten hacer un ajuste simultáneo de los datos experimentales de σ_T y ρ para los diferentes tipos de colisiones hadronicas, con el fin de demostrar que todas las colisiones hadrón-hadrón estudiadas tienen el mismo incremento gradual con la energía y que la magnitud de las secciones eficaces a altas energías difieren de acuerdo al conteo y tipo de quarks que participan en la colisión. El ajuste a los datos nos permite verificar si la sección eficaz total a las energías de los aceleradores actuales cumplen con el límite de Froissart [3], el cual es explicado en la sección VC. Los resultados de los fits son consistentes con las mediciones recientemente publicadas por el experimento TOTEM a las energías de centro de masa de 7 TeV y 8 TeV [4–6], y nos permiten predecir el valor de σ_T para colisiones pp a la energía de 14 TeV. El colisionador LHC empezará a tomar datos a esta energía en el año 2015. Para describir la estructura de $d\sigma/dt$ usamos una parametrización sencilla, propuesta inicialmente por Phillips and Barger [7], basada en construir la amplitud de dispersión nuclear como la suma de dos términos exponenciales que difieren en una fase. En este trabajo mostramos que esta parametrización describe apropiadamente $d\sigma/dt$ para colisiones pp y $\bar{p}p$ sobre todo el rango de energías accesible.

En el presente documento empezamos por describir la cinemática de las colisiones elásticas (sección II), luego en la sección III hacemos una revisión de los datos experimentales. En la sección IV explicamos detalles de la configuración experimental para etiquetar y estudiar eventos de dispersión elástica. Posteriormente hacemos una breve revisión de modelos fenomenológicos (sección V) y de las relaciones de dispersión (sección VI). En las secciones VII y VIII describimos los estudios realizados con los datos de la sección eficaz diferencial y total, respectivamente. En la sección IX presentamos nuestras conclusiones.

II. CINEMÁTICA Y DEFINICIÓN DE VARIABLES

Para una colisión elástica $A + B \rightarrow A + B$, con A considerada como la partícula proyectil y B la partícula blanco, en el sistema de laboratorio, y con cuadrimomentos iniciales p_{iA} , p_{iB} y cuadrimomentos finales p_{fA} , p_{fB} ,

para A y B respectivamente, definimos el cuadrado de la energía del centro de masa (CM), s , como:

$$s = (p_{iA} + p_{iB})^2 = m_A^2 + m_B^2 + 2m_B E \quad (1)$$

donde E es la energía en el sistema de laboratorio para la partícula proyectil. El cuadrado del cuadrimomento transferido se define como:

$$t = (p_{fA} - p_{iA})^2 = -4k^2 \text{sen}^2(\theta/2) \quad (2)$$

donde k es la magnitud del vector momento y θ el ángulo de dispersión, ambos medidos con respecto al CM. s y t son invariantes de Lorentz conocidas como variables de Mandelstam.

Hay dos contribuciones a la dispersión de hadrones cargados: interacción Coulomb e interacción nuclear. La amplitud de dispersión de Coulomb se obtiene a partir de la ecuación de Rutherford:

$$f_c = \pm \frac{2k\hbar c \alpha G^2(t)}{|t|} \quad (3)$$

Donde el signo "+" ("−") es para interacción de hadrones de carga eléctrica de signo opuesto (del mismo signo). α es la constante de estructura fina y $G(t)$ es el factor de forma electromagnético del protón, el cual se suele aproximar a [8]:

$$G(t) = \left(1 + \frac{|t|}{0,71}\right)^{-2} \quad (4)$$

De observaciones experimentales se ha encontrado que para valores de $|t| < 0,1$ (GeV/c)² la amplitud de dispersión nuclear se puede parametrizar como:

$$f_n = \frac{k\sigma_T(\rho + i) \exp\left(\frac{-B|t|}{2}\right)}{4\pi\hbar c} \quad (5)$$

Donde B es el parámetro de pendiente nuclear. Esta parametrización es consistente con el teorema óptico:

$$\sigma_T = \frac{4\pi}{k} \Im m \{f_n(t=0)\} \quad (6)$$

Adicionalmente definimos ρ como:

$$\rho = \frac{\Re e (f_n(t=0))}{\Im m (f_n(t=0))} \quad (7)$$

La sección eficaz diferencial viene dada por:

$$\frac{d\sigma}{dt} = \frac{\pi}{k^2} |f|^2 \quad (8)$$

Donde $f = f_n + f_c e^{\pm i\alpha\phi(t)}$ y $\alpha\phi(t)$ es la diferencia de fase entre las amplitudes de dispersión de coulomb y nuclear, $\phi(t)$, que se puede escribir como [9]:

$$\phi(t) = \ln \left(\frac{0,08}{|t|} \right) - 0,577 \quad (9)$$

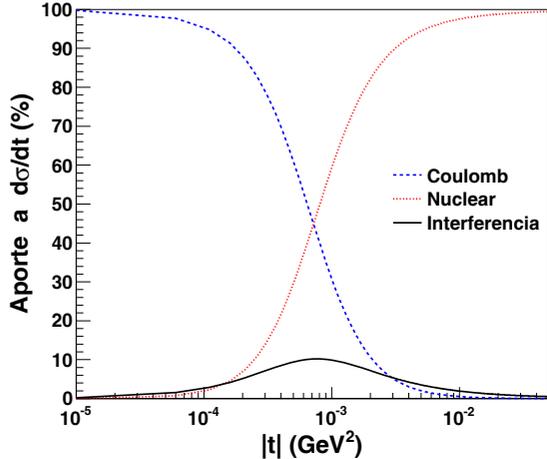


Figura 1: Aporte porcentual a $d\sigma/dt$ de la amplitud de dispersión de Coulomb, nuclear e interferencia nuclear-Coulomb.

Debido a la diferencia de fase entre la dispersión coulomb y nuclear aparece un término de interferencia nuclear-coulomb que también contribuye a la sección eficaz diferencial. Usando las ecuaciones 3 a 5 podemos escribir de manera explícita la contribución Coulomb ($\frac{d\sigma_c}{dt}$), interferencia nuclear-Coulomb ($\frac{d\sigma_{inter}}{dt}$), y nuclear ($\frac{d\sigma_n}{dt}$) a $\frac{d\sigma}{dt}$:

$$\begin{aligned} \frac{d\sigma_c}{dt} &= \frac{4\pi(\hbar c)^2 \alpha^2 G^4(t)}{|t|^2} \\ \frac{d\sigma_{inter}}{dt} &= \pm \frac{\alpha(\rho \mp \alpha\phi)\sigma_T G^2(t)}{|t|} \exp\left(\frac{-B|t|}{2}\right) \\ \frac{d\sigma_n}{dt} &= \frac{(1 + \rho^2)\sigma_T^2}{16\pi(\hbar c)^2} \exp(-B|t|) \end{aligned} \quad (10)$$

Donde el signo “+” es para colisiones antihadrón-hadrón y el signo “-” para colisiones hadrón-hadrón. Con el fin de entender la contribución de cada término a $d\sigma/dt$, usamos como ejemplo las mediciones recientes del experimento TOTEM a $\sqrt{s} = 7.0$ TeV [5] ($B = 19.89$ (GeV/c) $^{-2}$, $\sigma_T = 98.6$ mb) y asumimos un valor de $\rho = 0,145$ (esperado a esta energía) y graficamos $d\sigma/dt$ para estas condiciones (Figura 1). A la energía de $\sqrt{s} = 7.0$ TeV el término de interferencia tiene su máximo aporte (10,2 %) para valores de $|t| \approx 0,00076$ (GeV/c) 2 (que corresponde a un ángulo de dispersión de aproximadamente 4 microradianes), a este valor de t las dispersiones nuclear y Coulomb tienen igual contribución. La dispersión de Coulomb domina a valores muy bajos de $|t|$, para $|t| \approx 0,0001$ (GeV/c) 2 la contribución de Coulomb es de $\approx 95\%$. Para valores $|t| > 0,005$ (GeV/c) 2 la dispersión nuclear tiene una contribución superior al 95 %, mientras que la contribución de dispersión Coulomb es menor al 2 %.

III. REVISIÓN DE DATOS EXPERIMENTALES

A. sección eficaz diferencial, $d\sigma/dt$

La cantidad que se mide experimentalmente es dN/dt , que corresponde al número de eventos que registra un detector por intervalo de cuadrimomento transferido t y en un intervalo de tiempo definido. Este número se debe corregir por la ineficiencia y cubrimiento azimutal (aceptancia) del detector, por tiempos muertos debido a registro de la información y por sustracción de background. Para encontrar el ángulo de dispersión θ y de allí obtener t , es importante conocer con alta precisión la posición del detector con respecto al haz de partículas, y los campos eléctricos y magnéticos por los que atraviesan las partículas entre el punto de colisión y la ubicación del detector. Adicionalmente este ángulo necesita ser corregido debido a que el detector tiene una resolución finita, que el haz de partículas tiene dimensiones transversales (ancho del haz), que las partículas dentro del haz no necesariamente colisionan de manera frontal (divergencia del haz), y que cada colisión no ocurre exactamente en el mismo punto debido a la forma gaussiana en el eje longitudinal del haz de partículas. Finalmente, se usa una medida del flujo de partículas que colisionan como normalización, usando como referencia el mismo intervalo de tiempo de la medición de dN/dt , (Luminosidad integrada, L [10]) para así obtener la sección eficaz diferencial:

$$\frac{d\sigma}{dt} = \frac{1}{L} \frac{dN}{dt} \quad (11)$$

Las mediciones que existen para $d\sigma/dt$ son más abundantes para colisiones pp y $\bar{p}p$, donde hay cubrimiento de energía desde unos pocos GeV hasta 7 TeV. La energía mas alta corresponde a resultados recientes del experimento TOTEM del colisionador LHC, se espera para el 2015 nuevas mediciones de TOTEM a $\sqrt{s} = 14$ TeV. El cubrimiento en cuadrimomento transferido va desde valores muy bajos de $|t| \approx 0,0001$ (GeV/c) 2 hasta $|t| \approx 12$ (GeV/c) 2 y es diferente para cada energía ya que depende del cubrimiento logrado por cada experimento [11]. Las Figuras 5 y 6 muestran los datos de $d\sigma/dt$ para colisiones $\bar{p}p$ y pp a altas energías, respectivamente. A valores de $|t| > 0,005$ (GeV/c) 2 domina ampliamente la dispersión nuclear y se observa un decaimiento exponencial hasta llegar a un mínimo de difracción. El mínimo de difracción para colisiones pp es más profundo y bien determinado comparado con colisiones $\bar{p}p$ donde se tiene un mínimo más plano que es más consistente con un cambio de pendiente. Posterior al mínimo de difracción se aprecia un nuevo decaimiento exponencial con una pendiente más pequeña, también se observa que a medida que la energía de la colisión incrementa el mínimo de difracción se mueve hacia valores más bajos de $|t|$ haciendo que el decaimiento exponencial antes del mínimo de difracción tenga una pendiente mucho más pronunciada.

La sección eficaz elástica se obtiene a partir de integrar la sección eficaz diferencial proveniente de dispersión nu-

clear:

$$\sigma_{el} = \int_{-\infty}^0 \frac{d\sigma_n}{dt} dt \quad (12)$$

Podemos obtener una buena aproximación para la sección eficaz total elástica a partir de integrar la sección eficaz diferencial proveniente de dispersión nuclear, asumiendo no estructura para $\frac{d\sigma_n}{dt}$, es decir aproximando $\frac{d\sigma_n}{dt}$ a la exponencial decayente antes del mínimo de difracción:

$$\frac{d\sigma_n}{dt} = \left(\frac{d\sigma_n}{dt} \right)_{t=0} \exp(-B|t|) \quad (13)$$

Con esta parametrización obtenemos:

$$\sigma_{el} = \frac{\sigma_{tot}^2 (1 + \rho^2)}{16\pi B (\hbar c)^2} \quad (14)$$

El ignorar la estructura de $\frac{d\sigma_n}{dt}$ más allá del mínimo de difracción sólo tiene un efecto menor al 0,2 % en el cálculo de la integral.

B. Sección eficaz total, σ_T

La sección eficaz total corresponde al área efectiva del hadrón que interactúa con el haz de partículas que incide sobre él. La medición de la sección eficaz total para un proceso de dispersión específico provee información del tamaño del hadrón, el cual depende de la dinámica del proceso de dispersión. Dado que el hadrón es un sistema compuesto de quarks y gluones, cada constituyente contribuye de manera diferente al proceso de dispersión y esta contribución depende de la energía de la colisión.

Existen tres métodos para medir la sección eficaz total: 1) Normalización de Coulomb, 2) Método dependiente de luminosidad, y 3) Método independiente de luminosidad. La normalización de Coulomb se puede usar cuando se pueden medir ángulos de dispersión muy pequeños (del orden de microradianes), tal que se alcance a tener un intervalo de cuadrimomento transferido donde la dispersión Coulomb sea la contribución dominante a la sección eficaz diferencial: $\frac{d\sigma}{dt} \approx \frac{d\sigma_c}{dt}$, y dado que $\frac{d\sigma_c}{dt}$ corresponde a la dispersión de Rutherford, que es completamente conocida, podemos usar la ecuación 11 para determinar el valor de luminosidad. Adicionalmente, usando las ecuaciones 10 y 11, con la extrapolación $\left(\frac{dN}{dt}\right)$ para dispersión nuclear en el punto $t = 0$, y la luminosidad obtenida de la normalización de Coulomb podemos obtener:

$$\sigma_T (1 + \rho^2)^{1/2} = \hbar c \left\{ \frac{16\pi}{L} \left(\frac{dN_n}{dt} \right)_{t=0} \right\}^{1/2} \quad (15)$$

Dado que el parámetro ρ toma valores pequeños a altas energías, el uso de una extrapolación de más bajas energías para ρ producirá una incertidumbre inferior al 1%

en la determinación de σ_T . En el caso que un experimento dado no alcance a registrar ángulos donde la dispersión de Coulomb tenga una contribución significativa requerirá hacer una medición adicional para la luminosidad (método dependiente de luminosidad), que se hace usualmente midiendo las características de los haces de partículas que colisionan, estas mediciones por lo general tienen incertidumbres altas (4% en el acelerador LHC y 13% en el acelerador TEVATRON) que afectan la precisión con que se pueda llegar a conocer σ_T [12]. Para evitar la dependencia de la luminosidad en la medición de σ_T se debe hacer una medición simultánea del número de colisiones elásticas (N_{el}) e inelásticas (N_{inel}) producidas en un intervalo de tiempo determinado, haciendo las correcciones respectivas a cada una de ellas por eficiencia, aceptación de los detectores usados, background y tiempos muertos producidos por el sistema de adquisición de datos. Con estos dos valores la sección eficaz total se puede escribir como:

$$\sigma_T = \sigma_{el} + \sigma_{inel} = \frac{N_{el}}{L} + \frac{N_{inel}}{L} \quad (16)$$

La dependencia de la luminosidad integrada L se puede evitar combinando esta última ecuación con la ecuación 15 (método independiente de la luminosidad):

$$\sigma_T = \frac{16\pi(\hbar c)^2}{1 + \rho^2} \frac{1}{N_{el} + N_{inel}} \left(\frac{dN_n}{dt} \right)_{t=0} \quad (17)$$

Realizando la misma aproximación que en la ecuación 13:

$$N_{el} = \frac{1}{B} \left(\frac{dN_n}{dt} \right)_{t=0} \quad (18)$$

N_{inel} incluye todas las topologías de las colisiones que no son elásticas, esto significa que se debe medir el número de colisiones donde ambos hadrones incidentes se rompen después de la colisión (colisiones no difractivas), donde alguno de los dos permanece intacto (colisiones difractivas simples) o donde ambos permanecen intactos después de la colisión perdiendo parte de su energía y generando nuevas partículas (colisiones doblemente difractivas). Los detectores centrales alrededor del punto de colisión con calorímetros y reconstrucción de vértices juegan un papel fundamental para la medición de N_{inel} [13–15], algunos experimentos que no han contado con estos sistemas centrales han tenido que requerir condiciones especiales del haz de partículas con el fin de sustraer los backgrounds de sus señales [16], [17]. Cuando se tienen muy altas luminosidades instantáneas, \mathcal{L} ($\mathcal{L} > 10^{32} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$) se puede explotar el fenómeno de “pile-up” para medir σ_{inel} : cuando dos conjuntos de hadrones cruzan el punto de interacción puede haber más de una colisión simultánea. La probabilidad de que ocurra un número n de colisiones inelásticas en un mismo cruce de conjunto de protones sigue la distribución de Poisson:

$$P(n, \mu) = \frac{\mu^n}{n!} e^{-\mu} \quad (19)$$

Donde $\mu = \mathcal{L}\sigma_{inel}\Delta t$, donde Δt corresponde a una ventana de tiempo muy corto, típicamente de 1 segundo. Se puede medir la probabilidad P para diferentes luminosidades instantaneas y diferente número de vértices primarios de interacción reconstruidos, n y de allí extraer σ_{inel} . Este método novedoso ha sido implementado por primera vez en el experimento CMS del acelerador LHC [13].

La Figura 7 muestra los datos de las secciones eficaces para colisiones pp y $\bar{p}p$ en función de la energía de centro de masa. A bajas energías ($\sqrt{s} < 30$ GeV) las secciones eficaces totales van decreciendo a medida que la energía aumenta. A energías $\sqrt{s} > 30$ GeV las secciones eficaces aumentan de manera logarítmica con la energía. A bajas energías σ_T^{pp} es mayor que $\sigma_T^{\bar{p}p}$ pero ambas convergen al mismo valor a medida que la energía aumenta, esto significa que los procesos de dispersión partónica varían a medida que la energía de colisión cambia. A bajas energías los quarks constituyentes de los hadrones (quarks de valencia) dominan la interacción, los canales de aniquilación quark-antiquark hacen que $\sigma_T^{\bar{p}p}$ sea mayor que σ_T^{pp} , a medida que la energía aumenta también se aumenta la probabilidad de fluctuaciones de gluones a pares quark-antiquark dentro del hadrón, generando quarks adicionales a los constituyentes (quarks del mar), estos gluones y quarks del mar dominan la interacción a altas energías, haciendo que las secciones eficaces hadrón-hadrón y hadrón-antihadrón converjan al mismo valor. Existen mediciones de σ_T^{pp} producidas en experimentos de rayos cósmicos, las cuales se caracterizan por sus altas incertidumbres debido a que las cantidades medidas en el experimento están indirectamente relacionadas con σ_T^{pp} . Entre estas cantidades están la composición de los rayos cósmicos y la composición molecular de la atmósfera. Se mide la sección eficaz inelástica para colisiones protón-aire y usando modelos para el chorro de partículas generadas se infiere σ_{inel} y σ_T^{pp} [18]. La Figura 9 corresponde a σ_T para colisiones $\pi^\pm p$ y $K^\pm p$ donde se verifica que todas las secciones eficaces hadrón-hadrón y antihadrón-hadrón convergen al mismo valor e incrementan con la energía de manera logarítmica en la misma proporción.

C. Cociente de la parte real a la parte imaginaria de la amplitud de dispersión, ρ

Del teorema óptico (ecuación 6) se deduce que la parte imaginaria de la amplitud de dispersión en la región frontal (ángulos de dispersión de cero) aumenta con la energía. Como veremos en la sección VI las propiedades de analiticidad y simetría de cruce de la amplitud de dispersión relacionan el cociente de la parte real a la imaginaria de la amplitud de dispersión en la región frontal, ρ , con la sección eficaz total, por lo tanto mediciones de ρ son complementarias y ayudan a entender el comportamiento de σ_T a altas energías.

El parámetro ρ aparece en los términos de dispersión nuclear y de interferencia nuclear-coulomb (ver ecuación 10). Dado que los valores de ρ por lo general

son pequeños ($\rho < 0,15$) el término de interferencia es el más sensible a ρ y es el que experimentalmente se usa para su medición. Experimentos cuyo objetivo es medir ρ necesitan alcanzar valores de t cercanos a la región de máxima interferencia nuclear-coulomb ($|t_{interf.}| \approx 10^{-3}$ (GeV/c)²) y medir $\frac{d\sigma}{dt}$, ρ se obtiene a partir del ajuste de la función de interferencia descrita en la ecuación 10 al $\frac{d\sigma}{dt}$ medido en el experimento.

La Figura 8 muestra los datos para ρ^{pp} y $\rho^{\bar{p}p}$. Los datos para colisiones pp son mas abundantes. Ambos, ρ^{pp} y $\rho^{\bar{p}p}$, convergen hacia un mismo valor a altas energías, con valores siempre por debajo de $\rho < 0,15$, lo que implica que a altas energías la parte imaginaria de la amplitud de dispersión domina ampliamente.

IV. CONFIGURACIÓN EXPERIMENTAL PARA MEDICIONES DE DISPERSIÓN ELÁSTICA

A medida que incrementa la energía de la colisión los valores de t (y por lo tanto de ángulos de dispersión θ) por debajo del mínimo de difracción, que son útiles para la medición de σ_T y ρ se hacen muy pequeños ($|t| < 0,5$ (GeV/c)² que corresponde a valores de θ de una fracción de miliradian). Se necesitan dispositivos y condiciones especiales del haz de partículas para poder detectar estos ángulos. Los dispositivos que se usan consisten en contenedores de acero que se incrustan dentro del tubo del acelerador y pueden ser reposicionados de manera remota hasta unos pocos milímetros del centro del haz de partículas, con una resolución de unos pocos micrómetros. Se ubican en posiciones longitudinales muy lejanas al punto de interacción con el fin de detectar partículas dispersadas que viajan dentro del tubo del acelerador [19]. Estos dispositivos sirven como ollas, dentro de las cuales se ubican los detectores que registran las coordenadas x, y de las partículas que llegan a ellos (con resoluciones típicas del orden de 100 μm). Los primeros dispositivos de este tipo fueron desarrollados en la década de 1970 por un grupo de la universidad de Roma para ser usados en el primer colisionador protón-protón del laboratorio CERN, desde entonces se les denomina "Ollas Romanas". Las ollas romanas cuentan con un sistema de fuelles que les permite cambiar su posición sin afectar el vacío del acelerador (ver Figura 2). El sistema de posicionamiento consiste en un motor de paso cuyo número de giros es calibrado para indicar la ubicación de la olla romana en milímetros. Para reducir las incertidumbres en la posición se usa por lo general un sistema adicional de sensores como por ejemplo transformadores diferenciables variables lineales (LVDT, por sus siglas en inglés). Para reducir el material que deben atravesar las partículas en su paso hacia el detector, a las ollas romanas se les coloca una ventana en frente del detector de menos de 100 micrones de grosor. Los detectores que se usan para el registro de las partículas deben ser de pequeñas dimensiones, tal que quepan dentro de la olla y cuentan con un sistema de pines que permitan

su correcta ubicación y alineación. Los detectores por lo general son de tres tipos: detectores gaseosos, fibras de centelleo o detectores de silicio. Adicional al detector de coordenadas de la partícula se debe contar con bloques centelladores que permitan hacer registro de tiempo de vuelo de la partícula desde el punto de interacción a la ubicación del detector.

Con el fin de etiquetar correctamente los eventos elásticos en colisionadores hadrónicos se colocan estaciones de ollas romanas de manera simétrica a ambos lados del punto de interacción, con por lo menos un par de estaciones a cada lado. En cada estación se debe contar como mínimo con un par de ollas romanas con sus respectivos detectores que se puedan acercar al haz de partículas ya sea en el plano vertical u horizontal. Se verifica la propiedad de colinearidad de los eventos elásticos (las dos partículas dispersadas después de la colisión deben viajar en direcciones opuestas con iguales ángulos de dispersión) en ollas romanas diagonalmente opuestas al punto de interacción para proceder con el registro de cada evento. Dada la óptica del acelerador de partículas, entre el punto de interacción y la ubicación del detector se pueden tener magnetos para enfocar el haz o desviar su trayectoria. Por esta razón las partículas no viajan en línea recta entre el punto de interacción y el detector. Si se conoce la óptica del haz, se puede establecer una relación entre las coordenadas de la partícula en un detector (x_i, y_i) y las coordenadas (x_0, y_0) y el ángulo de dispersión en el punto de interacción (θ_x, θ_y) :

$$\begin{aligned} x_i &= M_{x,i}x_0 + L_{x,i}\theta_x \\ y_i &= M_{y,i}y_0 + L_{y,i}\theta_y \end{aligned} \quad (20)$$

Donde $M_{x,i}$, $L_{x,i}$ ($M_{y,i}$, $L_{y,i}$) son elementos de transporte en el eje horizontal (vertical) para la localización del detector [10], los cuales son funciones de los campos eléctricos y magnéticos por los que atraviesa la partícula desde el punto de interacción hasta la ubicación del detector. En el caso que las coordenadas x_0, y_0 en el punto de interacción sean despreciables (que es lo que normalmente se espera ya que el punto de colisión corresponde al punto $(0,0)$), entonces el ángulo de dispersión se obtiene como el cociente de la coordenada medida en el detector sobre el elemento matricial L , esto es equivalente a determinar el ángulo como si la partícula hubiese viajado en línea recta una distancia longitudinal L_x (L_y) y una distancia lateral x (y), por esta razón a L_x (L_y) comunmente se le llama distancia efectiva en el eje x (y).

La Figura 2 muestra como ejemplo la configuración experimental para estudiar eventos elásticos de colisiones $\bar{p}p$ en el experimento D0 del acelerador TEVATRON [20]. El punto de interacción (PI) se encuentra ubicado en el centro del detector principal del experimento D0 (que no se incluye en el diagrama). Alrededor del punto de colisión se observa una serie de magnetos cuadrupolares usados para enfocar los haces de partículas en el PI. Un protón/antiprotón dispersado pasa a través de los magnetos cuadrupolares y llega a la primera estación de ollas romanas (ubicadas a 23 m del PI), posteriormente atraviesa

un separador electrostático, para mantener apartados los haces de protones y antiprotones fuera del punto de interacción, y arriba a una segunda estación (ubicada a 31 m del PI). Los registros de coordenadas de los detectores atravesados en ambas estaciones permiten reconstruir el ángulo de dispersión en el PI usando la ecuación 20 y teniendo conocimiento de los campos magnéticos y eléctricos producidos en los magnetos y en el separador. Las estaciones atravesadas por un antiprotón (protón) dispersado son llamadas A_1 (P_1) y A_2 (P_2). En cada estación hay 4 detectores (U,D se mueven sobre el eje vertical alrededor del haz, y O,I sobre el plano horizontal). Un evento elástico es etiquetado si hay un antiprotón atravesando dos detectores A_1 y A_2 , en coincidencia con un protón atravesando dos detectores P_1 y P_2 , exigiendo que las coincidencias de los detectores cumplan con la condición de colinearidad.

La Figura 3 muestra una comparación típica de las coordenadas verticales para antiprotones y protones dispersados en la misma colisión. Se observa la correlación de las coordenadas correspondientes a la condición de colinearidad pero adicionalmente se observan eventos de background superpuestos a la banda de correlación, que se deben sustraer en el análisis de datos. El ancho de la banda de correlación es consecuencia de la divergencia de los haces de partículas y de la resolución de los detectores.

En los colisionadores de partículas de altas energías se tiene como objetivo principal la búsqueda y estudio de eventos con secciones eficaces muy bajas, lo que requiere tomar datos con las luminosidades más altas posibles. Para incrementar la luminosidad se usan los magnetos cuadrupolares para enfocar al máximo los haces de partículas y reducir sus áreas transversales en el punto de colisión. Esto tiene como efecto que las áreas transversales del haz en otros puntos del acelerador se incrementan haciendo que las ollas romanas no puedan ser ubicadas tan cerca al centro del haz de partículas como se requiere. Para la toma de datos de colisiones elásticas, por lo tanto, se requiere lo opuesto: bajas luminosidades a través de un menor enfoque en el punto de colisión, de esta manera se reduce el área transversal en los puntos donde están ubicadas las estaciones de las ollas romanas permitiendo que se puedan ubicar más cerca al centro del haz de partículas.

V. MODELOS FENOMENOLÓGICOS

Dado que la cromodinámica cuántica perturbativa no puede explicar dispersión elástica, se recurre a la expansión de la amplitud de dispersión en ondas parciales para extender las propiedades de unitariedad, analiticidad y simetría de cruce de la amplitud de dispersión a dominios de momento angular mas amplios, como por ejemplo valores continuos y valores complejos. Si se ignora spin la amplitud de dispersión se puede expandir

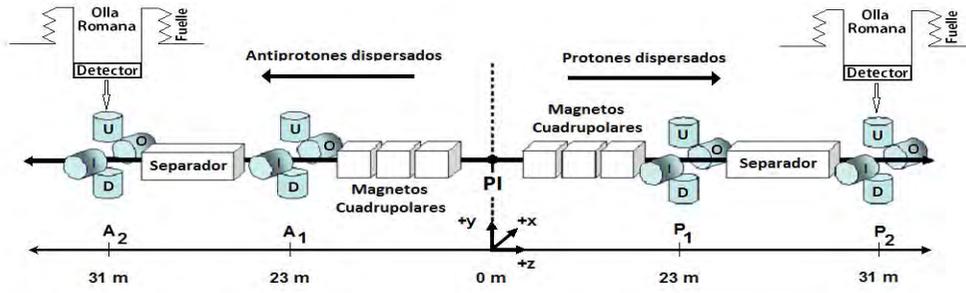


Figura 2: Esquema de las estaciones de ollas romanas (A_1 , A_2 , P_1 , P_2) del experimento D0 del laboratorio Fermilab. Las letras U, D, I, O indican los detectores que se pueden mover cerca al haz de partículas.

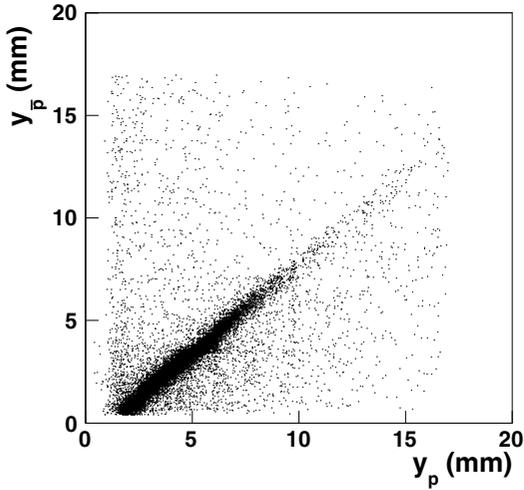


Figura 3: Comparación de coordenadas verticales (medidas desde la base del detector) para coincidencias entre detectores de protones y antiprotones. La banda oscura corresponde a la correlación de las coordenadas debido a que el ángulo de dispersión de ambas partículas que colisionan elásticamente es el mismo. Los puntos superpuestos a la banda de correlación corresponden a eventos de background.

como una serie de polinomios de Legendre:

$$f(s, t) = \frac{1}{k} \sum_{\ell=0}^{\infty} (2\ell + 1) P_{\ell}(\cos\theta) a_{\ell}(k) \quad (21)$$

Donde s , t son las variables de Mandelstam y $a_{\ell}(k)$ es la amplitud de dispersión para la ℓ -ésima onda parcial. Esta última se puede determinar a partir del corrimiento de fase δ_{ℓ} de la onda parcial con momento angular ℓ :

$$a_{\ell}(k) = \frac{e^{2i\delta_{\ell}-1}}{2i} \quad (22)$$

La propiedad de unitariedad de $f(s, t)$ garantiza que la suma de las secciones eficaces de dispersión σ_{ℓ} para cada onda parcial nos debe dar como resultado la sección eficaz total ($\sigma_T = \sum_{\ell} \sigma_{\ell}$), en otras palabras la propiedad de unitariedad exige que la suma de las probabilidades de dispersión de cada onda parcial sea igual o menor que la unidad. La propiedad de analiticidad se refiere a que la amplitud de dispersión se puede expandir en una serie de potencias convergente y por lo tanto es infinitamente diferenciable, excepto en un número finito de puntos. La simetría de cruce se refiere a que la observación del proceso de interacción $a + b \rightarrow c + d$ implica la existencia de las interacciones donde se cruza la partícula al otra lado de la reacción cambiándola por su antipartícula: $a + \bar{c} \rightarrow \bar{b} + d$, $\bar{d} + \bar{c} \rightarrow \bar{b} + \bar{a}$, $a + \bar{c} \rightarrow \bar{b} + c + d$, etc.

A. Modelos Geométricos

La descripción de una interacción desde mecánica clásica se hace a través del parámetro de impacto b que corresponde a la distancia perpendicular entre la trayectoria inicial de movimiento de la partícula proyectil y el centro dispersor. Los modelos geométricos que describen dispersión elástica están basados en la representación de la amplitud de dispersión en el espacio del parámetro de impacto [21] y en la propiedad de unitariedad de la amplitud de dispersión. A altas energías la amplitud de dispersión debe tener contribuciones de ondas parciales con valores muy grandes de ℓ , por lo que se hace conveniente cambiar la suma discreta de ondas parciales por una integral ($\sum_{\ell} \rightarrow \int d\ell$), para esto usamos la relación clásica entre momento angular y parámetro de impacto y por conveniencia adicionamos a ℓ un factor de $1/2$ que tiene un efecto despreciable para valores grandes de ℓ : $\ell + \frac{1}{2} = bk$. Igualmente podemos usar la siguiente aproximación para los polinomios de Legendre: para $\ell \rightarrow \infty$, $P_{\ell}(\cos\theta) \rightarrow J_0(qb)$, con $q^2 = -t$ y t definido en la ecuación 2 (\vec{q} es el momento transferido). Poniendo estas aproximaciones juntas podemos reescribir la amplitud de

dispersión en términos de una doble integral:

$$f(s, t) = \int_0^\infty 2kbJ_0(qb)a(b, s)db \quad (23)$$

$$= \frac{k}{\pi} \int_0^\infty bdb \int_0^{2\pi} a(b, s)e^{i\vec{q}\cdot\vec{b}}d\phi \quad (24)$$

Donde se ha sustituido $a_l(k)$ por $a(b, s)$ y en el último término de la derecha se usó la representación integral de la función de Bessel $J_0(qb)$ (ϕ hace referencia al ángulo azimutal). La parte fenomenológica entra en modelar la función $a(b, s)$ que describa correctamente los datos experimentales. Siguiendo la relación 22, $a(b, s)$ se puede escribir como:

$$a(b, s) = \frac{1}{2i} \left(e^{-\Omega(b, s)} - 1 \right) \quad (25)$$

Donde $\Omega(s, b)$ corresponde a la opacidad que presenta el hadrón para un parámetro de impacto b . La amplitud de dispersión se escribe como $(d^2\vec{b} = bdbd\phi)$:

$$f(s, t) = \frac{ik}{2\pi} \int d^2\vec{b}e^{i\vec{q}\cdot\vec{b}} \left(1 - e^{-\Omega(b, s)} \right) \quad (26)$$

Diferentes modelos de estructura del hadrón se ven reflejados en la función $\Omega(b, s)$ [22–25]. Siguiendo las relaciones 6 y 12 y usando la ecuación 26 podemos escribir:

$$\sigma_T = 2 \int \Re\{1 - e^{-\Omega(b, s)}\}d^2\vec{b} \quad (27)$$

$$\sigma_{el} = \int |1 - e^{-\Omega(b, s)}|^2d^2\vec{b} \quad (28)$$

Un modelo sencillo es asumir que el hadrón es un disco negro de radio R , en este caso $\Omega \rightarrow \infty$ y $\sigma_T = 2\pi R^2$, $\sigma_{el} = \pi R^2$, es decir que el caso en que asintóticamente con la energía el hadrón se llegue a comportar como un disco negro se esperaría la sección eficaz elástica sea la mitad de la sección eficaz total. Existen trabajos que indican que con los datos existentes de σ_T ya se puede confirmar este comportamiento [26].

B. Teoría de Regge y el Pomerón

La teoría de Regge está basada en extender la expansión en ondas parciales al plano complejo de momento angular. Usamos la transformación de Sommerfeld-Watson [27] para este propósito:

$$f(s, t) = \frac{1}{2ik} \oint_C (2\ell + 1) \frac{a(\ell, s)}{\text{sen}(\pi\ell)} P(\ell, s, t)d\ell \quad (29)$$

El contorno de integración C rodea el eje real positivo de ℓ , como se indica en la Figura 4. Las funciones $a(\ell, s)$ y $P(\ell, s, t)$ son las continuaciones de $a_\ell(k)$ y los polinomios de Legendre P_ℓ a valores complejos de ℓ . Como los polos

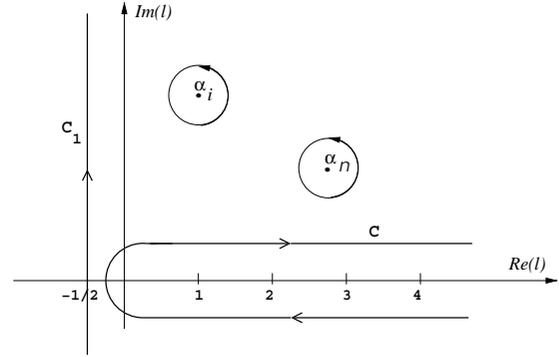


Figura 4: Contornos de integración para la Transformación de Sommerfeld-Watson donde se indican dos polos de Regge.

del integrando se encuentran en valores enteros de ℓ , por el teorema de residuos obtenemos la expansión original en ondas parciales dada por en la ecuación 21.

Si deformamos el contorno C a C_1 , donde C_1 va desde un valor de $1/2 - i\infty$ a $1/2 + i\infty$ (una línea vertical paralela al eje imaginario con $\Re(\ell) = 1/2$), el nuevo contorno C_1 puede encerrar polos de $a(\ell, s)$. Si el i -ésimo polo ubicado en $\ell = \alpha(t)$ (llamado polo de Regge) tiene un residuo $\beta_i(t)$ podemos reescribir la amplitud de dispersión como :

$$f(s, t) = \frac{1}{2ik} \int_{-\frac{1}{2}-i\infty}^{-\frac{1}{2}+i\infty} (2\ell + 1) \frac{a(\ell, s)}{\text{sen}(\pi\ell)} P(\ell, s, t)d\ell + \sum_i \frac{\beta_i(t)}{\text{sen}(\pi\alpha_i(t))} P(\alpha(t), s, t) \quad (30)$$

En el límite cuando $s \rightarrow \infty$ la integral de la expresión anterior tiende a cero y la función $P(\alpha(t), s, t) \xrightarrow{s \rightarrow \infty} s^{\alpha(t)}$, por lo que la amplitud de dispersión se simplifica a:

$$f(s, t) \xrightarrow{s \rightarrow \infty} \beta(t)s^{\alpha(t)} \quad (31)$$

Donde $\beta(t)$ contiene todos los factores que dependen de t . Para valores reales y positivos de t los polos de Regge representan resonancias y estados ligados, $\alpha(t)$ representa una trayectoria de Regge (o Reggeón) que se interpola entre las diferentes resonancias o estados ligados y que sigue una línea recta: $\alpha(t) = \alpha(0) + \alpha't$.

Si usamos esta trayectoria de Regge y la ecuación 8 podemos escribir la sección diferencial elástica como:

$$\frac{d\sigma_{el}}{dt} = F(t)s^{2\alpha(0)-2}e^{-2\alpha't|\ln(s)} \quad (32)$$

Donde $F(t)$ tiene en cuenta los residuos. También podemos usar el teorema óptico para obtener:

$$\sigma_T \xrightarrow{s \rightarrow \infty} s^{\alpha(0)-1} \quad (33)$$

El intercepto de la trayectoria de Regge es el que contribuye a la sección eficaz total. Las trayectorias de Regge

conocidas hasta el momento tienen interceptos $\alpha(0) < 1$, lo que implicaría que σ_T decrecería con la energía, lo cual está en contraposición con las observaciones experimentales que indican que σ_T decrece con la energía hasta llegar a una región plana y luego comienza a aumentar. Para conciliar la teoría de Regge con los experimentos se hace necesario la existencia de una trayectoria de Regge con intercepto $\alpha(0) > 1$, a esta trayectoria se le llama Pomerón, la cual hasta el momento no se puede asociar con ninguna partícula y es tema de estudio tanto a nivel teórico como experimental. Una indicación de que efectivamente el Pomerón es una buena explicación para el crecimiento de σ_T son las parametrizaciones propuestas por Donachie y Landshoff [28] donde los datos experimentales de σ_T son correctamente descritos a través de la suma de un Reggeón más un Pomerón. Existen algunos modelos teóricos que predicen la existencia de más de un Pomerón [29] y la existencia de un compañero del Pomerón llamado Odderón [30] para el cual no hay evidencia experimental hasta el momento, pero que puede tener consecuencias en el comportamiento asintótico de σ_T .

C. Teoremas asintóticos

A partir de la expansión en ondas parciales de la amplitud de dispersión y de sus propiedades de unitariedad se puede encontrar una cota para el crecimiento de la sección eficaz total con la energía, que se le llama el límite de Froissart, el cual indica que para que se mantenga unitariedad la sección eficaz total no puede crecer más rápido que $\ln^2(s)$ [3]:

$$\sigma_T < \frac{\pi}{m_\pi} \ln^2(s) \quad (34)$$

Donde m_π es la masa del pión. Las observaciones hechas con los últimos aceleradores de partículas, en el rango de energías de TeV, han conducido al debate de si existe evidencia suficiente de la saturación del límite de Froissart y qué implicaciones tendría esta saturación [31].

El comportamiento asintótico de los parámetros que describen dispersión elástica se convierten en una herramienta fundamental para restringir los diferentes modelos fenomenológicos. Este comportamiento asintótico se puede determinar a partir de las propiedades de la amplitud de dispersión. El teorema de Pomeranchuk [8] es una de las restricciones más importantes que deben cumplir los diferentes modelos. Este teorema predice que a altas energías las secciones eficaces para colisiones hadrón-hadrón y antihadrón-hadrón (por ejemplo pp y $\bar{p}p$) convergen a un mismo valor. La predicción del teorema de Pomeranchuk es ratificada por los datos actuales, como se puede ver en la Figura 7.

VI. RELACIONES DE DISPERSIÓN

A partir del teorema de Cauchy se pueden derivar relaciones de dispersión integrales que establecen ecuaciones entre las partes real e imaginaria de la amplitud de dispersión [32]:

$$\Re f(E) = \frac{1}{\pi} P \int_m^\infty \left(\frac{\Im m f(E')}{E' - E} + \frac{\Im m f(-E')}{E' + E} \right) dE' \quad (35)$$

Donde P antes de la integral significa el valor principal de Cauchy.

Si consideramos la amplitud de dispersión, f , como compuesta de dos términos con paridad par (f_+) e impar (f_-), podemos escribir la amplitud de dispersión para colisiones hadrón-hadrón (ab) y antihadrón-hadrón ($\bar{a}b$) como:

$$f_{ab} = f_+ + f_- \quad (36)$$

$$f_{\bar{a}b} = f_+ - f_- \quad (37)$$

Se puede demostrar que las amplitudes f_+ , f_- cumplen con las siguientes relaciones de dispersión en términos de derivadas [33, 34]:

$$\Re f_+ = s^\alpha \tan \left[\frac{\pi}{2} \left(\alpha - 1 + \frac{d}{d \ln(s)} \right) \right] \frac{\Im m f_+}{s^\alpha} \quad (38)$$

$$\Re f_- = s^\alpha \tan \left[\frac{\pi}{2} \left(\alpha + \frac{d}{d \ln(s)} \right) \right] \frac{\Im m f_-}{s^\alpha} \quad (39)$$

En este trabajo usaremos las relaciones de dispersión integrales para poder estudiar simultáneamente los datos de σ_T y ρ .

VII. ESTUDIO DE LA SECCIÓN EFICAZ DIFERENCIAL

En este trabajo presentamos un estudio modelo-independiente de $d\sigma/dt$. Basados en el hecho que $d\sigma/dt$ muestra un decaimiento exponencial pronunciado antes del mínimo de difracción y un segundo decaimiento exponencial, menos pronunciado, después del mínimo de difracción. Podemos construir una amplitud de dispersión como la suma de dos términos exponenciales con diferente pendiente nuclear y que difieren de una fase entre ellas. La interferencia que se presenta entre los dos términos exponenciales puede explicar la profundidad del mínimo de difracción y también porque esa profundidad es diferente para colisiones hadrón-hadrón y antihadrón-hadrón. La amplitud de dispersión la podemos escribir como:

$$f(s, t) = \frac{k\sigma_T}{4\pi\hbar c} (1 + \rho^2)^{1/2} \left(e^{-B_1 t/2} + C e^{-B_2 t/2} e^{i\phi} \right) \quad (40)$$

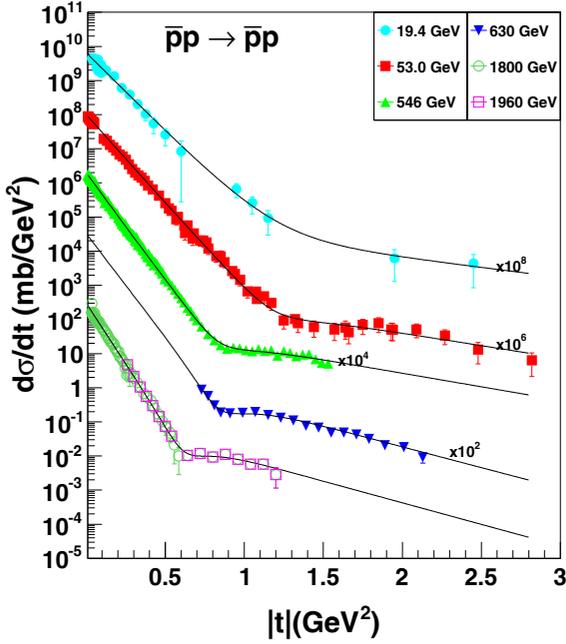


Figura 5: $d\sigma/dt$ para colisiones $\bar{p}p$ y sus correspondientes ajustes. La escala vertical ha sido normalizada de manera diferente para diferenciar los datos de cada energía

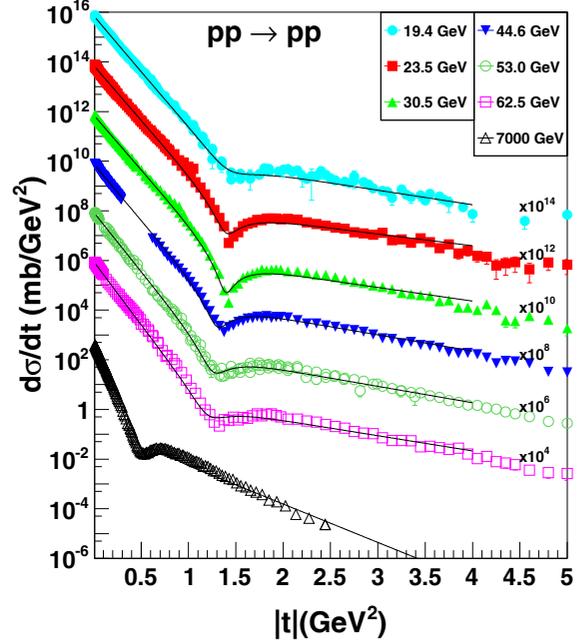


Figura 6: $d\sigma/dt$ para colisiones pp y sus correspondientes ajustes. La escala vertical ha sido normalizada de manera diferente para diferenciar los datos de cada energía

Nuestra motivación para proponer esta amplitud de dispersión es meramente empírica, al igual que en los trabajos desarrollados en [7] y [35]. Esta parametrización también converge a la ecuación 10 cuando solo un decaimiento exponencial es considerado para $d\sigma/dt$. Sin embargo, términos similares para la amplitud de dispersión se obtienen a partir del modelo quark-diquark [36], [37].

En las Figuras 5 y 6 se presentan los resultados a los ajustes hechos a los datos de $d\sigma/dt$ para colisiones $\bar{p}p$ y pp respectivamente, donde se demuestra que la parametrización propuesta describe correctamente los datos desde energías de colisión de 19 GeV hasta 7 TeV para colisiones pp (desde 19 GeV hasta 1.96 TeV para colisiones $\bar{p}p$). Las energías de 19 GeV y 53 GeV, donde se tienen datos para ambos tipos de colisiones, muestran que las pendientes nucleares antes y después del mínimo de difracción son similares, dentro de las barras de error, para colisiones pp y $\bar{p}p$. La diferencia en $d\sigma/dt$ para ambos tipos de colisiones se presenta en el mínimo de difracción que en un caso es constructiva ($\bar{p}p$) y en el otro caso es destructiva (pp).

VIII. ESTUDIO DE LA SECCIÓN EFICAZ TOTAL

En el presente trabajo estudiamos el comportamiento logarítmico de la sección eficaz sin estar atados a un modelo fenomenológico en particular, en vez de esto usamos la parametrización propuesta por Amaldi [2]:

$$\sigma = A_1 E^{-N_1} \pm A_2 E^{-N_2} + C_0 + C_1 \ln^\gamma(s) \quad (41)$$

Donde el signo “+” (“-”) se usa para obtener $\sigma_{\bar{p}p}$ (σ_{pp}). Los dos primeros términos son usados para describir el comportamiento de la sección eficaz a baja energía. El último término describe el comportamiento asintótico de σ_T .

Dado que σ_T es proporcional a la parte imaginaria de la amplitud de dispersión, y el parámetro ρ está definido como el cociente entre la parte real sobre la parte imaginaria de la amplitud de dispersión, usando relaciones de dispersión integrales podemos obtener el producto $\rho\sigma$, para colisiones pp como:

$$k\rho\sigma = B + \frac{E}{\pi} P \int_m^\infty \left(\frac{\sigma_{pp}}{E'(E' - E)} - \frac{\sigma_{\bar{p}p}}{E'(E' + E)} \right) k' dE' \quad (42)$$

De manera similar se obtiene una ecuación para el producto $\rho\sigma$ para colisiones $\bar{p}p$ (intercambiando σ_{pp} por $\sigma_{\bar{p}p}$ en el integrando).

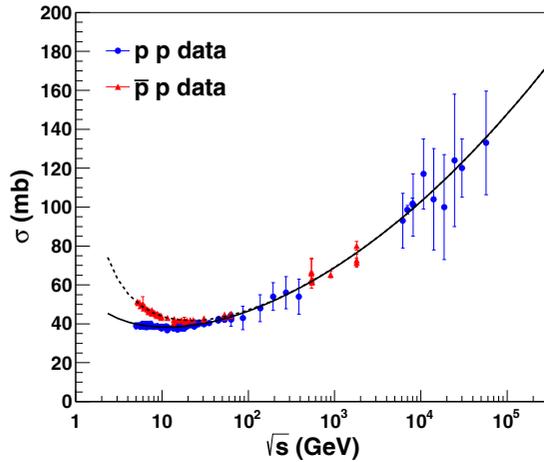


Figura 7: σ_T para colisiones pp y $\bar{p}p$ y sus correspondientes ajustes.

Las ecuaciones 41 y 42 se pueden usar para hacer un ajuste simultáneo por el método de mínimos cuadrados (usando el paquete MINUIT [38]) a los datos de σ_T y ρ para las colisiones pp , $\bar{p}p$, $\pi^\pm p$ y $K^\pm p$ [39], [40]. La parametrización usada no describe la región de energías donde se presentan resonancias de σ_T , por eso sólo se incluyen datos con energías mayores a $\sqrt{s} = 5$ GeV. En la referencia [41] se reporta un trabajo similar, usando relaciones de dispersión diferenciales, solo para colisiones pp y $\bar{p}p$. El aporte del presente estudio es incluir los datos de otras reacciones y el uso de relaciones de dispersión integrales. Dado que nuestra muestra de datos es mayor, especialmente a bajas energías, el estudio que se presenta permite obtener con mayor precisión los parámetros de la parametrización de Amaldi.

En total se consideraron 575 datos para el fit simultáneo, con 18 parámetros libres. Los datos fueron obtenidos de la base de datos de Durham [42] y del grupo de datos de partículas [43]. Siguiendo los resultados de Donnachie y Landshoff [28], quienes fueron los primeros en demostrar que las secciones eficaces de diferentes procesos hadrón - hadrón incrementan en la misma proporción con la energía, se asumió en los fits realizados como parámetros comunes, para todos los tres tipos de reacción estudiada, los exponentes de la parametrización de Amaldi: N_1 , N_2 , γ . Los resultados obtenidos indican que la parametrización de Amaldi describe apropiadamente los datos experimentales ($\chi^2/\text{grado de libertad} = 1,1$), los cuales son compatibles con un crecimiento con la energía para σ_T como $\ln^2(s)$ ($\gamma = 2, 14 \pm 0, 15$) por lo que se concluye que a altas energías σ_T para colisiones hadrón-hadrón y antihadrón-hadrón crece a la máxima tasa esperada por el límite de Froissart pero no hay evidencia experimental suficiente que permita concluir que este límite se viole. Aunque el valor de σ obtenido está por encima de 2,0, la incertidumbre aún

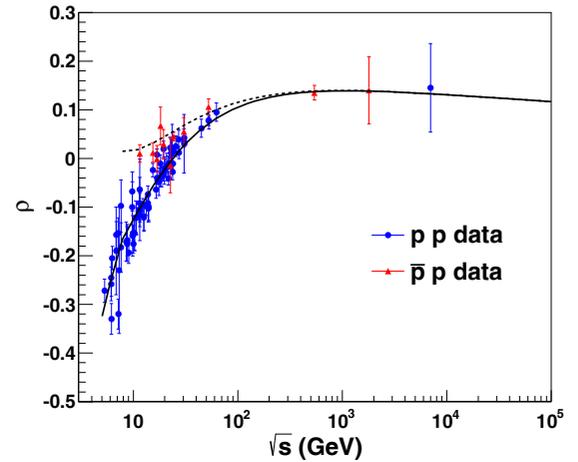


Figura 8: Parámetro ρ para colisiones pp y $\bar{p}p$ y sus correspondientes ajustes.

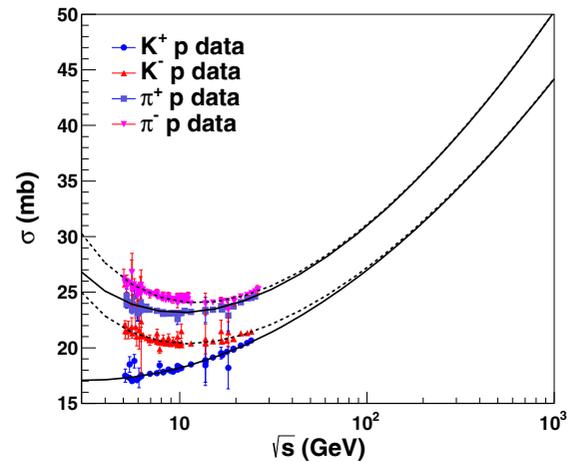


Figura 9: Datos de σ_T para colisiones πp y Kp y sus correspondientes ajustes.

lo hace estadísticamente compatible con 2,0.

A bajas energías las secciones eficaces π^+p y π^-p difieren entre ellas por los canales adicionales de aniquilación de los quarks u y \bar{u} (presentes en la reacción π^-p) que tienen mayor contribución que los canales de aniquilación entre quarks d y \bar{d} . En el caso de colisiones Kp los canales de aniquilación quark-antiquark se reducen y además intervienen quarks tipo s o \bar{s} en la reacción, por esta razón la sección eficaz es más baja que en colisiones πp y pp , como se muestra en la Figura 9.

Aunque se usaron los datos de ρ para colisiones πp y Kp no se incluye una gráfica dado que son muy pocos los datos que existen. La tabla I presenta el valor de los parámetros que mejor se ajustan a los datos con sus respectivas incertidumbres. Los resultados de los

Tabla I: Valores de los parámetros con el mejor ajuste a los datos experimentales ($\chi^2/\text{grado de libertad} = 1.1$).

	Valor		Valor
N_1	$0,39 \pm 0,05$	A_2^π	$3,61 \pm 0,12$
N_2	$0,50 \pm 0,01$	C_0^π	$15,84 \pm 1,91$
γ	$2,14 \pm 0,15$	C_1^π	$0,12 \pm 0,05$
A_1^p	$40,5 \pm 1,27$	B^π	$-19,21 \pm 4,78$
A_2^p	$20,4 \pm 0,74$	A_1^K	$11,33 \pm 1,31$
C_0^p	$28,5 \pm 2,85$	A_2^K	$8,15 \pm 0,29$
C_1^p	$0,14 \pm 0,07$	C_0^K	$13,93 \pm 1,29$
B^p	$-11,4 \pm 7,67$	C_1^K	$0,11 \pm 0,05$
A_1^π	$21,08 \pm 1,23$	B^p	$-25,4 \pm 6,54$

ajustes permiten hacer una extrapolación a la energía de 14 TeV, correspondiente a la energía de diseño del acelerador LHC y a la cual se espera tomar datos en el año 2015. La predicción para σ_T^{pp} que se obtiene es: $\sigma_T^{pp} = 109,1 \pm 1,6$ mb. A esta energía los dos primeros términos de la parametrización de Amaldi tienen una contribución despreciable ($\approx 0,03\%$), lo que indica que el comportamiento asintótico está únicamente dictado por el término logarítmico.

IX. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se ha hecho una corta revisión de dispersión elástica y secciones eficaces totales hadrón-hadrón y antihadrón-hadrón. El estudio realizado de $d\sigma/dt$ para colisiones $\bar{p}p$ y pp permite corroborar que los datos experimentales son adecuadamente descritos por una amplitud de dispersión compuesta por dos términos exponenciales que difieren en una fase. El término de interferencia que resulta por la diferencia de fase es el que determina la forma del mínimo de difracción, que

es diferente para colisiones hadrón-hadrón y antihadrón-hadrón. El estudio realizado a las secciones eficaces totales para las reacciones $\bar{p}p$, pp , $\pi^\pm p$, $K^\pm p$ permite concluir que las secciones eficaces para estos procesos tienen la misma tasa de crecimiento a altas energías y que el valor de la sección eficaz depende del tipo de quarks que intervienen en la reacción, por esta razón las secciones eficaces para colisiones Kp son más bajas que en el caso πp y este último a su vez tiene una sección eficaz más baja que en el caso pp , dado que hay menor número de quarks interviniendo en la reacción. Se demostró en el presente trabajo que el incremento de la sección eficaz total con la energía, a altas energías, se puede describir como un término de la forma $\ln^\gamma(s)$ donde γ es compatible, dentro de su incertidumbre, con el valor de 2,0, por lo que se concluye que los datos experimentales indican que la sección eficaz total incrementa a altas energías a la tasa máxima que permite la condición de unitariedad (descrita por el límite de Froissart) y no existe evidencia experimental de violación del límite de Froissart. Los datos que se tomen a la energía de centro de masa de 14 TeV, en el acelerador LHC, serán fundamentales para reducir la incertidumbre del parámetro γ . Actualmente los datos a altas energías provienen, en su mayoría de mediciones con rayos cósmicos, que presentan incertidumbres muy altas. Finalmente, se ha hecho una predicción para σ_T^{pp} a la energía de centro de masa de 14 TeV de 109 mb con una incertidumbre de 1,5 %.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a COLCIENCIAS, a la Facultad de Ciencias y al Departamento de Física de la Universidad de los Andes por la financiación a las actividades de investigación del grupo de Altas Energías.

-
- [1] J. Forshaw and D.A. Ross, *Quantum Chromodynamics and the Pomeron* (Cambridge University Press, Cambridge, 1997).
 - [2] U. Amaldi *et al.*, Phys. Lett. B **66**, 390 (1977).
 - [3] M. Froissart, Phys. Rev. **123**, 1053 (1961).
 - [4] G. Antchev *et al.*, Europhys. Lett. **101**, 21002 (2013).
 - [5] G. Antchev *et al.*, Europhys. Lett. **101**, 21004 (2013).
 - [6] G. Antchev *et al.*, Phys. Rev. Lett. **111**, 012001 (2013).
 - [7] R. Phillips, V. Barger, Phys. Lett. B **46**, 412 (1973).
 - [8] M. Block, Phys. Rep. **436**, 71 (2006).
 - [9] G. B. West, and D. Yennie, Phys. Rev. **172**, 1413 (1968).
 - [10] M. G. Minty and F. Zimmermann, *Measurement and Control of Charged Particle Beams* (Springer-Verlag, Berlin, 2003).
 - [11] E. Martynov, arXiv:1305.3093 (2013).
 - [12] T. Andeen *et al.*, FERMI LAB-TM-2365 (2007).
 - [13] S. Chatrchyan *et al.* (CMS Collaboration), Phys. Lett. B **722**, 5 (2013).
 - [14] M. S. Alam *et al.* (ATLAS Collaboration), Nature Commun. **2**, 463 (2011).
 - [15] F. Abe *et al.* (CDF Collaboration), Phys. Rev. D **50**, 5550 (1994).
 - [16] N. Amos *et al.* (E710 Collaboration), Phys. Lett. B **243**, 158 (1990).
 - [17] C. Avila *et al.* (E811 Collaboration), Phys. Lett. B **445**, 419 (1999).
 - [18] P. Abreu *et al.* (Auger Collaboration), Phys. Rev. Lett. **109**, 062002 (2012).
 - [19] U. Amaldi *et al.*, Phys. Lett. B **44**, 112 (1973).
 - [20] V. M. Abazov *et al.*, (D0 Collaboration), Phys. Rev. D **86**, 012009 (2012).
 - [21] V. Barone and E. Predazzi, *High Energy Particle Diffraction* (Springer-Verlag, Berlin, 2002).
 - [22] U. Amaldi, K. R. Schubert, Nucl. Phys. B **166**, 301 (1980).
 - [23] V. Anisovich, and V. Nikonov, arXiv:1306.1735 (2013).

- [24] P. Lipari, and M. Lusignoli, arXiv:1305.7216 (2013).
- [25] C. Bourrely, J. Soffer, and T.T. Wu, Eur. J. Phys. C **28**, 97 (2003).
- [26] M. block, and F. Halzen, arXiv:1109.2041v1 (2011).
- [27] P. D. B. Collins, *An Introduction to Regge theory and high energy physics* (Cambridge university press, Cambridge, 1977).
- [28] A. Donachie, and P. Landshoff, Phys. Lett. B **296**, 227 (1992).
- [29] V. A. Petrov, and A. Prokudin, arXiv:1212.1924 (2012).
- [30] L. Jenkovszky, A. Lengyel, and D. Lontkovskyi, arXiv:1105.1202 (2011).
- [31] M. Block, L. Durnd, P. Ha, and D. Mckay, arXiv:1302.6119 (2013).
- [32] J. R. Cudell, E. Martynov, and O. Selyugin, arXiv:0307254v1 (2003)
- [33] K. Kang, and B. Nicolescu, Phys. Rev. D **11**, 2461 (1975).
- [34] R. Avila, J. Menon, Nucl. Phys. A **744**, 249 (2004).
- [35] A. Grau, S. Pacetti, G. Pancheri, and Y. Sristava, Phys. Lett. B **714**, 70 (2012).
- [36] R. Jakob, Phys. Rev. D **50**, 5647 (1994).
- [37] V. Grichine, N. Starkov, and N. Zotov, arXiv:1212.2111 (2012).
- [38] F. James, MINUIT reference Manual, CERN Program Library Long Write up, version 94.1 (1998).
- [39] J. Benitez, *Sección eficaz total en los colisionadores LHV y VLH*, Tesis Universidad de los Andes, Colombia, 539.721, B253, 2001).
- [40] L. Gómez, *Estudio del comportamiento logarítmico de la sección eficaz hadrónica para energías del LHC*, Tesis de maestría, Universidad de los Andes, Colombia, 539.7216, G552MF, 2008).
- [41] M. Menon, and G. Silva, arXiv:1212.5096 (2013).
- [42] Durham database group, M. Whalley *et al.*, <http://durpdg.dur.ac.uk/hepdata/>
- [43] J. Beringer *et al.* (Particle Data Group), Phys. Rev. D **86**, 010001 (2012).

La Superconductividad: sus orígenes, sus teorías, sus problemas candentes hoy.

Rafael Baquero

Departamento de Física, Cinvestav, San Pedro Zacatenco, Gustavo A. Madero, México D.F.

Resumen

En este trabajo doy un breve panorama de los orígenes de la superconductividad, sus características y las teorías que han podido explicar con mucho éxito la llamada superconductividad convencional. Me refiero luego a la superconductividad de alta temperatura crítica y menciono algunos de los problemas de interés en la investigación actual.

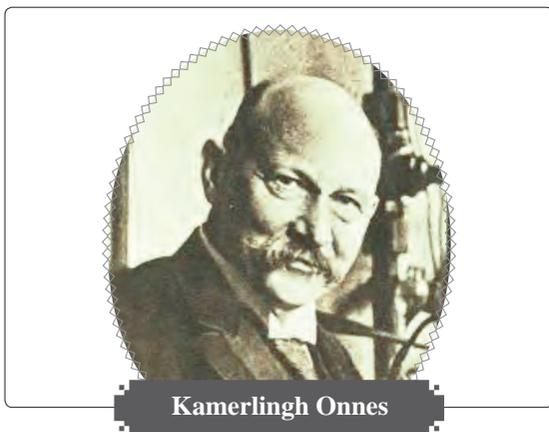
Superconductivity: discovery, theories and some topics of current research

Abstract

In this work I briefly refer to the origins of superconductivity, to its characteristics and to the theories that explained very well the so call conventional superconductivity. I further deal with the new high temperature superconductivity and mention briefly some of the problems of interest in the research in the field nowadays.

1. Introducción

Este artículo está dirigido a un público general pero puede ser útil para personas más familiarizadas con el tema. El 8 de abril de 1911, K. Onnes (1853-1926) descubrió el efecto llamado superconductividad [1, 2]. La superconductividad se descubrió en metales. Un cristal metálico está compuesto por iones (átomos que han perdido electrones) que vibran alrededor de posiciones determinadas (como los vértices en un cubo) y electrones libres que circulan por el espacio libre entre ellos. Intercambian energía en unidades llamadas fonones (ver abajo). Explicar la física de este fenómeno ha constituido un reto intelectual desde su mismo comienzo.



Fue tan solo hacia 1957, a más de 45 años de su descubrimiento, que surgió la primera teoría capaz de dar cuenta de ella. Y es que la superconductividad es un fenómeno cuántico macroscópico que requirió, para su explicación, de la aparición de la Mecánica cuántica ocurrida hacia 1927, de la teoría cuántica del campo, del descubrimiento del Principio de Pauli y de la superficie de Fermi en los metales, hechos que no se conocieron y conjuntaron cabalmente sino hacia la década de los cincuentas del Siglo XX. La aparición del efecto isótopo que consiste en que la temperatura crítica, T_c , más abajo de la cual aparece la superconductividad, depende de la masa del isótopo (átomo idéntico pero con diferente masa). Este hecho indicó el camino para describir el fenómeno como un efecto de interacción entre los electrones y la red (electrón-fonón) descrita por Frölich [3]. Pero fue solo cuando Cooper [4] describió el efecto que una atracción de cualquier origen tiene sobre un par de electrones situados sobre un mar de Fermi (ver más abajo) que Bardeen comprendió que estaba enfrente de la clave de la superconductividad. Así surgió la Teoría BCS [5] y muy poco después, su extensión, las ecuaciones de Eliashberg [6] que dieron cuenta exacta de todos los superconductores convencionales. En 1986, cuando se celebraban los 75 años

Correspondencia:

Rafael Baquero, rbaquero@fis.cinvestav.mx

Recibido: 26 de octubre de 2013

Aceptado: 7 de mayo de 2014

del descubrimiento de la superconductividad, el fenómeno se conocía bien, las aplicaciones tecnológicas posibles habían sido realizadas, esencialmente, y, lo bajo de las temperaturas críticas a las cuales el fenómeno aparecía (siempre menores a 23K) determinaban que nuevas aplicaciones fuesen económicamente desventajosas. La superconductividad como tema de estudio, desaparecía. Todo estaba hecho en este campo. No había nada que investigar.

En ese mismo año de 1986, sucedió algo inusitado, tremendo, impresionante. Simplemente, Berdnoz, el asistente de Müller en ese laboratorio, retornó esa tarde, aunque ya quería regresar a casa. Había dejado la medición de la resistividad en función de la temperatura, de un compuesto de lantano. Fue entonces cuando ocurrió la sorpresa. Observó que a 30K¹, aparecía la superconductividad [7]. Increíble! Algo realmente nuevo tenía enfrente. Y así fue. Berdnoz y Müller [8] descubrieron la nueva superconductividad de alta temperatura crítica en el año de 1986 y fueron galardonados con el Premio Nobel en 1987. Poco después, Chu [9] descubrió el YBCO con una T_c de alrededor de los 90K y abrió el camino para el descubrimiento de elementos de una mayor temperatura crítica. Las posibilidades tecnológicas de la superconductividad parecían abrirse camino. Pero, para los teóricos el reto regresó. No sabemos explicar la nueva superconductividad! El reto persiste incluso hoy (noviembre 2014). Esa es la fascinante historia de este peculiar fenómeno.

El interés en la superconductividad viene también por la inmensa cantidad de aplicaciones posibles y ya realizadas. En este artículo pretendo pasar revista a algunos de los problemas que me parecen interesantes con respecto a la situación actual de la superconductividad. La perspectiva de que pueda existir superconductividad a temperatura ambiente, abre un interés especial tanto desde el punto de vista teórico como desde el punto de vista de las aplicaciones tecnológicas. Aunque la superconductividad convencional (ver más abajo) sido explicada en todo detalle, la superconductividad de alta temperatura crítica que bien podría ser no-convencional, permanece como una de las incógnitas más fascinantes y un reto intelectual inmenso para los investigadores del tema en los albores del Siglo XXI, como ya lo mencioné.

La definición de la superconductividad, los pares de Cooper, la teoría BCS y su extensión, las ecuaciones de Eliashberg, que explican la superconductividad convencional son temas que trataré en una primera parte. En la segunda, abordaré el tema de los nuevos superconductores de alta temperatura crítica, la superconductividad y el magnetismo, un tema de gran interés. Omitiré dos temas que merecen una amplia discusión y son de gran interés actualmente. El primero es

¹ El grado Kelvin mide la temperatura desde el cero absoluto situado hacia -278 grados Celcius.

“superconductividad, grafeno y grafito” y el segundo, el de la predicción de la temperatura crítica de los superconductores, un reto enorme que no ha sido resuelto totalmente aun. Poder predecir de primeros principios la temperatura crítica de los superconductores abriría la puerta a la ingeniería teórica de materiales superconductores con enormes consecuencias. De esto es de lo que trata esta breve presentación.

2. Definición de superconductividad

La superconductividad se presenta en sistemas de carácter metálico, es decir, en sistemas que tienen estados ocupados en una banda de conducción. Hay dos experimentos que definen la superconductividad en una muestra en volumen. El primero es la **pérdida total de la resistencia** a una cierta temperatura que es característica de cada superconductor y que recibe el nombre de *temperatura crítica*, T_c. En la Figura 1, se ilustra el resultado de una medida de la resistencia vs. temperatura en el momento del paso al estado superconductor. El segundo experimento es el **efecto Meissner- Ochsenfeld** que consiste en que una muestra expulsa el flujo magnético y, como consecuencia, flota sobre un imán, al pasar al estado superconductor. Esta propiedad se ha utilizado para construir trenes que literalmente flotan sobre la vía y, al evitar el rozamiento, pueden alcanzar velocidades del orden de 500kms/h sin desgastar los rieles. Para viajes del orden de 1000 Km, estas velocidades compiten con las de un avión ya que, en este último caso, los tiempos de abordaje se añaden al del viaje mismo. El Japón está a la cabeza en este tipo de aplicaciones. El experimento se ilustra en la Figura 2.

Cuando una muestra volumétrica pierde la resistencia a una T_c y, a esa misma temperatura aparece el Efecto Meissner, la reconocemos (solo entonces) como un superconductor.

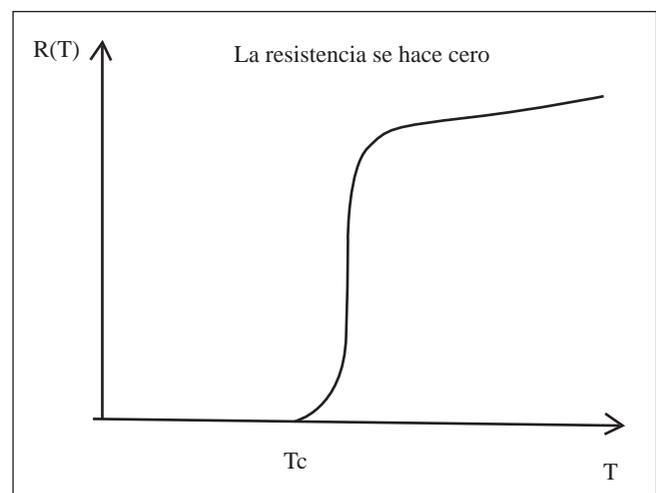


Figura 1. La resistencia de un superconductor va a cero a una cierta temperatura llamada crítica.

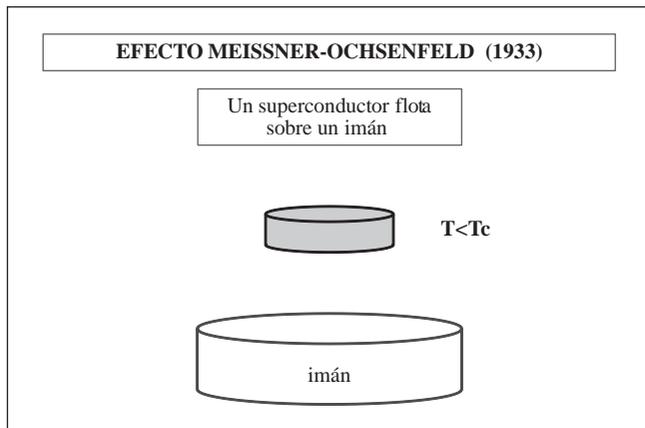


Figura 2. El Efecto Meissner-Ochsenfeld define la superconductividad junto con la pérdida total de la resistencia.

Es importante distinguir entre un conductor perfecto y un superconductor ya que, de acuerdo a las Ecuaciones de Maxwell, un conductor perfecto, si bien tiene resistencia cero, es un sistema **termodinámicamente metaestable** y, por lo tanto, no se le puede aplicar las leyes de la termodinámica y de la estadística que requieren que el sistema esté o pueda llegar a un estado de equilibrio termodinámico. Las ecuaciones de Maxwell relacionan el campo eléctrico y la conductividad de acuerdo a la Ley de Ohm. Un conductor perfecto tiene una conductividad infinita y es fácil demostrar que esto implica una inducción magnética siempre constante. Un superconductor la tiene siempre, en toda circunstancia, igual a cero. Se puede mostrar que este hecho implica que se trata de un sistema en **equilibrio termodinámico** [10]. Un superconductor expulsa el flujo magnético y constituye un diamagneto perfecto, como se ilustra en la Figura 3

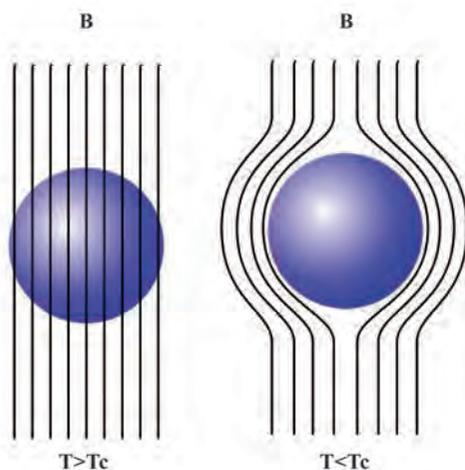


Figura 3. Un superconductor excluye el flujo magnético de su volumen y constituye un diamagnético perfecto. Ver texto.

3. Pares de Cooper

El concepto fundamental de la superconductividad lo constituyen los *pares de Cooper*. **La superconductividad es la física de los pares de Cooper** [11,12]. El concepto está a la base de la explicación del hecho que un superconductor pierde la resistencia pero, simultáneamente, los mejores superconductores² son los peores conductores³. Esto quiere decir que los mejores superconductores tienen una mayor interacción con la red, lo cual parece, a primera vista, contradictorio con la idea de resistencia cero. El trabajo original de Cooper [4] de donde salió la idea de los *pares de Cooper*, habla de dos electrones que se atraen, colocados por encima de una *superficie de Fermi* (ver abajo). El *Principio de Pauli* (ver abajo) juega un papel fundamental para lograr este resultado ya que dos electrones libres en un espacio tridimensional sometidos a una interacción atractiva, solo pueden producir un estado ligado si su energía está por encima de un cierto umbral. Sin embargo, cuando están por encima de una superficie de Fermi, la dimensión efectiva del sistema es dos y cualquier atracción infinitesimal produce un estado ligado de los dos electrones [13]. En el caso de la superconductividad convencional, la atracción la suple la red, más exactamente, la interacción electrón-fonón, como pasamos a ver, en más detalle.

3.1. Electrones, iones y fonones.

Los metales se caracterizan por tener electrones libres dentro del espacio delimitado por los iones que forman la **red cristalina**. En la parte superior de la Figura 4, se puede apreciar un ejemplo de red cristalina. Tiene iones en los vértices de un cubo y en el centro del mismo.

Esta red cristalina se llama centrada en el cuerpo (CC). En inglés recibe el nombre de *body centered cubic (bcc)*. En la misma figura, muestro cómo una cadena de iones está rodeada

de electrones libres que son los que conducen la corriente. Gracias al hecho de que están libres, un cable de cobre puede conducir corriente sometido a un potencial producido por una pequeña pila de 1.5 V. Pero no pueden salirse del volumen definido por los iones, es decir, por la red. Para sacarlos se necesita energía. A la energía necesaria para sacar un electrón de un metal, se le llama **función de trabajo**. Se saca un electrón de un metal, por ejemplo, irradiándolo con una energía mayor a su función de trabajo. A esto se le conoce como *efecto fotoeléctrico* por cuya explicación, Einstein recibió el Premio Nobel en 1921. Para hacer circular una corriente por un cable se necesita un potencial (una diferencia de potencial, más correctamente) que haga circular los electrones. Pero **¿por qué se manifiesta una resistencia?**

²Es decir, los que tienen una temperatura crítica más alta.

³Es decir, los que tienen una resistencia mayor.

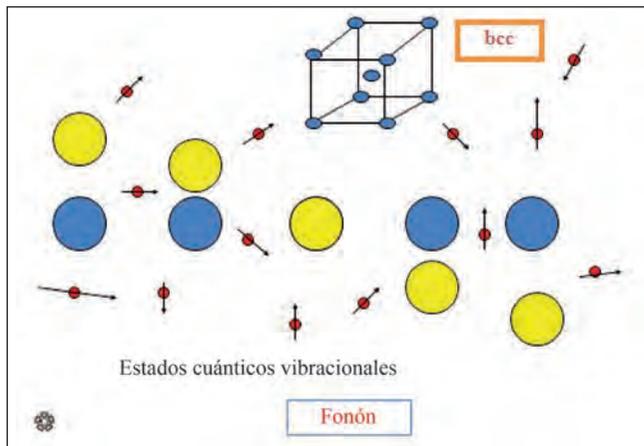


Figura 4. Un metal tiene electrones libres que son los conductores de la corriente. La resistencia que observamos se produce por interacción con la red. La red tiene estados colectivos cuánticos que se caracterizan por valores discretos de la energía y el momento, llamados estados vibracionales como se ilustra en esta figura (ver texto).

La manifestación más importante del paso de la corriente es el calor que se genera⁴. Este se produce por interacción entre los electrones libres y la red. Esta interacción constituye una transferencia de energía del sistema electrónico (que la adquiere del potencial externo) al sistema iónico. La energía se thermaliza, subiendo la temperatura de todo el sistema que se manifiesta como calentamiento hacia el exterior. Los iones que forman la red son un sistema cuántico que tiene varios estados de energía posibles que se llaman *estados vibracionales*. Son estados de vibración colectiva (forman una cuerda como se ilustra en la Figura 4). Una red presenta varios estados vibracionales que se caracterizan por su energía y su momento. Las energías están cuantizadas, es decir, son niveles discretos. Cuando los electrones y los iones intercambian energía y momento, la red pasa de un estado vibracional a otro. El espectro de estados vibracionales es una característica de cada sistema específico (de un cristal). La diferencia en energía y momento entre dos estados vibracionales, constituye la única transferencia posible entre iones y electrones al interactuar entre sí. A esa diferencia se le llama **fonón**. Un fonón tiene energía y momento como cualquier partícula, pero no es una partícula en el sentido estricto. Por eso se le denomina *cuasi-partícula*. Obviamente hay varios fonones en un cristal (todas las diferencias posibles entre estados vibracionales) **Los fonones son una característica específica de cada sistema cristalino.**

⁴ Nos interesa el calor cuando calentamos el café, por ejemplo. Pero si trasladamos de una hidroeléctrica a una ciudad electricidad, el calor es una pérdida que deseamos evitar (se puede llegar a perder hasta un 35% de la energía transportada que solo sirve para calentar el aire a lo largo de la línea eléctrica). La superconductividad se usa para evitar esas pérdidas.

3.2. Ondas de Bloch. Primera Zona de Brillouin.

Los iones vibran en estados colectivos llamados *estados vibracionales*, como acabamos de ver. Los electrones están, unos, atados al ión pero, otros, en los metales, están libres dentro del espacio generado por la red. Los estados electrónicos están cuantizados también, pero algunos de ellos resultan estar tan cerca (en energía) unos de otros que mejor los dividimos en grupos que llamamos **bandas**. Entonces saber cuáles son los estados de energía de los electrones en un metal es conocer sus bandas de energía. Hablamos de **la estructura electrónica de bandas**. Estas se obtienen, al igual que los estados vibracionales de los iones, por medio de la solución de la **ecuación de Schödinger** independiente del tiempo.

$$H\psi(r) = \varepsilon\psi(r) \tag{1}$$

donde H es el operador Hamiltoniano del sistema, definido como la suma de T (operador de energía cinética) más V (operador de energía potencial), $\psi(r)$ es la función de onda y ε la energía correspondiente. El volumen de un metal está compuesto por muchas redes cristalinas como la descrita arriba. En la teoría, suponemos que las redes cubren todo el espacio. Esta hipótesis lo que implica, en realidad, es separar la descripción de un volumen del de una superficie. Pero la hipótesis de un volumen infinito y compuesto por unidades iguales (la red cristalina) requiere una descripción tal que la función de onda sea periódica. Esta condición se introduce explícitamente por medio de las llamadas ondas de Bloch.

$$\psi_k(r) = e^{ik \cdot r} u_k(r) \tag{2}$$

donde $u(\mathbf{r}+\mathbf{R})=u(\mathbf{r})$. \mathbf{R} es tal que $u(\mathbf{r})$ tiene la periodicidad de la red. Entonces, describimos un electrón dentro de un cristal metálico por medio de una función que es el producto de una onda plana y de otra función que tiene la periodicidad de la red.

El número cuántico que caracteriza las diferentes soluciones, el vector \mathbf{k} , no es cualquiera, describe los diferentes estados electrónicos posibles. Es importante suprimir el doble conteo. Los \mathbf{k} 's diferentes se encuentran dentro de un cierto espacio tridimensional llamado **Primera Zona de Brillouin** que es parte del espacio recíproco, el espacio-k. Puede mostrarse que la relación entre el momento del electrón, \mathbf{p} , y el vector \mathbf{k} es

$$\mathbf{p} = \hbar\mathbf{k} \tag{3}$$

donde \hbar es la constante característica de los fenómenos cuánticos, la *constante de Planck*. Los electrones dentro de un cristal tienen una compleja estructura de bandas. Sin embargo, para fines de definir con claridad el concepto de superficie de Fermi, podemos tomar la energía total de cada estado igual a la energía total de una partícula libre,

$$\varepsilon_k = \frac{\mathbf{p}^2}{2m} = \frac{\hbar^2\mathbf{k}^2}{2m} \tag{4}$$

En este caso, los diferentes estados de energía dependen solo del valor absoluto del vector de onda \mathbf{k} ($\hbar\mathbf{k}$ es el momento cristalino, que caracteriza cada estado electrónico). Si dibujamos los diferentes valores de la energía (que no depende de la dirección), en una estructura tridimensional, obtenemos una esfera en el espacio de las \mathbf{k} 's como se ilustra en la siguiente **Figura 5**.

3.3. El Principio de Pauli. La Superficie de Fermi.

¿Por qué los estados electrónicos forman una esfera? ¿Por qué no pueden quedarse **todos** en el estado de mínima energía? La razón es el **Principio de Pauli** que dice que no puede haber dos fermiones (electrones) ocupando el mismo estado. Ya he mencionado la importancia de este principio en la formación de los Pares de Cooper [13]. Cada estado ocupa un cierto espacio finito del espacio fase. El espacio fase es la combinación del espacio tridimensional real y del espacio de los vectores \mathbf{k} . Por esa razón, a medida que colocamos los electrones en los estados del espacio \mathbf{k} tenemos que ir subiendo en energía porque el espacio disponible entre \mathbf{k} y $\mathbf{k}+d\mathbf{k}$ se va agotando a medida que lo cubrimos con electrones. Es así como formamos el **mar de Fermi** y, una vez que hemos colocado todos los electrones, se forma la **superficie de Fermi** (una esfera, en este caso) que separa la energía de los estados ocupados de los desocupados. Es la misma idea que ocupar una escalera muy larga con un número de personas

menor al número de peldaños cuando solo cabe una persona en cada peldaño, sin dejar ningún peldaño vacío. Va a haber un peldaño más allá del cual ya no hay personas. Notemos una cosa. Si pedimos que suban un peldaño, solo el de más arriba puede hacerlo ya que es el único que tiene vacío el peldaño inmediato superior. Igualmente, los electrones de la superficie de Fermi son los más activos, puesto que son los que pueden recibir energía, ya que tienen estados vacíos a donde dirigirse al recibir dicha energía y al igual que en el caso de la escalera, solo puede haber uno en cada estado. La superficie de Fermi tiene una gran importancia en la física de los metales.

3.4. Los Pares de Cooper.

La superconductividad es la física de los pares de Cooper.

Este concepto es, por lo tanto, la esencia de la superconductividad. Volvamos a la Figura 5. Tenemos dos electrones colocados por encima de un mar de Fermi. Es decir, no pueden perder (ceder) energía porque no hay estados de menor energía que se puedan ocupar. *Si, por alguna causa, se produce una atracción entre los dos electrones, entonces se produce una transición de fase en la cual los electrones forman un estado ligado. La energía de amarre de este par es negativa y el nuevo estado se convierte, entonces, en el estado base. A estos pares se les denomina **pares de Cooper**. ¿Qué sucede entonces, en el estado superconductor?*

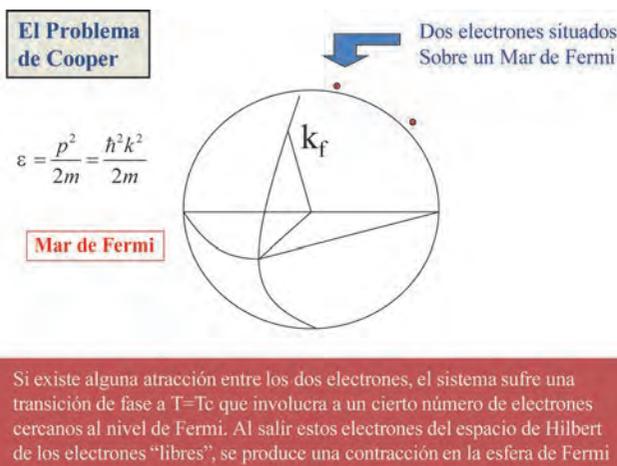


Figura 5. Los estados de energía de los electrones ocupados dentro de un metal forman, en tres dimensiones, una esfera llamada Mar de Fermi cuya superficie se conoce como la *Superficie de Fermi*. En el caso real la superficie difiere de la de una esfera porque la energía no es exactamente la de una partícula libre. El vector \mathbf{k} de mayor valor absoluto recibe el nombre de vector de Fermi y define la máxima energía que tienen los electrones dentro del metal a temperatura 0K. En este caso, se trata de un estado altamente degenerado ya que todas las direcciones que terminan sobre la superficie representan estados con la misma energía. La figura explica también como se forma un Par de Cooper (ver texto).

4. La teoría BCS

Desde el descubrimiento de la superconductividad en 1911, el conocimiento científico desarrolló conceptos nuevos que permitieron encontrar una explicación teórica de la superconductividad. La ecuación de Schrödinger se estableció en 1927 [14], la interpretación de la misma es, incluso hoy, motivo de discusión. La interpretación hecha por Bohr [15] a pesar de las objeciones de Einstein [16] se impuso y las aplicaciones tecnológicas de la mecánica cuántica revolucionaron el siglo XX. La existencia de la superficie de Fermi en los metales fue establecida hacia los años cincuenta, como ya lo mencioné. La superconductividad es un fenómeno cuántico no-relativista macroscópico de muchos cuerpos. La teoría de campo fue establecida durante la primera mitad del siglo XX. La versión no-relativista explica de una manera muy elegante, partiendo de un Hamiltoniano gran canónico (funciones de Green dependientes de la temperatura), el fenómeno de la superconductividad [17]. Fue en el año de 1957, cuando, uniendo todos estos conocimientos, apareció la primera teoría de este fenómeno [5], a más de 45 años de descubierta. Entonces, en sus primeros cincuenta años, esencialmente, la investigación de la superconductividad, como resultado más sobresaliente, logró establecer una teoría del fenómeno aceptada en forma general. Fue formulada por John Bardeen, Leo Cooper y Alexander Schrieffer y lleva el

nombre de **teoría BCS**. Pero fue solo hasta comienzos de los setentas cuando se reconoció la validez y la importancia de esta teoría y se les concedió el Premio Nobel en 1972.

Consiste la teoría BCS en la hipótesis acertada de que la superconductividad se forma porque, al bajar la temperatura hasta un valor crítico como se muestra en la Figura 1, el sistema forma pares de Cooper con los electrones cercanos al nivel de Fermi.

El punto de partida es un Hamiltoniano que describe la existencia de electrones y de fonones:

$$H_0 = \sum_k \epsilon_k c_k^\dagger c_k + \sum_q \hbar \omega_q a_q^\dagger a_q \quad (5)$$

donde los operadores C_k^+ y C_k son operadores de creación y aniquilación de electrones, respectivamente, y los a_q^+ y a_q son los correspondientes para fonones. Los operadores son operaciones matemáticas que se hacen sobre la función de onda que describe el sistema. El producto de un operador de aniquilación y otro de creación del mismo carácter constituye un contador ya que el primero quita una partícula al sistema con el resultado de que si ésta existe, se obtiene un sistema del mismo tipo con una partícula menos (si no existe la partícula, no la puede quitar y el resultado es cero); el otro operador restituye la partícula dejando el sistema idéntico. El número de veces que puedo realizar la operación me dice cuantas partículas hay, ya que los términos correspondientes a las que no existen, contribuyen con cero [11, 17]; $\hbar \omega_q$ es la energía del fonón con momento q y ϵ_k es la energía del electrón con vector de onda k . La ecuación contabiliza, entonces, cuanta energía hay tanto en el sistema electrónico, como en el fonónico. El hamiltoniano describe la existencia de los elementos fundamentales en un metal: electrones y fonones. No hay un término que permita la interacción, es decir, que permita que pase energía de un sistema al otro. Vamos a agregarlo ahora, vamos a agregar la interacción electrón-fonón. El término que tenemos que agregar debe decir: un electrón absorbe (cede) la energía de un fonón. Entonces, un electrón en un estado k pasa a otro estado k' y, al mismo tiempo, destruye (crea)⁵ un fonón con energía y momento igual a la diferencia entre los dos estados electrónicos. Esta frase se escribe así,

$$H_I = \sum_{k,k',q} M_{k,k',q} (a_{-q}^\dagger + a_q) c_k^\dagger c_{k'} \quad (6)$$

El primer operador destruye un electrón en el estado k' , el segundo crea un electrón en el estado k . Hay dos opciones para conservar energía y momento. Una, crear un fonón (primer término entre paréntesis) y, entonces el balance de los momentos (y de la energía) es:

⁵ Cuando la red pasa de un estado vibracional a otro de mayor energía decimos que se crea un fonón. Si es de menor energía decimos que se aniquila un fonón.

teníamos k' , generamos k y $-q$. Por lo tanto la suma de los dos últimos debe ser igual al primero: $k' = k - q$. En la segunda opción (segundo término en la suma), tenemos k' , generamos k y perdemos (destruimos) q . Por lo tanto $k' = k - q$. Y vemos que la idea de definir el momento del operador de creación “ $-q$ ” es para que la ecuación de conservación de momento tenga la misma forma en ambos casos. $M_{kk'}$ es un término que mide, esencialmente, la probabilidad de que cada uno de esos eventos ocurra. La suma es por todos los eventos posibles. El hamiltoniano de Fröhlich [3] que describe un sistema de electrones y de fonones interactuando entre sí, queda entonces, así:

$$H = H_0 + H_I \quad (7)$$

Queremos describir, dentro de este formalismo, a los pares de Cooper.

Repito, la superconductividad es la física de los pares de Cooper, es decir, que es un sistema donde solo existen pares de Cooper (aparte de la red) en el mismo sentido que un metal en estado normal es un sistema donde solo existen electrones libres (aparte de la red).

Un par de Cooper está formado por dos electrones que se atraen. ¿Quién provee la atracción?. En la Figura 6 se esquematiza la atracción entre dos electrones mediada por la red. El electrón 1 polariza la red. Esto genera una zona de exceso de carga positiva que resulta en una atracción para otro electrón 2. Entonces, la polarización dinámica generada por el electrón 1, es seguida por el electrón 2, lo cual constituye una atracción efectiva. Este hecho puede caricaturizarse así: si dos chicos desean andar con la misma chica, lo más probable es que donde esté la chica quieran estar los dos, así se odian, en realidad. La chica constituye una atracción efectiva entre los dos chicos. Como podemos ver en la Figura 6, el electrón 1 da energía a la red (la polariza, crea un fonón) y el 2 la toma

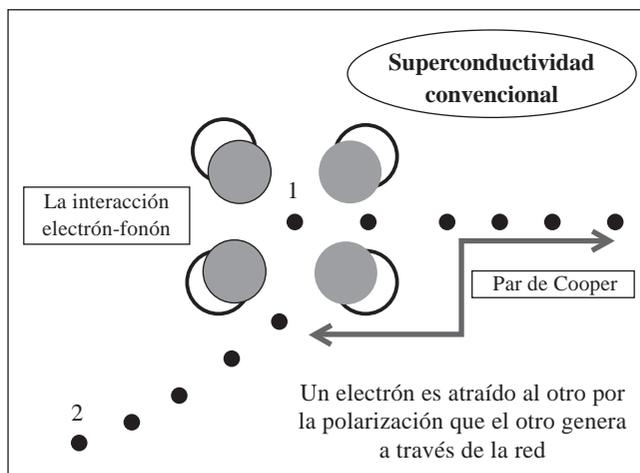


Figura 6. La atracción entre dos electrones en un medio cristalino.

(se acelera en el campo causado por la polarización, destruye el fonón creado por el electrón 1). Esto lo podemos dibujar por medio de un diagrama de Feynman [17] que son muy ilustrativos⁶. En la Figura 7, el diagrama muestra como un electrón con momento $-\mathbf{k}$, energía $\epsilon_{-\mathbf{k}}$ y espín hacia abajo⁷ crea un fonón con energía $\hbar\omega_{\mathbf{q}}$ y momento \mathbf{q} que otro electrón con momento \mathbf{k} , energía $\epsilon_{\mathbf{k}}$ y espín hacia arriba absorbe (destruye) de acuerdo al proceso descrito en la Figura 6. La red no se queda, al final, ni con energía, ni con momento. Nótese que esto explica por qué los mejores superconductores son los peores conductores, como mencioné más arriba. La razón es que si la interacción con la red es grande (mal conductor), la energía de polarización lo será también y, por lo tanto, la energía necesaria para romper esa atracción de la red, será mayor lo cual implica que la temperatura a la cual se romperá la correlación (que es representativa de esa energía) será también mayor (un mejor superconductor). La interacción puede, entonces, se puede describir como dos electrones que intercambian un fonón. Y el proceso debe repetirse de forma continua para que siempre haya solo pares de Cooper. Es decir, la dispersión lleva de un par de Cooper a otro. Nótese que este proceso se respeta en el que se ilustra en la Figura 7. Un par de Cooper se dispersa en otro par de Cooper.

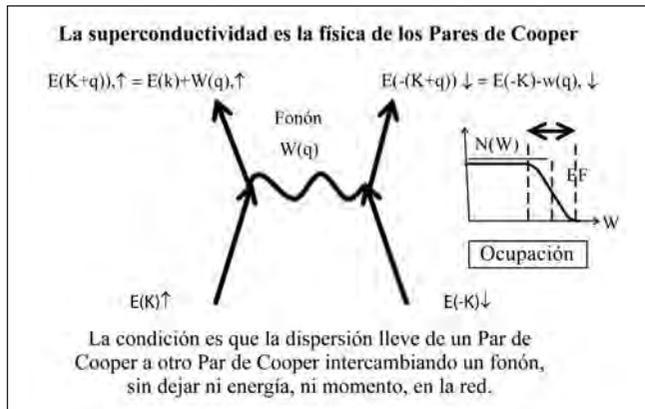


Figura 7. El Par de Cooper

⁶ Un diagrama de Feynman reemplaza expresiones matemáticas de la teoría cuántica de campos que describen la interacción entre partículas por diagramas que permiten visualizar muy claramente la física que hay detrás.

⁷ El espín es un número cuántico relativista. En mecánica cuántica no relativista, se agrega para contar los estados en forma conveniente ya que dos estados electrónico con la misma energía y el mismo momento pero diferente espín, son diferentes y pueden ser ocupados por un electrón cada uno. El electrón tiene espín 1/2 con dos proyecciones (estados diferentes) : -1/2 y +1/2 que también se suelen representar con flechas indicando espín hacia “arriba” y hacia “abajo”. Esta designación tiene que ver con experimentos en presencia de campos magnéticos. Los **fermiones** tienen espín semi-entero.

¿Qué implica esto? La implicación física de este hecho puede leerse de la Figura 7. Si originalmente, ambos electrones tenían su energía sobre la superficie de Fermi o muy cercana a éste, al intercambiar un fonón, uno de ellos va hacia un estado situado por debajo de esa energía y el otro a un estado por encima. ¿Qué tan abajo y qué tan arriba? Eso depende del tamaño de la energía del fonón. En esto influye la ocupación. A $T=0K$, un metal en estado normal tiene sus electrones libres en estados por debajo del nivel de Fermi. No hay ninguno por encima (como en el caso de la escalera). Esto es, la probabilidad de ocupación, $N(\epsilon) = 1$, si $\epsilon < \epsilon_F$ y $N(\epsilon) = 0$, si $\epsilon > \epsilon_F$. Solo si la temperatura, T , es mayor que cero, $T > 0$, habrá electrones ocupando estados por encima de ϵ_F . Pero la dispersión de par de Cooper a par de Cooper, que se necesita para mantener el estado superconductor, implica que, a $T=0K$ (ver Figura 7), haya estados disponibles por debajo del nivel de Fermi y que, por encima del nivel de Fermi algunos estados estén ocupados. Solo así la dispersión descrita en la Figura 7 puede realizarse. La probabilidad de ocupación va a ser diferente, va a ser como la que se muestra en la Figura 7. Como puede verse, el ancho de la zona energética donde solo existen pares de Cooper, va a determinar que tan grande es la energía de amarre de los pares. Este ancho está determinado por la máxima energía que los electrones pueden intercambiar en un material específico y es, por lo tanto, una característica de cada superconductor. En esta región energética no existen electrones libres. Por debajo de ella sí. Por lo tanto, si queremos excitar un electrón libre en un superconductor, debemos dar la suficiente energía para saltar la barrera energética. Esa barrera que, como vemos en la Figura 7, se sitúa, simétricamente, por encima y por debajo del nivel de Fermi, recibe el nombre de *brecha del estado superconductor*, 2Δ . Es simétrica alrededor del nivel de Fermi, porque un electrón puede absorber el fonón de máxima energía existente en el material y se dispersa hacia un estado de mayor energía o lo puede ceder (pierde esa energía). Esperamos, obviamente, que la brecha esté directamente relacionada con la temperatura crítica. Una de las ecuaciones más importantes de una teoría de la superconductividad es, en consecuencia, la que permite calcular la brecha.

4.1. Las Ecuaciones BCS

El hamiltoniano de Frölich (electrón-fonón) se puede escribir (después de haber hecho una transformación canónica) de la siguiente manera, más apropiada para describir los pares de Cooper.

$$H' = H_0 + \sum_{\substack{\mathbf{k}, \mathbf{k}' \\ \mathbf{k} - \mathbf{k}' = \mathbf{q}}} |M_{\mathbf{q}}|^2 \frac{\hbar\omega_{\mathbf{q}}}{(\epsilon_{\mathbf{k}} - \epsilon_{\mathbf{k}-\mathbf{q}})^2 - (\hbar\omega_{\mathbf{q}})^2} c_{\mathbf{k}+\mathbf{q}}^+ c_{\mathbf{k}-\mathbf{q}}^+ c_{\mathbf{k}} c_{\mathbf{k}} \quad (8)$$

donde todos los términos ya están definidos y, estrictamente hablando, hemos omitido términos que no contribuyen en el estado superconductor. Observemos que, si las energías electrónicas en el denominador se encuentran muy cercanas

entre sí, su diferencia puede ser menor que la del fonón y la interacción se vuelve atractiva (negativa). Los operadores de creación y aniquilación de los electrones, describen un par de Cooper yendo a otro par de Cooper cuando $\mathbf{k} = -\mathbf{k}'$. El Hamiltoniano conserva el momento.

Toda esa física fue muy elegantemente simplificada en la teoría BCS [5] describiendo el sistema de la siguiente manera,

$$H_{BCS} = \sum_{\mathbf{k}} \varepsilon_{\mathbf{k}} (c_{\mathbf{k}}^+ c_{\mathbf{k}} + c_{-\mathbf{k}}^+ c_{-\mathbf{k}}) - \sum_{\mathbf{k}, \mathbf{k}'} V_{\mathbf{k}\mathbf{k}'} c_{\mathbf{k}}^+ c_{-\mathbf{k}}^+ c_{-\mathbf{k}'} c_{\mathbf{k}'} \quad (9)$$

Observemos que el hamiltoniano BCS describe exactamente la dispersión de un par de Cooper a otro par de Cooper y que la condición que vimos arriba, $\mathbf{k}' = -\mathbf{k}$, ha sido incluida explícitamente. Una simplificación adicional fue definir la atracción como una constante que solo actúa en el rango de energía de los fonones, es decir, en el intervalo de la brecha, esencialmente,

$$V_{\mathbf{k}\mathbf{k}'} = V = cte, \text{ si } \varepsilon_{\mathbf{F}} - \hbar\omega_{\max} < \varepsilon < \varepsilon_{\mathbf{F}} + \hbar\omega_{\max} \quad (10)$$

$$V_{\mathbf{k}\mathbf{k}'} = 0 \text{ en cualquier otro intervalo}$$

Es decir, que la atracción se ejerce solo cuando el fonón que se intercambia existe. La frecuencia, $\hbar\omega_{\max}$, es la del fonón de máxima energía que se suele identificar con la frecuencia de Debye del material. Ante la imagen física que hemos construido, es claro que identificar esta máxima frecuencia con la frecuencia de Debye [18], es discutible. Esta aproximación para el potencial le quita la dependencia en \mathbf{k} también a la brecha. Convirtiendo las sumas en integrales y suponiendo constante la densidad de estados e igual a su valor sobre el nivel de Fermi, un algebra directa nos lleva a la ecuación para la brecha (a T=0K) [12, 19].

$$\Delta_0 = \frac{\hbar\omega_{\max}}{\sinh\left(\frac{1}{N(\varepsilon_{\mathbf{F}})V}\right)} \approx 2\hbar\omega_{\max} e^{\frac{-1}{N(\varepsilon_{\mathbf{F}})V}} \quad (11)$$

La ecuación para la temperatura crítica, Tc, se deriva en forma directa,

$$T_c = 1.14\hbar\omega_{\max} e^{\frac{-1}{N(\varepsilon_{\mathbf{F}})V}} \quad (12)$$

de donde se deduce una de las **relaciones universales** por las cuales es famosa la teoría BCS,

$$\frac{2\Delta_0}{K_B T_c} = 3.52 \quad (13)$$

que es, precisamente, la relación entre la Tc y la brecha mencionada arriba. Las teoría BCS es cualitativa ya que la atracción, el parámetro V, en un sistema real depende tanto de la frecuencia del fonón, ω , como del vector de onda del electrón \mathbf{k} . Además, el parámetro V no puede determinarse con exactitud, ni teórica, ni experimentalmente. Sin

embargo, las predicciones cualitativas de la BCS, resultaron tan correctas y convincentes que no quedó duda de que la superconductividad es la física de los pares de Cooper. Este paso fundamental, abrió el camino para desarrollar la misma idea con las técnicas de teoría de campo no-relativista (teoría de muchos cuerpos). El resultado son las Ecuaciones de Eliashberg que dan plena cuenta de todos los superconductores convencionales⁸.

En el estado normal, la densidad de estados en función de la temperatura, para un gas de electrones libres, va como la raíz cuadrada de la energía. En el estado superconductor la expresión BCS es

$$N_s = N(\varepsilon_{\mathbf{F}}) \frac{\varepsilon - \varepsilon_{\mathbf{F}}}{\sqrt{(\varepsilon - \varepsilon_{\mathbf{F}})^2 - \Delta^2}} \quad (14)$$

Como es obvio, el paso al estado normal al subir la temperatura implica que Δ es, en general una función de la temperatura, $\Delta(T)$. El denominador de la Ec. 14, da la energía de las excitaciones elementales en teoría BCS.

Propiedades muy conocidas del estado superconductor predichas por BCS, son el salto en el calor específico y el coeficiente de atenuación ultrasónica. La superconductividad es una transición de fase de segundo orden en ausencia de campo magnético lo cual implica que el calor específico tiene una discontinuidad en T=Tc. La atenuación ultrasónica atestigua que, en un superconductor, el sonido no se atenúa en absoluto a T=0K, hecho que se ha podido comprobar experimentalmente⁹. Otra **relación universal** involucra el salto en el calor específico electrónico, en unidades del mismo a T=Tc+, justo arriba de la transición, en el estado normal. Ver detalles en [10, 19], por ejemplo.

$$\frac{\Delta C_e}{\gamma T_c} = 1.43 \quad (15)$$

En conclusión, la teoría BCS formulada en 1957 [5] (Bardeen, Cooper y Schrieffer obtuvieron el Premio Nobel por ella en 1971) es el paso conceptual más importante en la explicación de la superconductividad. Demuestra que la superconductividad es la física de los pares de Cooper, es decir, el resultado de la atracción que un grupo de electrones con energía cercana o igual a la del nivel de Fermi, resiente debido a su interacción con la red (fonones). El hamiltoniano BCS simplifica la complicadísima atracción de muchos cuerpos que depende tanto de la energía de los fonones como del estado electrónico involucrado, por una constante que describe un potencial atractivo en su mínima esencia. Con ese hamiltoniano simplificado para describir un sistema de pares

⁸El grupo de superconductores donde los electrones forman Pares de Cooper intercambiando un fonón, se suele llamar "convencional".

⁹Cuando uno grita, a una distancia grande, ya no lo oyen. El sonido se atenúa. Dentro de un superconductor no.

de Cooper, BCS reproduce cualitativamente, resultados como el salto en el calor específico, la variación de la brecha con la temperatura, la atenuación ultrasónica, el campo magnético crítico, entre otros muchos, y, éste es muy importante, ofrece una explicación directa y simple del efecto isótopo. Obtiene una ecuación para la brecha en función de la temperatura y otra para la temperatura crítica. Finalmente, las relaciones universales son un resultado muy importante y que, aun hoy en día, son un punto de referencia. Con base a este fantástico trabajo, se pudo desarrollar la misma idea de una manera más exacta, las ecuaciones de Eliashberg, que dan cuenta, en detalle, de la superconductividad convencional.

5. Las ecuaciones de Eliashberg

Como lo mencioné en la sección anterior, las Ecuaciones de Eliashberg [20] resultan del desarrollo en teoría de muchos cuerpos (teoría cuántica de campos no-relativista) de la física de un sistema de pares de Cooper. Para obtener resultados exactos, es necesario introducir datos detallados del sistema descrito. Estos datos incluyen, la superficie real de Fermi alrededor de la cual están los estados involucrados en la transición, la interacción electrón-fonón y los fonones existentes en el material. Toda esa información se condensa en una función, la **función de Eliashberg**, $\alpha^2 F(\omega)$, que representa el espectro efectivo de la interacción electrón-fonón en el estado superconductor. Esta función es el dato de entrada. Puede obtenerse tanto teóricamente como experimentalmente. Para el cálculo numérico [21] es mejor escribir las ecuaciones de Eliashberg en el eje imaginario de las energías. Las voy a escribir a continuación en función de la frecuencia (la dependencia en \mathbf{k} está integrada para simplificarlas). Las escribo para que el lector tenga una idea de su complejidad. Obviamente se trata de una ecuación para la brecha. Durante la década de los setentas se presentaron varios códigos para resolverlas. El grupo de J.P. Carbotte [21] fue uno de los primeros en establecer un algoritmo adecuado para resolverlas. La ecuación puede linealizarse a $T=T_c$ y es más fácil de resolver. Con base en esa solución se puede implementar la solución para temperaturas inferiores y calcular las funciones termodinámicas en función de la temperatura, La ecuación [20] es

$$\Delta(\omega) = \frac{1}{Z(\omega)} \int_0^{\omega_c} d\omega' \operatorname{Re} \left\{ \frac{\Delta(\omega')}{\sqrt{\omega'^2 - \Delta^2(\omega')}} \right\} \{K_+(\omega, \omega') - \mu^*\}$$

$$(1-z(\omega))\omega = \int_0^{\omega_c} d\omega' \operatorname{Re} \left\{ \frac{\Delta(\omega')}{\sqrt{\omega'^2 - \Delta^2(\omega')}} \right\} \{K_-(\omega, \omega')\}$$

donde (16)

$$K_{\pm}(\omega, \omega') = \int_0^{\infty} d\nu \alpha^2 F(\omega) \left\{ \frac{1}{\omega' + \omega + \nu + i\varepsilon} - \frac{1}{\omega' + \omega + \nu - i\varepsilon} \right\}$$

La frecuencia ω_c es una frecuencia de corte necesaria para la solución numérica. Hay formas de escogerla de tal manera que no influya en los resultados. La ecuación, como ya mencioné, se puede linearizar a $T=T_c$. El problema está en que el parámetro μ^* , que es un seudopotencial que describe la repulsión electrón-electrón promediada por todas sus variables para convertirlo en una constante, no se puede obtener con la precisión suficiente ni teórica, ni experimentalmente. Por esa razón, la ecuación linealizada válida a T_c , no se usa para predecirla sino, más bien, introduciendo el valor experimental, se obtiene el valor consistente de μ^* por medio de la Ecuación linealizada de Eliashberg. Ese valor se incrusta en la ecuación no-lineal válida para $T < T_c$. El valor típico oscila entre 0.1-0.13. La precisión necesaria para que el cálculo numérico no diverja es de seis decimales significativos.

De la solución se puede obtener toda la termodinámica del estado superconductor para todos los materiales convencionales. Es importante mencionar que estas ecuaciones permiten evaluar e interpretar, desviaciones de los valores de las relaciones universales BCS. Otra extensión de la BCS que es importante mencionar es la teoría de Abrikosov-Gorkov para aleaciones superconductoras [22]. Omito los detalles por razones de espacio pero es muy importante mencionarla. Una conclusión por destacar es que **ni BCS, ni las Ecuaciones de Eliashberg, pueden predecir la temperatura crítica de los superconductores de primeros principios**. Ese es un tema abierto. Su solución daría un tremendo empuje a la ingeniería teórica de materiales superconductores.

5.1. La derivada funcional

Uno de los resultados interesantes que emanan de las ecuaciones de Eliashberg es la derivada funcional de la T_c con respecto a la función de Eliashberg [23].

$$\frac{\delta T_c}{\delta \alpha^2 F(\omega)} \quad (17)$$

Esta derivada nos permite saber cuál será la influencia que un cambio en la función de Eliashberg (dopando o sacando el material de la estequiometría) tiene en el valor de la T_c (subiéndola o bajándola). El resultado más interesante que emana de esta derivada funcional es el hecho de que existe una frecuencia privilegiada, la frecuencia óptima, ω_{opt} , para cada material que determina la T_c . Esto quiere decir que los electrones se acoplan, de manera ideal para el sistema considerado, a un cierto fonón bien definido. Cuando la frecuencia no coincide exactamente con la de un fonón del material, entonces es posible que exista una forma de doparlo con éxito para subir su T_c . Cuando coinciden, el material está ya optimizado [23]. Pero lo que más llama la atención es el hecho de que, en unidades de T_c , el máximo resulta universal. Esta relación no ha sido explorada lo suficiente hacia la predicción de la temperatura crítica que, como ya mencioné, es un problema abierto. La relación universal es,

$$\frac{\hbar \omega_{opt}}{K_B T_c} = const \quad (17a)$$

donde la constante tiene un valor entre 7 y 8 que es universal.

6. La Teoría de Ginzburg-Landau.

Muy importante es la teoría de Ginzburg-Landau [24] que ha sido muy fructífera para el tratamiento teórico de la superconductividad. La teoría trata de manera general, las transiciones de fase y se aplica muy bien a la superconductividad. Puede mostrarse que coincide con la BCS en el régimen que corresponde (cerca de T_c). Los superconductores de tipo II (casi todos los de alta T_c lo son)¹⁰ fueron descubiertos teóricamente por Abrikosov [25] en los años cincuentas como una aplicación de la Teoría de Ginzburg-Landau. Fue solo después de descubierta la superconductividad de alta T_c que se notó la importancia de ese trabajo. Abrikosov y Gorkov fueron galardonados con el Premio Nobel en el 2003. Esta teoría se encuentra en casi todos los libros de superconductividad (ver [12, 19] por ejemplo).

7. Los superconductores de alta T_c .

La nueva superconductividad y algunos de los nuevos problemas. En 1986, Bednorz y Müller [8] abrieron un campo nuevo, totalmente nuevo. El de la superconductividad de alta temperatura crítica. Y digo nuevo, no solo porque las temperaturas críticas se incrementaron enormemente¹¹ sino también porque el apareamiento entre los electrones bien podría no ser mediado por los fonones de la red. En ese sentido se habla de superconductividad no-convencional. Se ha ofrecido varias posibilidades para explicarlo pero aun hoy (noviembre 2014) no hay consenso sobre el mecanismo que da lugar a esas temperaturas críticas altas. Voy a describir algunos de los materiales superconductores que han generado un gran interés. Destacaré fundamentalmente el YBCO por ser el sistema más estudiado, quizás, y el MgB_2 por ser el superconductor electrón-fonón con una temperatura mucho mayor a las conocidas entre los convencionales antes de 1986. Más adelante abordaré el tema de superconductividad y magnetismo. No trataré el tema de superconductividad en el grafeno y en el grafito por razones de espacio, muy a mi pesar porque es un campo muy activo en la investigación actual.

¹⁰ Los superconductores de tipo I se distinguen de los de tipo II por la forma que adoptan cerca de la transición. Los de tipo II forman vórtices y la física de éstos es muy interesante. Más detalles en [18].

¹¹ La T_c máxima reconocida por consenso es de un compuesto del YBCO bajo presión, $T_c = 167K$. Hay un sitio web, de acceso público, que pretende haber logrado temperaturas muy superiores, *superconductors.org*, cuyos datos no son universalmente aceptados por la comunidad científica.

7.1. Los Cupratos

Dentro de la familia de los superconductores de alta T_c , los cupratos ocupan un sitio muy importante, no solo porque el primer material descubierto es un cuprato [8], sino también porque el primero con T_c mayor al nitrógeno líquido [9] fue, justamente, el YBCO, otro cuprato, quizás, el más estudiado de todos. Me voy a referir a este material.

Lo primero que se puede destacar es la complejidad de la estructura cristalina comparada con la simpleza de la de los superconductores convencionales. Observemos la Figura 8. Este tipo de estructuras reciben el nombre de perovskitas. La estructura es casi tetragonal y hay varios trabajos teóricos en la literatura que lo tratan como tal, pero, estrictamente hablando, es ortorrómbica (grupo espacial $Pmmm$). Las medidas de sus lados son $a=3.8231$, $b=3.8864$, $c=11.6807$ Å (Angstroms¹²). Los átomos están identificados en la Figura 8. Se trata de la estructura estequiométrica. Una de las características de este material es que tiene varios conjuntos de átomos donde los electrones tienen un comportamiento diferente. Se les denomina *escenarios*. Las cadenas de CuO , los planos de CuO_2 y el eje-c. Los planos de cobre son los más importantes ya que ahí se forman los Pares de Cooper (y, posiblemente, en las cadenas). Las distintas familias se pueden diferenciar por el número de planos de CuO_2 . Un tratado muy completo y relativamente reciente es la ref. [26]. El diagrama de fases aparece en la siguiente Figura 9.

La familia del YBCO, comienza con un material que no tiene oxígeno en las cadenas, el $YBa_2Cu_3O_6$. Por encima de una cierta temperatura de Neel, es dieléctrico, por debajo es antiferromagnético. El antiferromagnetismo yace en los planos de CuO_2 (Ver Figura 8). A medida que la muestra va ganando oxígeno (éste se deposita en las cadenas) emigran electrones de los planos de CuO_2 , a través del oxígeno apical (ver Figura 8) hacia las cadenas de CuO . De esta manera, se abren huecos en los planos de CuO_2 . Estos huecos actúan como portadores de carga positiva (ausencia de un electrón en una banda llena). Y los pares de Cooper que se forman en esos planos son de portadores positivos. Desde una cierta concentración de oxígeno, la muestra se vuelve metálica, después de haber pasado por una fase de vidrio de espín (Ver Figura 9). Un poco después de volverse metálico el sistema, se vuelve superconductor. La temperatura máxima (92K) la adquiere para $YBa_2Cu_3O_{6.94}$, poco antes de la composición estequiométrica $YBa_2Cu_3O_7$ (87K). El dopaje ulterior de oxígeno disminuye la temperatura crítica hasta que la superconductividad desaparece. La cantidad de datos experimentales sobre este material es enorme. En los últimos años, se ha intensificado el estudio de las interfaces de

¹² 1 Å = 10^{-8} cm.

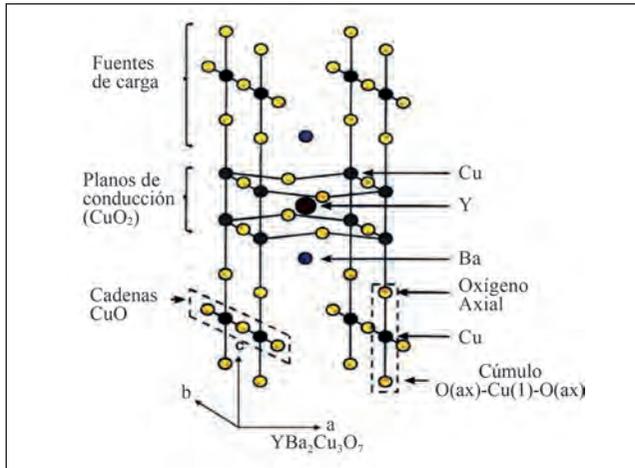


Figura 8. La estructura cristalina del YBCO7

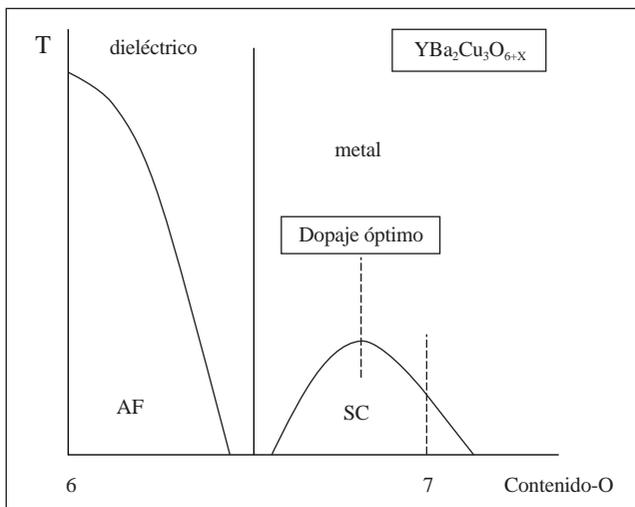


Figura 9. El diagrama de fases del YBCO7

este material (sobre todo en situación estequiométrica) con diversos materiales. De especial interés es la interface con semiconductores. Nosotros hemos estudiado la interface $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7/\text{GaAs}$ [27, 28] con el sorprendente resultado de que las capas del semiconductor adyacentes al $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7$, se vuelven metálicas. Esto permite esperar que la superconductividad se induzca en el semiconductor, permitiendo que la tecnología de los nanocircuitos con compuestos semiconductores, aproveche las propiedades propias del estado superconductor, especialmente, la no generación de calor.

7.2. Algunas propiedades de estos superconductores

El estado superconductor, más que un conjunto de pares de Cooper no relacionados entre sí, es un estado macroscópico coherente. Esto quiere decir que se necesita un volumen

mínimo para que la transición de fase al estado superconductor sea posible. Este volumen se caracteriza por medio de la llamada *longitud de coherencia* que puede pensarse como la longitud característica del par de Cooper (como la distancia entre los dos electrones que constituyen el par de Cooper). Entre más grande sea, más alejado puede estar un electrón del otro con el que forma el par. Entre más grande sea esta distancia, podemos pensar que el “amarre” es más débil. En los superconductores convencionales esta distancia (que depende de la temperatura) es del orden de algunos cientos de angstroms a $T=0\text{K}$, pero puede llegar, como en el Al ($T_c=1.2\text{K}$), hasta los 1000Å . De lo anterior se deduce que la longitud de coherencia es inversamente proporcional tanto a la brecha, Δ_0 , y a la T_c . La fórmula es, en efecto,

$$\xi_0 = \frac{2\hbar v_F}{\Delta_0} \quad (18)$$

donde v_F es la velocidad de Fermi y el sub-índice 0, indica que el valor está tomado a $T=0\text{K}$. La longitud de coherencia de los nuevos materiales es muy inferior, es de decenas de Armstrong. Para el $\text{La}_{1.8}\text{Sr}_{0.2}\text{CuO}_4$ con $T_c=40\text{K}$, $\xi_0=25\text{Å}$.

La brecha. Uno puede preguntarse, dada la pequeña longitud de coherencia y dada la existencia de escenarios en estos materiales como el YBCO, si, en realidad, existe una brecha y una T_c para cada escenario. Veamos el panorama. La conductividad a lo largo de las cadenas es casi el doble de la que se mide en la dirección perpendicular [29]. El tercer escenario (el eje-c) es metálico [30, 31, 32]. La diferencia, sin embargo, es que los electrones a lo largo del eje-c, permanecen en estado normal, por debajo de la T_c . Esto es algo nuevo, algo muy peculiar. Los dos escenarios, planos y cadenas, tienen la misma temperatura crítica, es un hecho experimental. Pero podrían tener dos brechas diferentes. Hay, en efecto, algunas evidencias experimentales acerca de la existencia de dos brechas. Por ejemplo, mediciones de la dependencia con la temperatura del desplazamiento Knight [40] y del tiempo de relajación de la resonancia nuclear magnética [33, 34] se encontró, en ambos casos, una función diferente cuando la medida se hacía sobre los planos y sobre las cadenas. Se encontró, además, que la relación entre la brecha y la temperatura crítica, Ec. 13, es del orden de 5 para los planos (mayor que BCS) y de 1.8 para las cadenas (mucho menor que BCS) [35]. De interés a este respecto es la ref. [36] donde, partiendo de la hipótesis de la existencia de dos valores de la brecha, se explican varios experimentos de manera coherente.

Esta es una breve descripción de las propiedades más sobresalientes de los cupratos, materiales sobre los cuales hay una gran actividad de investigación tanto teórica como experimental aun hoy (noviembre 2014). Una de las incógnitas principales es el origen, el mecanismo, que da lugar a la transición de fase superconductor. Más abajo abordaré

el tema no sin advertir que no hay consenso acerca de ese punto que, junto con la predicción de la T_c , sigue como tema abierto y de gran interés.

7.3. El diboruro de Magnesio.

La estructura cristalina del diboruro de magnesio, MgB_2 , aparece en la Figura 10.

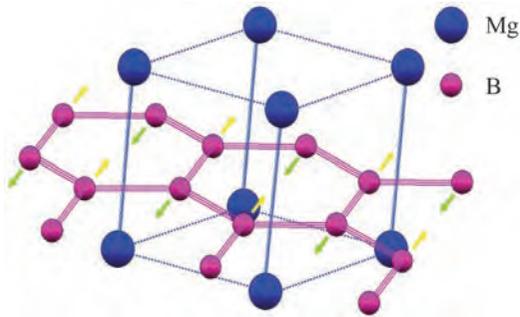


Figura 10. La estructura del diboruro de Magnesio

Es el superconductor de mecanismo electrón-fonón con la temperatura crítica más elevada que se conoce ($T_c=40K$), casi el doble del récord anterior a 1986, del Nb_3Ge con $T_c=23K$ (ver la ref. 23 acerca de ese material). Como puede verse, la estructura cúbica de los átomos de magnesio, sostiene una estructura hexagonal formada por átomos de Boro. Los pares de Cooper se forman en la estructura hexagonal debido a la atracción que suple un fonón en ese plano, las vibraciones de la red que dan lugar a ese fonón están marcadas con flechas en la figura. Se trata, por lo tanto, de un superconductor, esencialmente, bi-dimensional y anisotrópico.

Se observó dos brechas, 1.6 y 6.8 meV. La causa podría ser que el fonón involucrado es altamente anarmónico y es posible que se acople de distinta forma a diferentes grupos de electrones. Se trata de un superconductor de tipo II, su longitud de coherencia es de 4.4 nm (nanómetro¹³) a $T=0K$. La superconductividad en este material fue descubierta en el 2001. Lo curioso es que este material se conocía desde la década de los cincuentas y se vendía comercialmente. Pero nadie le midió la T_c , antes del 2001. Su estudio sigue activo (noviembre 2014)

8. Superconductividad y magnetismo.

La coexistencia entre superconductividad y magnetismo es un tema apasionante. Tiene varios aspectos. Las fluctuaciones de espín, por ejemplo, pueden actuar como un mecanismo que destruye la superconductividad electrón-fonón [37] pero también ha sido invocada como un mecanismo posible en

los nuevos materiales superconductores de alta T_c (ver más abajo). En esta sección trataré, brevemente, dos aspectos importantes de este tema, Uno la superconductividad en materiales que contienen hierro y el otro el comportamiento re-entrante.

8.1. Los compuestos con Hierro (pnictides, en inglés)

Hasta cierto punto, los compuestos con hierro son inespereados ya que una impureza magnética rompe totalmente la superconductividad electrón-fonón [37]. Sin embargo, en febrero del 2008 se anunció la existencia de un superconductor con Hierro, el $LaO_{1-x}F_xFeAs$ con $T_c=26K$, y una estructura laminar (ver Figura 11), formada por planos de LaO y de FeAs. La familia, los **oxinitrogenuros**, son estructuras tetragonales, laminares, de fórmula general (Figura 11a) $LnOTmPn$, donde O es oxígeno, Ln=Ce, Pr, Nd, Sm, Th, Dy; Tm es un metal de transición y Pn=P, As, Bi. La otra familia es la de los arseniuros ternarios de fórmula general (Figura 11b) AFe_2As_2 , donde A=Ca, Sr, Ba. En estos materiales la $T_c=26-55K$.

La investigación de estos materiales está muy activa e, incluso, ciertas características cristalinas llaman la atención. Una de ellas es que la T_c depende de la constante de red del material con diferentes Ln, como se ve en la siguiente Figura 12. La síntesis misma de estos materiales es objeto de investigación todavía.

En la fase no-superconductor del $LaOFeAs$ (compuestos no-dopados) se ha encontrado, por difracción de neutrones y rayos X, una transición de fase estructural a $T=155K$ de una estructura tetragonal a otra ortorrómbica. Posteriormente, a $T=137K$, la aparición de un orden magnético de largo alcance, es causa de una transición antiferromagnética en los átomos de Fe. Al dopar los materiales, estas transiciones se suprimen y solo permanece la transición superconductor. Por otro lado, se ha encontrado también que la T_c depende de un cierto ángulo de la estructura. Este es otro aspecto sin explicación cabal en estos complejos materiales que son actualmente tema de intensa investigación.

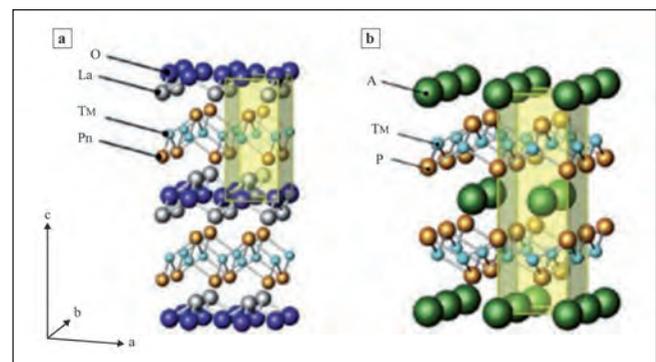


Figura 11. Estructura cristalina superconductores con Fe

¹³ 1 nm= 10^{-9} m

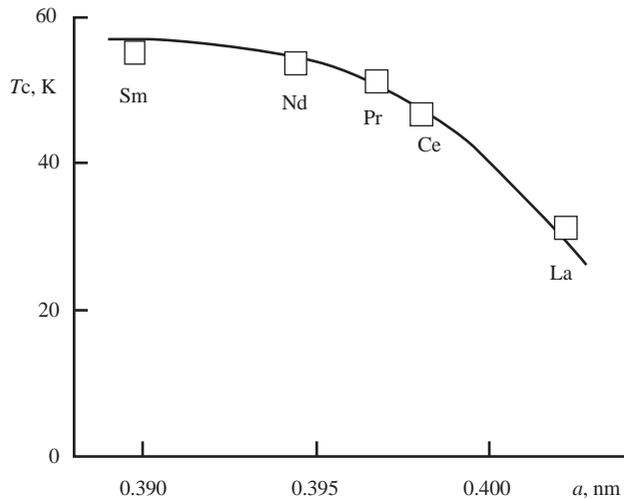


Figura 12. Relación entre el elemento usado en el compuesto LnOTmPn que determina una constante de red del material y la temperatura crítica. Esta dependencia no está explicada.

8.2. El comportamiento re-entrante

Comportamiento re-entrante se llama al hecho de que, por debajo de la temperatura crítica superconductor a un material regrese espontáneamente al estado normal. Hay tres tipos diferentes de comportamiento re-entrante. En los dos primeros hay presencia de Tierras Raras en el material que forman, a una cierta temperatura de Neel, T_N , una sub-red magnética que colapsa el estado superconductor, regresando la muestra al estado normal. El segundo tipo, se da en muestras en las cuales, a una temperatura aun menor que la de Néel, la superconductividad reaparece. El tercer tipo de comportamiento re-entrante se presenta en compuestos donde no hay Tierras Raras. Cuando el compuesto tiene Tierras Raras, como en los Borocarburos del tipo RT_2B_2C donde R es una Tierra Rara (Sc, Y, La, Ho, Er, por ejemplo), y T= Ni, Pd, Ru, por ejemplo, la sub-red de la Tierra Rara se vuelve antiferromagnética a $T_N < T_c$. Por esa razón, la muestra pasa al estado superconductor y, al descender la temperatura hasta la temperatura de Neel, el orden antiferromagnético da cuenta de la superconductividad, como ya lo mencioné [38]. El fenómeno fue descubierto hacia los años setentas. Presento aquí, un descubrimiento hecho en 1993, una muestra donde la superconductividad reaparece a una temperatura menor a la de Néel, como se ilustra en la Figura 13. En algunos casos la superconductividad no reaparece. Este comportamiento re-re-entrante es un problema abierto, sin explicación aun.

Un problema diferente, aparentemente, es el comportamiento que presentan los compuestos que no contienen tierras raras, Un caso de este tipo fue reportado para el experimento de dos monocristales intercalados entre sí [39], $Bi_2Sr_2CaCu_2O_8/Bi_2Sr_2Ca_2Cu_3O_{10}$. Ante una corriente pequeña de $50\mu A$, la

resistencia del sistema de cristales intercalados entre sí, pasa al estado superconductor a 105K y regresa a un estado de resistencia finita (estado normal) a una temperatura inferior para después volver al estado superconductor (resistencia cero) a los 92K. No hay tampoco explicación convincente para este experimento. El modelo que los autores usan para explicarlo es un sistema compuesto por un superconductor en interface con un semiconductor.

En un estudio posterior [40] se fabricó un intercalado de micro-partículas de CdS dentro de una cerámica de Bi-Pb-Sr-Ca-Cu-O. El material base es el Bi-2223 ($Bi_2Sr_2Ca_2Cu_3O_{10}$). El resultado se ilustra en la Figura 14. Aparecen dos curvas que corresponden a una medida de resistencia contra temperatura

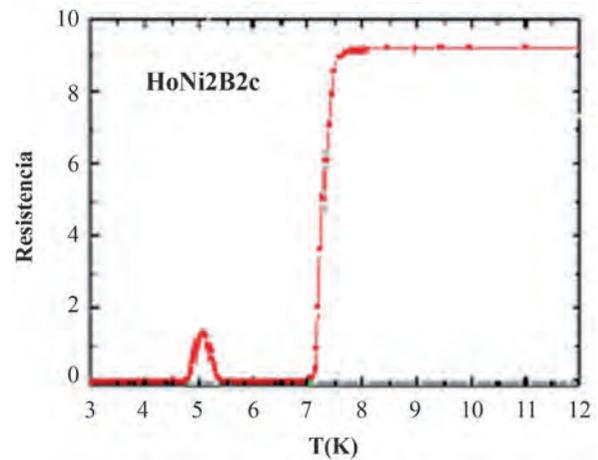


Figura 13. Resistencia vs. Temperatura. Descubierta por R. Cava en 1993 en el borocarburo $HoNi_2B_2C$, este intrigante comportamiento re-re-entrante se ha encontrado en varias muestras del mismo tipo y sigue aun sin explicación. La muestra regresa al estado superconductor a una temperatura por debajo de la T_N .

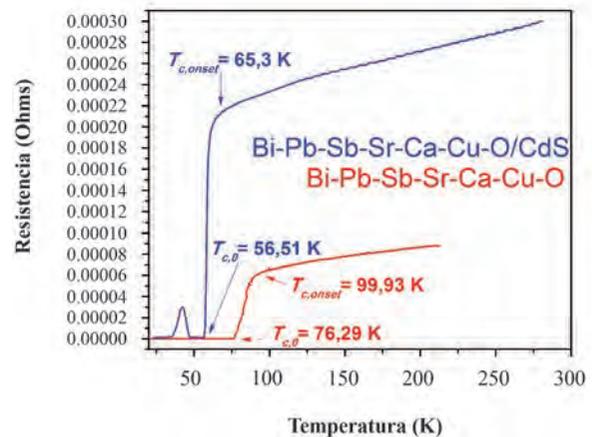


Figura 14. El comportamiento re-re-entrante en un compuesto intercalado con micro-partículas de CdS.

de la cerámica sola (curva inferior) y del compuesto (curva superior). La cerámica comienza a bajar su resistencia hacia los 94K y registra resistencia cero a los 76K, el ancho de la transición es de 18K. Permanece en el estado superconductor a toda temperatura por debajo de los 76K. La curva superior es una medida de la resistividad del compuesto. Su resistencia hacia los 200K es del orden de tres veces mayor que la de la cerámica sola. El compuesto comienza la transición a una temperatura igual a los 65K y el valor cero de la resistencia se mide a los 56K, la transición es de 9K, mucho menor que la de la cerámica sola. El compuesto pasa al estado normal por debajo de los 50K y regresa al estado superconductor por encima de los 40K. En este caso no hay Tierras Raras. El fenómeno requiere una explicación diferente a la formación de una sub-red antiferromagnética. Otro problema abierto.

9. El mecanismo.

Ha habido una búsqueda tenaz del mecanismo. La interacción electrón-fonón fue presentada por el grupo de Berkeley como un posible mecanismo al observar que en el YBCO7, un fonón cercano a los 80 meV se ablandaba (se corría hacia frecuencias menores) a la temperatura de la transición superconductor [41]. Una reinterpretación del experimento [42] mostró que las fluctuaciones de espín podrían explicar el experimento de igual manera. Las fluctuaciones de espín, si tienen que ver con el mecanismo tienen que mostrarse en experimentos de susceptibilidad magnética. Esta función presenta una resonancia a 40 meV en YBCO7, la cual fue utilizada por Carbotte et al. [43] como la función de Eliashberg para calcular, usando las Ecuaciones de Eliashberg, la termodinámica del YBCO7. Sin embargo, un audaz experimento demostró que la hipótesis era incorrecta [44]. Este es el reporte de uno de los muchos intentos en esta dirección. El mecanismo sigue como un problema abierto.

10. Conclusiones

La superconductividad ha sido un campo muy fértil que ha influido el desarrollo tanto teórico como experimental en muchas áreas de la física incluyendo la teoría de Muchos Cuerpos y las partículas elementales. El fenómeno es cuántico macroscópico no relativista. Su interés se ha aumentado ante la posibilidad de múltiples aplicaciones tecnológicas. La teoría BCS (1957) estableció que la superconductividad es la física de los pares de Cooper los cuales se mantienen por interacción con la red (fonones). Esta abrió el camino para que una formulación más exacta basada en teoría de campo no-relativista, estableciera las ecuaciones de Eliashberg y lograra una explicación total y cabal del fenómeno. En 1986, Bednorz y Müller [45] descubrieron los superconductores de alta temperatura crítica, re-abriendo el campo desde cero. Los problemas que se planteaban en 1911, año en que K. Onnes descubrió la existencia de la superconductividad, se plantean

aun hoy (noviembre 2014) para la nueva superconductividad *no-convencional*. Una rica serie de fenómenos nuevos se presentan, y una búsqueda tenaz para entenderlos hace de esta disciplina una de las más interesantes y activas entrada ya la segunda década del siglo XXI. Un gran problema abierto por encima de todos: predecir la temperatura crítica desde primeros principios. Registro, por completez, los trabajos del grupo de Gross [46] a los cuales no me referí por falta de espacio. Tampoco me referí a “grafeno, grafito y superconductividad” que es un tema en estudio de gran interés por las propiedades muy novedosas del grafeno. Hay superconductividad para otro siglo más, al menos. Y pensar que, a comienzos de 1986, creíamos que todo estaba terminado para la superconductividad.

Referencias

1. Onnes K. (1911) Further experiments with liquid helium. On the change of electric resistance of pure metals at very low temperatures, etc. IV. The resistance of pure mercury at helium temperatures. *Comm. Phys. Lab. Univ. Leiden* **29**, 1 (1911).
2. Baquero R., (1997) El Descubrimiento de la Superconductividad, *Avance y Perspectiva (Cinvestav)*, **16**, 167.
3. Frölich H., (1950) The Isotope Effect in Superconductivity, *Procc. Phys. Soc.* **A63**, 778.
4. Cooper L.N. (1956), Bound Electron Pairs in a Degenerate Fermi Gas, *Phys. Rev.* **104**, 1189.
5. Bardeen J., Cooper L.N. and Schrieffer J.R., (1957), Microscopic Theory of Superconductivity, *Phys. Rev.* **106**, 162.
6. Eliashberg G.M., (1960) Interactions Between Electrons and Lattice Vibrations in a Superconductor, *Soviet Phys. JEPT* **11**, 696.
7. Narrado por él mismo durante una reciente visita al IPN, México.
8. Bednorz J. G. and Müller, K.A. (1986) Possible High-Tc Superconductivity in the Ba-La-Cu-O System, *Z. Physik B* **64**, 189.
9. Chu C.W. et al., (1993) Superconductivity above 150 K in $\text{HgBa}_2\text{Ca}_3\text{O}_{8+\delta}$, *Nature* **365**, 323.
10. Baquero R., (2005) *Brief Introduction to Superconductivity*, 1 Edición, Editado por el Departamento de Física, Cinvestav. México, D.F.
11. Baquero R., (2006) *El Fascinante mundo del Estado Sólido: La superconductividad*, 1 Edición, editado por la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), Tunja, Colombia.
12. Navarro O. y Baquero R., (2007) *Ideas fundamentales de la Superconductividad*, 1 Edición, Editado por la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México D.F.
13. Fernandes R.M. (2012), *AIP Conf. Proc.* **1420**, 135.
14. Shrodinger E., (1926) Quantisierung als Eigenwertproblem, *Annalen der Physik* (4) **79**, 489.

15. N. Bohr es autor del primer modelo atómico que incluía una cierta forma de cuantización. Es autor de una interpretación de la Mecánica Cuántica llamada la interpretación de Copenhague que, aunque discutida, se impuso en la mayoría de los físicos del Siglo XX y prevalece hasta nuestros días.
16. A. Einstein y N. Bohr tuvieron una famosísima polémica que nunca concluyó acerca de la interpretación de la Mecánica Cuántica. Einstein no estuvo de acuerdo con la interpretación probabilística de Bohr. "Dios no juega a los dados", parece haber dicho.
17. Fetter A. and Walecka J.D., (1971) *Quantum Theory of Many-Particle systems*, 1st Edition, Mc Graw Hill Editors, Mexico; Mahan G.D., (1981) *Many Particle Physics*, 1st Edition, Plenum Press, New York and London; Schrieffer J.R., (1964), *Theory of Superconductivity*, W.A. Benjamin, INC. Reading, Ma. USA
18. Kittel C., (1996) *Introduction to Solid State Physics* J. Wiley & Sons, Inc. New York;; Kittel C., (1996) *The Quantum Theory of Solids*; W. A. Harrison (1996), *Electronic Structure and the Properties of Solids*.
19. G. Rickayzen G. (1996), *Theory of Superconductivity*, Wiley, New York; J.R. Schrieffer, (1965) *Theory of Superconductivity*, Addison-Wesley Publishing Company Inc; R. Parks editor, (1969) *Superconductivity*, Marcel Dekker, N.Y.; G. Burns, (1992) *High-Temperature Superconductivity: An Introduction*, Academic Press, Inc., , entre otros muchos.
20. Revisiones de la teoría de Eliashberg se encuentran en D.J. Scalapino (1969), *Superconductivity*, editado por E.D. Parks, Marcell Dekker, New York., vol. 1, pág. 449; Allen P.B. and Mitrovic B., (1982) *Solid State Physics*, editado por F. Seitz, D. Turnbull, y H. Ehrenreich, Academic Press, N.Y. vol 37 pág. 1; Carbotte J.P., (1990) *Electron-Boson Superconductivity*, Rev. Mod. Phys. **62**, 1027.
21. Daams J.M., J.P. Carbotte, J.P. and Baquero R. (1979), Critical Field and Specific Heat of Superconducting Tl-Pb-Bi Alloys, *J. Low Temp Phys.* **35**, 547.
22. Abrikosov A. A. and Gorkov,L.P., (1961), Contribution to the Theory of Superconducting alloys with paramagnetic impurities. *Soviet Physics JEPT*, **12**,1243.
23. Baquero R., Gutierrez-Ibarra J., Meza L., Navarro O., and Kihlstrom K.F., (1989) Eliashberg Theory and High-Tc Superconductivity, *Rev. Mex. Phys.* **35**, 461..
24. V.L. Ginsburg and L.D. Landau, *Zh. Eksp. Teor. Fiz.* 20, 1064 (1950); L.D. Landau (1965) *Collected Papers*, Oxford Pergamon Press, 1965, pág. 546. La teoría de transiciones de fase de Ginsburg-Landau es una de las aportaciones más importantes de la física del siglo XX. Se aplica a la superconductividad y coincide con BCS en temperaturas cercanas a la transición de fase. Una breve revisión de la misma se encuentra en la ref. 12.
25. Abrikosov A. A., (1957), On the magnetic properties of superconductors of the second group, *Soviet Phys. JETP* **5**, 1174.
26. Poole C.P., (2000) *Handbook of Superconductivity*, Academic Press, USA.
27. A.E. García et al., (2008), Influencia de la temperatura en la estructura de bandas. R. Baquero-Salaquarda, A.E. García, L.M. García-Cruz, and R. Baquero, *The ICFAJ Univ. J. Phys.* **1**, 28.
28. R. Torres and R. Baquero, (2013) Metallic behavior of the YBCO7/ZAl interfaces (Z=Ga, As). *Rev. Méx. Fis.* **59** 493-497.
29. Friedman T. et al., (1990), Direct measurement of the anisotropy of the resistivity in the plane of twin-free, single-crystal superconductivity, *Phys. Rev. B* **42**, 6217.
30. Rubio-Ponce A., (1999), Escenarios activos de los materiales superconductores. PhD. Thesis, Cinvestav, México D.F.
31. Rubio-Ponce A. and Baquero R., (2001) Superconductividad en YBa₂Cu₃O₇ ¿Un fenómeno bidimensional? *Rev. Mex. Fis.* **47**, 447.
32. Puch F., (2003) Hacia el mecanismo de los nuevos superconductores: La importancia de la tridimensionalidad. PhD. Thesis, Cinvestav, México D.F.
33. Barret S. et al., (1990), ⁶³Cu Knight shift in the superconducting state of YBa₂Cu₃O_{7-δ} *Phys. Rev. B* **41**, 6283.
34. Waren W. et al., (1987) Evidence for two pairing energies from Nuclear spin-lattice relaxation in superconducting Ba₂YCu₃O_{7-δ} *Phys. Rev. Lett.*, **59** 1860.
35. F. Puch and R. Baquero, (2005) The optical conductivity resonance from an exact description of the electronic states around the Fermi energy. arXiv cond-matt/0504593.
36. Cucolo A.M., Noce C. And Romano A., Simulation of experimental results on high-Tc superconductors: A phenomenological model, *Phys. Rev B* **53** 6764.
37. Baquero R., Daams J.M. and Carbotte J.P. (1981), Detailed study of the thermodynamics of a superconductor with paramagnons, *J. Low Temp. Phys.* **35**, 585.
38. Muller K.H. and Narozhnyi V.N., (2001) Interaction of superconductivity and magnetism in borocarbide superconductors, *Rep. Prog. Phys.* **64**, 943.
39. Zhao Y. et al., (1995), Grating-induced cyclotron resonance anomaly in GaAs/Al_xGa_{1-x}As heterostructures, *Phys. Rev. B* **51**,
40. A.E. Valdés et al. (2011) Processing and study of the composite CdS/Bi-Pb-Sr-Ca-Cu-O, arXiv cond-mat/ 1101.0277
41. A. Lanzara A. et al. (2001), Evidence for ubiquitous electron-phonon coupling in high-temperature superconductors, *Nature* **412**, 510.
42. Schachinger E., Tu J.J. and Carbotte J.P., (2003) Superconducting-insulating transition in quantum three-dimensional Josephson junction arrays with magnetic and charge frustration, *Phys Rev B* **67**, 214505.
43. Carbotte J.P., Schachinger E. and Basov E.D. (1999) Coupling strength of charge carriers to spin fluctuations in high-temperature superconductors, *Nature (London)* **401**, 354.

44. Huang J.H, Timusk T., and Gu G. D.,(2004) High-transition-temperature superconductivity in the absence of the magnetic resonance mode. *Nature* **427**, 714
45. "The Nobel Prize in Physics 1987". Nobelprize.org. Nobel Media AB 2013. Web. 25 Oct 2013. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1987/
46. Lüders M. et al. (2005) Ab initio theory of superconductivity. I Density Functional formalism and approximate functionals. *Phys. Rev B* 024545; Márques M.A. et al. (2005) Ab initio theory of superconductivity II Application to elementary metals, *Phys. Rev B* 024546.

Búsquedas de Materia Oscura Supersimétrica en el LHC

Juan Carlos Sanabria

Departamento de Física, Universidad de Los Andes, Colombia

Resumen

La composición microscópica de la materia oscura y la observación directa o indirecta de su presencia, más allá de sus efectos gravitacionales, representa uno de los problemas más urgentes que enfrentan la Física de Partículas, la Astrofísica y la Cosmología. Desde hace varios años se han llevado a cabo búsquedas experimentales de diversa índole, sin ningún resultado concluyente. Toda la evidencia indica que los constituyentes microscópicos de la materia oscura no pueden pertenecer al espectro de partículas del Modelo Estándar. Varios modelos teóricos proponen candidatos a ser los constituyentes fundamentales de este tipo de materia; entre ellos, algunas versiones de modelos supersimétricos, en las cuales los neutralinos más ligeros son estables, masivos, neutros y sin carga de color, haciéndolos excelentes candidatos. En los experimentos del LHC se han llevado a cabo búsquedas exhaustivas de partículas supersimétricas durante las primeras corridas a energías de 7 y 8 TeV, sin ningún resultado positivo. Estas búsquedas se han concentrado en canales de producción fuertes, con gluinos y s-quarks en el estado final. Dados los resultados negativos, es imperativo llevar a cabo búsquedas detalladas en canales de producción electro-débiles, en los cuales las partículas supersimétricas del estado final deberán ser más ligeras y, por tanto, tener mayor probabilidad de ser observadas, incluyendo los neutralinos. Los canales de producción de materia supersimétrica mediados por la fusión de bosones vectoriales son, hoy por hoy, los más prometedores, desde este punto de vista. En este artículo se presenta una revisión de las búsquedas de materia oscura en las primeras corridas del LHC, haciendo énfasis en los canales de fusión de bosones vectoriales y se presentan estrategias para llevar a cabo estas búsquedas, en la próxima corrida, a una energía de 14 TeV.

Search for Supersymmetric Dark Matter in the LHC

Abstract

The microscopic composition and the direct or indirect observation of dark matter, other than through its gravitational effects, is currently one of the most urgent and important problems in particle physics, astrophysics and cosmology. Since several years ago, different kinds of experimental searches have been conducted without any conclusive results. All the evidence shows that the microscopic constituents of dark matter cannot belong to the particle spectrum of the Standard Model. Several other theoretical models provide candidates to be the constituents of this kind of matter, among them some versions of supersymmetric models, in which the lightest neutralinos are stable, neutral, massive and do not have color charge, making them excellent candidates. The LHC experiments have conducted thorough searches of supersymmetric particles during the first runs of the LHC at 7 and 8 TeV, without any positive result. These searches have been concentrated in strong production channels, with gluinos and s-quarks in the final state. Given the negative results, it is necessary to perform detailed searches in electro-weak channels in which the supersymmetric particles in the final state are expected to be lighter, and therefore, have higher probability to be produced, including the neutralinos. The supersymmetric production channels mediated by vector boson fusion are the most promising ones. In this article, a review of the dark matter searches performed during the first runs of the LHC are presented, making emphasis on the vector boson fusion channels, as well as the strategies for the searches to be performed in the next run, at 14 TeV.

1. Introduction

En 2012, con el descubrimiento del bosón de Higgs en los experimentos CMS y ATLAS en el acelerador LHC del laboratorio CERN [1, 2], se cerró una página importante en la historia de la Física. Esta era la última partícula por descubrir del Modelo Estándar de Partículas e Interacciones (SM, Standard Model), aún cuando paradójicamente era, tal vez, la más importante dado el papel que juega al proveer términos de masa para los demás campos y, de paso, para restablecer la renormalizabilidad de todo el modelo. Si bien el

SM representa una excelente versión de las leyes de la física, al nivel más elemental, continúa teniendo algunos problemas a nivel teórico que tienen que ver con su comportamiento matemático a muy altas energías y con su incapacidad para dar explicaciones microscópicas satisfactorias a los dos problemas pendientes más importantes de la Astrofísica y de la Cosmología: la naturaleza de la materia oscura y de la energía oscura. Todo indica que el SM es una teoría efectiva que funciona muy bien a la escala electro-débil, es decir, a energías que van hasta los TeVs, pero que

tiene un comportamiento matemático insatisfactorio a escalas de energía superiores, como lo es la escala de Gran Unificación ($\sim 10^{13}$ TeV). Durante los últimos 50 años, se ha llevado a cabo un gran esfuerzo por construir modelos teóricos que vayan más allá del SM, pero que, por supuesto, lo incluyan y reproduzcan sus resultados a la escala electro-débil (BSM, *Beyond Standard Model*). Todos estos modelos predicen la existencia de una gama de nuevas partículas elementales muy masivas que, por lo tanto, solo son observables en ambientes con altas densidades de energía, como lo fueron las épocas tempranas del universo y como lo serían las colisiones entre protones en aceleradores como el LHC. Estas partículas, dada su alta masa, tendrían tiempos de vida muy cortos y habrían decaído muy pronto después del Big-Bang, contribuyendo a la composición actual de la materia bariónica y leptónica, y a la radiación cósmica de fondo del universo. Sin embargo, en ciertas versiones de estos modelos, algunas de estas partículas son estables, a pesar de ser masivas y, además, son el producto final de las cadenas de decaimiento de partículas de mayor masa. En consecuencia, enormes cantidades de ellas deberían haberse acumulado después del Big-Bang y continuar deambulando por el cosmos aún hoy en día. Dada la alta masa de estas partículas y a su gran cantidad, sus efectos gravitacionales deberían ser manifiestos, pero también, dado que aún no las hemos descubierto en la Tierra, deberían interactuar muy poco con la materia ordinaria que conocemos. La materia ordinaria tiene una alta interacción electromagnética a nivel atómico y una alta interacción fuerte a nivel nuclear. Es de esperarse, por tanto, que estas partículas interactúen gravitacionalmente, y a lo sumo, débilmente (WIMP, *Weakly Interacting Massive Particle*). Modelos teóricos BSM, como por ejemplo, los modelos supersimétricos (SUSY, *Supersymmetry*) y los modelos con dimensiones espaciales extra (ED, *Extra Dimensions*) proponen partículas que cumplen con estas condiciones básicas. Los efectos gravitacionales de estas partículas deberían ser notorios, proporcionando una respuesta al problema de la composición microscópica de la materia oscura; una forma de materia de la cual solo conocemos sus efectos gravitacionales a gran escala.

Las primeras evidencias de una forma de materia cuya naturaleza desconocemos, pero que tiene efectos gravitacionales notorios, provienen de las observaciones astronómicas de Fritz Zwicky, quien, en 1933, llevó a cabo un estudio detallado de la dinámica del cúmulo de galaxias Coma, conformado por unas 2000 galaxias y localizado a 300 millones de años luz de la Tierra. Usando la técnica de corrimiento Doppler de la luz recibida de cada galaxia para determinar su velocidad, Zwicky estimó la masa contenida en el cúmulo. El resultado indicaba que esta masa era mucho mayor a la cantidad de materia visible, unas 500 veces mayor [3] (actualmente se estima que es sólo 200 veces mayor). Sinclair Smith, en 1936, obtuvo resultados similares para el cúmulo de

Virgo [4]. Zwicky continuó sus estudios a nivel galáctico, midiendo velocidades de rotación de estrellas orbitando alrededor del núcleo de galaxias espirales. Sus resultados indicaban que, también en este caso, la dinámica de estas estrellas estaba alterada con respecto a lo que se esperaría, dada la cantidad de materia observada. Si se usa gravitación newtoniana para calcular las velocidades de rotación de las estrellas, no se obtienen los resultados medidos, a menos que se considere la presencia de un halo de materia que no observamos, pero que ejerce una influencia gravitacional importante [5]. Toda la evidencia recolectada por Zwicky parecía indicar que en el universo había grandes cantidades de *materia oscura*.

En galaxias espirales, la gran mayoría de estrellas visibles están concentradas en un núcleo central. Las demás estrellas y gases orbitan alrededor del núcleo en un disco exterior. Las estrellas que están en este disco deberían seguir patrones de movimiento similares a los que siguen los planetas que orbitan alrededor del Sol. La velocidad de rotación de una estrella es de la forma:

$$v(r) = \sqrt{\frac{GM(r)}{r}}, \quad (1)$$

donde

$$M(r) = 4\pi \int_0^r \rho(r')r'^2 dr' \quad (2)$$

es la masa incluida al interior de la órbita y $\rho(r)$ es el perfil de densidad de masa de la galaxia. En consecuencia, si consideramos que la gran mayoría de la masa de la galaxia está acumulada en su núcleo, y despreciamos la masa que está en el disco, entonces $v(r) \propto 1/\sqrt{r}$, en la región del disco. Por el contrario, las estrellas al interior del núcleo galáctico deberían poseer velocidades que incrementan con la distancia al centro. El resultado debería ser una curva de velocidad rotacional que aumenta desde cero en el centro galáctico y que llega a un máximo en la frontera del núcleo, para después disminuir en la región del disco (ver Figura 1). Sin embargo, esto no fue lo que observó Zwicky; lo que él observó fue una curva que incrementa al interior del núcleo, para después hacerse constante en la región del disco galáctico (ver Figura 1). Este tipo de estudios fueron llevados a cabo hasta la década de 1970, usando la técnica de corrimiento Doppler para la luz visible de estrellas y de nubes de gas luminoso al interior de las galaxias. El uso de radio-telescopios para medir corrimientos Doppler de la radiación emitida con una longitud de onda de 21 cm por nubes de hidrógeno, orbitando más allá de los límites visibles de las galaxias, permitieron extender las curvas de velocidad de rotación [6, 7]. Estos estudios mostraban que hasta los límites detectables de las galaxias, las curvas continuaban siendo planas, aun a grandes distancias del núcleo. Una

forma de explicar estos resultados es asumiendo que hay una cantidad apreciable de materia invisible, que se esparce en forma de halo hasta los confines de la galaxia, conteniendo de 5 a 10 veces más masa que la que observamos, afectando la dinámica de la materia visible. Este halo debería poseer un perfil de densidad $\rho(r) \propto 1/r^2$, de tal forma que $M(r) \propto r$ y por tanto $v(r) \propto \text{const.}$

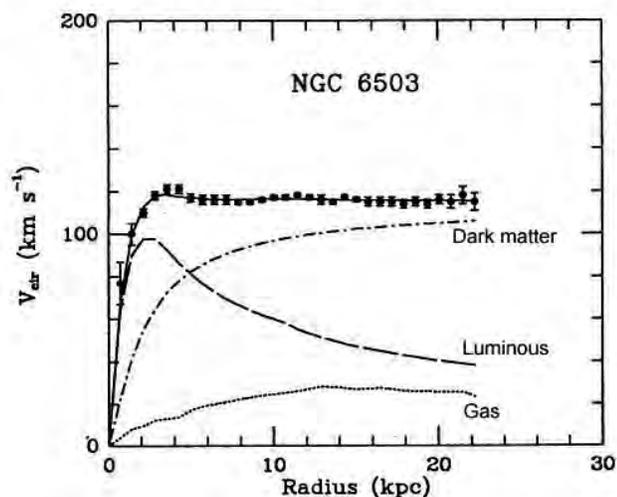


Figura 1: Curva de rotación para la galaxia espiral NGC 6503. Los datos son consistentes con la presencia de materia luminosa, de gas y de materia oscura, como se muestra en la gráfica (tomada de la referencia [6]).

Nuestra galaxia, la Vía Láctea, debería contener una cantidad apreciable de materia oscura en forma de halo permeando la región visible e incluyendo al Sistema Solar. El movimiento de las estrellas que se encuentran fuera del plano galáctico; de los cúmulos globulares; de galaxias satélites como las Nubes de Magallanes; al igual que la interacción gravitacional con nuestra galaxia hermana Andrómeda, permiten estimar la cantidad de masa en el halo que resulta ser unas 10 veces mayor que la masa de la materia luminosa que observamos [8–11].

El caso de las galaxias elípticas, en el cual es mucho más difícil hacer curvas de velocidad de rotación, dado que no hay un plano bien definido en el cual las estrellas estén rotando, los estudios de ensanchamiento de las líneas espectrales de la luz emitida por las estrellas, nos dan una medida de las velocidades estelares al interior de la galaxia. El teorema Virial nos permite establecer una relación entre la energía cinética total del sistema y la energía potencial que, en este caso es gravitacional. De esta forma podemos determinar la energía potencial gravitacional y, por tanto, la masa total de la galaxia. Nuevamente, este tipo de estudios muestran un exceso de materia oscura que es 5 a 10 veces mayor que el de la materia luminosa [12]. Sin embargo, estudios muy detallados de las distribuciones de velocidad de

nebulosas planetarias (las nubes de gas emitidas por estrellas que están muriendo), en galaxias elípticas cercanas, muestran que algunas de ellas parecieran tener muy poca materia oscura, o no tenerla. Este es un resultado sorprendente que proyecta una sombra de duda sobre algunos preceptos relacionados con las teorías de formación y de estructura de las galaxias, a la luz de la existencia de materia oscura [13]. Otro resultado, igualmente intrigante, es la existencia de galaxias oscuras, que contienen muy pocas estrellas, pero poseen grandes cantidades de materia oscura. Un ejemplo de este tipo de galaxias es el objeto denominado VIRGOHI21, descubierto en 2005 por medio de la detección de ondas de radio de 21 cm emitidas por nubes de hidrógeno [14]. Esta galaxia oscura parece tener una masa de 10,000 millones de soles y extenderse por una región del espacio de 50,000 años luz.

Los estudios de la dinámica de los cúmulos y supercúmulos de galaxias, más allá de las observaciones iniciales llevadas a cabo por Zwicky y Smith, han mostrado que, aun incluyendo la masa proveniente del gas ionizado presente en el espacio intergaláctico, la masa visible o detectable de estos objetos no alcanza un décimo de la masa que se deduce de su comportamiento dinámico [15, 16].

Una evidencia bastante directa de la presencia de materia oscura en el universo proviene del fenómeno conocido como lente gravitacional. Según la teoría de la Relatividad General, un haz de luz es desviado al pasar cerca de una fuente intensa de campo gravitacional. Por lo tanto, un cuerpo muy masivo que esté en el camino entre un objeto luminoso y un observador, actuará como un lente convergente, magnificando la imagen del objeto. Si el objeto, el cuerpo masivo y el observador están alineados, la luz del objeto se desviará produciendo una imagen en forma de anillo desde el punto de vista del observador. Si el alineamiento no es perfecto, se observarán varias copias del objeto, distorsionadas en forma de arcos, como las observadas por Walsh, Carswell y Weymann en 1979 para el quásar 0957+561 [17]. El ejemplo por excelencia del fenómeno de lente gravitacional es el cúmulo Abell 2218, en la constelación del Dragón, que muestra imágenes distorsionadas en forma de arcos de más de 100 galaxias que están en un cúmulo mucho más distante (ver Figura 2). Un análisis cuidadoso de la distorsión presente en este tipo de imágenes permite estimar la cantidad de masa que está en el camino y que está produciendo el lente gravitacional. Este tipo de estudios han mostrado que en el caso de cúmulos y de supercúmulos de galaxias, la cantidad de materia oscura es de 10 a 100 veces mayor que la cantidad de materia visible [18, 19]. Actualmente, la cantidad y la calidad de los datos recolectados permiten hacer detallados mapas de la distribución de materia oscura en el universo observable.



Figura 2: Imagen del lente gravitacional generado por el cúmulo Abell 2218. Los filamentos y las figuras arqueadas corresponden a galaxias más lejanas, cuyas imágenes son distorsionadas por el lente gravitacional generado por la masa del cúmulo que, en su gran mayoría, no es visible (imagen tomada de [20]).

Por último, el estudio de la formación de galaxias a partir del Big-Bang, a la luz de la información de alta precisión provista por el espectro de radiación cósmica de fondo, parece indicar que son necesarias grandes cantidades de materia oscura que aporten el campo gravitacional necesario para explicar este proceso [21].

En resumen, la evidencia a favor de la existencia de materia oscura en el universo es enorme, aún cuando hay algunos resultados contradictorios. La curvas de rotación de galaxias espirales, la dinámica de los cúmulos galácticos y el estudio de las imágenes de lente gravitacional, proveen argumentos muy convincentes que indican una cantidad de materia oscura en el universo que es unas 10 veces mayor que la cantidad de materia visible.

¿Cuál es la naturaleza de esta materia oscura? ¿Podría ser materia ordinaria que, por algún motivo, no es visible o detectable, o más bien, se trata de una nueva forma de materia? ¿Puede alguno de los candidatos provenientes de modelos BSM ser el constituyente microscópico de esta nueva forma de materia?

II. COMPOSICIÓN DE LA MATERIA OSCURA

Si en el universo hay grandes cantidades de materia que no vemos, ¿podría esta materia ser simplemente materia ordinaria, de carácter bariónico, que no emite luz, o que emite muy poca? Los halos galácticos podrían estar compuestos de objetos macroscópicos, suficientemente pequeños como para no ser detectados. Nada excluye la posibilidad de que existan cuerpos del tamaño de rocas o de asteroides flotando alrededor de las galaxias. Pero lo que sí es muy difícil de justificar es

el tipo de procesos que habrían llevado a que la gran mayoría de la materia en el universo hubiese terminado de esta forma. Cuerpos de este tamaño están compuestos por elementos químicos pesados (tan pesados como el carbono, o más) y estos elementos solo son producidos como resultado de explosiones de supernovas, lo cual los hace muy poco abundantes. Sería más probable que hubiese una gran cantidad de objetos más grandes, pero de baja luminosidad, como por ejemplo enanas blancas, estrellas de neutrones o agujeros negros. Estos cuerpos constituyen el remanente de estrellas muertas, compuestas originalmente por hidrógeno y por helio. Las estrellas de neutrones y los agujeros negros son resultado de la explosión de estrellas muy masivas, que son poco abundantes. Existe la posibilidad de que en etapas tempranas del universo se hubiesen creado grandes cantidades de estrellas muy masivas, que, rápidamente, habrían colapsado en forma de agujeros negros. Otra posibilidad son las enanas rojas, estrellas muy pequeñas, que, debido a su baja luminosidad, son muy difíciles de observar. También podrían ser enanas café, cuerpos unas decenas de veces más grandes que Júpiter, que no alcanzan a convertirse en estrellas, y que, por tanto, emiten muy poca radiación. Si bien las enanas rojas o café son muy difíciles de detectar, los nuevos instrumentos astronómicos de alta resolución han permitido observar una cantidad suficiente de ellas, como para hacernos una idea de su abundancia. Nuevamente, la cantidad de este tipo de objetos no es suficiente para explicar la composición de la materia oscura, o al menos, de una fracción significativa de ella.

Si bien muchos de estos candidatos no son del todo plausibles, no pueden ser descartados. Varios equipos de investigadores han llevado a cabo búsquedas de objetos masivos y compactos en el halo galáctico (MACHO, *MAssive Compact Halo Object*). La forma de detectar estos cuerpos, tan pequeños y oscuros, es usando la técnica de Microlente Gravitacional (*microlensing*), debido a que, si bien, el campo gravitacional de un MACHO es muy pequeño, alcanza a desviar la luz que pasa cerca de su superficie. Cuando uno de estos MACHOs se atraviesa en la línea de visión de una estrella que está siendo observada desde la Tierra, el pequeño lente gravitacional que produce va a enfocar una mayor cantidad de luz sobre el observador (tal y como lo hace una lupa). El resultado es que durante el período en el cual el MACHO está atravesando la línea de visión, se observará un aumento en el brillo aparente de la estrella, produciendo una curva de luminosidad característica. El brillo de la estrella puede aumentar en unas cuantas decenas y la duración del pico de luminosidad puede ser de unos cuantos días.

Los lugares más adecuados para buscar eventos de microlente gravitacional son la Gran Nube de Magallanes y la Pequeña Nube de Magallanes, galaxias satélites de la Vía Láctea. Dada la cercanía de estas galaxias, podemos

distinguir estrellas en forma individual. Cuando un MACHO perteneciente a la Vía Láctea se interpone en la línea de visión de una estrella en una de las nubes de Magallanes, el fenómeno del microlente se observa desde la Tierra. Desde la década de 1990, varios equipos de astrónomos han monitoreado una gran cantidad de estrellas en las nubes de Magallanes, en búsqueda de éste tipo de eventos [22, 23]. Dada la dificultad de estas búsquedas, los resultados no han sido concluyentes, pero la evidencia indica que la contribución de los MACHOs a la masa del halo galáctico no puede ser mayor al 20 %, y, muy probablemente, no supera el 10 %. Si bien los MACHOs existen, no son la respuesta al problema de la materia oscura.

Dado que la información que poseemos sobre la materia oscura proviene en gran medida de sus efectos gravitacionales, bien podría ser que esta materia no exista, sino que sea el resultado de efectos gravitacionales a gran escala, cuya naturaleza ignoramos. Esta es la idea básica de los modelos teóricos de Dinámica Newtoniana Modificada (MOND, *MODified Newtonian Dynamics*). En la versión original de éste tipo de teorías, presentada por Mordehai Milgrom en 1983 [24–26], el comportamiento de la fuerza gravitacional depende de la aceleración del cuerpo. Si esta aceleración es mayor que un valor de umbral, la fuerza gravitacional se comporta de la manera Newtoniana, es decir, inversamente proporcional al cuadrado de la distancia entre los cuerpos. Sin embargo, si la aceleración es menor que este valor, la fuerza se vuelve inversamente proporcional a la distancia. Para estrellas ubicadas en el disco de galaxias espirales, la aceleración es tan pequeña que la fuerza gravitacional, según MOND, sería inversamente proporcional a la distancia al centro galáctico, resultando en velocidades de rotación constantes y explicando las observaciones astronómicas para este tipo de sistemas. Otras teorías, basadas en cambios en el valor de la constante gravitacional de Newton, debido al carácter cuántico de campo gravitacional, también pueden reproducir muchos de los resultados de dinámica gravitacional a nivel galáctico e incluso cosmológico [27].

Si bien las teorías tipo MOND explican la dinámica galáctica, tienen problemas para explicar objetos como VIRGOHI21, un cuerpo muy masivo, pero que posee cantidades muy pequeñas de masa luminosa. De igual forma, MOND tiene problemas para explicar la gran cantidad de información, muy detallada, proveniente de las imágenes de lente gravitacional. Recientemente, una nueva evidencia a favor de la existencia de la materia oscura, y contraria a soluciones del tipo MOND, ha surgido a partir del estudio del cúmulo Bala, en la constelación de Carina. En realidad, se trata de dos cúmulos de galaxias, alejándose el uno del otro después de haber colisionado. Los dos cúmulos están compuestos por materia bariónica, en forma de galaxias y de gas, y por materia que solo se manifiesta gravitacionalmente,

es decir, materia oscura. La materia en forma de galaxias ocupa un volumen muy pequeño, mientras que el gas se esparce por todo el volumen de los dos cúmulos. Como resultado de la colisión, las galaxias solo sufrieron un retardo en su movimiento debido a la interacción gravitacional. Por el contrario, la interacción electromagnética entre los gases de los dos cúmulos deformó sus distribuciones espaciales, como lo muestran las imágenes de rayos X. En el caso de la materia oscura, su presencia ha sido inferida a partir del estudio de imágenes de lente gravitacional. Si la materia oscura es no interactuante (*collisionless*) o, más bien, solo interactúa débilmente, las nubes de los dos cúmulos debieron haber pasado, la una a través de la otra, sin deformarse. Si asumiéramos MOND, la deformación de las nubes de gas causaría una deformación similar en el campo gravitacional y, por tanto, en las imágenes de lente gravitacional. Los resultados de los estudios de rayos X y de lente gravitacional para el cúmulo Bala muestran que las nubes de materia bariónica sufrieron la deformación esperada, mientras que las nubes de materia oscura, no (ver Figura 3) [28]. La evidencia muestra la existencia de un tipo de materia con efectos gravitacionales notorios, pero que no participa en colisiones. Es decir, materia que no interactúa ni electromagnética ni fuertemente.



Figura 3: Imagen compuesta del cúmulo Bala. El cúmulo pequeño, del lado derecho de la imagen, atravesó al cúmulo grande. El color rojo representa la distribución de materia bariónica en forma de galaxias y de gas. El color azul representa la distribución de materia oscura. Como resultado de la colisión, la materia bariónica sufrió una deformación y un retardo, mientras que la materia oscura no sufrió ninguna deformación (imagen tomada de [29]).

Otro resultado importante a favor de la existencia de materia oscura no-bariónica emerge del proceso de nucleosíntesis durante el Big-Bang. Estudios de este proceso indican que, dada la abundancia de hidrógeno, helio, deuterio y litio en el universo, la densidad de materia bariónica necesaria para generarlas debería ser menor al 10 % de la densidad de energía total [30–32].

Si se evalúan todos los resultados astronómicos en perspectiva, se puede concluir que hay fuertes evidencias a favor de la existencia de una materia oscura que está compuesta por partículas muy masivas, que no son bariones, que no poseen carga eléctrica y que, a lo sumo, interactúan débilmente.

III. ESTRUCTURA MICROSCÓPICA DE LA MATERIA OSCURA

Múltiples modelos teóricos proponen candidatos para constituir la materia oscura a nivel microscópico. Todos estos modelos deben representar, de una forma u otra, extensiones del SM para poder explicar la naturaleza no-bariónica de la materia oscura y, a la vez, no contradecir a la física de partículas ya establecida. La solución más sencilla habría sido oponer que la materia oscura estuviese compuesta por partículas conocidas, pertenecientes al SM, como por ejemplo, los neutrinos. Pero la masa de estas partículas es tan pequeña que tendría que haber una cantidad enorme de ellas deambulando por el universo, en contradicción con toda la evidencia astronómica y con los modelos cosmológicos de evolución a partir del Big-Bang [33, 34]. Otra posibilidad es que existieran neutrinos con helicidad derecha, que tuvieran alta masa (la helicidad hace referencia a la orientación del espín de la partícula con respecto a su dirección de movimiento). Sin embargo, los neutrinos del SM solo interactúan débilmente y poseen helicidad izquierda. Al ser los neutrinos partículas masivas, podrían tener helicidad derecha pero, entonces, no interactuarían débilmente y, dado que no poseen carga eléctrica ni tampoco carga de color, solo interactuarían gravitacionalmente. A este tipo de neutrinos se los denomina *estériles*. En los modelos teóricos en los que se incluyen neutrinos estériles, la masa de estas partículas puede llegar a tener valores muy altos, convirtiéndolas en candidatos a ser constituyentes de la materia oscura [35].

Otra posibilidad es que el espacio-tiempo en el que vivimos tenga más de 4 dimensiones. Además de la dimensión temporal y de las 3 dimensiones espaciales, podrían haber dimensiones espaciales extra, compactificadas hasta escalas microscópicas, de tal forma que no las notaríamos a nivel macroscópico. Excitaciones de Kaluza-Klein (KK) de los campos/partículas del SM en un universo con dimensiones espaciales extra (ED), le darían mayor masa a estos campos/partículas. Modelos teóricos con ED proponen excitaciones de KK como candidatos a ser constituyentes de la materia oscura [36, 37].

Los candidatos más populares a ser los constituyentes de la materia oscura provienen de modelos SUSY. Todos estos modelos recurren a una extensión de la simetría espacio-temporal, denominada *supersimetría*, que coloca a los campos fermiónicos y bosónicos del SM en un mis-

mo plano, juntándolos en supercampos cuyas partículas son las que conocemos en el SM, sumadas a compañeras supersimétricas de mayor masa. Diferentes versiones de este tipo de teorías incluyen candidatos a constituir la materia oscura, como por ejemplo, los neutralinos en el caso de modelos que conservan la paridad R , o los gravitinos en el caso de modelos con rompimiento de SUSY mediado por *gauge*, o los s-neutrinos en algunas otras parametrizaciones.

Otros candidatos más exóticos han sido considerados; como por ejemplo: axiones [38], materia oscura ligera [39], materia oscura superpesada [40], partículas provenientes de modelos con *Little Higgs* [41], *Q-balls* [42], partículas espejo [43], partículas cargadas masivas (CHAMP, *CHarged Massive Particle*) [44], materia D (*D-matter*) [45], materia oscura en forma de branas [46], *cryptons* [47], entre otros. Si bien algunos de estos candidatos son menos plausibles, no pueden ser descartados y las diferentes búsquedas de materia oscura deben tener en cuenta las señales que ellos producirían. En este artículo nos concentraremos en los candidatos supersimétricos.

IV. MATERIA OSCURA SUPERSIMÉTRICA

Como ya se ha mencionado anteriormente, existen varios argumentos teóricos para sospechar que el SM es una teoría efectiva para energías inferiores a los TeVs. Además de sus 28 o más parámetros libres, y de no proporcionar una explicación microscópica para la materia oscura ni para la energía oscura, a nivel de teoría cuántica de campos, el SM exhibe problemas que hacen poco satisfactoria su extensión a escalas de energía superiores. Entre estos problemas está el denominado *falta de naturalidad de la masa del Higgs*.

El problema de la falta de naturalidad de la masa m_H del campo de Higgs emerge cuando se calculan correcciones radiativas a su propagador. En la Figura 4 se muestra la contribución al orden más bajo, debido a loops fermiónicos.

La contribución a la función de dos puntos, asociada a este tipo de diagrama, es [48]:

$$\Pi_{HH}^f(0) = -2\lambda_f^2 \int \frac{d^4k}{(2\pi)^4} \left[\frac{1}{k^2 - m_f^2} + \frac{2m_f^2}{(k^2 - m_f^2)^2} \right], \quad (3)$$

donde λ_f es la constante de acoplamiento entre el campo fermiónico y el campo de Higgs y m_f es la masa del fermión. Esta integral es cuadráticamente divergente e independiente de m_H . Si el límite superior de la integral se corta a un valor de momentum Λ , del orden de la masa de Planck, entonces la corrección δm_H^2 es de unos 30 ordenes mayor que m_H^2 mismo. Además, si se lleva m_H a cero, la corrección no se hace cero. Esto indica que no existe una simetría en el SM que *proteja* la masa

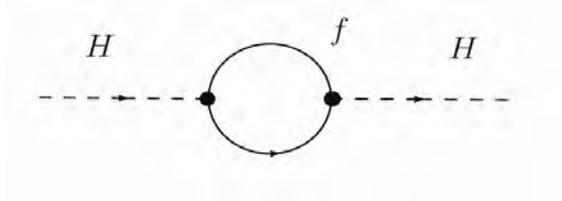


Figura 4: Corrección al propagador del campo de Higgs, H , debido a un *loop* fermiónico, f .

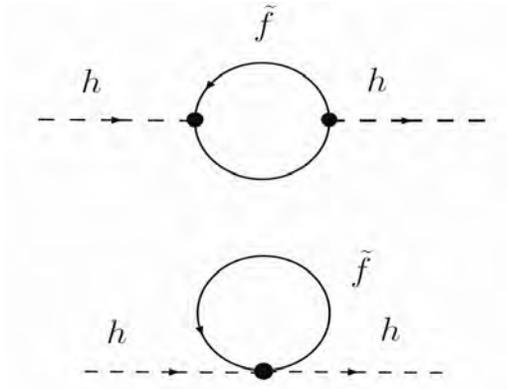


Figura 5: Corrección debida a loops s-fermiónicos al propagador de h .

del Higgs, haciendo de este un parámetro *no-natural*. Aún cuando esta divergencia se puede renormalizar de la forma habitual, en una extensión de la teoría a la escala de gran-unificación ($\sim 10^{16}$ GeV), la renormalización de la masa del Higgs requeriría una cancelación de términos con una precisión de $\sim 10^{-26}$, lo cual es considerado poco natural e insatisfactorio [48].

La supersimetría es una extensión del grupo de Poincaré, que es el grupo de simetría fundamental del espacio-tiempo a un grupo de *Super-Poincaré* que, además de continuar siendo un grupo de simetría del espacio-tiempo, transforma campos bosónicos en fermiónicos y viceversa [49]. Esta supersimetría permite construir teorías de campos en términos de *supermul-*

tipletes de partículas de igual masa que incluyen igual número de grados de libertad fermiónicos que bosónicos. Regresando al problema de la falta de naturalidad de m_H en una extensión SUSY del SM, por cada loop fermiónico habría que incluir un loop bosónico (s-fermiónico) con igual constante de acoplamiento, pero con signo opuesto, como se muestra en la Figura 5.

Con la inclusión de estos términos, las divergencias cuadráticas en el propagador del campo de Higgs desaparecen [50, 51]. Las divergencias remanentes son logarítmicas y dependen de m_H en forma tal que, cuando este parámetro se lleva a cero, estas desaparecen. La teoría recupera así su *naturalidad* y las extensiones a escalas de energía superiores se hacen viables. Esta es la razón fundamental por la cual, aún después de más de treinta años de búsqueda experimental fallida, SUSY continúa siendo una teoría deseable [52].

Un modelo de teoría de campos tipo SUSY está escrito en términos de supermultipletes de partículas de igual masa. Estos supermultipletes pueden ser:

- *Supermultipletes quirales* : $(\frac{1}{2}, 0) \rightarrow (f, \tilde{f})$
- *Supermultipletes de gauge* : $(1, \frac{1}{2}) \rightarrow (g, \tilde{g})$
- *Supermultiplete del gravitón* : $(2, \frac{3}{2}) \rightarrow (G, \tilde{G})$.

A este nivel, el SM no puede reescribirse en términos supersimétricos, ya que los fermiones y bosones conocidos no se pueden poner juntos en supermultipletes, debido a que sus números cuánticos no lo permiten. La única forma de implementar una teoría de este tipo para las partículas elementales conocidas, es introduciendo nuevas compañeras SUSY de igual masa para cada una de las partículas del SM. Dado que ninguna de las partículas SUSY ha sido observada experimentalmente en el rango de masas conocido, SUSY debe ser una simetría rota. La ruptura de esta simetría debe ser tal que genere una diferencia de masas entre las partículas del SM y sus compañeras SUSY, del orden de cientos de GeV, hasta varios TeV, para no entrar en contradicción con las observaciones experimentales.

La versión más económica de SUSY, que incluye en forma adecuada al SM, es el Modelo Mínimo Supersimétrico Estándar (MSSM, *Minimal Supersymmetric Standard Model*). Este modelo posee el siguiente espectro de partículas:

SM

leptones cargados $\rightarrow l^\pm$
 neutrinos $\rightarrow \nu_l$
 quarks $\rightarrow q$

bosones vectoriales cargados $\rightarrow W^\pm$
 bosones vectoriales neutros $\rightarrow \gamma, Z^0$
 gluones $\rightarrow g$
 higgs $\rightarrow H$

MSSM

s-leptones $\rightarrow \tilde{l}^\pm$
 s-neutrinos $\rightarrow \tilde{\nu}_l$
 s-quarks $\rightarrow \tilde{q}$

Winos $\rightarrow \tilde{W}^\pm$
 fotino, Zino $\rightarrow \tilde{\gamma}, \tilde{Z}$
 gluinos $\rightarrow \tilde{g}$
 higgsinos $\rightarrow \tilde{H}_1^0, \tilde{H}_2^0$

El rompimiento de la simetría electrodébil presente en el SM, se manifiesta en el sector supersimétrico en términos de una mezcla entre los *gauginos* (*Winos*, *Binos*, y *higgsinos*), resultando en un nuevo conjunto de estados observables denominados *charginos* y *neutralinos*, y un nuevo conjunto de campos de Higgs, como se muestra a continuación:

charginos ligeros $\rightarrow \tilde{\chi}_1^\pm$
 charginos pesados $\rightarrow \tilde{\chi}_2^\pm$

neutralinos $\rightarrow \begin{cases} \tilde{\chi}_1^0 \leftarrow \text{el más ligero} \\ \tilde{\chi}_2^0 \\ \tilde{\chi}_3^0 \\ \tilde{\chi}_4^0 \leftarrow \text{el más pesado} \end{cases}$

higgs $\rightarrow \begin{cases} h \leftarrow \text{el más ligero} \\ H \\ A \\ H^\pm \end{cases}$

El modelo MSSM incluye un número cuántico multiplicativo que se conserva denominado *Paridad R*. La conservación de esta cantidad fue introducida inicialmente en la teoría para prevenir el decaimiento del protón. La Paridad *R* está definida como:

$$R \equiv (-1)^{3B+L+2S}, \quad (4)$$

donde *B* es el número bariónico, *L* es el número leptónico y *S*, el espín. De esta definición se puede deducir que $R = +1$ para todas las partículas del SM y $R = -1$ para todas las compañeras SUSY (s-partículas).

La conservación de la paridad *R* tiene las siguientes consecuencias:

- Cualquier decaimiento de una s-partícula contiene otra s-partícula.
- La partícula SUSY más ligera (LSP, *Lightest Supersymmetric Particle*) tiene que ser estable.
- Toda la materia SUSY termina decayendo en LSP.
- En una colisión como las del LHC, las s-partículas tienen que ser creadas en pares.
- En una colisión como las del LHC, tiene que haber al menos un par de LSP en el estado final.

En el modelo MSSM, la LSP es $\tilde{\chi}_1^0$ que solo interactúa débilmente y es estable. Esta partícula se comporta en forma similar a un neutrino, solo que a diferencia de este, es muy masiva.

Las Figuras 6 y 7 muestran los canales de decaimiento de charginos y neutralinos. En el Cuadro I se listan los canales de decaimiento más importantes de s-leptones, de s-quarks y de gluinos. Como se puede constatar a partir de esta información, todas las partículas SUSY generan cadenas de decaimientos que llevan a charginos y a neutralinos, hasta que finalmente se llega a los neutralinos más ligeros, $\tilde{\chi}_1^0$, que son las LSP del MSSM. Como consecuencia de todo esto, si en las etapas tempranas del universo se produjeron grandes cantidades de materia SUSY, toda ella debió decaer rápidamente en partículas del SM y neutralinos $\tilde{\chi}_1^0$. Estos neutralinos serían los constituyentes microscópicos de la materia oscura que observamos. Por otro lado, en una colisión entre dos protones a una energía suficientemente alta, como lo son las colisiones del LHC, se podría producir materia SUSY, que generaría una cadena de decaimientos, terminando en un par de $\tilde{\chi}_1^0$. Estas partículas no dejan trazas en los detectores, pero transportan una cantidad apreciable de momentum

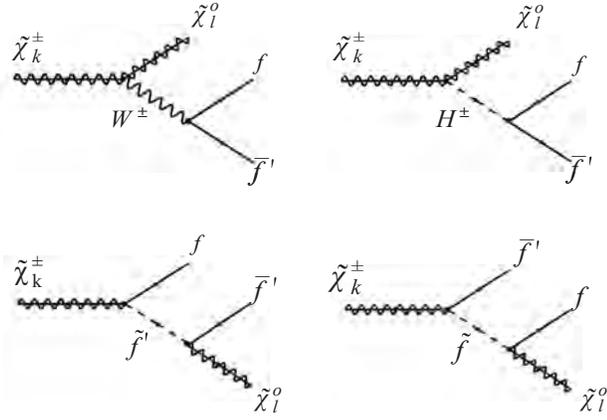


Figura 6: Decaimientos de Charginos según el MSSM [48].

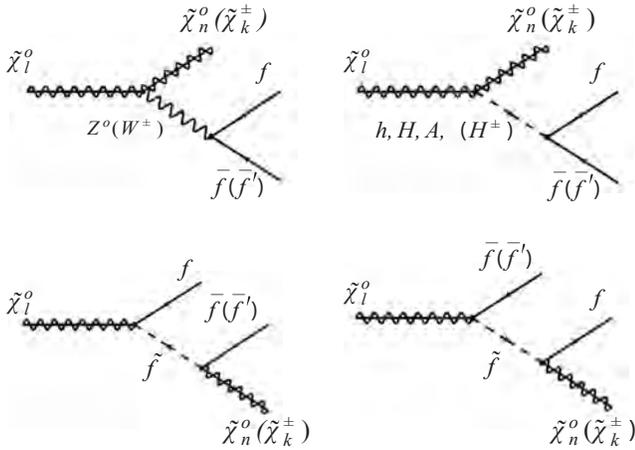


Figura 7: Decaimientos de Neutralinos según el MSSM [48].

y de energía; es decir, dejarían faltantes de energía y momentum significativos. La observación de colisiones de alto momentum transversal con cantidades igualmente altas de energía transversal faltante, consistente con predicciones de SUSY, representaría el descubrimiento de neutralinos y, por tanto, la observación indirecta de materia oscura de naturaleza supersimétrica.

En el SM, los campos de *gauge* W^\pm , Z^0 y γ , son resultado de la mezcla de los campos W_1 , W_2 , W_3 y B . Los compañeros SUSY de los campos de gauge se pueden expresar en una base o en la otra. Por ejemplo, los 4 neutralinos del MSSM son resultado de la mezcla de los *gauginos* \tilde{B} y \tilde{W}_3 , y de los *higgsinos* \tilde{H}_1^0 y \tilde{H}_2^0 . El neutralino más ligero, $\tilde{\chi}_1^0$, se puede escribir como [53]:

$$\tilde{\chi}_1^0 = N_{11}\tilde{B} + N_{12}\tilde{W}_3 + N_{13}\tilde{H}_1^0 + N_{14}\tilde{H}_2^0, \quad (5)$$

s-partículas	Decaimientos
s-leptones :	
\tilde{l}^\pm	$\rightarrow l^\pm \tilde{\chi}_k^0$ $\rightarrow \nu_l \tilde{\chi}_k^\pm$
$\tilde{\nu}_l$	$\rightarrow \nu_l \tilde{\chi}_k^0$ $\rightarrow l^\pm \tilde{\chi}_k^\mp$
gluinos y s-quarks :	
Si $m_{\tilde{q}} < M_{\tilde{g}}$	
\tilde{g}	$\rightarrow q \bar{q}$
\tilde{q}	$\rightarrow q \tilde{\chi}_l^0$ $\rightarrow q' \tilde{\chi}_k^\pm$ $\rightarrow q \bar{b} \bar{b} + q b \bar{b}$
Si $m_{\tilde{q}} > M_{\tilde{g}}$	
\tilde{g}	$\rightarrow q \bar{q} \tilde{\chi}_l^0$ $\rightarrow q \bar{q}' \tilde{\chi}_k^\pm$ $\rightarrow q \bar{q}' \tilde{\chi}_k^\pm$ $\rightarrow \bar{t} \bar{t} + t \bar{t}$ $\rightarrow \bar{b} \bar{b} + b \bar{b}$
\tilde{q}	$\rightarrow q \tilde{g}$ $\rightarrow q \tilde{\chi}_l^0$ $\rightarrow q' \tilde{\chi}_k^\pm$

Cuadro I: Decaimientos de s-leptones, de s-quarks y de gluinos según el MSSM [48].

donde N_{ij} son elementos de la matriz de mezcla para los neutralinos.

A pesar de su simplicidad, el MSSM posee un número enorme de parámetros libres, del orden de 100, que permiten un amplio espectro de posibilidades teóricas. Para reducir este número de posibilidades de tal forma que se puedan hacer predicciones concretas que faciliten las búsquedas experimentales, es necesario hacer algunas suposiciones que tengan un sustento teórico sólido. Por ejemplo, cuando en un modelo SUSY promovemos la supersimetría a un nivel local, en forma similar a como construimos campos *gauge* en el SM, debemos incluir un *super-campo gauge*, que resulta siendo el campo gravitacional, mediado por el *gravitón* (una partícula sin masa de espín 2) y su compañero SUSY, el *gravitino* (masivo y de espín 3/2). Esta versión de SUSY es conocida como Supergravedad (SUGRA, *SUPER GRAVITY*) [54]. En este escenario el número de parámetros libres se reduce asumiendo ciertas condiciones de frontera a la escala de Gran Unificación.

Otra posibilidad para construir diferentes modelos SUSY es explorar el mecanismo de rompimiento de supersimetría. Existen múltiples posibilidades que resultan en diferentes versiones de SUSY. Por ejemplo, rompimiento de SUSY mediado por anomalías (AMSB, *Anomaly Mediates Symmetry Breaking*) [55, 56]; rompimiento de SUSY mediado por gravedad (GMSB, *Gravity Mediated Symmetry Breaking*) [57]; rompimiento de SUSY mediado por gauge [58–60]; rompimiento de SUSY mediado por gauginos [61, 62]; entre otros. Cada uno de estos escenarios predice diferentes tipos de LSP. Por ejemplo, en el caso de SUGRA, el neutralino $\tilde{\chi}_1^0$ continúa siendo la LSP, pero posee un alto contenido de higgsino; en el caso de AMSB, la composición del neutralino es dominada por el Wino; en el caso de rompimiento de SUSY mediado por gravedad o por gauge, el gravitino se convierte en la LSP.

En el caso de modelos SUSY en los cuales el neutralino $\tilde{\chi}_1^0$ es la LSP, la composición de este estado en términos de gauginos y higgsinos tiene consecuencias fenomenológicas con importantes implicaciones cosmológicas y experimentales [119]. Estudiar experimentalmente esta composición es crucial para poder inferir el modelo SUSY más viable, y para determinar las consecuencias que esto pueda tener al momento de describir la materia oscura.

V. INTERACCIONES DE LA MATERIA OSCURA CON LA MATERIA ORDINARIA

La existencia de partículas masivas, neutras y que, a lo sumo, interactúen débilmente, no garantiza que ellas sean las constituyentes primordiales de la materia oscura que observamos en el universo. Estas partículas, y las leyes a las que obedecen, deben ser tales que, de la mano con los modelos cosmológicos de expansión del universo, a partir de Big-Bang, se pueda explicar la abundancia actual de materia oscura. Supongamos una partícula χ con masa m_χ , producida en forma copiosa durante los primeros instantes del Big-Bang. Si las condiciones son adecuadas, se puede llegar a establecer un equilibrio térmico que resulte en un valor estacionario para la abundancia de esta partícula. La densidad de equilibrio se alcanza cuando se igualan las tasas de creación y de aniquilación. La partícula χ y su antipartícula $\bar{\chi}$ pueden ser creadas en procesos del tipo $l\bar{l} \rightarrow \chi\bar{\chi}$, donde l es alguna otra partícula. Este tipo de procesos se da, siempre y cuando, la temperatura del medio sea superior a m_χ . De igual forma, también vamos a tener el proceso inverso: aniquilaciones del tipo $\chi\bar{\chi} \rightarrow l\bar{l}$. Las tasas de creación y de aniquilación van a tender a igualarse, llegando a un valor de equilibrio para la abundancia de χ que depende de la temperatura. En la medida en que la temperatura del universo disminuye, esta abundancia también disminuye. Cuando la temperatura cae por debajo de m_χ como resultado de la expansión del universo, el proceso de creación $l\bar{l} \rightarrow \chi\bar{\chi}$ es suprimido,

dado que no se cuenta con suficiente energía cinética. El proceso de aniquilación $\chi\bar{\chi} \rightarrow l\bar{l}$ también es suprimido debido a la caída en la densidad de χ quedando una densidad remanente de χ (*relic density*). El valor de esta densidad va a depender de la naturaleza de la partícula χ , de su masa y de los procesos de creación y de aniquilación involucrados. Por tanto, no basta con ser un WIMP; la física asociada al candidato debe ser la adecuada para reproducir la densidad remanente de materia oscura, si es que se quiere dar explicación a este problema.

Actualmente, los valores más exactos que se poseen de la densidad remanente de materia oscura y de materia bariónica provienen de ajustes numéricos de parámetros cosmológicos. Estos parámetros están restringidos por los datos de múltiples experimentos astronómicos, tales como la distribución espacial de galaxias en el Universo observable, el espectro de fluctuaciones de temperatura en el CMB y la abundancia de cúmulos de galaxias [64, 65]:

$$\Omega_{DM}h^2 = 0,1198 \pm 0,0026, \quad (6)$$

$$\Omega_b h^2 = 0,02207 \pm 0,00027, \quad (7)$$

donde $\Omega \equiv \rho/\rho_{crit}$ es el parámetro de densidad, ρ_{crit} es la densidad crítica de masa del universo (que corresponde a un universo plano), h es el parámetro adimensional de Hubble, y Ω_{DM} y Ω_b son los parámetros de densidad de la materia oscura y de la materia bariónica, respectivamente. Si la materia oscura está compuesta por WIMPs χ , la densidad remanente de estas partículas estaría dada por [66]:

$$\Omega_\chi h^2 = const. \frac{T_0^3}{M_{PL}^3 \langle \sigma_A v \rangle} \simeq \frac{0,1 \text{ pb} \cdot c}{\langle \sigma_A v \rangle}, \quad (8)$$

donde T_0 es la temperatura actual de la radiación cósmica de fondo (CMB, *Cosmic Microwave Background*), M_{PL} es la masa de Planck, c es la velocidad de la luz, σ_A es la sección transversal total de aniquilación de χ , y, v es la velocidad relativa entre los dos WIMPs, en el marco de referencia de centro de masa. Si la temperatura a la cual cesa la creación de χ es del orden de $T_F \simeq m_\chi/20$ (*freeze out temperature*), la velocidad v es no-relativista, lo cual, de acuerdo con la ecuación (8), resulta en σ_A , del orden de los pico-barns, es decir, del mismo orden de magnitud de las secciones transversales para interacciones débiles. Este tipo de resultados dan valor a la hipótesis de los WIMPs como constituyentes fundamentales de la materia oscura.

En el caso supersimétrico, como ya ha sido mencionado, en muchas de las parametrizaciones más plausibles, el WIMP es el neutralino más ligero, χ_1^0 . A pesar de no poseer carga eléctrica, ni carga de color, esta partícula

sí interactúa débilmente, resultando en varios canales de aniquilación [67]:

- $\tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o \rightarrow f \bar{f}$,
- $\tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o \rightarrow W^+ W^-$,
- $\tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o \rightarrow Z^o Z^o$,
- $\tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o \rightarrow gg$,
- $\tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o \rightarrow \gamma \gamma$,
- $\tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o \rightarrow W^\pm + \text{SUSY-Higgs}$,
- $\tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o \rightarrow Z^o + \text{SUSY-Higgs}$,
- $\tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o \rightarrow \text{SUSY-Higgs}$,

donde SUSY-Higgs hace referencia a los campos de Higgs del MSSM: h^o, H^o, A^o y H^\pm ; f hace referencia a fermiones, $f = l, \nu_l, q$; donde $l = e, \mu, \tau$; y $q = u, d, s, c, b, t$.

Si bien las secciones transversales de aniquilación de neutralinos son pequeñas, la cantidad de ellos en el cosmos sería enorme, de tal forma que habría una probabilidad finita de observar, a nivel astronómico, señales de estas aniquilaciones.

La materia oscura no solo interactúa con sí misma para aniquilarse, también puede interactuar con materia ordinaria, produciendo reacciones de dispersión elásticas e inelásticas (*scattering*) con núcleos atómicos. La interacción elástica de un WIMP con un núcleo puede causar que este retroceda con una energía del orden de decenas de keV. La interacción inelástica puede generar una reacción nuclear que resulte en el retroceso y en la excitación del núcleo, seguido por la emisión de un fotón durante el proceso de desexcitación. Otra posibilidad es la interacción con un electrón atómico para producir su emisión, dejando al átomo en un estado ionizado. La probabilidad de estas interacciones en el caso supersimétrico depende de las secciones transversal neutralino-quark, neutralino-gluón y neutralino-electrón, que son calculables a partir de los modelos SUSY.

La producción de materia oscura supersimétrica durante las etapas tempranas del universo se debió haber dado por medio de las mismas reacciones de aniquilación mencionadas anteriormente pero en dirección opuesta y produciendo grandes cantidades de pares $\tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o$ o como resultado del decaimiento de materia supersimétrica más pesada. Actualmente la única forma de producir esta materia, con alguna esperanza de observarla, sería en las colisiones protón-protón del acelerador LHC, dada la alta energía de centro de masa requerida. En este tipo de colisiones, el proceso de producción sería: $pp \rightarrow \tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o + X$, donde X representa un sinnúmero de posibles estados

finales que involucran múltiples partículas y topologías cinemáticas. El par $\tilde{\chi}_1^o \tilde{\chi}_1^o$ producido escaparía a la detección, dado que solo interactúa débilmente, dejando un faltante de energía en los detectores. Este faltante de energía, sumado a una topología consistente para las demás partículas producidas e inconsistente con cualquier proceso conocido, representa la señal básica en la búsqueda de materia oscura por parte de los experimentos CMS y ATLAS del acelerador LHC.

VI. BÚSQUEDAS DIRECTAS DE MATERIA OSCURA

La producción y detección de WIMPs por parte de los experimentos del LHC no necesariamente es prueba de que estas partículas sean las constituyentes básicas de la materia oscura. También es necesario observar señales de ellas a nivel astronómico, e incluso en la Tierra, ya que, supuestamente, están en todo lugar en la Vía Láctea. Múltiples experimentos buscan señales directas de estos WIMPs como resultado de colisiones con núcleos o electrones atómicos. De igual forma, otros experimentos buscan señales indirectas de la presencia de WIMPs en la Vía Láctea, al detectar partículas resultantes de su aniquilación.

Las técnicas experimentales que se usan en las búsquedas directas de WIMPs están inspiradas, en su gran mayoría, en los experimentos de detección de neutrinos [68–70]. Los neutrinos, al igual que los WIMPs, solo interactúan débilmente, por tanto, los esquemas de detección y la sensibilidad requerida son similares. En el caso de la materia oscura, el orden de magnitud de la masa y de la sección transversal de interacción de un WIMP están, más o menos, determinados dependiendo del modelo teórico que provea el candidato. Al momento de estimar el número de eventos de colisión WIMP-Núcleo, la otra cantidad relevante es la densidad de materia oscura que deberíamos tener en la Tierra. Esta información proviene de los estudios astronómicos de la estructura del halo de materia oscura en la Vía Láctea, ya que nuestro planeta está sumergido en este halo. El perfil de densidad de materia oscura en galaxias espirales se puede extraer de los datos de velocidad de rotación de estrellas. Aun cuando la Vía Láctea es una galaxia espiral, su curva de velocidad de rotación no es tan bien conocida como la de otras galaxias cercanas (es más fácil medir las velocidades estelares de una galaxia haciéndolo desde afuera). Este tipo de estudios arrojan valores como: la velocidad del WIMP relativa al blanco: $\langle v \rangle \simeq 0,75 \times 10^{-3} c$ (220 km/s); la densidad local de materia oscura: $\rho_0 \simeq 0,3 \text{ GeV}/\text{cm}^3$; y la sección transversal WIMP-Núcleo: $\sigma_{W-N} \simeq 10^{-38} \text{ cm}^2$ (10^{-2} pb). Con estos valores, y una masa típica de un WIMP, $m_\chi \simeq 100 \text{ GeV}/c^2$, podemos estimar, por ejemplo, la densidad numérica local de WIMPs, $n_0 = \rho_0/m_\chi \simeq 3 \times 10^{-3} \text{ WIMPs}/\text{cm}^3$. El flujo de WIMPs en la Tierra sería $\phi_0 = n_0 \times \langle v \rangle \simeq 6,6 \times 10^4 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

El número de interacciones electro-débiles por unidad de tiempo y por unidad de masa del detector estaría dada por [71]:

$$R \sim N_N \times \phi_0 \times \sigma_{W-N} \sim 0,13 \text{ eventos kg}^{-1} \text{ año}^{-1}, \quad (9)$$

donde $N_N = N_A/A$ es el número de núcleos, N_A es el número de Avogadro y A es la masa atómica del material en el detector. La energía que cada una de estas colisiones le imprime a un núcleo es del orden de 30 keV que es un valor muy pequeño en términos de detección. Para maximizar la energía transferida al núcleo, es deseable que $m_\chi \simeq m_N$; por tanto, se pueden usar varios blancos con diversos valores de A , y así poder restringir el valor de m_χ en caso de observar un evento. Dado el bajo número de eventos esperados por kilogramo de materia y por año, es necesario construir detectores con volúmenes muy grandes para maximizar el número de eventos registrados.

Debido a que la Tierra orbita alrededor del Sol y que este se mueve con respecto a la galaxia y a su halo, el flujo de WIMPs debería tener una dependencia estacional y también ser mayor en la dirección en la cual se mueve el Sol; esto es, en dirección a la constelación del Cisne. En un detector en el cual se pueda medir la dirección de los retrocesos de los núcleos, debería observarse un exceso de eventos con retrocesos en dirección opuesta a Cisne y también observarse variaciones estacionales. Por tanto, es deseable que el detector tenga esta capacidad, para así aumentar la certidumbre sobre el origen de los eventos registrados.

El principal reto que enfrentan los experimentos de búsquedas directas de materia oscura es entender y poner bajo control las señales de ruido en el detector (*backgrounds*); es decir, todos aquellos procesos físicos que puedan suceder en el detector o cerca de él, y que produzcan señales similares a las que se están buscando para los WIMPs. La principales fuentes de ruido en este tipo de experimentos son: la radioactividad en el aire debido a la presencia de radón; las impurezas de tipo radioactivo en el material de los detectores y del blindaje; los neutrones producto de la fisión nuclear y de otras reacciones nucleares que suceden en forma natural; los rayos cósmicos; y la activación de los materiales del detector debido a su exposición a la radioactividad en la superficie de la Tierra, antes de ser llevados a su lugar de funcionamiento.

Las fuentes de ruido asociadas a rayos cósmicos se pueden atenuar colocando el detector bajo tierra, lo más profundo que sea posible para proveer blindaje suficiente. Los hadrones presentes en el flujo de rayos cósmicos van a ser absorbidos al cabo de unos cuantos metros de profundidad y, por tanto, dejan de ser fuente de ruido. La situación es muy diferente con los muones que son partículas muy penetrantes. A grandes

profundidades, solamente los muones más energéticos logran penetrar, pero son justamente estos los que pueden representar un mayor problema. Cuando un μ^- es capturado por un protón en un núcleo, se produce un neutrón y un neutrino, un proceso conocido como captura de muones negativos (*negative muon capture*), en el que los neutrones son emitidos con energías de decenas de GeV. Debido a interacciones con el medio, esta energía se va a atenuar hasta llegar al rango de los MeV. La interacción de estos neutrones con núcleos en el volumen activo del detector, puede producir retrocesos con energías en el rango de los keV, que son las energías esperadas para los eventos asociados a WIMPs. Para controlar este ruido, es necesario rodear el detector central con detectores de veto, que alerten al sistema sobre la presencia de muones muy energéticos, o de cascadas de partículas, resultado de interacciones de estos muones con el medio. Otra fuente natural de neutrones y de ruido para estos experimentos es la presencia de partículas α , emitidas como resultado de decaimientos radioactivos de ^{238}U y de ^{232}Th , que están presentes en la roca que rodea al detector. Estas partículas pueden desencadenar reacciones nucleares que emitan uno o varios neutrones. Para controlar esta fuente de ruido, es necesario conocer en forma muy precisa la composición de todos los materiales y la cantidad de isotopos radioactivos presentes para así determinar, a partir de cálculos muy detallados, el flujo de neutrones producidos.

La principal fuente de ruido proviene de los neutrinos, ya que no existe ningún blindaje para este tipo de partículas. Los neutrinos provenientes del Sol, resultado de las reacciones del ciclo pp, pueden producir retrocesos de electrones atómicos con energías en el rango de los keV; unos 20 eventos por tonelada y por año. La capacidad que tenga el detector para distinguir entre retrocesos electrónicos y nucleares es crucial para controlar esta señal.

Experimentos basados en detectores de estado sólido operados a temperaturas inferiores a 1 K son sensibles a energías menores a 10 keV y tienen excelente resolución, pudiendo diferenciar entre retrocesos electrónicos y nucleares. Ejemplos de este tipo de experimentos son: CDMS, en el Laboratorio Subterráneo de Soudan en Minnesota [72, 73]; CRESST, en el Laboratorio Nacional del Gran Sasso en Italia [74, 75] y EDELWEISS, en el Laboratorio Subterráneo de Modane en Francia [76, 77]. Experimentos con detectores de ionización de Germanio, operados a 77 K, alcanzan energías de umbral de menos de un keV. Por ejemplo, CoGeNT, en el Laboratorio Subterráneo de Soudan [78], y TEXONO, en el Laboratorio de Neutrinos de Reactor de Kuo-Sheng en Taiwan [79]. Estos experimentos no pueden distinguir retrocesos electrónicos de retrocesos nucleares.

Experimentos basados en el uso de elementos nobles, en estado líquido como sustancia activa de detec-

ción, ofrecen una alternativa al ser combinados con la tecnología de cámaras de proyección de tiempo (*time-projection chambers*). El uso de xenón líquido y de argón líquido, que pueden actuar como materiales centelladores al paso de partículas ionizantes, permiten la construcción de detectores de gran tamaño y de gran masa. Ejemplos de este tipo de experimentos son: ZEPLIN, en el Laboratorio Subterráneo de Boulby en el Reino Unido [80, 81]; XENON10 y XENON100, en el Laboratorio Nacional del Gran Sasso en Italia [75, 82]; XMASS, en Kamioka en Japón [83, 84]; y LUX, en Black Hills en Dakota del Sur [85].

Experimentos basados en el uso de cristales centelladores de yoduro de sodio (NaI) de alta pureza, ofrecen una alternativa con muy bajos niveles de ruido. Los experimentos del Proyecto DAMA [86], en el Laboratorio Nacional del Gran Sasso en Italia, en particular DAMA/LIBRA, son sensibles a variaciones estacionales en el flujo de WIMPs. Experimentos similares entrarán en funcionamiento muy pronto, como es el caso de ANAIS, en el Laboratorio Subterráneo de Canfranc en España [87, 88]; y DM-Ice, en la Antártica [89].

La sección transversal de interacción WIMP-Núcleo depende del espín del WIMP y del espín de núcleo. El espín del WIMP es desconocido. En el caso del neutralino más ligero de modelos SUSY, el espín es $1/2$; pero, en otros modelos teóricos, puede tener un valor diferente. Los experimentos sensibles al espín del WIMP usan isótopos con espín impar, como el ^{19}F , en líquidos supercalentados. Ejemplos de este tipo de experimentos son: PICASSO, en SNOLAB en Canadá [90, 91], que usa C_4F_{10} ; COUPP, en Fermilab [92], que usa CF_3I ; y SIMPLE, en el Laboratorio Subterráneo de Bas Bruit en Francia [93, 94], que usa C_2ClF_5 .

Las búsquedas directas de WIMPs no han arrojado resultados concluyentes hasta el momento. El experimento CoGeNT reportó evidencia de un WIMP con una masa de 7 GeV, pero esta partícula fue excluida por las búsquedas llevadas a cabo por CDMS, EDELWEISS y XENON10. El detector DAMA/LIBRA ha reportado evidencia de una dependencia estacional en el número de eventos de dispersión a bajas energías. Los experimentos DM-Ice y ANAIS que entrarán en servicio muy pronto, tienen como uno de sus objetivos principales verificar estos resultados. En los próximos años, nuevas colaboraciones pondrán en funcionamiento detectores más grandes y más sensibles, que permitirán explorar el espacio de parámetros de múltiples teorías en física de partículas que predicen candidatos a ser los constituyentes de la energía oscura.

VII. BÚSQUEDAS INDIRECTAS DE MATERIA OSCURA

Otra opción en la búsqueda de materia oscura es la detección de señales de la aniquilación de WIMPs. Si bien se supone que los WIMPs son estables, esto no impide que al interactuar con ellos mismos se aniquilen, produciendo otras partículas como resultado de este proceso. Las partículas resultantes pertenecen al SM, y sabemos cómo detectarlas. La información cinemática que ellas entreguen nos proveerá información indirecta sobre las propiedades de los WIMPs, como, por ejemplo, su masa.

Aun cuando no conocemos las propiedades físicas de los WIMPs, dado que no los hemos observado, sí conocemos las propiedades de los candidatos más plausibles. En el caso de los neutralinos de SUSY, estas partículas son fermiones (tienen espín $1/2$) y son sus propias antipartículas (partículas de Majorana). Por tanto, colisiones entre neutralinos podrían terminar en aniquilaciones. Dada la gran cantidad de materia oscura en el universo y, en particular en los halos galácticos, las colisiones entre neutralinos podrían suceder con suficiente frecuencia, a pesar de sus muy pequeñas secciones transversales de interacción, como para que sus señales sean detectables. Aun si los WIMPs no son sus propias antipartículas, todo indica que deberían haber cantidades similares de WIMPs y de anti-WIMPs en la materia oscura, de forma tal que deberían ocurrir aniquilaciones WIMP – anti-WIMP, con señales similares a las que producirían las aniquilaciones de neutralinos.

Las aniquilaciones de materia oscura deberían producir partículas estables como: fotones, electrones, positrones, neutrinos, protones y antiprotones; también podrían producirse partículas inestables, pero ellas decaerían rápidamente en las anteriores. Los protones y electrones se confundirían con la materia ordinaria del medio, pero fotones, neutrinos, positrones y antiprotones podrían producir señales distintivas. Las búsquedas indirectas de materia oscura se concentran en estas señales.

Las señales de aniquilaciones de materia oscura sucederían con muy poca frecuencia, al compararlas con señales similares producidas por procesos conocidos. Por tanto, se debe buscar primero en lugares donde sea mucho más probable que sucedan colisiones entre WIMPs. Al interior de una estrella o de un planeta, la probabilidad de que los WIMPs interactúen con núcleos atómicos perdiendo energía, y cayendo en el campo gravitacional del cuerpo, es más alta. Como resultado de este mecanismo, se esperarían mayores densidades de materia oscura al interior del Sol o de la Tierra que en el espacio interestelar y, en consecuencia, mayor probabilidad de colisiones entre WIMPs. Otro lugar con alta densidad de materia oscura sería el centro de la Vía Láctea.

Las aniquilaciones de WIMPs atrapados en el centro de la Tierra producirían neutrinos muónicos. Algunos de estos neutrinos en camino hacia el exterior del planeta, podrían interactuar con núcleos del medio, produciendo muones, que tendrían una dirección de movimiento y una energía muy similares a las de los neutrinos de los cuales se originaron. Experimentos de neutrinos en la Tierra detectarían muones que vienen desde abajo. Un flujo de muones que viene desde arriba es normal en este tipo de detectores, debido a los rayos cósmicos; pero un flujo de muones que viene desde abajo indicaría la producción de neutrinos en el centro de la Tierra. Si la energía de los muones detectados, que es muy similar a la de los neutrinos originales, está en el rango de los GeV a los cientos de GeV, sería consistente con aniquilaciones de materia oscura.

Búsquedas de este tipo de señales han sido llevadas a cabo por telescopios de neutrinos como: MACRO, en el Gran Sasso, en Italia [95]; BAKSAN, en Rusia [96]; SuperKamiokande, en Japón [97]; Lago Baikal, en Rusia [98]; AMANDA, en la Antártida [99]; ANTARES, en el mar Mediterráneo [100]; NESTOR, en el mar Egeo [101]; y IceCube, en la Antártida [102]. Hasta el momento, la estadística acumulada por estos experimentos no es suficiente como para obtener resultados concluyentes sobre la existencia de WIMPs en el centro de la Tierra. Algunos de estos experimentos pueden medir flujos de neutrinos provenientes del Sol, buscando señales con energías en el rango esperado para aniquilaciones de WIMPs. También, en este caso, los resultados aún no son concluyentes.

Las búsquedas astronómicas de señales de aniquilaciones de WIMPs se concentran en los fotones. Diversos canales de aniquilación resultan en cadenas de decaimientos que terminan emitiendo rayos gamma en un rango amplio de frecuencias. La cinemática de las partículas en el estado final del decaimiento, es tal que el espectro de gammas va a tener un valor máximo de energía (*cut-off energy*). Esta energía va a estar directamente relacionada con la masa de los WIMPs que se aniquilaron. La observación de cortes en el espectro de gammas provenientes de alguna región particular del espacio con valores de energía en la región de los cientos de GeV, podría ser evidencia de estas aniquilaciones. En algunos canales de aniquilación, los dos WIMPs decaen directamente en dos fotones. En consecuencia, la energía de cada fotón va a ser igual a la masa del WIMP, salvo correcciones cinéticas. La señal de este tipo de eventos sería una línea espectral bien definida, con cierto ancho y con un valor central aproximadamente igual a la masa del WIMP. Desafortunadamente, muchos procesos astrofísicos que no tienen que ver con la presencia de materia oscura, emiten grandes cantidades de gammas en un amplio espectro, constituyéndose en ruido para este tipo de búsquedas.

Aniquilaciones de WIMPs en el halo de nuestra galaxia deberían producir un espectro continuo de gammas sumado a líneas espectrales provenientes de los canales de aniquilación a $\gamma\gamma$ y a γZ . El tamaño de estas señales en alguna dirección particular está relacionado con la estructura del halo galáctico, que no es muy bien conocida. Sin embargo, lo que sí es claro es que estas señales deberían ser más fuertes en la dirección del centro de la galaxia. Desafortunadamente, el centro de la galaxia es una región muy activa, con muchas fuentes de rayos gamma de energías diversas. Experimentos como HESS, en Namibia [103]; y FERMI/LAT, en órbita [104], han observado fuentes puntuales de gammas con energías en los rangos de los TeV y de los GeV, respectivamente. Sin embargo, la posibilidad de que estas fuentes tengan un origen astrofísico es muy alta. Un análisis independiente de los datos hechos públicos por FERMI/LAT, ha mostrado un exceso en el espectro alrededor de ~ 130 GeV [105]. Un nuevo análisis muy cuidadoso de este exceso, por parte de la Colaboración FERMI/LAT, ha reducido su significancia estadística, haciéndolo compatible con procesos astrofísicos conocidos.

Otras partículas que son producto de las aniquilaciones de WIMPs, y cuya señal puede sobresalir del ruido cósmico, son los anti-protones y los positrones. Aun cuando estas son partículas de anti-materia, son estables y, mientras no sean aniquiladas camino a la Tierra, podrían ser detectadas en órbita. Los antiprotones se producirían como resultado de la hadronización asociada a la producción de anti-quarks, en canales de aniquilación de WIMPs. Los positrones se producirían como resultado de canales con pares leptón – anti-leptón en el estado final. Al igual que en otras búsquedas, la señal producida por este tipo de procesos debería ser pequeña comparada con el ruido proveniente de otros procesos que producen antimateria a nivel cósmico. Por ejemplo, colisiones de rayos cósmicos con la materia ordinaria del medio interestelar producen importantes cantidades de antimateria en forma de positrones y de anti-protones. Observatorios en órbita como el satélite PAMELA y el detector AMS en la Estación Espacial Internacional, miden los flujos de positrones, anti-protones y anti-núcleos, y los comparan con los flujos de electrones, protones y núcleos en un amplio rango de energías. Excesos de partículas de anti-materia con energías en el rango de las decenas de GeV podrían ser consistentes con aniquilaciones de materia oscura en el halo galáctico. AMS y PAMELA han reportado un incremento en la fracción de positrones detectados con energías entre 10 y 200 GeV [108, 109]. Estos datos no pueden ser explicados fácilmente en términos de producción secundaria debida a rayos cósmicos, pero sí se podrían explicar como resultado de aniquilaciones de WIMPs. Sin embargo, las secciones transversales de aniquilación responsables de esta señal, serían demasiado altas para los modelos teóricos existentes, e inconsistentes con otros resultados. En resumen, las búsquedas

indirectas de materia oscura han aportado algunos resultados intrigantes, pero estos aún son muy precarios e inconsistentes con otros resultados similares.

VIII. BÚSQUEDAS DE MATERIA OSCURA EN EL LHC

En cuanto a la búsqueda de materia oscura a nivel microscópico, la tercera opción es su producción y detección en aceleradores de partículas. Las pequeñas secciones transversales de interacción, y la alta masa que se espera para estas partículas, hace que su producción solo pueda darse en un colisionador de partículas de alta energía y de alta intensidad. Hoy en día, el único lugar donde se podría lograr esto es en el acelerador LHC del laboratorio CERN. El LHC es un acelerador circular que hace colisionar haces de protones que viajan en direcciones opuestas a altas energías. Los protones colisionan en 4 puntos diferentes a lo largo del anillo de 27 km de circunferencia del acelerador. Los 4 puntos de colisión están rodeados por 4 grandes detectores de partículas: ATLAS [110], ALICE [111], CMS [112] y LHCb [113]. Dos de ellos, muy similares en su diseño y en sus objetivos científicos, ATLAS y CMS, son experimentos optimizados para la búsqueda de nueva física, más allá del Modelo Estándar. Su primer objetivo científico ya fue alcanzado en gran medida: el descubrimiento y el estudio del bosón de Higgs. Su segundo objetivo científico, la búsqueda de física BSM aún no ha arrojado resultados positivos. Entre los modelos teóricos candidatos a ser los responsables por esta nueva física, los más estudiados y más elaborados son los modelos SUSY. Si bien el objetivo fundamental de ATLAS y de CMS es la búsqueda de nueva física, es muy probable que cualquier descubrimiento en esta dirección venga de la mano con respuestas al problema de la materia oscura. Hemos mencionado el caso de algunos modelos SUSY que proveen un candidato para ser el muy ansiado WIMP: el neutralino más ligero. El descubrimiento de señales experimentales de producción de materia SUSY con un par de neutralinos en el estado final, podría significar un enorme paso en la lucha por entender la estructura microscópica de la materia oscura. Como ya ha sido mencionado, no solo se trata de observar estos neutralinos; las masas y las secciones transversales deben ser consistentes con los datos astronómicos y con los datos provenientes de búsquedas directas e indirectas. En este sentido, el LHC y sus experimentos ATLAS y CMS juegan un papel fundamental en la solución de este problema.

ATLAS y CMS están localizados en los puntos 1 y 5 del acelerador LHC. En estos puntos, denominados puntos de interacción, haces de protones se cruzan, produciendo colisiones cuyos productos son detectados por estos dos experimentos. Los dos haces, que circulan en direcciones opuestas en el anillo de 27 km, están

compuestos, cada uno de ellos, por una serie de paquetes de protones (*proton bunches*). La energía de los protones, durante la primera corrida fue inicialmente de 3.5 TeV y posteriormente de 4 TeV, resultando en energías de centro de masa de 7 y 8 TeV respectivamente; los cruces de paquetes en los puntos de interacción sucedieron cada 50 ns. Para la segunda corrida, programada para iniciar en la primavera de 2015, se espera llegar a una energía de centro de masa de 13.5 a 14 TeV, con cruces de paquetes cada 25 ns. Con esta energía, y una mayor luminosidad (número de partículas por unidad de área y por unidad de tiempo en los puntos de interacción) se podrá escudriñar toda una nueva región cinemática en la búsqueda de nueva física.

Los detectores ATLAS y CMS rodean el tubo por donde circulan los dos haces de protones y están centrados en sus respectivos puntos de interacción. Estos detectores poseen una simetría cilíndrica y varias capas de detectores. Moviéndose hacia fuera desde el punto de interacción, los sistemas de detección que las partículas encuentran en su camino son:

- Sistema de reconstrucción de trazas (*Tracker*)

Es el detector más cercano al punto de interacción y está instalado justo alrededor del tubo del acelerador. Típicamente está construido a partir de detectores de pixeles y de micro-cintas de silicio y posee una alta resolución espacial. La tarea de este sistema es reconstruir las trayectorias de todas las partículas cargadas eléctricamente que emergen del punto de colisión.

- Calorímetro Electromagnético (ECAL)

Está construido a partir de materiales densos que logran detener y absorber los electrones, positrones y gammas provenientes del punto de interacción. Este sistema mide la cantidad de energía de estas partículas.

- Calorímetro Hadrónico (HCAL)

Similar al calorímetro electromagnético. Su propósito es detener y absorber los hadrones que atraviesan el calorímetro electromagnético, midiendo su energía.

- Sistema de muones (*μ -System*)

Localizado en la parte exterior del detector. Su propósito es reconstruir las trazas de los muones producidos en la colisión. Los muones son muy penetrantes y son las únicas partículas conocidas, con la excepción de los neutrinos, que logran atravesar las capas internas de detección. Al ser partículas cargadas, van a dejar trazas en estos detectores.

Partículas	Sistemas de Detección
γ	ECAL
e^\pm	Tracker + ECAL
μ^\pm	Tracker + μ -System
π^\pm	Tracker + ECAL + HCAL
K^\pm	Tracker + ECAL + HCAL
p	Tracker + ECAL + HCAL
n	ECAL + HCAL

Cuadro II: Partículas detectables y los principales sistemas de detección involucrados.

Además de los sub-sistemas de detección, se cuenta con una configuración de campos magnéticos que permiten identificar las diferentes partículas y sus cargas eléctricas, a partir de la curvatura de sus trayectorias. En el caso de ATLAS, se cuenta con un magneto solenoidal rodeando el *tracker*, y una serie de magnetos alrededor de los detectores de muones, produciendo un campo toroidal en esta región. En el caso de CMS, se cuenta con un magneto solenoidal mucho más grande que rodea el *tracker* y los calorímetros. El campo magnético que emerge del solenoide es compactificado por un enorme yugo de hierro, donde se encuentran instalados los detectores de muones. En la Figura 8 se presenta una versión esquemática del detector CMS.

Las únicas partículas que pueden ser detectadas directamente en este tipo de experimentos son aquellas cuyos tiempos de vida son suficientemente largos como para que logren avanzar, al menos unos cuantos centímetros. Además, se requiere que estas partículas interactúen electromagnética o fuertemente, para que dejen rastro de su paso por los detectores. En el Cuadro II se presenta un resumen de las partículas detectables y de los sistemas de detección involucrados. Cualquier otra partícula no es detectable directamente, ya sea porque posee una vida media muy corta, por ejemplo τ^\pm , o porque solo interactúa débilmente; por ejemplo, los neutrinos.

Una colisión protón-protón a altas energías es en realidad una colisión entre *partones*, es decir, entre quarks y gluones al interior de los protones. Solamente un partón de uno de los protones tendrá una colisión dura con otro partón del otro protón. Los demás partones actuarán como espectadores y, como resultado de la colisión, quedaran en un estado de excitación tal que, en su proceso de desexcitación, emitirán partículas de bajo momento en todas direcciones; lo que se conoce como *evento subyacente*. Por el contrario, los dos partones que causaron la colisión dura generarán partículas con alto momento en la dirección transversal (alto p_T).

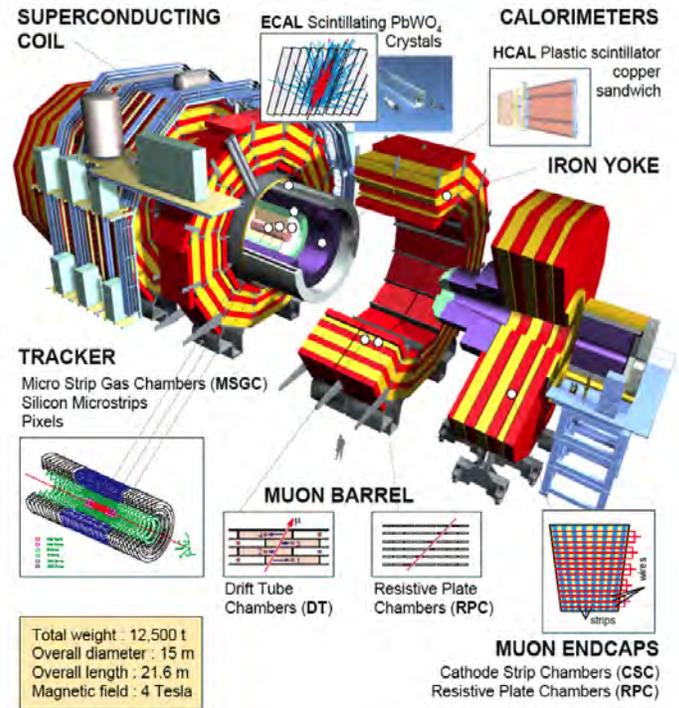


Figura 8: Diagrama esquemático del detector CMS con sus diferentes componentes (imagen tomada de [112]).

Cuáles partones participan en la colisión dura, y con qué fracción de momento lo hacen, es una cuestión de probabilidades que está cuantificada en lo que se conoce como: funciones de distribución partónica (pdf, *parton distribution function*). Estas funciones son distribuciones de probabilidad que indican cuál es la probabilidad de que, dado un tipo de partón, este posea cierta fracción x del momento total de protón al cual pertenece.

En cada cruce entre paquetes de protones en los puntos de interacción del LHC, se producen múltiples colisiones protón-protón (del orden de 20 en la primera corrida y aproximadamente el doble en la segunda corrida). Una de cada billón de colisiones tendrá una interacción dura, partón-partón. Solo estas interacciones pueden contener física interesante para experimentos como ATLAS y CMS. En este tipo de colisiones se producen partones, en el estado final, con altos valores de p_T que, al interactuar con el campo fuerte presente en el medio, desencadenan un proceso conocido como *hadronización*, en el cual se emiten chorros de partículas en una configuración cónica, conocidos como *jets*. Un *jet* es, por tanto, la señal experimental de la producción de un partón de alto momento en la colisión. La presencia de *jets* con alto p_T y/o muones con alto p_T , son las principales señales que usan los experimentos para filtrar este tipo de eventos y para estudiarlos.

Cuando se producen quarks b como resultado de una colisión, ellos forman hadrones con vidas medias suficientemente largas como para avanzar unos cuantos micrómetros, antes de decaer en forma de *jets*. Detectores modernos como ATLAS y CMS, están en capacidad de distinguir estos jets con vértices desplazados, e identificarlos como *b-jets*. Un caso similar es el de los τ , que en un 65 % de las veces decaen en forma hadrónica, produciendo jets de partículas con una topología especial, que permite distinguirlos, con cierta eficiencia, de otros jets (τ -*jets*). Si un τ es muy energético, también puede producir un *jet* con vértice desplazado, debido al fenómeno de dilatación temporal de su vida media.

Por último, tenemos los neutrinos, las otras partículas del SM con vidas medias suficientemente largas (probablemente infinitas) como para ser detectadas. El problema con los neutrinos radica en que solo interactúan débilmente y que por tanto, solo pueden ser detectados con muy baja eficiencia en gigantescos detectores especialmente diseñados para este propósito. La probabilidad de que un neutrino deje una señal en los detectores de ATLAS o de CMS es prácticamente cero. Lo que sí pueden medir estos experimentos es el faltante que los neutrinos dejan en el balance final de energía de las colisiones. La medición de la cantidad de energía producida en el estado final de una colisión, corre por cuenta del sistema de calorímetros. Este sistema está segmentado angularmente en un número discreto de celdas con valores medios de ángulo polar y ángulo azimutal: θ_n, ϕ_n . A partir de la información contenida en el sistema de calorímetros se pueden construir cantidades experimentales como la Energía Transversal Faltante, \cancel{E}_T (*Missing E_T*). Esta cantidad está definida como:

$$\cancel{E}_T = - \sum_n \{E_n \sin \theta_n \cos \phi_n \hat{i} + E_n \sin \theta_n \sin \phi_n \hat{j}\}, \quad (10)$$

donde E_n corresponde a la energía depositada en la celda (θ_n, ϕ_n) del sistema de calorímetros. Si esta cantidad es diferente a cero es porque hay un faltante de energía en el estado final de la colisión. La información vectorial de \cancel{E}_T nos indica en qué dirección, en promedio, escapó esa energía. Definiciones más sofisticadas de esta cantidad incluyen toda la información del *tracker* y del sistema de muones. Eventos con neutrinos en el estado final van a tener \cancel{E}_T diferente a cero.

Regresando a las búsquedas de materia oscura, la producción de WIMPs en el LHC debería ser resultado de colisiones duras con presencia de jets de alto p_T . Dado que los WIMPs solo interactúan débilmente, se comportarían como neutrinos muy masivos, es decir deberían producir altos valores de \cancel{E}_T . Por ejemplo, en el caso de producción de materia supersimétrica que conserve la paridad R , cualquier pareja de partículas SUSY, producidas como resultado de la colisión dura, debería generar cadenas de decaimientos que terminen en

un par de $\tilde{\chi}_1^0$. Las cadenas de decaimientos producirían jets de alto p_T y en muchas ocasiones leptones de alto p_T . Los $\tilde{\chi}_1^0$ finales se manifestarían en forma de altos valores de \cancel{E}_T .

Durante las corridas de 2011 y de 2012 en el LHC, la señal básica en las búsquedas iniciales de materia supersimétrica, correspondió a eventos con valores altos de \cancel{E}_T y jets de alto p_T . Hasta el momento, los resultados han sido negativos. Pero aún hay datos por analizar y estrategias más sofisticadas para llevar a cabo estas búsquedas.

IX. BÚSQUEDAS DE MATERIA OSCURA EN CANALES FUERTES

Las búsquedas iniciales de SUSY, con conservación de la paridad R , llevadas a cabo por los experimentos ATLAS y CMS, estuvieron enfocadas en canales de producción fuertes. Estos canales deberían poseer secciones transversales altas debido, precisamente, al carácter fuerte del mecanismo de producción. En colisiones protón-protón a energías de 8 o 14 TeV, los canales de producción dominantes son: la fusión de gluones, en el cual un gluón de uno de los protones interactúa con un gluón del otro protón para producir pares de gluinos o de s-quarks; y la aniquilación quark-antiquark, en la cual se producen pares de s-quarks, como se muestra en la Figura 9. Cada una de las partículas SUSY producidas debería generar una cadena de decaimientos independiente que, en general, involucra jets, leptones cargados, neutrinos y neutralinos. La topología del estado final de un evento de este tipo puede ser bastante compleja, como se muestra en la Figura 10. Varias conclusiones se pueden inferir a partir de esta figura:

- Las dos cadenas de decaimientos tienden a formar hemisferios, en lo que a la detección de partículas secundarias se refiere.
- Estos hemisferios se van a sobrelapar, debido a desbalances de momento entre los partones iniciales y a la presencia de \cancel{E}_T en el estado final.
- La presencia de varias partículas neutras que solo interactúan débilmente (neutrinos y neutralinos), hace imposible la reconstrucción completa del evento a nivel cinemático.
- La energía transversal faltante, \cancel{E}_T , puede ser resultado de la presencia de neutrinos y de neutralinos.
- La energía de umbral para la producción de estos eventos debe ser mayor que la masa de los dos gluinos o de los dos s-quarks.

Si la masa de los gluinos y de los s-quarks es muy alta, este tipo de eventos quedan suprimidos a nivel cinemático. La energía de centro de masa del sistema partón-partón no es suficiente como para producir las

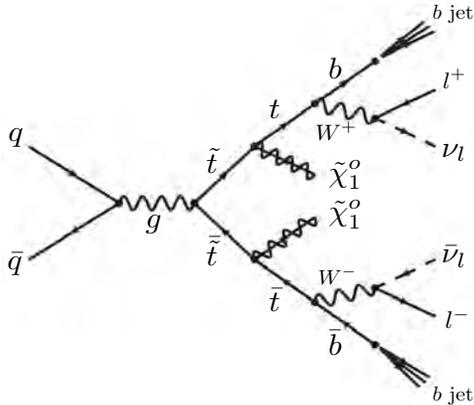


Figura 9: Producción de un par de s-tops y su decaimientos en neutralinos.

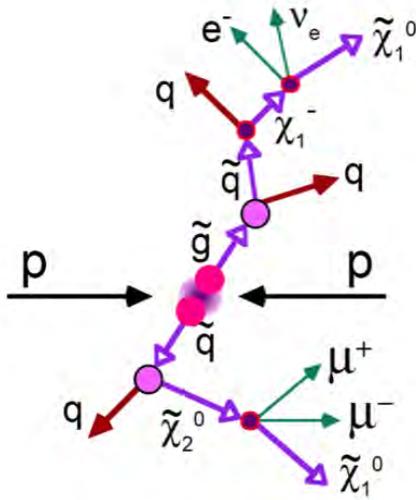


Figura 10: Topología del estado final de una colisión protón-protón en la que se produjeron un s-quark y un gluino (imagen tomada de [112]).

partículas SUSY iniciales. Pero, este hecho también previene que se produzcan partículas SUSY más ligeras como resultado de las cadenas de decaimiento. Todo el espectro de partículas SUSY cuyas masas sean menores que las de los gluinos o s-quarks, queda excluido. Por supuesto, la producción de los neutralinos, $\tilde{\chi}_1^0$, también queda excluida, ya que ellos son las partículas SUSY más ligeras. Las búsquedas de este tipo de eventos, llevadas a cabo por ATLAS y por CMS, con los datos a 8 TeV, han puesto límites inferiores a las masas de s-quarks y de gluinos del orden de 1.5 TeV [114, 115]. Esto quiere decir que, para producir pares de estas partículas se requerirían más de 3 TeV en el centro de

masa del sistema partón-partón. En el caso de colisiones a 8 TeV, solo una fracción de los 4 TeV que cada protón posee, es transportada por el partón que participa en la colisión dura. La probabilidad de que sucedan colisiones partón-partón con energías de centro de masa mayores a 3 TeV, es muy pequeña.

En realidad, las búsquedas realizadas hasta el momento han establecido límites de exclusión elevados para las masas de los s-quarks asociados a las dos primeras familias de quarks. Aún existe la posibilidad de que, por ejemplo, los s-tops tengan una masa por debajo de 1.5 TeV, y de que su señal esté presente en los datos a 8 TeV. El s-top debería ser el s-quark más ligero al estar asociado al quark más pesado, el quark top. El canal de decaimiento más sencillo para el s-top es: $\tilde{t} \rightarrow t + \tilde{\chi}_1^0$, que implica que $m_{\tilde{t}} > m_t + m_{\tilde{\chi}_1^0}$. Las señales de la producción de pares $\tilde{t} \tilde{t}$ son muy similares a las señales de producción de pares $t \bar{t}$, salvo por la presencia de mayor energía transversal faltante en el primer caso. Si los valores de \cancel{E}_T no son suficientemente grandes, y la sección transversal de producción es relativamente pequeña, es muy difícil separar la señal de $\tilde{t} \tilde{t}$ del ruido de $t \bar{t}$. El problema se hace aún más difícil si $m_{\tilde{t}} \sim m_t$. En este caso $m_{\tilde{\chi}_1^0}$ es muy pequeña y $\cancel{E}_T \simeq 0$, no pudiéndose usar esta variable para discriminar entre la señal y el ruido.

Si bien la búsqueda de s-tops en los datos existentes es muy difícil, vale la pena llevarla a cabo, ya que, como hemos mencionado, no se han establecido límites de exclusión para la masa de estas partículas. Recientemente, varios análisis que tratan de explotar estados finales y circunstancias cinemáticas diversas han sido propuestos y están siendo ejecutados [116, 117]. Hasta el momento, no se han reportado resultados positivos.

X. BÚSQUEDAS DE MATERIA OSCURA EN CANALES ELECTRODÉBILES

El problema con las búsquedas de materia oscura supersimétrica en canales fuertes es que hay que producir partículas con carga de color (s-quarks y gluinos) para que ellas decaigan en neutralinos. Como mencionamos en la sección anterior, si estas partículas son muy masivas o difíciles de identificar, la presencia de materia oscura queda escondida en los datos. La otra opción es recurrir a canales de producción electrodébiles. En este tipo de canales, las partículas mediadoras del proceso no requieren carga de color, al igual que las partículas SUSY producidas. Todas ellas provienen del sector electrodébil del MSSM: bosones vectoriales, charginos y neutralinos. En general, los charginos y neutralinos son partículas más ligeras que los s-quarks y los gluinos. Por tanto, su producción directa está favorecida cinemáticamente y la posibilidad de encontrar señales en los datos existentes no está excluida.

El mecanismo de producción electrodébil involucra la emisión de bosones vectoriales, W^\pm o Z^0 , por parte de los quarks que participan en la colisión dura. Estos bosones vectoriales se fusionan para producir partículas, del SM, o del sector SUSY, como se muestra en la Figura 11 para la producción de un par de $\tilde{\chi}_1^0$. Después de radiar los bosones vectoriales, los dos quarks pasan por el proceso de hadronización, convirtiéndose en dos jets de alto momento, producidos a ángulos pequeños (j_f , *forward jets*). El resto del evento va a resultar en un estado final con partículas de alto p_T que típicamente van a ser emitidas a grandes ángulos. En resumen, la estructura cinemática del estado final de eventos producidos por fusión de bosones vectoriales (VBF, *Vector Boson Fusion*) es la siguiente:

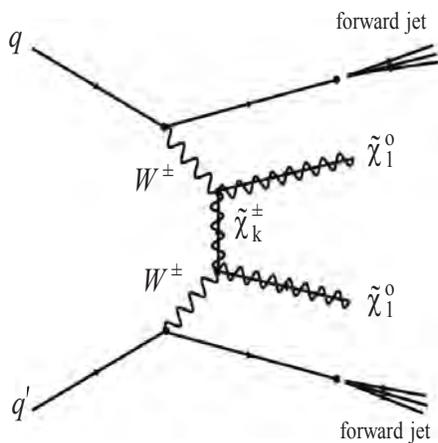


Figura 11: Producción electrodébil de un par de neutralinos acompañados por dos jets emitidos a ángulos pequeños (*forward jets*).

- Dos jets de alto momento, producidos a ángulos pequeños y en direcciones opuestas (*forward jets*)
- Partículas de alto momento transversal producidas a ángulos grandes.
- Una región, comprendida entre los ángulos pequeños y los ángulos grandes, en la que no hay presencia de partículas (*pseudorapidity gap*).

Estas señales cinemáticas permiten separar eventos producidos como resultado de VBF, de eventos producidos como resultado de la interacción fuerte. Esto es importante por varias razones, siendo la primera el hecho de que el ruido producido por eventos de interacción fuerte, propios del SM, suele ser enorme. Al exigir la presencia de dos j_f en el evento, sumado a la presencia de *gaps* de pseudorapidez, se elimina la gran mayoría de

este ruido. Otra razón es que el mecanismo de producción electrodébil es más sencillo de calcular, y produce una topología de estado final mucho más simple, como se puede ver al comparar la Figura 11 con la Figura 9.

El problema con la producción de materia SUSY, o de materia oscura, por medio de mecanismos de VBF es que las secciones transversales son muy pequeñas, dado que los procesos son electrodébiles. Sin embargo, dadas las circunstancias actuales con los datos del LHC a 8 TeV, en los cuales no se ha encontrado ninguna señal de física BSM, es necesario, e importante, explorar este tipo de canales, que no están excluidos cinemáticamente, y que son muy prometedores. Varias búsquedas en canales de VBF han sido propuestas [118, 119], y están siendo llevadas a cabo por grupos de análisis al interior de las colaboraciones CMS y ATLAS. Por ejemplo, en CMS se están desarrollando análisis de datos en 12 canales de VBF diferentes. Hasta el momento, no se han reportado resultados positivos.

Aún si no se encuentran evidencias de materia oscura en los datos de ATLAS y CMS a 8 TeV, en 2015 comenzará la segunda corrida del LHC a una energía de 13.5 o 14 TeV (este valor aún no se ha determinado). Con esta energía de centro de masa, que es casi el doble de la de la primera corrida, se abren nuevamente amplias ventanas cinemáticas para buscar física BSM. Todas las herramientas de análisis de datos desarrolladas y refinadas durante la primera corrida, serán de la mayor utilidad con los nuevos datos. Por tanto, es de esperarse que muy pronto, después de iniciada la operación del LHC, ATLAS y CMS estén en capacidad de presentar resultados, ya sea positivos o negativos, de búsquedas de materia oscura en canales fuertes y electrodébiles.

XI. CONCLUSIONES

Determinar la estructura microscópica de la materia oscura es, hoy por hoy, el problema más importante en Física de Partículas, Astrofísica y Cosmología. La evidencia astronómica que se ha recolectado en los últimos 80 años no deja mayores dudas respecto a su existencia. Los datos indican que esta materia es unas cinco veces más abundante que la materia que conocemos. Actualmente, hay pleno convencimiento de que las partículas constituyentes de la materia oscura tienen que ser de una naturaleza completamente nueva. Desde la década de 1980, múltiples experimentos han buscado estas partículas en forma directa e indirecta, o han tratado de producirlas en colisionadores de partículas. Actualmente, decenas de experimentos, de la más diversa índole continúan esta búsqueda en órbita alrededor de la Tierra, bajo tierra, bajo el mar, bajo el hielo polar, en grandes aceleradores de partículas, etc. El nivel de sofisticación al cual han llegado algunos de estos experimentos promete resultados concluyentes en los próximos años. El comienzo de la se-

gunda corrida del acelerador LHC, en 2015, reanudará la búsqueda de materia oscura por parte de los experimentos ATLAS y CMS, bajo condiciones cinemáticas mucho más favorables. El sorprendente éxito de estos experimentos en la búsqueda del bosón de Higgs, durante la primera corrida del LHC, ha dejado claro que estos están en capacidad de descubrir cualquier rastro de física más allá del Modelo Estándar y que esté dentro del rango cinemático accesible, incluidas las partículas de materia oscura. Los próximos años prometen ser muy interesantes para esta área de la ciencia.

AGRADECIMIENTOS

Este artículo y la investigación científica asociada, desarrollada por el Grupo de Altas Energías de la Uni-

versidad de los Andes, han sido posibles gracias al apoyo de COLCIENCIAS, del Departamento de Física y de la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes. El autor agradece a Andrés Reyes, a Andrés Balaguera y a Andrés Flórez por sus comentarios al artículo, al igual que a Lina Duarte por su valiosa colaboración durante el proceso de redacción y de edición.

-
- [1] S. Chatrchyan *et al.* [CMS Collaboration], Phys. Lett. B **716**, 30 (2012) [arXiv:1207.7235 [hep-ex]].
- [2] G. Aad *et al.* [ATLAS Collaboration], Phys. Lett. B **716**, 1 (2012) [arXiv:1207.7214 [hep-ex]].
- [3] F. Zwicky, Helv. Phys. Acta **6**, 110 (1933).
- [4] S. Smith, Astrophys. J. **83**, 23 (1936).
- [5] F. Zwicky, Astrophys. J. **86**, 217 (1937).
- [6] K. G. Begeman, A. H. Broeils and R. H. Sanders, Mon. Not. Roy. Astron. Soc. **249**, 523 (1991).
- [7] D. Zaritsky and S. D. M. White, Astrophys. J. **435**, 599 (1994).
- [8] M. Fich and S. Tremaine, Ann. Rev. Astron. Astrophys. **29**, 409 (1991).
- [9] C. S. Kochanek, Astrophys. J. **457**, 228 (1996) [astro-ph/9505068].
- [10] J. N. Bahcall, M. Schmidt and R. M. Soneira, Astrophys. J. **265**, 730 (1983).
- [11] J. A. R. Caldwell and J. P. Ostriker, Astrophys. J. **251**, 61 (1981).
- [12] S. Courteau, M. Cappellari, R. S. de Jong, A. A. Dutton, E. Emsellem, H. Hoekstra, L. V. E. Koopmans and G. A. Mamon *et al.*, arXiv:1309.3276 [astro-ph.CO].
- [13] A. J. Romanowsky, N. D. Douglas, M. Arnaboldi, K. Kuijken, M. R. Merrifield, N. R. Napolitano, M. Cappaccioli and K. C. Freeman, Science **301**, 1696 (2003) [astro-ph/0308518].
- [14] R. Minchin, J. Davies, M. Disney, P. Boyce, D. Garcia, C. Jordan, V. Kilborn and R. Lang *et al.*, Astrophys. J. **622**, L21 (2005) [astro-ph/0502312].
- [15] N. A. Bahcall and X.-h. Fan, Astrophys. J. **504**, 1 (1998) [astro-ph/9803277].
- [16] A. Kashlinsky, Phys. Rept. **307**, 67 (1998) [astro-ph/9806236].
- [17] D. Walsh, R. F. Carswell and R. J. Weymann, Nature **279**, 381 (1979).
- [18] J. A. Tyson, G. P. Kochanski and I. P. Dell'Antonio, Astrophys. J. **498**, L107 (1998) [astro-ph/9801193].
- [19] A. Choi, J. A. Tyson, C. B. Morrison, M. J. Jee, S. J. Schmidt, V. E. Margoniner and D. M. Wittman, Astrophys. J. **759**, 101 (2012) [arXiv:1208.3904 [astro-ph.CO]].
- [20] National Space Agency, NASA. Astronomy Picture of the Day. <http://apod.nasa.gov/apod/ap100620.html>
- [21] O. Lahav, A. R. Liddle, Particle Data Group Reviews: Cosmological Parameters (2013).
- [22] C. Alcock, D. R. Alves, A. Becker, D. Bennett, K. H. Cook, A. Drake, K. Freeman and M. Geha *et al.*, Astrophys. J. **598**, 597 (2003) [astro-ph/0308019].
- [23] P. Tisserand *et al.* [EROS-2 Collaboration], Astron. Astrophys. **469**, 387 (2007) [astro-ph/0607207].
- [24] M. Milgrom, Astrophys. J. **270**, 365 (1983).
- [25] M. Milgrom, Astrophys. J. **270**, 371 (1983).
- [26] M. Milgrom, Astrophys. J. **270**, 384 (1983).
- [27] M. Reuter and H. Weyer, Int. J. Mod. Phys. D **15**, 2011 (2006) [hep-th/0702051].
- [28] D. Clowe, M. Bradac, A. H. Gonzalez, M. Markevitch, S. W. Randall, C. Jones and D. Zaritsky, Astrophys. J. **648**, L109 (2006) [astro-ph/0608407].
- [29] National Space Agency, NASA. Astronomy Picture of the Day. <http://apod.nasa.gov/apod/ap060824.html>
- [30] K. A. Olive, D. N. Schramm, G. Steigman and T. P. Walker, Phys. Lett. B **236**, 454 (1990).
- [31] M. S. Smith, L. H. Kawano and R. A. Malaney, Astrophys. J. Suppl. **85**, 219 (1993).
- [32] T. P. Walker, G. Steigman, D. N. Schramm, K. A. Olive and H.-S. Kang, Astrophys. J. **376**, 51 (1991).
- [33] L. Bergstrom, Rept. Prog. Phys. **63**, 793 (2000) [hep-ph/0002126].
- [34] J. F. Beacom, N. F. Bell and S. Dodelson, Phys. Rev. Lett. **93**, 121302 (2004) [astro-ph/0404585].
- [35] S. Dodelson and L. M. Widrow, Phys. Rev. Lett. **72**, 17 (1994) [hep-ph/9303287].
- [36] E. W. Kolb, D. Lindley and D. Seckel, Phys. Rev. D **30**, 1205 (1984).
- [37] H.-C. Cheng, K. T. Matchev and M. Schmaltz, Phys. Rev. D **66**, 036005 (2002) [hep-ph/0204342].
- [38] L. J. Rosenberg and K. A. van Bibber, Phys. Rept. **325**, 1 (2000).
- [39] C. Boehm, T. A. Ensslin and J. Silk, J. Phys. G **30**, 279 (2004) [astro-ph/0208458].
- [40] D. J. H. Chung, E. W. Kolb and A. Riotto, Phys. Rev. Lett. **81**, 4048 (1998) [hep-ph/9805473].

- [41] A. Birkedal-Hansen and J. G. Wacker, Phys. Rev. D **69**, 065022 (2004) [hep-ph/0306161].
- [42] A. Kusenko and M. E. Shaposhnikov, Phys. Lett. B **418**, 46 (1998) [hep-ph/9709492].
- [43] H. M. Hodges, Phys. Rev. D **47**, 456 (1993).
- [44] A. De Rujula, S. L. Glashow and U. Sarid, Nucl. Phys. B **333**, 173 (1990).
- [45] G. Shiu and L.-T. Wang, Phys. Rev. D **69**, 126007 (2004) [hep-ph/0311228].
- [46] J. A. R. Cembranos, A. Dobado and A. L. Maroto, Phys. Rev. Lett. **90**, 241301 (2003) [hep-ph/0302041].
- [47] J. R. Ellis, J. L. Lopez and D. V. Nanopoulos, Phys. Lett. B **247**, 257 (1990).
- [48] M. Drees, R. M. Godbole, P. Roy, *Theory and Phenomenology of S-Particles*, World Scientific (2004).
- [49] P. Ramond, *Field Theory: A Modern primer*, Westview (1990).
- [50] D. A. Dicus and V. S. Mathur, Phys. Rev. D **7**, 3111 (1973).
- [51] B. W. Lee, C. Quigg and H. B. Thacker, Phys. Rev. D **16**, 1519 (1977).
- [52] J. R. Ellis, hep-ph/0211168.
- [53] G. Bertone, D. Hooper and J. Silk, Phys. Rept. **405**, 279 (2005) [hep-ph/0404175].
- [54] G. L. Kane, C. F. Kolda, L. Roszkowski and J. D. Wells, Phys. Rev. D **49**, 6173 (1994) [hep-ph/9312272].
- [55] L. Randall and R. Sundrum, Nucl. Phys. B **557**, 79 (1999) [hep-th/9810155].
- [56] G. F. Giudice, M. A. Luty, H. Murayama and R. Rattazzi, JHEP **9812**, 027 (1998) [hep-ph/9810442].
- [57] A. H. Chamseddine, R. L. Arnowitt and P. Nath, Phys. Rev. Lett. **49**, 970 (1982).
- [58] M. Dine and W. Fischler, Phys. Lett. B **110**, 227 (1982).
- [59] C. R. Nappi and B. A. Ovrut, Phys. Lett. B **113**, 175 (1982).
- [60] L. Alvarez-Gaume, M. Claudson and M. B. Wise, Nucl. Phys. B **207**, 96 (1982).
- [61] D. E. Kaplan, G. D. Kribs and M. Schmaltz, Phys. Rev. D **62**, 035010 (2000) [hep-ph/9911293].
- [62] Z. Chacko, M. A. Luty, A. E. Nelson and E. Ponton, JHEP **0001**, 003 (2000) [hep-ph/9911323].
- [63] A. G. Delannoy, B. Dutta, A. Gurrola, W. Johns, T. Kamon, E. Luiggi, A. Melo and P. Sheldon *et al.*, Phys. Rev. Lett. **111**, 061801 (2013) [arXiv:1304.7779 [hep-ph]].
- [64] O. Lahav, A. R. Liddle. *The Cosmological Parameters*. Particle Data Group (2013).
<http://pdg.lbl.gov/2013/reviews/>
- [65] A. G. Sanchez, E. A. Kazin, F. Beutler, C.-H. Chuang, A. J. Cuesta, D. J. Eisenstein, M. Manera and F. Montesano *et al.*, arXiv:1303.4396 [astro-ph.CO].
- [66] E. W. Kolb and M. E. Turner, *The Early Universe*, Addison-Wesley (1990).
- [67] G. Jungman, M. Kamionkowski and K. Griest, Phys. Rept. **267**, 195 (1996) [hep-ph/9506380].
- [68] M. W. Goodman and E. Witten, Phys. Rev. D **31**, 3059 (1985).
- [69] A. K. Drukier and L. Stodolsky, In *La Plagne 1984, Proceedings, Massive Neutrinos In Astrophysics and In Particle Physics*, 395
- [70] A. K. Drukier, K. Freese and D. N. Spergel, Phys. Rev. D **33**, 3495 (1986).
- [71] L. Baudis, Phys. Dark Univ. **1**, 94 (2012) [arXiv:1211.7222 [astro-ph.IM]].
- [72] The CDMS Experiment
<http://cdms.berkeley.edu/>
- [73] The Soudan Underground Laboratory
<http://www.soudan.umn.edu/>
- [74] The CRESST Experiment
http://www.cresst.de/exp_overview.php
- [75] Laboratori Nazionali del Gran Sasso
<http://www.lngs.infn.it/>
- [76] The EDELWEISS Experiment
<http://edelweiss.in2p3.fr/>
- [77] Laboratoire Souterrain de Modane
<http://www-lsm.in2p3.fr/>
- [78] CoGeNT Dark Matter Experiment
<http://cogent.pnnl.gov/>
- [79] The Texono Experiment
<http://www.nu.to.infn.it/exp/all/texono/>
- [80] The ZEPLIN-III Experiment
<http://www.hep.ph.ic.ac.uk/ZEPLIN-III-Project/>
- [81] The Boulby Underground Laboratory
<http://www.stfc.ac.uk/Boulby/default.aspx>
- [82] The XENON Dark Matter Project
<http://xenon.astro.columbia.edu/>
- [83] The XMASS Experiment
<http://www-sk.icrr.u-tokyo.ac.jp/xmass/index-e.html>
- [84] The Kamioka Observatory
<http://www-sk.icrr.u-tokyo.ac.jp/index-e.html>
- [85] The LUX Experiment
http://lux.brown.edu/LUX_dark_matter/Home.html
- [86] The DAMA Project
<http://people.roma2.infn.it/dama/web/home.html>
- [87] The ANAIS Experiment
<http://gifna.unizar.es/anais/>
- [88] Laboratorio Subterráneo de Canfranc
<http://www.lsc-canfranc.es/es/>
- [89] The DM-Ice Project
http://astro.fnal.gov/projects/DarkMatter/DMIce_project.html
- [90] The PICASSO Project
<http://www.picassoexperiment.ca/>
- [91] The Sudbury Neutrino Observatory
<http://www.snolab.ca/>
- [92] The COUPP Experiment
<http://www-coupp.fnal.gov/>
- [93] M. Felizardo, T. A. Girard, T. Morlat, A. C. Fernandes, A. R. Ramos and J. G. Marques, J. Phys. Conf. Ser. **375** (2012) 012011.
- [94] Laboratoire Souterrain à Bas Bruit
<http://www.lsbb.eu/>
- [95] The MACRO Experiment
http://www.lngs.infn.it/lngs_infn/index.htm?mainRecord
- [96] Baksan Neutrino Observatory
<http://www.inr.troitsk.ru/eng/ebno.html>
- [97] Super-Kamiokande
<http://www-sk.icrr.u-tokyo.ac.jp/sk/index-e.html>
- [98] Lake Baikal Neutrino Telescope
<http://baikalweb.jinr.ru/>
- [99] AMANDA II Project
<http://amanda.uci.edu/>
- [100] The ANTARES Collaboration
<http://antares.in2p3.fr/>
- [101] NESTOR Institute for Astroparticle Physics
<http://www.inp.demokritos.gr/nestor/>
- [102] IceCube, South Pole Neutrino Observatory
<https://icecube.wisc.edu/>

- [103] High Energy Stereoscopic System
<http://www.mpi-hd.mpg.de/hfm/HESS/>
- [104] Fermi Large Area Telescope
<http://www-glast.stanford.edu/>
- [105] C. Weniger, JCAP **1208**, 007 (2012) [arXiv:1204.2797 [hep-ph]].
- [106] The PAMELA Project
<http://pamela.roma2.infn.it/index.php>
- [107] The Alpha Magnetic Spectrometer
<http://home.web.cern.ch/about/experiments/ams>
- [108] M. Aguilar *et al.* [AMS Collaboration], Phys. Rev. Lett. **110**, no. 14, 141102 (2013).
- [109] O. Adriani *et al.* [PAMELA Collaboration], Phys. Rev. Lett. **111**, 081102 (2013) [arXiv:1308.0133 [astro-ph.HE]].
- [110] ATLAS Experiment
<http://atlas.ch/>
- [111] ALICE, A Large Ion Collider Experiment
<http://aliceinfo.cern.ch/Public/Welcome.html>
- [112] The CMS Experiment
<http://cms.web.cern.ch/>
- [113] The LHCb Collaboration
<http://lhcb.web.cern.ch/lhcb/>
- [114] G. Aad *et al.* [ATLAS Collaboration], Phys. Rev. D **87**, 012008 (2013) [arXiv:1208.0949 [hep-ex]].
- [115] S. Chatrchyan *et al.* [CMS Collaboration], Phys. Rev. Lett. **109**, 171803 (2012) [arXiv:1207.1898 [hep-ex]].
- [116] CMS Supersymmetry Physics Results
CMS Collaboration
<https://twiki.cern.ch/twiki/bin/view/CMSPublic/PhysicsResultsSUS>
- [117] Summary Plots from the ATLAS Supersymmetry
Physics Group
ATLAS Experiment
<https://atlas.web.cern.ch/Atlas/GROUPS/PHYSICS/CombinedSummaryPlots/SUSY/>
- [118] B. Dutta, A. Gurrola, W. Johns, T. Kamon, P. Sheldon and K. Sinha, Phys. Rev. D **87**, 035029 (2013) [arXiv:1210.0964 [hep-ph]].
- [119] A. G. Delannoy, B. Dutta, A. Gurrola, W. Johns, T. Kamon, E. Luiggi, A. Melo and P. Sheldon *et al.*, Phys. Rev. Lett. **111**, 061801 (2013) [arXiv:1304.7779 [hep-ph]].

High-field fluctuation magnetoconductivity and Hall reversal response in the $\text{Hg}(\text{Re})\text{Ba}_2\text{Ca}_2\text{Cu}_3\text{O}_{8+\delta}$ superconductor

Jairo Roa-Rojas*, Jorge Andrés Cardona-Vásquez, David Landínez-Téllez

Grupo de Física de Nuevos Materiales, Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Abstract

Systematic experiments of high-field (up to 50 kOe) fluctuation magnetoconductivity and Hall magnetoresistivity in $\text{Hg}_{1-x}\text{Re}_x\text{Ba}_2\text{CaCu}_3\text{O}_{8+\delta}$ ($x=0.18$) polycrystalline samples growth by means the quartz tube technique are reported. The analysis of the experimental data was performed by using the recognized Kouvel-Fisher method, which is frequently applied to study of critical phenomena. Very close to the critical temperature T_c , a genuinely critical regime of fluctuations characterized by the critical exponent $\lambda_c=0.32\pm 0.01$ was identified in absence of magnetic fields. This result is consistent with the full dynamic 3D-XY universality class predicted by the model E of Hohenberg-Halperin with a dynamic critical exponent $z=3/2$. The genuine critical regime become be unstable on the application of external magnetic fields $H\approx 0.1 \text{ kOe}$. Near above the critical temperature T_c , the determined exponent $\lambda_{G3}=0.52\pm 0.02$ was interpreted as corresponding to homogeneous fluctuations, which develop in a space with three-dimensional geometry. This region is destroyed upon the application of magnetic fields above 0.5 kOe . Increasing the temperature, evidences of a homogeneous two-dimensional behavior are observed by means the identification of a $\lambda_{G2}=1.02\pm 0.04$. Applied fields $H>20 \text{ kOe}$ destroy this fluctuation regime. Far above T_c , effects of disorder and planar anisotropy produce a fluctuation spectrum characterized by a fractal topology with a critical exponent $\lambda_{G2-G1}=1.32\pm 0.04$. At last, very far T_c , a temperature region with $\lambda_{G1}=1.52\pm 0.04$ was experimentally identified. This corresponds to the confinement of the quasi-particles into the Lowest-Landau-Level, due to the quantization of the electronic states around the axe of application of the external field. Measurements of Hall were performed. In the normal phase, the Hall resistivity is hole-like and inversely proportional to the temperature. In the mixed phase and when the applied field is below $\mu_0 H = 2 T$, the Hall resistivity shows a double sign reversal. For fields above $2 T$, the Hall resistivity remains positive, although qualitatively showing the trends observed at low fields. We attribute this behavior to two independent contributions with opposite sign. A negative term due to thermal fluctuations is relevant near T_c , whereas a positive contribution related to vortex motion dominates at lower temperatures. Near the zero resistance state, the Hall resistivity varies as a power law of the longitudinal resistivity, with a field independent exponent $\beta=1.41$.

PACS: 74.40.+k; 74.25.Bt; 74.60.Ec; 74.72.Bk

Key words: Fluctuation conductivity, Critical phenomena, Mixed state, High-temperature superconductivity

Fluctuaciones en la magneto conductividad de alto campo y respuesta Hall inversa en el superconductor $\text{Hg}(\text{Re})\text{Ba}_2\text{Ca}_2\text{Cu}_3\text{O}_{8+\delta}$

Resumen

En el presente trabajo reportamos experimentos sistemáticos de fluctuaciones en la magnetoconductividad bajo la aplicación de altos campos magnéticos (hasta 50 kOe) y respuesta Hall en muestras policristalinas de $\text{Hg}_{1-x}\text{Re}_x\text{Ba}_2\text{CaCu}_3\text{O}_{8+\delta}$ ($x=0.18$) crecidas mediante la técnica del tubo de cuarzo. Los análisis experimentales fueron realizados a través del método de Kouvel-Fisher, el cual es frecuente utilizado en estudios de fenómenos críticos. Muy cerca de la temperatura crítica T_c y en ausencia de campo magnético fue identificado un régimen de fluctuaciones genuinamente críticas caracterizado por el exponente $\lambda_c=0.32\pm 0.01$. Este resultado es consistente con el modelo 3D-XY cuya universalidad dinámica es predicha por el modelo E de Hohenberg-Halperin con un exponente crítico dinámico $z=3/2$. Este régimen se torna inestable bajo la aplicación de campos magnéticos superiores a $H\approx 0.1 \text{ kOe}$. Cerca y arriba de T_c se observe un exponente $\lambda_{G3}=0.52\pm 0.02$ que fue interpretado como correspondiente a fluctuaciones homogéneas desarrollándose en un espacio de geometría tridimensional. Esta región fue destruida cuando campos magnéticos superiores a $H=0.5 \text{ kOe}$ fueron aplicados. Al aumentar la temperatura, se evidenció un comportamiento de fluctuaciones homogéneas bidimensionales identificadas mediante el exponente $\lambda_{G2}=1.02\pm 0.04$. Este régimen desapareció al aplicar campos magnéticos $H>20 \text{ kOe}$. Lejos y arriba de T_c , los efectos de desorden de anisotropía planar produjeron un espectro de fluctuaciones caracterizados por una topología fractal con un exponente

crítico $\lambda_{G2-G1}=1.32\pm 0.04$. Muy lejos en temperatura y arriba de T_C , se identificó un régimen de fluctuaciones con exponente $\lambda_{G1}=1.52\pm 0.04$, el cual fue interpretado como relativo al confinamiento de cuasipartículas en el nivel más bajo de Landau, debido a la cuantización de estados electrónicos alrededor del eje de aplicación del campo magnético externo. Por otro lado, se efectuaron medidas de respuesta Hall. En la fase normal, la resistividad Hall fue de tipo hueco e inversamente proporcional a la temperatura. En el estado mixto y bajo la aplicación de un campo magnético inferior a 20 kOe la resistividad Hall mostró una doble inversión de signo. Para campos por encima de este valor, la resistividad Hall permaneció positiva pero conservando la misma forma cualitativa observada a bajos campos. Este comportamiento fue atribuido a la existencia de dos contribuciones independientes de signo opuesto: una negativa debida a fluctuaciones térmicas cerca de T_C y otra positiva debida a movimiento de vórtices que domina a menores temperaturas. Cerca al estado en que la resistividad se anula, la respuesta Hall varía en forma de una función potencial de la respuesta longitudinal, con un exponente independiente del campo aplicado $\beta=1.41$.

PACS: 74.40.+k; 74.25.Bt; 74.60.Ec; 74.72.Bk

Palabras clave: fluctuaciones en la conductividad, fenómenos críticos, estado mixto, superconductividad de alta temperatura

1. Introduction

It is known that in the phase transitions of second order the thermodynamic fluctuations of the order parameter play an important role in their description (**Stanley, H.E., 1971**). High temperature superconductors (HTSC) exhibit characteristics, which are very different from those properties of conventional low temperature superconductors. In first, the superconducting transition is enhanced and non-equilibrium Cooper pairs can be to occur in temperature intervals above the critical temperature T_C . These are the origin of precursor effects of the superconducting phase still in the normal state. Some equilibrium and transport properties change considerably in the neighborhood of the transition due to contribution of these fluctuation states.

Ginzburg (**1960**) effectuated the first estimation of the fluctuation effects in the specific heat of superconductor materials near T_C (**Varlamov & Ausloos, 1997**). Based on Ginzburg-Landau theory, it was shown that the superconducting fluctuations increase the specific heat above and very close to T_C . In 1968 was formulated the first microscopic theory for electric conductivity fluctuations of superconductors in the proximities of T_C , which are known as Aslamazov-Larkin theory (**1968**). These studies shown that the size of the fluctuation effects vary inversely proportional to the coherence length ξ , which determines the spatial response of superconductor. HTSC possess an electronic excitation spectrum extremely anisotropic and very short coherence length. As a result of these characteristics, the temperature region dominated by thermal fluctuations may be attaining some ten degrees (**Lobb, C.J., 1987**).

The manifestation of superconducting fluctuations above T_C is conveniently demonstrated in the electric conductivity case. In first approximation, this is reduced to four distinctive effects:

- i) First effect is direct and consists in the apparition of non-equilibrium Cooper pairs, with characteristic fluctuation time $\tau_{fl} \sim \frac{\hbar}{T-T_C}$ very close to T_C . A number of these pairs (depending of the proximity to T_C) is ever present in certain unitary volume of the normal phase. Concerning to electric conductivity, we could be to say that in $T > T_C$, a new transference channel of charge, non-dissipative, is opened as a consequence of presence of metastable Cooper pairs. This direct effect of fluctuations on the conductivity is known as *paraconductivity* or Aslamazov-Larkin contribution.
- ii) Another consequence of the formation of vanishing-Cooper pairs is the decreasing of the electronic state densities into the Fermi level. When some electrons involve in the pairing, they can not to participate simultaneously in the charge transference and in the specific heat as excitations of single particle. The several numbers of electronic states can be to change due to Cooper interaction and only could be occurs one distribution of levels along to the energetic axe. Then, one pseudo-gap of fluctuations in the Fermi level is opened (**Di Castro, Castellani, Raimondi & Varlamov, 1990**). The decreasing of state densities of single electron into de Fermi level arise a reduction of the electric conductivity in the normal state. This indirect correction to fluctuation contribution on the electric conductivity is denominated *contribution of the state densities*. This have opposite sign when the temperature approximates to T_{C+} from the normal state and may be singularly small when compared with paraconductivity contribution. That is the reason which this contribution is omitted near the transition.
- iii) Third effect have a purely quantic nature and consist of fluctuations generated by elastic scattering of coherent

*Correspondencia:

Jairo Roa-Rojas, jroar@unal.edu.co

Recibido: 31 de marzo de 2014

Aceptado: 19 de mayo de 2014

electrons, which conform the Cooper pairs. This is known as anomalous contribution of Maki-Thompson (1989), which some time is important on the conductivity near T_c . This contribution is extremely sensible to processes that modify the electronic wave function. So, inelastic scattering processes, as electron-phonon scattering, which origin the break of spin pairing of the electron pairs, limit the lifetime of quasi particles.

iv) Besides of these effects, in HTSC was experimentally confirmed the existence of a genuine critical regime, which is characterized by correlated fluctuations immediately above T_c . These can be described by mean of the 3D-XY model (Pureur, Menegotto Costa, Rodrigues, Schaf, & J. V. Kunzler, 1993; P. Pureur, R. M. Costa, P. Rodrigues Jr., J. V. Kunzler, J. Schaf, L. Ghivelder, J. A. Campá and I. Rasines, 1994). In this model, the superconducting order parameter has two components (real and imaginary) as a wave function corresponding to one condensed. This permits to infer that the thermodynamics of superconductor presents a behavior of the type 3D-XY near the transition, in analogous form to the He superfluid.

The effects of thermal fluctuations are more evident in temperatures immediately above T_c . However, some fluctuation effects are strongly relevant in $T < T_c$ on application of magnetic fields.

One phenomenon, which is very interesting due to diversity of possible explanation, is related to the sign reversal of the Hall response in the mixed state of type II superconductors. This anomaly is not an exclusive characteristic of the HTSC. It was experimentally observed in conventional superconductors based on Vanadium and attributed to pinning and thermal effects (Usui, Ogaswara, Yasukochi, Tomoda, 1969). In HTSC, it was proposed that the sign inversion of the Hall resistivity is caused by granular effects (Galffy & Zirngiebl, 1988), thermoelectric effects (Freimuth, Hohn & Galffy, 1991), vortex dynamics (Hagen, Smith, Rajeswari, ... Lobb, 1993; Rice, Rigakis, Ginsberg & J.M. Mochel, 1992; Ambegaokar, Halperin, Nelson & Siggia, 1980), thermal fluctuations (Lang, Heine, Schwab, Wang, & Bäuerle, 1994; Liu, Clinton, Smith & C.J. Lobb, 1997), flux pinning effects (Wang, Dong & Ting, 1994) or processes of the skew scattering type (Feigel'man, Geshkenbein, Larkin, & Vinokur, 1995). Additionally, some HTSC exhibits a double sign reversal (Hagen, Lobb, Greene & Eddy, 1991; Zavaritsky, Samoilov & Yurgens, 1991; Artemenko, Gorlova & Latyshev, 1989), introducing more difficulties on the theories to explain this anomalous phenomenon.

Section 2 is dedicated to examination of the fluctuation theory. Ginzburg-Landau theory and the feature of thermal fluctuations above and below the superconducting transition

in the diagonal and Hall conductivities are remarked. Sample characteristics and experimental procedures are specified in section 3. Results of fluctuation analysis in both normal and mixed states, low and high magnetic fields, longitudinal and Hall conductivities, are discussed in section 4. At last, in section 5 the conclusions are presented.

2. Fluctuation theory

2.1. Ginzburg-Landau Theory

Ginzburg and Landau, based on the phase transitions of second order (Abrikosov, A.A., 1988), developed the phenomenological theory of superconductivity near the superconducting transition. They proposed the existence of an order parameter, which has a null value in $T > T_c$ and is defined in the simplest form as a complex quantity of the type

$$\Psi(\vec{r}) = |\Psi(\vec{r})| e^{i\phi(\vec{r})}, \quad (1.1)$$

where $|\Psi(\vec{r})|^2 = n_s$ represents the density of superparticles (Cooper pairs) and $\phi(\vec{r})$ is the phase.

In the conventional low temperature superconductors, the transition between normal and superconducting states is correctly described by the Ginzburg-Landau theory, which is equivalent to microscopic BSC in the limit $T \rightarrow T_c$ (Gor'kov, L.P., 1958; 1959; 1960). Close to T_c , in absence of magnetic field, $\Psi(\vec{r})$ is small and the density of free energy can be expanded in a power series, as performed in the phase transitions of second order, $f_s(|\Psi|) = f_n + \alpha|\Psi|^2 + \frac{1}{2}\beta|\Psi|^4 + \dots$. When there is external magnetic field, it is necessary to introduce the corresponding term, $\frac{B^2}{8\pi}$, in the density of free energy. Furthermore, is important to consider the energy associated to the spatial variation of $\Psi(\vec{r})$, induced by the application of magnetic fields. Then, the density of free energy is given by

$$f_s(|\Psi|) = f_n(T) + \alpha|\Psi|^2 + \frac{1}{2}\beta|\Psi|^4 + \frac{1}{2m^*} \left| (-i\hbar\nabla - e^*\vec{A})\Psi \right|^2 + \frac{B^2}{8\pi}, \quad (1.2)$$

where m^* and e^* represents the mass and the charge of an electron pair, respectively, and $f_n(T)$ is the density of free energy in the normal state. Minimization of free energy (1.2) with respect to the order parameter $\Psi(\vec{r})$, and the potential vector \vec{A} , conduces to the fundamental equations of Ginzburg-Landau theory,

$$\alpha|\Psi| + \beta|\Psi|^3 \Psi + \frac{1}{2m^*} \left(-i\hbar\nabla - e^*\vec{A} \right)^2 \Psi = 0, \quad (1.3)$$

$$\vec{j} = \frac{i\hbar e^*}{2m^*} (\Psi^* \nabla \Psi - \Psi \nabla \Psi^*) - \frac{(e^*)^2}{m^*} |\Psi|^2 \vec{A}. \quad (1.4)$$

Equation (1.3) is associated to the coherence length $\xi(T)$, which determines the spatial response of the superconductor, while equation (1.4) is related with the London penetration

depth, λ_L , which determines the electromagnetic response of the superconducting material. The corresponding definitions are given by

$$\xi(T) = \xi(0) |\varepsilon|^{-\frac{1}{2}}, \quad (1.5)$$

$$\lambda_L = \left(\frac{\mu_0 e^{*2} |\Psi(\vec{r})|^2}{m^*} \right)^{-\frac{1}{2}}, \quad (1.6)$$

where $\xi(0)$ is the coherence length in $T=0$ and $\varepsilon = (T-T_C)/T_C$ is known as reduced temperature.

In $T > T_C$, the density of superparticles is very small. This permits the expansion of $\Psi(\vec{r})$ in a Fourier series. Introducing this series in the density of free energy (1.2) and calculating the thermal media of the density of Cooper pairs, we can be to obtain the probability of occurrence of certain value of the order parameter (in the Fourier space),

$$w(\Psi_{\vec{q}}) \propto \exp \left(- \frac{|\Psi_{\vec{q}}|^2}{2 \langle |\Psi_{\vec{q}}|^2 \rangle} \right). \quad (1.7)$$

Equation (1.7) shows that the probability distribution of the Fourier amplitudes, $\Psi_{\vec{q}}$, has a Gaussian characteristic. So, non-correlated thermodynamic fluctuations, obtained by mean the Ginzburg-Landau theory to $T > T_C$, are denominated *Gaussian fluctuations*. The amplitude of thermal fluctuations creases and becomes to interact, in temperatures near T_C in the so-called genuine critical region, where the fluctuation system is dominated by a collective behavior. In this limit, Ginzburg-Landau theory is not applicable. Then, the denominated *Ginzburg criterion* (Varlamov & Ausloos, 1997) is used to describe the regime, which is defined in the clean limit and in three dimensions as

$$\varepsilon_G = \left(\frac{k_B}{8\pi^2 (\delta c) \xi^3(0)} \right)^2 = \left| \frac{T_G - T_C}{T_C} \right|, \quad (1.8)$$

where, δc is the jump in the specific heat at T_C and k_B is the Boltzmann constant. This criterion defines a limit in temperature, T_G . Below T_G the Ginzburg-Landau theory is not more valid. Then, the genuine critical interval is defined by

$$\varepsilon \leq \varepsilon_G. \quad (1.9)$$

2.2. Electric Conductivity Fluctuations at $T > T_C$

One experimental technique, which is much utilized to study the phenomenon of thermal fluctuations near the superconducting transition, is the electric conductivity. Particularly in the normal phase, this method supplies the necessary precision to detection of diverse effects as the Aslamazov-Larkin contribution, for example. Calculus of this

contribution is performed based on the microscopic theory (Aslamazov & Larkin, 1968), but the Ginzburg-Landau theory else permits the derivation of this additional term of the conductivity. Contribution of Aslamazov-Larkin to the conductivity excess $\Delta\sigma$ depends of dimensionality of system as:

$$\Delta\sigma_{AL} = \frac{e^2}{32\hbar\xi(0)} \varepsilon^{-\frac{1}{2}} \quad (3D), \quad (2.1)$$

$$\Delta\sigma_{AL} = \frac{e^2}{16\hbar s} \varepsilon^{-1} \quad (2D), \quad (2.2)$$

$$\Delta\sigma_{AL} = \frac{\pi}{16} \frac{e^2 \xi(0)}{\hbar a} \varepsilon^{-\frac{3}{2}} \quad (1D), \quad (2.3)$$

where s is the thickness of film in the 2D case and a is the transversal section area of filament in the 1D case.

The Maki-Thompson contribution, in the 3D case, presents the same divergence of Aslamazov-Larkin 3D-paraconductivity. In the 2D and 1D cases, this contribution is not relevant for the diagonal magnetoconductivity fluctuations. However, appropriately defined, these are very significant to study of Hall conductivity fluctuation (Gor'kov, L.P., 1958; 1959; 1960). Then,

$$\Delta\sigma_{MT} = \frac{e^2}{8\hbar s (\varepsilon - \delta)} \ln \left(\frac{\varepsilon}{\delta} \right) \quad (2D), \quad (2.4)$$

$$\Delta\sigma_{MT} = \Delta\sigma_{AL}^{1D} \frac{4\varepsilon}{\delta} \left[1 + \left(\frac{\varepsilon^{-\frac{1}{2}}}{\delta} \right) \right]^{-1} \quad (1D), \quad (2.5)$$

where, $\delta = (T_{mi} - T_C)/T_C$ is the pair-break parameter and T_{mi} is the temperature of superconducting transition without despairing effects.

Lawrence and Doniach (1971) develop a theory to systems that have a high planar anisotropy. They propose that in this systems the order parameters of adjacent planes are weakly coupled through Josephson junctions. In their model, the contribution of thermal fluctuations on the electric conductivity is

$$\Delta\sigma^{LD} = \frac{e^2}{16\hbar s \varepsilon} (1 + 2\alpha)^{-\frac{1}{2}}, \quad (2.6)$$

where s represents the superconducting interplanar distance and $\alpha = \frac{2\xi_c^2(T)}{s^2} = \frac{2\xi_c^2(0)}{s^2 \varepsilon}$ defines the coupling parameter which models the crossover between 2D, in high temperatures, and 3D limits near T_C . The parameter α is strongly dependent from microscopic details of system. 2D and 3D limits are quantified by the dimensionless parameter $d = \frac{s}{2\xi_c(0)}$, which conduce to $\alpha = (2d^2 \varepsilon)^{-1}$. When $d^2 \varepsilon \gg 1$ the superconducting planes are effectively uncoupled and the fluctuation regime is

2D. In this case, equation (2.6) is similar to 2D-Aslamazov-Larkin equation (2.2) for systems with thickness s . On the contrary, when $d^2 \varepsilon \ll I$, superconducting planes are coupled and the regime is 3D. The corresponding Lawrence-Doniach equation corresponds to Aslamazov-Larkin equation 3D (2.1). However, the anisotropic quantity $\xi(0)$ is substituted by the coherence length $\xi_c(0)$.

The Aslamazov-Larkin model, developed to homogeneous systems, was enhanced by Char and Kapitulnik (1988) for the case of inhomogeneous materials by mean of percolation theory. In this model, it is considered that an inhomogeneous superconductor is conformed by regions with uniform superconducting properties. The global superconductivity is conserved through the strong or weak coupling between those regions along whole material. Above T_c the superconductor is considered homogeneous, with dimensionality d , for length scales of homogeneous regions $L > \xi_p$, where ξ_p is the correlation of percolation. So, Aslamazov-Larkin theory predicts

$$\Delta\sigma_{AL} \approx \varepsilon^{\frac{d}{2}-2}. \quad (2.7)$$

In the opposite case, when $L < \xi_p$, we can be to apply the result of equation (2.7), by considering a random fractal with spectral dimension \tilde{d} . Then, the Char-Kapitulnik paraconductivity is given by

$$\Delta\sigma_{CK} \approx \varepsilon^{\frac{\tilde{d}}{2}-2}. \quad (2.8)$$

This result is general to any fractal. In the case of percolation network, the spectral dimension of the *fracton* has a universal value $\tilde{d} \approx 4/3$ (Alexander & Orbach, 1982; Alexander, Laermans, Orbach & Rosenberg, 1983).

The Ginzburg criterion defined by the equation (1.8) delimits the validity of Ginzburg-Landau theory very close to T_c . Then, the thermodynamics of superconductor is not more described by the mean field theory as in the Gaussian regimes of fluctuations. In the immediate proximity to the transition, where T_c is different to Ginzburg-Landau critical temperature, the fluctuations interact and become to be strongly correlated. When the temperature is decreased in direction to T_c the long range order of the correlation of fluctuations increases progressively up to turn infinite at $T=T_c$. Thus, the region where fluctuations become infinitely coherent is denominated *genuine critical regime*. The study of this region is usually effectuated by mean the theory of dynamic and static scalings (Hohenberg & Halperin, 1977), in which the free energy is expanded in a power series of the coherent length, that is the relevant scale of longitude for the critical phenomenology near the superconducting transition. This theory predicts the occurrence of a divergence in the conductivity excess ($\Delta\sigma$) very close to T_c according to equation

$$\Delta\sigma \sim \varepsilon^{-\nu(2+z-d+\eta)}, \quad (2.9)$$

where ν is the critical exponent related with the coherence length, z is the dynamic critical exponent, d is the dimensionality of the fluctuation system and $\eta \approx 0$ is the exponent associated with the deviation of the correlation function respect to mean field behavior. The simplest description of transition in the critical regime suggests that the properties of type II superconductors, without applied magnetic fields, are that predicted by the 3D-XY-model (Pureur, et al, 1993), in which $\nu \approx \frac{2}{3}$. In his prediction, Lobb (1987) defines two regimes at the critical region. First is a static critical regime very close to T_c with $\nu \approx \frac{2}{3}$, where the exponents z and η conserve the mean field values ($z=2$ y $\eta=0$), resulting in a critical exponent to conductivity excess, that is given by the equation $\lambda = \nu(2+z+d+\eta) = \frac{2}{3}$. Second corresponds to a dynamic critical regime, closer to T_c where the effects of dynamic scaling are relevant. Then, occurs a change of the dynamic critical exponent, which acquire the value $z = \frac{3}{2}$. In this case, it is predicted that the critical exponent of conductivity excess in 3D systems is given by the expression $\lambda = \nu(2+z+d+\eta) = \frac{1}{3}$.

2.3. Behavior of Electric Conductivity at $T < T_c$

One very interesting aspect in the granular superconductors is the occurrence of a two-step process in the normal-superconductor transition (Pureur, et al, 1993; Gerber, Grenet, Cyrot & Beille, 1990). This phenomenon is described by supposing that the electronic pairing stabilizes a superconductor state in mesoscopic regions (grains) of the sample, very close to the bulk T_c . On lower temperatures, another critical temperature, T_{cp} , conduce the system to a state with effective long range order of the phase coherence, by mean like percolative processes which active the weak junctions between diverse grains. At $T < T_{cp}$, is reached the rigorously null resistivity-state (Jurelo, Abrego Castillo, Roa-Rojas, Ferreira, Ghivelder, Pureur, Rodrigues, 1999).

The theoretical description of this two-step transition is performed in terms of a *paracoherent-coherent* phase transition, which is proposed to granular superconductors (Rosenblatt, Raboutou, Peyral & Lebeau, 1990; Roa-Rojas, Menegotto Costa, Pureur & Prieto, 2000). In this transition, the fluctuant phases of the Ginzburg-Landau order parameter into the grains acquire long range order. One scheme of this proposal is shown in figure 1.

As in the vortex-glass model (Rosenblatt, et al, 1990; Roa-Rojas, et al, 2000), the phenomenology is described through the tunneling Hamiltonian of Cooper pairs given by

$$H = - \sum_{\langle i,j \rangle} J_{ij} \cos(\theta_i - \theta_j - A_{ij}), \quad (2.10)$$

where, J_{ij} is the intergranular coupling energy and q_i, q_j are the phases i and j of the order parameter, respectively. Frustration is introduced by the phase factor $A_{ij} = \frac{2\pi}{\Phi_0} \int_i^j \vec{A} \cdot d\vec{l}$,

where \vec{A} is the potential vector and the line integral is valued from center of grain i to center of grain j . In absence of magnetic field, Hamiltonian is formally the same of a disordered 3D-XY-ferromagnet (Jurelo, et al, 1999). When magnetic field are applied, the frustration factor A_{ij} conduce the system to a like spin-glass state (Rosenblatt, et al, 1990; Roa-Rojas, et al, 2000).

Then, near to T_{c0} a critical region takes place which extension can be to estimate by mean of the renormalized Ginzburg criterion (Jurelo, et al, 1999). Resistivity measurements permit to identify the paracoherent and coherent regions as observed in figure 2. It is important to remark that the resistivity in the paracoherent regime is related to activation and inactivation processes of the weak junctions into material.

Model represented by the intergranular tunneling Hamiltonian belongs to the universality class 3D-XY. This implies the occurrence of a phase transition paracoherent-coherent of second order at the temperature value T_{c0} , where the phase of the order parameter turns identical to all grains of material. Strong evidences of existence of this transition were reported in studies of conductivity excess and specific heat measurements.^[25]

2.4. Magnetic Effects on Conductivity at $T > T_c$

When applied magnetic field is increased, the occupied volume by the fluctuations decrease up to turns minor that the coherence length $\xi(T)$ (Tinkham, M., 1975). On the other hand, in sufficiently strong magnetic fields, the quasiparticles are effectively confined in the lowest Landau level (LLL), due to quantization of the electronic states round the axe of application of magnetic field (Bergmann, G. 1969). Is denominated LLL the state where transversal fluctuations of magnetic field are suppressed due to separation of Landau

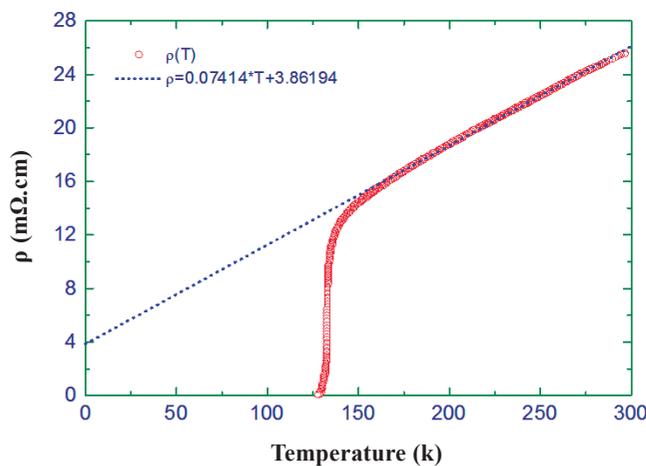


Figure 1. Linear behavior of resistivity at high temperatures and extrapolation to obtain the residual contribution at T=0 K.

orbital and are characterized by a length scale determined by the magnetic field. At sufficiently strong magnetic fields, this length scale is given by $l_H = \left(\frac{\Phi_0}{2\pi H}\right)$ (Kim & Trochet, 1992). In these circumstances, the dimensionality of system is reduced and the fluctuations acquire an effectively one-dimensional character along of magnetic field orientation. When magnetic field are applied parallel to crystallographic axe c in a thin film, the characteristic volume of a typical fluctuation is $l_H^2 s$, where s corresponds to the thin film thickness (Gerber, et al, 1990). This reduction on effective dimensionality increases the relevance of fluctuations in certain region, near $T_c(H)$, which creases proportionally to field creasing, according to the Ginzburg criterion as a function of magnetic field (Ikeda, Ohmi, Tsuneto, 1989).

$$G(H) = \left(\frac{8\pi\kappa^2 k_B T_c H}{\Phi_0 \xi_c H_c^2}\right)^{\frac{2}{3}}, \quad (2.11)$$

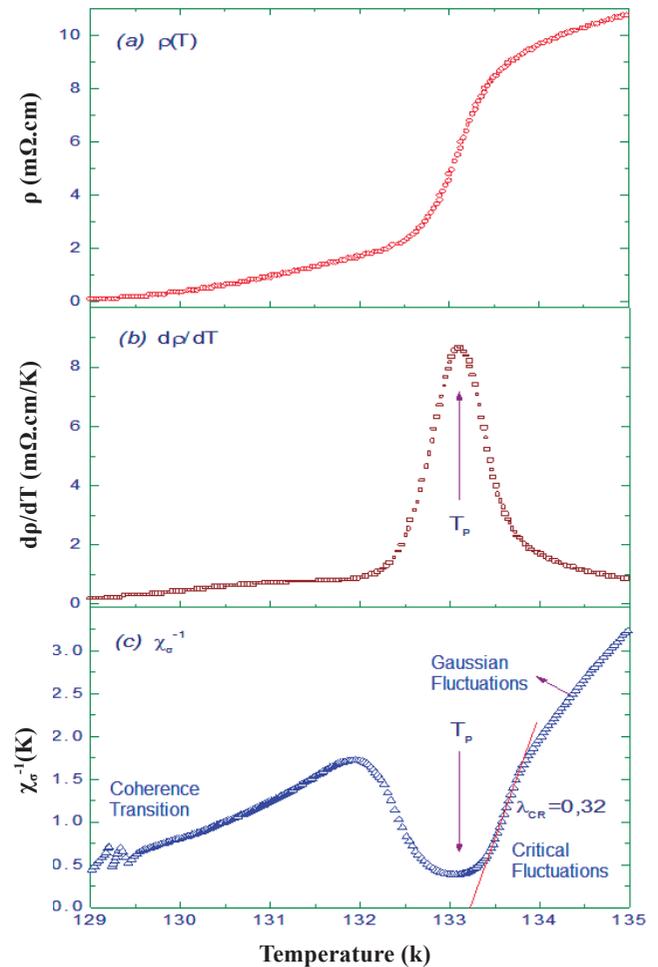


Figure 2. Characteristics of the (a) resistivity transition, (b) temperature derivative of resistivity and (c) inverse of logarithmic derivative of the conductivity excess for the Hg(Re)-1223 sample.

where $\kappa = \frac{\lambda}{\xi}$ is the Ginzburg-Landau parameter and H_c represents the thermodynamic critical field.

On the practice, the critical behavior of the type 3D-XY is applicable to a few interval of magnetic fields, in the proximity of $H=0$. This means that is possible to observe experimentally the genuine critical regime, still in presence of weak magnetic fields. In a 3D system, the conductivity excess follows a scale law (Salamon, Shi, Overend & Howson, 1993)

$$\Delta\sigma H^{\frac{1}{2}} = f\left(\frac{\varepsilon}{H^{\frac{1}{2\nu}}}\right), \quad (2.12)$$

which relates the critical fluctuations with a behavior dominated by the static critical regime 3D-XY. Then, the corresponding dynamic critical exponent is $\nu = \frac{2}{3}$. Very close to T_c , the dynamic critical region is experimentally accessible at certain values of applied magnetic field. In high magnetic fields, occur a progressive suppression of critical and Gaussian regimes and the fluctuation system turns effectively 1D, i.e., is confined into the lowest Landau level (Bardeen & Stephen, 1965). In this limit case and to 3D systems, a power law governs the conductivity excess:

$$\Delta\sigma = \left(\frac{T^2}{H}\right)^{\frac{1}{3}} F_{3D} \left[A \frac{T - T_c(H)}{(HT)^{\frac{2}{3}}} \right]. \quad (2.13)$$

2.4. Magnetic Effects on Conductivity at $T < T_c$

Presence of magnetic fields affects meaningfully the superconducting transition at $T < T_c$ as shown in figure 3. Picture 3a reveals that in low magnetic fields the intergranular regime of the superconducting transition is affected, while figure 3b shows that high magnetic fields become to influence the intragranular region. Various models have been proposed to explain the behavior of HTSC in the mixed phase. More relevant are the classic of *flux flow* and *flux creep* (Bardeen & Stephen, 1965; Anderson & Kim, 1964), superconducting glass (Ebner & Stroud, 1985; Rodrigues, Schaf & Pureur, 1994; Morgenstern, Müller & Bednorz, 1988) and vortex glass (Roa-Rojas, J., 2002; Fisher, Fisher & Huse, 1991). Last is based on dynamic scaling theory, as far as results particularly interesting to describe the characteristic fluctuations in the mixed phase.

Vortex glass model considers that the flux lines, typical of the mixed state, adopt the configuration of magnetic ordering which occurs in the spin glasses, where the atomic magnetic moments are fix on time but are not oriented on magnetic field direction, as in ferromagnetic or antiferromagnetic materials. Spin glasses are magnetically disordered and frustrated. Disorder remarks the importance of establishing of a global state on system in which the interactions between

all spin pairs can be simultaneously satisfied. Consequently, the fundamental state of a spin glass is highly degenerated, consisting of most not equivalent configurations. By this analogy, the disordered solid phase in HTSC is denominated vortex glass phase (Roa-Rojas, J., 2002; Fisher, et al, 1991) and is characterized by magnetic frustration and disorder, due to existence of pinning centers which immobilize the vortex lines.

In the limit case of like granular disorder, the vortex glass phase can be formally studied through the Hamiltonian given by equation (2.10), $H = -\sum_{\langle i,j \rangle} J_{ij} \cos(\theta_i - \theta_j - A_{ij})$. In this theory, the phenomenon of dissipation is analyzed in terms of the phase correlation of the order parameter. On the vortex glass state, where the phase of the order parameter is correlated, the longitudinal resistivity is *strictly zero*, originating a true superconducting state. Vortex glass transition, which occurs for a certain value of temperature T_g , is continuous and has place between the vortex-liquid and vortex-glass phases, as observed in figure 4. Most authors relate this fusion line with the phenomenon known as irreversibility line (Yeshurun & Malozemoff, 1988; Houghton, Pelkovits & Sudbf, 1989; Matsushita, T., 1993).

Some divergent quantities and universal laws of scaling characterize the system in the vortex glass transition. Particularly, the relevant length for this case is ξ_g , which represents the magnitude scale of correlation of the phase of the order parameter. By this reason, ξ_g is known as coherence length of the vortex glass phase. The divergence in T_g is given by (Koch, Foglietti & Gallagher, 1989; Koch, Foglietti & Fisher, 1990)

$$\xi_g \propto (T - T_g)^{-\nu}, \quad (2.14)$$

where ν is the critical exponent related to ξ_g . Associated to this correlation length there is a relaxation time, whose scaling law can be written as $\tau = \xi_g^z$, where z is the dynamic critical exponent. Transport properties near T_g are discussed in terms of scaling laws. When a test current density is applied to system on a length $L_{sc} \approx ck_B T / \Phi_0 j^{d-1}$, the regimes above T_g can be analyze as (Abrikosov, A.A., 1988):

- i) In low applied current and $L_{sc} > \xi_g$, the phases of the order parameter are not correlated due to thermal fluctuations. It is expected that the electric response have an ohmic behavior. When temperature is reduced in direction to T_g , the coherence length of the vortex glass ξ_g creases while the resistance diminishes up to the zero resistance state, following a power law dependence in temperature

$$\rho(T) = A(T - T_g)^s, \quad (2.15)$$

where $s = \nu(z + 2 - d)$ and d represents the dimensionality of system. The characteristic value of s in the $RBa_2Cu_3O_{7-\delta}$ is 4 (approximately) (Roa-Rojas, et al, 2000).

ii) When $L_{sc} < \xi_g$, the applied current breaks the phase correlation of the order parameter, originating a dynamic of vortex lines. From the dynamic scaling is expected a non-ohmic behavior, in the power law form, on the I - V characteristic.

3. Experimental procedures

The synthesis of a polycrystalline $\text{Hg}_{0.82}\text{Re}_{0.18}\text{Ba}_2\text{Ca}_2\text{Cu}_3\text{O}_{8+\delta}$ superconductor was performed by means of the sealed quartz tube technique. Rhenium was added to the multiphase precursor as ReO_2 within a stoichiometric ratio. The resulting material was blended with HgO in order to form the final compound, following a procedure which is described in reference 49 and references therein. The obtained pellet was partially powdered for x-ray diffraction experiments. The obtained cell parameters from Rietveld analysis of the data are $a = 3.8519(6) \text{ \AA}$ and $c = 15.686(3) \text{ \AA}$. Small amounts of $\text{BaCuO}_{2+\delta}$ were detected. The often present residual phases HgCaO_2 and Hg(Re)-1212 could be eliminated by a proper choice of the partial pressure of oxygen in the cell (**Sin, Cunha, Calleja, ... Obradors, 1999**). Samples prepared with the same procedure were further characterized by energy-dispersive x-ray analysis (EDAX). A bar-shaped sample with dimensions $8 \times 4 \times 0.34 \text{ mm}^3$ was cut out from the Hg(Re)-1223 pellet for transport measurements. Six contacts were attached to the sample with silver paint in the conventional arrangement for simultaneous measurements of the longitudinal and Hall voltages. A low-frequency alternating current (ac) technique, which employs a lock-in amplifier as a null detector, was used to measure the transport voltages. In the case of the Hall-effect experiments, the longitudinal voltage was used as the primary source for the compensation signal in order to eliminate any spurious effect from magnetoresistance. The details of this technique were reported by Friederich (1976). The current density was fixed at 1.45 A.cm^{-2} in all transport measurements. Temperatures were determined with a carbon-glass sensor and a Pt resistor corrected for magnetoresistance effects. Fields varying from 0 to 5 T were produced with a superconductor solenoid. The accuracy and the large number of recorded data points allowed us to calculate the temperature derivative of the longitudinal resistivity in the region of the superconducting transition. Structural characterization of these Hg(Re)-1223 samples was extensively studied by M.T.D. Orlando et al (**Sin, Cunha, Calleja, ... Obradors, 1998**).

The determination of the irreversibility line was obtained from magnetoresistivity measurements and conventional magnetization experiments. First were performed in the magnetoresistometer defined above and second by means a commercial SQUID magnetometer. The zero field cooling (ZFC) and field cooled cooling (FCC) prescriptions were performed to the determination of the irreversibility line in both experimental techniques (**Roa-Rojas, et al, 2000; Friederich, A., 1976**).

4. Results and discussion

4.1 Analysis Method and Resistive Transition

The analysis of results for the fluctuation contribution on magnetoconductivity is performed by assuming that the conductivity excess is given by (**Pureur, et al, 1993**)

$$\Delta\sigma = \sigma - \sigma_R, \quad (4.1)$$

where $\sigma = \sigma(T, B)$ is the measured magnetoconductivity, i.e., $\sigma(T, B) = 1/\rho(T, B)$, with applied field B , and $\sigma_R = 1/\rho_R$ is the regular term extrapolated from the high-temperature behavior, as shown for several samples in figure 1. Notice that the feature of the normal resistivity as a function of temperature is approximately linear, which permits to perform an easy linear extrapolation to determine ρ_R . According to the Aslamazov-Larkin proposal, the fluctuation magnetoconductivity diverges as a power law of the type

$$\Delta\sigma(T, B) = A\varepsilon^{-\lambda}, \quad (4.2)$$

where A is a constant, $\varepsilon = \frac{T - T_c(B)}{T_c(B)}$ is the field-dependent reduced temperature and λ is the critical exponent.

Analogously to the Kouvel-Fisher method of analysis of critical phenomena (**Roa-Rojas, Pureur, Orlando, Baggio-Saitovitch, 2000**), the logarithmic temperature derivative of $\Delta\sigma$ is given by $\frac{d}{dT} \ln(\Delta\sigma)$. Then, is defined the inverse of the logarithmic temperature derivative as the quantity

$$\chi_\sigma = -\frac{d}{dT} \ln(\Delta\sigma) = \frac{1}{\Delta\sigma} \frac{d(\Delta\sigma)}{dT}. \quad (4.3)$$

By substituting equation (4.2) in equation (4.3) it is obtained that

$$\frac{1}{\chi_\sigma} = \frac{1}{\lambda} [T - T_c(B)]. \quad (4.4)$$

Thus, obviating more complex procedures of adjustment, simple identification of linear temperature behavior in plots of $\frac{1}{\chi_\sigma}$ vs T allows simultaneous determination of critical temperature T_c of fluctuation regime and the corresponding critical exponent, λ . At $T < T_c$ by using the same analysis method, we denote the critical exponents related with the paracoherent-coherent transition as λ_p .

The main source of uncertainty in the data analysis comes from the extrapolation procedure to estimate σ_R near T_c and from the numerical procedure to determination of the temperature derivative of conductivity excess

$$\frac{d(\Delta\sigma)}{dT} = -\frac{1}{\rho^2} \frac{d\rho}{dT} + \frac{1}{\rho_R^2} \frac{d\rho_R}{dT} \quad (4.5)$$

and the logarithmic derivative of Ds

$$\chi_\sigma = \left(\frac{1}{\rho^2} \frac{d\rho}{dT} - \frac{1}{\rho_R^2} \frac{d\rho_R}{dT} \right) \left/ \left(\frac{1}{\rho} - \frac{1}{\rho_R} \right) \right. \quad (4.6)$$

Errors introduced by the numerical calculation of equation (4.5) and (4.6) are partially compensated because the term involving ρ_R is small compared to the term containing the total resistivity $\rho(T, B)$ near T_c . Figure 2 exemplifies the graphic analysis method by means of adjust of equation (4.4) for the Hg(Re)-1223 sample. Picture (2a) shows the resistive transition $\rho(T, B = 0)$, (2b) exhibits the temperature derivative $\frac{d\rho(T, B=0)}{dT}$ and (2c) presents the corresponding logarithmic derivative of the conductivity excess $\frac{1}{\chi_c(T, B=0)}$ as a function of temperature. In (2c) it is possible to determine the critical exponents and the respective critical temperatures of the fluctuation regimes, by means of successive straight lines which can be fitted to limited but reproducible temperature ranges corresponding to these regimes.

By utilizing the temperature derivative of resistivity as a function of the temperature, the bulk critical temperature T_p for the examined samples were obtained by assuming that the temperature position T_p of the sharp maximum in $\frac{d\rho}{dT}$ corresponds approximately to the bulk critical temperature. As a results of resistivity measurements, width of the superconducting transition was $\Delta T_c = T_p - T_{c0} = 4.2 K$, with $T_p = 133.2 K$ and $T_{c0} = 129.0 K$.

4.2 Magnetoconductivity Fluctuations at $T > T_c$

In the normal state, at temperatures sufficiently far away from T_c , effects of Gaussian fluctuations predominate in the electrical conductivity, as exemplified in figure 3. From the analysis of experimental data, four regimes of power law dominate by Gaussian fluctuations were identified through the exponents λ_{G3} , λ_{G2} , λ_{G2-G1} and λ_{G1} , as showed in table 4.1. Meanwhile, note that λ_{G3} was observed only for $H < 0.5 kOe$.

The analysis of results was performed based on the Azlamazov-Larkin theory (1968) for fluctuations in the electrical conductivity. According with this theory the exponents are given by

$$\lambda = 2 - \frac{d}{2}, \quad (4.7)$$

where d is the dimension of the fluctuation space. Then, this region identified by $\lambda_{G3} = 0.53(\pm 0.02)$ corresponds to a homogeneous 3D Gaussian regime. With increasing temperature, the exponent $\lambda_{G2} = 1.02(\pm 0.04)$ corresponds to a dimensionality $d=2$ and, therefore, to 2D homogeneous regime. The farthest region from T_c , identified by $\lambda_{G1} = 1.52(\pm 0.04)$, corresponds to a 1D filamentar homogeneous regime. The intermediate region between 2D and 1D, defined by $\lambda_{G2-G1} = 1.32(\pm 0.04)$, corresponds to a inhomogeneous fluctuational regime with spectral dimension given by the Char-Kapitulnik model as $\tilde{d} = 1.35$. This dimensionality is very close to fractal dimensiono f the site-percolation problem $\tilde{d} = 4/3$ (Char, K. & Kapitulnik, A., 1988).

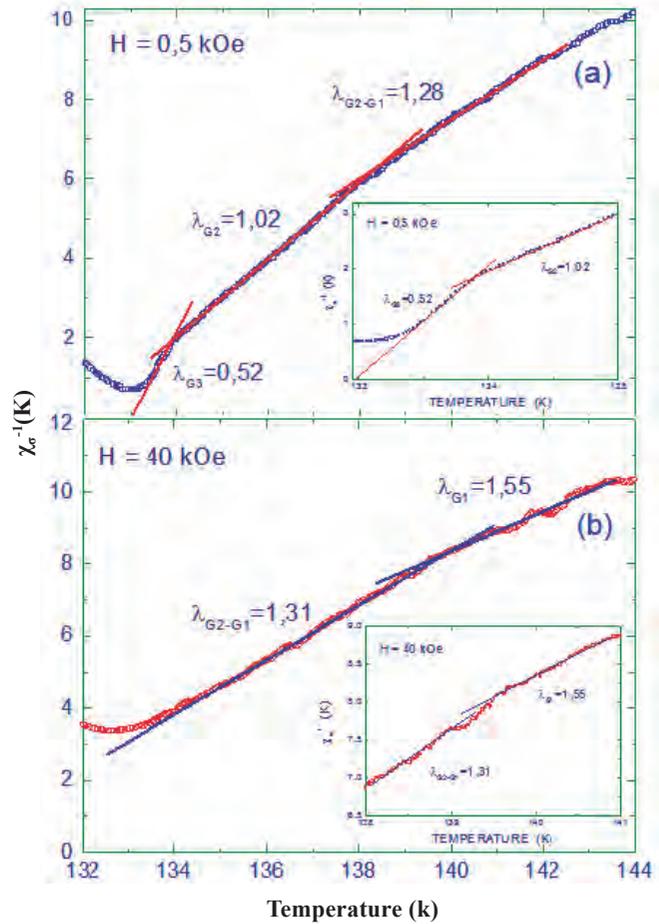


Figure 3. Gaussian fluctuation regimes identified for the Hg(Re)-1223 sample.

Table 4.1: Gaussian exponents for the Hg(Re)-1223 sample. Values of T_p correspond to the maximum in $d\rho/dT$.

H (kOe)	T_p (K)	Gaussian Exponents			
		λ_{G3}	λ_{G2}	λ_{G2-G1}	λ_{G1}
		$133.7 < T < 134.1$	$134.1 < T < 134.8$	$134.8 < T < 142.2$	$138.5 < T < 146.1$
		$0.0044 < \epsilon < 0.007$	$0.010 < \epsilon < 0.016$	$0.015 < \epsilon < 0.073$	$0.05 < \epsilon < 0.10$
0	133.13	0.54 ± 0.03	1.06 ± 0.03		
0.5	133.07	0.52 ± 0.02	1.02 ± 0.03	1.28 ± 0.04	
2.5	132.97		0.98 ± 0.04	1.35 ± 0.04	1.46 ± 0.04
10	132.73		1.09 ± 0.02	1.33 ± 0.02	1.51 ± 0.05
20	132.59		0.94 ± 0.05	1.34 ± 0.03	1.52 ± 0.03
40	132.32			1.31 ± 0.04	1.55 ± 0.04
50	132.27			1.30 ± 0.04	1.58 ± 0.05
Average		0.53 ± 0.02	1.02 ± 0.04	1.32 ± 0.04	1.52 ± 0.04

It is possible to estimate the correlation length of the Gaussian regimes by considering that these regimes vary as in the Ginzburg-Landau theory, according to $\xi(T) = \xi(0)e^{-1/2}$. Using the coherence amplitude $\xi(0)$, typical of the Hg-based

superconductors in the orientation parallel and perpendicular to the Cu-O planes, $\xi_{ab}(0) \approx 20 \text{ \AA}$ and $\xi_c(0) \approx 1 \text{ \AA}$, respectively, the correlation lengths for the Gaussian regimes $\xi_{ab}(T)$ and $\xi_c(T)$ can be estimate (Shen, Lam & Li, 1998).

For the 1D regime, the correlation length fall in the interval $63 \text{ \AA} < \xi_{ab}(T) < 72 \text{ \AA}$ in the Cu-O planes and $3.2 \text{ \AA} < \xi_c(T) < 3.6 \text{ \AA}$ in the c -axis. The result along the c -axis is much less than the spacing between inner layers of Cu-O in the material structure, as shown in Figure 4 (Chmaissen, Huang, Antipov, ... Santoro, 1993). The non-homogeneous quase-filamentar regime evidences correlation length $74 \text{ \AA} < \xi_{ab}(T) < 162 \text{ \AA}$ and $3.7 \text{ \AA} < \xi_c(T) < 8.2 \text{ \AA}$ for the Cu-O

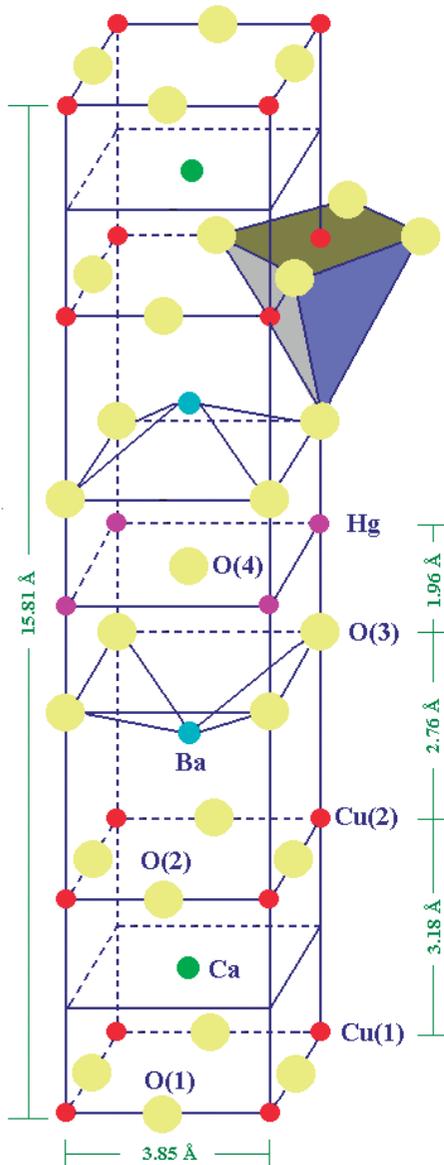


Figure 4. Crystalline structure of the Hg-1223 obtained from X-ray diffraction experiments (Chmaissen, et al, 1993).

planes and in the c -axis respectively. The value in the c -axis orientation suggests that the fluctuations are restricted to the double Cu-O planes structure. The fractality is due to the fact that the superconducting coherence length is less than the percolation correlation length, which is a consequence of disorder in the material.

For the 2D homogeneous regime, we obtained $158 \text{ \AA} < \xi_{ab}(T) < 210 \text{ \AA}$ and $8.2 \text{ \AA} < \xi_c(T) < 10.1 \text{ \AA}$ in the Cu-O planes and the c -axis respectively. The result for the c -axis reveals that the superconductivity is still restricted to the double Cu-O planes of the structure.

At last, for the 3D homogeneous regime, the values of the coherence length are $239 \text{ \AA} < \xi_{ab}(T) < 301 \text{ \AA}$ and $11.9 \text{ \AA} < \xi_c(T) < 15.7 \text{ \AA}$, which indicate that the superconductivity reaches 3D-dimensional long range order.

Very close to T_c a genuine critical regime was observed. This behavior was experimentally determined only for applied magnetic fields below 0.5 kO , which is a characteristics of the RBaCuO high temperature superconductors (Fabris, Roa-Rojas & Pureur, 2001).

The critical exponent $\lambda_{CR} = 0.32 \pm 0.01$, determined from the linear fitting in the inverse of logarithmic derivative of the conductivity excess is shown in figure 5. This exponent is explained by the 3D-XY model, according to the equation

$$\lambda = \nu(2 + z - d + \eta), \tag{4.8}$$

where $\nu = 2/3$, $\eta \approx 0$, $z = 3/2$ and $d = 3$, and the complex order parameter has two components, which is compatible with symmetry s -pure or d -pure of the order parameters.

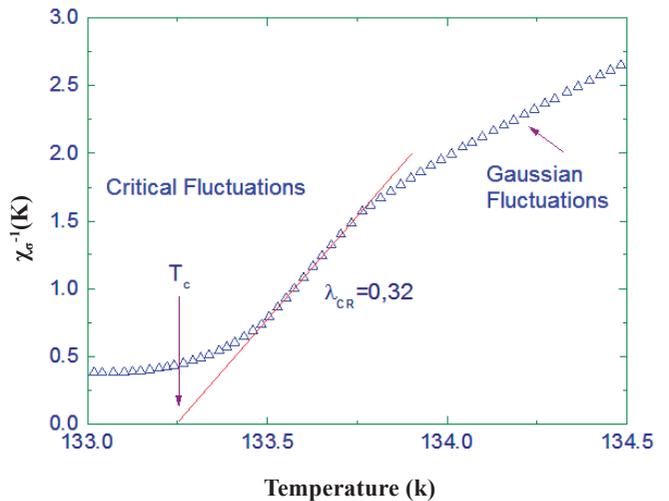


Figure 5. Genuine critical 3D-XY regime observed in the Hg(Re)-1223 sample on the application of low magnetic fields.

A dynamical exponent $z=2$ is expected (Fisher, et al, 1991), which is characteristics of the dissipative dynamics described by the model-A of Hohenberg and Halperin (1977). However, experimental results (Roa-Rojas, Jurelo, Menegotto Costa, et al, 2000) and theoretical calculations (Lidmar, Wallin, Wengel, Girvin, Young, 1998) reveal that $z=d/2=3/2$, as in the model-E of Hohenberg and Halperin, which is the dynamical universality class for the superfluid transition in ^4He and also for extreme type II superconductors in absence of screening (Lidmar, et al, 1998).

4.3 Magnetoconductivity Behavior at $T < T_c$

4.4 Hall Response at $T < T_c$

As reported for $\text{Bi}_2\text{Ba}_2\text{CaCu}_2\text{O}_y$ (Zavaritsky, Samoilov & Yurgens, 1991) and $\text{Tl}_2\text{Ba}_2\text{CaCu}_2\text{O}_y$ (Hagen, Lobb, Greene & Eddy, 1991), the Hall resistivity ρ_{xy} evidenced a double signal change at temperatures below T_c for applied fields up to $H \leq 20 \text{ kOe}$, as showed in figure 6.

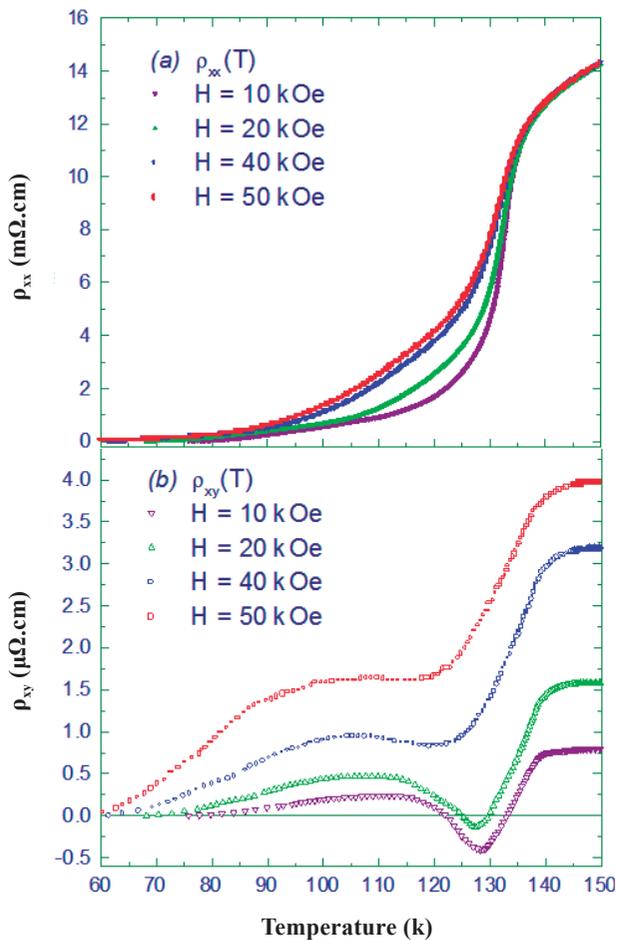


Figure 6: Behavior of the resistivity (a) diagonal ρ_{xx} and (b) Hall ρ_{xy} on the application of magnetic fields $H = 10, 20, 40 \text{ e } 50 \text{ kOe}$.

On the application of high magnetic fields (above $H \leq 20 \text{ kOe}$), Hall response is positive but the qualitative tendency of the curve remains as in low magnetic fields.

As showed in figure 7, close to the zero resistance state, $T_{c0}(H)$, was observed a power law of the type

$$|\rho_{xy}(T)| \propto [T - T_{c0}(H)]^\beta. \quad (4.9)$$

The characteristic exponent determined by the scaling of figure 7 was $\beta = 1.41 \pm 0.01$, which is lower that other reported for $\text{DyBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7-\delta}$ (Fabris, et al, 2001). Low values of β are attributed to the occurrence of pinning vortex effects introduced by the planar anisotropy of this superconducting material and for granular disorder effects (Wang, et al, 1994).

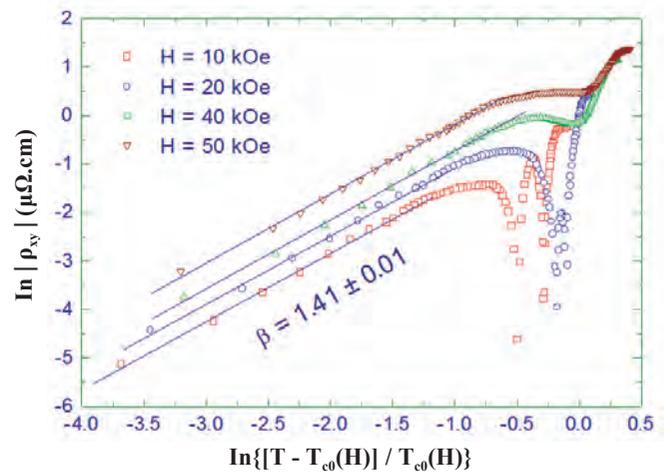


Figure 7: Scaling of the Hall resistivity at low temperatures with the equation 4.9.

4.5 Hall response at $T > T_c$

In the normal state, Hall resistivity ρ_{xy} varies inversely with temperature, in agreement with the figure 8. Between 170 K and 260 K , ρ_{xy} follows the behavior given by

$$\rho_{xy}^N(T, H) = \frac{\mu_0 H}{0,0084 T + 0,05}, \quad (4.10)$$

where ρ_{xy} is given in $\mu\Omega.cm$, H in *Tesla* and T in *Kelvin*.

The inverse of the Hall coefficient, $1/R_H$, is given by the denominator of equation 4.10. Then, the carrier density can be schematized as showed in figure 9. The feature if carrier density in the normal state varies with temperature according to the equation

$$n_H^N = 0,62 T + 3,61, \quad (4.11)$$

In units of $10^{20} \text{ carriers/cm}^3$. In figure 9 the carrier density is presented per volume of the unit cell as a function of temperature.

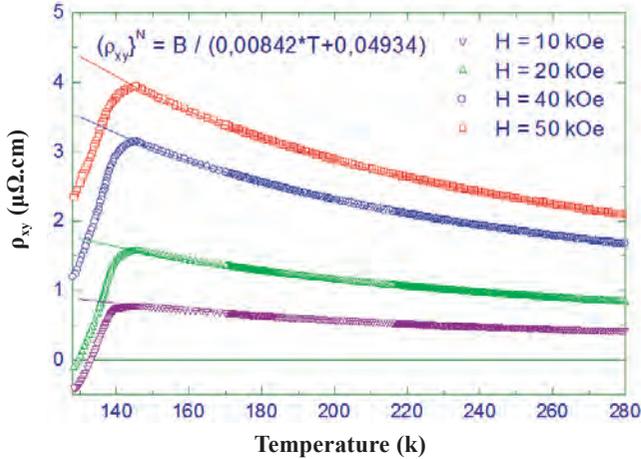


Figure 8: Normal behavior of the Hall response for Hg(Re)-1223 sample.

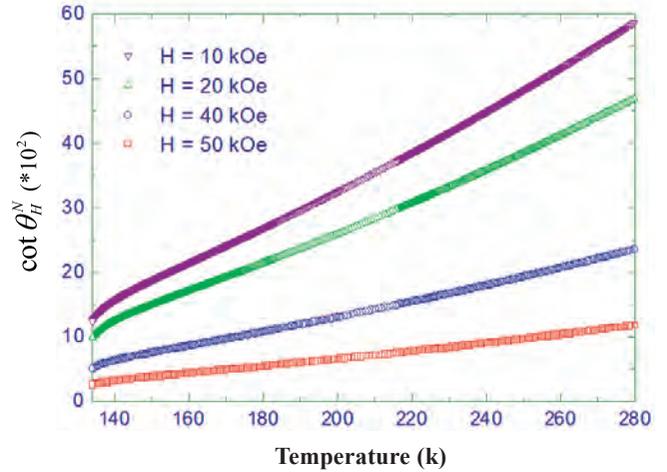


Figure 10: Hall angle for Hg(Re)-1223 superconductor.

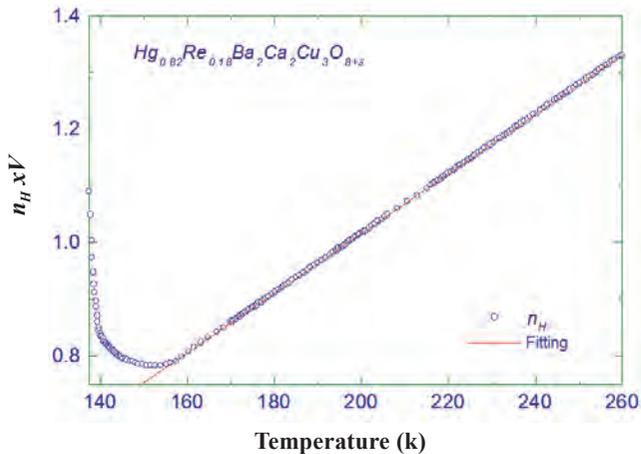


Figure 9: Carrier density in the normal state for Hg(Re)-1223 material.

The Hall angle, defined as the ratio of the diagonal resistive response and the Hall resistivity (magnetoconductivity), $\cot \theta_H^N = \frac{\rho_{xx}^N}{\rho_{xy}^N}$, presents a quadratic behavior with temperature, as showed in figure 10. This behavior is a universal-like behavior of the normal Hall response in high temperature superconductors (Roa-Rojas, Pureur, Mendonça-Ferreira, Orlando, Baggio-Saitovitch, 2001), according with the Anderson’s formula of equation 4.12 (Anderson P. W., 1991)

$$\text{Cot} \theta_H = \alpha T^2 + \beta. \tag{4.12}$$

5 Conclusions

In this paper we report fluctuation magnetoconductivity analysis and Hall response in polycrystalline samples of $\text{Hg}_{1-x}\text{Re}_x\text{Ba}_2\text{CaCu}_3\text{O}_{8+\delta}$ ($x=0.18$) high temperature superconductor. Through the Kouvel-Fisher method, a genuinely critical

regime of fluctuations characterized by the critical exponent $\lambda_c = 0.32 \pm 0.01$ was identified close to the critical temperature T_c on the application of low magnetic fields. We have interpreted this result on the full dynamic 3D-XY universality class predicted by the model E with a dynamic critical exponent $z = 3/2$. When the external magnetic fields $H \approx 0.1$ kOe, this regime becomes unstable. Above the critical temperature T_c , four Gaussian regimes identified by the exponents λ_{G3} , λ_{G2} , λ_{G2-G1} and λ_{G1} were associated to fluctuations occurring in spaces with geometry 3D (in the Cu-O planes), 2D (when the correlation between the Cu-O planes is weak), 2D-1D (determined by a fluctuation spectrum developing in a space with fractal topology) and 1D (corresponding to the confinement of the quasi-particles into the Lowest-Landau-Level due to the quantization of the electronic states around the axe of application of the external field). Measurements of magnetoresistance reveal the anomalous Hall response of this material. In the normal phase, the Hall resistivity is positive and varies as predicted by the Anderson’s formula. In the mixed phase and for applied fields below 2 T, the Hall resistivity shows a double sign reversal. On the application of applied fields above 2 T, the Hall resistivity returns to the positive behavior. This behavior is interpreted as due to two independent contributions: a negative term due to thermal fluctuations which is relevant close T_c and a positive contribution related to vortex motion which is dominant close to the zero resistance state. Below the bulk critical temperature, the Hall resistivity ρ_{xy} varies as a power law of the longitudinal resistivity ρ_{xx} . The characteristic exponent independent of the applied magnetic field was $\beta = 1.4$. This low value of the β is attributed to vortex pinning effects introduced by the granular disorder effects which are reinforced by the planar anisotropy typical of these high temperature superconductors.

Acknowledgements

This work was partially supported by Division of Investigations of the National University of Colombia (Hermes Code 18961) and “El Patrimonio Autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco, José de Caldas” Contract RC-No. 0850-2012.

References

- Abrikosov, A.A.** (1988). *Fundamentals of the theory of metals*. Groningen: North-Holland, p. 120-135.
- Alexander, S. and Orbach, R.** (1982). *Density of states on fractals: “fractons”*. Journal Physique Letters **43**, L625.
- Alexander, S., Laermans, C., Orbach, R. and Rosenberg, H.M.** (1983). *Fracton interpretation of vibrational properties of cross-linked polymers, glasses, and irradiated quartz*. Physical Review B **28**, 4615.
- Ambegaokar, V., Halperin, B.I., Nelson, D.R. and Siggia, E.D.** (1980). *Dynamics of superfluid films*. Physical Review B **21**, 1806
- Anderson P. W.** (1991). *Comment on “Anomalous spectral weight transfer at the superconducting transition of $Bi_2Sr_2CaCu_2O_{8+\delta}$ ”*. Physical Review Letters **67**, 660.
- Anderson, P. W. and Kim, Y. B.** (1964). *Hard superconductivity: theory of the motion of Abrikosov flux line*, Rev. Mod. Phys. **36**, 39.
- Artemenko, S.N., Gorlova, I.G. and Latyshev, Y.I.** (1989). *Change in the sign of the Hall effect in a superconducting transition in $Bi_2Sr_2CaCu_2O_x$ single crystals*. JETP Letters **49**, 403.
- Artemenko, S.N., Gorlova, I.G. and Latyshev, Y.I.** (1989). *Vortex motion and kosterlitz-thouless transition in superconducting single crystals $Bi_2Sr_2CaCu_2O_x$* . Physics Letters A **138**, 428.
- Aslamazov, L.G. and Larkin, A.I.** (1968). *Effect of Fluctuations on the Properties of a Superconductor Above the Critical Temperature*. Soviet Physics Solid State **10** (4), 875-880.
- Bardeen, J. and Stephen, M.J.** (1965). *Theory of the Motion of Vortices in Superconductors*. Physical Review **140**, 1197.
- Bergmann, G.** (1969). *Landau level superconducting fluctuations of type-II superconductors in a high magnetic field*, Z. Phys. B **255**, 430.
- Char, K. and Kapitulnik, A.** (1988). *Fluctuation conductivity in inhomogeneous superconductors*. Z. Phys. B **72**, 253.
- Chmaissen, O., Huang, Q., Antipov, E.V., Putilin, S.N., Marezio, M., Loureiro, S.M., Capponi, J.J., Tholence, J.L. and Santoro, A.** (1993). *Neutron powder diffraction study at room temperature and at 10K of the crystal structure of the 133K superconductor $HgBa_2Ca_2Cu_3O_{8+\delta}$* . Physica C, **217**, 265.
- Di Castro, C., Castellani, C., Raimondi, N. and Varlamov, A.** (1990). *Superconductive fluctuations in the density of states and tunneling resistance in high-Tc superconductors*. Physical Review B **42**, 10211.
- Ebner, C. and Stroud, D.** (1985). *Diamagnetic susceptibility of superconducting clusters: Spin-glass behavior*. Physical Review B **31**, 165.
- Fabris, F.W., Roa-Rojas, J. and Pureur, P.** (2001). *Magnetotransport properties and the irreversibility line in ceramic $DyBa_2Cu_3O_{7-\delta}$* . Physica C **354**, 304–308.
- Feigel'man, M.V., Geshkenbein, V.B., Larkin, A.I. and Vinokur, V.M.** (1995). *Sign change of the flux-flow Hall effect in HTSC*. JETP Letters **62**, 834-840.
- Fisher, D.S., Fisher, M.P.A. and Huse, D.A.** (1991). *Thermal fluctuations, quenched disorder, phase transitions, and transport in type-II superconductors*. Physical Review B **43**, 130.
- Freimuth, A., Hohn, C. and Galffy, M.** (1991). *Sign change of the flux-flow Hall resistance in high-Tc superconductors*. Physical Review B **44**, 10396.
- Friederich, A.** (1976). Thesis Université de Paris-Sud, Centre d'Orday
- Galffy, M. and Zirngiebl, E.** (1988). *Hall-effect of bulk $YBa_2Cu_3O_{7-\delta}$* . Solid State Communications. **68**, 929-933.
- Gerber, A., Grenet, T., Cyrot, M. and Beille, J.** (1990). *Double-peak superconducting transition in granular L-M-Cu-O (L=Pr,Nd,Sm,Eu,D; M=Ce,Th) superconductors*. Physical Review Letters **65**, 3201.
- Gor'kov, L.P.** (1958). *On the energy spectrum of superconductors*. Soviet Physics JETP **7**, 505 – 508.
- Gor'kov, L.P.** (1959). *Microscopic derivation of the ginzburg-landau equations in the theory of superconductivity*, Soviet Physics JETP **9**, 1364 – 1367.
- Gor'kov, L.P.** (1960). *Theory of superconducting alloys in a strong magnetic field near the critical temperature*. Soviet Physics JETP **10**, 998.
- Hagen, S. J., Smith, A. W., Rajeswari, M., Peng, J. L., Li, Z. Y., Greene, R. L., Mao, S. N., Xi, X. X., Bhattacharya, S., Qi Li, and Lobb, C. J.** (1993). *Anomalous flux-flow Hall effect: $Nd_{1.85}Ce_{0.15}CuO_{4-y}$ and evidence for vortex dynamics*. Physical Review B **47**, 1064.
- Hagen, S.J., Lobb, C.J., Greene, R.L. and Eddy, M.** (1991). *Flux-flow Hall effect in superconducting $Tl_2Ba_2CaCu_2O_8$ films*. Physical Review B **43**, 6246.
- Hohenberg, P.C. and Halperin, B.I.** (1977). *Theory of dynamic critical phenomena*. Rev. Mod. Phys. **49**, 435.
- Houghton, A., Pelkovits, R.A. and Sudbf, A.** (1989). *Flux lattice melting in high- T_c superconductors* Physical Review B **40**, 6763.
- Ikeda, R., Ohmi, T., Tsuneto, T.** (1989). *Renormalized fluctuation theory of resistive transition in high-temperature superconductors under magnetic field*. Journal of the Physical Society of Japan. **58**, 1377 – 1386.

- Jurelo, A.R., Castillo, I.A., Roa-Rojas, J., Ferreira, L.M., Ghivelder, L., Pureur, P., Rodrigues Jr., P. (1999). *Coherence transition in granular high temperature superconductors*. Physica C **311**, 133.
- KIM, D. H. and Trochet, M. D. (1992). *Scaling behavior of fluctuation conductivity of high-temperature superconductors in a magnetic field*, Physical Review B **45**, 10801.
- Koch, R.H., Foglietti, V. and Fisher, M.P.A. (1990). *Experimental evidence for vortex-glass superconductivity in YBa-Cu- O*. Physical Review Letters **64**, 2586.
- Koch, R.H., Foglietti, V. and Gallagher, W.J. (1989). *Experimental evidence for vortex-glass superconductivity in Y-Ba-Cu-O*. Physical Review Letters **63**, 1511.
- Lang, W., Heine, G., Schwab, P., Wang X. Z. and Bäuerle, D. (1994). *Paraconductivity and excess Hall effect in epitaxial YBa₂Cu₃O₇ films induced by superconducting fluctuations*. Physical Review B **49**, 4209.
- Lawrence, W.E. and Doniach, S. (1971). *KANDO, E. (Ed.) Proceedings of 12th International Conference on Low Temperature Physics. Kyoto: Academic Press of Japan, 1971. p. 361-362*
- Lidmar, J., Wallin, M., Wengel, C., Girvin, S.M., Young, A.P. (1998). *Critical exponents from field theory*. Physical Review B **21**, 3976.
- Liu, W., Clinton, T.W., Smith, A.W. and Lobb, C.J. (1997). *Hall-conductivity sign reversal and fluctuations in YBa₂Cu₃O_{7-δ} films*. Physical Review B **55**, 11802.
- Lobb, C.J. (1987). *Critical fluctuations in high-T_c superconductors*. Physical Review B **36**, 3930.
- Maki, K. and Thompson, R.S. (1989). *Fluctuation conductivity of high-T_c superconductors*. Physical Review B **39**, 2767.
- Matsushita, T. (1993). *On the origin of the irreversibility line in superconductors Depinning or melting of fluxoids*. Physica C **214**, 100.
- Morgenstern, I., Müller, K. A. and Bednorz, J. G. (1988). *Glass behavior of high-T_c superconductors*. Physica C **153/155**, 59 – 62.
- Pureur, P., Costa, R. M., Rodrigues Jr., P., Kunzler, J. V., Schaf, J., Ghivelder, L., Campá, J. A. and Rasines, I. (1994). *Critical and Gaussian conductivity fluctuations in YBa₂Cu₃O_{7-δ} and Bi₂Sr₂CaCu₂O₈*. Physica C **235/240**, 1939-1940.
- Pureur, P., Menegotto Costa, R., Rodrigues, Jr., P., Schaf, J. and J. V. Kunzler, (1993). *Critical and Gaussian conductivity fluctuations in YBa₂Cu₃O_{7-δ}*. Physical Review B **47**, 11420.
- Rice, J.P., Rigakis, N., Ginsberg, D.M. and Mochel, J.M. (1992). *Sign reversal of the Hall effect below T_c in untwinned single-crystal YBa₂Cu₃O_{7-δ}*. Physical Review B **46**, 11050.
- Roa-Rojas, J. (2002). *Evidence of two-dimensional gauge-glass behavior near the coherence transition of DyBa₂Cu₃O_{7-δ} ultra-thin films*. Modern Physics Letters B **16** 1061.
- Roa-Rojas, J., Jurelo, A.R., Menegotto Costa, R., Mendonça Ferreira, L., Pureur, P., Orlando, M.T.D., Prieto, P., Nieva, G., (2000). *Fluctuation conductivity and the dynamical universality class of the superconducting transition in the high-T_c cuprates*. Physica C. **341-348**, 1911 – 1912.
- Roa-Rojas, J., Menegotto Costa, R., Pureur, P. and Prieto, P. (2000). *Pairing transition, coherence transition, and the irreversibility line in granular GdBa₂Cu₃O_{7-δ}*. Physical Review B **61**, 12457
- Roa-Rojas, J., Pureur, P., Mendonça-Ferreira, L., Orlando, M.T.D., Baggio-Saitovitch, E., (2001). *Hall effect and longitudinal conductivity in a Hg_{0.82}Re_{0.18}Ba₂Ca₂Cu₃O_{8+δ} superconductor*. Superconductor Science and Technology. **14**, 898.
- Roa-Rojas, J., Pureur, P., Orlando, M.T.D., Baggio-Saitovitch, E. (2000). *Hall effect in a Hg(Re)-1223 superconductor*. Physica C **341-348**, 1043.
- Rodrigues Jr., P., Schaf, J. and Pureur, P. (1994). *Field and oxygen dependence of the magnetic irreversibility line in YBa₂Cu₃O_{7-δ}*. Physical Review B **49**, 15292.
- Rosenblatt, J., Raboutou, A., Peyral, P. and Lebeau, C. (1990). *Intragranular and intergranular transitions in Y-Ba-Cu-O ceramics*. Rev. Physique Appl. **25**, 73.
- Salamon, M. B., Shi, J., Oyerend, N. and Howson, M. A. (1993). *XY-like critical behavior of the thermodynamic and transport properties of YBa₂Cu₃O_{7-x} in magnetic fields near T_c*. Physical Review B **47**, 5520.
- Shen L.J., Lam C.C., Li J.Q. (1998). *Thermodynamic fluctuation under high pressure in Hg-1223 superconductors*. Superconducting Science and Technology **11**, 1277.
- Sin, A., Cunha, A.G., Calleja, A., Orlando, M.T.D, Emmerich, F.G., Baggio-Saitovitch, E., Segarra, M., Piñol, S. and Obradors, X. (1999). *Influence of precursor oxygen stoichiometry on the formation of Hg, Re-1223 superconductors*. Superconductor Science and Technology **12**, 120.
- Sin, A., Cunha, A.G., Calleja, A., Orlando, M.T.D, Emmerich, F.G., Baggio-Saitovitch, E., Segarra, M., Piñol, S. and Obradors, X. (1998). *Pressure-Controlled Synthesis of the Hg_{0.82}Re_{0.18}Ba₂Ca₂Cu_{8+δ} Superconductor*, Advanced Materials **10**, 1126.
- Stanley, H.E., (1971). *Introduction to phase transitions and critical phenomena*. Oxford: Clarendon Press, p.p. 180.
- Tinkham, M. (1975). *Introduction to superconductivity*. Florida: Krieger, p.p. 230-257.
- Usui, M., Ogaswara, T., Yasukochi, K., Tomoda, S. (1969). *Magnetization, Flux Flow Resistance and Hall Effect in Superconducting Vanadium*. Journal of the Physical Society of Japan **27**, 574.
- Varlamov, A.A. and Ausloos, M. (1996). *Nato advanced research workshop on fluctuation phenomena in high critical*

temperature superconducting ceramics, Trieste. Edited by Ausloos, M. and Varlamov, A.A. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, (1997). p.p. 3-41.

Wang, Z.D., Dong, J. and Ting, C.S. (1994). *Unified theory of mixed state Hall effect in type-II superconductors: Scaling behavior and sign reversal*. Physical Review Letters **72**, 3875.

Yeshurun, Y. and Malozemoff, A.P. (1988). *Giant Flux Creep and Irreversibility in an Y-Ba-Cu-O Crystal: An Alternative to the Superconducting-Glass Model*. Physical Review Letters **60**, 2202.

Zavaritsky, N.V., Samoilov, A.V. and Yurgens, A.A. (1991). *Transport coefficients and flux motion in $Bi_2Sr_2CaCu_2O_x$ single crystals*. Physica C **180**, 417.

Aceleradores para Colombia

Bernardo Gómez Moreno

Profesor Emérito, Grupo de Física de Altas Energías, Departamento de Física, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Gómez Moreno, B.: Aceleradores de Partículas para Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 38 (Supl.): 71-88, 2014. ISSN 0370-3908.

Resumen

Se presentan los fundamentos y desarrollo histórico de los aceleradores de partículas, detallando en el sincrotrón, en el principio de estabilidad de fase, principio de sincrotrón. Se introducen los anillos de almacenamiento, acumuladores como sincrotrones de campo magnético constante. Para sincrotrones de electrones, se presenta la radiación de sincrotrón y el aprovechamiento de esta radiación con los onduladores como fuentes de rayos-X. Se destacan las propiedades de la radiación de onduladores para aplicaciones en ciencias, tecnologías e industria. Esto motiva para presentar una propuesta de un centro de radiación de sincrotrón para Colombia, con sincrotrón de electrones en modo de anillo de almacenamiento y onduladores como emisores de rayos-X, con múltiples aplicaciones para investigación, desarrollo e innovación en ciencia, tecnología e industria.

Palabras clave: Aceleradores de partículas, sincrotrones, radiación de sincrotrón, onduladores.

Particle accelerators for colombia

Abstract

The foundations and historical development of particle accelerators are presented in this article, detailing on the synchrotron, the principle of phase stability, synchrotron principle. Storage rings, synchrotrons at constant magnetic field, are introduced. For the electron synchrotron, synchrotron radiation is presented and how to exploit it with the use of undulators as X-ray sources. Radiation properties of undulators are highlighted for applications in science and industry. This motivates to present a proposal for a synchrotron radiation center for Colombia with an electron synchrotron operating as storage ring and undulators as X-ray emitters, for multiple applications for research, development and innovation in science, technology and industry.

Key words: Particle accelerators, synchrotrons, synchrotron radiation, undulators.

1. Introducción

En el mundo de los aceleradores de partículas de hoy existen aproximadamente unos 15000 aceleradores. De ellos la gran mayoría son instalaciones comerciales que se encuentran en hospitales y están dedicadas exclusivamente a la medicina nuclear, para diagnóstico, terapia y para la producción de isótopos radioactivos de múltiples aplicaciones en la medicina. Hay también aceleradores de aplicación en la industria en los países desarrollados y, claro está, también los institutos de investigación y laboratorios en las diversas ciencias naturales cuentan con sus propios aceleradores, principalmente en la física nuclear y en la física de altas energías, donde se destacan las mayores instalaciones del mundo como el Laboratorio CERN¹ en Ginebra, Suiza.

¹ CERN: Organización Europea para la Investigación Nuclear, Ginebra, Suiza. <http://home.web.cern.ch/>

En ese mundo de los aceleradores de partículas Latinoamérica cuenta con instalaciones de aceleradores en los hospitales para la medicina, principalmente con aceleradores lineales de electrones que generan rayos de fotones para radioterapia. Pero en la investigación Latinoamérica está muy modestamente representada en el mundo de los aceleradores, apenas con el Laboratorio de Campinas en Brasil, con la “Fuente de Luz Sincrotrón”² y en Argentina, en Buenos Aires con el “Tandar”³, (instalación mediana de Tandem Van de Graaff actualizado a Pelletron).

Con excepción de Brasil, Latinoamérica está en mora de entrar en los desarrollos más modernos del mundo de los aceleradores de partículas.

² LNLS: Laboratorio Nacional de Luz Sincrotrón, Campinas, SP, Brasil. <http://lnls.cnpem.br/>

³ TANDAR: Laboratorio TANDAR, Buenos Aires, Argentina. <http://www.tandar.cnea.gov.ar/>

2. Aceleradores de Partículas

Aceleradores de partículas son máquinas que aceleran partículas cargadas eléctricamente mediante campos eléctricos para aumentar su energía, lo que se manifiesta inicialmente a energías no relativistas como un aumento de la rapidez de las partículas (aceleración) y luego acercándose a la velocidad de la luz, en el rango relativista, como un aumento de la masa γm_0 de acuerdo con la relación

$$E = mc^2 = \gamma m_0 c^2 \quad (1)$$

donde m_0 es la masa en reposo de la partícula y

$$\gamma = \frac{1}{\sqrt{1-\beta^2}}, \quad \beta = \frac{v}{c}, \quad (2)$$

siendo v la velocidad de la partícula.

La energía que reciben las partículas proviene de campos eléctricos. Se utilizan también campos magnéticos, pero no para aumentar la energía de las partículas, sino para guiarlas en trayectorias curvadas, incluso cerradas en aceleradores en anillo, y para enfocar los rayos de partículas mediante lentes magnéticas, cuadrupolos magnéticos principalmente. Dado que la fuerza magnética es perpendicular a la velocidad, el campo magnético puede cambiar la dirección de movimiento de la partícula pero no puede enriquecer energéticamente a la partícula: La potencia suministrada del campo magnético a la partícula es siempre cero: $\vec{F}_{magn} \cdot \vec{v} = 0$.

Se aceleran principalmente protones(+) y electrones(-) y su antimateria, sus antipartículas, antiprotones(-) y positrones(+). Todas estas son partículas estables. Hasta el presente todos los aceleradores en funcionamiento en el mundo se restringen solo a acelerar partículas estables. Excepcionalmente para el caso de muones, inestables que con vida media de 2.2 microsegundos decaen en electrones y antineutrinos, está en desarrollo un primer acelerador⁴, motivado por la necesidad de superar el efecto de radiación de sincrotrón en aceleradores de electrones en anillo, que limita la energía alcanzable por pérdidas por radiación, efecto despreciable para muones por su mayor masa, 200 veces mayor que la de electrones.

Se aceleran también iones pesados, esto es núcleos atómicos más allá del hidrógeno simple, desde el deuterio (hidrógeno pesado) hasta el plomo, tanto para estudios de la estructura fundamental de la materia, por ejemplo colisiones plomo

contra plomo para el estudio del plasma de quarks y gluones⁵, como para aplicaciones en la medicina, por ejemplo terapia hadrónica⁶ contra el cáncer con rayos de ^{12}C .

Siendo los protones notoriamente más pesados que los electrones

$$m_{protón} \approx 1830 \cdot m_{electrón},$$

se diferencian los aceleradores de protones notoriamente de los aceleradores de electrones, por presentar los electrones muy rápidamente efectos relativistas, como el aumento relativista de la masa, la igualdad (aproximada) de velocidades muy cercanas a la velocidad de la luz, la radiación de sincrotrón, entre otros. Pero también desde el punto de vista de la estructura de la materia hay diferencias notables, por ser los electrones partículas elementales sin estructura interna hasta donde se conoce a las escalas de energía alcanzables en la actualidad, mientras que los protones tienen estructura interna, están constituidos por quarks intercambiando gluones, son así sistemas complejos de partículas elementales que participan de la interacción fuerte que es ignorada por los electrones. Las partículas aceleradas utilizadas como proyectiles para incidir sobre la materia a estudiar, llevan a procesos diferentes según las interacciones fundamentales de las que participan. También que los proyectiles sean elementales o no, hace diferencia importante a las más altas energías, porque para electrones, siendo elementales, la totalidad de la energía que llevan cuenta para el proceso de colisión, mientras que en el caso de protones interaccionan sus "partones", que llevan solo una parte de la energía total del protón, así que solo una fracción de su energía está disponible para el proceso.

Rayos de partículas provenientes de los aceleradores se utilizan para hacer visible la estructura de la materia a escala atómica y subatómica, como radiación que incide sobre el objeto a observar, donde la longitud de onda de la radiación incidente determina la resolución espacial alcanzable, el tamaño de lo más pequeño que se puede distinguir. Con aceleradores de partículas se logran longitudes de onda más y más pequeñas, entre mayor sea el momento que alcancen las partículas aceleradas, entre mayor sea su energía. La longitud de onda de 'de Broglie' λ_B se relaciona con el momento y energía de las partículas aceleradas:

$$\lambda_B = \frac{h}{p} = \frac{hc}{\sqrt{E_{cin} \cdot (E_{cin} + 2m_0c^2)}},$$

⁴ MAP: Muon Accelerator Program, Fermilab, Batavia, Illinois, Estados Unidos. <http://map.fnal.gov/>

Correspondencia:

Bernardo Gómez Moreno, bgomez@uniandes.edu.co

Recibido: 18 de junio de 2014

Aceptado: 17 de octubre de 2014

⁵ ALICE: Experimento ALICE con el Gran Colisionador de Hadrones LHC del Laboratorio CERN. <http://home.web.cern.ch/about/experiments/alice>

⁶ HIT: Heidelberg Ionenstrahl Therapiezentrum, Centro de terapia hadrónica, Universidad de Heidelberg, Heidelberg, Alemania. <http://www.hit-heidelberg.com>

$$(3) \quad \begin{aligned} h &= 6.626068 \cdot 10^{-34} \text{ Js} \\ hc &= 197.32696 \text{ MeV} \cdot \text{fm} \end{aligned}$$

Se logra así pasar de los micrómetros alcanzables con luz visible ($\lambda \approx 500 \text{ nm}$) a longitudes de onda de

$$\lambda_B = 1.24 \cdot 10^{-17} \text{ m}$$

para electrones ($m_0c^2 = 0.511 \text{ MeV}$) con $E_{cin} = 100 \text{ GeV}$, como fue en el acelerador colisionador LEP (Large Electron Positron Collider), Gran Colisionador de Electrones con Positrones del Laboratorio CERN, que estuvo en operación entre los años 1989 y 2000, o longitudes de onda más pequeñas,

$$\lambda_B = 1.77 \cdot 10^{-19} \text{ m}$$

para protones ($m_0c^2 = 0.938 \text{ GeV}$) con $E_{cin} = 7000 \text{ GeV}$, como las energías alcanzables actualmente con el acelerador colisionador LHC (Large Hadron Collider) Gran Colisionador de Hadrones del Laboratorio CERN, en operación desde el año 2011.

Con rayos de partículas aceleradas con los aceleradores de más altas energías del mundo, que son los ejemplos aquí dados, se observa la materia hasta esa escala de tamaños, lo más pequeño, 10^{-17} m y 10^{-19} m . Tanto quarks como leptones aparecen a esa escala de tamaños como puntuales sin manifestar directamente estructura interna alguna, puntuales sin volumen observado, son partículas elementales.

Tabla 1. Cantidades relativistas en función de la energía cinética para protones y electrones.

Protones: $m_0c^2 = 0.938 \text{ GeV}$				
Energía total E	pc	$\beta = v/c$ $\beta = pc/E$	$\gamma = E/m_0c^2$	$\lambda_{\text{Brogie}} \times 10^{19}$
[GeV]	[GeV]	adimensional	adimensional	[m]
1	0,35	0,3466	1,07	35766,70
10	9,96	0,9956	10,66	1245,29
100	100,00	1,0000	106,61	123,99
1000	1000,00	1,0000	1066,10	12,40
10000	10000,00	1,0000	10660,98	1,24

Protones: $m_0c^2 = 0.000511 \text{ GeV}$				
Energía total E	pc	$\beta = v/c$ $\beta = pc/E$	$\gamma = E/m_0c^2$	$\lambda_{\text{Brogie}} \times 10^{19}$
[GeV]	[GeV]	adimensional	adimensional	[m]
0,1	0,10	0,999987	195,69	123981,62
1	1,00	1,000000	1956,95	12398,00
10	10,00	1,000000	19569,47	1239,80
100	100,00	1,000000	195694,72	123,98
1000	1000,00	1,000000	1956947,16	12,40

Se ha utilizado en esta tabla:

$$pc = \sqrt{E^2 - (m_0c^2)^2} \quad \beta = \frac{v}{c} = \frac{mc \cdot v}{mc \cdot c} = \frac{pc}{E}$$

$$hc = 1.2398 \cdot 10^{-15} \text{ GeV} \cdot \text{m} \quad \lambda_{\text{Brogie}} = \frac{h}{p} = \frac{hc}{pc}$$

La Tabla 1 presenta para protones y electrones por separado las cantidades relativistas β y γ en función de la energía total de la partícula, así como su longitud de onda de ‘de Broglie’. Los datos presentados resultan de aplicar la relación de ‘de Broglie’ $p = h/\lambda$ y la expresión relativista momento energía:

$$E = \sqrt{m_0^2c^4 + p^2c^2} \quad \gamma = \frac{E}{m_0c^2} \quad (4)$$

3. Estructura de Instalación de Acelerador

Aceleradores de partículas son siempre parte de una instalación, donde la máquina de acelerar es central, requiere una entrada y suministra una salida: Se tiene una fuente de partículas a acelerar, una fuente de iones, donde sistemas neutros de partículas (moléculas, átomos) son ionizados y estos iones siempre cargados eléctricamente son conducidos por un sistema de transporte de haz hasta el acelerador, la máquina donde campos eléctricos entregan energía a las partículas, y éstas ahora más energéticas pasan al sistema de extracción del haz y sistema de transporte, que las llevan del acelerador al blanco (objeto a estudiar), donde inciden y son dispersadas, o generan nuevas partículas, que son registradas por los detectores de partículas. Ver Figura 1.

Es así como se aprende sobre el objeto de estudio (molécula, átomo, núcleo atómico, nucleón), registrando y analizando la radiación que suministró el acelerador e incidió en el objeto, donde fue dispersada y finalmente dejó huella en el detector. Ha sido así en la física atómica y molecular, en la física nuclear, incluso en la física de partículas elementales y esta modalidad de exploración de la materia se denomina “*experimentos de blanco fijo*”. También la mayoría de aplicaciones de aceleradores fuera de la física de altas energías sigue esta modalidad.

Pero en los últimos 30 años, la física de más altas energías ha desarrollado un tipo de experimentos muy sofisticado y exigente, donde el objeto sobre el que incide rayo de

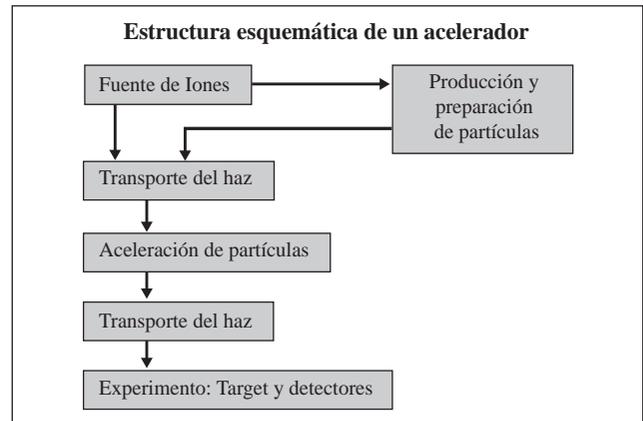


Figura 1. Estructura esquemática de un acelerador

partículas del acelerador no es un blanco fijo, sino otro rayo de partículas que viene en dirección opuesta. Se tienen así colisiones frontales de partículas que en el punto de colisión reúnen muy alta energía, que se materializa acorde con la equivalencia de masa y energía, $E = mc^2$, para producir nuevas partículas según las leyes fundamentales de la naturaleza, surgiendo materia y antimateria, partículas y antipartículas, como en los primeros instantes del Universo luego del Big Bang que le dio origen. Los detectores registran las nuevas partículas, incluyendo el patrón completo de productos de la colisión que constituyen un evento y contiene información sobre las partículas y sus interacciones. Estos son “*experimentos de colisionadores*”, como los realizados por cerca de 30 años con el colisionador protón-antiprotón Tevatrón del Laboratorio Fermilab⁷ en Batavia, Illinois, Estados Unidos, o actualmente con el Gran Colisionador de Hadrones LHC del Laboratorio CERN en Ginebra, Suiza.

4. Diversos Tipos de Aceleradores de Partículas

Además de reconocer como máquinas diferentes con sus características propias a los aceleradores de protones (aceleradores hadrónicos) por un lado, y a los aceleradores de electrones (aceleradores leptónicos) por otro lado, también se clasifican los aceleradores según el principio de aceleración de las partículas. Distinguimos los siguientes tipos de aceleradores [Se07], [Wi05], [Wi06], [Co08]:

Aceleradores electrostáticos, que aceleran las partículas con campos eléctricos constantes, que no varían con el tiempo.

Aceleradores por resonancia, donde un generador externo suministra un campo eléctrico oscilante, cuya frecuencia coincide, es resonante, con la frecuencia del movimiento repetitivo de las partículas dentro de la máquina, al pasar en una secuencia lineal de una unidad a otra, donde encuentra los campos eléctricos (por ejemplo el acelerador lineal), o al repetir millones de veces el paso por la misma unidad de aceleración siguiendo trayectorias circulares, o en espiral, guiadas por un campo magnético (por ejemplo la trayectoria en espiral en el ciclotrón).

Aceleradores por inducción, donde las partículas son aceleradas por un campo eléctrico inducido por la variación temporal de un campo magnético (por ejemplo el betatrón).

Aceleradores por principio de sincrotrón, principio de estabilidad de fase, donde un aumento del campo magnético consigue que las partículas atraviesen la unidad de aceleración en el instante justo cuando el campo eléctrico tiene la magnitud requerida para aumentar la energía en la cantidad justa para que el radio de la trayectoria circular de las partículas permanezca constante.

Los diversos tipos de aceleradores han surgido de la necesidad de alcanzar energías cada vez mayores, por encima del rango de las energías posibles de los aceleradores del momento. Con gran ingenio en la aplicación de los conocimientos sobre electromagnetismo, sobre el movimiento de cargas eléctricas en campos eléctricos y magnéticos, se ha logrado crear nuevos tipos de aceleradores que han permitido llegar hasta energías de TeV (10^{12} eV). Y este desarrollo tecnológico no se detiene.

Se inició en la década de los años 1920 en Karlsruhe, Alemania, con el estudiante de ingeniería eléctrica Rolf Wideröe, noruego [Wa90]. A partir de 1923 Wideröe inició una serie de publicaciones en la revista “*Archiv für Elektrotechnik*”, donde presentó aplicaciones de electromagnetismo para lograr altos voltajes y así grandes campos eléctricos para acelerar partículas. Sus artículos de 1923 y 1924 presentaron las ideas fundamentales de los aceleradores por resonancia, ciclotrón y acelerador lineal [Wi23]. Luego en 1928 publicó cómo obtener con un transformador por inducción electromagnética, ley de Faraday, un campo eléctrico inducido que acelera electrones. Presentó su idea como “*transformador de rayo*”, que es el principio del betatrón [Wi28].

A partir de las ideas de Wideröe se desarrollaron los primeros aceleradores: En 1931 en la Universidad de California, Berkeley, Ernest Orlando Lawrence y David Sloan construyeron y operaron exitosamente el primer **acelerador lineal** y el primer **ciclotrón**, ambos aceleradores por resonancia propuestos por Wideröe [S131], [La32], [La36]. En ese mismo año de 1931 en la Universidad de Princeton y luego en MIT Robert **Van de Graaff** construyó exitosamente el generador electrostático que lleva su nombre, alcanzando 7 millones de voltios [Gr33]. Luego en 1932 en el Laboratorio Cavendish en Cambridge, Inglaterra, los colaboradores del Profesor Ernest Rutherford, John Cockcroft y Ernest Walton, alcanzaron energías de 400 keV con el “*multiplicador de voltaje*”, hoy conocido como **acelerador electrostático Cockcroft-Walton** [Co32].

Estos aceleradores fueron creciendo en tamaño y en máxima energía alcanzable, tanto para protones, como para electrones [La51]. En el caso del ciclotrón pronto se reconoció el problema de aumento relativista de la masa de los electrones, que es grande en los electrones y rompía la resonancia entre la frecuencia del movimiento en espiral de los electrones y la frecuencia del generador externo que da el campo eléctrico para acelerar las partículas. La máquina exige mantener la resonancia, así que falla para electrones relativistas, mientras que es buen acelerador para protones y para iones pesados no relativistas a las energías de MeV. Este problema motivó el desarrollo de un acelerador diferente para electrones y la solución estuvo en la idea de la aceleración por inducción con el transformador de rayo de Wideröe de 1928.

⁷ Fermilab: Fermi National Accelerator Laboratory, Batavia, Illinois, Estados Unidos. <http://www.fnal.gov/>

En la Universidad de Illinois, Urbana, en 1940 Donald Kerst perfeccionó la idea del transformador de rayo y su diseño, el **betatrón**, constituyó un muy exitoso invento para acelerar electrones hasta energías de cientos de MeV, que acelerador que se mantuvo vigente hasta finales de la década de 1970 como el acelerador para aplicaciones médicas en terapia del cáncer [Ke40], [Ke41], [Ke42].

Los aceleradores circulares, donde las partículas guidas por un campo magnético pasan repetidamente por la misma unidad de aceleración, se enriquecieron especialmente con el invento del **sincrotrón** en 1940. Desde entonces este es el acelerador en anillo más exitoso, el acelerador moderno, que en versiones de anillos acumuladores y colisionadores, lleva a las más altas energías logradas en los mayores laboratorios como Fermilab y CERN.

Los diversos tipos de aceleradores, luego de ser superados por nuevos desarrollos tecnológicos requeridos para alcanzar mayores energías que las máximas logradas por los ya existentes, no desaparecen definitivamente. Si el rango de energías de un acelerador es adecuado para cierta área de investigación que no requiere las más altas energías o para aplicaciones en la industria, o en la medicina, el acelerador se mantiene, mientras su operación sea razonable hasta ser superado en los demás aspectos tecnológicos, o de costos de operación, como en el caso ya mencionado del betatrón. La Figura 2 presenta el “*diagrama de Livingston*” que muestra los diversos tipos de aceleradores según su rango de energías graficado como línea de tiempo desde 1932 hasta 1965. Se reconoce allí la vigencia de cada tipo de acelerador y se destaca la frontera de las más altas energías, que ha ido aumentando continuamente desde la invención de los primeros aceleradores [Li62].

5. El Síncrotrón

A comienzos de la década de 1940 Edwin McMillan en la Universidad de Berkeley, California, y Vladimir Veksler en la Unión Soviética, llegaron independientemente, y sin conocimiento el uno del otro, a la idea de la “*estabilidad de fase*”, también llamada “*principio de sincrotrón*”, que es la base del funcionamiento del acelerador en anillo de mayor importancia en el mundo y que luego de 60 años sigue siendo el acelerador moderno, el más versátil y a la vez el más poderoso, el sincrotrón [Mc45], [Ve44], [Bo46]. Ver Figura 3.

En el sincrotrón, las partículas a acelerar (protones, anti-protones, iones pesados, o también electrones, o positrones) siguen una trayectoria cerrada, en anillo, en el diseño original una trayectoria circular de radio *R*. Un campo magnético vertical *B*, perpendicular al plano de la trayectoria actúa a lo largo de todo el recorrido de las partículas dentro de un tubo toroidal que mantiene un alto vacío (10⁻⁸ Torr). El campo

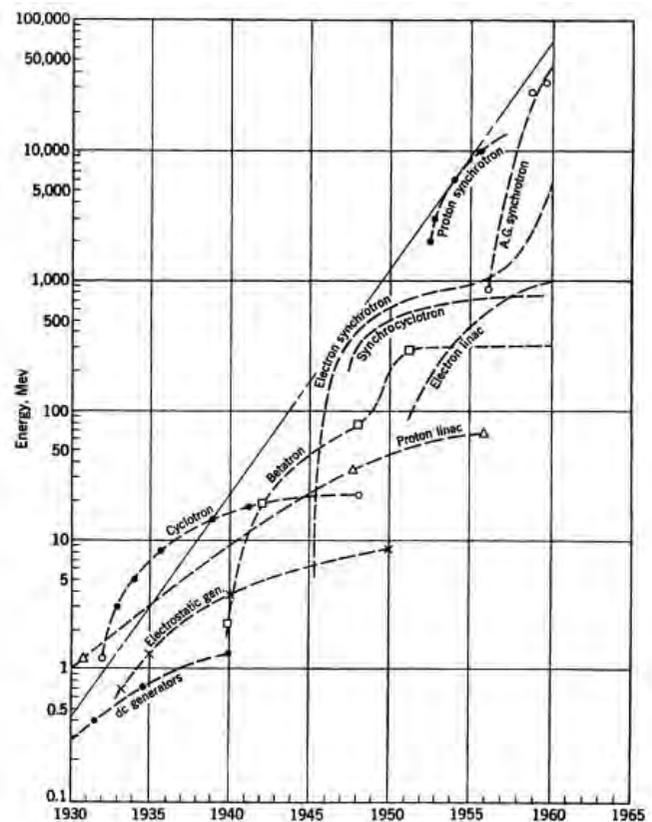


Figura 2. “*Diagrama de Livingston*”: Línea de tiempo de los diversos tipos de aceleradores según su rango de energías. se destaca la frontera de las más altas energías. Fuente: [Li62]

magnético *B* provee la fuerza centrípeta requerida para el movimiento en circunferencia de las partículas de carga eléctrica *q*, así que la ecuación de movimiento radial es:

$$|\vec{F}_{mag}| = q v B = m \frac{v^2}{R} \tag{5}$$

de donde se obtiene para el radio *R* de la trayectoria:

$$R = \frac{mv}{qB} = \frac{p}{qB} = const. \tag{6}$$

En una cavidad de radiofrecuencia *RF* se tiene el campo eléctrico senoide que oscila con una alta frecuencia acorde con el movimiento de las partículas en el anillo, así que estas encuentran siempre el campo eléctrico *E* con la fase adecuada para ser aceleradas.

El sincrotrón es un acelerador de altas energías, para partículas relativistas, así que es buena aproximación asumir que todas las partículas tienen la misma rapidez, muy cercana a $c = 3 \cdot 10^8 \frac{m}{s}$, pero no todas tienen la misma energía, lo que se manifiesta en la masa relativista. Partículas con menor energía, menor momento *p*, siguen en el campo magnético *B*

una trayectoria circular de menor radio ($R_<$) que partículas de mayor energía ($R_>$). Comparando con la partícula ideal que cumple la relación $R=mv/qB$, esto es que tiene la energía que corresponde al radio R y al campo B de la máquina, partículas de menor energía tienen trayectoria menor y a igual rapidez llegan a la cavidad de radiofrecuencia antes que la partícula ideal, y aquellas de mayor energía, mayor recorrido a igual rapidez, llegan más tarde. Ver Figura 4.

Es así que el campo eléctrico que encuentran las partículas en la cavidad de radiofrecuencia depende de su instante de llegada, y para una fase inicial adecuada del campo eléctrico oscilante se logra que partículas de menor energía encuentren un campo eléctrico mayor para ser más aceleradas, y lo opuesto para partículas de mayor energía, que reciben menor

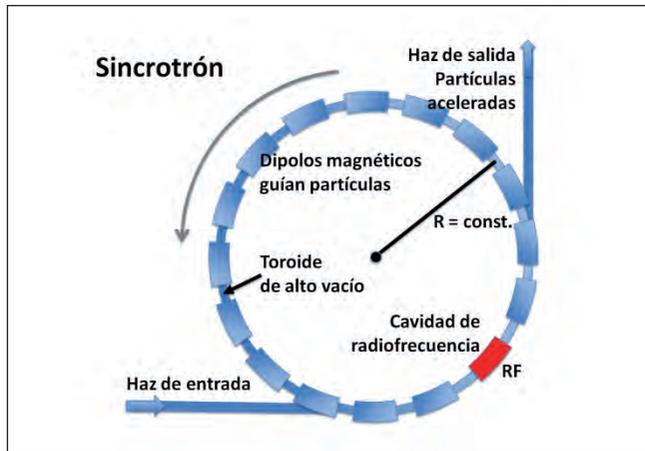


Figura 3. Configuración de un sincrotrón, acelerador en anillo de radio constante, basado en el principio de estabilidad de fase.



Figura 4. Tiempos de recorrido de una vuelta en el sincrotrón para partículas de diversa energía.

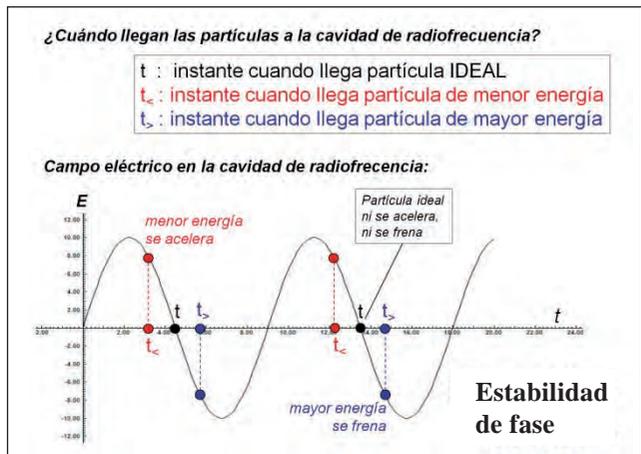


Figura 5. Ilustra la estabilidad de fase o principio de sincrotrón. Se presenta estabilidad para “punto de trabajo” en el flanco descendente de la oscilación sinusoidal del campo eléctrico en la cavidad de radiofrecuencia.

energía para que todas se acerquen a la misma energía de la partícula ideal y con ello se acerquen al mismo tamaño de la trayectoria y a iguales tiempos de recorrido. Se tiene así estabilidad temporal, estabilidad de fase, si la fase inicial del campo eléctrico oscilante se escoge así que la partícula ideal encuentre el campo en el flanco descendente de la oscilación sinusoidal como lo muestra la Figura 5.

Si se aumenta el campo magnético B que guía las partículas en el tubo toroidal del sincrotrón, disminuye el radio de la trayectoria circular de todas las partículas así que todas tendrán menor recorrido, llegarán antes de la ideal, y serán aceleradas justo lo requerido para aumentar el momento p así que p/B recupere el valor ideal de diseño de la máquina y el radio R ideal se mantenga constante pero ahora para un campo magnético mayor ($R=p/qB$). Las partículas circulan ahora con mayor momento p , mayor energía. Se han acelerado respondiendo al aumento del campo magnético B . Esto es precisamente lo que caracteriza el sincrotrón: Al aumentar el campo magnético B se aceleran las partículas en la cavidad de radiofrecuencia justo lo requerido para mantener el radio de la trayectoria constante, y esto se logra por la estabilidad de fase, principio de sincrotrón.

Si el campo magnético B de sincrotrón varía como función sinusoidal, solo pueden acelerarse partículas mientras el campo B va en aumento, solo durante el intervalo de tiempo que corresponde al flanco ascendente de la función seno, así que se inyectan partículas a la máquina justo después del instante del mínimo de la función seno, se aceleran en millones de revoluciones mientras B va en aumento, y poco antes de alcanzar el máximo de la función seno deben extraerse las partículas de la máquina, como lo muestra la Figura 6.

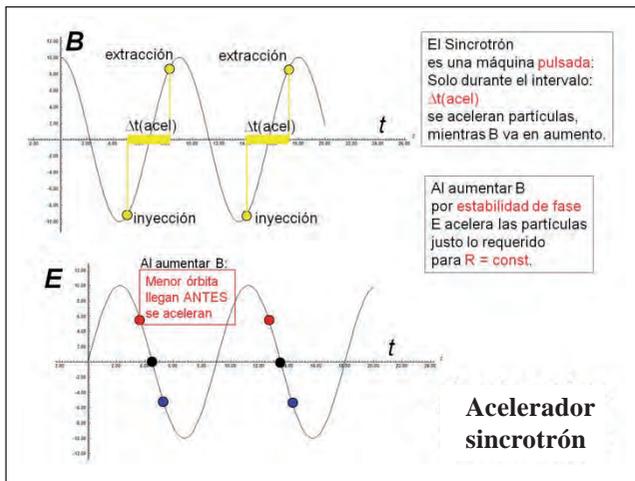


Figura 6. Ilustra por qué el sincrotrón es una máquina pulsada. Solo se aceleran las partículas durante los intervalos de tiempo cuando el campo magnético va en aumento.

El sincrotrón es así una máquina pulsada: Va entregando paquetes de partículas aceleradas, que salen de la máquina a intervalos de tiempo dados por la frecuencia de oscilación del campo magnético B.

6. Anillos de Almacenamiento y Colisionadores

Es posible mantener a las partículas circulando por muy largo tiempo en el tubo toroidal del sincrotrón, realizando millones de millones de recorridos completos, si el punto de trabajo del campo eléctrico se escoge en el flanco descendente con valor cero para la partícula ideal, que no será acelerada. Para campo magnético B constante, se mantienen así las condiciones de estabilidad en la máquina con la misma energía. La partícula ideal no es acelerada y pérdidas de energía por radiación, como radiación de sincrotrón, se compensan con la aceleración que sí reciben partículas de menor energía que la ideal. La máquina se mantiene en estas condiciones de estabilidad con energía constante y se le llama entonces “*anillo de almacenamiento*” (**storage ring**), que son sincrotrones con campo magnético B constante.

Es posible utilizar el anillo del sincrotrón inicialmente como acelerador y luego como anillo de almacenamiento, como se ilustra con la Figura 7. Las partículas provenientes de un preacelerador son inyectadas al anillo, que inicialmente tiene ya el campo magnético adecuado para cumplir con la condición ($R=p/qB$). Luego el campo magnético va en aumento tipo rampa, hasta alcanzar la magnitud final, que corresponde a la energía final, que es la energía del anillo de almacenamiento. A partir de ese instante se mantiene $B=constante$, así que el anillo opera como anillo de almacenamiento. Este es el procedimiento que se sigue actualmente con el Gran Colisionador de Hadrones LHC del Laboratorio CERN.

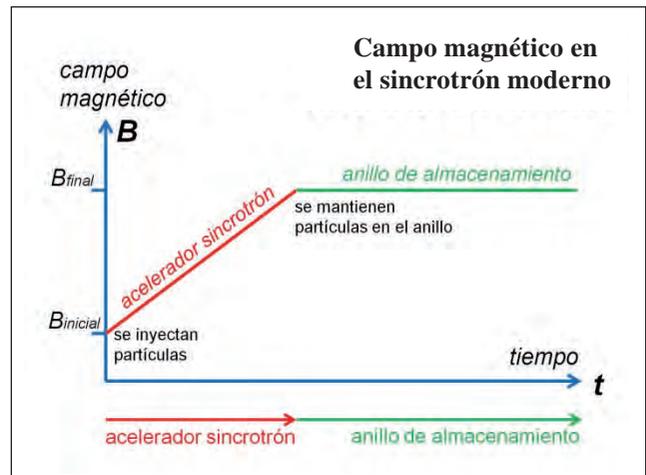


Figura 7. Evolución temporal del campo magnético de un anillo que inicialmente opera como sincrotrón y continúa luego a energía fija como anillo de almacenamiento.

En el sincrotrón y en el anillo de almacenamiento circula un gran número de partículas, reunidas por “*paquetes de partículas*”, llamados “*bunches*”. Hoy se logra reunir hasta 10^{12} partículas en un bunch, con alta densidad, así que el bunch de forma cilíndrica tiene un diámetro de apenas micrómetros y una longitud de algunos milímetros.

Los anillos de almacenamiento se emplean hoy para acumular antimateria, recibiendo antipartículas a medida que van siendo generadas por colisiones de proyectiles con suficiente energía, incidiendo sobre bloques de materia pesada (alto número de protones Z en el núcleo atómico). Así por ejemplo protones con energía mayor a 2 GeV son frenados al incidir sobre wolframio, emitiendo **radiación de frenado** (“*Bremsstrahlung*”) con suficiente energía para la producción de pares en protón antiprotón. Los antiprotones son desviados mediante campos eléctricos y magnéticos y llevados al anillo de almacenamiento, donde se acumulan hasta que se alcanza un buen número de antipartículas para formar bunches e inyectarlos en aceleradores mayores.

También se emplean los anillos de almacenamiento (sincrotrones de B constante) como colisionadores. La instalación de sincrotrón se mantiene con campo magnético constante y con cavidad de radiofrecuencia activa, para que ésta por estabilidad de fase recupere la energía que las partículas hayan perdido por efectos de interacción con las demás partículas del bunch o por radiación de sincrotrón. En el mismo anillo pueden circular bunches en direcciones opuestas para colisionar frontalmente, si se trata de partículas de carga eléctrica opuesta, como en colisionadores protón-antiprotón, o electrón-positrón. Para colisiones de partículas de igual carga eléctrica se requieren dos anillos independientes,

iguales, paralelos pero con campos magnéticos en direcciones opuestas, como en el Gran Colisionador de Hadrones LHC del CERN.

De especial importancia por las aplicaciones son los anillos de almacenamiento de electrones de alta energía en el rango de GeV. Estos anillos son las fuentes de **radiación de sincrotrón**, también llamadas “*fuentes de luz sincrotrón*”.

7. Estabilidad Transversal y Radial

Además de la estabilidad temporal, estabilidad de fase, que es el fundamento del sincrotrón, también se requiere estabilidad espacial, tanto en el plano horizontal de la trayectoria circular de las partículas, como en la dirección vertical. Sin estabilidad las partículas se pierden en la máquina, que deja de funcionar. [Wi05], [Wi06], [Co08]

Hay estabilidad cuando hay oscilaciones alrededor de la posición de equilibrio. Hay oscilaciones transversales, cuando una fuerza restauradora vertical F_z actúa sobre la partícula que se aleja verticalmente dejando el plano de movimiento, y es una fuerza proporcional a la desviación: $F_z = -k_z \cdot z$, donde $z = 0$ corresponde al plano de la trayectoria. Ver el sistema de coordenadas utilizado en la Figura 8.

Se logra estabilidad transversal, estabilidad vertical, con líneas del campo magnético curvadas, así que el campo magnético principal B_z está acompañado de una componente menor horizontal B_x , que da la fuerza vertical restauradora. Ver Figura 9.

En el plano de movimiento se tiene estabilidad con una fuerza restauradora en dirección radial, $F_x = -k_x \cdot x$, midiendo x como desviación en dirección radial a partir del radio R de la trayectoria ideal. Aquí tanto k_x como k_z dependen de la posición S a lo largo de la circunferencia: $k_x(s), k_z(s)$.

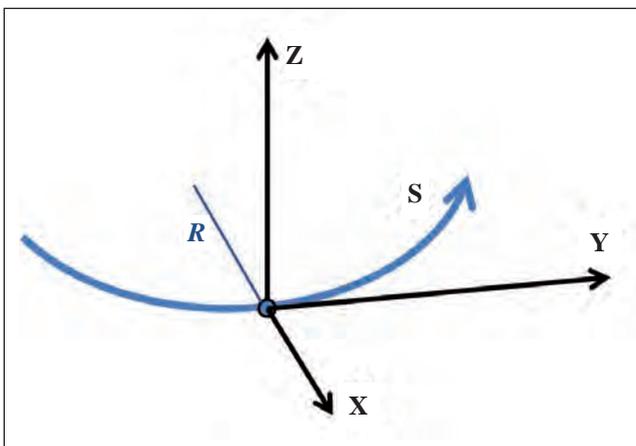


Figura 8. Sistema de coordenadas para descripción del movimiento de las partículas en el sincrotrón.

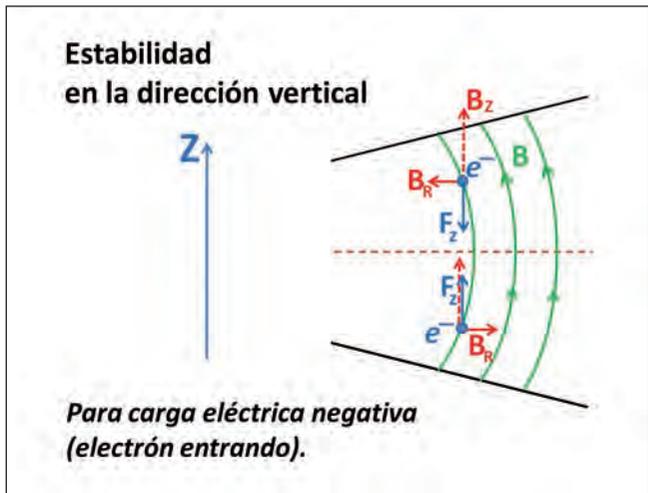


Figura 9. Estabilidad transversal (vertical) mediante líneas de campo magnético curvadas adecuadamente.

Se logra estabilidad radial cuando el campo magnético B varía más lentamente que $1/R$, como lo ilustra la Fig.10, porque la aceleración centrípeta va como $1/R$, así que si la partícula se desvía al interior del anillo, $r < R_0$, la fuerza magnética resulta menor que lo requerido como fuerza centrípeta, y la partícula tiende a salirse. Si la desviación es hacia fuera del anillo, $r > R_0$, la fuerza magnética resulta mayor que lo requerido como fuerza centrípeta y el efecto es hacia el interior. Aquí R_0 es el radio de la trayectoria de la partícula ideal, que cumple la relación (6): $R_0 = \frac{p}{qB}$.

Inicialmente en la primera generación de sincrotrones se tenía a lo largo de la circunferencia una secuencia continua de electroimanes dipolares para el campo magnético B del sincrotrón. Este campo además de guiar a las partículas en la trayectoria circular también mantenía la estabilidad transversal con la curvatura de sus líneas de campo y la estabilidad radial disminuyendo más lentamente que $1/r$. Se lograba así un “*enfoque débil*” del haz de partículas dentro del toroide del sincrotrón. Pero la amplitud de las oscilaciones alrededor de la trayectoria ideal resultaba muy grande y aumentaba con la energía de las partículas, llegando a oscilaciones de 4 metros de amplitud para protones de 30 GeV, lo que llevaría a un límite del orden de 10 GeV como máxima energía alcanzable para protones.

La solución al problema del enfoque débil se encontró al ensamblar la secuencia de electroimanes bipolares a lo largo del anillo alternando el gradiente del campo magnético B , así que a un electroimán con $\frac{\partial B}{\partial r} < 0$, seguía uno con $\frac{\partial B}{\partial r} > 0$, aunque este tuviera efecto de desenfoque. Sin embargo la secuencia de electroimanes con gradiente alterno tiene un efecto global de enfoque, se conoce como “*enfoque fuerte*” y lleva a oscilaciones de amplitud pequeña, muy reducida

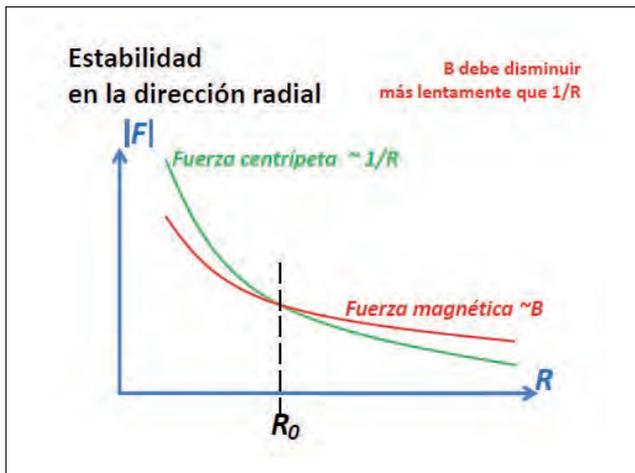


Figura 10. Estabilidad radial en el sincrotrón de enfoque débil: El campo magnético debe disminuir más lentamente que $1/R$.

comparada con el “enfoque débil”. Así que para protones de 30 GeV las amplitudes de oscilación radial de 4 metros se reducen en un factor de $1/20$ a solo 20 cm. Los sincrotrones de “gradiente alterno”, “enfoque fuerte”, permitieron superar los 50 GeV para protones y constituyen la segunda generación de sincrotrones [Co52], [Co57], [Co58].

La evolución del sincrotrón llevó a una tercera generación al separar la tarea de guiar a las partículas en el anillo mediante dipolos magnéticos de la tarea de enfocar el haz dentro del anillo mediante cuadrupolos magnéticos, manteniendo con los cuadrupolos el esquema de alternar enfoque y desenfoque del “enfoque fuerte”. Se organizan así los electroimanes a lo largo del anillo en una secuencia de celdas iguales, cada una compuesta de cuadrupolo de enfoque (F), dipolos de curvar la trayectoria (O), cuadrupolo de desenfoque (D), y se denomina “celda FODO”, que se va repitiendo a lo largo del anillo [Wi06].

La secuencia de celdas FODO da mayor flexibilidad para configurar el sincrotrón, así que la trayectoria de las partículas no tiene que ser necesariamente circular. Hoy los sincrotrones modernos pueden constar de tramos curvados seguidos de tramos rectilíneos donde no se requieren electroimanes dipolares para guiar el haz, reduciendo los componentes del acelerador y con ello reduciendo los costos. Se reemplaza así el anillo circular de la trayectoria de partículas en el sincrotrón por polígonos regulares, configuraciones más sencillas que se adaptan a las necesidades de la instalación del laboratorio [Wi05], [Wi06].

8. Lentes Magnéticas

Dentro del sincrotrón moderno, o fuera de él en la línea de conducción del rayo de partículas, se utilizan cuadrupolos magnéticos como lentes magnéticas convergentes (+) o

divergentes (-). La Figura 11 representa una lente magnética compuesta por dos cuadrupolos, que se ubican en la línea del haz, uno tras otro. Para partículas de carga eléctrica positiva saliendo del plano de la página el primer cuadrupolo enfoca en la dirección horizontal x , desenfoca en la dirección vertical z . El enfoque es inverso con el segundo cuadrupolo.

Siempre un solo cuadrupolo magnético enfoca en una dirección y desenfoca en la dirección perpendicular a la primera. Una “lente magnética” consta de dos cuadrupolos seguidos, con igual eje de simetría, donde el segundo cuadrupolo está rotado en 90 grados con respecto al primero. En cada dirección (horizontal y vertical) se tiene enfoque de un cuadrupolo y desenfoque del otro, y los efectos de los dos cuadrupolos se complementan resultando globalmente enfoque en las dos direcciones perpendiculares. Variando la intensidad de la corriente eléctrica en los cuadrupolos, esto es variando la intensidad del campo magnético en cada cuadrupolo, se puede ajustar la distancia focal de la lente magnética.

9. Radiación de Sincrotrón

La radiación de sincrotrón es un efecto muy importante que aparece en electrones en movimiento circular o trayectorias curvadas, cuando alcanzan energías relativistas, por ejemplo en sincrotrones, un efecto que aumenta como la cuarta potencia de la energía [Mc46]. Para electrones de 100 GeV acelerados en anillo sincrotrón de 1 km de radio la pérdida de energía por radiación de sincrotrón no puede compensarse razonablemente en la cavidad de radiofrecuencia, haciendo imposible el funcionamiento del acelerador. Así inicialmente la radiación de sincrotrón aparecía solo como un limitante serio para lograr rayos de electrones de muy altas energías, pero luego al estudiar sus propiedades se reconoció el enorme potencial que tiene como herramienta para aplicaciones en muy diversas áreas de desarrollo tecnológico, innovador. Es una herramienta bastante más poderosa que los rayos-X emitidos por los tubos de Röntgen.

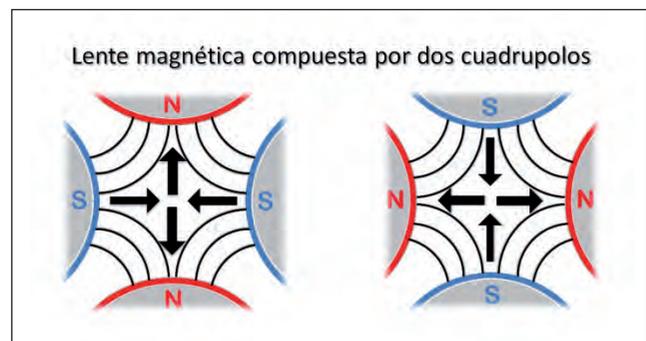


Figura 11: Lente magnética compuesta por dos cuadrupolos, que se ubican uno tras otro. Los dos cuadrupolos alternan polaridad.

En la década de 1970 se inició muy tímidamente el aprovechamiento de la radiación de sincrotrón emitida tangencialmente al anillo del sincrotrón de electrones de energías de 2 GeV o superiores hasta 10 GeV. Se ofreció como servicio a la industria, que alquilaba el tiempo de “luz sincrotrón”, generando ingresos para los laboratorios de física de altas energías dedicados hasta ese momento solo a la investigación fundamental. El uso de la radiación de sincrotrón fue así “parásita” de los experimentos de los físicos de altas energías, pero luego en la década de 1980 se establecieron instalaciones mayores, grandes centros de radiación de sincrotrón, dedicados exclusivamente a las aplicaciones de la esta radiación para desarrollos tecnológicos innovadores.

Veamos las propiedades de la radiación de sincrotrón [Ja99], [Wi05]. Toda carga eléctrica acelerada es fuente de radiación electromagnética, que se lleva parte de la energía de la partícula. Así para una partícula de carga eléctrica q , que tiene masa en reposo m_0 y que circula en un anillo de almacenamiento, o acelerador sincrotrón, de radio R , la energía radiada en una circunferencia recorrida:

$$\Delta E_{\text{vuelta}} = \text{const} \cdot \frac{1}{(m_0 c^2)^4} \cdot \frac{E^4}{R} \quad (7)$$

como lo presenta Edwin McMillan en “Radiación por un Grupo de Electrones en Movimiento en Órbita Circular”, artículo en el Physical Review **68** de 1945, seguido a la presentación de su invención del sincrotrón en la misma revista [Mc45], [Mc46].

Como la energía radiada en cada revolución en el sincrotrón resulta proporcional a $(m_0 c^2)^{-4}$, el efecto de pérdida de energía por radiación de sincrotrón es dominante en el caso de electrones de masa 1830 veces menor que la de protones:

$$\frac{P_{\text{rad, electrón}}}{P_{\text{rad, protón}}} = \frac{(m_{0\text{protón}} c^2)^4}{(m_{0\text{electrón}} c^2)^4} = 1830^4 \approx 1.12 \cdot 10^{13} \quad (8)$$

Así comparando a la misma energía, la radiación de sincrotrón de electrones es 10^{13} veces mayor que la de protones. Fuentes de radiación de sincrotrón son por esto sincrotrones de electrones y para aplicaciones resulta óptimo el rango de energía de electrones entre 1 y 10 GeV.

Además como la energía radiada en cada circunferencia recorrida aumenta con la cuarta potencia de la energía de la partícula y disminuye con el radio de curvatura, va proporcional a E^4/R , el efecto es dominante a muy altas energías, por más que se diseñe el anillo del sincrotrón de gran tamaño, R muy grande. La energía a la cuarta potencia es dominante. Esto es lo que impone el límite a los aceleradores circulares de electrones, pero es a la vez lo que hace atractivo el efecto si se utiliza como fuente de radiación, como “fuente de luz sincrotrón”. Anillos pequeños de electrones a altas energías son óptimos como fuente de radiación.

Espacialmente la radiación de sincrotrón aparece emitida tangencialmente a la trayectoria curvada de las partículas, esto es perpendicular a la aceleración centrípeta, en la dirección frontal hacia delante y “colimada” en un cono de apertura $\theta = 1/\gamma$, donde $\gamma = E/(m_0 c^2)$, como lo ilustra la Figura 12. Este cono de radiación es un efecto relativista observado en el marco de referencia del laboratorio. Así para electrones con $m_0 c^2 = 511 \text{ keV}$ y energía total de 10 GeV resulta $\gamma = 19570$ así que el ángulo de apertura del cono de radiación es de $\theta = 5.1 \cdot 10^{-5}$ radianes, aproximadamente $\theta = 0.003^\circ$. (Ver referencia [Wi05]).

Aunque el cono de radiación de sincrotrón es altamente colimado con ángulo de apertura tan pequeño, de décimas a centésimas de mili radianes, en el laboratorio se observa el cono desplazándose tangencialmente al electroimán del sector del sincrotrón que abarca el experimento instalado en el exterior del anillo. Y se desplaza a la velocidad de la luz, así que se observa un “abanico continuo de emisión de radiación” que proviene de todo el sector del sincrotrón, como lo muestra la Figura 13. Mediante diafragmas, colimadores diseñados acorde a las necesidades del usuario, se define un “haz de radiación de sincrotrón”.

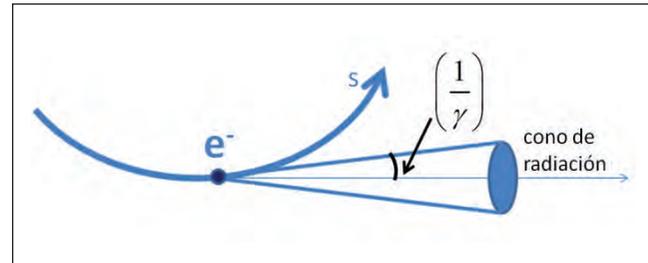


Figura 12: Cono de radiación de sincrotrón

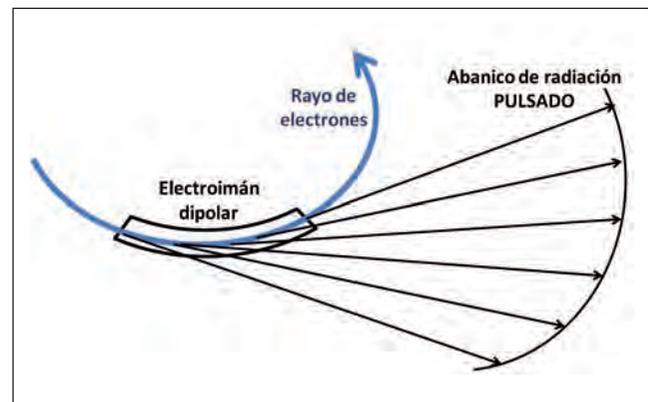


Figura 13: Abanico de radiación de sincrotrón proveniente del haz de electrones que atraviesan el sector del anillo cubierto por el electroimán observado.

Este haz de radiación de sincrotrón se obtiene pulsado cada vez que un bunch del sincrotrón recorre el sector del acelerador que es observado por el usuario. Así la frecuencia de los pulsos está dada por el producto del número de bunches que circulan en el sincrotrón por la frecuencia de revolución del bunch:

$$f_{pulsos} = N_{bunches} \cdot f_{rev} = N_{bunches} \cdot \frac{1}{(2\pi R/c)}$$

$$f_{pulsos} = \frac{N_{bunches} \cdot c}{2\pi R} \tag{9}$$

10. Onduladores y Wigglers

Las ventajas de la radiación de sincrotrón al estar colimada en un cono de ángulo de apertura de solo décimas a centésimas de mili radianes se pierden con el desplazamiento del cono a lo largo del sector observado desde el exterior del anillo del sincrotrón. Recortar el abanico de radiación mediante diafragmas permite definir un haz, una línea de radiación de sincrotrón. Pero puede lograrse algo mejor: Onduladores y wigglers permiten aprovechar significativamente mejor la radiación de sincrotrón [Ja99], [Wi05].

Un ondulator es una unidad compuesta por un arreglo rectilíneo de magnetos que van alternando en polaridad, NS ... SN ... NS ... SN ..., estableciendo un canal de ancho D , donde hay campo magnético uniforme, vertical, que periódicamente cambia de dirección, alternando en el sentido vertical. El período de este arreglo se denomina λ_0 y es constante a lo largo de toda la unidad de varios metros de longitud, L , como lo representa la Figura 14. Los magnetos pueden ser electroimanes, o preferiblemente imanes permanentes.

Un rayo horizontal de electrones de energía del orden de 1 GeV atraviesa el canal del ondulator, encontrando el campo magnético transversal que cambia de dirección periódicamente. La respuesta del haz de electrones a la fuerza magnética periódica es seguir una trayectoria ondulada con el mismo período del arreglo de magnetos.

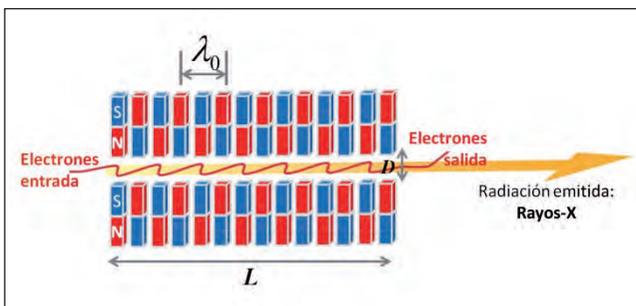


Figura 14: Ondulator de longitud L , período λ_0 y ancho de canal D . El campo magnético va alternando en polaridad, direcciones opuestas en arreglo periódico.

En la ondulación del haz de electrones, en las porciones alrededor de los máximos de la ondulación se tiene trayectoria curvada con aceleración centrípeta causante de radiación de sincrotrón, tangencial a la ondulación.

Con un arreglo de 50 a 100 magnetos, se superponen los conos de emisión de radiación de sincrotrón proveniente de cada ondulación, dando como resultado un solo haz de radiación, cuyas propiedades pueden ser ajustadas mediante la configuración de magnetos y la energía del rayo de electrones que atraviesa la instalación. En el arreglo de magnetos se puede variar la distancia entre magnetos, esto es variar λ_0 . También se puede variar el ancho D del canal, al reducirlo aumenta la intensidad del campo magnético y con ello se curva más fuertemente el haz de electrones en cada ondulación, esto es el radio de curvatura se reduce, aumentando así la potencia radiada en cada ondulación ($P_{rad} \propto E^4/R^2$).

Al final de la unidad de magnetos se ubica un electroimán que desvía a un lado el rayo de electrones, dejando entonces el haz de radiación resultante a lo largo del eje de la unidad como un rayo de radiación bien definido.

La ondulación el haz de electrones ocurre en un plano, horizontal en el ejemplo aquí presentado, así que la radiación resultante del ondulator está polarizada linealmente.

Se distingue entre onduladores y wigglers. En el caso de wigglers el haz de electrones oscila con desviación angular grande comparada con el ángulo de apertura del cono de radiación de sincrotrón $\theta = 1/\gamma$, así que se obtiene un abanico de radiación.

En los onduladores la desviación angular en cada ondulación es pequeña, así que los conos de radiación de sincrotrón de cada ondulación se superponen, dando el resultado de un solo cono de radiación muy colimado en dirección frontal, hacia adelante, esto es de ángulo de apertura del cono muy pequeño.

Para obtener la frecuencia de la radiación emitida por el ondulator valen las siguientes consideraciones: El período del ondulator λ_0 se mide en el sistema de laboratorio, pero en el marco de referencia de los electrones que inciden con $\gamma = E/(m_0c^2)$, el período del arreglo de magnetos aparece como λ_0/γ por el efecto relativista de contracción de Lorentz, esto es un período notoriamente reducido. Así los electrones oscilan con frecuencia

$$f_{emitida} = \frac{1}{T} = \frac{c}{(\lambda_0/\gamma)} = \frac{\gamma c}{\lambda_0} \tag{10}$$

Esta es la frecuencia emitida en el marco de referencia de los electrones, pero en el marco de laboratorio se observa una frecuencia mayor por efecto Doppler relativista de la fuente en movimiento acercándose al observador. El corrimiento Doppler relativista es:

$$\sqrt{\frac{1+v/c}{1-v/c}} = \frac{1+v/c}{\sqrt{1-v^2/c^2}} = \gamma \cdot (1+v/c) \approx 2\gamma,$$

asumiendo para electrones relativistas $v \approx c$.

Así la frecuencia de la radiación del ondulator observado en el marco de laboratorio es:

$$f_{Lab} = f_{emitida} \cdot 2\gamma = \frac{2\gamma^2 c}{\lambda_0} \quad (11)$$

La frecuencia de la radiación del ondulator observado en el laboratorio tiene una dependencia cuadrática de la energía del haz de electrones que atraviesan el ondulator, va como γ^2 , y además depende del período del arreglo de magnetos, va como $1/\lambda^0$. Para una energía constante del haz de electrones $\gamma = const$ y para un arreglo de magnetos fijo, la frecuencia observada del ondulator resulta ser aproximadamente mono-cromática, esto es de frecuencia f_{lab} con una pequeña contribución de sus armónicos, múltiplos enteros de f_{lab} . De acuerdo con las necesidades del usuario se puede escoger esta frecuencia, ajustando la energía del haz de electrones en el anillo del sincrotrón.

La frecuencia de la radiación de ondulator puede llegar hasta valores muy grandes según sea la energía del haz de electrones y el período del ondulator. Para electrones de 1 GeV y un ondulator de 5 metros de longitud con 100 magnetos, $\gamma = 1957$, $\lambda_0 = 5 \text{ cm}$, así que $f_{lab} = 4.6 \cdot 10^{16} \text{ Hz}$.

Característica de especial importancia que presentan onduladores y wigglers es su alta brillantez, que resulta de combinar tres factores: El flujo F de fotones emitidos en el intervalo de tiempo Δt por radiación de sincrotrón por los electrones en cada ondulación, el área de emisión σ , la divergencia angular $\Delta\theta$. Se da la brillantez [Wi05] para la fracción del 0.1% del “ancho de banda (AB)”, esto es el 0.1% del intervalo disponible de energías de los fotones y finalmente se normaliza a una corriente $i_0 = 1$ Amperio de electrones en el sincrotrón operando en modo de anillo de almacenamiento. Así que la brillantez B se expresa como

$$B = \frac{\text{fotones}}{\Delta t \cdot \sigma \cdot \Delta\theta \cdot 0.1\% AB \cdot i_0} \quad (12)$$

que con las unidades habituales se expresa como

$$B = \frac{\text{fotones}}{s \cdot \text{mm}^2 \cdot \text{mrad}^2 \cdot 0.1\% AB \cdot A}.$$

Se logra aumentar la brillantez con un mayor número de magnetos en el ondulator, que implica mayor número de ondulaciones, cada una fuente de fotones, y con un mayor número de electrones en el bunch de electrones que atraviesa el ondulator.

11. Ventajas de la Radiación de Onduladores

Luego de 100 años del descubrimiento de los rayos-X por Wilhelm Konrad Röntgen la radiación de onduladores y wigglers viene a enriquecer el mundo de los rayos-X, con verdaderos “rayos”. Con los tubos de descarga tipo Röntgen los rayos-X se emiten en todas las direcciones, lo que obliga a blindajes y colimadores para eliminar, o al menos para reducir la radiación en las direcciones no deseadas y poder definir un rayo. Además solo se aprovecha una pequeña fracción de la radiación emitida, fracción que para algunas aplicaciones resulta insuficiente. La radiación que se obtiene de los tubos Röntgen no es coherente y no presenta polarización.

De los tubos Röntgen se obtiene el continuo de energías de Bremsstrahlung a las que se superponen las energías discretas de las líneas características del material del ánodo del tubo [Br09]. El continuo de energías dificulta el análisis de radiografías y reduce su calidad, por efectos de “endurecimiento del haz” (“beam hardening”), que resulta de la dependencia de la energía que presenta el coeficiente de absorción de rayos-X por el material estudiado [Bu13]. Esto dificulta la determinación de espesores de muestras radiografiadas, a pesar de mediciones complementarias de corrección del efecto. En especial para tomografías [Ro12], para la reconstrucción tridimensional del interior de la muestra, la calidad del resultado se ve afectada por efectos de los límites alcanzables en la corrección de endurecimiento del haz.

Comparando los onduladores con los antiguos tubos de Röntgen, las ventajas que ofrece esta moderna fuente de rayos-X, radiación de sincrotrón y onduladores, son significativas.

Se destaca la muy alta brillantez, porque el haz que se obtiene es la superposición coherente de radiación de múltiples fuentes, de cada una de las ondulaciones, emitida desde un área muy pequeña, que aproxima a fuente puntual, emitida con divergencia muy pequeña de solo décimas a centésimas de mili radianes, en intervalos de tiempo muy cortos dados por el rápido cruce de los bunches del sincrotrón a través del ondulator.

La radiación de onduladores resulta coherente, con todas las ventajas que esto implica, las mismas que hacen del rayo laser mejor fuente de luz que lámparas convencionales incoherentes. La radiación proveniente de onduladores constituye la primera fuente coherente de rayos-X.

La radiación del ondulator resulta aproximadamente mono-cromática, una frecuencia fundamental con pequeñas contribuciones de sus armónicos, con la ventaja de ser ajustable según las necesidades del usuario, ajustando la energía del haz del sincrotrón, esto es ajustando γ , y según sea el período λ_0 del ondulator.

Si el ondulator es un wiggler, que lleva a mayores ondulaciones del haz de electrones se obtiene una banda ancha de frecuencias en la radiación resultante, así que es posible satisfacer las diversas necesidades de diversos usuarios, según el ondulator o wiggler utilizado, y en un mismo anillo sincrotrón-acumulador de tercera generación con varios tramos rectos es posible ofrecer estas diversas opciones con diversos onduladores o wigglers.

La radiación emitida por el ondulator resulta polarizada linealmente, debido a que las ondulaciones del haz de electrones se mantienen siempre en un plano.

El rayo resultante del ondulator presenta una estructura de tiempo bien definida y constante, un rayo pulsado de alta frecuencia, pulsos cortos, resultado del paso de los bunches de electrones con rapidez cercana a la de la luz a través del ondulator. Esta estructura de tiempo es un gran atractivo para experimentos que aprovechan la dependencia temporal del haz.

Estabilidad es otra propiedad importante del haz de radiación, rayos-X, proveniente del ondulator: Operando el anillo sincrotrón como anillo de almacenamiento, esto es manteniendo constante el campo magnético del sincrotrón, el haz de electrones en la máquina presenta estabilidad por períodos prolongados de tiempo de varias horas, del orden de 10 horas continuas, con las mismas condiciones.

12. Aplicaciones

El sincrotrón de tercera generación operando en el modo de anillo de almacenamiento de electrones, en estado continuo, con onduladores insertados en los trayectos rectilíneos constituye hoy la fuente moderna de rayos-X, que se convierte en una muy poderosa herramienta para la investigación y la innovación tecnológica en múltiples frentes, en

- física atómica, física molecular,
- física de materia condensada, [Bu03], [So98]
- ciencias de materiales, [Co94], [Po97], [Sp01]
- estudios de superficies,
- nanotecnología,
- electrónica, [Be86], [Hi03], [Ko03], [Pi00], [To98]
- físicoquímica, química, [Li10]
- microscopía, biofísica, biología, medicina,
- física médica, radiología, [Am05], [Su03]
- ciencias marinas,
- arqueología y ciencias forenses, paleontología, [Ta06]
- geología, geofísica, ciencias de la tierra,
- instrumentación y métodos experimentales [Br08], [Gr83], [He84], [Kr06], [Ro89]
- desarrollos industriales [Ha08], [Ha12].

Mirando hacia Colombia y contemplando la idea de lograr una instalación de sincrotrón de tercera generación operando en el país, se encuentra un panorama muy prometedor: En todas las áreas de investigación y desarrollo arriba mencionadas se trabaja en Colombia y todas podrían beneficiarse con esta herramienta moderna que ayuda para ser más competitivos a nivel mundial.

Así por ejemplo la investigación en física de materia condensada, en particular física de estado sólido, es de larga tradición en Colombia, esto es desde los comienzos de la física en Colombia hace ya 50 años. En la actualidad en la mayoría de las instituciones universitarias colombianas que cuentan con programas académicos de física hay grupos de investigación activos en esta área o en áreas afines, en ciencias de materiales. Interesantes ejemplos de aplicación en Colombia se tendrían en las aplicaciones de rayos-X para el estudio de materiales, desde difracción, fluorescencia, radiografías en 2D hasta tomografías axiales computarizadas resultando en imágenes 3D. Así a manera de ejemplos se tiene:

El análisis de la difracción de rayos-X por rocas provenientes de regiones esmeraldíferas en Colombia, para determinar la presencia de berilio y así también la presencia de esmeraldas en las muestras rocosas [Be10].

El estudio de la estructura de carbones activados, obtenidos de carbón bituminoso del norte de Colombia y tratados mediante procedimientos físicos y químicos. Los rayos-X permiten caracterizar la estructura resultante, la fracción cristalina, apilamiento de capas de grafeno, entre otros [Ga08].

La caracterización de arcillas colombianas: Estudios cuantitativos detallados, en la identificación y cuantificación de los minerales de arcillas presentes en las muestras, además del estudio de las estructuras que presentan [Mo05].

El control de la calidad del hormigón común que resulta de la mezcla de cemento, agua y áridos: La caracterización de la mezcla ya solidificada, endurecida, es realizable mediante los rayos-X [Qu14].

En el desarrollo de nuevas tecnologías para fuentes de energía nuevas y renovables (FENR) están los paneles solares, las celdas solares para aprovechamiento de la energía solar empleando sistemas fotovoltaicos [Ro82], [Ro08]. Allí también los rayos-X encuentran aplicación en el estudio de nuevos compuestos fotovoltaicos, en su caracterización, en el estudio de sus propiedades ópticas, estructurales y morfológicas [Ar12], [Bo13].

El desarrollo de la industria electrónica puede beneficiarse igualmente de los rayos-X provenientes de los sincrotrones de tercera generación. La inspección de los microcircuitos electrónicos mediante rayos-X de alta resolución constituye una necesidad, no solo para el producto final, los

microcircuitos ya producidos, sino en su optimización desde el diseño, al tener en cuenta los resultados del control con rayos-X [Sh02].

También en la ingeniería biomédica: Tomografías de alta resolución para el desarrollo de materiales adecuados para injertos en el cuerpo humano, como por ejemplo injertos vasculares artificiales [Br06], [Br07].

13. Posibilidades de instalación para Colombia

El desarrollo tecnológico mundial en el área de aceleradores de partículas ha llevado a instalaciones cada vez más compactas, entre otros a aceleradores como sincrotrones y anillos acumuladores “de tercera generación”, cuyos costos se van reduciendo. Se suma a esto el desarrollo de Colombia como país ya emergente, con crecimiento sostenido de su economía por largos años, en busca de creatividad e innovación tecnológica para ser competitivos internacionalmente. Se reduce así la brecha de décadas pasadas entre la tecnología de avanzada y las posibilidades de Colombia de llegar a ella.

En la Colombia de hoy es razonable pensar en tener localmente recursos de alta tecnología como aceleradores de partículas, que faciliten lograr la innovación anhelada. Hoy cabe pensar en crear en un centro de acelerador sincrotrón de partículas así:

- *Centro de Radiación de Sincrotrón a partir de un acelerador sincrotrón de tercera generación para electrones hasta 3 GeV.*

Este centro tendría principalmente carácter de servicio, tanto para las universidades, como para institutos de investigación, y en especial para la industria.

Comparativamente a la misma energía, la potencia de radiación de sincrotrón es en un factor 10^{13} mayor para electrones, que para protones. De ahí que la fuente de radiación de sincrotrón sea el sincrotrón de electrones, operando con campo magnético constante como anillo de almacenamiento de electrones a energía de hasta 2 GeV. La Figura 15 muestra un esquema de la instalación propuesta.

Se trata de un sincrotrón de forma hexagonal, que tiene en cada uno de sus vértices un electroimán dipolar que curva el haz de electrones en 60 grados. El radio de curvatura de cada uno de estos seis electroimanes es de 10 m, lo que da una distancia entre vértices opuestos del hexágono de 20 m y una distancia entre aristas opuestas (paralelas) de 17 m. Los electroimanes dipolares se limitan a desviar el haz en 60 grados y no tienen funciones de enfoque. En los extremos de cada electroimán dipolar se ubica una lente magnética para enfoque del haz, cada lente compuesta por dos cuadrupolos, rotados 90 grados entre ellos, para enfoque en las dos direcciones transversales al haz (direcciones X, Z). Se tiene así una configuración de 12 lentes magnéticas, para un total de

24 electroimanes cuadrupolares. Entre vértices los trayectos del haz son rectilíneos de 10 m de longitud, las aristas del hexágono, que dan espacio para instalar en cuatro de ellas un ondulator de 3 m de longitud, cada uno centrado en la arista. Las otras dos aristas del hexágono quedan ocupadas, una con la entrada del haz del pre acelerador Linac, otra con la cavidad de radiofrecuencia RF, que acelera las partículas.

De cada uno de los cuatro onduladores propuestos se extrae un haz de fotones, rayos-X duros, aproximadamente monocromáticos, cada uno en un cono muy colimado. Cada ondulator puede ser configurado en sus parámetros (λ_0 , D , L) de modo diferente a los otros, así que se tiene para cada estación de experimentos condiciones de rayo diferentes, acordes con las necesidades de los usuarios.

El pre acelerador es un acelerador lineal Linac de electrones de 8 m de longitud que alcanza una energía de 200 MeV, que es la energía inicial con la que ingresan los electrones al sincrotrón. Un electroimán bipolar de 90 grados desvía el haz del acelerador lineal Linac para la inyección al sincrotrón.

El anillo hexagonal opera inicialmente como acelerador sincrotrón aumentando la energía de los electrones en un factor de 10, llevándolos de 0.2 GeV hasta 2 GeV, lo que se logra aumentando el campo magnético de los dipolos. También los electroimanes cuadrupolares de las lentes magnéticas van siendo ajustados mientras va en aumento la energía de los electrones. Alcanzada la energía final, el campo magnético del acelerador se mantiene constante y la máquina opera como anillo de almacenamiento, manteniendo todos los parámetros

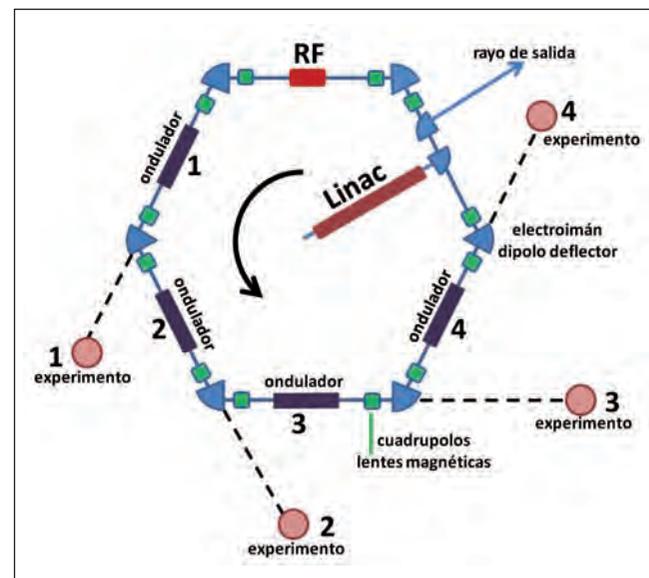


Figura 15: Instalación de fuente radiación de sincrotrón propuesta: Sincrotrón de electrones de tercera generación para electrones de energía máxima de 2 GeV. Configuración en hexágono.

constantes. La cavidad de radiofrecuencia RF permanece siempre activa, también en el modo de estado constante de anillo de almacenamiento para compensar por la energía que los electrones van perdiendo por radiación de sincrotrón.

Finalizada la operación del anillo de almacenamiento, luego de varias horas de operación, se extrae el haz de la máquina mediante un electroimán de 90 grados ubicado también en la arista de inyección. Para electrones es realizable mantener el haz circulando en el anillo por intervalos de tiempo de varias horas, aproximadamente 5 horas, luego de las cuales es necesario renovar el haz.

El haz de salida de electrones del sincrotrón puede ser utilizado también como haz principal externo y llevado a un área experimental dedicada al haz de electrones de energía hasta 2 GeV, por ejemplo para experimentos dispersión de electrones.

14. Infraestructura requerida

Instalaciones de aceleradores de partículas solo son posibles si se cuenta con una infraestructura sólida, adecuada a las exigencias, sobre la cual se pueda construir y mantener funcionando el centro propuesto. Debe tenerse en cuenta, que no se trata solo del acelerador con sus equipos de soporte para su funcionamiento, sino también de su entorno en equipos e infraestructura en los experimentos que se realicen con el acelerador. Están también el personal, sus actividades y los recursos financieros.

Detallando la infraestructura de soporte para el acelerador está:

La tecnología de vacío, porque el movimiento de las partículas solo se lleva a cabo en condiciones de alto vacío. Está el alto vacío a lo largo del anillo del sincrotrón, que en la configuración de hexágono propuesta cada arista del hexágono se evacúa independientemente, para mantener una presión de 10^{-8} Torr. Esta es una tecnología perfectamente realizable en Colombia, donde existe ya la experiencia, personal conocedor, para quienes los equipos de vacío son de fácil adquisición, instalación y mantenimiento.

La criogenia, la infraestructura de bajas temperaturas requeridas al nivel de temperaturas del nitrógeno líquido, 77.4 Kelvin. El helio líquido para temperaturas de 4.2 Kelvin no es una exigencia indispensable porque los electroimanes requeridos y la cavidad de radiofrecuencia son convencionales, no superconductores. Hoy se cuenta en Colombia con buena experiencia en bajas temperaturas, incluyendo instalaciones de criogenia para producción de nitrógeno líquido operando en muy buenas condiciones, así que este es un requisito que se cumple plenamente.⁸

⁸ Universidad de los Andes, Departamento de Física, Unidad de Criogenia, Nitrógeno Líquido. <http://fisica.uniandes.edu.co>

Electrotecnia de potencia para las instalaciones eléctricas de potencia que se requieren, adecuadas para el suministro eléctrico para electroimanes por ejemplo y para el pre-acelerador Linac que inyecta electrones al sincrotrón. En este aspecto en Colombia se tiene el conocimiento, recursos y experiencia adecuados.

Electrotecnia de radiofrecuencia para transmisores de frecuencias hasta cientos de Mega Hertz, para la cavidad de radiofrecuencia, técnica bien conocida y en permanente y muy exitosa aplicación en todos los transmisores de radio y televisión que operan en Colombia.

Electrónica, microelectrónica, computación, comunicaciones, áreas que son de perfecto dominio en el mundo moderno actual, existentes ya en Colombia.

La seguridad radiológica es parte muy importante de la infraestructura requerida. En este aspecto hay ya larga trayectoria en Colombia con las instalaciones de medicina nuclear en funcionamiento en el país, con el sistema de monitoreo y control establecido en Colombia, a cargo del Servicio Geológico Colombiano⁹, división de seguridad nuclear y protección radiológica.

La infraestructura de soporte para los experimentos en la periferia del acelerador coincide con la requerida para el acelerador mismo. Pero es claro que el centro propuesto es un centro de servicio y que son los usuarios los responsables por los experimentos que allí realicen.

En experimentos que utilizan la radiación de sincrotrón se presenta el área de detectores de partículas y radiaciones ionizantes, que ya está en Colombia en desarrollo en diversas universidades, en los grupos de investigación y desarrollo en física nuclear y de altas energías, y en los grupos de electrónica y microelectrónica. Son áreas donde ya hay interesante y notable trabajo realizado, pero donde falta el campo de acción donde utilizar estos desarrollos, como por ejemplo un centro de acelerador de radiación de sincrotrón.

15. Conclusiones

Con los nuevos desarrollos en aceleradores de partículas de tercera generación, se acercan las posibilidades de Colombia para tener las herramientas avanzadas, requeridas para ser competitivos en el mundo científico tecnológico globalizado de hoy.

Con el centro de acelerador sincrotrón se concreta de forma directa la transferencia de tecnología de los grandes laboratorios de aceleradores, donde por más de veinticinco años físicos e ingenieros colombianos han estado activos participando en

⁹ Servicio Geológico Colombiano – Seguridad Nuclear y Protección Radiológica. <http://www.sgc.gov.co/>

los experimentos de frontera en la investigación básica sobre la estructura fundamental de la materia y sobre el origen y evolución del Universo [Av10].

La propuesta de un centro de radiación de sincrotrón en Colombia resulta razonable en la actualidad. De realizarse

- sería un paso importante para lograr condiciones que permitan ser competitivo internacionalmente,
- sería un escenario para investigación y desarrollo, un punto de encuentro universidad-industria,
- sería motivo para que empresas internacionales realicen inversiones en nuestro país,
- sería contribución como generador de empleo, creando oportunidades para jóvenes altamente capacitados, para jóvenes científicos, investigadores y técnicos, quienes tendrían dónde realizar su actividad en nuestro país, para ser protagonistas del avance en ciencia, tecnología e innovación, reduciéndose así la fuga de cerebros.

La sola idea de esta “empresa”, es ya un motivador para impulsar la actividad en ciencia y tecnología, para unir esfuerzos, para acercar diversas áreas de la ciencia y la industria en torno a un gran proyecto.

Agradecimientos

El autor agradece al Grupo de Física de Altas Energías de la Universidad de los Andes y al continuo apoyo del Departamento de Física y de la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes. Agradecimientos también a COLCIENCIAS por el apoyo de largos años. Especiales agradecimientos a los laboratorios Fermilab (Batavia, Illinois, Estados Unidos) y CERN (Ginebra, Suiza), porque es con las actividades conjuntas, en el marco de las colaboraciones internacionales, que surge la motivación para el tema aquí presentado.

Referencias

Orígenes y evolución de aceleradores: Artículos históricos

- [Bo46] D. Bohm, L. Foldy, “The Theory of the Synchrotron”, *Physical Review*, Vol. 70, No. 5 and 6, September 1 and 15, 1946, p. 249 – 258.
- [Co32] J. D. Cockcroft, E. T. S. Walton, “Experiments with High Velocity Positive Ions – Further developments in the method of obtaining High Velocity Positive Ions”, *Communicated by Lord Rutherford, Proceedings of the Royal Society, A*, Vol. 136, February 23, 1932, p. 619 – 630.
- [Co52] Ernest D. Courant, Stanley Livingston, Hartland S. Snyder, “The Strong-Focusing Synchrotron – A New High Energy Accelerator”, *Physical Review*, Vol.88, No.5, December 1, 1952, p. 1190 – 1196.
- [Co57] E. D. Courant and H. S. Snyder, “Theory of the Alternating-Gradient Synchrotron”, (July 15, 1957), *Annals of Physics*, Vol. 281, 2000, p. 360 – 408.

- [Co58] Ernest D. Courant, Hartland S. Snyder, “Theory of the Alternating-Gradient Synchrotron”, *Annals of Physics*, No.3, 1958, p. 1 – 48.
- [Gr33] R. J. Van de Graaff, K. T. Compton, L. C. Van Atta, “The Electrostatic Production of High Voltage for Nuclear Investigations”, *Physical Review*, Vol. 43, No. 3, February 1, 1933, p. 149 – 157.
- [Ke40] D. W. Kerst, “Acceleration of Electrons by Magnetic Induction”, *Physical Review*, Vol. 58, November 1, 1940, p. 841.
- [Ke41] D. W. Kerst, “The Acceleration of Electrons by Magnetic Induction”, *Physical Review*, Vol. 60, July 1, 1941, p. 47 – 53.
- [Ke42] D. W. Kerst, “Electronic Orbits in the Induction Accelerator”, *Physical Review*, Vol. 60, July 1, 1941, p. 53 – 58.
- [La32] Ernest O. Lawrence, Stanley Livingston, “The Production of High Speed Light Ions without the Use of High Voltages”, *Physical Review*, Vol. 40, April 1, 1932, p. 19 – 35.
- [La36] Ernest O. Lawrence, Donald Cooksey, “On the Apparatus for the Multiple Acceleration of Light Ions to High Speeds”, *Physical Review*, Vol. 50, December 15, 1936, p. 1131 – 1140.
- [La51] Ernest O. Lawrence, “The evolution of the cyclotron”, *Nobel Lecture*, December 11, 1951.
- [Mc45] Edwin M. McMillan, “The Synchrotron – A Proposed High Energy Particle Accelerator”, *University of California, Berkeley, California, Physical Review*, September 5, 1945, p.143-144.
- [Mc46] Edwin M. McMillan, “Radiation from a Group of Electrons Moving in a Circular Orbit”, *University of California, Berkeley, California, Physical Review*, Vol.68, September 5, 1945, p.144-145.
- [SI31] David H. Sloan, Ernest O. Lawrence, “The Production of Heavy High Speed Ions without the Use of High Voltages” – (Linear Accelerator), *Physical Review*, Vol. 38, December 1, 1931, p. 2012 – 2032.
- [Ve44] Vladimir I. Veksler, “A new method of accelerating relativistic particles”, *Comptes Rendus de l’Academie Sciences de l’URSS*, Vol.43, No.8, 1944, p. 329 – 331.
- [Ve56] Vladimir I. Veksler et al., “The 10 BeV Proton Synchrotron of the Academy of Sciences USSR”, *All-Union Conference on the Physics of High Energy Particles, Academy of Sciences USSR, Moscow*, 1956.
- [Wa94] Pedro Waloschek, “The Infancy of Particle Accelerators: Life and Work of Rolf Wideröe”, *Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig, Wiesbaden*, 1994, ISBN-3-528-06586-9. DESY-Report 94-039, DESY, Hamburg, 1994, ISSN-0418-9833.
- [Wi23] Rolf Wideröe, “Wideröe’s original copy-books from 1923 to 1928”, *ETH-Libr., Zurich, Hs 903*: p. 633 – 638.

[Wi28] Rolf Wideröe, “Über ein neues Prinzip zur Herstellung hoher Spannungen”, *Archiv für Elektrotechnik*, Vol. 21, 1928, p.387.

Textos sobre aceleradores de partículas

[Co08] Mario Conte, William W. MacKay, “An Introduction to the Physics of Particle Accelerators”, World Scientific Publishing Co., Singapore, 2008, ISBN-13-978-981-277-961-8.

[Ha12] Robert W. Hamm, Marianne E. Hamm, “Industrial Accelerators and their Applications”, World Scientific Publishing Co., Singapore, 2012, ISBN-978-981-4307-04-8.

[Ja99] John David Jackson, “Classical Electrodynamics”, Third Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1999, ISBN-0-471-30932-X.

[Li62] Stanley Livingston, John P. Blewett, “Particle Accelerators”, McGraw-Hill Book Co., New York, 1962, Library of Congress Catalog Card Number 61-12960.

[Se07] Andrew Sessler, Edmund Wilson, “Engines of Discovery”, World Scientific Publishing Co., Singapore, 2007, ISBN-13-978-981-270-071-1, ISBN-10-981-270-071-4.

[Wi05] Klaus Wille, “The Physics of Particle Accelerators – An Introduction”, Oxford University Press, Oxford, 2005, ISBN-0-19-850549-3.

[Wi06] Edmund Wilson, “An Introduction to Particle Accelerators”, Oxford University Press, Oxford, 2006, ISBN-0-19-850829-8.

Aplicaciones de aceleradores y fuentes de radiación de sincrotrón

Instrumentación y métodos experimentales

[Br08] Oliver Brunke ; Kathleen Brockdorf ; Susanne Drews ; Bert Müller ; Tilman Donath ; Julia Herzen ; Felix Beckmann, “Comparison between x-ray tube-based and synchrotron radiation-based μ CT”, *Proc. SPIE 7078, Developments in X-Ray Tomography VI, 70780U* (September 16, 2008); doi:10.1117/12.794789.

[Br09] Jeff C. Bryan, “Introduction to Nuclear Science”, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, 2009, ISBN-978-1-4200-6164-2.

[Bu13] C. Bula Villarreal, B. Gómez Moreno, “Beam Hardening Correction for Signal to Thickness Calibration in Digital Radiographies with Medipix2 Detector”, *Revista Colombiana de Física*, Vol. 45, No.1 de 2013, pp. 54 – 59.

[Gr83] L. Grodzins, “Optimum energies for x-ray transmission tomography of small samples: Applications of synchrotron radiation to computerized tomography”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, Volume 206, Issue 3, 1 March 1983, Pages 541–545.

[He84] J R Helliwell, “Synchrotron X-radiation protein crystallography: instrumentation, methods and applications”, *Review Article, Reports on Progress in Physics*, Volume 47, Number 11, (1984), p.1403. doi:10.1088/0034-4885/47/11/001.

[Kr06] M. Krumrey, M. Gerlach, F. Scholze, G. Ulm, “Calibration and characterization of semiconductor X-ray detectors with synchrotron radiation”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, Volume 568, Issue 1, 30 November 2006, pp. 364–368.

[Ro12] C.F. Roa García, B. Gómez Moreno, “Tomography with Medipix2 Semiconductor Pixel Detector”, *Revista Colombiana de Física*, Vol. 43, No.2 de 2011, pp. 318 – 322.

[Ro89] Brian Rodricks, Roy Clarke, Robert Smither and Alain Fontaine, “A virtual phase CCD detector for synchrotron radiation applications”, *Review of Scientific Instruments* > Volume 60, Issue 8, 2586 (1989); <http://dx.doi.org/10.1063/1.1140675>.

Materia condensada y aplicaciones diversas

[Bu03] T Buonassisi, M Heuer, O.F Vyvenko, A.A Istratov, E.R Weber, Z Cai, B Lai, T.F Cizek, R Schindler, “Applications of synchrotron radiation X-ray techniques on the analysis of the behavior of transition metals in solar cells and single-crystalline silicon with extended defects”, *Physica B: Condensed Matter*, Volumes 340–342, 31 December 2003, pp. 1137–1141.

[So98] Y. L. Soo, S. Huang, Y. H. Kao and A. D. Compaan, “Investigation of interface morphology and composition mixing in CdTe/CdS heterojunction photovoltaic materials using synchrotron radiation”, *Journal of Applied Physics*, Volume 83, Issue 8, 1998, pp.4173, <http://dx.doi.org/10.1063/1.367171>.

Electrónica, microelectrónica e industria de semiconductores

[Be86] E.W. Becker, W. Ehrfeld, P. Hagmann, A. Maner, D. Münchmeyer, “Fabrication of microstructures with high aspect ratios and great structural heights by synchrotron radiation lithography, galvanofarming, and plastic moulding (LIGA process)”, *Microelectronic Engineering*, Volume 4, Issue 1, May 1986, Pages 35–56.

[Hi03] Yoshihiro Hirata, “LIGA process – micromachining technique using synchrotron radiation lithography – and some industrial applications”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, Ionizing Radiation and Polymers*, Volume 208, August 2003, Pages 21–26.

[Ko03] K. Kobayashi, M. Yabashi, Y. Takata, T. Tokushima, S. Shin, K. Tamasaku, D. Miwa, T. Ishikawa, H. Nohira, T. Hattori, Y. Sugita, O. Nakatsuka, A. Sakai and S. Zaima, “High resolution-high energy x-ray photoelectron spectroscopy using third-generation synchrotron radiation source, and its application to Si-high k insulator systems”, *Appl. Phys. Lett.* 83, 1005 (2003); <http://dx.doi.org/10.1063/1.1595714>.

[Pi00] P Pianetta, K Baura, A Singha, S Brennan, Jonathan Kerner, D Werho, J Wang, “Application of synchrotron radiation to TXRF analysis of metal contamination on silicon wafer surfaces”, *Proceedings of the 11th International Conference on Thin Films, Thin Solid Films*, Volume 373, Issues 1–2, 3 September 2000, Pages 222–226.

[To98] D W L Tolfree, "Microfabrication using synchrotron radiation", Reports on Progress in Physics Volume 61 Number 4, 1998, p.313.

Ciencia de materiales y aplicaciones en la industria

[Co94] David C. Copley M.A., Jeffrey W. Eberhard Ph.D., Gregory A. Mohr Ph.D., "Computed tomography part I: Introduction and industrial applications", JOM, The Journal of The Minerals, Metals & Materials Society (TMS), January 1994, Volume 46, Issue 1, pp 14-26.

[Ha08] Robert W. Hamm., "Industrial Accelerators", Reviews of Accelerator Science and Technology, Vol. 1 (2008), pp 163 – 184.

[Po97] H. F. Poulsen, S. Garbe, T. Lorentzen, D. Juul Jensen, F. W. Poulsen, N. H. Andersen, T. Frello, R. Feidenhans'l and H. Graafsma, "Applications of High-Energy Synchrotron Radiation for Structural Studies of Polycrystalline Materials", Journal of Synchrotron Radiation, Volume 4, Part 3 (May 1997), pp.147-154.

[Sp01] P. Spanne, J. F. Thovert, C. J. Jacquin, W. B. Lindquist, K. W. Jones, and P. M. Adler, "Synchrotron Computed Microtomography of Porous Media: Topology and Transports", Phys. Rev. Lett. 73, 2001.

Química

[Li10] Yuyang Li and Fei Qi, "Recent Applications of Synchrotron VUV Photoionization Mass Spectrometry: Insight into Combustion Chemistry", Accounts of Chemical Research 2010 43 (1), 68-78.

Paleontología

[Ta06] P. Tafforeau, R. Boistel, E. Boller, A. Bravin, M. Brunet, Y. Chaimanee, P. Cloetens, M. Feist, J. Hozzowska, J.-J. Jaeger, R.F. Kay, V. Lazzari, L. Marivaux, A. Nel, C. Nemoz, X. Thibault, P. Vignaud, S. Zabler, "Applications of X-ray synchrotron microtomography for non-destructive 3D studies of paleontological specimens", Applied Physics A, May 2006, Volume 83, Issue 2, pp 195-202.

Aplicaciones médicas

[Am05] Ugo Amaldi and Gerhard Kraft, "Recent applications of Synchrotrons in cancer therapy with Carbon Ions", Europhysics News, Volume 36, Number 4, July-August 2005.

[Su03] P Suortti and W Thomlinson, "Medical applications of synchrotron radiation", Physics in Medicine and Biology, Volume 48, Number 13, Received 24 January 2003, Published 17 June 2003.

Posibles aplicaciones en Colombia

[Ar12] C.A. Arredondo, W. Vallejo, J. Hernandez, G. Gordillo, "In(O,OH)S/AgInS₂ absorbent layer/buffer layer system for thin film solar cells", Photovoltaic Specialists Conference (PVSC), 38th IEEE, 3-8 June 2012.

[Be10] D. Betancourth G., J. F. Gómez C., J. C. Mosquera, L. Tirado-Mejía, "Análisis por difracción de rayos x de rocas provenientes de región esmeraldífera", Scientia et Technica, ISSN 0122-1701, Vol. 1, N°. 44, 2010, pp. 257-260. Trabajo conjunto de la Universidad Tecnológica de Pereira y la Universidad del Quindío, Colombia.

[Bo13] M. A. Botero-Londoño, G. Gordillo, C. Calderon, "Preparación y estudio de películas delgadas de ZnS y ZnS:In", Revista Colombiana de Física, Vol 45, No 2 (2013), pp.168 – 171.

[Br06] J.C.Bríceño-Triana, A.E.García-Torres, O. Solano, D.M. Sánchez, D.Piñeros, R.Beltrán, "Use of porcine small intestine submucosa conduits as a vascular graft: Initial in vivo results", ed. Lippincott Williams & Wilkins, Asaio Journal ISSN: 1058-2916, vol.52, fasc.2, 2006, pp.13A – 13A.

[Br07] J.C. Bríceño-Triana, J.A. Arias, A. Zuluaga, M. Hernández, "Hemodynamics of Carotid Stenosis: A Diagnostic Image Characterization and Computational Study", ed. Lippincott Williams & Wilkins, Asaio Journal ISSN: 1058-2916, vol.52, fasc.2, 2006, pp.57A – 57A.

[Ga08] A. A. García, P. Y. Moreno, J. A. García, L. Giraldo, J.C. Moreno-Piraján, "Estudio de parámetros estructurales en la carbonización y activación de un carbón colombiano mediante difracción de rayos X", Revista de química teórica y aplicada, ISSN 0001-9704, Vol. 65, N°. 535, 2008, pp. 230-235.

[Mo05] J. Mojica, J.J. Ipus, G.A. Pérez-Alcázar, "Caracterización de arcillas colombianas por espectroscopía Mössbauer y difracción de rayos-X", Revista de la Sociedad Colombiana de Física, ISSN-e 0120-2650, Vol. 37, N°. 1, 2005, pp. 187-190.

[Qu14] H. P. Quiroz, A. Dussan, D.A. Landínez Téllez, J. Roa-Rojas, Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá, "Caracterización del hormigón de 3000psi (20 mpa) utilizando difracción de rayos X", Cemento Hormigón, ISSN 0008-8919, N°. 961, 2014, pp. 52-55.

[Ro82] H. Rodríguez M., "Estado Actual de la I&D de las FENR en Colombia", Colciencias, 1982, pp. 263.

[Ro08] H. Rodríguez M., "Desarrollo de la energía solar en Colombia y sus perspectivas", Revista de ingeniería. Universidad de los Andes. Bogotá, Colombia., rev.ing. ISSN. 0121-4993. Nov. 2008.

[Sh02] F. Shlieper, "Análisis avanzado de componentes electrónicos y conexiones utilizando tecnología microfocus de rayos X", Revista Española de Electrónica, ISSN 0482-6396, N° 568, 2002, pp. 58-62.

Colombianos activos con Aceleradores de Partículas

[Av10] C. Ávila Bernal, B. Gómez Moreno, "Grupo de Física de Altas Energías de la Universidad de los Andes: Veinte años de investigación en la frontera de las altas energías", Colección Sello 60 Años, Universidad de los Andes, Ediciones Uniandes, Abril de 2010, ISBN 978-958-695-477-8.

Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del género *Lippia* (Verbenaceae) cultivadas en Colombia.

Elena E. Stashenko*, Jairo René Martínez, Diego Camilo Durán, Yuri Córdoba, Deyanira Caballero

CIBIMOL-CENIVAM, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

Resumen

Se presentan varios resultados obtenidos en investigaciones de aceites esenciales de especies vegetales aromáticas que crecen en Colombia, se destaca la necesidad de investigar una gran variedad de tópicos que permitan brindar el soporte científico para el desarrollo de la agroindustria de aceites esenciales, y se presentan en detalle resultados de la caracterización química y la evaluación de la capacidad antioxidante de 12 aceites esenciales de 7 especies del género *Lippia*. La determinación de la composición química de 12 aceites esenciales de plantas del género *Lippia*, por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, mostró que los constituyentes más abundantes y más frecuentes son sustancias oxigenadas. La diversidad composicional se manifiesta en la isomería óptica, en la existencia de quimiotipos con pocas sustancias en común, y en los diversos modos de atrapamiento de radicales, según lo evidenciaron los resultados de las evaluaciones de capacidad antioxidante por los métodos ORAC y TEAC. Mientras que el limoneno y el linalol se encontraron en todos los aceites, 19 de los 102 constituyentes identificados en el conjunto de aceites se hallaron en solo una ocasión. Los aceites esenciales de las especies del género *Lippia* estudiados mostraron una capacidad antioxidante mayor que la exhibida por el α -tocoferol o el BHT, que son utilizados comúnmente como antioxidantes en productos comerciales de consumo humano. Varias especies tuvieron un rendimiento de extracción relativamente alto (1,5 - 4,4%), que junto con la alta capacidad antioxidante registrada, convierte a sus aceites esenciales en buenos candidatos para sustituir a antioxidantes sintéticos.

Palabras clave: *Lippia alba*; *Lippia organoides*; quimiotipo; carvona; timol; carvacrol; ORAC

Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of essential oils of some plants from genus *Lippia* (Verbenaceae) grown in Colombia.

Abstract

Various results obtained from research on essential oils of vegetal aromatic species growing in Colombia are presented. In order to offer good scientific support to the essential oils agro-industry, the need for investigating a wide variety of topics is emphasized. Results of the chemical characterization and the antioxidant activity evaluation of 12 essential oils of 7 *Lippia* species are presented. The determination of the chemical composition of 12 essential oils of plants from genus *Lippia*, using gas chromatography coupled to mass spectrometry, showed that the most abundant and frequent constituents are oxygenated substances. The compositional diversity is manifested in optical isomers, in the existence of chemotypes with few substances in common, and in the diverse radical trapping modes, as evidenced by the ORAC and TEAC antioxidant capacity evaluations. While limonene and linalool were found in all the oils, 19 out of the 102 identified constituents of the set of oils studied were found in only one instance. The studied genus *Lippia* essential oils showed an antioxidant capacity higher than that exhibited by α -tocopherol or BHT, which are commonly used as antioxidants in commercial products for human consumption. Several species had a relatively high (1,5 - 4,4%) essential oil extraction yield, which together with their high antioxidant capacity convert these oils into good candidates to replace synthetic antioxidants.

Key words: *Lippia alba*; *Lippia organoides*; chemotype; carvone; thymol; carvacrol; ORAC

1. Introducción

En Colombia, la mayoría de los cultivos industriales, provienen de especies vegetales introducidas, *e.g.*, café, caña de azúcar, sorgo, arroz, trigo, palma africana, cítricos, entre otros. A pesar de que los pueblos nativos utilizaban -tanto con propósitos culinarios, como curativos y mágico-religiosos-,

una gran variedad de plantas, frutos, raíces y tubérculos endógenos, propios de Sur América, y que los productos de interés agro-económico y alimenticio tan importantes como papa, tomate, maíz, tabaco, batata, marañón, entre otros, fueron “transferidos” al resto del mundo, la gran mayoría de plantas medicinales y, sobre todo, aromáticas, conocidas

por el común de la gente hoy en día, son exógenas, *i.e.*, han sido -a lo largo de más de quinientos años-, introducidas a Colombia. Romero y albahacas, tomillo y mentas, anís [1], orégano [2], mejorana, ruda [3, 4], provienen del Mediterráneo; limonaria y citronela [5], jengibre, cítricos [6-8], vetiver, ylang-ylang [9-11], patchouli (pachuli) llegaron de Asia, geranio, del sur de África; pero, hoy en día, estas son plantas comunes en Colombia, asilvestradas o cultivadas, que se utilizan ampliamente con diferentes propósitos, tanto en medicina popular, como en culinaria.

Las plantas aromáticas nativas, sin embargo, han sido estudiadas menos, aunque merecen mucho mayor atención, no sólo porque algunas son escasas o en peligro de extinción, sino porque su potencial económico es alto, tanto como fuente -poco explorada-, de nuevos compuestos bioactivos, como también en calidad de materia prima y como cultivos promisorios para obtener aceites esenciales, extractos u oleorresinas, con características y aplicaciones nuevas [12-16]. El Programa Nacional para el Desarrollo de la Biotecnología y la Agroindustria en Colombia (Colciencias), CONPES 3582 y 3697, la Cadena de Plantas Aromáticas, Medicinales, Condimentarias y Afines del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, incentivan los estudios académicos y agro-industriales sobre plantas aromáticas nativas [12, 17-24], con miras a desarrollar sus cultivos tecnificados y obtener aceites esenciales. Esto permitiría crear nuevas fuentes de trabajo en el campo y generaría una oportunidad agrícola viable para la sustitución de cultivos de uso ilícito. Teniendo cultivos tecnificados -preferiblemente orgánicos-, de plantas aromáticas, que son de rápido crecimiento, se podría desarrollar una nueva industria para la obtención de sub-productos agrícolas, *e.g.*, aceites esenciales, extractos, derivados con un alto valor agregado. Esto no solamente generaría empleo, sino permitiría reemplazar muchos ingredientes naturales y sintéticos, que, en Colombia, actualmente se importan en su totalidad; a la vez, contribuiría al desarrollo de un sector agrícola moderno e innovador.

El desarrollo de la industria de aceites esenciales implica estudios no solamente a nivel agronómico y sobre la factibilidad económica y de mercados, sino, paralelamente, una investigación detallada de la composición química, propiedades físico-químicas (ficha técnica) y biológicas de los aceites esenciales obtenidos de las plantas cultivadas, introducidas o nativas. En el Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales, Aromáticas y Medicinales Tropicales, CENIVAM, se han estudiado sistemáticamente varias especies vegetales

aromáticas tanto exógenas [1-11], como nativas, entre estas, *Copaifera officinalis* [17], *Spilanthes americana* [18], *Lepechinia schiediana* [19], *Lippia alba* [20], *Xylopia aromatica* [21], *Hyptis umbrosa* [22], *Callistemon speciosus* [23] y *Lippia origanoides* [24]. En estos estudios, se ha hecho el énfasis muy especial en la comparación de métodos de extracción de metabolitos secundarios volátiles [3, 11, 17-21, 25, 26], en el análisis de aceites esenciales y fracciones volátiles por cromatografía de gases (GC) con diferentes sistemas de detección [4, 7, 18]; así mismo, en el estudio de la transformación catalítica de aceites [1, 8, 17] y en la investigación de la actividad biológica de extractos y aceites obtenidos [2, 19, 20, 23, 24, 27, 28].

Las especies vegetales aromáticas de la familia *Verbenaceae* figuran dentro de las plantas aromáticas, que se estudian, de manera sistemática, en el CENIVAM. Las Verbenáceas incluyen más de 30 géneros y alrededor de 1200 especies herbáceas, arbustos o árboles, distribuidas principalmente en zonas tropicales. Se destacan los géneros *Aloysia*, *Duranta*, *Lantana*, *Lippia*, *Petrea*, *Phyla*, *Verbena*, entre otros. Muchas plantas de esta familia poseen flores vistosas y de colores alegres.

Dentro de la familia *Verbenaceae*, el género *Lippia* llama mucho la atención de los investigadores, por la variedad de las especies que posee, diferentes quimiotipos, y sus diversos usos en medicina y culinaria [29]. Las propiedades organolépticas atractivas y actividades biológicas, *e.g.*, antifúngicas y antibacterianas, de los aceites esenciales de plantas del género *Lippia*, las convierten en buenos candidatos como ingredientes naturales en productos cosméticos y de aseo personal. Se observa una gran diversidad composicional en los aceites esenciales y extractos, obtenidos de *Lippias*; éstos poseen, además, muy variada actividad biológica [30-38].

1.1. Especies vegetales del género *Lippia*.

El género *Lippia* Houst. pertenece a la familia *Verbenaceae* Juss., y comprende alrededor de 200 especies, entre hierbas, arbustos y pequeños árboles. La palabra *Lippia* se derivó del nombre de Auguste Lippi, botánico italiano nacido en París en 1678 [39]. Las plantas de *Lippia* spp. se encuentran distribuidas por toda América del Sur, América Central y África Tropical [40]. La mayoría de las especies de *Lippia* son plantas aromáticas, con un olor penetrante; muchas de ellas, por esta propiedad, se emplean en culinaria y, por sus propiedades curativas, en medicina popular. En la **Figura 1** se presentan diversas plantas aromáticas del género *Lippia*; algunas, durante los últimos 15 años, han sido objeto de investigación del CENIVAM.

El estudio cuantitativo realizado sobre las plantas del género *Lippia* muestra que atraen la atención de investigadores en distintos países del mundo. En la base de datos de *Scopus*

*Correspondencia:

Elena E. Stashenko, elena@tucan.uis.edu.co

Recibido: 11 de marzo de 2013

Aceptado: 31 de marzo de 2014

A. *Lippia organoides***B.** *Lippia americana***C.** *Lippia micromera***D.** *Lippia dulcis***E.** *Lippia alba***F.** *Lippia graveolens*

Figura 1. **A,** Planta de orégano de monte (*Lippia organoides*, Familia Verbenácea) en florecimiento. Arbusto pequeño, leñoso, aromático, de crecimiento relativamente rápido. En Colombia, se han encontrado tres quimiotipos, ricos en timol, carvacrol o en α - y β -felandrenos. **B,** Planta de *Lippia americana* (Familia Verbenácea). Arbusto poco aromático, de crecimiento rápido, contiene aceite esencial, rico en monoterpenos (sabineno, felandrenos, limoneno, terpinenos) y sesquiterpenos (cariofileno, germacrenos). **C,** Planta de *Lippia micromera* (Familia Verbenácea), a menudo, llamada “falso orégano”; pequeño arbusto, muy aromático, de crecimiento lento. El aceite esencial contiene sabineno, limoneno, *p*-cimeno, terpineno, timol y sus éteres. **D,** Planta de *Lippia dulcis* (Familia Verbenácea) en florecimiento, llamada, a menudo, “*Lippia mexicana*” o “Hierba dulce de Aztecas”; proviene de México y América Central, aromática y de rápido crecimiento. Contiene la hernandulcina, un sesquiterpenoide, mil veces más dulce que la sacarosa, pero inestable térmicamente. **E,** Planta de pronto alivio (*Lippia alba*, Familia Verbenácea) en florecimiento. Pequeño arbusto, muy aromático, de rápido crecimiento, posee varios quimiotipos; en Colombia, se han encontrado los quimiotipos, ricos en carvona, citral y un quimiotipo híbrido (carvona + citral). Otro quimiotipo de *Lippia alba*, *i.e.*, rico en ocimenonas (tagetenonas), posiblemente, fue introducido a Colombia, proveniente de Centroamérica o Argentina. **F,** Planta de orégano mexicano (*Lippia graveolens*, Familia Verbenácea) en florecimiento. Arbusto muy aromático, de rápido crecimiento, su aceite esencial, rico en timol y carvacrol y sus éteres, posee propiedades antifúngicas y antibacterianas.

(Elsevier) aparecen 746 registros correspondientes a los años 1980-2012, sobre las especies del género *Lippia*. La mayoría de artículos científicos sobre *Lippias* han sido publicados en las siguientes revistas científicas: *Journal of Ethnopharmacology*, *Journal of Essential Oil Research*, *Revista Brasileira de Plantas Medicinales*, *Flavour and Fragrance Journal*, *Journal of Natural Products*, entre otras. Los estudios sobre *Lippias* corresponden a diferentes áreas de conocimiento, pero, fundamentalmente, se desarrollan en los campos de Agricultura y Ciencias Biológicas, Farmacología, Toxicología y Ciencias Farmacéuticas, Química, Medicina, Bioquímica, Genética y Biología Molecular. En la **Figura 2** se observa la tendencia muy marcada en el crecimiento del número de estudios sobre las especies *Lippia* spp., sus metabolitos secundarios y la actividad biológica: en los últimos 10 años, este aumento es más notorio.

Brasil, Argentina, México, EE.UU. y Suráfrica figuran entre los países donde se ha realizado el mayor número de estudios (publicados) sobre las plantas del género *Lippia* (**Figura 3**). Entre los países latinoamericanos, Colombia ocupa el puesto cuarto, con 31 artículos, después de Brasil (245), Argentina (72) y México (56) (**Figura 4**).

Los aceites esenciales, aislados de las especies del género *Lippia*, se destacan no solamente por la variedad química de sus componentes, sino por su diversa actividad biológica. Aceites esenciales y extractos, obtenidos de *Lippias*, poseen propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antifúngicas, antivirales y antioxidantes; la última actividad, quizás, es de las más estudiadas. En la **Tabla 1** aparece la información del número de publicaciones sobre distintas actividades biológicas de algunas plantas de *Lippia* spp. más estudiadas.

En la **Tabla 2** se resume la información sobre la composición química (componentes principales) y la actividad biológica más estudiada de cinco especies vegetales del género *Lippia*, algunas de las cuales han sido también el objeto de nuestro continuo estudio.

1.2. Análisis de los aceites esenciales

El análisis de los aceites esenciales comprende el estudio de tres aspectos: 1. *Análisis sensorial*, realizado por “narices” o panel de expertos entrenados en evaluar las características organolépticas del producto, apreciar su *buqué*, sus notas odoríferas placenteras u *off-flavour*. 2. *Propiedades físico-químicas*, que son pruebas estandarizadas [15], que miden características físicas del aceite, e.g., su densidad, contenido de humedad, índice de refracción, puntos de ignición y congelación, etc. y 3. *Composición química*, que se determina por cromatografía de gases (GC) con sistemas de detección de ionización en llama, GC-FID (FID, *Flame Ionization Detector*, por sus siglas en inglés) y espectrometría de masas GC-MS (MS, *Mass Spectrometry*, por sus siglas en inglés). El análisis GC-FID se emplea para hacer la cuantificación de los componentes presentes en el aceite y el análisis GC-MS, para su identificación.

El análisis cromatográfico de los aceites esenciales, que pueden contener más de 200 componentes, entre ellos, muchos isómeros, se realiza en columnas capilares largas, de 50 o 60 m, con fases estacionarias *apolar* [poli (dimetilsiloxano) o 5%-fenil-poli(dimetilsiloxano)] y *polar* [poli(etilenglicol), Carbowax]); se calculan los índices de retención lineales (LRI) en ambas columnas y se obtienen los espectros de masas por impacto de electrones (EI) con energía de 70 eV.

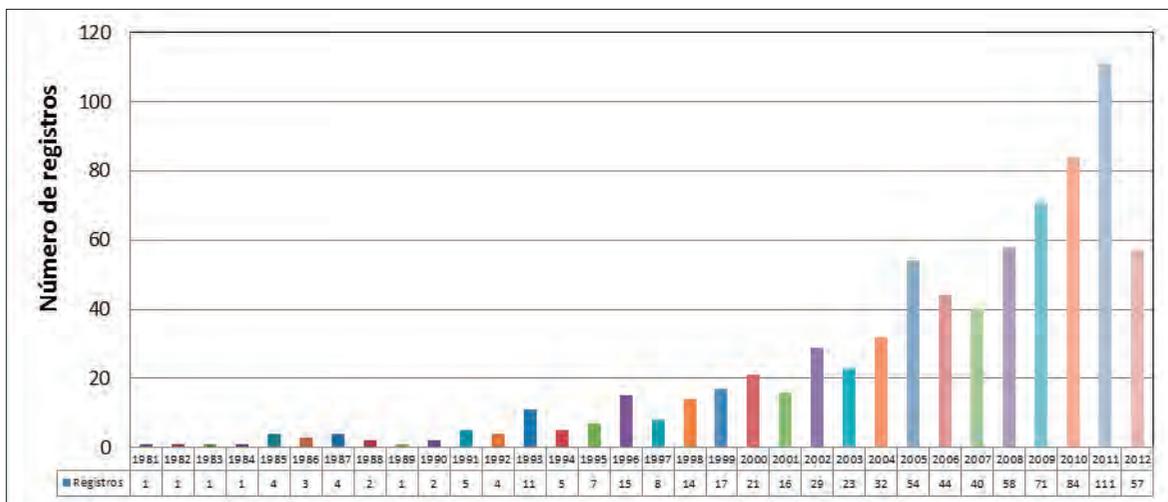


Figura 2. Número de publicaciones científicas, por año, sobre las especies del género *Lippia*. Período de observación: 1980-2012. Fecha de consulta: 27 de septiembre de 2012. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY (“Lippia” OR “Lippia sp”) AND DOCTYPE (ar) AND PUBYEAR > 1979. Base de datos: *Scopus* (Elsevier).

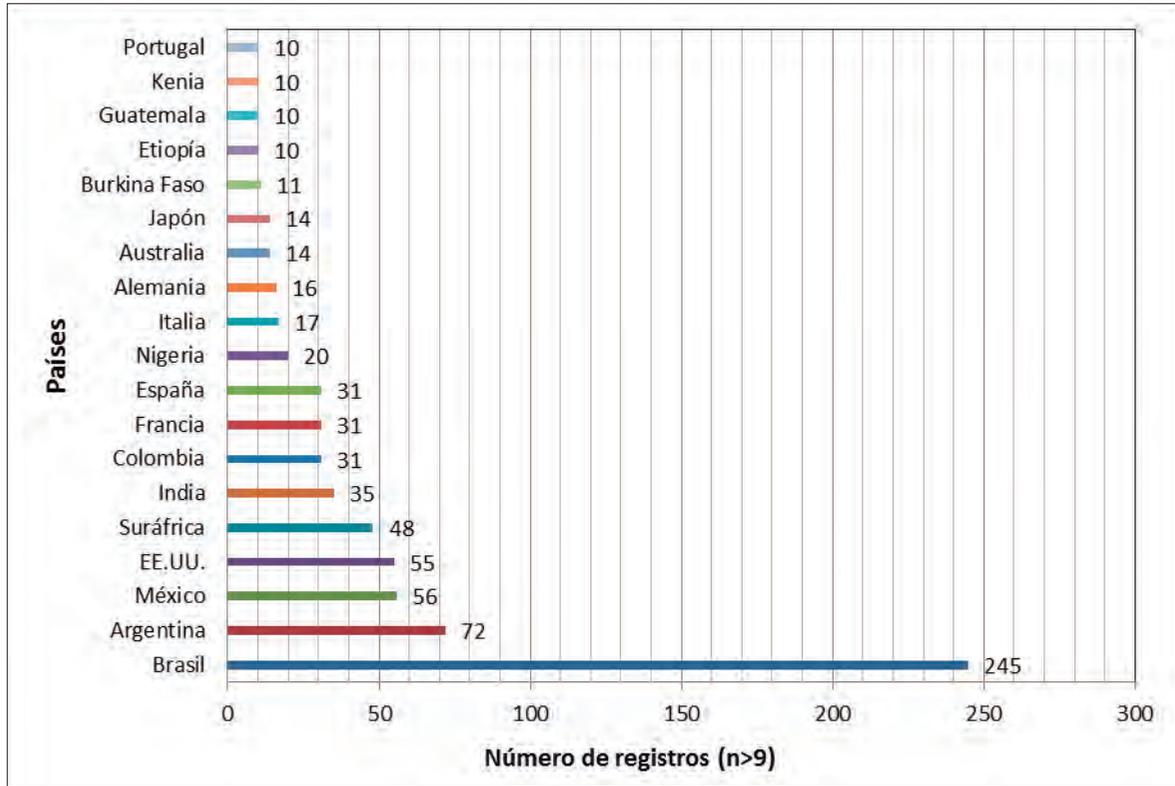


Figura 3. Número de publicaciones científicas, por país, sobre las especies del género *Lippia*. Período de observación: 1980-2012. Fecha de consulta: 27 de septiembre de 2012. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY (“Lippia” OR “Lippia sp”) AND DOCTYPE (ar) AND PUBYEAR > 1979. Base de datos: *Scopus (Elsevier)*.

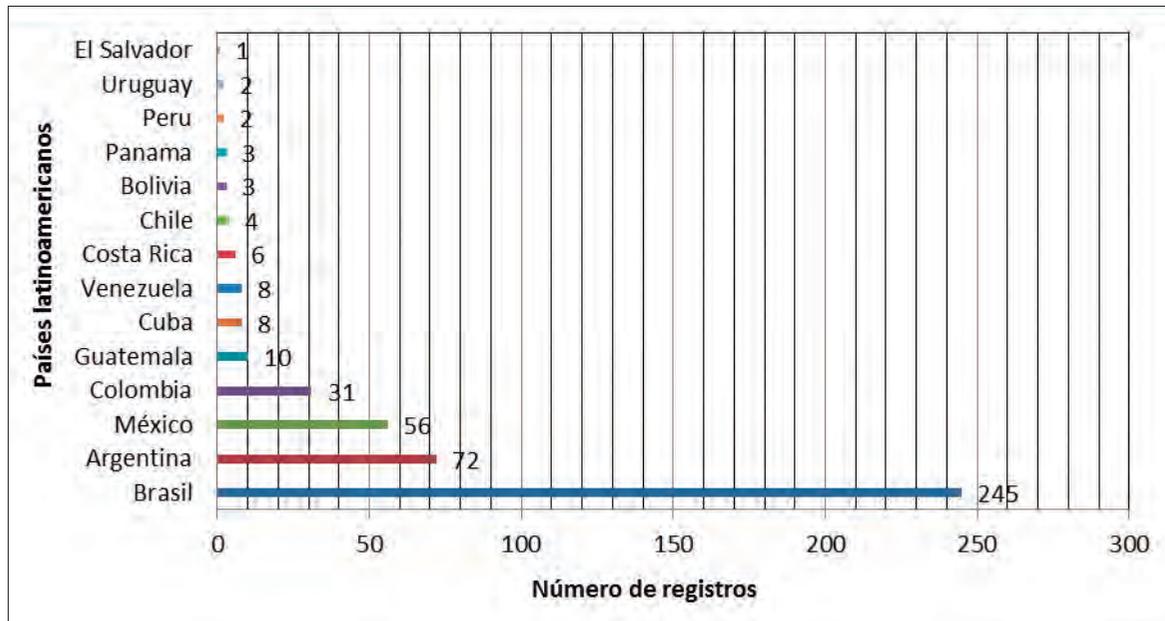


Figura 4. Número de publicaciones científicas, realizadas en los países latinoamericanos, sobre las especies del género *Lippia*. Período de observación: 1980-2012. Fecha de consulta: 27 de septiembre de 2012. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY (“Lippia” OR “Lippia sp”) AND DOCTYPE (ar) AND PUBYEAR > 1979. Base de datos: *Scopus (Elsevier)*.

Para la identificación de componentes en los aceites esenciales se utilizan sus tiempos e índices de retención y espectros de masas, se emplean bases de datos de espectros de masas (Adams, Wiley y NIST) y, para la identificación confirmatoria y la cuantificación, se requiere el uso de sustancias-patrón [41-49].

La composición química detallada de los aceites esenciales es muy importante para su evaluación sensorial, correlación con propiedades biológicas, detección de adulteraciones y determinación de origen, análisis de trazas, establecimiento del precio del producto y su aceptación en el mercado, entre otros aspectos. Por ejemplo, se han registrado –a través

Tabla 1. Número de publicaciones científicas relacionadas con el estudio de la actividad biológica de algunas plantas más estudiadas del género *Lippia*. Período de observación: 1980-2012. Fecha de consulta: 27 de septiembre de 2012. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY (“*Lippia*” OR “*Lippia sp*”) AND DOCTYPE (ar) AND PUBYEAR > 1979. Base de datos: *Scopus (Elsevier)*.

Actividad biológica	<i>Lippia alba</i>	<i>Lippia sidoides</i>	<i>Lippia multiflora</i>	<i>Lippia graveolens</i>	<i>Lippia javanica</i>	<i>Lippia turbinata</i>	<i>Lippia citriodora</i>	<i>Lippia nodiflora</i>	<i>Lippia gracilis</i>	<i>Lippia organoides</i>	<i>Lippia berlandieri</i>	<i>Lippia chevalieri</i>
Antiinflamatoria	4	3	3	-	2	-	2	3	3			
Antiviral	6	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Antioxidante	9	3	5	6	4	2	7	6	-	-	2	-
Antimicrobiana	10	10	5	12	8	4	3	3	3	2	2	3
Antifúngica	10	7	-	11	4	2	1	2	-	-	2	-
Antibacteriana	11	7	3	6	7	3	5	2	2	-	-	4
Antimalárica	-	-	6	-	3	-	-	-	-	-	-	2

Tabla 2. Estudio de la composición química y actividad biológica de las plantas de *L. sidoides*, *L. organoides*, *L. graveolens*, *L. citriodora* y *L. alba*. Período de observación: 1980-2012. Fecha de consulta: 27 de septiembre de 2012. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY (“*Lippia*” OR “*Lippia sp*”) AND DOCTYPE (ar) AND PUBYEAR > 1979. Base de datos: *Scopus (Elsevier)*.

Especie vegetal	Nº total de registros (1980-2012)	Nº de registros		Componentes mayoritarios del aceite esencial
		Países con mayor Nº de publicaciones	Actividad biológica estudiada	
<i>Lippia sidoides</i>	83	Brasil (79) Italia (2) Corea del Sur (2) EE.UU. (2)	Antimicrobiana (10) Antifúngica (10) Antibacteriana (7) Insecticida (3) Antioxidante (3)	Felandrenos, <i>p</i> -cimeno, terpinenos, carvacrol, timol, β -cariofileno
<i>Lippia organoides</i>	22	Colombia (13) Venezuela (6) Brasil (3) EE.UU. (1)	Citotóxica (3) Antimicrobiana (2) Antifúngica (2) Antigenotóxica (1) Antioxidante (2)	1,8-Cineol, timol, carvacrol, ésteres y éteres de timilo y carvacrilo, terpinenos, <i>p</i> -cimeno, felandrenos, β -cariofileno
<i>Lippia graveolens</i>	46	México (30) Brasil (7) EE.UU. (5) Guatemala (4)	Antimicrobiana (12) Antifúngica (11) Antibacteriana (6) Antioxidante (6) Antiprotozoica (2)	1,8-Cineol, felandrenos, <i>p</i> -cimeno, terpinenos, carvacrol, timol y sus éteres y ésteres, β -cariofileno
<i>Lippia citriodora</i>	47	España (11) Italia (5) Francia (4) Irán (4)	Antioxidante (7) Antibacteriana (5) Antimicrobiana (3) Antiinflamatoria (2) Antifúngica (1)	Limoneno, 1,8-cineol, geranial, neral, geraniol, nerol y sus acetatos, isómeros de fotocitral, carvacrol, α -curcumeno
<i>Lippia alba</i>	163	Brasil (100) Colombia (19) India (14) Argentina (6)	Antibacteriana (11) Antifúngica (10) Citotóxica (10) Antimicrobiana (10) Antioxidante (9)	Dependen del quimiotipo: Limoneno, <i>p</i> -cimeno, carvona, piperitona, piperitenona, geranial, neral, geraniol, nerol, linalool, β -cariofileno y su óxido, germacreno D.

de la composición química de sus aceites esenciales, varios quimiotipos de pronto alivio (*Lippia alba*); en la **Figura 5** aparece su distribución geográfica [50]. En Colombia, prevalecen quimiotipos “Carvona” y “Citral”; similarmente, en Brasil.

Para las plantas del orégano de monte (*Lippia organoides*), con base en el análisis cromatográfico detallado de sus aceites esenciales, se encontraron tres quimiotipos, llamados así por sus componentes mayoritarios: “Timol”, “Carvacrol” y “Felandreno”. El Análisis de Componentes Principales (PCA), junto con la información detallada de la composición del aceite, constituyen una herramienta base para la clasificación de quimiotipos [51]. Mientras que los aceites esenciales de los quimiotipos de *Lippia organoides* “Timol” y “Carvacrol” presentan una alta actividad antioxidante [24], el aceite esencial aislado del quimiotipo “Felandreno”, no exhibe

propiedades antioxidantes (atrapamiento de radicales libres). Para los extractos hidro-alcohólicos u obtenidos con fluido supercrítico (SFE-CO₂), se presenta un cuadro totalmente diferente. El extracto de *Lippia organoides*, quimiotipo “Felandreno”, rico en flavonoides, particularmente, en pino-cembrina, posee una alta actividad antioxidante, mientras para los extractos obtenidos de otros quimiotipos, esta actividad fue muy baja [52]. Es curioso anotar, que las plantas (flores, en particular) de *Lippia organoides*, quimiotipo “Felandreno”, se marchitan mucho más lento, que las de los otros dos quimiotipos, “Timol” y “Carvacrol”. Ello se explica, posiblemente, por el contenido alto de flavonoides en las plantas del quimiotipo “Felandreno”.

2. Materiales y métodos

2.1 Material vegetal

El material vegetal provino de colectas botánicas realizadas en diferentes localidades colombianas, bajo el permiso otorgado por el Ministerio de Ambiente (Resolución 0041 del 11 de enero de 2008) para el estudio con fines de investigación científica en diversidad biológica, con acceso a productos derivados con fines de investigación y bioprospección. La **Tabla 3** presenta los resultados de la caracterización taxonómica realizada en el Instituto de Ciencias Naturales, el número con el que se registró la copia del material vegetal depositada en el Herbario Nacional Colombiano, las localidades y departamentos en donde se hizo la colecta y el rendimiento obtenido en la extracción del aceite esencial (AE).

2.2 Materiales y reactivos

Acetato de geranilo, alcanfor, *allo*-aromadendreno, β -bourboneno, borneol, canfeno, *trans*- β -cariofileno, carvacrol, carvona, *p*-cimeno, 1,8-cineol, α -copaeno, *cis*-dihidrocarvona, *trans*-dihidrocarvona, citronelal, β -elemeno, espatunelol, eugenol, α -felandreno, β -felandreno, geranial, geraniol, germacreno D, α -humuleno, limoneno, linalol, 6-metil-5-hepten-2-ona, β -mirceno, neral, nerol, 1-octen-3-ol, óxido de cariofileno, *cis*-óxido de limoneno, α -pineno, β -pineno, piperitenona, piperitona, sabineno, α -terpineno y γ -terpineno, terpinoleno, timol, *trans*-nerolidol, y *trans*-óxido de limoneno, se obtuvieron con pureza de 98% o mayor, de Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania). Tetradecano, patrón para cromatografía, se obtuvo de Merck (Darmstadt, Alemania). Fluoresceína, ácido 2,2'-azinobis-(3-etilben-zotiazolina-ácido sulfónico) (ABTS), clorhidrato de 2,2'-azobis(2-amidinopropano) (AAPH), Trolox® (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), persulfato de potasio, α -tocoferol, y 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol (BHT), se obtuvieron de Merck (Darmstadt, Alemania). Metanol y etanol grado analítico fueron suministrados por Mallinckrodt Baker Inc. (Phillipsburgh, PA, EE.UU.). Se utilizó agua tipo I obtenida en un equipo Millipore (Millipore S. A., Molsheim, Francia).

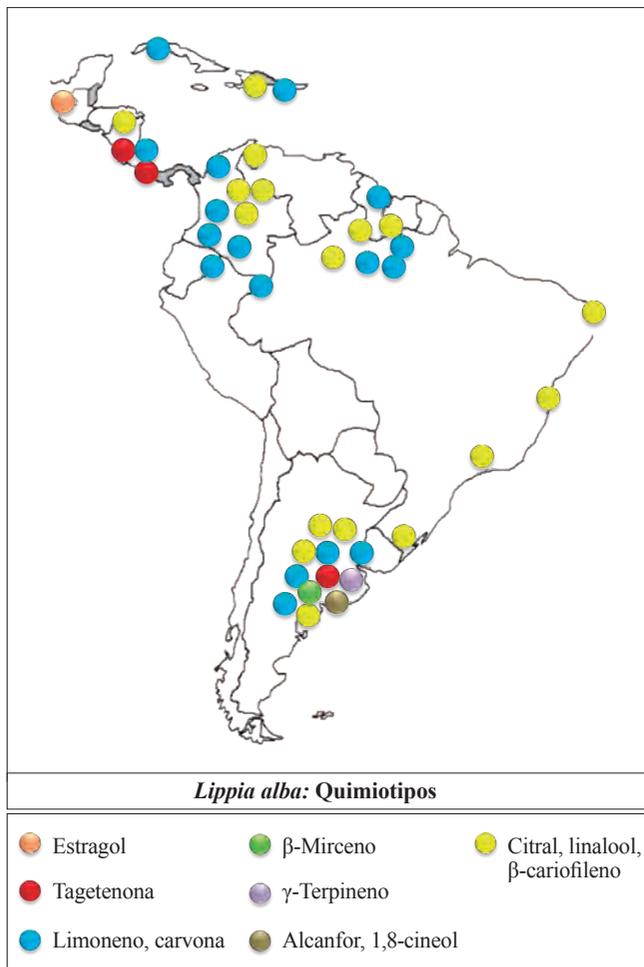


Figura 5. Distribución geográfica de quimiotipos de la especie vegetal *Lippia alba*. La asignación de quimiotipos está dada por el componente o componentes mayoritarios en el aceite esencial, según [50].

Tabla 3. Número de registro (Herbario Nacional Colombiano) y rendimiento de extracción del AE de plantas del género *Lippia sp.*, recolectadas en diferentes regiones de Colombia.

Especie	Localidad	Departamento	Número de registro	Rendimiento, % p/p
<i>L. alba</i> (carvona)	Venadillo	Tolima	520287	0,8
<i>L. alba</i> (citral)	Turbaco	Bolívar	516929	0,9
<i>L. alba</i> (carvona + citral)	Saravena	Arauca	512084	0,4
<i>L. alba</i> (mircenona)	Bucaramanga	Santander	560257	0,2
<i>L. origanoides</i> (timol)	Pedregal	Nariño	520285	3,1
<i>L. origanoides</i> (carvacrol)	Piedecuesta	Santander	516290	4,4
<i>L. origanoides</i> (felandreno)	Los Santos	Santander	516294	1,5
<i>L. citriodora</i>	Sucre	Santander	555845	0,1
<i>L. micromera</i>	Manauare	Cesar	516924	1,0
<i>L. americana</i>	Los Santos	Santander	516287	0,5
<i>L. graveolens</i>	Bucaramanga	Santander	555839	1,2
<i>L. dulcis</i>	Bucaramanga	Santander	512079	0,2

2.3 Procedimiento de extracción

La hidrodestilación asistida por la radiación de microondas empleó un horno microondas doméstico (LG, 800 W, 2,4 GHz) provisto de un orificio lateral a través del cual se acopló un condensador externo de vidrio con un balón de fondo redondo de 2 L, que contenía el material vegetal (100 – 300 g) y agua (300-500 mL), dentro del horno. El horno se operó por 3 sesiones consecutivas de 8 minutos con 30 s de descanso, lo que ocasionó la generación del vapor de agua, que junto con el aceite esencial liberado, se mantuvo en reflujo gracias al condensador. La inserción de una trampa Dean-Stark entre el condensador y el balón permitió la separación por densidad, del aceite esencial y el agua condensados.

2.4 Análisis cromatográfico

Los aceites esenciales de cada especie se analizaron en un cromatógrafo *Agilent Technologies 6890 Plus* (Palo Alto, CA, EE.UU.), acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies MSD 5973* y equipado con un puerto de inyección *split/splitless* (250°C, relación *split* 1:30) y un inyector automático *Agilent 7863*. La separación de los componentes del aceite esencial se realizó en una columna capilar de sílice fundida DB-5MS (*J&W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.), de 60 m x 0.25 mm, d.i. x 0.25 µm, d_p con fase estacionaria de 5%-fenil-poli(metilsiloxano), y otra de sílice fundida DB-WAX (*J&W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.), con fase estacionaria entrecruzada e inmovilizada de poli(etilenglicol) de 60 m x 0.25 mm, d.i. x 0.25 µm, d_p. El gas de arrastre utilizado fue helio (He, 99.9995%, Linde Colombia, S.A.), con flujo constante de 1 mL min⁻¹. La programación de temperatura del horno fue 45 °C (5 min) a 4 °C min⁻¹ hasta 150 °C (2 min) a 5 °C min⁻¹ hasta 250 °C (5 min) a 4 °C min⁻¹ hasta 150 °C (2 min) a 5 °C min⁻¹ hasta 250 °C

(5 min) y, finalmente, a 10 °C min⁻¹ hasta 275 °C (15 min). Los componentes de los aceites esenciales se identificaron por comparación de sus espectros de masas, obtenidos por GC-MS, e índices de retención (polar y apolar, calculados con base en la serie homóloga de *n*-alcanos C₉-C₂₅ (Sigma-Aldrich, St Louis, MI, EE.UU.), con los de bases de datos (Adams 2007, Wiley 138K, NIST 2002) y de patrones certificados, obtenidos bajo idénticas condiciones.

El análisis cuantitativo se efectuó utilizando un cromatógrafo *Agilent Technologies 7890A* (HP, Palo Alto, California, EE.UU.), equipado con un detector de ionización en llama (FID), con puerto de inyección *split/splitless* (250°C, relación *split* 1:30), y sistema de inyección automático *Agilent 7683 B*. La separación de los componentes del aceite esencial se realizó en una columna con fase estacionaria apolar DB-5MS (*J & W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0.25 mm, D.I. x 0.25 µm, d_p con fase estacionaria de 5%-fenil-poli(metilsiloxano). El gas de arrastre utilizado fue helio (He, 99.9995%, Linde Colombia, S.A.), con flujo constante de 1 mL min⁻¹. La programación de temperatura del horno fue 45 °C (5 min) a 4 °C min⁻¹ hasta 150 °C (2 min) a 5 °C min⁻¹ hasta 250 °C (5 min) y, finalmente, a 10 °C min⁻¹ hasta 275 °C (15 min).

2.5 Capacidad antioxidante

La determinación de la capacidad antioxidante de los AE y las sustancias de referencia se efectuó en un lector de microplacas *Turner Biosystems Inc., Modulus™ II Microplate Multimode Reader* (Sunnyvale, CA, EE. UU.), con microplacas de poli(estireno) de 96 pozos y equipado con módulos de absorbancia (UV-Vis) y fluorescencia. El llenado de las microplacas se realizó con una *Transferpette® -8/-12 Electronic* (Brand, Alemania). Las mediciones se realizaron

siguiendo dos metodologías, *i.e.*, la capacidad antioxidante total equivalente al Trolox® (TEAC) y la capacidad de absorción de los radicales de oxígeno (ORAC). Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar.

2.5.1 Método TEAC

Para evaluar la actividad antioxidante de los AE y patrones según la metodología TEAC se siguió el procedimiento reportado por Re *et. al.* [53] con algunas modificaciones realizadas por Arias [54]. Las lecturas de absorbancia se realizaron a 750 nm.

Se preparó una solución del catión-radical ABTS⁺, a partir de las soluciones de ABTS (7 mM) y persulfato de potasio (2.45 mM). La mezcla se homogeneizó en ultrasonidos por 30 min y se guardó por 24 h a 4°C, en ausencia de luz. A partir de esta solución, diariamente, se prepararon soluciones de trabajo con absorbancias 0.710 ± 0.003 . Las muestras de AE y las sustancias de referencia, se diluyeron en etanol hasta que su adición a cierto volumen de la solución de trabajo de ABTS⁺, resultara en una inhibición entre el 10 y 80% del blanco de absorbancia. La respuesta-concentración de las sustancias de referencia y AE, se calculó como porcentaje de la absorbancia del catión-radical ABTS⁺ sin inhibir (blanco de reacción), de acuerdo con la ecuación (1):

$$\text{Inhibición de } A_{\lambda:750} (\%) = \frac{1-A_f}{A_o} \times 100 \quad (1)$$

Donde:

Af: Absorbancia medida 30 min después de la adición del posible antioxidante.

Ao: Absorbancia del blanco de reacción (catión-radical sin inhibir).

Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se establecieron los valores de capacidad antioxidante equivalente al Trolox® ($\mu\text{mol Trolox®/g}$ antioxidante evaluado).

2.5.2 Método ORAC

Esta metodología se implementó con base en el procedimiento reportado por Huang *et al.* [55] y las modificaciones de Arias [54], empleando el módulo de fluorescencia con filtros para longitudes de onda de 490 nm (excitación) y 510-570 nm (emisión).

Se utilizó una solución madre de fluoresceína (FL, 0,0838mM) en *buffer* fosfato 75 mM (pH 7,4) como indicador molecular. A partir de esta se preparó, diariamente, una solución de trabajo de FL. Los radicales peroxilo se generaron a partir del AAPH (153 mM). Una vez preparadas las soluciones se almacenaron en ausencia de luz a 4°C. Posteriormente, se realizó la incubación de la muestra y la solución de FL a 37 °C por 20 minutos. Una vez finalizado el tiempo de incubación se adicionó la solución de AAPH con una pipeta multicanal *Transferpette*® en un tiempo máximo de 1 minuto.

La capacidad antirradicalaria de las muestras fue determinada con base en mediciones frecuentes de la disminución de la fluorescencia. Una vez finalizado el experimento, los datos de fluorescencia, en función del tiempo, se normalizaron con respecto al blanco de reacción (Fluorescencia inicial ^{Blanco} / Fluorescencia inicial ^{Muestra}). Luego se calculó el área bajo la curva (ABC), aplicando la ecuación (2):

$$ABC = 1 + \sum Fi/Fo \quad (2)$$

Donde:

Fi : Fluorescencia en el tiempo i

Fo: Fluorescencia inicial (0 minutos)

El valor neto de ABC se obtuvo restando el ABC del blanco de reacción del ABC de cada una de las muestras analizadas. El Trolox® se utilizó como estándar de control en las mediciones. Los valores netos de ABC calculados se extrapolaron en una curva de calibración realizada con este estándar, y los resultados se expresaron en $\mu\text{mol Trolox®/g}$ antioxidante evaluado).

3. Resultados y discusión

3.1 Análisis composicional comparativo de los aceites esenciales de siete especies del género *Lippia* y sus quimiotipos

Los aceites esenciales se obtuvieron con rendimientos entre 0,2 y 4,4% (**Tabla 3**). Se destacan los rendimientos obtenidos con los quimiotipos de la especie *L. origanoides* (1,5, 3,1 y 4,4%), ya que el valor que se obtiene con muchas especies está alrededor de 0,5%. Estos valores altos favorecen la viabilidad económica de un posible aprovechamiento a escala industrial.

El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas permitió la identificación de 102 sustancias diferentes en los 12 aceites esenciales de las especies vegetales bajo estudio (**Tabla 4**). Los componentes identificados representaron entre el 83,9% (*L. americana*) y el 99,1% (*L. micromera*) del área cromatográfica total. Los compuestos oxigenados fueron los más abundantes y constituyeron la familia de compuestos predominante en 9 de los 12 aceites esenciales. Los monoterpenos oxigenados representaron entre el 49,7 y el 71,6% de la composición de los aceites de *L. citriodora* y de los 4 quimiotipos de *L. alba*. Similarmente, compuestos oxigenados (fenilpropanoides) constituyeron entre el 47,7 y el 78,1% de la composición de los aceites de *L. micromera*, *L. graveolens* y los quimiotipos de *L. origanoides* ricos en timol y en carvacrol (Tabla 4). Los hidrocarburos sesquiterpénicos sumaron cantidades relativas de 52,3 y 54% en los aceites de *L. americana* y *L. dulcis*, respectivamente. Finalmente, los hidrocarburos monoterpénicos fueron la familia dominante (45,7%) en la composición del aceite esencial del quimiotipo de *L. origanoides* rico en felandreno.

Tabla 4. Composición química de los aceites esenciales del género *Lippia*.

Compuesto	Tipo ^a	I _R		Cantidad relativa, % ^d											
		DB-5MS ^b	DB-WAX ^c	<i>L. alba</i> -carvona	<i>L. alba</i> -citral	<i>L. alba</i> carvona-citral	<i>L. alba</i> mircenona	<i>L. origanoides</i> -timol	<i>L. origanoides</i> -carvacrol	<i>L. origanoides</i> -felandreno	<i>L. citrodora</i>	<i>L. micromera</i>	<i>L. americana</i>	<i>L. graveolens</i>	<i>L. dulcis</i>
α -Tujeno ^{e f}	MH	925	1026	-	-	-	-	1,0	1,5	0,7	-	2,8	0,8	0,4	-
α -Pinoeno ^{e f g}	MH	933	1022	-	0,2	0,1	-	0,5	0,4	2,3	0,7	1,0	-	0,1	-
Canfeno ^{e f g}	MH	946	1054	0,1	-	0,3	-	0,1	0,1	2,6	-	0,2	0,1	-	-
Sabineno ^{e f g}	MH	969	1122	-	-	-	-	0,1	0,1	0,5	1,9	0,6	7,4	-	-
1-Octen-3-ol ^{e f g}	CO	974	1350	-	-	0,1	-	0,3	0,2	0,9	1,1	-	-	0,2	-
β -Pinoeno ^{e f g}	MH	982	1108	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,5	-	-
6-Metil-5-hepten-2-ona ^{e f g}	CO	986	1241	-	5,2	1,9	-	-	-	-	1,5	-	-	-	4,9
β -Mirceno ^{e f g}	MH	988	1165	0,8	0,1	0,7	11,0	2,8	2,5	1,5	0,3	3,1	0,6	1,9	-
6-Metil-5-hepten-2-ol ^{e f}	CO	992	1365	-	0,2	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-
α -Felandreno ^{e f g}	MH	1006	1164	-	0,1	0,5	-	0,9	0,3	9,9	-	0,5	0,6	0,1	-
δ -3-Careno ^{e f}	MH	1013	1149	-	-	-	-	0,2	0,2	-	-	0,3	0,3	0,1	-
α -Terpineno ^{e f g}	MH	1022	1181	-	-	-	-	1,6	2,7	0,6	-	4,0	-	0,9	-
<i>p</i> -Cimeno ^{e f g}	MH	1029	1250	0,1	0,1	-	-	1-	12,0	11,2	-	13,1	1,2	4,8	-
Limoneno ^{e f g}	MH	1034	1200	30,2	3,2	22,4	0,9	1,2	0,4	7,2	10,7	1,1	1,7	0,2	0,3
β -Felandreno ^{e f g}	MH	1036	1210	-	0,1	-	-	1,0	0,8	6,5	-	5,0	2,6	-	-
1,8-Cineol ^{e f g}	MO	1040	1225	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	-	-
<i>trans</i> - β -Ocimeno ^{e f}	MH	1048	1253	0,3	0,3	0,5	0,3	0,2	0,4	0,6	1,8	0,2	0,5	0,1	-
3-Metil-2-ciclohexen-1-ona ^{e f}	CO	1058	1610	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,0
γ -Terpineno ^{e f g}	MH	1065	1250	-	-	-	-	5,0	9,5	1,5	-	12,5	2,6	3,6	-
<i>cis</i> -Hidrato de sabineno ^{e f}	MO	1075	1450	-	-	-	-	0,4	0,4	0,2	0,8	-	0,3	-	-
Terpinoleno ^{e f g}	MH	1090	1286	-	-	0,1	-	0,1	0,1	0,6	-	0,2	0,2	-	-
<i>p</i> -Cimeno ^{e f}	MH	1094	1338	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-
Linalol ^{e f g}	MO	1101	1553	0,3	2,0	0,6	3,1	0,7	0,3	0,9	0,7	0,2	0,2	1,1	2,5
<i>trans</i> -Hidrato de sabineno ^{e f}	MO	1106	1160	-	-	-	-	0,1	0,1	0,3	-	-	-	-	-
<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol ^{e f}	MO	1127	1580	0,4	-	0,1	-	0,1	-	0,4	0,4	-	-	-	-
<i>cis</i> -Óxido de limoneno ^{e f g}	MO	1138	1350	0,1	-	0,1	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-
<i>trans</i> -Óxido de limoneno ^{e f g}	MO	1143	1352	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-
Mircenona ^{e f}	MO	1145	1479	-	-	-	63,1	-	-	-	-	-	-	-	-
Citronelal ^{e f g}	MO	1154	1381	-	0,7	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcanfor ^{e f g}	MO	1157	1496	-	0,2	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -Crisantenol ^{e f}	MO	1163	1449	-	0,6	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epóxido de rosafurano ^{e f}	MO	1172	1509	-	1,0	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Borneol ^{e fg}	MO	1182	1709	0,3	0,8	0,6	-	-	0,1	3,1	-	0,8	0,1	-	-
Umbelulona ^{e f}	MO	1188	1652	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-	-	-
Terpinen-4-ol ^{e f}	MO	1189	1577	-	-	-	-	0,7	1,1	1,3	-	0,4	0,3	0,6	-
α -Terpineol ^{e f}	MO	1203	1705	-	-	-	-	0,1	-	1,1	1,7	0,1	-	-	-
<i>cis</i> -Dihidrocarvona ^{e fg}	MO	1204	1517	0,3	-	0,4	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-
<i>trans</i> -Dihidrocarvona ^{e fg}	MO	1212	1537	0,5	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citronelol ^{e fg}	MO	1225	1570	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6
<i>cis</i> -Ocimenona ^{e f}	MO	1230	1568	-	-	-	4,8	-	-	-	-	-	-	-	-
Nerol ^{e fg}	MO	1230	1708	-	3,0	0,7	-	-	-	-	2,0	-	-	-	-
Metil timil éter ^{e f}	CO	1232	1599	-	-	-	-	1,9	1,0	-	-	14,9	-	0,6	-
<i>trans</i> -Ocimenona ^{e f}	MO	1238	1578	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-
Neral ^{e fg}	MO	1247	1589	-	21,0	10,4	-	-	-	-	15,6	-	-	-	0,5
Carvona ^{e fg}	MO	1253	1732	50,3	-	25,3	-	-	-	-	-	-	0,7	-	1,2
Geraniol ^{e fg}	MO	1254	1755	-	6,0	-	-	-	-	-	2,7	-	-	0,3	-
Piperitona ^{e fg}	MO	1264	1641	3,1	0,1	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Geranial ^{e fg}	MO	1277	1741	-	27,0	10,4	-	-	-	-	18,9	0,5	-	-	0,8
Timol ^{e fg}	CO	1290	2193	-	-	0,1	-	54,5	9,9	0,5	-	29,1	-	64,6	-
Carvacrol ^{e fg}	CO	1304	2172	-	-	-	-	1,7	46,2	-	-	1,0	0,2	12,2	-
δ -Elemeno ^{e f}	SH	1345	1481	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	0,8
Piperitenona ^{e fg}	MO	1350	1842	6,1	-	2,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetato de timilo ^{e f}	CO	1350	1858	-	-	-	-	4,8	0,1	-	-	2,7	-	-	-
Eugenol ^{e fg}	CO	1358	2080	-	0,3	0,2	-	0,1	0,3	0,6	0,3	-	-	0,5	-
Acetato de geranilo ^{e fg}	CO	1379	1662	-	0,6	0,4	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-
α -Copaeno ^{e fg}	SH	1387	1450	-	-	0,1	-	0,1	-	0,9	0,5	-	0,8	-	8,3
β -Cubebeno ^{e f}	SH	1394	1466	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	2,2	-	-
β -Bourboneno ^{e fg}	SH	1396	1517	1,0	-	-	-	-	-	0,2	0,8	-	1,3	-	1,2
β -Elemeno ^{e fg}	SH	1398	1496	-	0,8	1,7	1,3	-	-	0,3	-	-	-	-	-
<i>trans</i> - β -Cariofileno ^{e fg}	SH	1420	1597	-	5,4	2,4	-	2,4	2,0	11,3	2,3	1,9	12,2	2,9	9,9
<i>trans</i> - β -Farneseno ^{e f}	SH	1442	1668	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	2,9
β -Gurjuneno ^{e f}	SH	1444	1447	0,1	-	0,2	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-
β -Copaeno ^{e f}	SH	1446	1607	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-
α -Guaieno ^{e f}	SH	1448	1498	-	1,4	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sesquisabineno ^{e f}	SH	1459	1647	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,7
<i>allo</i> -Aromadendreno ^{e fg}	SH	1460	1700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	2,1
γ -Muuroloeno ^{e f}	SH	1464	1709	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	1,2
α -Humuleno ^{e fg}	SH	1452	1674	-	1,6	0,5	-	1,5	1,5	6,0	-	0,2	2,6	1,5	0,7
γ -Gurjuneno ^{e f}	SH	1476	2210	0,1	0,1	0,3	-	0,1	0,1	1,0	0,5	-	1,2	-	-
γ -Muuroloeno ^{e f}	SH	1486	1697	-	-	0,1	-	0,2	0,1	1,3	-	0,2	-	-	-
<i>ar</i> -Curcumeno ^{e f}	SH	1488	1775	-	-	-	-	-	-	0,2	3,9	-	-	-	-
<i>trans</i> -Muurolo-4(15), 5-dieno ^{e f}	SH	1493	1609	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,3

Biciclosesquifelandreno ^{e f}	SH	1494	1624	3,5	1,5	8,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Germacreno D ^{e f g}	SH	1495	1719	-	-	0,1	4,5	0,1	0,1	0,7	1,4	0,4	16,3	0,3	-
α -Zingibereno ^{e f}	SH	1501	1719	-	-	-	-	-	-	0,3	0,3	-	-	-	-
Isobutanoato de geranilo ^{e f}	CO	1508	1633	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -Muuroloeno ^{e f}	SH	1508	1736	-	-	-	-	-	-	0,7	-	0,2	-	-	-
β -Selineno ^{e f}	SH	1509	1744	-	-	-	-	-	-	1,2	-	-	1,7	-	-
Biciclogermacreno ^{e f}	SH	1510	1750	0,2	-	0,7	-	0,1	0,1	-	1,3	-	5,6	-	8,0
α -Bulneseno ^{e f}	SH	1515	1627	-	0,8	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -Bisaboleno ^{e f}	SH	1515	1745	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	0,1	3,0
γ -Cadineno ^{e f}	SH	1526	1789	-	0,3	-	-	0,1	-	0,8	-	-	0,5	-	-
Cubebol ^{e f}	SO	1529	1855	0,3	0,2	0,4	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-
δ -Cadineno ^{e f}	SH	1530	1783	-	-	-	-	0,1	-	1,6	-	-	1,5	0,4	8,9
<i>trans</i> -Calameneno ^{e f}	SH	1534	1844	-	-	-	-	-	-	1,1	-	0,3	-	-	-
<i>cis</i> -Calameneno ^{e f}	SH	1536	1845	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	0,4	-	-
<i>trans</i> -Cadino-1,4-dieno ^{e f}	SH	1547	1783	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-
α -Cadineno ^{e f}	SH	1551	1799	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-
<i>trans</i> -Nerolidol ^{e f g}	SO	1566	1946	-	0,1	-	-	-	-	0,2	1,7	-	-	-	2,1
Germacreno B ^{e f}	SH	1581	1840	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,0	-	-
Germacren-4-ol ^{e f}	SO	1593	2123	-	0,1	0,2	-	-	-	-	-	-	2,8	-	-
Espatunelol ^{e f g}	SO	1595	2043	-	-	0,1	-	-	-	-	4,7	-	-	-	4,5
Óxido de cariofileno ^{e f g}	SO	1584	2005	-	2,2	0,4	-	0,4	-	2,2	5,0	0,5	2,0	0,1	3,4
<i>cis</i> -Bisabolol ^{e f}	SO	1617	1626	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epóxido de humuleno II ^{e f}	SO	1629	1964	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
Cubenol ^{e f}	SO	1636	2057	-	-	-	-	-	-	0,2	0,4	-	3,6	-	-
γ -Eudesmol ^{e f}	SO	1647	2184	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -Asarona ^{e f}	SO	1648	2314	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -Muurolool ^{e f}	SO	1658	1660	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	0,4	-	-
α -Cadinol ^{e f}	SO	1672	2219	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	1,9	-	-
α -Eudesmol ^{e f}	SO	1674	2116	-	-	-	-	-	-	1,4	-	-	-	-	-
α -Bisabolol ^{e f}	SO	1690	2229	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,1
Hidrocarburos monoterpénicos (MH)				31.5	4.1	24.6	12.6	14,7	31,0	45,7	15,4	44,9	19,1	12,2	0,3
Monoterpenos oxigenados (MO)				61.4	62.4	52.7	71.6	2,1	2,0	7,4	49,7	2,8	1,6	2,0	5,6
Compuestos oxigenados (CO)				-	6.9	2.7	0.0	63,3	57,7	2,0	4,4	47,7	0,2	78,1	7,9
Hidrocarburos sesquiterpénicos (SH)				4.9	11.9	16.2	6.6	5,3	3,9	29,1	11,0	3,2	52,3	5,3	54,0
Sesquiterpenos oxigenados (SO)				0.3	5.1	1.1	-	0,4	-	5,2	12,8	0,5	10,7	0,2	19,1

a Tipo de compuesto: hidrocarburo monoterpénico (MH), monoterpeno oxigenado (MO), compuesto oxigenados (CO), hidrocarburo sesquiterpénico (SH), sesquiterpeno oxigenado (SO)

b Índices de retención lineales determinados experimentalmente en columna DB-5MS (60 m)

c Índices de retención lineales determinados experimentalmente en columna DB-WAX (60 m)

d Promedio de tres extracciones (RSD 0,5-10%)

e Identificación tentativa basada en los índices de retención lineales

f Identificación tentativa basada en los espectros de masas (EI, 70eV)

g Identificación basada en el uso de sustancias de referencia

Al examinar las abundancias de compuestos individuales, se encontró que en 9 de los 12 aceites el constituyente mayoritario fue un compuesto oxigenado. El germacreno D (16,3%, *L. americana*) y el *trans*- β -cariofileno (9,9%, *L. dulcis*; 11,3%, *L. organoides* (felandreno)) fueron los constituyentes mayoritarios no-oxigenados. En 4 de los 12 aceites el componente mayoritario tuvo una abundancia superior al 50% (carvona, 50,3%, *L. alba*; timol, 54,5%, *L. organoides*; mircenona, 63,1%, *L. alba*; timol, 64,6%, *L. graveolens*). La mircenona se destaca porque solamente fue hallada en 1 aceite y en este fue el constituyente más abundante. El timol fue el compuesto encontrado como mayoritario con mayor frecuencia (*L. micromera*, 29,1%, *L. organoides* (timol) 54,5% y *L. graveolens* 64,6%).

El limoneno y el linalol, en cantidades relativas de 0,2 a 30,2 y 0,2 a 3,1%, respectivamente, fueron las únicas sustancias comunes a todos los 12 aceites. Les siguieron en frecuencia de aparición, el β -mircenol (0,1 – 11%) y el *trans*- β -ocimeno (0,1 – 1,8%), los cuales se detectaron en todos los aceites, a excepción del AE de *L. dulcis*. Los 4 quimiotipos de *L. alba* tuvieron solamente 4 sustancias en común (limoneno, linalol, β -mircenol y *trans*- β -ocimeno), presentes en cantidades relativas diferentes. Por otra parte, los 3 quimiotipos de *L. organoides* tuvieron 25 sustancias en común, aunque las familias de compuestos predominantes fueron diferentes; CO para los quimiotipos ricos en timol y carvacrol y SH para el quimiotipo rico en felandrenos.

El análisis de componentes principales, basado en el coeficiente de correlación, aplicado a las composiciones presentadas en la **Tabla 4**, permitió representar de una manera compacta las similitudes y diferencias composicionales entre los 12 aceites esenciales. La **Figura 6** contiene esta representación de las 12 composiciones halladas, en el espacio formado por los primeros 3 componentes principales, que representan el 55,5% de la información. Las distancias entre las posiciones de los aceites esenciales representados son inversamente proporcionales a su similitud composicional. El quimiotipo de *L. alba* que posee tanto carvona como citral (a2, en la **Figura 6**), aparece efectivamente en un sitio intermedio entre los de los quimiotipos ricos solamente en citral (a1) o carvona (a3). Los quimiotipos de *L. organoides* ricos en carvacrol (o1) o timol (o2) aparecen bastante próximos, aunque separados del quimiotipo rico en felandreno (o3), con el que poseen 25 constituyentes en común, pero de poca abundancia relativa (**Tabla 5**).

El factor 2 resultó ser el mejor discriminante según las familias de compuestos constituyentes. Los aceites cuya composición estuvo dominada por hidrocarburos mono- y sesquiterpénicos (*L. organoides*-felandreno, *L. dulcis*, *L. americana*) tuvieron valores inferiores a -4 a lo largo de este eje. En la **Figura**

6 se aprecia que se podrían tomar como discriminantes los planos con Factor 2 = -4 y Factor 2 = 0,5. Los aceites esenciales que tuvieron a los monoterpenos oxigenados como la principal familia de componentes (*L. citriodora* y los quimiotipos de *L. alba*) aparecen en esta representación con la segunda coordenada (Factor 2) superior a 0,5. O sea, a un solo lado del plano discriminante con Factor 2= 0,5. Los demás aceites esenciales, con compuestos mayoritarios oxigenados (fenilpropanoides) están ubicados en la **Figura 6** entre los 2 planos discriminantes (Factor 2 entre -4 y 0,5). Así, la representación que se obtiene con el análisis de componentes principales facilita el establecimiento de similitudes y diferencias composicionales que no son inmediatamente aparentes al leer la **Tabla 4**. Estos resultados pueden aplicarse a la comparación composicional con aceites esenciales de otras especies u otros quimiotipos.

A menudo, no es suficiente cuantificar los componentes del aceite esencial e identificarlos, es importante conocer también qué tipo de isómero óptico está presente. Por ejemplo, la carvona se encuentra en varias especies vegetales. El isómero óptico con la configuración (S)-(+)-carvona se halla en los aceites esenciales aislados de alcaravea (*Carum carvi*) (50-70%) y eneldo (*Anethum graveolens*) (40-60%); mientras que el isómero con la configuración (R)-(-), está en el aceite

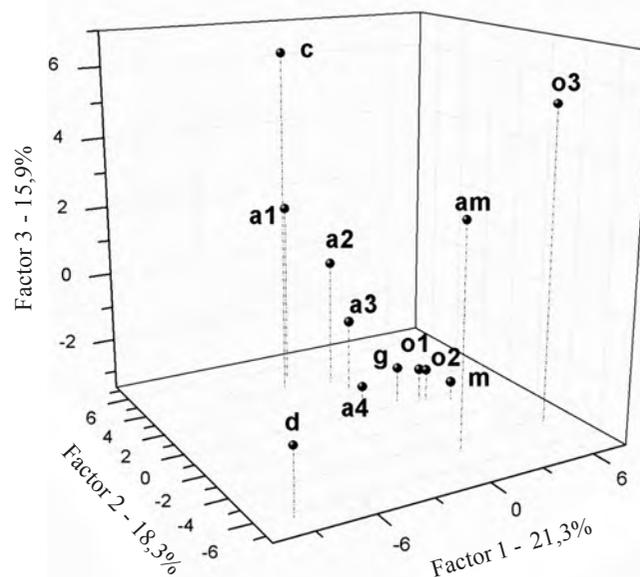


Figura 6. Representación de los aceites esenciales bajo estudio, en el sistema de coordenadas formado por los primeros 3 componentes principales, que representan el 55,5% de la varianza total de los datos de composición. c, AE de *L. citriodora*; a1, AE de *L. alba* (citral); a2, AE de *L. alba* (carvona-citral); a3, AE de *L. alba* (carvona); a4, AE de *L. alba* (mircenona); g, AE de *L. graveolens*; o1, AE de *L. organoides* (carvacrol); o2, AE de *L. organoides* (timol); m, AE de *L. micromera*; am, AE de *L. americana*; o3, AE de *L. organoides* (felandreno) y d, AE de *L. dulcis*.

destilado de *Mentha spicata* (60-70%). Los dos isómeros ópticos de la carvona son organolépticamente distintos; además, el isómero (S)-(+)-carvona es mucho más caro que su enantiómero. Uno de los quimiotipos de *Lippia alba*, que crece en Colombia, es rico en carvona. Para establecer su configuración, es decir, cuál enantiómero es, hay que hacer su análisis en una columna quiral, usando la configuración cromatográfica bidimensional (2D-GC), donde la primera columna, es “normal”, y la segunda, unida a ella a través de un conmutador-sistema de microfluidos *Deans switch*, debe ser quiral. En la **Figura 7** aparecen los cromatogramas de (A) la mezcla de (S)-(+)-carvona y (R)-(-)-carvona; (B) (S)-(+)-carvona y (C) la carvona presente en el aceite esencial de *Lippia alba*, que resulta tener la misma configuración, (4S)-(+)-carvona, que la de alcaravea (*Carum carvi*) y eneldo (*Anethum graveolens*). Es un dato interesante, ya que (S)-(+)-carvona es un enantiómero costoso, y la planta *Lippia alba* puede ser fuente para su aislamiento.

Un análisis similar por cromatografía bidimensional (2D-GC) se llevó a cabo para determinar el tipo de isómero óptico del limoneno, presente en los aceites esenciales de *L. alba*, *L. origanoides* y *L. citriodora*. Este monoterpeno en *L. alba* y *L. origanoides* tiene la configuración de R-(+)-limoneno, pero en *L. citriodora*, es su antípoda, *i.e.*, S-(-)-limoneno. La determinación de la configuración óptica de componentes principales en los aceites esenciales es importante para su denominación de origen y el análisis de posibles falsificaciones.

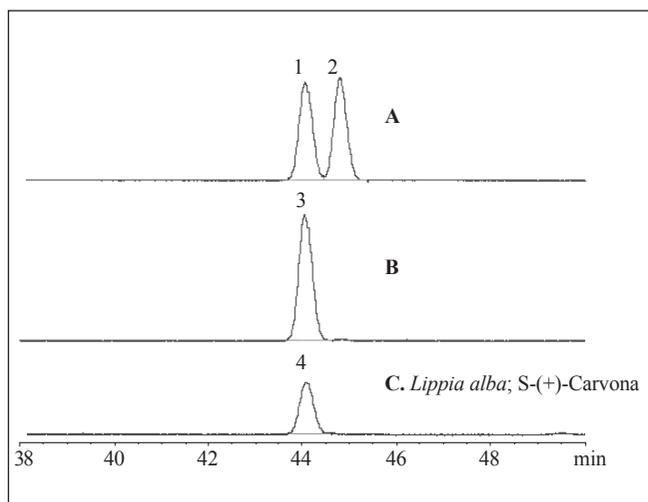


Figura 7. Perfiles cromatográficos de: **A.** Mezcla de patrones certificados de S-(+)- y R-(-)-carvona; **B.** Patrón certificado de S-(+)-carvona; **C.** Aceite esencial de *Lippia alba*. En la configuración 2D-GC, la columna capilar quiral fue GAMMA DEX™ 120 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), acoplada a un detector de ionización en llama (FID).

3.2 Estudio de la actividad antioxidante

La **Tabla 5** presenta los resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante de los aceites esenciales y algunas sustancias individuales, por los métodos ORAC y ABTS. Los aceites esenciales son mezclas complejas de sustancias con diferentes funciones químicas que pueden exhibir reactividades variadas frente a especies radicales. La competencia entre las diferentes cinéticas de reacción, modulada por las cantidades relativas de los reactivos, da como resultado la capacidad antioxidante que se determina en el ensayo. Otro aspecto a considerar es la naturaleza del ensayo. Los métodos ORAC y ABTS exploran mecanismos de atrapamiento o aniquilamiento de radicales en los cuales el paso fundamental es la transferencia protónica o la transferencia electrónica, respectivamente [56].

Los resultados de la **Tabla 5** muestran que los aceites esenciales ricos en fenilpropanoides (carvacrol, timol) mostraron un desempeño superior a los demás aceites, según los 2 métodos de evaluación empleados. La capacidad antioxidante ORAC de estos aceites fue 5 o más veces superior a la de sustancias utilizadas comúnmente en productos comerciales, tales como el BHT y el α -tocoferol. Esta superioridad se mantuvo, aunque en menor proporción, en los resultados de capacidad antioxidante TEAC. Los valores ORAC y TEAC obtenidos para la evaluación del carvacrol y el timol individualmente, fueron cercanos a los registrados para los aceites que los contienen como componentes mayoritarios. Por esto, se puede afirmar que la capacidad antioxidante evaluada por los métodos ORAC y ABTS está determinada en estos aceites por la presencia de carvacrol y timol. En los demás casos no es tan clara esta relación entre la actividad antioxidante del aceite y la de sus componentes mayoritarios. Las evaluaciones de sustancias individuales mostraron que hidrocarburos insaturados no aromáticos (*trans*- β -cariofileno, α -felandreno, γ -terpineno) pueden secuestrar radicales bajo las condiciones del ensayo ORAC (transferencia protónica), pero son completamente inactivos bajo las condiciones del ensayo ABTS (transferencia electrónica). Estos resultados son consistentes con los observados para los aceites de *L. origanoides* (felandreno) y *L. americana*, cuyos componentes mayoritarios son hidrocarburos mono- y sesquiterpénicos no oxigenados. En los casos restantes, entre los componentes de mayor abundancia se encuentran sustancias oxigenadas (geranial, neral, carvona) que podrían estabilizar una especie radical resultante de la reacción con un radical. Tal como se observó en el caso de los aceites con componentes mayoritarios no oxigenados, en los aceites ricos en geranial y neral, o carvona, la capacidad antioxidante evaluada con el método ABTS fue alrededor de 10 veces menor que la que se evaluó con el ensayo ORAC, lo que indica que en estos compuestos carbonílicos el paso determinante de la actividad antioxidante es una transferencia protónica. Según

Tabla 5. Valores de capacidad antioxidante ($\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}/\text{g}$ sustancia) obtenidos por los métodos ORAC y ABTS⁺ para los AE de especies de *Lippia* y sustancias de referencia.

Muestra	Métodos (promedio \pm s, n = 3)	
	ORAC ($\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}/\text{g}$ sustancia)	ABTS ⁺ ($\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}/\text{g}$ sustancia)
AE de <i>L. graveolens</i>	3990 \pm 58	5410 \pm 48
AE de <i>L. citriodora</i>	3630 \pm 40	41 \pm 2
AE de <i>L. origanoides</i> (carvacrol)	3400 \pm 120	5200 \pm 109
AE de <i>L. origanoides</i> (timol)	2840 \pm 72	5090 \pm 42
AE de <i>L. micromera</i>	2050 \pm 78	2750 \pm 80
AE de <i>L. alba</i> (citral)	2000 \pm 77	24.8 \pm 0.4
AE de <i>L. origanoides</i> (felandreno)	1820 \pm 82	310 \pm 2
AE de <i>L. alba</i> (carvona)	1340 \pm 54	126.4 \pm 0.7
AE de <i>L. americana</i>	1200 \pm 27	239 \pm 4
Carvacrol	3410 \pm 50	4609 \pm 6
Timol	3000 \pm 103	5700 \pm 125
<i>trans</i> - β -cariofileno	2800 \pm 109	N.D.
γ -Terpineno	1766 \pm 8	N.D.
α -Felandreno	1040 \pm 18	136 \pm 3
α -Tocoferol	550 \pm 13	2429 \pm 7
BHT	457 \pm 9	4760 \pm 23
1,8-Cineol	299 \pm 5	N.D.
<i>p</i> -Cimeno	219 \pm 2	N.D.

N.D. : No se observó disminución en la coloración

los resultados del ensayo ORAC (Tabla 5), todos los aceites esenciales evaluados tuvieron mayor capacidad antioxidante que las del BHT y del α -tocoferol y por esto, se constituyen en candidatos para utilizarse como ingredientes de productos finales, en reemplazo de antioxidantes sintéticos.

4. Conclusiones

Las sustancias oxigenadas (monoterpenos o fenilpropanoides) fueron los constituyentes más frecuentemente encontrados en los aceites esenciales de las especies del género *Lippia* estudiados y desempeñan un papel determinante en la capacidad antioxidante exhibida por estos. Los quimiotipos de *L. origanoides* ricos en carvacrol o timol tuvieron un rendimiento de extracción relativamente alto (>3%) y sus aceites esenciales mostraron una capacidad antioxidante (ORAC, TEAC) superior a la de antioxidantes bien establecidos, tales como el BHT y el α -tocoferol, usados comúnmente en productos comerciales.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen muchísimo al doctor José Luis Fernández, por la caracterización taxonómica de las plantas estudiadas; a la química Martha Cervantes, M. Sc., por las

búsquedas cuantitativas; a los químicos Ginna Arias y Carlos Ruiz, por colaboración en el trabajo experimental. Sinceras gracias a Colciencias (contratos RC 432-2004, RC-245-2011), al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (contratos 2007V3400-129, 2008V3781-3740) y a la Gobernación de Santander (Dr. Horacio Serpa Uribe) - NEOMUNDO, por la financiación de nuestras investigaciones. La recolección del material vegetal se llevó a cabo con el permiso oficial de estudio con fines de investigación científica en diversidad biológica con acceso a productos derivados con fines de investigación y bioprospección, Resolución 0041 del 11 de enero de 2008, del Ministerio del Ambiente.

6. Referencias bibliográficas

- [1]. Stashenko, E. E.; Martínez, C.R. Martínez, J.R.; Shibamoto, T. 1995. Catalytic transformation of anise Oil (*Pimpinella anisum* L.) over zeolite Y. Journal of High Resolution Chromatography, **18** (8): 501-503.
- [2]. Puertas-Mejía, M.; Hillebrand, S.; Stashenko, E.; Winterhalter, P. 2002. In vitro radical scavenging activity of essential oils from colombian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil. Journal of Flavour and Fragrance, **17**, 380-384.
- [3]. Stashenko, E. E.; Acosta, R.; Martínez, J.R. 2000. High-resolution gas chromatographic analysis of the secondary metabolites obtained by subcritical fluid extraction from Colombian rue (*Ruta graveolens* L.). Journal of Biochemical and Biophysical Methods, **43**, 379-390.
- [4]. Stashenko, E. E.; Villa, H.; Combariza, M.Y. 1995. Study of compositional variation in Colombian rue oil (*Ruta graveolens*) by HRGC using different detection systems. Journal of Microcolumn Separation, **7** (2): 117-122.
- [5]. Rodríguez, R.; Ruiz C.; Arias, G.; Castro, H.; Martínez, J.; Stashenko, E.E. 2012. Estudio comparativo de la composición de los aceites esenciales de cuatro especies del género *Cymbopogon* (Poaceae) cultivadas en Colombia. **11** (1): 440-448.
- [6]. Combariza, M. Y.; Blanco, C.; Stashenko, E.E.; Shibamoto, T. 1994. Limonene concentration in lemon (*Citrus volkameriana*) peel oil as a function of ripeness. Journal of High Resolution Chromatography, **17** (9): 643-646.
- [7]. Blanco, C.; Stashenko, E.; Combariza, M.Y.; Martínez, J.R. 1995. Comparative study of Colombian citrus oils by high resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry Journal of Chromatography A, **697**, 501-513.
- [8]. Stashenko, E.E.; Martínez, R.; Pinzón, M.E.; Ramirez, J. 1996. Changes in chemical composition of catalytically hydrogenated orange oil (*Citrus sinensis*). Journal of Chromatography A, **752**, 217-222.
- [9]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R.; Macku, C.; Shibamoto, T. 1993. HRGC and GC-MS analysis of essential oil from

- Colombian ylang-ylang (*Cananga odorata* hook fil. et Thomson, forma genuina). Journal of High Resolution Chromatography, **16** (7): 441-444.
- [10]. Stashenko, E.E.; Torres, W.; Martínez, J.R. 1995. A study of compositional variation in the essential oil of ylang-ylang (*Cananga odorata* hook. Fil. Et thomson, forma genuina) during flower development. Journal of High Resolution Chromatography, **18** (2): 101-104.
- [11]. Stashenko, E.E.; Quiroz N.; Martínez, J.R. 1996. HRGC/FID/NPD and HRGC/MSD study of Colombian ylang-ylang (*Cananga odorata*) oils obtained by different extraction techniques. Journal of High Resolution Chromatography, **19** (6): 353-358.
- [12]. García-Barriga, H.G. 1992. Flora medicinal de Colombia, Botánica médica. Tercer Mundo, Bogotá.
- [13]. Correa, J.E.; Bernal, H.Y. 1989. Especies vegetales promisorias de los países del Convenio Andrés Bello. Editorial Guadalupe, Bogotá.
- [14]. Gupta, M.P. (Ed.) 1995. 270 Plantas Medicinales Ibero-americanas. CYTED-SECAB, Presencia, Bogotá.
- [15]. Stashenko, E.E. 2010. Aceites esenciales. Publicaciones UIS, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia, 180 p.
- [16]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R. (Editores), 2012. Plantas aromáticas y aceites esenciales: estudio y aplicaciones. Publicaciones UIS, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia, 314 p.
- [17]. Stashenko, E.E.; Wiame, H.; Dassy, S.; Martínez, J.R.; Shibamoto, T. 1995. Catalytic transformation of copaiba oil (*Copaifera officinalis*) over zeolite ZSM-5. Journal of High Resolution Chromatography, **18** (1): 54-58.
- [18]. Stashenko, E.E.; Puertas, M.A.; Combariza, M.Y. 1996. Volatile secondary metabolites from *Spilanthes americana* obtained by simultaneous steam distillation - solvent extraction and supercritical fluid extraction. Journal of Chromatography A, **752**, 223-232.
- [19]. Stashenko, E.E.; Cervantes, M.; Combariza, Y.; Martínez, J.R. 1999. HRGC-FID-MSD analysis of the secondary metabolites obtained by different extraction methods from *Lepechinia schiedeana*, and evaluation of its antioxidant activity in vitro. Journal of High Resolution Chromatography, **22** (6): 343-349.
- [20]. Stashenko, E.E.; Jaramillo, B. E.; Martínez, J.R. 2004. HRGC/FID/MSD analysis of volatile secondary metabolites from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown grown in Colombia and evaluation of their in vitro antioxidant activity. Journal of Chromatography A, **1025**, 99-103.
- [21]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R.; Jaramillo, B.E. 2004. Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopiya aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. Journal of Chromatography A, **1025**, 105-113.
- [22]. Quintero A.; González de Colmenares, N.; Stashenko, E.E.; 2004. Aceite esencial de las hojas de *Hyptis umbrosa* Salzm extraído por diferentes técnicas. Acta Científica Venezolana, **55**, 181-187.
- [23]. Güette-Fernández, J.; Olivero-Verbel, J.; O'Byrne-Hoyos, I.; Jaramillo, B.; Stashenko, E. 2008. Chemical composition and toxicity against *Artemia franciscana* of the essential oil of *Callistemon speciosus* (sims) DC., collected in Bogotá (Colombia). Journal of Essential Oil Research, **20** (3): 272-275.
- [24]. Stashenko, E.E.; Ruiz, C.; Muñoz, A.; Castañeda, M.; Martínez, J. 2008. Composition and antioxidant activity of essential oils of *Lippia organoides* H.B.K. grown in Colombia. Natural Product Communications, **3** (4): 563-566.
- [25]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R. 2007. Sampling volatile compounds from natural products with headspace/solid-phase micro-extraction. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, **70** (2): 231-242.
- [26]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R.; 2008. Sampling flower scent for chromatographic analysis. Journal of Separation Science, **31**, 2022-2031.
- [27]. Meneses, R.; Ocazonez, R.; Martínez, J.R.; Stashenko, E.E. 2009. Inhibitory effect of essential oils obtained from plants grown in Colombia on yellow fever virus replication in vitro. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, **8**, 8-13.
- [28]. Bueno, J.G.; Martínez, J.R.; Stashenko, E.E.; Ribón, W. 2009. Actividad antituberculosa de plantas colombianas. Biomédica, **29**, 51-60.
- [29]. Pascual, M.E.; Slowing, K.; Carretero, E.; Sánchez, D.; Villar, A. 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. Journal of Ethnopharmacology, **76**, 73-99.
- [30]. Oladimeji, F.A.; Orafidiya, L.O.; Okeke, I.N. 2004. Physical properties and antimicrobial activities of leaf essential oil of *Lippia multiflora* Moldenke. International Journal of Aromatherapy, **14**, 162-168.
- [31]. Santiago G.M.P.; Lemos, T.L.G.; Pessoa, O.D.L.; Arriaga, A.M.C.; Matos, F.J.A.; Lima, M.A.S.; Santos, H.S.; Lima, M.C.L.; Barbosa F.G.; Luciano, J.H.S.; Silveira E.R.; Menezes, M.H.A. 2006. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) of essential oils of *Lippia* species from Brazil. Natural Product Communications, **1**, 573-576.
- [32]. Henebelle T.; Sahpaz, S.; Joseph, H.; Bailleul, F. 2008. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. Journal of Ethnopharmacology, **116**, 211-222.
- [33]. Nerio, L.S.; Olivero-Verbel, J.; Stashenko, E.E. 2009. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). Journal of Stored Products Research, **45**, 212-214.

- [34]. Dos Santos F.J.; Lopes J.A.; Cito, G.L.; de Oliveira E.H.; de Lima S.G.; de A.M. Reis, F. 2004. Composition and biological activity of essential oils from *Lippia organoides* H.B.K. *Journal of Essential Oil Research*, **16**, 504-506.
- [35]. Oliveira, D.R.; Leitão G.G.; Bizzo H.R.; Lopes, D.; Alviano, D.S.; Alviano, C.S.; Leitão, S.G. 2007. Chemical and antimicrobial analysis of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K. *Food Chemistry*, **101**, 236-240.
- [36]. Rodríguez, D.A.; Sanabria, M.E. 2005. Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniosis, la mancha sureña del maíz y los patógenos que las causan. *Interciencia*, **30** (12): 739-744.
- [37]. Velasco, J.; Rojas, J.; Salazar, P.; Rodríguez, M.; Díaz, T.; Morales, A.; Rondón, M. 2007. Antibacterial activity of the essential oil of *Lippia oreganoides* against multiresistant bacterial strains of nosocomial origin. *Natural Product Communications*, **2** (1): 85 – 88.
- [38]. Brown, M.J.; Henderson, D.E.; Hunt, C. 2006. Comparison of antioxidant properties of supercritical fluid extracts of herbs and the confirmation of pinocembrin as a principle antioxidant in Mexican Oregano (*Lippia graveolens*). *Electronic Journal of Environment, Agriculture, and Food*, **5** (2): 1265–1277.
- [39]. Huxley, A. 1992. *The New Royal Horticultural Society Dictionary of Gardening*. Macmillan Press, México.
- [40]. Verdcourt, B. 1992. *Flora of Tropical East Africa.-Verbenaceae*. CRC Press, Boca Raton, Florida, EE.UU.
- [41]. Kováts E. 1965. Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography*, **1**, 229-232.
- [42]. Davies, N.W. 1990. Chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography*, **503**, 1-24.
- [43]. Jennings, W.; Shibamoto, T. 1980. *Quantitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography*. Academic Press, New York.
- [44]. Joulain, D.; König, W.A. 1998. *The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons*. E. B. Verlag, Hamburg.
- [45]. Adams, P. 2007. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. 4th Ed., Allured Publishing, Carol Stream, IL, EE.UU.
- [46]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R. 2010. Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. *Scientia Chromatographica*, **2** (1): 29-47.
- [47]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R. 2010. Separar, fragmentar e integrar: la rutina de un análisis por GC-MS. *Patrones de fragmentación de moléculas orgánicas*. *Scientia Chromatographica*, **2** (2): 23-46.
- [48]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R. 2010. GC y GC-MS: configuración del equipo versus aplicaciones. *Scientia Chromatographica*, **2** (3): 25-51.
- [49]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R. 2010. GC-MS: Más de un analizador de masas, ¿para qué? *Scientia Chromatographica*, **2** (4): 33-59.
- [50]. Hennebelle, T.; Sahpaz, S.; Dermont, C.; Joseph, H.; Bailleul, F. 2006. The essential oil of *Lippia alba*: analysis of samples from French overseas departments and review of previous works. *Chemistry and Biodiversity*, **3**, 1116-1125.
- [51]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R.; Ruiz, C.; Arias, G.; Durán, C.; Salgar, W.; Cala, M. 2010. *Lippia organoides* chemotype differentiation base on essential oil GC-MS and principal component analysis. *Journal of Separation Science*, **33**, 93-103.
- [52]. Stashenko, E.E.; Martínez, J.R.; Cala, M.; Durán, D.C. Caballero, D. 2013. Chromatographic and mass spectroscopic characterization of essential oils and extracts from *Lippia* (Verbenaceae) aromatic plants. *Journal of Separation Science*, **36**, 192-202.
- [53]. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radicals in Biology*, **26**, 1231-1235.
- [54]. Arias, G. 2012. Estudio de la composición química y la actividad antioxidante de aceites esenciales y extractos aislados de *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* y *Lippia citriodora*, cultivadas en el municipio de Sucre (Santander). Tesis de maestría, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, 66-70.
- [55]. Huang, D.; Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Flanagan, J.; Prior, R. 2002. High-Throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 4438-2239.
- [56]. Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 1841-1856.

Biología reproductiva y placentotrofia en lagartijas del género *Mabuya*

Martha Patricia Ramírez-Pinilla

Laboratorio de Biología Reproductiva de Vertebrados,
Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

Resumen

Presento una revisión de los trabajos que desde mi laboratorio se han venido realizando sobre la biología reproductiva y la placentotrofia en varias poblaciones de lagartijas vivíparas placentotróficas del género *Mabuya*. En este grupo la ovogénesis produce huevos microlecitos y en relación a ello se encuentra la mayor complejidad placentaria conocida hasta ahora entre Reptilia que converge en muchos aspectos morfológicos y fisiológicos con la que se conoce en mamíferos euterios; sin embargo, también muestra características exclusivas muy interesantes. Esta complejidad placentaria permite una masiva transferencia desde el oviducto materno de todos los nutrientes necesarios para el desarrollo de los embriones durante los 9 a 10 meses que dura su gestación. En esta revisión nuestro la manera como una pregunta de investigación inicialmente sencilla ha permitido ahondar en la biología de este particular clado y cómo las nuevas herramientas que están ahora disponibles a las ciencias biológicas nos permitirán responder preguntas fundamentales en un futuro próximo.

Palabras clave: lecitotrofia, matrotrofia, oogenesis, placentación, reptiles escamados, viviparidad

Reproductive biology and placentotrophy in lizards of the genus *Mabuya*

Abstract

I present a review of the studies that have been made from my laboratory about the reproductive biology and placentotrophy of populations of the viviparous and placentotrophic lizards of *Mabuya* genus. In this group the oogenesis produces microlecithal eggs and related to that, it is found the highest degree of placental complexity yet known among Reptilia, which converge in several morphological and physiological aspects with those known in eutherian mammals; however, it also shows very interesting exclusive features. This placental complexity allows the transfer from the maternal oviduct of all the needed nutrients for embryo development during the 9 to 10 months of gestation. In this review I demonstrate the manner in which a research question initially simple has permitted get deeper in the biology of this particular clade and how the new tools that are now available to the biological sciences will enable us to answer fundamental questions in the near future.

Key words: Lecitotrophy, matrotrophy, oogenesis, placentation, squamate reptiles, viviparity

Dentro de las varias especies en las que se han hecho estudios desde mi laboratorio, en los últimos 15 años hemos estado trabajando junto con otros investigadores y estudiantes en la biología reproductiva de poblaciones de la lagartija vivípara del género *Mabuya* (Figura 1a). De las lagartijas presentes en Colombia, tan sólo dos clados distantes tienen la viviparidad como modo de paridad (dos especies del género *Diploglossus*, familia Anguillidae y las poblaciones del género *Mabuya*, familia Scincidae), todas las demás lagartijas son especies ovíparas. Las lagartijas del género *Mabuya* estaban agrupadas para ese entonces (1998) como *Mabuya mabouya*, nominación que se aplicaba para todas las poblaciones del territorio continental colombiano y eran las únicas lagartijas vivíparas a las que teníamos relativo fácil acceso. Mi

estudiante por ese entonces, hoy profesora del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia, Dra. Adriana Jerez, se entusiasmó con el tema y decidimos que su trabajo de grado sería justamente analizar la morfología del desarrollo de las membranas extraembrionarias con base en ejemplares de las colecciones colombianas (Jerez, 1998). El trabajo resultó muy arduo pero gratificante, no es fácil trabajar con material no fijado para análisis histológico, así que muchos de los detalles morfológicos fundamentales se

Correspondencia:

Martha Patricia Ramírez-Pinilla, mpramir@uis.edu.com, mpramir@gmail.com

Recibido: 6 de mayo de 2014

Aceptado: 3 de julio de 2014

pierden. Con base en este trabajo y lo interesante que había resultado decidimos que el tema ameritaba continuarlo, obtuve financiación para realizar un proyecto de investigación colectando material de una población de este grupo (en la vereda Guadualito del municipio de Yacopí, Cundinamarca) que la Prof. Olga Castaño del ICN me había indicado era suficientemente abundante para obtener varios ejemplares para un estudio completo de su biología reproductiva. Desarrollamos el proyecto que nos permitió obtener machos y hembras de esta población durante un año de visitas periódicas a esta zona. El objetivo inicial era estudiar la dieta y uso de microhábitat y la actividad reproductiva anual de los machos y hembras de esta población. Estos fueron dos trabajos de grado de mis estudiantes, codirigidos por mi colega ecólogo Dr. Víctor Hugo Serrano, y que posteriormente fueron publicados (Ramírez-Pinilla et al., 2002; Caicedo-Portilla et al., 2010).

Actividad reproductiva

Sorprendentemente encontramos que esta población de lagartijas estaba conformada por dos grupos de hembras que se reproducían simultáneamente, las hembras primíparas que alcanzaban el tamaño para su primera reproducción a una edad aproximada de 3 meses (60–74 mm longitud rostro cloaca) y continuaban creciendo durante la gestación, y las hembras multíparas mayores que exhibían un crecimiento más limitado. La reproducción de las hembras parecía que era no estacional y asincrónica porque teniendo una gravidez prolongada (9-10 meses) en todos los meses se encontraban hembras preñadas conteniendo embriones en diferentes estados de desarrollo. Sin embargo, los nacimientos ocurrían

solamente en los meses secos del año (enero-febrero y agosto-septiembre) lo que sugiere que tienen un patrón bimodal de reclutamiento de los neonatos a la población (Figura 1b). Las hembras multíparas tenían un patrón de crecimiento folicular preovulatorio y estaban listas para la cópula y un nuevo evento reproductivo inmediatamente después del parto, un patrón bimodal otra vez, mientras que los machos producían espermatozoides durante todo el año, estando disponibles a las dos subpoblaciones de hembras permanentemente (Figura 1b, Ramírez-Pinilla et al., 2002). Esta distribución temporal reproductiva en las hembras resultó ser sorprendente y muy particular. Otras poblaciones del género estudiadas en Brasil habían demostrado ser fuertemente estacionales en su reproducción, teniendo solo un pico anual de reclutamiento de neonatos (Rocha & Vrcibradic, 1999; Vrcibradic & Rocha, 1998).

Otro hallazgo interesante en este trabajo es que el tamaño de los ovocitos a la ovulación en la población de *Mabuya* estudiada es de 1.5 mm de diámetro (Figura 2a), similar a otras dos especies de *Mabuya* en donde se había hecho esta observación unos años antes (Vitt & Blackburn, 1983, 1991; Blackburn & Vitt, 1992). Los huevos de Reptilia se caracterizan por ser huevos con una masiva cantidad de yema o huevos telolecitos (del gr. telos, fin + lekithos, yema o vitelo); sin embargo en este clado, y como una particularidad importante asociada con la viviparidad, los huevos no acumulan casi yema y por tanto se les ha denominado como huevos microlecitos (con poca yema) y son, junto con los huevos de un clado africano placentotrófico obligado, los huevos más pequeños conocidos entre Reptilia (Tabla 1).

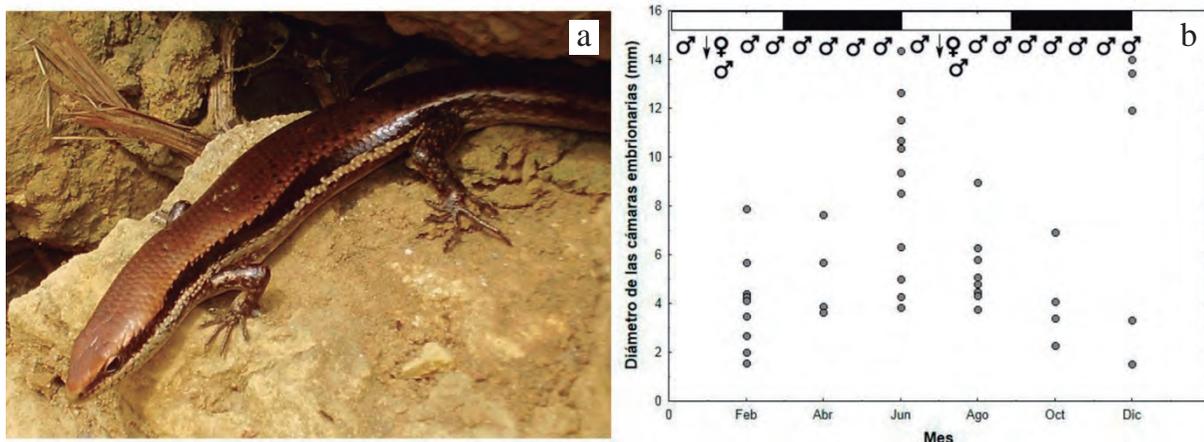


Figura 1. a. Hembra de la población de *Mabuya* de Curití, Santander. **b.** Resumen de la actividad reproductiva de la población de Yacopí, Cundinamarca. Se encuentran hembras gestantes durante todo el año; las cámaras embrionarias conteniendo los embriones más avanzados y de tamaño similar a los neonatos se encuentran en los meses de junio y diciembre al final de la temporada de lluvias (barras negras en la parte superior de la gráfica); los neonatos (flechas) aparecen durante las estaciones secas (barras blancas), así mismo las hembras son activas reproductivamente casi inmediatamente se dan los partos (signo femenino). Los machos se encuentran produciendo espermatozoides durante todo el año y por tanto son un recurso reproductivo permanente para las hembras (signo masculino).

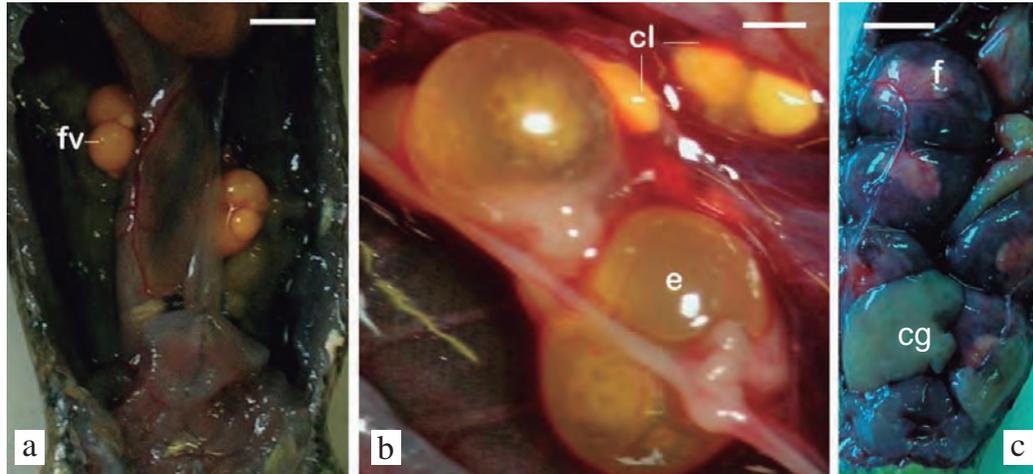


Figura 2. Observación macroscópica de los tractos reproductivos de hembras de *Mabuya* en diferentes estados reproductivos. **a.** Hembra reproductiva con folículos vitelogénicos de tamaño cercano a la ovulación. fv, folículos vitelogénicos. Barra = 5 mm. **b.** Hembra gestante con embriones oviductales en estado de gástrula. Se observa el contenido de la cámara embrionaria con un embrión mostrando una gota de grasa y el resto del contenido es acuoso producto de la hidratación una vez se da la ovulación. e, embrión; cl, cuerpos lúteos. Barra = 1 mm. **c.** Hembra gestante con cámaras embrionarias conteniendo fetos ya pigmentados y próximos a nacer. f, fetos; cg, cuerpos grasos abdominales. Barra = 10 mm.

Tabla 1. Tamaño de los huevos a la ovulación en diferentes amniotas. Se compara respecto del modo de paridad, patrón de nutrición embrionario y longitud corporal de la madre.

	Especie	Modo de paridad	Patrón de nutrición embrionaria	Diámetro del ovocito a la ovulación (mm)	Longitud corporal de la hembra	Fuente	
Reptilia	Aves	<i>Mellisuga helenae</i>	Oviparidad	Lecitotrofia, ovíparos altriciales	6 mm	60 mm	1
		<i>Parus ater</i>	Oviparidad	Lecitotrofia, ovíparos altriciales	18 mm	110 mm	1
		<i>Struthio camelus</i>	Oviparidad	Lecitotrofia, ovíparos precociales	220 mm	3000 mm	1
	Crocodylia	<i>Caiman crocodilus</i>	Oviparidad	Lecitotrofia, ovíparos precociales	70 mm	770 mm	2
		<i>Gonatodes albogularis</i>	Oviparidad	Lecitotrofia	6 mm	35 mm	3
	Squamata	<i>Niveoscincus coventryi</i>	Viviparidad	Placentotrofia facultativa	6 mm	50 mm	4
		<i>Pseudemoia entrecasteauxii</i>	Viviparidad	Placentotrofia obligada	6 mm	55 mm	5
		<i>Chalcides chalcides</i>	Viviparidad	Placentotrofia obligada	3 mm	130 mm	6
		<i>Mabuya</i> spp	Viviparidad	Placentotrofia obligada	1-2 mm	80 mm	7
		<i>Eumecia anchietae</i>	Viviparidad	Placentotrofia obligada	1 mm	160 mm	8
Mammalia	Monotremata	<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Oviparidad	Lecitotrofia y matrotrofia postparto	11 mm	430 mm	9
	Marsupialia	<i>Monodelphis domestica</i>	Viviparidad	Placentotrofia y matrotrofia postparto	0,15 mm	140 mm	10
	Eutheria	<i>Homo sapiens</i>	Viviparidad	Placentotrofia obligada y matrotrofia postparto	0,15 mm	1650 mm	

(1), Dike y Kaiser, 2010; (2), Guerrero et al., 2003; (3), Serrano-Cardozo et al., 2007; (4), Murphy et al., 2006; (5), Thompson et al., 2002; (6), Blackburn y Callard, 1997; (7) Blackburn et al., 1983; Vitt y Blackburn, 1992; Hernández-Franyutti et al., 2005; Ramírez-Pinilla, 2006; (8), Flemming y Branch, 2003; (9), Grant, 2007; (10), Selwood, 2007.

En las lagartijas de zonas estacionales ya sea en la zona templada o en el trópico se encuentra una relación entre la utilización de los cuerpos grasos abdominales almacenados por las hembras en periodos no reproductivos y el proceso de la

vitelogénesis. Este proceso permite el llenado de los folículos ováricos con lipoproteínas, vitelo o yema, que servirán para la nutrición embrionaria durante el desarrollo. Teniendo una producción de huevos microlecitos, se observó que al

examinar la acumulación de cuerpos grasos abdominales en las hembras de nuestra población de *Mabuya*, la acumulación de las grasas se da durante la gestación y su depleción ocurre no durante el proceso de vitelogénico como en otras especies sino en la última fase de la gestación, cuando las hembras tienen su cavidad abdominal completamente distendida por la presencia de entre 3 y 7 embriones en fase de crecimiento fetal y cuando no consumen alimento (Figura 2c, **Caicedo-Portilla et al.**, 2010). Por lo tanto, en esta población la relación de reservas energéticas y la reproducción era diferente a la conocida para otras especies de lagartijas; la necesidad de energía y moléculas constructoras para la reproducción era fundamental durante la gestación y no durante el periodo preovulatorio en la vitelogénesis. Esto demostraba que para este clado vivíparo, el modo de nutrición embrionaria no se basaba en las reservas acumuladas en el vitelo (lecitotrofia) sino en la transferencia maternal de los nutrientes durante el desarrollo embrionario intrauterino (matrotrofia) a través de las membranas extraembrionarias y la formación de una placenta activa en la transferencia de estos nutrientes (placentotrofia).

Placentación

La morfología e histología de las membranas extraembrionarias que permiten la formación de una placenta activa y madura había sido estudiada con base en tejidos no propiamente fijados para análisis histológico para especies brasileñas de *Mabuya* (**Blackburn**, 1992) y por nosotros en el trabajo de grado mencionado previamente. Las lagartijas de la población de Yacopí colectadas para estos dos trabajos nos dieron la oportunidad de afinar el trabajo de grado de la por entonces Bióloga Adriana Jerez y comenzar una nueva línea de trabajo con otra estudiante de pregrado, utilizando esta vez tejidos especialmente fijados para trabajo histológico (**Jerez & Ramírez-Pinilla**, 2001, 2003; **Gómez & Ramírez-Pinilla**, 2004).

La morfología de placenta madura de las poblaciones estudiadas de *Mabuya* demostró ser mucho más compleja e interesante de lo que Blackburn en sus trabajos había sugerido. Antes de comentar la particularidad hallada por nosotros hay que hacer un recuento de conceptos básicos que permitirán entender los hallazgos mencionados. La evolución del huevo amniota, que fue un paso fundamental en la conquista del ambiente terrestre por parte de los vertebrados, involucra la evolución de cuatro membranas que se desarrollan por fuera del cuerpo del embrión pero derivan de él, las membranas extraembrionarias (Figura 3a). Estas se desarrollan tanto en amniotas ovíparas como en vivíparas y en amniotas lecitotróficas como placentotróficas. De ellas el corion interviene en el intercambio de gases y agua con el ambiente, el amnios establece un ambiente específico para el desarrollo embrionario, el alantoides permite el almacenamiento de

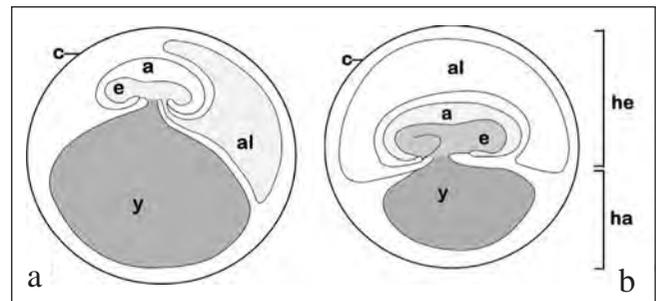


Fig. 3. a. Membranas extraembrionarias en amniotas. a, amnios; al, alantoides; c, corion; e, embrión; y, saco de la yema. b. En los escamados la posición relativa de las membranas extraembrionarias respecto de la posición del embrión define dos hemisferios dentro de la cámara embrionaria delimitada por el corion: En el hemisferio embrionario (he) se ubica el embrión (e) en desarrollo envuelto en el amnios (a); asimismo el alantoides (al) se expande por encima de la región dorsal del embrión adosándose al corion (c). En el hemisferio abembriónico (ha) se localiza el saco de la yema que en reptiles lecitotróficos y placentotróficos no extremos contiene el vitelo del que se nutrirá el embrión. En *Mabuya* este saco de la yema es pequeño, no contiene yema y por el contrario aparece lleno de material acuoso, como es observado también en mamíferos euterios.

desechos y, en los amniotas vivíparas lecitotróficas, el saco de la yema permite la transferencia de los nutrientes al embrión a partir de la yema (**Thompson et al.**, 2002).

En los amniotas vivíparas placentotróficas (mamíferos euterios y cinco clados de lagartijas de la familia Scincidae, uno de ellos *Mabuya*) la provisión de los nutrientes que es posterior a la ovulación ocurre a partir del oviducto materno hacia el embrión atravesando por al menos una de estas membranas extraembrionarias. La conjunción de los tejidos maternos, el oviducto, y las membranas extraembrionarias forman lo que denominamos placenta. La placenta permite entonces la interacción de órganos fetales (las membranas extraembrionarias) y maternos (el oviducto) para permitir el intercambio fisiológico.

La organización de las membranas extraembrionarias respecto del oviducto materno permite definir dos tipos de placentas en amniotas: 1) onfaloplacentas que son las derivadas de la conjunción del saco de la yema y el corion y se ubican en el hemisferio abembriónico, y 2) las alantoplacentas formadas por la conjunción del alantoides con el corion, y su relación con el oviducto materno y se ubican en el hemisferio embrionario (Figura 3b). Las onfaloplacentas son características de las placentas en la mayoría de los lagartos vivíparas lecitotróficos y placentotróficos, en los mamíferos marsupiales en donde permanecen durante la mayor parte de su breve desarrollo embrionario, y son sólo transitorias en los lagartos vivíparas placentotróficos extremos como en *Mabuya*. Las alantoplacentas son características de los

mamíferos euterios en donde son las que permiten el masivo intercambio de nutrientes propio de este grupo y también se encuentran en todos los lagartos vivíparos principalmente implicadas en el intercambio gaseoso.

En *Mabuya*, la alantoplacenta o placenta derivada del corioalantoides es morfológica y fisiológicamente la más especializada placenta conocida entre Reptilia y converge en el grado de complejidad y de placentotrofia con la conocida en los mamíferos euterios. La placenta madura de *Mabuya* tiene especializaciones morfológicas complejas exclusivas de este clado: 1) un placentoma altamente elaborado con una fuerte interdigitación de los tejidos maternos y fetales, en donde se destaca un arreglo sincitial del epitelio uterino frente a un epitelio coriónico biestratificado especializado; 2) una zona que rodea al placentoma, denominada paraplacentoma, delimitada por un pliegue coriónico; 3) areolas coriónicas que reciben materiales nutritivos del epitelio uterino a partir especialmente de glándulas endometriales, 4) placas de absorción o áreas redondeadas y pequeñas formadas por células coriónicas hipertrofiadas en aposición a células epiteliales columnares secretoras del endometrio; 5) segmentos respiratorios, o áreas de atenuación de los epitelios del corion y endometriales de manera que los capilares sanguíneos uterinos y del corioalantoides quedan en una muy cercana proximidad (Figura 4 a, b, c). Las cuatro primeras especializaciones de la alantoplacenta estarían relacionadas con el intercambio de materiales nutritivos por procesos como la histotrofia, la quinta especialización con el intercambio de gases entre el embrión y el útero materno (Jerez & Ramírez-Pinilla, 2001; Ramírez-Pinilla, 2010). Cabe resaltar que ninguna placenta de mamíferos euterios reúne simultáneamente toda esta serie de especializaciones morfológicas como las que se encuentran en *Mabuya*.

Ya que contábamos con hembras preñadas en todos los estados de gestación, decidimos estudiar cómo era el desarrollo de esta placenta compleja y si el desarrollo de la placentación en este clado difería del resto de los reptiles y de mamíferos (Jerez & Ramírez-Pinilla, 2003). Los análisis topológicos e histológicos de las cámaras de incubación (los embriones en sus membranas extraembrionarias dentro del oviducto materno) mostraron una secuencia de desarrollo de membranas embrionarias que es compartida por todos los amniotas y una secuencia placentar similar con otros reptiles escamados. Eso implica que el patrón de desarrollo de las membranas extraembrionarias sería evolutivamente conservativo; básicamente las placentas de los amniotas son similares debido a que se constituyen por tejidos homólogos. Sin embargo, éstas han evolucionado independientemente en múltiples oportunidades siguiendo trayectorias convergentes o paralelas (Blackburn, 1992; Stewart y Thompson, 2003). Se encontró que en *Mabuya* la secuencia placentar (placenta bilaminar del saco de la yema, corioplacenta y alantoplacenta)

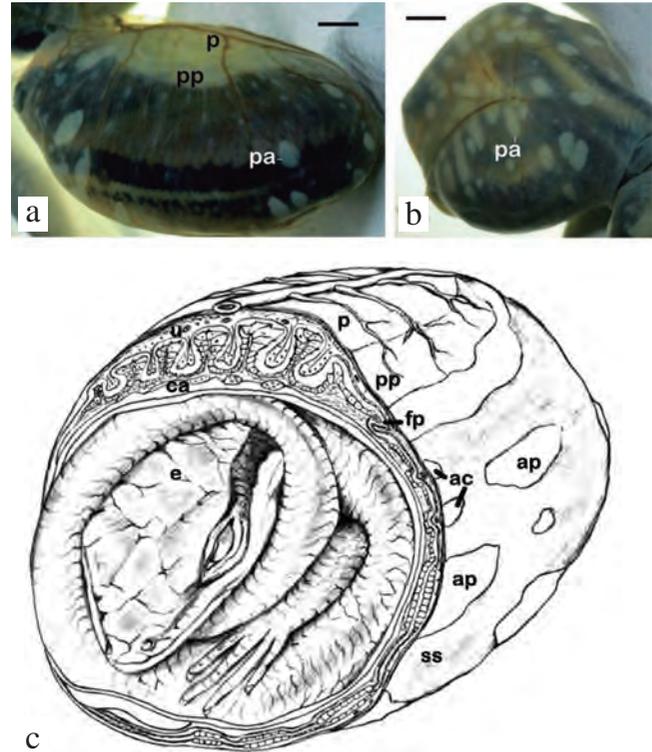


Figura 4. Cámara embrionaria de *Mabuya* en estados avanzados de gestación durante la fase de crecimiento fetal. **a.** La fotografía muestra el hemisferio embrionario de la cámara donde se pueden observar el placentoma (p), paraplacentoma (pp) y las placas de absorción (pa) de diferentes tamaños inmersas en los segmentos respiratorios. Se ve claramente la vascularización oviductal que irradia sobre el placentoma. Barra = 5 mm. **b.** Se observa el hemisferio abembriónico de la cámara y el feto en vista ventral. No se distingue saco de la yema pues es muy pequeño y está unido al cuerpo del embrión. Se pueden distinguir claramente las placas de absorción derivadas del corioalantoides que rodean por completo la cámara embrionaria. **c.** Interpretación gráfica de la cámara embrionaria mostrando las especializaciones de la alantoplacenta. ac, areolas coriónicas, ss, segmentos respiratorios; fp, pliegue del paraplacentoma que lo separa del resto de la cámara embrionaria.

permite la absorción de nutrientes desde el principio del desarrollo embrionario. Esto es, la placentotrofia ocurre desde el inicio mismo del desarrollo como así ocurre en mamíferos euterios, lo que indica que la placentotrofia en este clado es extrema y obligada: todo el desarrollo embrionario depende básicamente de la transferencia placentar de nutrientes.

Ovogénesis y placentación

Este patrón de desarrollo embrionario es entonces concomitante con la reducción en la acumulación de vitelo en los ovocitos y la formación de huevos microlecitos. Por lo tanto, la ovogénesis en este clado debería tener cambios fundamentales. La pregunta entonces era, ¿cómo es la

morfología ovárica y el proceso de ovogénesis en *Mabuya*? Nuestro trabajo entonces se enfocó en estudiar la ovogénesis inicialmente en las lagartijas de nuestra población de Yacopí (Gómez & Ramírez-Pinilla, 2004). Dentro de los vertebrados hay varios clados en donde ha evolucionado la viviparidad y la nutrición embrionaria que reemplaza la lecitotrofia; por lo tanto, hay una supresión gradual de la síntesis de lipoproteínas de la yema en relación con la adquisición de recursos alternativos de aporte nutricional al embrión en desarrollo. Se ha observado que el grado de inhibición del proceso de la vitelogénesis se correlaciona directamente con el grado de complejidad de los mecanismos de transferencia de nutrientes desde el útero al embrión (Callard y Ho, 1987). El extremo de esta tendencia es la supresión total de la provisión de yema que se observa en los mamíferos euterios. Nuestro trabajo demostró que la estructura ovárica y el proceso de ovogénesis son conservados en *Mabuya* respecto de los vertebrados y particularmente respecto de los escamados. Los primeros estados del proceso de vitelogénico se conservaban; sin embargo, la vitelogénesis era corta sugiriendo que el proceso se truncaba, provocando la ovulación de huevos muy pequeños. Un hallazgo importante se relacionó con la pregunta de si los cuerpos lúteos, responsables de la secreción de progesterona y con ello del mantenimiento de los embriones dentro del oviducto durante la gestación, se mantenían durante toda la gestación como un recurso permanente de esta hormona o no. Los resultados mostraron que por el contrario, los cuerpos lúteos entraban en luteólisis (degradación) muy temprano durante el desarrollo de la gestación y que por tanto el recurso de progesterona debería ser aportado por algún tejido extra-luteal, posiblemente la placenta como ocurre en mamíferos.

Inferencia morfológica-función

Estos trabajos nos habían mostrado muy interesantes resultados pero deberíamos tener una mucha mejor resolución a nivel histológico que nos permitiera hacer más inferencias de morfológica-función tanto para la placenta como para el ovario en este clado. Los tejidos de las hembras de la localidad de Yacopí también fueron fijados para trabajar con microscopía electrónica de transmisión. En este campo la experta era la profesora Gloria de Pérez. Por lo tanto, junto a ella y un par de estudiantes de pregrado realizamos estudios paralelos de la placenta madura y del ovario pero a nivel de microscopía óptica de alta resolución y de ultraestructura en los laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia en Bogotá. Este nivel de resolución nos permitió afinar sustancialmente nuestras observaciones.

Para el caso de la placenta encontramos que cada una de las especializaciones descritas tendría funciones de absorción de nutrientes cada una con mecanismos particulares y posiblemente en la síntesis de hormonas y proteínas. Así,

en el placentoma (Figura 5a) las características citológicas indican una transferencia de nutrientes a través de una extensiva red de microvellosidades interdigitadas entre los epitelios embrionario y uterino, en el paraplacentoma (Figura 5b) la transferencia de nutrientes pareciera centrarse en una masiva transferencia de lípidos y de derivados de glándulas endometriales; en las areolas coriónicas (Figura 5c) el epitelio coriónico absorbe grandes cantidades de secreciones tanto de las glándulas endometriales como de desechos celulares por lisis celular de algunas de las células de los epitelios uterino y coriónico; en las placas de absorción se establece un sistema de relación diferente entre los epitelios materno y fetal (Figura 5c), acá los epitelios están firmemente adheridos y sus ápices celulares exhiben gránulos electrodensos que pueden estar relacionados con funciones autocrinas o paracrinas; finalmente, en los segmentos respiratorios la poca distancia interhemal entre los tejidos maternos y fetales confirmaba su función en el intercambio respiratorio de gases. Así, las características citológicas e histológicas nos estaban mostrando que cada una de las especializaciones de la alantoplacenta de *Mabuya* tenía una relación diferente entre los tejidos maternos y fetales sugiriendo diferentes mecanismos localizados de transferencia y producción de sustancias entre madre y feto y posiblemente también en la otra dirección. Sin embargo, una característica común encontrada en toda la superficie de la cámara de incubación fue la presencia de gotas de lípidos en los epitelios interactuantes; esto sugiere que los lípidos pueden ser transferidos a través de toda la alantoplacenta independientemente de la especialización morfológica encontrada, y que la transferencia placentar de lípidos puede ser la principal fuente de energía y recursos lipoprotéicos en este clado (Ramírez-Pinilla et al., 2006).

Con base en una característica morfológica interesante hallada en el placentoma, enfocamos nuestra atención a la ultraestructura de esta región que parecía la más compleja entre las especializaciones de la placenta de *Mabuya*. Para entonces habíamos encontrado una nueva población de *Mabuya* que nos proveería de más material para poder hacer comparaciones interpoblacionales. Esta población era de la zona del municipio de Curití en Santander, sustancialmente más cerca que nuestra antigua población de *Mabuya*. En el placentoma de cámaras embrionarias con embriones avanzados algunas células coriónicas que interdigitan mediante vellosidades y microvellosidades con el sincitio epitelial del útero invaden este sincitio mediante prolongaciones citoplasmáticas complejas. Estas prolongaciones entran en contacto con los capilares uterinos mediante un sistema complejo de doble membrana que rodea el capilar. Esta relación cercana entre la circulación materna y el corion sugiere que en el placentoma se forma una placenta endoteliochorial muy particular (Figura 6a, b). Este descubrimiento constituye el primer ejemplo documentado

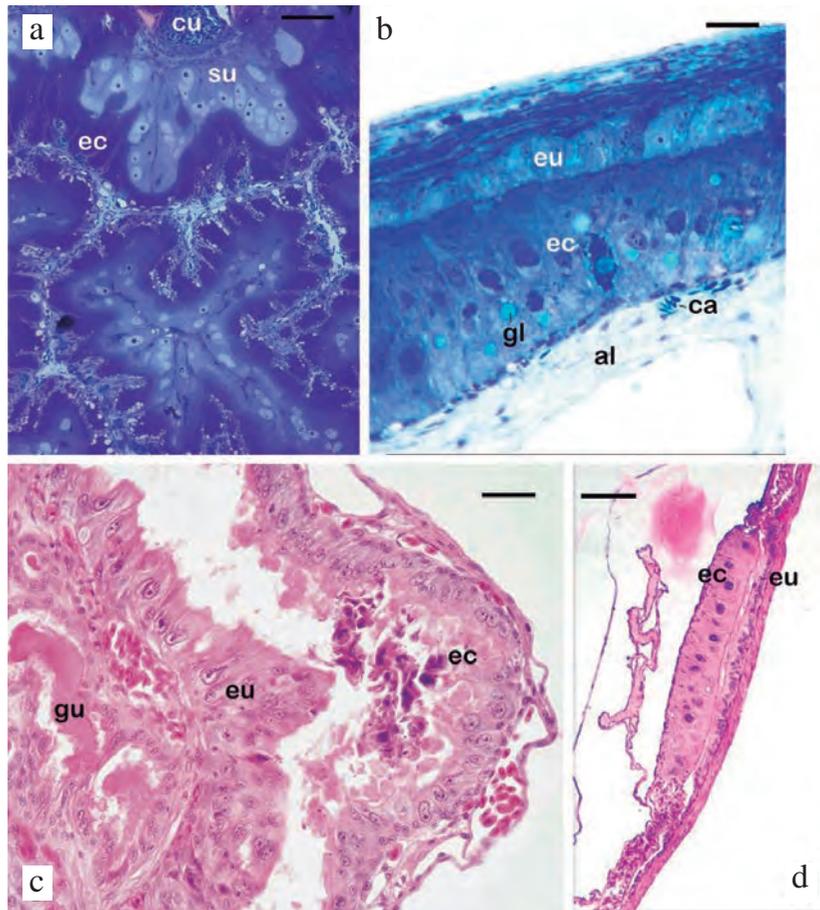


Figura 5. Cortes histológicos de las especializaciones de la alantoplacenta en *Mabuya*. a. Placentoma, se observa cómo interdigitan los tejidos embrionarios y maternos. cu, circulación uterina; su, sincitio epitelial uterino; ec, epitelio coriónico. Barra = 50 μm . b. En el paraplacentoma no se interdigitan los tejidos maternos y fetales, el paraplacentoma rodea al placentoma delimitándolo. Se observan varias gotas de lípidos (gl) en las altamente hipertróficas células del epitelio coriónico (ec) que se adosan al epitelio uterino (eu). Se observa tejido conjuntivo laxo del alantoides (al) y capilares alantoidicos (ca) bajo el epitelio coriónico. Barra = 20 μm . c. En las areolas coriónicas se observan glándulas uterinas (gu) que liberan abundante material a la concavidad formada por el epitelio coriónico (ec). Las células del epitelio uterino (eu) se observan hipertrofiadas y pueden liberar parte de su citoplasma hacia el epitelio coriónico. Barra = 45 μm . d. Las placas de absorción son como botones de adherencia entre el epitelio uterino (eu) y el epitelio coriónico (ec) ambos epitelios son columnares e hipertrofiados, lo que contrasta con la zona de los segmentos respiratorios donde ambos epitelios son planos. Barra = 30 μm .

de este tipo de placentación entre Reptilia y que tampoco se ha descrito en otro clado con placentación compleja o con placentotrofia (Vieira et al., 2007).

Esta importante característica era compartida por las diferentes poblaciones de *Mabuya* estudiadas. Sin embargo, para corroborarlo buscamos tejidos placentarios de nuevas poblaciones de *Mabuya* en el país y fuera del país para determinar la variación interpoblacional e interespecífica placentaria. Acá el trabajo era comparativo y podríamos hacerlo nuevamente con material de museos y con histotecnica corriente. Este trabajo lo hicimos con otra estudiante de pregrado y fue publicado (Leal & Ramírez-Pinilla, 2008).

Se encontró que para 12 poblaciones/especies del norte de Suramérica se conserva el patrón general de la placenta con las mismas especializaciones de la alantoplacenta; sin embargo, se registra una variación morfológica interesante. En algunas poblaciones las placas de absorción se encuentran altamente plegadas y delimitadas por una especie de anillo de cierre simulando pequeños placentomas, además se encontraron regiones altamente plegadas en los segmentos respiratorios. Las dos modificaciones halladas incrementan la superficie de relación entre los epitelios uterino y coriónico, sugiriendo cambios interesantes que pueden implicar variaciones en la eficiencia de cada una de las especializaciones de la alantoplacenta.

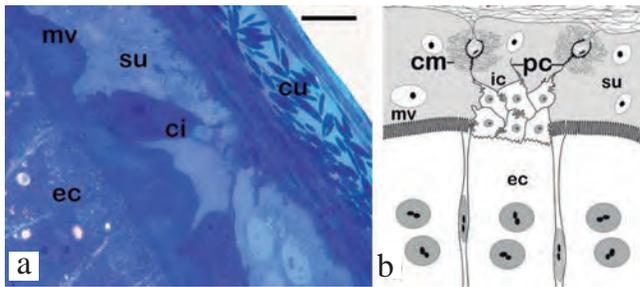


Figura 6. Células coriónicas invasoras del sincitio epitelial uterino del placentoma en *Mabuya*. **a.** Fotografía de un corte semifino de la región del placentoma que muestra el epitelio coriónico (ec) del que se desprenden las células invasoras (ci) que migran entre el sincitio uterino (su) y emiten proyecciones citoplasmáticas para alcanzar los capilares subepiteliales uterinos que derivan de la circulación uterina (cu) en el hemisferio embrionario. Barra = 25 μ m. **b.** Interpretación gráfica derivada del estudio por microscopía electrónica de transmisión mostrando cómo las células invasoras (ci) emiten proyecciones citoplasmáticas (pc) profundamente en el sincitio epitelial uterino y de ellas se desprende una compleja red de doble membrana (cm) que envuelve el endotelio de los vasos sanguíneos uterinos que igualmente están inmersos dentro del sincitio.

El análisis de microscopía óptica de alta resolución y ultraestructural del ovario de las hembras de esta población (Vieira et al., 2010) permitió evidenciar que el ooplasma de los folículos en vitelogenénesis muestra abundantes organelos membranosos con un centro de lipoproteínas, sin embargo no se encontraron plaquetas vitelinas organizadas como las características de los reptiles lecitotróficos. Por el contrario, hacia el ooplasma medular se encontraron grandes vesículas electrolúcidas. Esta morfología y contenido ooplasmático es muy similar al encontrado en los folículos ováricos preovulatorios de mamíferos marsupiales y euterios, lo que sugiere una muy interesante convergencia evolutiva relacionada con la evolución de la placentotrofia. En mamíferos estas vesículas han sido consideradas como elementos residuales cuya función es proveer de matriz extracelular, especialmente proteínas estabilizantes y ácido hialurónico que permiten la absorción de agua para la expansión del blastocisto en la primera fase del desarrollo embrionario, y por tanto no están relacionados con la nutrición embrionaria. En *Mabuya*, no conocemos el contenido de estas vesículas y por tanto se requiere su caracterización bioquímica. Sin embargo, inmediatamente después de ocurrida la ovulación hay un rápido incremento en volumen del huevo debido a la absorción de agua (Figura 3b), lo que permite que la cámara embrionaria se forme y se desarrolle la primera membrana extraembrionaria que rodea el embrión en formación (formando la primera placenta en la ontogenia, la placenta bilaminar del saco de la yema). Así, se sugiere una función similar para estas vesículas a la demostrada para los mamíferos.

Cuantificando la transferencia placental de nutrientes entre madre y embriones

Conociendo la morfología se puede inferir la función, la morfología nos había indicado que había una gran complejidad cito-histológica que convergía con la de mamíferos euterios, los que igualmente son organismos placentotróficos obligados. Una placentotrofia obligada implicaba que el desarrollo embrionario en este clado se basaba en la transferencia placental de casi todas las moléculas constructoras del cuerpo del embrión y la energía necesaria para ello. Una cuantificación gruesa permitía corroborar que había una absorción neta de nutrientes (agua, iones: calcio, potasio, sodio, magnesio; nitrógeno y peso seco, Figura 7 a,b, y lípidos) durante la gestación y que la drástica reducción en los nutrientes de origen ovárico y así del tamaño del huevo estaba relacionada con una placentotrofia obligada desde los estados de desarrollo más temprano; por consiguiente, *Mabuya* se constituía en el clado con el máximo nivel de placentotrofia conocido entre Reptilia (Figura 7 c, d, Ramírez-Pinilla, 2006). La morfología sugería mecanismos y ya sabíamos qué nutrientes, cuándo y en qué cantidad estaban siendo transferidos entre la madre y los embriones en desarrollo. Sin embargo, necesitábamos hacer una cuantificación más fina detallando por ejemplo qué lípidos estaban siendo transferidos, si estos lípidos eran similares o no a los del vitelo de una especie lecitotrófica, o si el ovocito contenía un set de nutrientes diferentes a los que luego eran transferidos a través de la placenta. Para responder a estas nuevas preguntas fisiológicas necesitaba de colegas especializados y herramientas sofisticadas de cuantificación. Por lo tanto, aunamos esfuerzos con un estudiante de maestría, Elkin Rueda, y el laboratorio de la Profesora Dra. Elena Stashenko. Se miraron nuevamente el nitrógeno (como índice de proteínas) y los iones transferidos, pero también la cantidad de lípidos totales y sus fracciones (colesterol, vitamina E y ácidos grasos en sus mayores clases —triacilglicérols, fosfolípidos, colesterol ésteres, ácidos grasos libres—) durante los diferentes estados de la gestación y en los recién nacidos (Ramírez-Pinilla et al., 2011).

Encontramos que los huevos recientemente ovulados en *Mabuya* contienen proporcionalmente más agua que en cualquier otro huevo reptiliano, lo que está relacionado con la pérdida de moléculas lecitotróficas en el huevo. Este contenido del oocito es aún más diluido cuando el huevo se hidrata en el oviducto al inicio del desarrollo embrionario. El agua es transferida entonces desde los primeros estados del desarrollo hasta el final de la gestación cuando esta transferencia es máxima. Asimismo, tanto las cantidades relativas y absolutas de iones inorgánicos son reducidos en el huevo de *Mabuya* respecto de otros reptiles, por lo tanto estos iones deben pasar a través de la placenta durante la gestación.

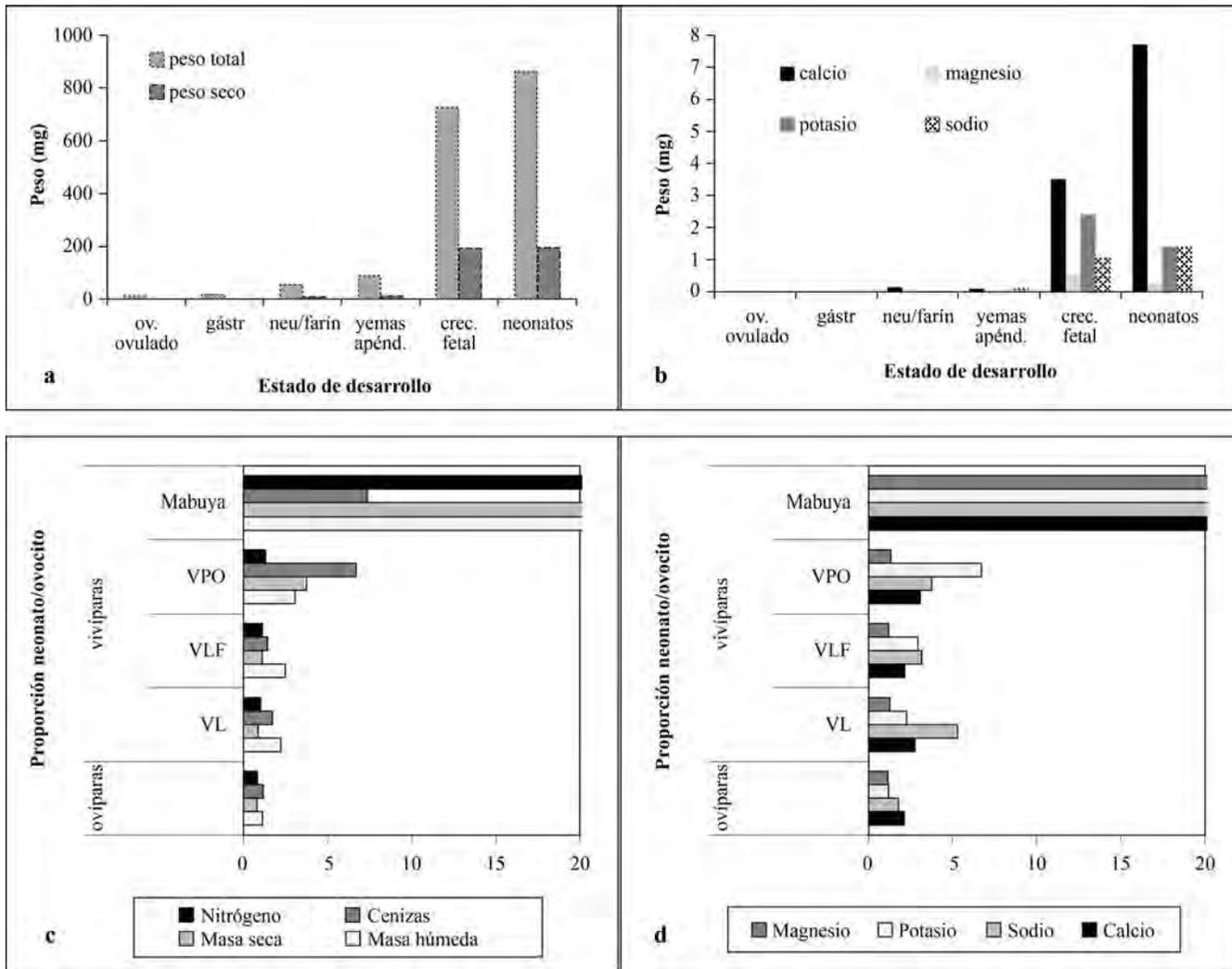


Figura 7. Placentotrofia en *Mabuya*. a. Variación en el peso total y peso seco durante los estados de desarrollo en la gestación y en el neonato. b. Variación en el contenido de iones calcio, magnesio, potasio y sodio durante los estados de desarrollo en la gestación y en el neonato. Ov. ovulado: ovocito recientemente ovulado; gástr.: gástrula; neu/farin.: néurula a farínula; yemas apénd.: estado de desarrollo de las yemas de los apéndices de los miembros; crec. fetal: último estado de desarrollo en donde la organogénesis ha concluido y se da el crecimiento fetal. c. Comparación en la proporción neonato/ovocito (índice de placentotrofia) recién ovulado en diferentes grupos de reptiles escamados, incluyendo lagartijas ovíparas y vivíparas con viviparidad lecitotrófica (VL, la mayoría de las lagartijas vivíparas), viviparidad placentotrófica facultativa (VLF, lagartijas del género *Niveoscincus* de Australia), viviparidad placentotrófica obligatoria (VPO, *Chalcides chalcides* en el Mediterráneo y lagartijas australianas del género *Pseudemoia*) y en *Mabuya*. Los datos son tomados de Thompson et al. (2002). Aunque no hay datos aún el clado surafricano que incluye a *Eumecia anchietae* y *Trachylepis ivensi* podrían tener un mayor índice de placentotrofia que *Mabuya* por cuanto el tamaño corporal de los neonatos al nacimiento es mayor que el tamaño promedio en las especies de *Mabuya*.

Igualmente se encontró que los lípidos no son sólo reducidos en cantidad en el huevo microlecito de *Mabuya* cuando se compara con el contenido de los huevos en clados con menor grado de placentotrofia o con clados lecitotróficos, sino también en el contenido relativo de las diferentes clases de lípidos: los ovocitos de *Mabuya* tienen proporciones reducidas de lípidos energéticamente ricos (triacilgliceroles) y proporciones incrementadas de lípidos menos energéticamente

ricos (fosfolípidos y colesterol ésteres). En ausencia de cáscara del huevo y teniendo un ooplasma pobre en iones, las lagartijas *Mabuya* deben transferir casi la totalidad del contenido iónico para el desarrollo a través de la placenta; esta transferencia es lenta durante el desarrollo temprano y la organogénesis y máxima al final de la gestación cuando se da el periodo de crecimiento fetal (Figura 7b). De manera similar, hay una transferencia masiva de lípidos en la fase de

crecimiento fetal; se encontró que hay una absorción neta de todas las clases de lípidos analizadas pero sus proporciones relativas varían con el avance de la gestación. Esta variación refleja funciones particulares de cada una de esas clases de lípidos durante el desarrollo embrionario.

Transportadores de nutrientes

A este momento ya teníamos una idea muy clara de que la placentotrofia en *Mabuya* se daba para básicamente todas las moléculas y que a diferencia de mamíferos en donde la fuente energética primaria durante el desarrollo embrionario son los carbohidratos, en *Mabuya* esta fuente son los lípidos, los cuales son transferidos desde el inicio mismo del desarrollo. Por lo tanto, a pesar de una aparente convergencia morfológica y fisiológica, los mecanismos asociados a la placentotrofia entre estos dos clados son diferentes, demostrando una clara evolución independiente. La pregunta ahora era definir los mecanismos de transporte y los transportadores empleados para esta transferencia placentar de nutrientes, cómo y cuándo durante el desarrollo estos nutrientes eran transferidos. La pregunta era aún más compleja y unimos esfuerzos con un placentólogo de mamíferos de la Universidad de Cambridge (Inglaterra) que tenía experiencia en inmunocitoquímica, técnica que nos permitiría ver, utilizando moléculas conocidas como transportadores en mamíferos, si estas se expresaban en los tejidos placentales de *Mabuya* (Wooding et al., 2011). Pudimos localizar sistemas de transferencia de calcio (calbindinas 28kD y 9kD), glucosa (transportadores de glucosa 1 y 8) y agua (acuaporinas 1 y 3). Los anticuerpos localizados se encontraron en varias de las especializaciones de la placenta madura, indicando que el transporte de esas moléculas se da por varias vías, sin embargo ninguno de estos transportadores fue localizado en los segmentos respiratorios, lo que prueba su función exclusiva en el intercambio gaseoso.

El presente y futuro

Los mecanismos moleculares de transporte de nutrientes son relativamente bien conocidos en mamíferos euterios y solo han sido investigados en lagartijas placentotróficas no extremas (*Pseudemoia entrecasteauxii*, *P. spenceri*, y *Chalcides ocellatus*, Biazik et al., 2009; Brandley et al., 2012; Griffith et al., 2013a, b). ¿Son los mecanismos de transporte de nutrientes similares entre clados que evolucionaron la placentotrofia de manera convergente? ¿La evolución de la placentotrofia y la placentación compleja derivan de los mismos juegos de genes en los clados de scincidos placentotróficos y en mamíferos? Aun cuando estábamos afinando nuestro conocimiento de los mecanismos de transporte, la inmunocitoquímica no era la técnica más eficaz para entender como era que funcionaban las placentas durante la gestación en *Mabuya*. Afortunadamente las herramientas biológicas han revolucionado nuestra posibilidad de entender y responder tantas preguntas complejas. Estas poderosas herramientas permiten dilucidar

el funcionamiento de los órganos, tejidos y células en un momento dado. Básicamente se puede determinar qué porción del genoma es transcrito a ARN mensajero, es decir, qué material genético es expresado en un estado dado, son los análisis de transcriptómica. Recientemente iniciamos un trabajo en colaboración con mis estudiantes que ahora hacen su doctorado en la Universidad de Gainesville (USA), Francisca Leal y Óscar Tarazona, y la colaboración de su profesor Marty Cohn, en éste se está identificando la expresión génica completa de los transcriptomas de las placentas de *Mabuya* durante los diferentes estados de gestación usando análisis RNA-Seq. Los resultados preliminares están mostrando que hay unos muy claros paralelos en los procesos de expresión génica entre *Mabuya* y mamíferos euterios. Con nuevos genomas de reptiles escamados secuenciados se podrá investigar sobre la convergencia en las rutas hacia la viviparidad y placentotrofia. De la misma manera con mayor información genómica se podrá tener un mayor número de genes identificados en los transcriptomas secuenciados, lo que permitirá entender y conocer los elementos que regulan la expresión de genes asociados a la placentotrofia (Van Dyke, 2014).

De forma paralela a todos estos trabajos, seguíamos con el problema de la identidad específica de las poblaciones que estábamos trabajando. Tampoco sabemos cómo estas poblaciones se relacionan entre sí, ni su historia biogeográfica. Con una estudiante de doctorado de la Universidad de los Andes pero egresada nuestra decidimos afrontar el problema. Nuevamente, las herramientas moleculares modernas nos permiten responder preguntas que otrora sólo la morfología tradicional lo permitían. Este clado es particularmente complejo porque su morfología externa es muy conservativa, por lo tanto las herramientas moleculares eran fundamentales para definir clados subgenéricos en Colombia. Nelsy Pinto, junto con otros colegas, ha desarrollado una filogenia con base en caracteres moleculares de genes mitocondriales y nucleares para las poblaciones colombianas de *Mabuya*. Este trabajo está por ser publicado. Igualmente en el futuro cercano tendremos la descripción de estos clados como nuevas especies de *Mabuya* con distribuciones definidas; estamos resolviendo otro viejo problema.

Después de más de 15 años de iniciar un trabajo con un grupo de lagartijas que pasaban desapercibidas para muchos, hemos podido entender una muy buena proporción de la biología reproductiva de este grupo. La complejidad placentaria y el grado de placentotrofia alcanzado hacen de *Mabuya* un modelo biológico de estudio precioso del que aún hay mucho por conocer.

Agradecimientos

Mis mayores agradecimientos a las siguientes instituciones y personas: La Universidad Industrial de Santander y la Universidad Nacional de Colombia financiaron parcialmente

los estudios relacionados; igualmente, la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República y el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología Francisco José de Caldas (COLCIENCIAS contratos 1102-05-13556 y 1102-452-21152).

Por el préstamo de ejemplares de colección a V. Páez (Museo Herpetológico de la Universidad de Antioquia), F. Castro (Universidad del Valle), O. Castaño (Colección de Reptiles, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia), Hno. L. A. Zamudio (Museo del Colegio San José, Medellín), G. Rivas (Museo de Historia Natural La Salle), G. Colli (Colecao Herpetológica da Universidade de Brasilia).

Los colegas V. H. Serrano, G. de Pérez, E. Stashenko, P. Wooding, y estudiantes coautores de los trabajos mencionados: R. Caicedo, J. C. Galeano, A. Jerez, D. Gómez, F. Carreño, S. Vieira, F. Leal, E. Rueda. Los estudiantes que colaboraron en la colecta y mantenimiento de las lagartijas, J. C. Galeano, R. Caicedo, J. Ortega, D. Zárate, F. Leal, O. Tarazona, Ezequiel González, Juan Carlos Afanador, P. Sánchez, Nelsy Pinto, J. P. Ramírez, R. M. Torres, J. Anaya. La Corporación Autónoma de Santander y el Ministerio del Ambiente por los permisos de recolección y acceso a material genético (No. 8, 31 Marzo, 2009, No 0753, 20th Abril, 2010).

Referencias

- Blackburn, D.G.** 1992. Convergent evolution of viviparity, matrotrophy, and specializations for fetal nutrition in reptiles and other vertebrates. *American Zoology* 32: 313–321.
- Biazik, J. M., M. B. Thompson, C. R. Murphy.** 2009. Lysosomal and alkaline phosphatase activity indicate macromolecule transport across the uterine epithelium in two viviparous skinks with complex placenta. *Journal of Experimental Zoology. Part B, Molecular and Developmental Evolution* 312 817–826.
- Blackburn, D. G., L. J. Vitt.** 1992. Reproduction in viviparous South American lizard of the genus *Mabuya*. In W. C. Hamlett (ed.), *Reproductive Biology of South American Vertebrates*, pp. 150–164. Springer-Verlag, New York.
- Blackburn, D. G., I. P. Callard.** 1997. Morphogenesis of placental membranes in the viviparous, placentotrophic lizard *Chalcides chalcides* (Squamata: Scincidae). *Journal of Morphology* 232:35–55.
- Brandley, M. C., R. L. Young, D. L. Warren, M. B. Thompson, G. P. Wagner.** 2012. Uterine gene expression in the live-bearing lizard, *Chalcides ocellatus*, reveals convergence of squamate reptile and mammalian pregnancy mechanisms. *Genome Biology and Evolution* 4 394–411.
- Caicedo-Portilla, R., V.H. Serrano-Cardozo, M. P. Ramírez-Pinilla.** 2010. Diet, microhabitat use and daily activity patterns of an Andean population of *Mabuya* (Squamata: Scincidae). *South American Journal of Herpetology* 5 (1): 57-63.
- Callard, I. P., S. M. Ho.** 1987. Vitellogenesis and viviparity. In: I. Chester Jones, P. M. Ingleton, and J. G. Phillips (Eds.), *Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology*. Plenum Press, 8: 257–282.
- Dyke, G., G. W. Kaiser,** 2010. Cracking a developmental constraint: egg size and bird evolution. En: *Proceedings of the VII International Meeting of the Society of Avian Paleontology and Evolution*, ed. W.E. Boles and T.H. Worthy. *Records of the Australian Museum* 62 (1): 207–216.
- Flemming, A. F., W. R. Branch.** 2001. Extraordinary case of matrotrophy in the African skink *Eumecia anchietae*. *Journal of Morphology* 247: 264–287.
- Gómez, D., M. P. Ramírez-Pinilla.** 2004. Ovarian histology of the viviparous matrotrophic lizard *Mabuya mabouya* (Squamata, Scincidae). *Journal of Morphology* 259: 90-105.
- Grant, T.** 2007. *The Platypus*. 4th Edition. CSIRO Publishing: Collingwood, Vic.
- Griffith, O. W, B. Ujvari, K. Belov, M. B. Thompson.** 2013. Placental lipoprotein lipase (LPL) gene expression in a placentotrophic lizard, *Pseudemoia entrecasteauxii*. *Journal of Experimental Zoology. Part B, Molecular and Developmental Evolution* 320: 465-470.
- Guerrero, S.M., M. L. Calderón, G. R. De Pérez, M. P. Ramírez-Pinilla.** 2003. Annual reproductive activity of *Caiman crocodilus fuscus* in captivity. *Zoo Biology* 22: 121-133.
- Hernández-Franyutti, A., M. C. Uribe-Aranzábal, L. J. Guillette Jr.** 2005. Oogenesis in the viviparous matrotrophic lizard *Mabuya brachypoda*. *Journal of Morphology* 265: 152–164.
- Jerez, A.** 1998. Placentación en poblaciones de *Mabuya cf mabouya*. Trabajo de grado, Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander. 120 pp.
- Jerez, A., M. P. Ramírez-Pinilla.** 2001. The allantoplacenta of *Mabuya mabouya* (Sauria, Scincidae). *Journal of Morphology* 249: 132–146.
- Jerez, A., M. P. Ramírez-Pinilla.** 2003. Morphogenesis of extraembryonic membranes and placentation of *Mabuya mabouya*. *Journal of Morphology* 258: 158–178.
- Leal, F., M. P. Ramírez-Pinilla.** 2008. Morphological variation in the allantoplacenta within the genus *Mabuya* (Squamata: Scincidae). *Anatomical Record*. 291: 1124-1139.
- Leal, F., M. P. Ramírez-Pinilla.** 2010. Evolution and development of the extraembryonic membranes in lizards: Heterochronies and Placentotrophy. *Herpetological Conservation and Biology* 5 (2): 297-310.
- Murphy, K., S. Hudson, G. Shea.** 2006. Reproductive seasonality of three cold-temperate viviparous skinks from southeastern Australia. *Journal of Herpetology* 40 (4): 454-464.
- Ramírez-Pinilla, M.P.** 2006. Placental transfer of nutrients during gestation in an Andean population of the highly matrotrophic lizard genus *Mabuya* (Squamata: Scincidae). *Herpetological Monographs* 20: 194-204.

- Ramírez-Pinilla, M. P.** 2010. Matrotrofia en reptiles escamados. Pp. 109-136. En: Hernández-Gallegos, O., Méndez de la Cruz, F.R. & Méndez-Sánchez, J.F. (compiladores): Reproducción en reptiles: morfología, ecología y evolución. Editorial Katrina, S.A., Departamento editorial de la Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México. ISBN: 978-607-422-088-9.
- Ramírez-Pinilla, M. P., V. H. Serrano, J. C. Galeano.** 2002. Annual reproductive activity of *Mabuya mabouya* (Squamata, Scincidae). *Journal of Herpetology* 36: 667–677.
- Ramírez-Pinilla, M. P., G. De Pérez, J. F. Carreño-Escobar.** 2006. Allantoplacental ultrastructure of an Andean population of *Mabuya* (Squamata, Scincidae). *Journal of Morphology* 267: 1227–1247.
- Rocha, C. F. D., D. Vrcibradic.** 1999. Reproductive traits of two sympatric viviparous skinks (*Mabuya macrorhyncha* and *Mabuya agilis*) in a Brazilian Restinga habitat. *Herpetological Journal* 9: 43–53.
- Selwood, L.** 2007. Marsupial oocytes, fertilization and embryonic development can provide useful tools to study developmental mechanisms. *IUBMB Life* 59 (10): 617 – 621.
- Serrano-Cardozo, V. H., M. P. Ramírez-Pinilla, J. E. Ortega, L. A. Cortes.** 2007. Annual reproductive activity of *Gonatodes albogularis* (Squamata: Gekkonidae). *South American Journal of Herpetology* 2 (1): 31-38.
- Stewart, J., Thompson, M.** 2003. Evolutionary Transformations of the Fetal Membranes of Viviparous Reptiles: A Case Study of Two Lineages. *Journal of Experimental Zoology. Part A: Ecological Genetics and Physiology* 299A (1): 13-32.
- Thompson, M., J. Stewart, B. Speake, M. Hosie, C. Murphy.** 2002. Evolution of viviparity: what can Australian lizards tell us? *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 131 (4): 631-643.
- Van Dyke, J. W., M. C. Brandley, M. B. Thompson.** 2014. The evolution of viviparity: molecular and genomic data from squamate reptiles advance understanding of live birth in amniotes. *Reproduction* 147: R15-R26.
- Vieira, S H., G. Romero De Pérez, M. P. Ramírez-Pinilla.** 2007. Invasive cells in the placentome of Andean populations of *Mabuya*: an endotheliochorial contribution to the placenta?. *Anatomical Record* 290: 1508–1518.
- Vieira, S H., G. Romero De Pérez, M. P. Ramírez-Pinilla.** 2010. Ultrastructure of the ovarian follicles in the highly placentotrophic Andean lizard *Mabuya* sp (Squamata: Scincidae). *Journal of Morphology*: 271 (6): 738-749.
- Vitt, L. J., D. G. Blackburn.** 1983. Reproduction in the lizard *M. heathi* (Sauria: Scincidae): a commentary on viviparity in new world *Mabuya*. *Canadian Journal of Zoology* 61: 2798–2806.
- Vitt, L. J., D. G. Blackburn.** 1991. Ecology and life history of the viviparous lizard *Mabuya bistrriata* (Scincidae) in the Brazilian Amazon. *Copeia* 1991:916–927.
- Vrcibradic, D., C. F. D. Rocha.** 1998. Reproductive cycle and life-history traits of the viviparous skink *Mabuya frenata* in Southeastern Brazil. *Copeia* 1998:612–619.
- Wooding, P., M. P. Ramírez-Pinilla, A.S. Forhead.** 2010. Functional studies of the placenta of the lizard *Mabuya* sp. (Scincidae) using immunocytochemistry. *Placenta* 31 (8): 675-685.

Entendiendo el papel del sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) en la regulación funcional del trofoblasto humano

Myriam Sánchez-Gómez^{1,2}

¹Miembro de Número, Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

²Profesora Titular, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia

Resumen

El desarrollo normal de la placenta depende de la diferenciación e invasión del trofoblasto, el principal componente celular de la placenta. Durante este proceso, las células de trofoblasto realizan un programa complejo de diferenciación, originando varios linajes celulares que aseguran el desarrollo y sostenimiento de la gestación. La diferenciación del trofoblasto depende de una variedad de factores autocrinos y paracrinos, que a través de mecanismos específicos y finamente regulados, estimulan la expresión de un amplio número de genes e incrementan la producción de hormonas y factores de crecimiento tales como los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF). Algunas patologías de la gestación se caracterizan por la diferenciación e invasión defectuosa del trofoblasto, que es más el resultado y no el origen de la enfermedad, el cual se desconoce en la mayoría de los casos. En esta revisión se discutirá el papel de la familia de factores de crecimiento IGF en la regulación del crecimiento, invasión y diferenciación del trofoblasto humano incluyendo los resultados de estudios a nivel molecular realizados en los últimos años en nuestro laboratorio, así como sus implicaciones en el entendimiento de la patogénesis de algunas enfermedades gestacionales.

Palabras clave: trofoblasto, Sistema IGF, Diferenciación, Invasión, ETG.

Understanding the role of the insulin-like growth factor (IGF) system in the functional regulation of the human trophoblast

Abstract

Normal placental development is dependent upon the differentiation and invasion of trophoblast, the main cellular component of the placenta. During this process, trophoblast cells undergo a complex program of differentiation originating several cellular subtypes to ensure the development and progress of human gestation. Trophoblast differentiation is under the control of many autocrine and paracrine factors, that finely tune specific mechanisms that stimulate the expression of a group of genes and increase the production of hormones, including the insulin-like growth factors (IGFs). Certain gestational pathologies are characterized by defective trophoblast differentiation and invasion, which is more the result but not the cause of the disease. In this review we will discuss some of the studies focused on the role of the IGF family of growth factors including recent findings in our laboratory and their implications for a better understanding of some gestational diseases.

Key words: Trophoblast, IGF system, Differentiation, Invasion, GTD.

1. Introducción

El desarrollo normal de la placenta depende de la diferenciación e invasión del trofoblasto, el principal componente celular de la placenta. Durante este proceso, las células de trofoblasto realizan un programa complejo de diferenciación, originando varios linajes celulares que aseguran el desarrollo y sostenimiento de la gestación. La diferenciación del trofoblasto depende de una variedad de factores autocrinos y paracrinos, que a través de mecanismos específicos y finamente regulados, estimulan la expresión de un amplio número de genes e incrementan la producción de hormonas

y factores de crecimiento. Algunas patologías de la gestación se caracterizan por la diferenciación e invasión defectuosa del trofoblasto, que es más el resultado y no el origen de la enfermedad, el cual se desconoce en la mayoría de los casos.

El sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) está relacionado con el desarrollo del organismo y mantenimiento de la función celular normal y se le ha

Correspondencia:

Myriam Sánchez-Gómez, mysanchezd@unal.edu.co

Recibido: 11 de marzo de 2014

Aceptado: 5 de mayo de 2014

asociado con la formación de tumores y cáncer. Tanto IGF-I como IGF-II se encuentran en casi todos los tipos celulares de la placenta desde la sexta semana de gestación, y parecen estar involucrados en todos los aspectos de su desarrollo y función. Se conoce poco sobre el papel que desempeñan los factores de crecimiento y hormonas en la regulación de la diferenciación del trofoblasto humano. Varios estudios se han realizado empleando modelos animales, principalmente el murino, generando importante conocimiento sobre factores de transcripción involucrados en la conversión del citotrofoblasto vellosos (vCTB) en sincitiotrofoblasto (STB) (Cross, 2000; Scott et al., 2000). Sin embargo, la relevancia de estos estudios en el humano no es clara, dadas las diferencias marcadas que se han identificado con el proceso de diferenciación de la placenta murina (Carter, 2007; Handwerger, 2010).

En esta revisión se discutirán los resultados de los estudios realizados durante los últimos 7 años en el Grupo de Investigación en Hormonas de la Universidad Nacional de Colombia, dirigidas hacia una mejor comprensión de los mecanismos de acción molecular de la familia de factores IGF en la regulación del crecimiento, invasión y diferenciación del trofoblasto humano. Se discutirán las implicaciones que estos hallazgos pueden tener en el origen y desarrollo de la Enfermedad Trofoblástica Gestacional (ETG), así como en la búsqueda de marcadores tumorales que permitan un diagnóstico temprano de la enfermedad.

2. El trofoblasto humano y su diferenciación

Las células de trofoblasto hacen parte de la placenta y son las encargadas de invadir el endometrio materno durante el proceso de implantación del blastocisto. Durante este proceso de diferenciación e invasión, las células de trofoblasto se dividen rápidamente para formar la interfase entre la madre y el embrión, mientras que otras subpoblaciones trofoblásticas invaden la decidua materna remodelando las arterias de la pared uterina, conocidas como arterias espirales, para facilitar la expansión de los tejidos extraembrionarios y aumentar el flujo sanguíneo hacia la placenta y el embrión en desarrollo (Kliman & Feinberg, 1990; Graham & Lala, 1992).

El trofoblasto está compuesto por varias poblaciones con diferentes morfologías: el vCTB presente en el compartimento fetal y precursor del STB y el citotrofoblasto extraveloso (evCTB), precursor de la célula trofoblástica invasiva (Handwerger, 2010). Durante la morfogénesis del trofoblasto vellosos, las células vCTB proliferan rápidamente y se introducen en el STB formando columnas celulares rodeadas de sincitio, dando lugar a las vellosidades primarias. En el desarrollo ulterior, las células mesodérmicas fetales penetran en el núcleo de las vellosidades primarias y crecen en dirección de la decidua materna, formando las vellosidades secundarias. Las células mesodérmicas de la parte central comienzan a

diferenciarse en células sanguíneas y capilares sanguíneos formando un sistema capilar vellosos, convirtiéndose en vellosidad terciaria. El trofoblasto extraveloso no participa directamente en la formación de las vellosidades, abandona la matriz extracelular, migra y forma las vellosidades coriónicas de anclaje, que son columnas de células no polarizadas que erosionan y penetran la barrera uterina. El evCTB rompe múltiples membranas basales (incluyendo el endometrio epitelial y glandular, vasos sanguíneos y células deciduales) y degrada la matriz extracelular intersticial del endometrio, hasta producir la invasión del estroma uterino y el remodelamiento de las arterias espirales. La capa de células epiteliales de la vellosidad placentar, compuesta por células vCTB y STB, es la encargada de separar la circulación materna del interior de las vellosidades. Las células STB multinucleadas forman una capa continua que regula el intercambio de sustratos, gases y otros factores entre la circulación fetal y materna. Son el sitio de síntesis de hormonas esteroidales y factores de crecimiento, tales como el lactógeno placentario (LP), la hormona gonadotropina coriónica (hGC) y la variante placentar de la hormona de crecimiento (hGHv) (Silva et al., 2002).

Numerosos estudios han evidenciado el papel de la hGC en la diferenciación trofoblástica. La hormona hGC es producida en grandes cantidades por el sincitiotrofoblasto donde de manera autocrina y paracrina incrementa la formación de sincitio. Además, se ha reportado que los efectos promotores de diferenciación del factor de crecimiento epidermal (EGF), el factor inhibitorio de leucemia (LIF), el factor de necrosis tumoral α (TNF α), el estradiol y glucocorticoides requieren de la participación de la hGC en sus efectos promotores de diferenciación (Yang et al., 2003), demostrándose así el papel central que realiza la hGC en este fenómeno. Otros factores críticos identificados dentro del proceso de diferenciación del trofoblasto incluyen, entre otros, la tensión de oxígeno (Robins et al 2007), modificaciones de la cromatina (Kimura et al., 2007) y mantenimiento de la integridad estructural (Handwerger, 2010).

2.1 Enfermedad Trofoblástica Gestacional

Varios estudios han demostrado anomalías en el proceso de diferenciación de las células de trofoblasto, como en pre-eclampsia, retardo del crecimiento intrauterino y en la enfermedad trofoblástica gestacional (ETG). La ETG comprende un espectro de tumores interrelacionados surgiendo de un desarrollo anormal del tejido trofoblástico. Esta enfermedad varía de relativamente benigna como la mola hidatidiforme (completa y parcial) hasta maligna como la mola invasiva y el coriocarcinoma (Seckl et al., 2000). La mola hidatidiforme consiste en una placenta anormal, caracterizada por vellosidades coriónicas grandes y edematosas, acompañadas de trofoblasto hiperproliferativo (Berkowitz

& Goldstein, 1998). El coriocarcinoma es uno de los tumores malignos de más rápido crecimiento e invasividad, debido a su alta afinidad y capacidad de angiogénesis, que conduce a metástasis extensas. Las bases moleculares del origen de la enfermedad o de su pronóstico se desconocen en su mayor parte. En la actualidad, su diagnóstico se basa en criterios clínicos y de histopatología, corroborados por los altos niveles circulantes de hGC, criterios que han demostrado ser insuficientes y con frecuencia contradictorios.

En colaboración con investigadores del Instituto Nacional de Salud y del Instituto Materno Infantil, nuestro laboratorio adelantó entre los años 2002-2004 un estudio sobre los aspectos clínicos, genéticos y bioquímicos de la ETG. A nivel molecular, se evidenciaron alteraciones en el sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) en pacientes con diagnóstico de mola hidatidiforme. El análisis del tejido tumoral mostró una elevada expresión del factor de crecimiento similar a la insulina tipo II (IGF-II) y de su receptor tipo I (IGF-IR), lo que se acompañó de niveles elevados de IGF-II en el suero de las pacientes, en comparación con abortos no molares de la misma edad gestacional (Cortés et al 2003; Sánchez, 2006]. Lo anterior puso en evidencia el rol potencial de esta familia de factores de crecimiento en el desarrollo de esta patología, desafortunadamente poco visible pero que constituye un problema de salud pública en nuestro país.

3. El sistema de factores de crecimiento similares a la insulina

La familia de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) está organizada como una compleja red regulatoria a nivel celular y sub-celular. En el humano, el sistema IGF tiene un papel fundamental en el desarrollo del organismo y mantenimiento de la función celular normal tanto en la etapa fetal como postnatal. Está constituido por los ligandos (IGF-I e IGF-II), receptores de superficie celular que median los efectos biológicos de los IGFs, incluyendo el receptor para IGF-I (IGF-IR), receptor IGF-II/M6P (IGF-IIR), el receptor de insulina (InsR) y receptores híbridos IGF-IR/InsR, además de seis proteínas de unión a IGFs (IGFBPs) (LeRoith et al., 1995, Denley et al., 2005). El principal mediador de las actividades celulares de los IGFs es el receptor IGF-IR, una proteína transmembranal con actividad tirosina quinasa, formada por dos cadenas a y dos cadenas b unidas a través de varios enlaces bisulfuro. La proteína madura posee mayor afinidad por IGF-I que por IGF-II (Favelyukis et al 2001). El receptor IGF-II-R posee un extenso dominio extracelular y no presenta actividad tirosina quinasa. Se une con mayor afinidad a IGF-II que a IGF-I. Este receptor no une insulina pero sí actúa como un receptor de ligandos con manosa-6 fosfato. El receptor de insulina existe en dos isoformas, InsR-A e InsR-B, derivadas de "splicing alternativo del exón

11 del gen del receptor. InsR-A une al IGF-II con la misma afinidad que enlaza la insulina, en tanto que InsR-B une débilmente al IGF-II (LeRoith & Roberts, 2003).

Las similitudes estructurales entre el receptor de IGF y el receptor de insulina, permiten la formación de receptores híbridos, en donde una cadena IGF-IR $\alpha\beta$ está conectada a una cadena InsR-A o InsR-B. Cuando se coexpresan los receptores de IGF y de insulina en la misma célula, estos receptores híbridos pueden formarse aleatoriamente y el homo-receptor menos abundante se encontrará predominantemente formando parte de ellos. Los receptores híbridos, pueden ser sobre-expresados en una variedad de células tumorales como resultado de la sobre-expresión de los receptores para IGF-I e Insulina (Pandini et al., 2002), sin embargo, se conoce muy poco sobre su importancia en la transducción de señales y de los efectos biológicos que pueden estar modulando.

3.1 El sistema IGF y el desarrollo de la placenta

Los IGFs son reguladores importantes del desarrollo adecuado de la placenta y del feto (Lala et al., 1998). La expresión de los ligandos y sus receptores en las membranas placentales, sugiere mecanismos de acción de tipo autocrino y/o paracrino en el control de las propiedades funcionales de células trofoblásticas [Hamilton et al 1998]. Tanto el IGF-I como el IGF-II se encuentran en casi todos los tipos celulares de la placenta desde la sexta semana de gestación, y parecen estar involucrados en todos los aspectos de su desarrollo y función. Se ha demostrado que los IGFs están presentes en las vellosidades coriónicas placentales (citotrofoblasto, núcleo mesodérmico y endotelio), siendo el IGF-II más abundante en trofoblasto. El IGF-II se produce aproximadamente desde la sexta semana del embarazo desde el evCTB, no cruza la placenta hacia la circulación fetal pero puede regular el crecimiento placentario. Igualmente, podría estar relacionado con el proceso de invasión del trofoblasto extraveloso *in vitro* (Zygmunt et al., 2005).

Se sabe que IGF-I e IGF-II incrementan la proliferación y supervivencia de fibroblastos placentales y que pueden rescatar estas células de la apoptosis. Muchos estudios reportan el incremento en suero de estos dos factores durante el embarazo al igual que el aumento de los niveles del mRNA del IGF-I y del IGF-II (Forbes et al., 2008). El IGF-II tiene profundos efectos en el desarrollo prenatal y su desregulación puede estar relacionada con varias patologías durante la gestación. Sumado a esto, sus altos niveles en circulación durante el embarazo, mucho más que los de IGF-I, lo convierte en el ligando del sistema IGF más importante durante la gestación.

En cuanto a la presencia de los receptores IGF, se ha demostrado que el IGF-IR se localiza en todos los tipos celulares placentarios incluyendo el trofoblasto, el endotelio

velloso y el núcleo mesenquimal, encontrándose también receptores híbridos con altas afinidades por el IGF-II (McKinnon et al., 2001). Se sabe que InsR-A se expresa en los tejidos fetales y en ciertos tumores y tiene efectos mitogénicos, en cambio los efectos de InsR-B son más metabólicos, expresándose abundantemente en tejidos adultos (Pandini et al., 2002).

El receptor tipo II se expresa en la placenta, en las membranas plasmáticas del trofoblasto, pero puede ser fragmentado resultando en la liberación de una forma soluble, la cual al unirse al IGF-II conduciría a su degradación, aunque en otros trabajos se ha mostrado su posible actividad en vías de señalización intracelular (McKinnon et al., 2001). Finalmente, en lo referente a las proteínas de unión a IGFs, se ha establecido que la placenta humana no expresa IGFBP-1 la cual es la proteína de unión de mayor expresión en el endometrio decidualizado, en tanto que IGFBP-3 se expresa en grandes cantidades en el estroma velloso del trofoblasto. Las funciones regulatorias de estas proteínas en el normal desarrollo de la placenta requieren aún de más estudios.

3.2 Papel del IGF-II en la regulación de la invasión de células de coriocarcinoma

El mecanismo por medio del cual el IGF-II ejerce sus acciones en las células de trofoblasto ha sido un tema controversial. Inicialmente se postuló al receptor IGF-II/M-6P dada su alta afinidad de unión por IGF-II (Mackinnon et al., 2001), sin embargo, numerosos estudios lo han descrito como un receptor encargado de la internalización de IGF-II y de su degradación, por lo tanto con una función inhibitoria. Otros investigadores han postulado que las acciones del IGF-II son mediadas por el IGF-IR (Pandini et al., 2002).

La expresión de IGF-II en tumores provenientes de mola hidatidiforme se ha encontrado incrementada en comparación con placentas de abortos espontáneos de primer trimestre, lo que plantea un papel para este factor en la patogénesis de la enfermedad y su malignización. El estudio de casos de coriocarcinoma, forma maligna del trofoblasto, han estado limitados por la rápida progresión a la metástasis dificultando el diagnóstico primario del tumor, por lo cual la investigación se ha centrado en líneas celulares, tales como BeWo, JEG-3, JAR, que expresan los miembros del sistema IGF.

En un estudio realizado por nosotros se demostró que tanto IGF-I como IGF-II regulan la invasión de células de coriocarcinoma, pero a través de diferentes mecanismos. Aunque ambos receptores activan en común las vías de señalización PI3-K y MAPK, fosforilando las proteínas Akt y ERK, se pudo establecer que el IGF-II media sus efectos activando el receptor de insulina (InsR), mientras el IGF-I lo hace a través del IGF-IR (Díaz et al., 2007). En concordancia con lo anterior, se encontró que IGF-II

y en menor proporción IGF-I, son capaces de estimular la secreción de la metaloproteasa de matriz extracelular MMP-9 y el activador de plasminógeno tipo urokinasa (uPA) en células de coriocarcinoma (Díaz, 2006; Pinzón et al., 2007). Una adecuada invasión por parte del trofoblasto es vital para el establecimiento del embarazo (Bischof et al., 2001). Este comportamiento invasivo es debido a la habilidad del evCTBs de secretar metaloproteasas (MMPs), mientras que sus inhibidores (TIMPs) inhiben esta invasión en el espacio extracelular. Tanto la MMP-9 como la MMP-2 son secretadas durante el primer trimestre de embarazo por el trofoblasto y participan en los procesos invasivos de éste. Varios estudios han demostrado que la síntesis y activación de la MMP-2 y MMP-9 son requeridas para la invasión trofoblástica (Staun-Ram et al., 2004).

Nuestros resultados demostraron la expresión de las dos isoformas de InsR en los tejidos molares y en las células JEG-3, y si tenemos en cuenta los altos niveles de expresión de IGF-II en los tejidos y su correspondencia en el suero, resulta plausible atribuir al IGF-II un importante papel regulador de las propiedades metastáticas de las células de coriocarcinoma. Se descartó que los efectos de IGF-II se llevaran a cabo a través de los receptores híbridos, ya que no se observó la fosforilación/activación del IGF-IR al estimular las células con IGF-II (Díaz et al., 2007).

3.3 Papel de la familia IGF en la regulación de la proliferación e invasión del trofoblasto

Se ha demostrado que el vCTB, caracterizado por su alta capacidad invasiva, expresa los niveles más altos de IGF-II en la placenta, mientras que el STB lo expresa a muy bajos niveles (Han & Carter, 2000). Numerosos estudios se han llevado a cabo empleando la línea celular HTR8/SVneo, derivada de células evCTB de placenta humana de primer trimestre e inmortalizada con el antígeno T40 grande del virus de simio (SV40 Tag) (Graham et al., 1993). Estas células presentan un fenotipo hiperproliferativo e hiperinvasivo y morfológicamente tienen una identidad epitelial que corresponde a su origen trofoblástico.

Se sabe que las células HTR8/SVneo co-expresan los receptores IGF-IR e InsR, dando lugar a la formación de receptores híbridos IGF-I/InsR, cuya probabilidad de formación está determinada por los niveles de expresión de los receptores de IGF-I e insulina (Belfiore et al., 2009). En un trabajo en nuestro laboratorio se investigó el papel de los receptores híbridos en las acciones de los IGFs, modificando el equilibrio de los homo-receptores, mediante silenciamiento transitorio con RNA interferente (siRNA) (Santa Cruz Biotechnology). Al silenciar el receptor IGF-IR se encontró una atenuación en los efectos proliferativos de IGF-I e IGF-II, en comparación con las células no

silenciadas (Freyre, 2010), mientras que al silenciar el receptor de insulina, se observó la sobre-activación de la vía MAPK y el incremento en los efectos proliferativos del IGF-I evaluados por medio del método colorimétrico MTT. Lo anterior evidenció el equilibrio dinámico existente entre los dos receptores tirosina quinasa y el papel del InsR en la regulación de los efectos de los IGFs. En una línea celular que expresa predominantemente el receptor de insulina, en particular la isoforma InsR-A, al disminuir su expresión aumenta la probabilidad de formación de homo-receptores IGF-IR y disminuye la de homo-receptores InsR, lo que podría explicar el aumento en las señales mitogénicas de IGF-I en el modelo celular silenciado en InsR. Lo anterior pone en evidencia que los receptores IGF-IR e InsR están estrechamente relacionados en la regulación de la transducción de señales moleculares de los ligandos IGF y que la proporción de receptores es clave en la regulación de la intensidad de la señal y en la potencia del efecto mitogénico de los ligandos (Vallejo, 2011).

A nivel de las acciones de los IGFs sobre la capacidad invasiva de las células HTR8/Svneo, empleando cámaras de Boyden recubiertas con Matrigel y secreción de la metaloproteasa MMP-9, se encontró en el modelo silvestre, que tanto IGF-I como IGF-II son capaces de estimular invasión celular aunque los mayores efectos a nivel de secreción de MMP-9 se observan con IGF-II. En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos para las células silenciadas (Vallejo et al, 2014).

En conjunto, estos resultados sugieren que los receptores híbridos InsR/IGF-IR son los principales mediadores de la invasión inducida por IGF-I/IGF-II en la línea celular HTR8/SVneo, contrastando con lo que ocurre en las células de coriocarcinoma JEG-3, donde IGF-II se vuelve el ligando importante para la invasión señalizando a través del receptor de Insulina. Estos cambios podrían derivarse de alteraciones en el equilibrio de los receptores híbridos por la sobreexpresión del receptor InsR, dando como resultado una mayor proporción de homo-receptores de InsR y una baja en la disponibilidad de los hetero-receptores IGF-IR/InsR en coriocarcinoma.

La sobreexpresión de IGF-I, IGF-II o de sus receptores es un evento presente en la malignización celular y explica en parte la proliferación descontrolada característica del cáncer (Hanahan & Weinberg, 2000). Varios estudios han asociado al sistema IGF con el desarrollo de tumores y carcinogénesis en varios tipos celulares (LeRoith & Roberts, 2003, Frasca et al., 2008, Gallagher & LeRoith, 2011, Singh et al 2014). En muchos tipos de cáncer se ha observado la sobreexpresión del receptor IGF-IR, de los ligandos IGF-II e IGF-I y de diferentes combinaciones de las seis proteínas de unión a IGF (IGFBP1-6) (Samani et al, 2007; Bruchin & Werner, 2013). Numerosos estudios realizados en la última década

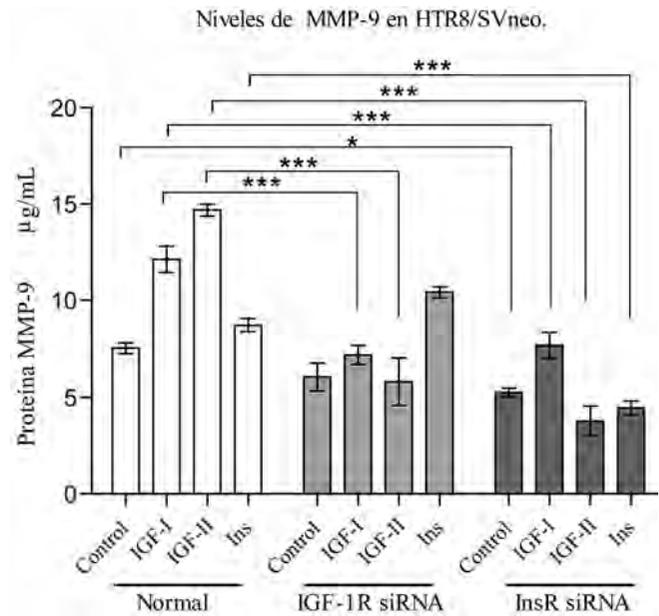


Figura 1. Efecto del silenciamiento de los receptores IGF-IR e InsR en la secreción de MMP-9.

Ensayo inmunoenzimático para la cuantificación de MMP-9 en medios condicionados. La significancia estadística fue determinada usando ANOVA y la prueba de múltiples comparaciones de Bonferroni. La significancia estadística usando como control la pareja de células apropiada control-transfectada es representada así: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$.

han mostrado anomalías en la expresión del receptor de insulina en varios tipos de cáncer. Recientemente se reportó alteración en el mecanismo de "splicing" del gen del receptor InsR en células de cáncer, incrementándose la relación InsR-A/InsR y por lo tanto la respuesta celular a los IGFs e insulina circulantes (Belfiore et al., 2009). Aunque los IGFs no son en sí mismos factores tumorigénicos, la expresión elevada de IGF-II, como en el caso de pérdida de impronta (Pavelic et al., 2002) puede contribuir al desarrollo de ciertas patologías ginecológicas como el cáncer de ovario (Murphy et al., 2006).

Los anteriores resultados abren un panorama interesante de investigación, pues en la comparación entre el trofoblasto y su forma maligna, el coriocarcinoma, es posible encontrar claves para comprender el origen y desarrollo del crecimiento maligno. El comportamiento innato del trofoblasto muestra muchas características en común con células tumorales y metastásicas, tales como el alto nivel de proliferación, invasión, evasión de los efectores del sistema inmune, así como similitud en múltiples circuitos de señalización intracelular (Ferreti et al., 2007). No obstante, a diferencia de lo que ocurre en células malignas, los procesos celulares en el trofoblasto se encuentran altamente controlados y regulados espacial y temporalmente. Identificando las principales vías

de señalización cuya desregulación permite a las células tumorales desarrollar habilidades para evadir el control del crecimiento y la invasión, se tendrán blancos terapéuticos promisorios para el desarrollo de nuevas estrategias anti-tumorales para la detección, control y tratamiento del proceso de metástasis.

3.4 Papel de los factores de crecimiento similares a la insulina en la diferenciación del trofoblasto

Como se mencionó previamente, el proceso de diferenciación de las células trofoblásticas es fundamental para un desarrollo exitoso de la gestación. Es un proceso complejo que toma lugar

rápidamente después de la implantación, donde a través de una serie de eventos coordinados en la interfase feto-maternal, las células madre de trofoblasto experimentan una extensiva diferenciación. Se reconocen dos vías principales para la diferenciación: la vía vellosa o de fusión y la vía extravellosa o invasiva (**Handwerger, 2010**). Varios sistemas *in vitro* se han desarrollado para el estudio de la fusión de células de trofoblasto, entre ellos, células de trofoblasto primario aisladas de placenta fusionada espontáneamente, o líneas celulares de coriocarcinoma como BeWo o JAR, que se caracterizan por un proceso incompleto de diferenciación (**Aronow et al, 2001; Huppertz et al., 2007; Handwerger, 2010**).

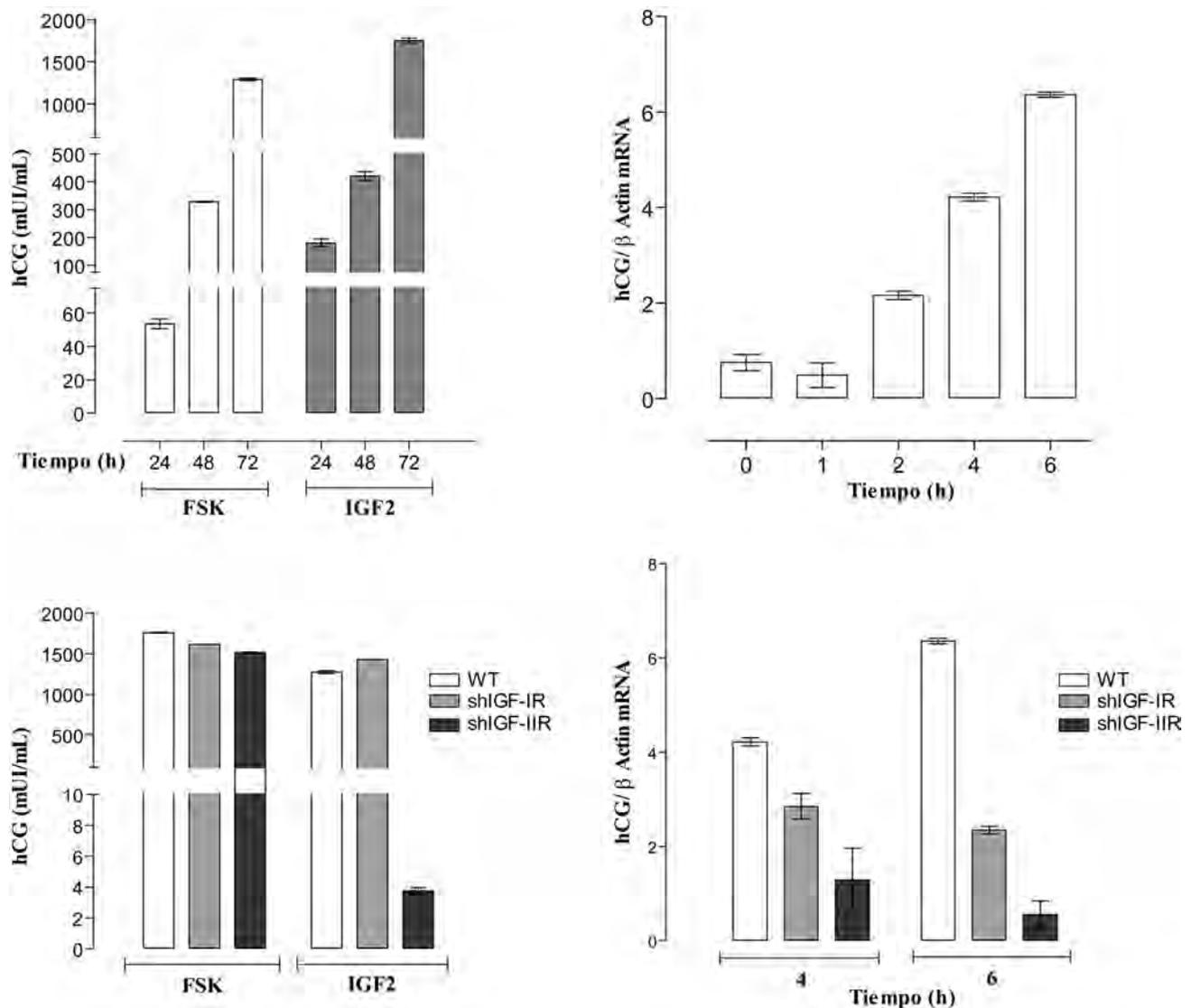


Figura 2. Niveles de secreción de hCG (IRMA) y de transcritos de hCGβ (qPCR) en células estimuladas con FSK(25 μM) e IGF-II (10 nM). Panel superior) Células HTR8/SVneo (WT). Panel inferior) Células con silenciamiento estable de los receptores IGF-IR (shIGF-IR) y IGF-IIR (shIGF-IIR). Los niveles de hCG se determinaron mediante IRMA y los transcritos de hCGβ mediante qPCR, relativos al gen casero βActina. Los valores corresponden al promedio de 3 determinaciones.

Para el estudio *in vitro* de la diferenciación trofoblástica, se han empleado modelos celulares tales como BeWo, que aunque es una forma de coriocarcinoma está parcialmente diferenciada. Nosotros adelantamos un estudio utilizando células de la línea HTR8/SVneo, un modelo fenotípicamente más cercano al trofoblasto normal, induciendo diferenciación por estímulo con Forskolina (FSK), compuesto de origen natural agonista de la enzima adenilato ciclasa, lo cual resulta en la elevación de los niveles intracelulares de AMP cíclico. Los resultados mostraron que los niveles de expresión del mRNA de IGF-II y del receptor IGF-IIR en células HTR8/SVneo se elevan significativamente después de 72 hr de aplicado el inductor FSK y notablemente, el estímulo con IGF-II solo y en combinación con FSK, también incrementa los transcritos de IGF-IIR, evidenciando un papel potencial del eje IGF-II/IGF-IIR en diferenciación trofoblástica (Freyre SI, 2010; Cabezas et al., 2011).

Un hecho conocido es el incremento en los niveles de secreción de la hormona hGC a lo largo de la diferenciación. De manera novedosa encontramos que IGF-II estimula la transcripción y la secreción de la hormona hGC, como se muestra en la Figura 2. Posiblemente la glicoproteína sintetizada se almacena en gránulos de secreción hasta el momento de su liberación para su consecuente función biológica. Este efecto fue específico para IGF-II ya que cultivos estimulados con IGF-I no mostraron incremento en hGC (Freyre SI, 2010).

Los anteriores resultados, por demás novedosos, mostraron la relación entre IGF-II y la transcripción de hGC, resultando de interés identificar los receptores involucrados. Para ello se obtuvieron líneas celulares establemente silenciadas por transfección con una combinación de plásmidos lentivirales shRNA, diseñados específicamente contra IGF-IR e IGF-IIR (Santa Cruz Biotechnology). Se demostró que la carencia del receptor IGF-IIR resultaba en una drástica disminución en la expresión y secreción de la hormona (Figura 2) (Alarcón, 2011). Como se ha mencionado, el mecanismo de acción del IGF-IIR ha sido objeto de controversia, principalmente por la ausencia de un dominio intracelular de señalización. Se le ha atribuido una función reguladora de la biodisponibilidad de IGF-II mediante internalización vía endosomal y degradación ulterior (Kreiling et al., 2005). No obstante, estudios recientes dan soporte al papel del IGF-IIR en la activación de cascadas de señalización a través de la activación de esfingosina quinasa (SK) y la transactivación de receptores acoplados a proteína G (El-Shewy, et al., 2007).

Se ha descrito que la síntesis de hGC está regulada por varios factores independientes, incluyendo la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), leptina y varias citocinas que la estimulan mientras que la progesterona y el estradiol la inhiben (Bischof & Irminger-Finger, 2005). Se ha descrito que el gen hGC β posee dos sitios funcionales de unión al factor de transcripción ETS2 cercanos al sitio de inicio de la transcripción, que son cruciales para la regulación de la

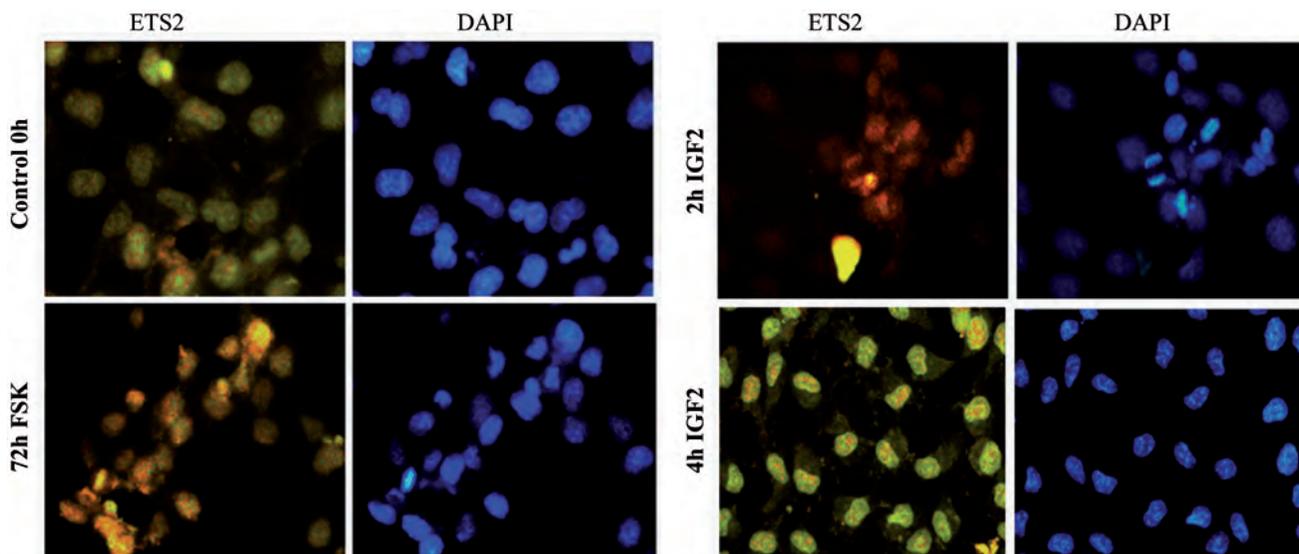


Figura 3. Translocalización nuclear del factor de transcripción ETS2 en la línea celular HTR8/SVneo durante tratamiento con FSK e IGFII. Microfotografías de fluorescencia ETS2 – Alexa fluor 488 (verde) y tinción DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol, azul). Las células en cultivo se privaron de SFB durante 12h y posteriormente se incubaron en presencia de Forskolina 25 μ M por un periodo de 72 horas o de IGF-II 10 nM por 2 y 4 horas. Se usó como control células a 0 horas de tratamiento. Cada división de la plantilla representa 10 μ m. Las microfotografías representan un aumento 40X.

actividad de la hormona en células de coriocarcinoma JEG-3 y JAR (Ghosh et al., 2003). ETS1 y ETS2 son factores citoplasmáticos que al ser fosforilados en un residuo de treonina en el extremo N-terminal se activan y traslocan al núcleo, en un mecanismo que involucra la activación por la vía MAPK y regulado por AMPc (Johnson & Jameson, 2000). Con el fin de investigar si el factor ETS2 estaba involucrado en diferenciación, se examinó su traslocación nuclear en células tratadas con FSK e IGF-II por medio de microscopía de fluorescencia (Figura 3). (Alarcón, 2011). De manera interesante, a las 72 hr de estímulo con FSK casi todo el ETS2 se localiza en el núcleo, en concordancia con los altos niveles de secreción de hGC. Por su parte, IGF-II que se demostró induce la transcripción del gen a tiempos cortos (6 hr), también estimula la traslocación nuclear evidenciada a las 4 hr. (Figura 3). Los anteriores resultados demuestran que el IGF-II induce la transcripción de la hormona hGC mediante la activación y traslocación al núcleo del factor de transcripción ETS2. Se requieren más estudios para esclarecer el receptor involucrado y la vía de señalización desencadenada por el IGF-II, aspectos que son objeto de estudio en la actualidad en nuestro grupo de investigación.

Como se mencionó previamente, las células HTR8/SVneo poseen un alto potencial invasivo y proliferativo característico de las células evCTB y continúan diferenciándose por la vía

invasiva (Figura 4). Un subtipo celular es capaz de invadir las vellosidades y la decidua materna y recibe el nombre de citotrofoblasto intersticial (inCT), mientras que las células que invaden las arterias espirales del útero se denominan citotrofoblasto endovascular (enCT). Las células inCT a medida que van erosionando el endometrio decidualizado, van perdiendo su potencial proliferativo y ganando invasividad. Se sabe que estas células no han perdido su capacidad de formar sincitio puesto que dan lugar a células gigantes multinucleadas (Kemp et al, 2002).

La caracterización de las células tratadas con FSK o IGF-II se realizó evaluando la expresión de genes marcadores de sincitialización (Huppertz et al., 2006), esto es, incremento en el mRNA de Sincitina y de Hand1 y disminución en el mRNA del gen de pluripotencia Oct4. Tomando en cuenta los resultados encontrados para los tres genes, se puede plantear que bajo las condiciones del estudio, las células HTR-8/SVneo realizan procesos de fusión para dar lugar a células gigantes multinucleadas que corresponden a sincitio no proliferativo (Figura 4).

Conclusiones

Los resultados aquí presentados representan un importante cuerpo de evidencia experimental que relacionan a los miembros del sistema IGF en la regulación de la proliferación, invasión

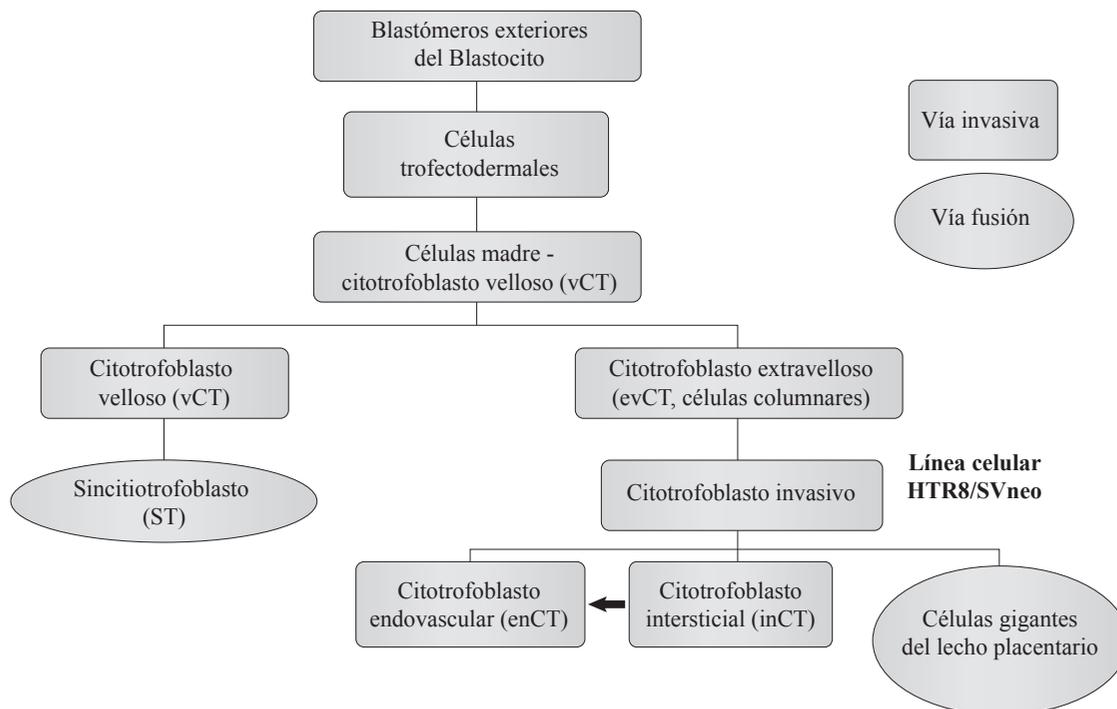


Figura 4. Esquema de la diferenciación trofoblástica.

Se muestran la vía de fusión o del citotrofoblasto veloso (vCT) y la vía invasiva o del citotrofoblasto extra-veloso (evCT). La línea celular HTR8/SVneo corresponde al fenotipo de citotrofoblasto invasivo.

y diferenciación del trofoblasto humano. Aunque se conocía con anterioridad que los ligandos y receptores eran expresados en varios tipos celulares de la placenta, solo recientemente se ha empezado a entender su mecanismo de acción a nivel molecular y su compleja red de señalización regulada espacial y temporalmente. Varias patologías de la gestación se asocian con perturbaciones en el modo de acción de esta familia de factores de crecimiento. En el caso de la mola hidatidiforme y el coriocarcinoma, los cambios en los perfiles de expresión de IGF-II y del receptor IGF-IIR, pueden ser la base para explorar nuevos blancos terapéuticos para el tratamiento de estas patologías, así como para refinar su diagnóstico encontrando moléculas candidatas a marcadores más confiables. Por último, el hecho de que el trofoblasto comparte muchas características con células tumorales, lo hacen un modelo de investigación único donde es posible encontrar claves para comprender el origen y desarrollo del crecimiento maligno.

Agradecimientos

La autora agradece a la Universidad Nacional de Colombia y Colciencias por la financiación otorgada a los diferentes proyectos de investigación. A los integrantes del Grupo de Investigación en Hormonas que con el fruto de su trabajo contribuyeron a la realización de los estudios que aquí se presentan. Reconocimiento especial para las profesoras Stella Carrasco de Rodríguez y Adriana Umaña Pérez, a los estudiantes de posgrado Luis Eduardo Díaz, Sofía Isabel Freyre, Sandra Susana Novoa, Juan Carlos Alarcón, Andrés Felipe Vallejo y Ricardo Cabezas, a las estudiantes de pregrado Ruth Andrea Rodríguez y María Isabel Acosta. Así mismo, nuestro agradecimiento a los doctores Gunnar Norstedt y Amilcar Flores, Instituto Karolinska, Estocolmo, Suecia por su participación científica en el estudio y apoyo durante las pasantías estudiantiles realizadas durante la ejecución de estos estudios.

Bibliografía

- Alarcón JC.** 2011. Interacción del sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) y la hormona gonadotropina coriónica (hGC) en la diferenciación celular trofoblástica. Tesis Maestría Bioquímica. Universidad Nacional de Colombia.
- Aronow BJ, Richardson BD, Handwerger S.** 2001. Microarray analysis of trophoblast differentiation: gene expression reprogramming in key gene function categories. *Physiol Genomics*. **6** (2): 105-116.
- Belfiore A, Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Vigneri R.** 2009. Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease. *Endocr Rev*. **30** (6): 586-623.
- Berkowitz RS & Goldstein DP.** 1998. Recent advances in gestational trophoblastic disease. Lippincott-Raven Publishers. **10** (1): 61-64.

- Bischof P & Irminger-Finger I.** 2005. The human cytotrophoblastic cell, a mononuclear chameleon. *Int J Biochem Cell Biol*. **37**:1-6.
- Bischof P, Meisser A, Campana A.** 2001. Biochemistry and Molecular Biology of Trophoblast Invasion. *Ann NY Acad Sci*, **943** (1): 157-162.
- Bruchin I, Werner H.** 2013. Targetin IGF-1 signaling pathways in gynecologic malignancies. *Expert Opin Ther Targets*. **17** (3): 307-320.
- Cabezas-Pérez R, Vallejo-Pulido AF, Freyre-Bernal SI, Umaña-Pérez A, Sánchez-Gómez M.** 2011. IGF-II y la gonadotropina coriónica regulan la proliferación, migración e invasión de células de trofoblasto humano. *Acta Biol Colomb*. **16** (1): 143-152.
- Carter AM.** 2007. Animal models of human placentation – a review. *Placenta*. **2** (Suppl A): S41-S47.
- Cortés C, Ching R, Páez P, Rodríguez A, León H, Capasso S, Lozano F, González V, Aramendiz H, Pedroza F, Galvis P, Forero E, Aragón M, Arteaga C, Bermúdez AJ.** 2003. La mola hidatidiforme: un indicador de la situación sociodemográfica en salud sexual y reproductiva. *Inf Quinc Epidemiol Nac*. **8** (12): 193-208
- Cross JC.** 2000. Genetic insights into trophoblast differentiation and placental morphogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. **11**: 105-113.
- Denley A, Cosgrove LJ, Booker GW, Wallace JC, Forbes BE.** 2005. CytokineGrowth Factor Rev. **16** (4-5): 421-439.
- Díaz LE, Chuan YC, Lewitt M, Fernandez-Perez L, Carrasco-Rodríguez S, Sanchez-Gomez M, Flores-Morales A.** 2007. IGF-II regulates metastatic properties of choriocarcinoma cells through the activation of the insulin receptor. *Mol Hum Reprod*. **13** (8): 567-576.
- Díaz, LE.** 2006. Niveles de expresión del sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs) en el desarrollo del tejido molar, Tesis Doctorado Química, Universidad Nacional de Colombia.
- El-Shewy H, Lee M, Obeid L, Jaffa A, Luttrell L.** 2007. The insulin-like Growth Factor type 1 and Insulin-like Growth Factor type 2/Mannose-6-phosphate Receptors independently regulate ERK1/2 activity in HEK293 cells. *J Biol Chem*. **282** (36): 26150-26157.
- Ferretti C, Bruni L, Dangles-Marie V, Pecking AP, Bellet D.** 2007. Molecular circuits shared by placental and cancer cells, and their implications in the proliferative, invasive and migratory capacities of trophoblasts. *Hum Reprod Update*, **13** (2): 121-141.
- Forbes K, Westwood M, Baker PN, Aplin JD.** 2008. Insulin like growth factor I and II regulate the life cycle of trophoblast in the developing human placenta. *Am J Physiol Cell Physiol*. **294** (6): C1313-22.
- Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Pezzino V, Squatrito S, Belfiore A, Vigneri R.** 2008. The role of insulin receptors and

- IGF-I receptors in cancer and other diseases. *Arch Physiol Biochem.* **114** (1): 23-27.
- Freyre SI.** 2010. Papel del sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) en la regulación del crecimiento y diferenciación trofoblástica. Tesis Maestría Bioquímica. Universidad Nacional de Colombia.
- Gallagher EJ, LeRoith D.** 2011. Minireview: IGF, insulin and cancer. *Endocrinology.* **152** (7): 2546-2551.
- Ghosh D, Ezashi T, Ostrowski MC, Roberts RM.** 2003. A central role for Ets-2 in the transcriptional regulation and cyclic adenosine 5-monophosphate responsiveness of the human chorionic gonadotropin-beta subunit gene. *Mol Endocrinol.* **17** (1): 11-26
- Graham CH, Hawley TS, Hawley RG, MacDougall JR, Kerbel RS, Khoo N, Lala PK.** 1993. Establishment and Characterization of First Trimester Human Trophoblast Cells with Extended Lifespan. *Exp Cell Res.* **206** (2): 204-211.
- Graham CH & Lala PK.** 1992. Mechanisms of placental invasion of the uterus and their control. *Biochem Cell Biol,* **70** (10-11): 867-874.
- Han VK, Carter AM.** 2000. Spatial and temporal patterns of expression of messenger RNA for insulin-like growth factors and their binding proteins in the placenta of man and laboratory animals. *Placenta.* **21** (4): 289-305.
- Hanahan D & Weinberg RA.** 2000. The hallmarks of cancer. *Cell.* **100**:57-70.
- Handwerger S.** 2010. New insights into de human cytotrophoblast differentiation. *Mol Cell Endocrinol.* **323**: 94-104.
- Huppertz B, Bartz C, Kokozidou.** 2007. Trophoblast fusión: fusogenic proteins, syncytins and ADAMs, and other prerequisites for syncytial fusion. *Micron.* **37** (6): 509-517.
- Johnson W & Jameson JL.** 2000. Role of Ets2 in cyclic AMP regulation of the human chorionic gonadotropin (beta) promoter. *Mol Cell Endocrinol.* **165** (1-2):17-24.
- Kemp B, Kertschanska S, Kadyrov M, Rath W, Kaufmann P, Huppertz B.** 2002. Invasive depth of extravillous trophoblast correlates with cellular phenotype: A comparison of intra- and extra-uterine implantation sites. *Histochem Cell Biol.* **117**: 401-414.
- Kimura AP, Sizova D, Handwerger S, Cooke NE, Liebhaber SA.** 2007. Epigenetic activation of the human growth hormone gene cluster during placental cytotrophoblast differentiation. *Mol Cell Biol.* **27**: 6555-6568.
- Kliman, HJ and Feinberg RF.** 1990. Human trophoblast-extracellular matrix (ECM) interactions in vitro: ECM thickness modulates morphology and proteolytic activity. *Proc Natl Acad Sci U S A,* **87** (8): 3057-3061.
- Kreiling J, Byrds J, MacDonald R.** 2005. Domain Interactions of the Mannose 6-Phosphate/Insuline-like Growth Factor II Receptor. *J Biol Chem.* **280** (22): 21067-21077.
- Lala P.K, Hamilton GS, Athanassiades A.** 1998. Role of growth factors and other placental signals in extravillous trophoblast cell function: A review. *Placenta.* **19**: 327-339.
- LeRoith D & Roberts C.** 2003. The insulin-like growth factor system and cancer. *Cancer Letters.* **195** (2):127-137.
- LeRoith D, Werner H, Neuenschwander S, Kalebic T & Helman LJ.** 1995. The role of the insulin-like growth factor-I receptor in cancer. *Ann NY Acad Sci.* **766**: 402-406.
- McKinnon T, Chakraborty C, Gleeson LM, Chidlac P, Lala PK.** 2001. Stimulation of Human Extravillous Trophoblast Migration by IGF-II Is Mediated by IGF Type 2 Receptor Involving Inhibitory G Protein(s) and Phosphorylation of MAPK. *J Clin Endocrinol Metab.* **86** (8): 3665-3674.
- Murphy SK, Huang Z, Wen Y, Spillman MA, Whitaker RS, Simel LR, Nichols TD, Marks JR, Berchuck A.** 2006. Frequent IGF2/H19 doamin epigenetic alterations and elevated IGF2 expression in epithelial ovarian cancer. *Mol Cancer Res.* **4** (4): 283-292.
- Pandini G, Frasca F, Mineo R, Sciacca L, Vigneri R, Belfiore A.** 2002. Insulin/insulin-like growth factor I hybrid receptors have different biological characteristics depending on the insulin receptor isoform involved. *J Biol Chem.* **277** (42): 39684-39695.
- Pavelic K, Bukovic D, Pavelic J.** 2002. The role of insulin-like growth factor 2 and its receptors in human tumors. *Mol Med.* **8** (12): 771-780.
- Pinzón ML, Ortiz BL, Sánchez de Gómez M.** 2007. Relación de la expresión de mRNA de las metaloproteinasas 2 y 9 y el inhibidor TIMP-1 en mola hidatidiforme completa. *Rev Col Quim.* **36** (2) 137-149.
- Samani AA, Yakar S, LeRoith D, Brodt P.** 2007. The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. *Endocr Rev.* **28** (1): 20-47.
- Sánchez de Gómez M.** 2006. Significado biológico del eje hormona de crecimiento (GH) / Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF). *Rev Acad Colomb Cienc.* **30** (114): 101-108.
- Scott IC, Anson-Cartwright L, Riley P, Reda D, Cross JC.** 2000. The Hand1 basic helix-loop-helix transcription factor regulates trophoblast differentiation in a multiple mechanisms. *Mol Cell Biol.* **20**, 530-541.
- Seckl MJ, Fisher RA, Salerno G, Rees H, Paradinas FJ, Foscett M, Newlandas ES.** 2000. Choriocarcinoma and partial hydatidiform moles. *Lancet.* **356** (9223): 36-39.
- Singh P, Alex JM, Bast F.** 2014. Insulin receptor (IR) and insulin-like growth factor receptor 1 (IGF-1R) signaling systems: novel treatment strategies. *Med Oncol.* **31** (1): 805.
- Silva C, Kloth M, Lyons C, Dunn C. and Kirk S.** 2002. Intracellular signaling by growth hormone variant (GH-V). *Growth Hormone & IGF Research,* **12**: 374-380.
- Staun-Ram E, Goldman S, Gabarin D and Shaley E.** 2004. Expression and importance of matrix metalloproteinase

2 and 9 (MMP-2 and -9) in human trophoblast invasion. *Reprod Biol Endocrinol.* **2** (1): 59

- Vallejo AF, Flores-Morales A, Norstedt G, Sanchez-Gomez M.** 2014. Down-regulation of Insulin-like growth factor I receptor and Insulin receptor by siRNA reduce the invasiveness of trophoblast cells: Role of MMP-9. To be submitted.
- Vallejo AF.** 2011. Importancia de los receptores híbridos receptor de insulina/receptor del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (InsR/IGF-IR) en las redes de señalización

del sistema IGF. Tesis Doctorado Química, Universidad Nacional de Colombia.

- Yang M, Lei ZM & Rao Ch V.** 2003. The central role of human chorionic gonadotropin in the formation of human placental syncytium. *Endocrinol.* **144**: 1108-1120.
- Zygmunt M, McKinnon T, Herr F, Lala PK, Han VK.** 2005. HCG increases trophoblast migration in vitro via the insulin-like growth factor-II/mannose-6 phosphate receptor. *Mol. Hum. Reprod.* **11** (4): 261-267

Conexión de Biología y Química vía Síntesis Orgánica dirigida a la Diversidad molecular

Vladimir V. Kouznetsov

Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

“La unión interdisciplinaria de los mundos de la química y la biología debe comenzarse con la comprensión de los campos de desempeño de las dos disciplinas”.

Stuart Schreiber

Resumen

El enorme progreso en el entendimiento de los sistemas biológicos y del funcionamiento de los fármacos dentro del cuerpo humano se debe a la unión de la química y la biología y a la aplicación inteligente de los principios y técnicas de la química orgánica. Ésta juega el papel de iniciador en el descubrimiento biológico impulsando el diseño y desarrollo de nuevos fármacos. Utilizando tácticas sintéticas modernas de la química orgánica, la síntesis dirigida a la diversidad permite preparar diversas moléculas (fármacos, agentes biológicos) que son valiosos modelos para el estudio de las complejas interacciones biológicas de los organismos vivos. Los resultados y logros del LQOBio se discuten en esta revisión prestando atención al desarrollo de algunos aspectos de la síntesis verde y la biología química que ha venido haciendo el LQOBio estos últimos años.

Palabras claves: síntesis dirigida a la diversidad, moléculas pequeñas, heterociclos, bioensayos *in vitro* e *in vivo*.

Connection between Biology and Chemistry via Diversity Oriented Synthesis

Abstract

The enormous progress in the understanding of biological systems and the functioning of the drugs within the human body is due to the union of chemistry and biology and the intelligent application of the principles and techniques of organic chemistry. This plays the role of initiator in biological discovery driving the design and development of new drugs. Using tactics of modern synthetic organic chemistry, diversity-directed synthesis allows preparation of various molecules (drugs, biological agents) that are valuable models for the study of complex biological interactions of living organisms. The results and achievements of the LQOBio are discussed in this review with attention to the development of some aspects of green synthesis and chemical biology that has been doing the LQOBio recent years.

Key words: Diversity Oriented Synthesis, small molecules, heterocycles, *in vitro* and *in vivo* bioassays.

Introducción

La química orgánica, la biología y la física son las columnas primarias que sostienen el templo de la ciencia que estudia y trata de entender los procesos fundamentales de la vida de los seres vivos. El enorme progreso en el entendimiento de los sistemas biológicos y del funcionamiento de los fármacos dentro del cuerpo humano se debe a la aplicación inteligente de los principios y técnicas de la química orgánica.

La química orgánica juega el papel del iniciador en el descubrimiento biológico, en el diseño y desarrollo de nuevos fármacos. Desde hace muchos años la biología “se movió “desde del nivel descriptivo y fenomenológico hasta el nivel molecular y bioquímico. En consecuencia, nuevas

disciplinas como la biología estructural, la biología molecular y la genética molecular fueron creadas y desarrolladas (Waldmann y Janning, 2004).

Los seres vivos producen y liberan al medio diversos compuestos químicos (productos naturales) que afectan de manera significativa a otros organismos y participan en sus interacciones químicas. Así pues, todos los organismos producen señales químicas y responden a las señales químicas de otros organismos. Las señales químicas producidas por los

Correspondencia:

Vladimir V. Kouznetsov, vkuznechnik@gmail.com

Recibido: 10 de marzo de 2014

Aceptado: 30 de mayo de 2014

organismos están constituidas por compuestos, relativamente sencillos en su estructura, llamados moléculas “pequeñas”. Son preparadas a través de vías metabólicas secundarias que dan origen a los metabolitos primarios, macromoléculas - carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos.

De otro lado, se sabe que la unidad mínima de los seres vivos es la célula. Es una región protegida en el que diversos conjuntos de moléculas “pequeñas” y macromoléculas interactúan entre sí en una armonía lograda a través de auto-ensamblaje. Gran parte del contenido de la célula es una sopa aguada con sabor a moléculas “pequeñas”: los azúcares simples, los aminoácidos, vitaminas, y los iones sodio, cloruro, los iones de calcio (Lodish et al., 2008). Estos productos naturales y/o sus análogos próximos tienen una importancia vital en el descubrimiento de los mecanismos universales en los seres vivos, tales como la división celular, apoptosis celular, las interacciones ADN-proteínas, etc.

Los productos naturales tienen mucha afinidad hacia las macromoléculas, *e.g.*, proteínas, ADN y estructuras lipídicas. Por eso, estos productos suelen ser utilizados como agentes farmacológicos y/o modelos para desarrollar nuevos agentes más efectivos y menos tóxicos. El término de moléculas “pequeñas” apareció durante el desarrollo de metodologías de síntesis de compuestos orgánicos y se refiere a su peso molecular, menos de 500 Da (Rojas-Ruiz et al., 2011).

Las moléculas sintéticas y naturales forman parte del arsenal de la química orgánica. Ambos tipos de moléculas sirven de prototipos de fármacos y se emplean como precursores en la construcción de nuevas entidades químicas de amplia y diversa utilidad práctica. También pueden ser usados como instrumentos indispensables en el estudio de los procesos biológicos.

Al profundizar los estudios sobre los sistemas vivos y sus procesos bio-químicos, surgió la necesidad de tener medios para perturbar estos sistemas haciendo uso de las moléculas “pequeñas”. Esta táctica, llamada sensibilización química, puede generar nueva información, más profunda y detallada, sobre el funcionamiento de los sistemas vivos. Su desarrollo proporcionó una nueva área emergente: la biología química (Waldmann y Janning, 2004). Para su estudio se necesitan nuevas moléculas “pequeñas” diversas y diferentes, cuya preparación se logra por medio de las actividades de la fitoquímica y de la síntesis química. Esta última tiene varias estrategias y un sinnúmero de tácticas que se desarrollan paulatinamente.

La primera estrategia, -TOS (Target Oriented Synthesis, por sus siglas en inglés), conocida como síntesis orientada a un producto blanco (“target” deseado) que es casi siempre un producto natural (alcaloide, terpeno o fenólico, etc.) de alta complejidad estructural y con una fuente limitada

(Schreiber, 2000). La DOS (Diversity Oriented Synthesis) es otra estrategia desarrollada posteriormente que se enfoca en la síntesis dirigida a la diversidad molecular, funcional y estructural. Ésta busca diferentes tipos de diversificación molecular que permite encontrar moléculas más específicas (fármacos o agentes biológicos) para el estudio de las complejas interacciones biológicas de los seres vivos incluyendo humanos (Spadl et al., 2008). La tercera estrategia, - FOS (Function Oriented Synthesis), síntesis orientada a la función (fragmentos de las moléculas) implica también la detección de pequeñas moléculas más específicas haciendo uso de subunidades o fragmentos de compuestos similares a los medicamentos (Wender et al., 2008).

Las dos últimas metodologías tienen la misma filosofía y las mismas estrategias para cumplir el objetivo general: generar nuevas moléculas bioactivas y comprender el funcionamiento de los procesos biológicos universales a nivel molecular por medio de moléculas pequeñas. Tanto DOS como FOS utiliza tácticas sintéticas modernas de la química orgánica: táctica de economía de átomos mediante reacciones catalíticas en tándem y domino, condensaciones multicomponentes, reacciones de cicloadición (cicloadición [4+2], cicloadición [3+2] dipolar) entre sustratos comerciales y económicos, o sintéticamente accesibles. También se presta atención a la aplicación de los criterios de la química verde en estas reacciones. Todos estos aspectos sintéticos están en el centro de atención de nuestro grupo y van ser mencionados en este ensayo. Además, el trabajo realizado en la síntesis se ilustra con algunas aplicaciones bio- y/o farmacológicas de las moléculas preparadas.

Síntesis de nuevas moléculas pequeñas utilizando AEs y sus componentes como reactivos químicos renovables

La discusión de esta parte está dividida en los siguientes temas: **1.)** Procesos de cicloadición [4+2] con la participación de compuestos fenólicos con grupos alilo y/o propenilo tipo C_6-C_3 como alquenos sustituidos activados; **2.)** Procesos de cicloadición [3+2] con la participación de estirenos derivados de compuestos fenólicos tipo C_6-C_1 , y aldehídos aromáticos; **3.)** Importancia y resultados de bioensayos usando un modelo del pez Cebra.

En este contexto, el uso de diversos aceites esenciales (AEs) y sus constituyentes fenólicos mayoritarios de algunas plantas tropicales como materiales renovables se considera una innovación. En general, se sabe que plantas son las magas del metabolismo, biosintetizando miles de moléculas en forma eficiente. Teniendo en cuenta de que Colombia tiene una rica diversidad vegetal, se puede decir que las plantas tropicales comerciales, con sus aceites esenciales, son plataformas importantes para el desarrollo de estudios biológicos.

La necesidad de reducir la dependencia de la sociedad del petróleo crudo ha encaminado la atención de los investigadores al uso de la biomasa vegetal no sólo como fuente de energía, sino también como fuente de productos de química fina. De hecho, algunos componentes de la biomasa fácilmente aislables podrían ser utilizados como reactivos químicos en la síntesis de nuevos productos con un mayor valor añadido (Corma et al., 2007). Por ende, los AEs, con sus constituyentes, son fuente alternativa de materiales renovables.

Explorando el lema “*Diversidad botánica siempre genera diversidad química*”, nos enfocamos a la creación de nuevas bibliotecas de compuestos a partir de los derivados del fenilpropano – “ C_6-C_3 ” y los derivados del metilbenceno – “ C_6-C_1 ” (compuestos fenólicos) (Figura 1). Aunque este grupo presente en los AEs es menos frecuente que el grupo de terpenoides, sus miembros juegan un rol muy importante tanto a nivel práctico como científico.

“¿Es posible generar nuevas quimiotecas con la participación de los componentes principales de los AEs de plantas medicinales? ¿Cuales requisitos deben tener estos aceites?” La lógica de la química orgánica sintética y la necesidad urgente de nuevas moléculas con múltiples usos nos hicieron prestar atención a las plantas tropicales que: a) puedan cultivarse en grandes cantidades y con un fácil manejo; b) den un rendimiento de AE lo más alto posible, >10%, y c) que preferiblemente su componente principal alcance un contenido >55%. Es una situación “ideal” que problemente no siempre se presentará. Sin embargo, se sabe que los derivados fenólicos C_3 -alilo como el eugenol se han obtenido en el 76,8% de la composición total de aceite extraído de brotes florales del clavo seco (*Eugenia*

caryophyllus) en rendimientos superiores al 12,7% (Merchán et al., 2011; Kokate et al., 2005). Otros dos fenilpropenoides de interés son: el estragol, aislado del estragón (*Artemisia dracuncululus* L.) con un porcentaje del 60 - 75% (Kordali et al., 2005), y el safrol obtenido a partir de la madera del tronco de *Ocotea pretiosa* o de la corteza de la raíz o de la fruta de árbol *Sassafras albidum* (Nuttall) Nuss, con una composición de 92,9 y 80,0%, respectivamente (Olivero-Verbelet et al., 2010; Simić et al., 2004). Las frutas del anís estrellado (*Illicium verum* Hook F.) son una fuente rica en el AE (9,8%) y también en el *trans*-anetol (89-92% del AE) (Wang et al., 2010).

Con esta información iniciamos nuestro estudio bio-fito-químico. En los siguientes subrubros temáticos se ofrece información novedosa sobre la utilización del potencial sintético de diversos AEs, con sus constituyentes fenólicos como sustratos renovables en la conversión a nuevos compuestos heterocíclicos funcionalizados, y los resultados obtenidos durante los estudios farmacológicos.

1. Procesos de cicloadición [4+2], reacción de imino Diels-Alder de tres componentes.

Nuevas colecciones de tetrahidroquinolinas y quinolinas con el fragmento de anetol o eugenol se prepararon por medio de la reacción de imino Diels-Alder (IDA) multi-componente (MCIDA), una herramienta potente en la química orgánica y la química medicinal.

Debido a la importancia farmacológica de las moléculas heterocíclicas, el desarrollo de sus síntesis está constantemente en el foco de atención de los químicos. Seleccionando un modelo simple forjado en la naturaleza,

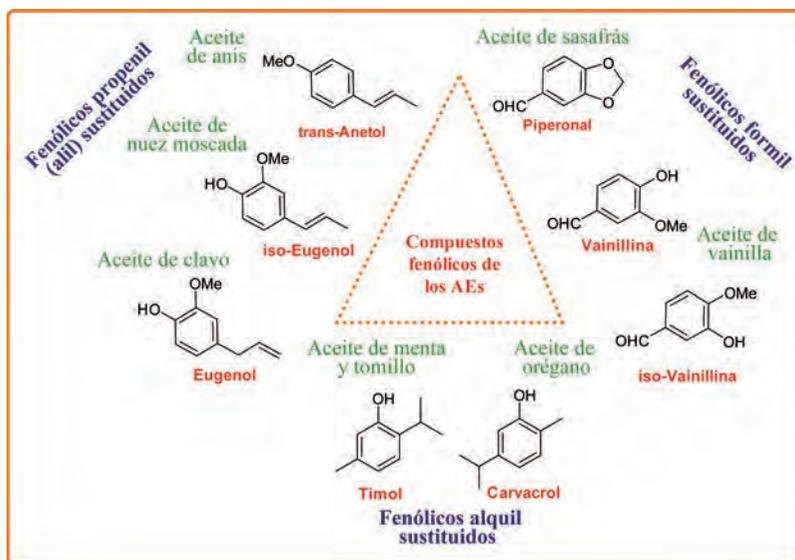


Figura 1. Diversidad química de los componentes principales presentes en los AEs de plantas medicinales.

el alcaloide quinolínico dubamina, aislado de varias especies del género *Haplophyllum* (*H. dubium* y *H. latifolium*) de la familia Rutaceae, nuestro grupo desarrolló un método efectivo de su síntesis, sus análogos cercanos y nuevos derivados con estructuras similares: tetrahydroquinolinas 2-hetaril sustituidas, quinolinas polifuncionalizadas, (tetrahydro)indeno[2,1-*c*]quinolinashetaril-sustituidas, isoindolo[2,1-*a*]quinolinas, etc. (Fig. 2) (Kouznetsov et al., 2012).

Usando la metodología DOS basada en productos naturales y aplicando MCIDA como herramienta sintética, fue posible emplear algunos de los fenilpropanoides mencionados como alquenos para preparar nuevas tetrahydroquinolinas con fragmentos de anetol y/o isoeugenol, bajo principios de la química verde. Un ejemplo ilustrativo de esta metodología se da en la Figura 3, donde se cumplen al menos cuatro de los doce principios de la química verde: 1. Economía atómica (reacción de cicloadición de tres componentes); 2. Disolventes y auxiliares más seguros (reducción de disolventes, uso de solventes verdes – PEG-400, uso de catalizadores heterogeneos verdes – AMCell-SO₃H); 3. El uso de materias primas renovables (eugenol y anetol); 4. Preparación de moléculas en fase sólida, sin solventes (Kouznetsov et al., 2008; Kouznetsov et al., 2013). Gracias al diseño racional y efectivo (Fig. 2 y 3) se logró la identificación y el desarrollo de nuevos agentes antiparasitarios. Entre varias moléculas líderes se destacan la 6-etil-2-fenilquinolina (6-Et-Qu) que fue capaz de inhibir el crecimiento de promastigotes

de *Leishmania braziliensis* y reducir el número de amastigotes intracelulares, bloqueando la biosíntesis del esterol del protozoo vía la acumulación del esqualeno y la disminución del nivel de 5-hidroepisterol (Bompart et al., 2013); las 3-metil-tetrahydroquinolinas (1-B-THQ, 6-CN-THQ) que mostraron efecto inhibitor del crecimiento de *Trypanosoma cruzi* en epimastigotes y amastigotes, y citotoxicidad inespecifica sobre fibroblastos NCTC-929, alcanzando altos índices de selectividad en la forma extracelular y una gran selectividad en la etapa intracelular (Fonseca-Berzal et al., 2013) (Fig. 4). Estos prometedores resultados revelan cómo las tetrahydroquinolinas se constituyen en posibles prototipos de fármacos, contra enfermedades tropicales “huérfanas”, - leishmaniasis y tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas.

Tetrahydroquinolinas 8-NH₂-THQ y 8-NO₂-THQ (Fig. 4) presentaron potente actividad citotóxica, siendo más eficaces en las líneas celulares de carcinoma de mama MCF7 y SKBR3. Ambas fueron evaluadas en combinación con dos medicamentos reconocidos, paclitaxel y gemcitabina. Los resultados mostraron que cuando se mezclaron estos derivados con los fármacos se observó un gran sinergismo y una intensificación de la actividad citotóxica sobre ambas líneas celulares a una concentración por debajo de 1 µg/mL. Durante estos estudios, el compuesto 8-NO₂-THQ se identificó como nuevo, perspectiva y seguro agente para terapia adyuvante (Muñoz et al., 2011).

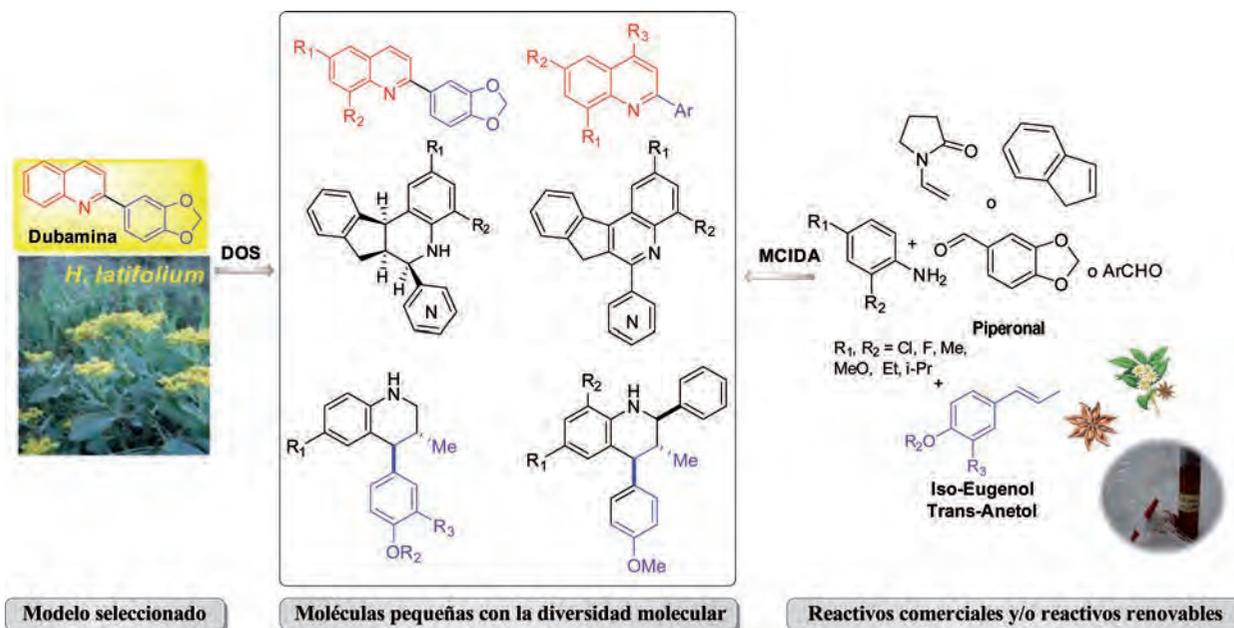


Figura 2. Estrategias y tácticas sintéticas para generar nuevas moléculas pequeñas con diversidad estructural.



Figura3. Desarrollo de nuevas tetrahidroquinolinas con fragmentos de anetol y/o isoeugenol bajo criterios de la química verde.

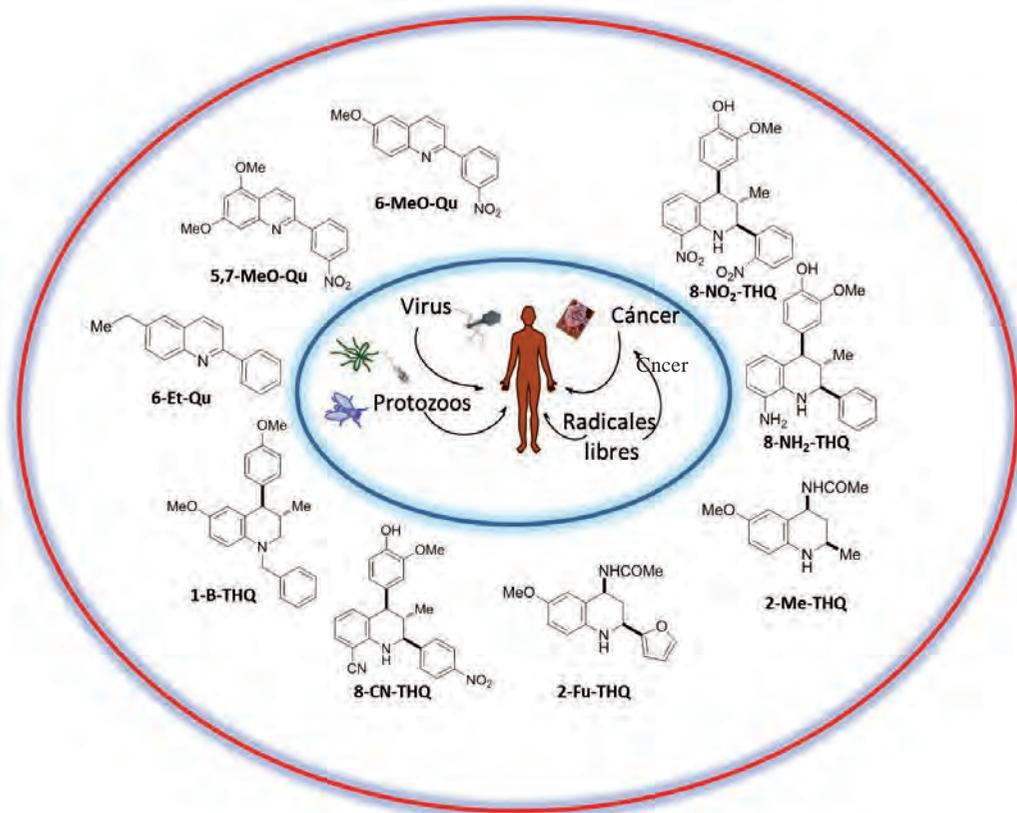


Figura 4. Desarrollo de nuevos agentes antiparasitarios y anticancerígenos.

La actividad antioxidante se relaciona con numerosas enfermedades (trastornos cerebrales, aterosclerosis y cáncer), en cuyas patologías, los radicales libres pueden estar implicados. Utilizando el ensayo de la capacidad

antioxidante equivalente Trolox® (TEAC), nuevas moléculas tetrahidroquinolinas 2-Fu-THQ y 2-Me-THQ (Fig. 4) han descubierto en nuestro laboratorio. Éstas son potentes inhibidores de radicales libres, con

valores de TEAC igual o mayor que la de antioxidantes conocidos, tal como α -tocoferol (Kouznetsov et al., 2011; Merchán et al., 2013).

Las 2-(3-nitrofenil)quinolinas 6-MeO-Qu y 5,7-MeO-Qu (Fig. 4) mostraron propiedades antivirales frente al virus del síndrome de la inmunodeficiencia humana (VIH), realizando el test del MTT y en el ensayo de virus recombinantes. La inhibición de la transcripción del VIH de estas moléculas ocurre vía mecanismo de la activación del forbolmiristato acetato en linfocitos primarios; el factor nuclear B y la especificidad de la proteína-1 parecen ser los factores de transcripción más importantes involucrados en su acción (Bedoya et al., 2010).

Con estos excelentes resultados recién logrados, otros modelos de metabolitos secundarios del reino vegetal, y otras herramientas sintéticas se introdujeron en nuestra investigación actual.

2. Procesos de cicloadición [3+2], reacción 1,3- dipolar de dos y/o tres componentes.

El significado sintético y farmacológico de los compuestos fenólicos (fenilpropenoides) y los alcaloides indólicos sigue siendo importante y actual en el desarrollo de nuevos fármacos. El sistema de anillos de dihidroindeno y dihidrofurano, que es una subunidad estructural de fenilpropenoides, y el sistema de C-3-espiro-2-oxiindol están presentes en un gran número de compuestos de origen natural. Estos sistemas biológicamente importantes pueden ser ensamblados utilizando la reacción de cicloadición [3+2] dipolar como se demuestra en la siguiente investigación.

Como se sabe, el eugenol y el anetol son los componentes mayoritarios de los respectivos AEs de plantas *Eugenia caryophyllus* y *Illicium verum*, aceites económicamente importantes para el desarrollo de las industrias perfumística y farmacéutica. Sin embargo, sus dímeros con la estructura de dihidroindeno, igual de importantes biológicamente, se encuentran esparcidos en pocas cantidades en el mundo vegetal. Por eso, resulta más fácil prepararlos por síntesis en el laboratorio que aislarlos de las plantas. El AE obtenido de la corteza del árbol de *Croton malambo* (fam. Euphorbiaceae) posee actividad citotóxica, proapoptótica y actividad antiinflamatoria (Jaramillo et al., 2007; Jaramillo et al., 2010). Su principal componente es el metileugenol, un agente repelente que regula las interacciones planta –herbívoro (Tan y Nishida, 2012).

Haciendo énfasis en los beneficios estructurales de estos fenilpropanoides, se desarrolló un proceso eficiente de construcción de modelos lignánicos tipo dihidroindeno, dando prioridad al uso de los principios de la química

verde. De este modo, se preparó un catalizador recuperable, con características ácidas y soportado en sílica, el $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$ que permitió la obtención de dímeros del *trans*-anetol y del *trans*-isoeugenol (Kouznetsov y Merchán Arenas, 2009). La síntesis formal del dímero de metileugenol se realiza en mismas condiciones de reacción utilizando el AE de *Croton malambo* con su componente mayoritario, metileugenol (Fig. 5). Cabe notar que con una simple manipulación de la reacción de acilación el AE de clavo y de su componente mayoritario, el eugenol se convirtió en el metileugenol.

En busca de nuevas moléculas inhibidoras de radicales libres análogas a los fenilpropanoides fenólicos, se modificó la estructura del eugenol y su isómero, el isoeugenol. Por simples modificaciones químicas (hidrogenación, hidroximetilación básica, hidroximetilación ácida y dimerización) se preparó la siguiente serie del dihidroeuugenol, hidroximetileugenol, 4-(1,3-dioxanil)fenol y γ -diisoeugenol. Todas estas moléculas presentaron una alta actividad como inhibidores de los radicales libres. En particular, el γ -diisoeugenol y 1,3-dioxanilfenol fueron las moléculas más activas, superando la vitamina E (Merchán et al., 2011) (Fig. 6).

Los mismos AEs y sus constituyentes fenólicos se pueden utilizar en la construcción de dihidrofuranos polifuncionalizados (Fig. 7). Estas moléculas dihidrofuránicas contienen en su estructura una unidad $\text{C}_6\text{-C}_3$, característica de neolignan dihidrofuránicos, tal es la licarina A y (-)- α -acuminatina. Estas últimas mostraron actividad anticancerígena contra la línea celular HL-60 y una potente actividad antioxidante (Charlton, 1998).

Usando PEG 400 y catalizador ácido ($\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$) en la reacción formal de cicloadición [3 +2], se prepararon *trans*-dihidrobenzo[*b*]furan-5-oles. El isoeugenol y/o anetol y la benzoquinona fueron utilizados en esta síntesis (Fig. 7) (Kouznetsov et al., 2008).

El PEG 400 es considerado como uno de los medios de reacción inocuos y se emplea generalmente como vehículo para la administración de fármacos en el organismo. Por esta razón, la utilización de este disolvente en la reacción de cicloadición se considera verde y adecuado para la construcción de los *trans*-2,3-dihidrobenzo[*b*]furan-5-oles.

De otro lado, los alcaloides indólicos representan una parte importante del estudio de los productos naturales, incluyendo los alcaloides del sistema de C-3-espiro-2-oxiindol construido a partir del núcleo de la isatina, producto comercial y económicamente asequible (Fig. 8). Los derivados espiro-pirrolidínicos son la familia más conocida y abundante de este tipo de alcaloides, donde

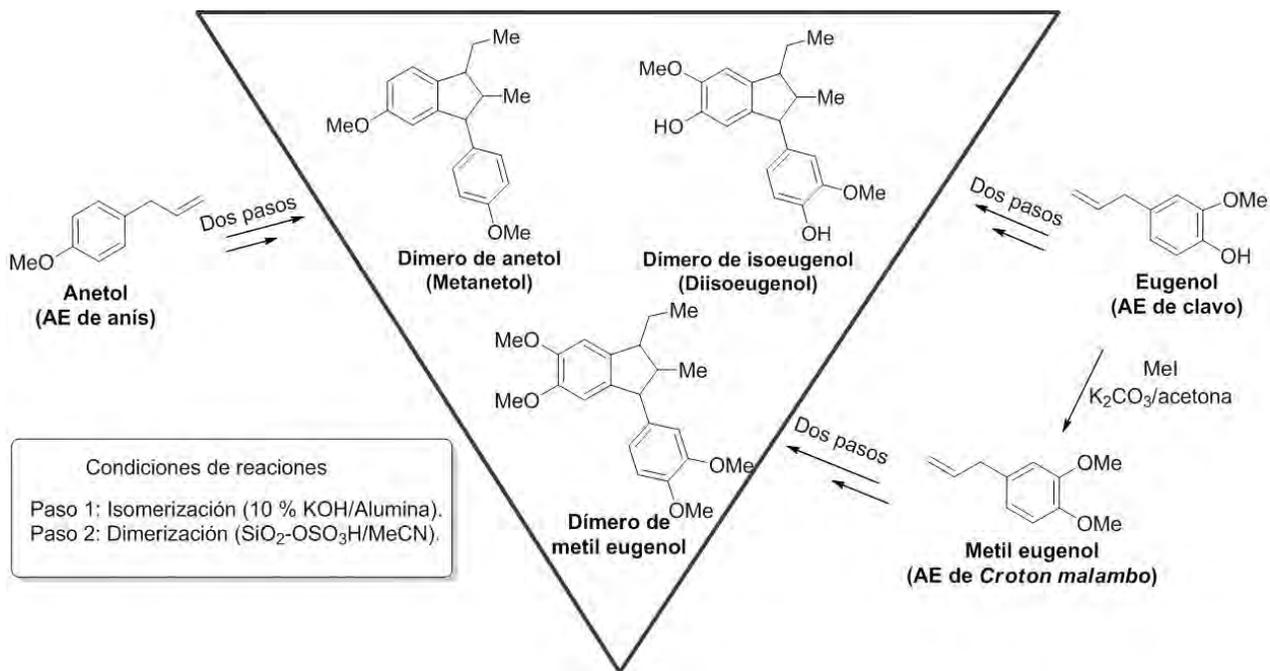


Figura 5. Desarrollo de dihidroindenos usando AEs y sus constituyentes fenólicos como reactivos renovables.

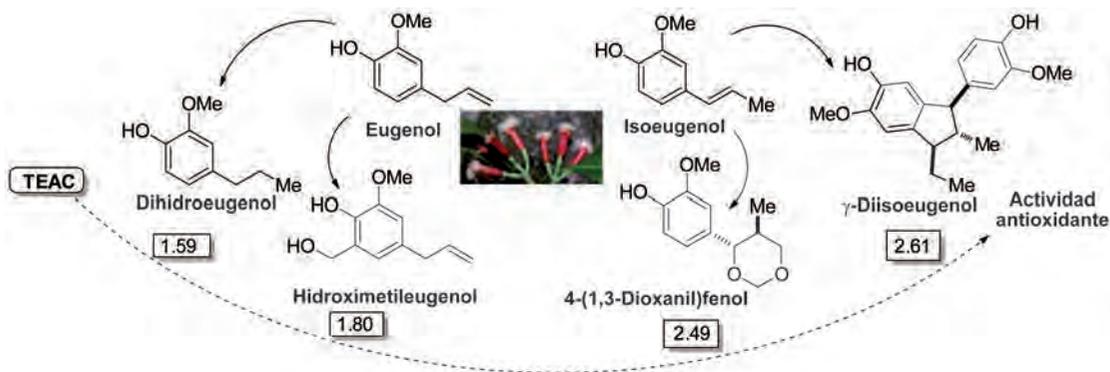


Figura 6. Manipulaciones químicas del eugenol e isoeugenol hacia moléculas antioxidantes.

se destaca la horsfilina, un agente analgésico aislado de la planta *Horsfieldia superba*. La (+)-retronecina, a su vez, es un compuesto orgánico heterocíclico donde dos anillos de cinco miembros se encuentran unidos por un nitrógeno común.

El esqueleto de la pirrolizidina constituye la estructura central de un grupo de alcaloides que se pueden encontrar en más de 6000 plantas, por ejemplo, en *Senecio douglasii*. Debido a su importancia biológica, se prepararon nuevas series de moléculas heterocíclicas con el sistema de C-3-espiro-2-oxiindol generando diversidad molecular de naturaleza indólica (Fig. 8). Estas moléculas son de

gran importancia para la química orgánica y la química medicinal, debido a su abundancia en varios productos naturales de interesante arquitectura molecular.

La construcción del sistema de C-3-espiro-2-oxiindol, donde los esqueletos de la isatina y pirrolizina se unen vía el carbono espiro, se realizó con facilidad mezclando tres componentes en un medio verde (agua con carbonato de propileno – C.P.). Este ejemplo es interesante por que se forman simultáneamente tres nuevos enlaces y cinco centros estereogénicos incluyendo un átomo cuaternario (espiro-átomo) en un solo paso (Fig. 8) (Puerto Galvis y Kouznetsov, 2013).

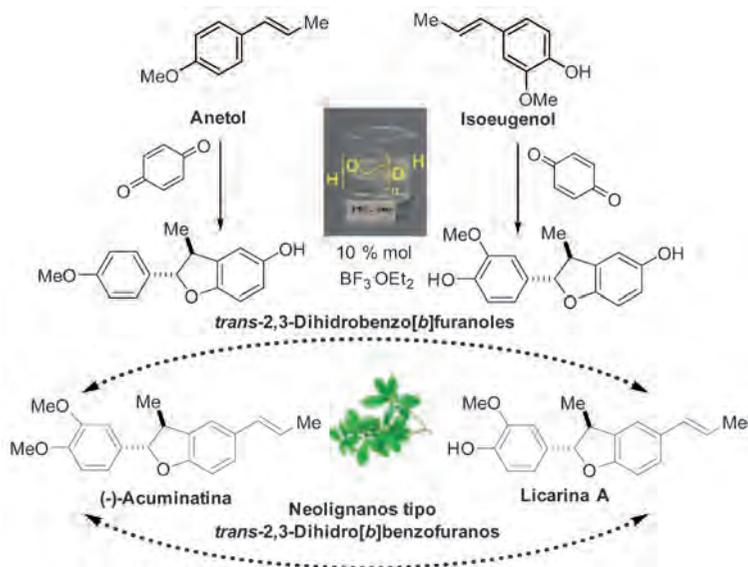


Figura 7. Síntesis de 2,3-dihidrobenzo[b]furan-5-oles usando medios de reacción verdes.

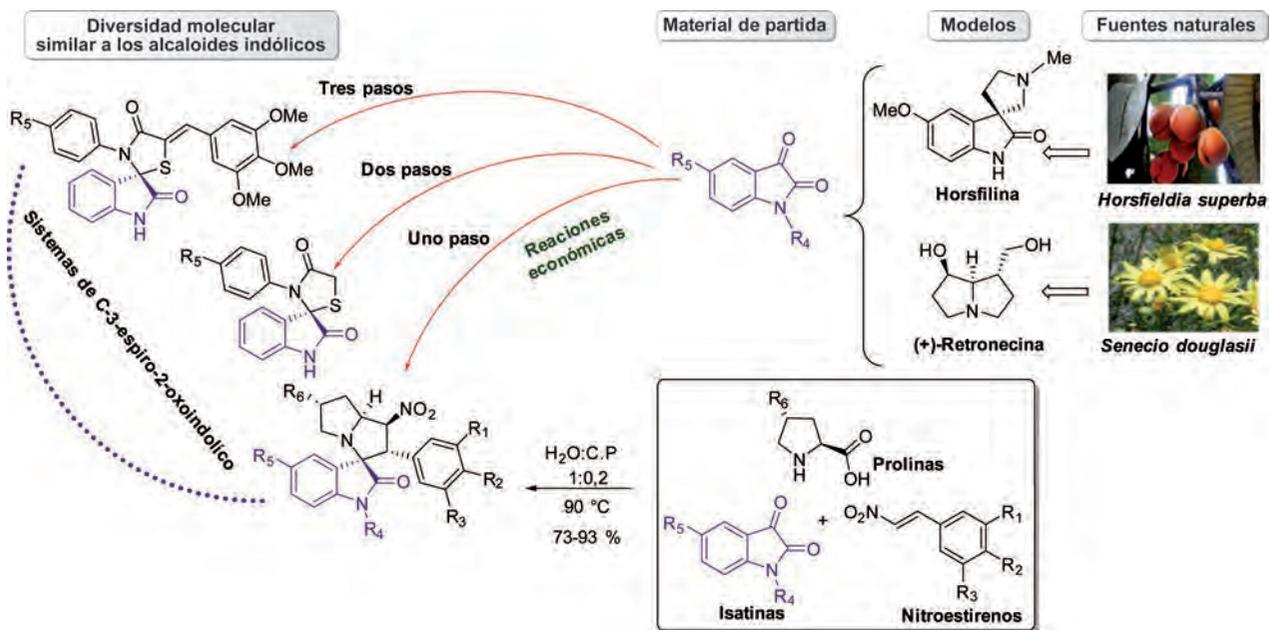


Figura 8. Modelos de alcaloides y generación de compuestos indólicos.

3. Estudios farmacológicos: pequeños peces, moléculas orgánicas y grandes esperanzas.

El desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos implica la realización de numerosos ensayos *in vivo* e *in vitro* para la identificación del compuesto más promisorio. Este compuesto-líder debe ser sometido a rigurosas pruebas de toxicidad y farmacocinética antes de ser evaluado en ensayos clínicos. Sin embargo, muchas de estas pruebas

pre-clínicas no aseguran el éxito de estas moléculas en los subsecuentes estudios clínicos. La correlación directa entre los modelos animales y los humanos es obstaculo principal para la generación de nuevos fármacos. Lo anterior constituye uno de los principales retos de la farmacología y la química medicinal. Últimamente, el pez Cebra (*Danio rerio*), un vertebrado de 4-5 cm de longitud, se ha convertido en un modelo atractivo y

muy importante. Este modelo ha contribuido en varios aspectos bio-farmacológicos importantes, tales como la identificación de dianas farmacológicas, modelos de enfermedades, descubrimiento de los compuestos-líderes y su toxicología. Esto se debe a la alta homología genética con los humanos: estos peces comparten más del 85 % con humanos, la gran similitud entre tejidos y órganos y la presencia de repuestas biológicas similares cuando se “estimulan” con moléculas pequeñas (Stern y Zon, 2003).

Comparando con los estudios farmacológicos tradicionales de las ratas, los conejos y primates, este modelo tiene varias ventajas, a saber: a) los embriones y larvas del pez Cebra son de tamaño pequeño (1-1,5 mm) son transparentes durante las primeras etapas de desarrollo; b) su embriogénesis finaliza durante las primeras 24 horas de vida; y c) su desarrollo ocurre fuera del útero de la madre. Todo eso ayuda su inspección visual y estudio como un sistema individual. Adicionalmente, su alta fertilidad (una pareja de adultos puede llegar a producir de 400-600 embriones) permite evaluar una gran cantidad de moléculas en cuestión de días (Rubinstein, 2003).

La técnica de los bioensayos en modelo del pez Cebra puede ser representada gráficamente en la Figura 9. La claridad óptica del embrión hace posible la visualización de una amplia variedad de cambios funcionales y morfológicos sin matar, diseccionar ni manipular los embriones. La necrosis puede ser fácilmente detectada como opacidad anormal en el embrión. Los defectos en el sistema circulatorio, tales como hemorragias, también pueden ser evaluados fácilmente (Stern y Zon, 2003).



Figura 9. Larvas de pez cebra (*Danio rerio*) de 6 días post-fertilización y esquema general de bioensayos en el modelo pez Cebra.

Hoy en día, las investigaciones que utilizan este modelo se expanden hacia áreas como la neurociencia, farmacología, investigaciones clínicas (esencialmente cardiovasculares) y química medicinal (el desarrollo de agentes quimioterapéuticos). Este hecho se ve reflejado en el marcado incremento en las publicaciones asociadas al pez Cebra en años recientes (Taylor et al., 2010; Letamendia et al., 2012; ReddyGuduruet al., 2013; Basu y Sachidanandan, 2013).

Gracias a la simpleza y eficacia del proceso de síntesis, nuestro grupo pudo disponer de una quimioteca de moléculas y logró desarrollar e implementar por primera vez en Colombia un modelo *in vivo*. El modelo de embriones del pez Cebra es rápido, económico, con pocos conflictos éticos y sus resultados son de alta confiabilidad y reproducibilidad. Todo eso incrementa las probabilidades de éxito de futuros ensayos clínicos. Es así, como el modelo del pez Cebra se convierte en una herramienta útil para la farmacología y la química medicinal en el diseño, desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos, tal y como lo demuestran los resultados que se expondrán a continuación.

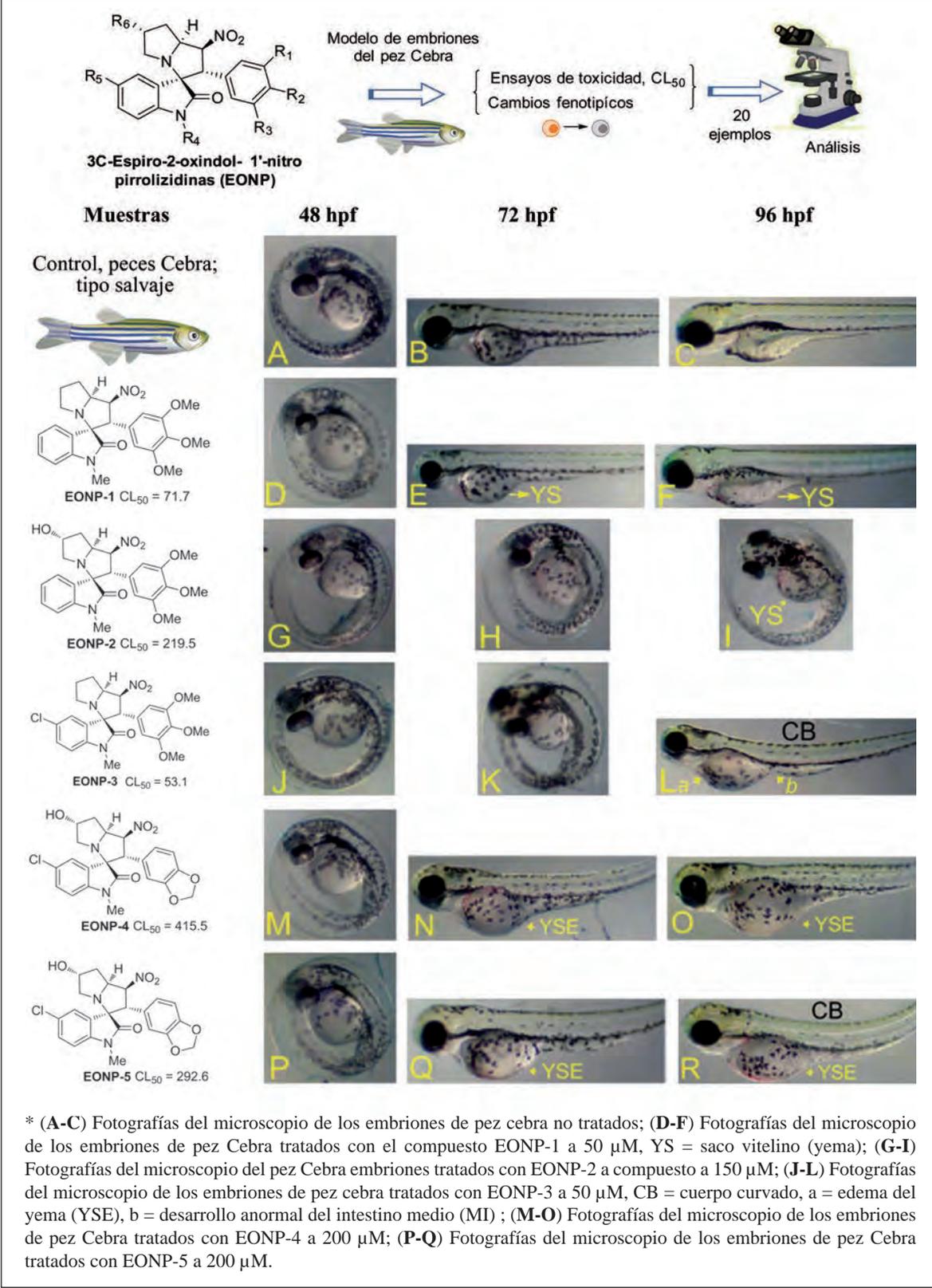
Habiendo obtenido y caracterizado una nueva biblioteca de veinte miembros basados en el sistema de la 3C-espiro-2-oxindol-1'-nitropirrolizidina que fue construido por medio de reacción “one-pot” de tres componentes (diversas prolinas, isatinas y nitroesterenos) (Fig. 8), se realizaron los ensayos de su toxicidad (concentración letal - CL_{50} , $\mu\text{mol/L}$) en embriones del pez Cebra identificando varias moléculas tóxicas, la EONP-1 y la EONP-3, y varias moléculas no tóxicas, la EONP-2, EONP-4 y EONP-5 (Tabla 1) (Puerto Galvis y Kouznetsov, 2013).

Una vez que se determinó la CL_{50} para esta serie, se inició el análisis de los cambios fenotípicos, es decir el estudio de cómo se manipulan sutilmente la actividad y la expresión normal de los genes endógenos y proteínas.

Este estudio se realizó en un rango de concentraciones por debajo del valor de CL_{50} , y los fenotipos inducidos por las moléculas en los embriones de pez cebra, se analizaron a las 48, 72 y 96 horas después de la fertilización (hpf, hours post fertilization). Durante el análisis se observó el retraso del desarrollo, cuerpos curvados (CB, *curved bodies*), edemas graves, edema en el saco vitelino (YS, *big yolk sac* o YSE), desarrollo anormal del intestino medio (MI). Los efectos descritos fueron los principales fenotipos visuales observados para esta serie, y dependen del compuesto administrado (Tabla 1). Los resultados sugieren que el suministro de nutrientes y hormonas, contenidas en el YS al sistema circulatorio es lento y se inducen varios daños al hígado.

Tomando como punto de partida los resultados encontrados, se iniciaron ensayos de actividad antiviral frente a herpes virus, antimicóticos y citotóxicos, con el fin de establecer

Tabla 1. Nueva librería y el esquema de los bioensayos *in vivo* con los embriones del pez Cebra.*



los posibles mecanismos de acción, e identificar nuevos targets biológicos implicados en el desarrollo embrionario de los vertebrados.

Conclusiones y perspectivas futuras

Los aceites esenciales de diversas plantas aromáticas tropicales desempeñan un papel importante en el desarrollo de las ciencias naturales. A lo largo de la historia de la civilización humana, éstos se utilizaron para fines medicinales, farmacológicos, en aromaterapia y con fines culinarios. Hoy en día, es evidente que la biomasa vegetal, incluidos los aceites esenciales no sólo son una fuente de energía y alimento, sino también una fuente para los reactivos de la química fina. Los aceites esenciales son mezclas muy variables y complejas de metabolitos, tienen componentes aislables y son de carácter renovable.

La gran ventaja de trabajar con aceites esenciales, es que la mayoría de ellos se destilan en un solo paso, ofreciendo sus componentes valiosos rápidamente. Por otra parte, algunas plantas tropicales aromáticas crecen rápidamente y dan una gran fracción de aceite esencial (hasta 2 - 10%), por lo tanto, si se tiene una planta que produce una alta cantidad del aceite esencial, hasta un 10%, y cuyo componente principal (o mejor, un componente único) alcanza hasta el 55%, hay una gran posibilidad de utilizar este aceite como reactivo en síntesis química, para la obtención de nuevos productos con un mayor valor añadido, por ejemplo, con propiedades biológicas, farmacológicas, etc.

Sobre esta base, el interés por los aceites esenciales como reactivos de química fina se incrementará en el futuro. No sólo las moléculas aromáticas que se encuentran en los aceites esenciales pueden ser usadas en la preparación de diversos productos, sino también los compuestos terpénicos, otros componentes principales de estos aceites esenciales con interesantes estructuras.

La diversidad química de las funcionalidades en los compuestos fenólicos, y en los terpenos, ha generado la amplia diversidad estructural presente en los numerosos productos naturales conocidos. Con la atención fija en los procedimientos sintéticos de carácter verde, no sería sorprendente encontrar más aplicaciones sintéticas a los componentes mayoritarios de los aceites esenciales.

Se espera que esta pequeña reseña ayude a los lectores a inspirarse, y a realizar nuevos descubrimientos e innovaciones transformando químicamente los aceites esenciales, unos reactivos económicos, accesibles y renovables.

El descubrimiento de fármacos involucra un proceso complejo de ensayos bioquímicos, celulares y pruebas de validación en modelos animales, teniendo como último peldaño la validación en seres humanos; este proceso toma típicamente

de 12 a 15 años y varios millones de dólares antes que el fármaco alcance el mercado. El cribado de compuestos químicos de bajo peso molecular, la identificación de los cambios fenotípicos y el respectivo reconocimiento de su(s) diana(s) biológica(s) en los organismos vivos usados como modelos, representa una poderosa alternativa en la identificación de compuestos líderes, al combinar un proceso de cuantiosos pasos en unos pocos.

Dado que numerosos procesos biológicos no pueden ser recreados en cultivos celulares, y que el metabolismo de los compuestos podría ser profundamente diferente para un organismo entero, la utilización de los peces Cebrá surge como un modelo biológico versátil, que permite eliminar muchos de los inconvenientes y disminuir los costos asociados a los ensayos biológicos iterativos.

Los avances en la comprensión de los sistemas biológicos, se debe a la sabia aplicación de los principios y técnicas de la química orgánica. La perturbación que causan las moléculas pequeñas en los sistemas biológicos, permite encontrar una valiosa y detallada información acerca del funcionamiento de los sistemas vivos desde una perspectiva molecular.

Por lo tanto, la química orgánica sintética juega un papel de iniciador en el descubrimiento biológico, diseñando rutas sintéticas y metodologías eficientes para la construcción y optimización de sistemas moleculares que pretenden alcanzar una alta analogía estructural con las moléculas descubiertas en la naturaleza, reconocidas por ser efectivas en el tratamiento de diversas enfermedades.

Agradecimientos

Se agradece a Colciencias (RC-432-2004, RC-245-2011, RC-0572-2012 y RC-0346-2013) por la ayuda financiera de este trabajo, a la UIS por la autorización del disfrute de año sabático (Contrato 4/2013) y a mis colegas y estudiantes cuyos nombres aparecen en los artículos de nuestro Grupo de investigación.

Referencias

- Basu, S., Sachidanandan, C.** (2013), "Zebrafish: A Multifaceted Tool for Chemical Biologists", *Chem. Rev.*, 113, 7952-7980.
- Bedoya, L.M., Abad, M.J., Astudillo Saavedra, L., Gutiérrez, C.M., Kouznetsov, V.V., Alcami, J., Bermejo, P.** (2010), "Quinoline-based Compounds as Modulators of HIV Transcription Through NF- κ B and SP-1 Inhibition", *Antiviral Res.*, 87, 338-344.
- Bomparta, D., Núñez-Durán, J., Daniel Rodríguez, D., Kouznetsov, V.V., Meléndez Gómez, C.M., Sojo, F., Arvelo, F., Visbal, G., Alvarez, A., Serrano-Martínez, X., García-Marchán, Y.** (2013), "Anti-leishmanial Evaluation of C2-aryl Quinolines. Mechanistic Insight on Bioenergetics and Sterol Biosynthetic Pathway of *Leishmania braziliensis* Parasite", *Bioorg. Med. Chem.*, 21, 4426-4431.

- Corma, A.; Iborra, S.; Velty, A.** (2007), "Chemical Routes for the Transformation of Biomass into Chemicals", *Chem. Rev.*, 107, 2411-2502.
- Charlton, J. L.** (1998), "Antiviral Activity of Lignans", *J. Nat. Prod.*, 61, 1447-1451.
- Fonseca-Berzal, C., Merchán Arenas, D.R., Romero Bohórquez, A.R., Escario, J.A., Kouznetsov, V.V., Gómez-Barrío, A.** (2013), "Selective Activity of 2,4-Diaryl-1,2,3,4-tetrahydroquinolines on *Trypanosoma cruzi* Epimastigotes and Amastigotes Expressing β -Galactosidase", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 23, 4851-4856.
- Jaramillo C, B.E.; Duarte, E.; Muñoz, K.; Stashenko, E.** (2010), "Composición Química Volátil del Aceite Esencial de *Croton malambo* H. Karst. Colombiano y Determinación de su Actividad Antioxidante", *Rev. Cubana PlantMed.*, 15, 133-142.
- Jaramillo C., B.E., Olivero T., J., Muñoz, K.** (2007), "Composición Química Volátil y Toxicidad Aguda (CL₅₀) Frente a *Artemia salina* del Aceite Esencial del *Croton malambo* Colectado en la Costa Norte Colombiana", *Scientia et Technica*, 33, 299-302.
- Kokate, C.K., Purohit, A.P., Gokhale, S.B.** (2005), "A text book of Pharmacognosy", NiraliPrakashan, Pune, pp. 3-15.
- Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A.** (2005), "Determination of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Artemisia dracunculul*L. and of the Antifungal and Antibacterial Activities of Turkish *A. dracunculul*, *A. absinthium* and *santonicum* Essential Oil", *J. Agric. Food Chem.*, 53, 9452-9458.
- Kouznetsov, V.V., Meléndez Gómez, C.M., Luna Parada, L.K., Bermudez, J.H., Vargas Méndez, L.Y., Muñoz Acevedo, A.** (2011), "Efficient Synthesis and Free-Radical Scavenging Capacity of New 2,4-Substituted Tetrahydroquinolines Prepared via BiCl₃-Catalyzed Three-Component Povarov Reaction, Using N-Vinylamides", *Mol. Divers.*, 15, 1007-1016.
- Kouznetsov, V.V., Merchán Arenas, D.R.** (2009), "First Green Protocols for the Large-Scale Preparation Of γ -Diisoeugenol and Related Dihydro(1H)indenes via Formal [3+2] Cycloaddition Reactions", *Tetrahedron Lett.*, 50, 1546-1549.
- Kouznetsov, V.V., Merchán Arenas, D.R., Rojas Ruiz, F.A., Vargas Méndez, L.Y.** (2013), "Rational Design of New Molecules of Biological Significance from Phenolic Constituents of Some Tropical Plants as Renewable Materials" en "Chemistry and Pharmacology of Naturally Occurring Bioactive Compounds", Taylor & Francis, Chapter 6, pp. 146-172.
- Kouznetsov, V.V., Merchán Arenas, D.R., Romero Bohórquez, A.R.** (2008), "PEG-400 as Green Reaction Medium for Lewis Acid-Promoted Cycloaddition Reactions with Isoeugenol and Anethole", *Tetrahedron Lett.*, 49, 3097-3100.
- Kouznetsov, V.V., Merchán Arenas, D.R., Romero Bohórquez, A.R.** (2012), "Transformaciones Químicas de los Compuestos Aromáticos "C₆-C₃" y "C₆-C₁" en: "Plantas Aromáticas y Aceites Esenciales: Estudio y Aplicaciones", UIS, Bucaramanga, Colombia, pp. 245-270.
- Merchán Arenas, D.R., Martínez Bonilla, C.A., Kouznetsov, V.V.** (2013), "Aqueous SDS micelle-promoted acid-catalyzed domino ABB' imino Diels-Alder reaction: a mild and efficient synthesis of privileged 2-methyl-tetrahydroquinoline scaffolds", *Org. Biomol. Chem.*, 11, 3655-3663.
- Merchán Arenas D.R., Muñoz Acevedo A., Vargas Méndez L.Y., Kouznetsov V.V.** (2011), "Scavenger activity evaluation of the clove bud essential oil (*Eugenia caryophyllus*) and eugenol derivatives employing ABTS "decolorization", *Sci. Pharm.*, 79, 779-791.
- Muñoz, A., Sojo, F., Merchán Arenas, D.R., Kouznetsov, V.V., Arvelo, F.** (2011), "Cytotoxic Effects of New *Trans* 2,4-Diaryl-R-3-methyl-1,2,3,4-tetrahydroquinolines and their Interaction with Antitumoral Drugs Gemcitabine and Paclitaxel on Cellular Lines of Human Breast Cancer", *Chem. Biol. Interact.*, 189, 215-221.
- Letamendia, A., Quevedo, C., Ibarbia, I., Virto, J.M., Holgado, O., Izpisua Belmonte, J.C., Callol-Masso, C.** (2012), "Development and Validation of an Automated HighThroughput System for Zebrafish In Vivo Screenings", *PLOS One*, 7, e36690, available online: www.plosone.org.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C.A., Krieger, M., Scott, M.P., Bretscher, A., Ploegh, H., Matsudaira, P.** (2008), "Molecular Cell Biology"; W.H. Freeman, Basingstoke, UK, pp. 1-3.
- Olivero-Verbel, J., González-Cervera, T., Güette-Fernandez, J., Jaramillo-Colorado B., Stashenko, E.** (2010), "Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants", *Brazilian J. Pharm.*, 20, 568-574.
- Puerto Galvis, C.E., Kouznetsov, V.V.** (2013), "Regio- and Stereoselective Synthesis of Spirooxindole 1'-Nitro Pyrrolizidines with Five Concurrent Stereocenters under Aqueous Media and their Bioprospection Using the Zebrafish (*Danio rerio*) Embryo Model", *Org. Biol. Chem.*, 11, 7372-7386.
- Reddy Guduru, S.K., Chamakuri, S., Chandrasekar, G., Kitambi, S.S., Arya, P.** (2013), "Tetrahydroquinoline-Derived Macrocyclic Toolbox: The Discovery of Anti-angiogenesis Agents in Zebrafish Assay", *ACS Med. Chem. Lett.*, 4, 666-670.
- Rojas Ruiz, F.A., Vargas Méndez, L.Y., Kouznetsov, V.V.** (2011), "Challenges and Perspectives of Chemical Biology, a Successful Multidisciplinary Field of Natural Sciences", *Molecules*, 16, 2672-2687.
- Rubinstein, A.L.** (2003), "Zebrafish: from Disease Modeling to Drug Discovery", *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.*, 6, 218-223.

- Schreiber, S.** (2000), "Target-Oriented and Diversity-Oriented Organic Synthesis in Drug Discovery", *Science*, 287, 1964-1969.
- Simić, A., M. Soković, M.D., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J., Marin, P.D.** (2004), "The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities", *Phytotherapy Res.*, 18, 713-717.
- Spadl, R., Spring, D., Bender, A.** (2008), "Diversity-Oriented Synthesis; a Spectrum of Approaches and Results", *Org. Biomol. Chem.*, 6, 1149-1158.
- Stern, H.M.; Zon, L.I.** (2003), "Cancer Genetics and Drug Discovery in the Zebra Fish", *Nat. Rev. Cancer.*, 3, 533-539.
- Tan, K.H., Nishida, R.** (2012), "Methyl Eugenol: Its Occurrence, Distribution, and Role in Nature, Especially in Relation to Insect Behavior and Pollination", *J. Insect Sci.*, 12, 56, available online: insectscience.org/12.56.
- Taylor, K.L., Grant, N.J., Temperley, N.D., Patton, E.E.** (2010), "Small molecule screening in zebrafish: an *in vivo* approach to identifying new chemical tools and drug leads", *Cell Communication and Signaling*, 8, 11, available online: <http://www.biosignaling.com/content/8/1/11>.
- Waldmann, H., Janning, P.** (2004), "*Chemical Biology. A Practical Course*", Wiley-VCH, Weinheim, pp. 1-3.
- Wang, G.W., Hu, W.T., Huang, B.K., Qin, L.P.** (2010), "Illiciumverum: A review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology", *J. Ethnopharmacol.*, 136, 10-20.
- Wender, P.A., Verma, V.A., Paxton, T.J., Pillow, T.H.** (2008), "Function-Oriented Synthesis, Step Economy, and Drug Design", *Acc. Chem. Res.*, 41, 40-49.

Modelos relativistas de discos de polvo magnetizados en un espaciotiempo conformestático axialmente simétrico

Guillermo A. González

Escuela de Física, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

Resumen

Se presenta una familia infinita de nuevas soluciones de las ecuaciones de Einstein-Maxwell para espaciotiempos conformestáticos axialmente simétricos. La familia de soluciones describe discos delgados de polvo cuya fuente material presenta una corriente de conducción superficial. Las soluciones se obtienen expresando la función métrica y el potencial magnético en términos de una función auxiliar que satisface la ecuación de Laplace, una propiedad característica de los espaciotiempos conformestáticos. Al introducir una discontinuidad finita en las primeras derivadas del tensor métrico, se obtienen soluciones con una singularidad de tipo función delta con soporte en la hipersuperficie $z = 0$, describiendo discos infinitesimalmente delgados de extensión infinita. El tensor de momentum-energía superficial y la densidad de corriente superficial del disco se obtienen entonces utilizando el formalismo de las distribuciones tensoriales y se analiza su contenido físico. Se encuentra entonces que la densidad de energía se comporta bien en todas partes, que el tensor de momentum-energía satisface todas las condiciones de energía y que, aunque los discos son de extensión infinita, su masa total es finita. Adicionalmente, se encuentra que los escalares cuadráticos de curvatura y los invariantes electromagnéticos presentan un comportamiento regular, de tal manera que el espaciotiempo está libre de singularidades. Finalmente, con el fin de ilustrar el comportamiento de la familia de discos delgados, se considera el modelo correspondiente al primer miembro de la familia y se analiza gráficamente el comportamiento de la densidad superficial de energía y de la densidad superficial de corriente.

Palabras clave: Relatividad General, Soluciones exactas, Campos de Einstein-Maxwell.

Relativistic models of magnetized dust disks in an axially symmetric conformastatic spacetime

Abstract

An infinite family of new solutions of the Einstein-Maxwell equations for axially symmetric conformastatic spacetimes is presented. This family of solutions describe thin dust disks made of material sources with a surface conduction current. The solutions are obtained by expressing the metric function and the magnetic potential in terms of an auxiliary function which satisfies the Laplace equation, a characteristic property of the conformastatic spacetimes. By introducing then a finite discontinuity on the first derivatives of the metric tensor, solutions with a delta function type singularity with support on the hypersurface $z = 0$ are obtained, describing so infinitesimally thin disks of infinite extension. Then, the surface energy-momentum and the surface current density of the disk are obtained by using the formalism of tensorial distributions and their physical content is analyzed. It was found that the energy density behaves well everywhere, that the energy-momentum tensor satisfies all the energy conditions and that, although the discs are of infinite extension, their total mass is finite. Furthermore, it is found that the curvature quadratic scalars and the electromagnetic invariants are regular everywhere, so that the spacetime is free of singularities. Finally, in order to illustrate the behavior of the family of thin disks, we consider the model for the first family member and graphically analyzes the behavior of the surface energy density and the surface current density.

Key words: General relativity, Exact solutions, Einstein-Maxwell fields.

Correspondencia:

Guillermo A. González, guillego@uis.edu.co, **Recibido:** 9 de marzo de 2014, **Aceptado:** 8 de octubre de 2014

1. Introducción

Una de las características más fundamentales de un sistema aislado en el universo es la simetría axial, siendo ejemplos importantes de esta clase de configuraciones planetas, estrellas, galaxias, discos de acreción y agujeros negros. De acuerdo con esto, a través de los años se ha dedicado una gran cantidad de esfuerzo al estudio teórico del campo gravitacional generado por esta clase de fuentes aisladas, tanto en el marco de la teoría newtoniana de la gravitación como en el de la teoría general de la relatividad. Ahora bien, en el contexto de la relatividad general, la obtención de soluciones de las ecuaciones de Einstein que describan de manera auto-consistente los campos gravitacionales y las fuentes materiales que los generan es un problema de gran dificultad. Para obtener esta clase de soluciones se deben plantear y resolver simultáneamente el problema “exterior”, un problema de contorno para las ecuaciones de Einstein en el vacío cuya solución determina el campo externo, y el problema “interior”, cuya solución determina la estructura y la dinámica de la fuente en su propio campo gravitacional.

Por otro lado, cuando la fuente es un disco infinitesimalmente delgado, el problema interior se reduce a la formulación de condiciones de frontera para la solución exterior. Así entonces, se pueden obtener soluciones auto-consistentes resolviendo el problema exterior sujeto a condiciones de frontera apropiadas para obtener fuentes de materia con un comportamiento físicamente razonable. Además, a pesar de su naturaleza altamente ideal, los modelos relativistas de configuraciones discoidales infinitesimalmente delgadas de materia autogravitante presentan clara relevancia astrofísica puesto que pueden usarse para modelar discos de acreción, galaxias en equilibrio termodinámico y la superposición de galaxias y agujeros negros. En consecuencia, un buen número de trabajos se han dedicado a la obtención y análisis físico de soluciones exactas de las ecuaciones de Einstein correspondientes a este tipo de modelos. Así, varios autores han obtenido diferentes clases de soluciones exactas correspondientes a discos delgados estáticos [1–13] y estacionarios [14–18].

Fuentes discoidales para un espaciotiempo estacionario axialmente simétrico con campos magnéticos son igualmente de importancia astrofísica principalmente en el estudio de estrellas de neutrones, enanas blancas y formación de galaxias. De acuerdo con esto, esta clase de configuraciones se han estudiado extensivamente en la literatura, tanto desde el contexto puramente astrofísico como en relatividad general. Sin embargo, existen muy pocas soluciones exactas de las ecuaciones de Einstein-Maxwell correspondientes a esta clase de fuentes [19–25]. Ahora bien, una característica principal de las soluciones anteriormente mencionadas es el hecho de que el tensor de momentum-energía de la fuente describe un fluido anisótropo. De igual manera, casi todas estas soluciones, ex-

cepto la presentada por Letelier en [20], corresponden a fuentes que no sólo son magnetizadas sino que presentan una densidad superficial de carga diferente de cero. Así entonces, la relevancia astrofísica de éstas no es clara debido a que no existe evidencia observacional de objetos astrofísicos cargados.

Teniendo en cuenta lo anterior, en este trabajo se presenta una familia infinita de discos de polvo axialmente simétricos cuya fuente material presenta una corriente de conducción superficial. Las soluciones se obtendrán mediante la técnica del “problema inverso” [26], en la cual se toma una solución de las ecuaciones de vacío de Einstein-Maxwell la cual presenta una discontinuidad en sus primeras derivadas a través del plano del disco y luego el tensor de momentum-energía y la densidad de corriente de la fuente se obtienen a partir de las ecuaciones de Einstein-Maxwell. Las propiedades físicas de la distribución de materia se estudian entonces analizando el tensor de momentum-energía y la densidad de corriente obtenidas. Con el fin de obtener estas soluciones discoidales, se resuelven las ecuaciones de vacío de Einstein-Maxwell para espaciotiempos conformestáticos axialmente simétricos; esto es, espaciotiempos estáticos en los cuales el elemento de línea espacial es conformemente plano [27, 28] y en los cuales el elemento de línea se puede expresar en términos de una sola función métrica. Las soluciones se obtienen entonces expresando la función métrica y el potencial magnético en términos de una función auxiliar que satisface la ecuación de Laplace, una propiedad característica de los espaciotiempos conformestáticos [29]. Al introducir una discontinuidad finita en las primeras derivadas del tensor métrico, utilizando el procedimiento de “desplazamiento, corte y reflexión” [26], se obtienen soluciones con una singularidad de tipo función delta con soporte en la hipersuperficie $z = 0$, describiendo discos infinitesimalmente delgados de extensión infinita.

El trabajo se encuentra organizado de la siguiente manera. Inicialmente, en la sección 2, se presentan las ecuaciones de Einstein-Maxwell para espaciotiempos conformestáticos y sus soluciones se encuentran resolviendo el sistema de ecuaciones de tal manera que las soluciones pueden expresarse en términos de una función solución de la ecuación de Laplace. Luego, en la sección 3, se obtienen el tensor de momentum-energía superficial del disco y la densidad de corriente superficial utilizando el formalismo de las distribuciones tensoriales. Se encuentran entonces las expresiones para la densidad de energía superficial del disco así como para su masa total y se muestra explícitamente que los discos están de acuerdo con todas las condiciones de energía. A continuación, en la sección 4, se presenta una familia de discos obtenida tomando para la ecuación de Laplace una familia de soluciones definida mediante una expansión en términos de polinomios de Legendre. Se obtienen entonces las expresiones explícitas para todas las variables que caracterizan el modelo y se analiza

su comportamiento general. Se muestra entonces que, aunque los discos delgados son de extensión infinita, su masa total es finita. Adicionalmente, se encuentra que los escalares cuadráticos de curvatura y los invariantes electromagnéticos presentan un comportamiento regular, de tal manera que el espaciotiempo está libre de singularidades. Para ilustrar el comportamiento de la familia de discos delgados, se considera el modelo correspondiente al primer miembro de la familia y se analiza gráficamente el comportamiento de la densidad superficial de energía y de la densidad superficial de corriente. Finalmente, en la sección 5, se presenta una breve discusión de los resultados principales.

2. Las ecuaciones de Einstein-Maxwell

Las ecuaciones de Einstein-Maxwell, en unidades geométricas de Heaviside-Lorentz tales que $c = 8\pi G = \mu_0 = \epsilon_0 = 1$, toman la forma

$$R_{ab} - \frac{1}{2}g_{ab}R = T_{ab}, \quad (1)$$

$$F^{ab}{}_{;b} = 0, \quad (2)$$

con el tensor de momentum-energía dado por

$$T_{ab} = F_{ac}F_b{}^c - \frac{1}{4}g_{ab}F_{cd}F^{cd}, \quad (3)$$

donde

$$F_{ab} = A_{b,a} - A_{a,b} \quad (4)$$

es el tensor de campo electromagnético y A_a es el potencial electromagnético.

Ahora bien, para un espacio-tiempo conformestático axialmente simétrico, el elemento de línea se puede expresar como [27]

$$ds^2 = -e^{2\psi} dt^2 + e^{-2\psi}(r^2 d\varphi^2 + dr^2 + dz^2), \quad (5)$$

donde $x^a = (t, \varphi, r, z)$ son las coordenadas cilíndricas usuales y la función métrica ψ sólo depende de r y z . Así, tomando el potencial electromagnético como

$$A_a = (0, A, 0, 0), \quad (6)$$

y suponiendo que el potencial magnético A igualmente sólo depende de r y z , las componentes no nulas del tensor de campo electromagnético son

$$F_{\varphi r} = -A_{,r}, \quad (7)$$

$$F_{\varphi z} = -A_{,z}, \quad (8)$$

de modo que se tiene un campo magnético puro, axialmente simétrico.

Considerando entonces la métrica dada por (5) y el potencial electromagnético como (6), las ecuaciones de Einstein-Maxwell en el vacío son equivalentes al sistema

$$r[(r^{-1}A_{,r})_{,r} + (r^{-1}A_{,z})_{,z}] + 2\nabla A \cdot \nabla\psi = 0, \quad (9)$$

$$2r^2\psi_{,r}\psi_{,z} + e^{2\psi}A_{,r}A_{,z} = 0, \quad (10)$$

$$2r^2\psi_{,r}^2 = e^{2\psi}A_{,z}^2, \quad (11)$$

$$2r^2\psi_{,z}^2 = e^{2\psi}A_{,r}^2, \quad (12)$$

$$\nabla^2\psi = \nabla\psi \cdot \nabla\psi, \quad (13)$$

donde ∇ es el operador diferencial usual en coordenadas cilíndricas para una función axialmente simétrica. Así, de las ecuaciones (10) - (12) es fácil ver que A y ψ están relacionadas mediante el sistema sobre-determinado

$$A_{,r} = \pm\sqrt{2r}e^{-\psi}\psi_{,z}, \quad (14)$$

$$A_{,z} = \mp\sqrt{2r}e^{-\psi}\psi_{,r}, \quad (15)$$

cuya condición de integrabilidad está garantizada cuando ψ es una solución de la ecuación (13), y la ecuación (9) se satisface trivialmente.

Con el fin de resolver la ecuación (13), ésta se escribe primero en la forma equivalente

$$\nabla^2(e^{-\psi}) = 0, \quad (16)$$

y entonces se expresa la función métrica ψ mediante la relación

$$e^{-\psi} = 1 - U, \quad (17)$$

de tal manera que $U(r, z)$ es una solución axialmente simétrica de la ecuación de Laplace,

$$\nabla^2U = 0, \quad (18)$$

la cual debe anularse en el infinito con el fin de tener un espacio-tiempo asintóticamente plano. Adicionalmente, si sólo se consideran soluciones que sean negativas en todas partes, $e^{-\psi}$ será en todas partes positiva y no singular. Así entonces, en términos de $U(r, z)$, las ecuaciones (14) y (15) toman la forma

$$A_{,r} = \pm\sqrt{2r}U_{,z}, \quad (19)$$

$$A_{,z} = \mp\sqrt{2r}U_{,r}, \quad (20)$$

un sistema sobre-determinado cuya condición de integrabilidad está garantizada por la ecuación de Laplace (18). De acuerdo con esto, sólo es necesario resolver la ecuación de Laplace para obtener la función métrica ψ y el potencial magnético A se obtiene resolviendo el sistema sobre-determinado anterior.

Ahora bien, soluciones correspondientes a distribuciones discoidales delgadas deben ser funciones simétricas de z con sus primeras derivadas con respecto a z discontinuas en $z = 0$ [26]. Por lo tanto, con el fin de obtener esta clase de soluciones, se supondrá que $U(r, z)$ es una función continua en todas partes y con derivadas continuas de tal manera que, resolviendo el sistema sobre-determinado (19) - (20), se obtendrá un potencial magnético $A(r, z)$ igualmente continuo en todas partes y con derivadas continuas. Utilizando entonces el procedimiento de “desplazamiento, corte y reflexión” [26], después de tener la solución completa para las ecuaciones de Einstein-Maxwell se hará la transformación $z \rightarrow |z| + a$, en donde a es una constante positiva arbitraria, de tal manera que se obtendrán soluciones continuas en todas partes pero con las primeras derivadas con respecto a z discontinuas en la superficie del disco. El resultado será una solución con una singularidad del tipo función delta sobre $z = 0$, la cual se puede interpretar como un disco delgado infinito.

3. Contenido físico de la fuente

Como se señaló en la sección anterior, las soluciones de las ecuaciones de Einstein-Maxwell correspondientes a fuentes discoidales son funciones pares de la coordenada z , continuas en todas partes pero con sus primeras derivadas con respecto a z discontinuas en el disco. Por lo tanto, el contenido material y electromagnético del disco será descrito por funciones las cuales son distribuciones con soporte sobre el disco. De acuerdo con esto, para obtener el tensor de momentum-energía y la densidad de corriente de la fuente, se expresa el salto a través del disco de las primeras derivadas con respecto a z del tensor métrico como

$$\gamma_{ab} = [g_{ab,z}] = 2g_{ab,z}|_{z=0^+}, \quad (21)$$

y el salto a través del disco del tensor campo electromagnético como

$$[F_{za}] = [A_{a,z}] = 2A_{a,z}|_{z=0^+}, \quad (22)$$

donde se ha hecho uso de la simetría de reflexión con respecto a $z = 0$.

Usando entonces la formulación en términos de distribuciones tensoriales [30–32] o las condiciones de juntura sobre la curvatura extrínseca de cascarones delgados [33–35], se puede escribir el tensor métrico como

$$g_{ab} = g_{ab}^+ \theta(z) + g_{ab}^- \{1 - \theta(z)\}, \quad (23)$$

de tal manera que el tensor de Ricci se expresa como

$$R_{ab} = R_{ab}^+ \theta(z) + R_{ab}^- \{1 - \theta(z)\} + H_{ab} \delta(z), \quad (24)$$

donde $\theta(z)$ y $\delta(z)$ son, respectivamente, las distribuciones de Heaviside y Dirac con soporte en $z = 0$. En la expresión anterior los tensores g_{ab}^\pm y R_{ab}^\pm son el tensor métrico y el tensor de Ricci en las regiones $z \geq 0$ y $z \leq 0$, respectivamente, mientras que

$$H_{ab} = \frac{1}{2} \{ \gamma_a^z \delta_b^z + \gamma_b^z \delta_a^z - \gamma_c^c \delta_a^z \delta_b^z - g^{zz} \gamma_{ab} \}, \quad (25)$$

donde todas las cantidades están evaluadas en $z = 0^+$.

De las ecuaciones de Einstein-Maxwell se obtiene entonces un tensor de momentum-energía de la forma

$$T_{ab} = T_{ab}^+ \theta(z) + T_{ab}^- \{1 - \theta(z)\} + Q_{ab} \delta(z), \quad (26)$$

y una densidad de corriente de la forma

$$J^a = I^a \delta(z), \quad (27)$$

donde los tensores T_{\pm}^{ab} son los tensores de momentum-energía electromagnéticos definidos mediante la ecuación (3) para las regiones $z \geq 0$ and $z \leq 0$, respectivamente, mientras que

$$Q_{ab} = \frac{1}{2} \{ \gamma_a^z \delta_b^z + \delta_a^z \gamma_b^z - \gamma^{zz} \delta_b^a - g^{zz} \gamma_{ab} + \gamma_c^c (g^{zz} g_{ab} - \delta_a^z \delta_b^z) \} \quad (28)$$

es la contribución de la fuente discoidal al tensor de momentum-energía y

$$I^a = [F^{az}] \quad (29)$$

es la contribución de la fuente discoidal a la densidad de corriente.

El tensor de momentum-energía superficial del disco (SEMT), S_{ab} , y la densidad de corriente superficial, j^a , se pueden obtener mediante las relaciones

$$S_{ab} = \int Q_{ab} \delta(z) ds_n = e^{-\psi} Q_{ab}, \quad (30)$$

$$j^a = \int I^a \delta(z) ds_n = e^{-\psi} I^a, \quad (31)$$

donde $ds_n = \sqrt{g_{zz}} dz$ es la medida física de longitud en dirección normal al disco. Por lo tanto, la única componente no nula de S_{ab} es

$$S_{00} = 4e^{3\psi} \psi_{,z}, \quad (32)$$

y la única componente no nula de la densidad superficial de corriente j^a es

$$j^1 = \frac{2e^{3\psi} A_{,z}}{r^2}, \quad (33)$$

donde todas las cantidades están evaluadas en $z = 0^+$.

Introduciendo la tétrada ortonormal de un observador estático,

$$e_{\hat{t}}^a = V^a = e^{-\psi} \delta_0^a, \quad (34)$$

$$e_{\hat{\varphi}}^a = W^a = r^{-1} e^{\psi} \delta_1^a, \quad (35)$$

$$e_{\hat{r}}^a = X^a = e^{\psi} \delta_2^a, \quad (36)$$

$$e_{\hat{z}}^a = Y^a = e^{\psi} \delta_3^a, \quad (37)$$

el SEMT se puede escribir como

$$S^{ab} = \epsilon V^a V^b. \quad (38)$$

De acuerdo con esto, la fuente de materia es un disco de polvo con una densidad superficial de energía dada por

$$\epsilon = 4e^{\psi} \psi_{,z}, \quad (39)$$

y cuyo vector velocidad está dado por V^a , el vector temporal de la tétrada. La masa total del disco está dada entonces por la expresión

$$M = 2\pi \int_0^{\infty} e^{-\psi} \epsilon r dr, \quad (40)$$

obtenida usando la formula de Komar [35, 36].

Por lo tanto, debido a que se tiene una fuente de polvo, todas las condiciones de energía [37] se reducen al requerimiento de que la densidad de energía sea mayor o igual que cero,

$$\epsilon \geq 0. \quad (41)$$

Por otro lado, utilizando la ecuación (17), la densidad de energía se puede escribir como

$$\epsilon = \frac{4U_{,z}}{(1-U)^2}. \quad (42)$$

Adicionalmente, dado que $U(r, z)$ es una solución de la ecuación de Laplace, se puede considerar como el potencial newtoniano de una fuente con una densidad superficial de masa dada por

$$\sigma = \frac{U_{,z}}{2\pi}. \quad (43)$$

Así entonces, si la densidad de masa newtoniana σ es mayor o igual que cero en todas partes, la densidad de energía relativista correspondiente será mayor o igual que cero en todas partes y no singular, teniendo en cuenta que sólo se consideran soluciones de la ecuación de Laplace negativas en todas partes.

De igual manera, la densidad superficial de corriente se puede escribir como

$$j^a = jW^a, \quad (44)$$

de modo que el disco posee una densidad superficial de corriente de conducción en la dirección acimutal dada por

$$j = \frac{2e^{2\psi} A_{,z}}{r}, \quad (45)$$

la cual, en términos de $U(r, z)$, se puede escribir como

$$j = \mp \frac{2U_{,r}}{(1-U)^2}, \quad (46)$$

y el signo se escoge de acuerdo con el signo escogido en el sistema sobre-determinado (19) - (20).

Ahora bien, las componentes del campo magnético medidas por el observador estático están dadas por

$$B_{\hat{r}} = \frac{e^{2\psi} A_{,z}}{r}, \quad (47)$$

$$B_{\hat{z}} = -\frac{e^{2\psi} A_{,r}}{r}, \quad (48)$$

mientras que $B_{\hat{\varphi}} = 0$. Por otro lado, las componentes de la aceleración del observador con respecto a la tétrada ortonormal son

$$a_{\hat{r}} = e^{\psi} \psi_{,r}, \quad (49)$$

$$a_{\hat{z}} = e^{\psi} \psi_{,z}, \quad (50)$$

así que, utilizando las ecuaciones (14) y (15), se obtiene

$$B_{\hat{r}} = \mp a_{\hat{r}}, \quad (51)$$

$$B_{\hat{z}} = \mp a_{\hat{z}}, \quad (52)$$

y así el campo gravitacional y el campo magnético están alineados, una propiedad característica de toda solución de las ecuaciones de Einstein-Maxwell en espaciotiempos conformestáticos [29]. Las líneas de campo se pueden obtener resolviendo la ecuación diferencial

$$\frac{dz}{B_{\hat{z}}} = \frac{dr}{B_{\hat{r}}}, \quad (53)$$

la cual, utilizando las ecuaciones (47) y (48), se puede escribir como

$$A_{,r} dr + A_{,z} dz = 0. \quad (54)$$

De acuerdo con esto, la ecuación

$$A(r, z) = k, \quad (55)$$

con k constante, se puede usar para determinar las líneas tanto del campo magnético como del campo gravitacional.

Finalmente, con el fin de determinar la posible presencia de singularidades, consideraremos los escalares cuadráticos de curvatura [38]

$$\mathcal{K}_I = R^{abcd}R_{abcd}, \quad (56)$$

$$\mathcal{K}_{II} = \frac{\epsilon^{ab}{}_{kl}R^{klcd}R_{abcd}}{\sqrt{-g}}, \quad (57)$$

$$\mathcal{K}_{III} = \frac{\epsilon^{abkl}\epsilon^{cdmn}R_{klmn}R_{abcd}}{g}, \quad (58)$$

así como los invariantes electromagnéticos

$$\mathcal{F}_I = F_{ab}F^{ab}, \quad (59)$$

$$\mathcal{F}_{II} = \frac{\epsilon^{abcd}F_{ab}F_{cd}}{\sqrt{-g}}, \quad (60)$$

donde ϵ^{abcd} es el símbolo de Levi-Civita y $g = \det g_{ab}$.

Utilizando entonces la solución (17), los escalares de curvatura se pueden escribir como

$$\mathcal{K}_I = \frac{8N_1}{(1-U)^8} + \frac{16N_2}{(1-U)^7} \frac{U_{,r}}{r} + \frac{16}{(1-U)^6} \frac{U_{,r}^2}{r^2}, \quad (61)$$

$$\mathcal{K}_{II} = 0, \quad (62)$$

$$\mathcal{K}_{III} = 4\mathcal{K}_I - \frac{64|\nabla U|^4}{(1-U)^8}, \quad (63)$$

donde

$$N_1 = 7|\nabla U|^4 + 2(1-U)^2(U_{,rr}^2 + U_{,zz}^2) + 6(1-U)[U_{,rr}(U_{,r}^2 - U_{,z}^2) + 2U_{,r}U_{,z}U_{,rz}],$$

$$N_2 = U_{,rr}(1-U) - 3U_{,z}^2.$$

De igual manera, utilizando (7), (8), (19) y (20), los invariantes electromagnéticos se pueden escribir como

$$\mathcal{F}_I = \frac{4|\nabla U|^2}{(1-U)^4}, \quad (64)$$

$$\mathcal{F}_{II} = 0. \quad (65)$$

Así, el comportamiento de los escalares de curvatura y de los invariantes electromagnéticos está determinado por la función $U(r, z)$.

4. Una familia de discos magnetizados

Consideremos ahora una familia de soluciones de las ecuaciones de Einstein-Maxwell obtenida tomando para la ecuación de Laplace (18) una familia de soluciones definida mediante la expansión

$$\mathcal{U}_m(r, z) = - \sum_{n=0}^m C_n \frac{P_n(z/R)}{R^{n+1}}, \quad (66)$$

para cada $m \geq 0$, donde $R^2 = r^2 + z^2$, $P_n(z/R)$ son los polinomios de Legendre usuales y las C_n son constantes arbitrarias. Usando entonces para lo polinomios de Legendre la representación [39]

$$P_n(z/R) = (-1)^n \frac{R^{n+1}}{n!} \frac{\partial^n}{\partial z^n} \left[\frac{1}{R} \right], \quad (67)$$

se puede resolver fácilmente el sistema sobre-determinado (19) - (20), obteniendo para el potencial electromagnético la familia de soluciones

$$\mathcal{A}_m(r, z) = \sum_{n=0}^m (-1)^n \frac{C_n}{n!} \frac{\partial^n}{\partial z^n} \left[\frac{z}{R} \right], \quad (68)$$

tomando el signo negativo en (19), el signo positivo en (20), y la constante de integración igual a cero.

Así entonces, después de tener la solución definida mediante las ecuaciones (69) y (70), se hace la transformación $z \rightarrow |z| + a$ para obtener la solución discoidal correspondiente,

$$U_m(r, z) = \mathcal{U}_m(r, |z| + a), \quad (69)$$

$$\mathcal{A}_m(r, z) = \mathcal{A}_m(r, |z| + a). \quad (70)$$

Adicionalmente, para satisfacer los requerimientos impuestos sobre $U(r, z)$ con el fin de tener un espacio-tiempo asintóticamente plano y satisfacer las condiciones de energía, las constantes C_n se escogerán de tal manera que

$$U_m(r, z) \leq 0, \quad (71a)$$

$$U_{m,r}(r, z) \geq 0, \quad (71b)$$

$$U_{m,z}(r, z) \geq 0, \quad (71c)$$

$$\lim_{r \rightarrow \infty} U_m(r, z) = 0, \quad (71d)$$

$$\lim_{z \rightarrow \infty} U_m(r, z) = 0, \quad (71e)$$

y así $U(r, z)$ será una función monótonamente creciente en r y z , con un mínimo negativo en el origen.

Con $U(r, z)$ dado por (69), se pueden calcular fácilmente la densidad superficial de energía mediante la ecuación (42) y la densidad superficial de corriente de conducción mediante la ecuación (46), las cuales se pueden expresar como

$$\epsilon_m(r) = \frac{\partial}{\partial a} \left[\frac{4}{1 - U_m(r, 0)} \right], \quad (72)$$

$$j_m(r) = \frac{\partial}{\partial r} \left[\frac{2}{1 - U_m(r, 0)} \right]. \quad (73)$$

Así, utilizando las expresión explícita para $U_m(r, z)$, las expresiones anteriores se pueden escribir convenientemente como

$$\epsilon_m(r) = \frac{4\tilde{\epsilon}_m(\tilde{r})}{a}, \quad (74)$$

$$j_m(r) = \frac{2\tilde{j}_m(\tilde{r})}{a}, \quad (75)$$

con

$$\tilde{\epsilon}_m = \frac{\sum_{n=0}^m [(n+1)\tilde{C}_n P_{n+1}(1/\tilde{R}_0)] / \tilde{R}_0^{n+2}}{\left[1 + \sum_{n=0}^m \tilde{C}_n P_n(1/\tilde{R}_0) / \tilde{R}_0^{n+1} \right]^2}, \quad (76)$$

y

$$\tilde{j}_m = \frac{\tilde{r} \sum_{n=0}^m [\tilde{C}_n P'_{n+1}(1/\tilde{R}_0)] / \tilde{R}_0^{n+3}}{\left[1 + \sum_{n=0}^m \tilde{C}_n P_n(1/\tilde{R}_0) / \tilde{R}_0^{n+1} \right]^2}, \quad (77)$$

donde $\tilde{r} = r/a$, $\tilde{R}_0^2 = 1 + \tilde{r}^2$ y $\tilde{C}_n = C_n/a^{n+1}$.

De las expresiones anteriores, teniendo en cuenta las condiciones (71) y el comportamiento de los polinomios de Legendre, se puede ver que la densidad de energía es siempre positiva, presenta su valor máximo en el centro del disco y se anula en el infinito. De igual manera, se puede ver que la densidad superficial de corriente se anula en el centro del disco, cuando $r = 0$, presenta un máximo para un valor de $r \neq 0$ y decae después hasta anularse en el infinito. Adicionalmente, utilizando la expresión (74) para la densidad de energía, la integral para la masa total del disco se puede expresar como

$$\tilde{M}_m = \int_1^\infty \tilde{\mu}_m \tilde{R}_0 d\tilde{R}_0, \quad (78)$$

con $\tilde{M}_m = M_m/a$ y

$$\tilde{\mu}_m = \frac{\sum_{n=0}^m [(n+1)\tilde{C}_n P_{n+1}(1/\tilde{R}_0)] / \tilde{R}_0^{n+2}}{1 + \sum_{n=0}^m \tilde{C}_n P_n(1/\tilde{R}_0) / \tilde{R}_0^{n+1}}, \quad (79)$$

de donde es fácil ver que

$$\lim_{\tilde{R}_0 \rightarrow \infty} \frac{\tilde{\mu}_{m+1}}{\tilde{\mu}_m} = 1. \quad (80)$$

De acuerdo con esto, y teniendo en cuenta el teorema de comparación del límite [40], la integral para la masa total del modelo $m + 1$ será convergente si la integral para el modelo m converge. Así entonces, si la masa total del disco para el modelo $m = 0$ es finita, entonces la masa total del disco para cualquier valor de $m > 0$ será finita también. Finalmente, usando la representación (67) para los polinomios de Legendre, es fácil ver que

$$\frac{U_{m,r}}{r} = \sum_{n=0}^m \frac{(-1)^n C_n}{n!} \frac{\partial^n}{\partial z^n} \left[\frac{1}{R^3} \right], \quad (81)$$

una expresión regular para r y z . Así entonces, el comportamiento regular de esta expresión y las condiciones (71) garantizan el comportamiento regular de los escalares cuadráticos de curvatura y de los invariantes electromagnéticos, de tal manera que el espaciotiempo definido por la solución (69) está libre de singularidades.

Con el fin de ilustrar el comportamiento de la familia de discos delgados, consideremos el modelo correspondiente al primer miembro de la familia, $m = 0$, en el cual las variables físicas del modelo están dadas por

$$U_0 = -\frac{\tilde{C}_0}{\sqrt{\tilde{r}^2 + (1 + |\tilde{z}|)^2}}, \quad (82)$$

$$\tilde{A}_0 = \frac{\tilde{C}_0(1 + |\tilde{z}|)}{\sqrt{\tilde{r}^2 + (1 + |\tilde{z}|)^2}}, \quad (83)$$

$$\tilde{\epsilon}_0 = \frac{\tilde{C}_0}{\tilde{R}_0[\tilde{C}_0 + \tilde{R}_0]^2}, \quad (84)$$

$$\tilde{j}_0 = \frac{\tilde{C}_0 \tilde{r}}{\tilde{R}_0[\tilde{C}_0 + \tilde{R}_0]^2}, \quad (85)$$

$$\tilde{M}_0 = \ln(1 + \tilde{C}_0), \quad (86)$$

donde, como en las expresiones anteriores, $\tilde{A} = A/a$. Como se puede ver, la masa del modelo $m = 0$ es finita, lo cual garantiza que la masa total del disco en todos los modelos para $m > 0$ es finita también.

En la figura 1 se muestran las curvas de nivel de la función métrica $U(r, z)$ para el modelo $m = 0$, escaladas al valor de la constante \tilde{C}_0 . Así, $U_0/\tilde{C}_0 = -1$ en el origen y el valor de U_0/\tilde{C}_0 en cada curva de nivel aumenta incrementalmente en valores de 0,05. Igualmente, en la figura 1 se muestran también las curvas de nivel del potencial magnético \tilde{A}_0 escaladas

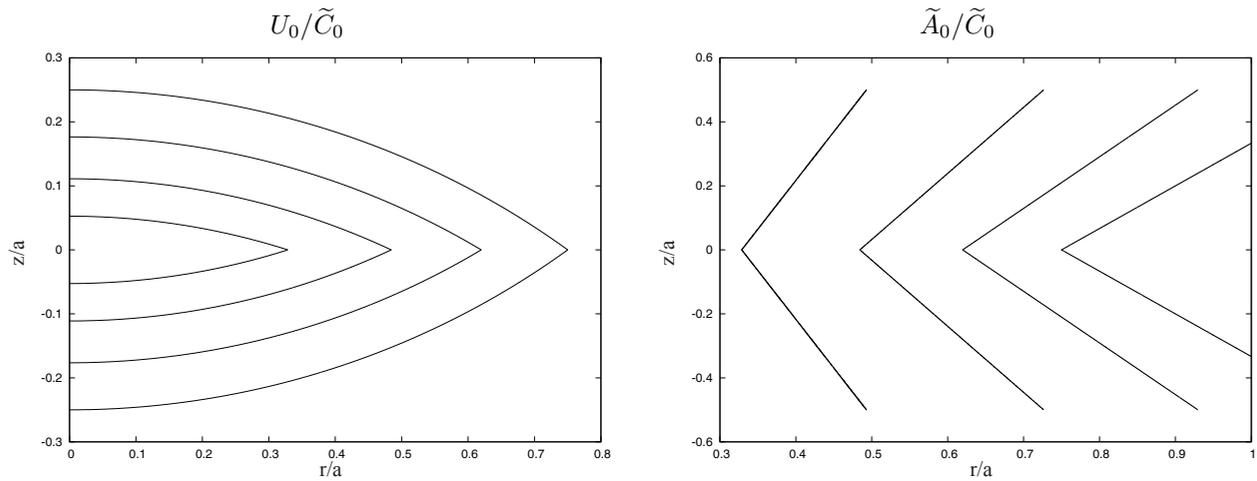


Figura 1: Curvas de nivel de la función métrica U_0 escaladas al valor de la constante \tilde{C}_0 . Así, $U_0/\tilde{C}_0 = -1$ en el origen y el valor de U_0/\tilde{C}_0 en cada curva de nivel aumenta incrementalmente en valores de 0,05. Se muestran también las curvas de nivel del potencial magnético \tilde{A}_0 escaladas al valor de la constante \tilde{C}_0 . Así, $\tilde{A}_0/\tilde{C}_0 = 1$ en el origen y el valor de U_0/\tilde{C}_0 en cada curva de nivel aumenta incrementalmente en valores de 0,05.

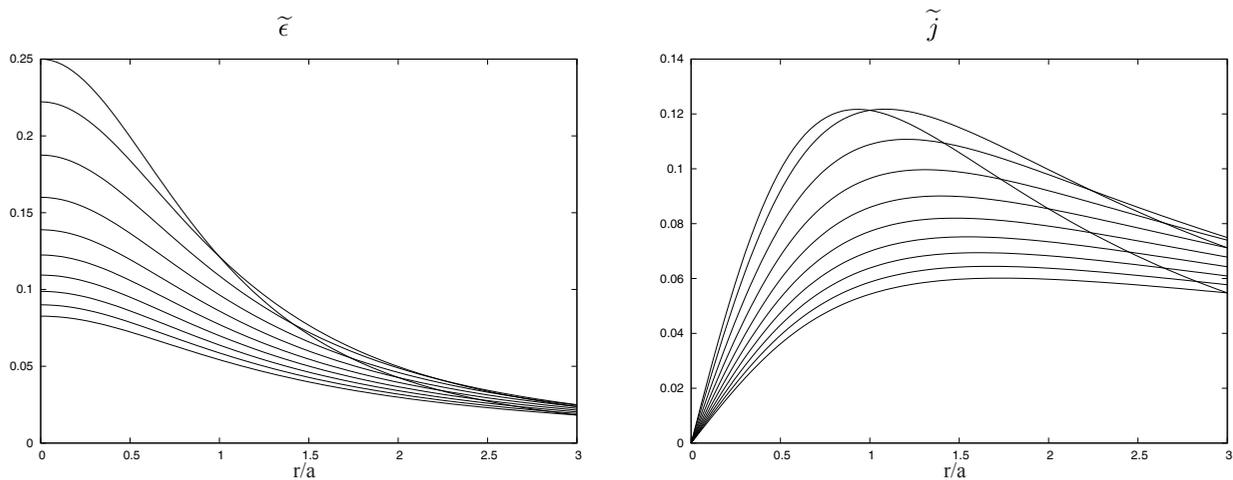


Figura 2: Densidad superficial de energía $\tilde{\epsilon}$ como función de \tilde{r} para $\tilde{C}_0 = 1$ (curva superior), ..., 10 (curva inferior). la densidad de energía es siempre positiva y se anula en el infinito, presentando su valor máximo en el centro del disco. Se muestra también la densidad superficial de corriente \tilde{j} como función de \tilde{r} para $\tilde{C}_0 = 1$ (curva superior), ..., 10 (curva inferior). La densidad superficial de corriente se anula en el centro del disco, presentando un máximo para un valor de $\tilde{r} \neq 0$ y decayendo después hasta anularse en el infinito.

al valor de la constante \tilde{C}_0 . Así, $\tilde{A}_0/\tilde{C}_0 = 1$ en el origen y el valor de U_0/\tilde{C}_0 en cada curva de nivel aumenta incrementalmente en valores de 0,05. Posteriormente, en la figura 2, se muestra la densidad superficial de energía $\tilde{\epsilon}$ como función de \tilde{r} para $\tilde{C}_0 = 1$, correspondiente a la curva superior, hasta $\tilde{C}_0 = 10$, correspondiente a la curva inferior. De igual manera, se muestra también en la figura 2 la densidad superficial de corriente \tilde{j} como función de \tilde{r} para $\tilde{C}_0 = 1$, correspondiente a la curva superior, hasta $\tilde{C}_0 = 10$, correspondiente a la curva inferior. Como se puede ver, la densidad de energía es siempre positiva y se anula en el infinito, presentando su valor máximo en el centro del disco, tal como se había mencionado anteriormente. Se puede ver igualmente que la densidad superficial de corriente se anula en el centro del disco, presentando un máximo para un valor de $\tilde{r} \neq 0$ y decayendo después hasta anularse en el infinito, como también se había mencionado anteriormente.

5. Conclusiones

Se presentó una familia infinita de discos de polvo axialmente simétricos cuya fuente material presenta una corriente de conducción superficial. Los discos se obtuvieron resolviendo las ecuaciones de vacío de Einstein-Maxwell para un espaciotiempo conformestático axialmente simétrico, expresando la función métrica y el potencial magnético en términos de una función auxiliar que satisface la ecuación de Laplace. Ahora bien, la aparente contradicción entre la presencia de corriente superficial y la ausencia de presiones, radiales o tangenciales, es consecuencia directa del procedimiento utilizado para la obtención de las soluciones, mediante la técnica del “problema inverso” y el procedimiento de “desplazamiento, corte y reflexión” [26]. Sin embargo, a pesar de esta aparente contradicción, las soluciones son consistentes con el sistema completo de ecuaciones de Einstein-Maxwell para distribuciones de materia infinitesimalmente delgadas. Por otro lado, a pesar de que las soluciones presentadas son estáticas y así su relevancia astrofísica puede no ser muy alta, la obtención de soluciones estáticas se puede considerar como el primer paso para la obtención de soluciones estacionarias más realistas.

Analizando las propiedades de la distribución de materia, se encontró que la densidad de energía de los discos es siempre positiva y se anula en el infinito, presentando su valor máximo en el centro del disco. Así, dado que los discos tienen una fuente material de polvo, los modelos están en completo acuerdo con todas las condiciones de energía, un hecho de especial relevancia en el estudio de modelos relativistas de discos delgados. Además, aunque los discos son de extensión infinita, su masa total es finita. De igual manera, la densidad superficial de corriente se anula en el centro del disco, presentando pos-

teriormente un máximo y decayendo después hasta anularse en el infinito. Adicionalmente, se encontró que los escalares cuadráticos de curvatura y los invariantes electromagnéticos presentan un comportamiento regular, de tal manera que el espaciotiempo está libre de singularidades. Ahora bien, aunque sólo se mostraron explícitamente las cantidades físicas correspondientes al primer miembro de la familia, cuando $m = 0$, se puede mostrar fácilmente que todos los miembros de la familia para $m > 0$ presentan un comportamiento similar.

Agradecimientos

El autor agradece el apoyo financiero de la Vicerrectoría de Investigación y Extensión de la Universidad Industrial de Santander a través el proyecto 5189.

Bibliografía

- [1] W. A. Bonnor and A. Sackfield, *Comm. Math. Phys.* **8**, 338 (1968)
- [2] T. Morgan and L. Morgan, *Phys. Rev.* **183**, 1097 (1969)
- [3] L. Morgan and T. Morgan, *Phys. Rev. D* **2**, 2756 (1970)
- [4] B. H. Voorhees, *Phys. Rev. D* **5**, 2413 (1972)
- [5] D. Lynden-Bell and S. Pineault, *Mon. Not. R. Astron. Soc.* **185**, 679 (1978)
- [6] A. Chamorro, R. Gregory, and J. M. Stewart, *Proc. R. Soc. London* **A413**, 251 (1987)
- [7] P. S. Letelier and S. R. Oliveira, *J. Math. Phys.* **28**, 165 (1987)
- [8] J. P. S. Lemos, *Class. Quantum Grav.* **6**, 1219 (1989)
- [9] J. Bičák, D. Lynden-Bell, and J. Katz, *Phys. Rev. D* **47**, 4334 (1993)
- [10] J. Bičák, D. Lynden-Bell, and C. Pichon, *Mon. Not. R. Astron. Soc.* **265**, 126 (1993)
- [11] G. A. González and P. S. Letelier, *Class. Quantum Grav.* **16**, 479 (1999)
- [12] G. A. González and O. A. Espitia, *Phys. Rev. D* **68**, 104028 (2003)
- [13] G. A. González, A. C. Gutiérrez-Piñerez and V. M. Viña-Cervantes, *Phys. Rev. D* **79**, 124048 (2009)
- [14] D. Lynden-Bell and S. Pineault, *Mon. Not. R. Astron. Soc.* **185**, 695 (1978)

- [15] J. Bičák and T. Ledvinka, *Phys. Rev. Lett.* **71**, 1669 (1993)
- [16] C. Pichon and D. Lynden-Bell, *Mon. Not. R. Astron. Soc.* **280**, 1007 (1996)
- [17] G. A. González and P. S. Letelier, *Phys. Rev. D* **62**, 064025 (2000)
- [18] G. A. González, *Revista Integración* **20**, 13 (2002)
- [19] T. Ledvinka, J. Bičák, and M. Žofka, in *Proceeding of 8th Marcel-Grossmann Meeting in General Relativity*, edited by T. Piran (World Scientific, Singapore, 1999)
- [20] P. S. Letelier, *Phys. Rev. D* **60**, 104042 (1999)
- [21] J. Katz, J. Bičák, and D. Lynden-Bell, *Class. Quantum Grav.* **16**, 4023 (1999)
- [22] G. García R. and G. A. González, *Phys. Rev. D* **69**, 124002 (2004)
- [23] G. García-Reyes and G. A. González, *Class. Quantum Grav.* **21**, 4845 (2004)
- [24] G. García-Reyes and G. A. González, *Phys. Rev. D* **70**, 104005 (2004)
- [25] G. García-Reyes and G. A. González, *Braz. J. Phys.* **37**, 1094 (2007)
- [26] G. A. González and A. C. Gutiérrez-Piñeres, *Classical and Quantum Gravity* **29**, 135001 (2012).
- [27] J. L. Synge, *Relativity, the General Theory* (North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1966).
- [28] H. Stephani, D. Kramer, M. MacCallum, C. Hoense-laers and E. Herlt, *Exact Solutions of Einstein's Field Equations*. (Cambridge University Press, 2003).
- [29] G. A. González and R. Vera, *Classical and Quantum Gravity* **28**, 025008 (2011).
- [30] A. Papapetrou and A. Hamouni, *Ann. Inst. Henri Poincaré* **9**, 179 (1968).
- [31] A. Lichnerowicz, *C.R. Acad. Sci.* **273**, 528 (1971).
- [32] A. H. Taub, *J. Math. Phys.* **21**, 1423 (1980).
- [33] E. Israel, *Nuovo Cimento* **44B**, 1 (1966).
- [34] E. Israel, *Nuovo Cimento* **48B**, 463 (1967).
- [35] E. Poisson, *A Relativist's Toolkit: The Mathematics of Black-Hole Mechanics*. (Cambridge University Press, 2004).
- [36] R. M. Wald, *General Relativity*. (The University of Chicago Press, 1984).
- [37] S. W. Hawking and G. F. R. Ellis, *The Large Scale Structure of Space-Time*. (Cambridge University Press, 1973).
- [38] C. Cherubini, D. Bini, S. Capozziello, and R. Ruffini, *Int. J. Mod. Phys. D* **11**, 827 (2002).
- [39] G. B. Arfken and H. J. Weber, *Mathematical Methods for Physicists*, 6th Edition, (Elsevier Academic Press, 2005).
- [40] T. M. Apostol, *Calculus*, 2d Edition, (Wiley, 1967).

Calentamiento por Fotoactivación de NanoTubos de Carbono de pared simple Funcionalizados con Ácido Fólico (NTC-AF)

Fernando Martínez O.

Profesor Titular, Centro de Investigaciones en Catálisis, Cicat,
Escuela de Química Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

Resumen

Se describe métodos para la funcionalización covalente y no covalente de nanotubos de carbono de pared simple (NTC) con ácido fólico, así como su caracterización espectroscópica. La irradiación de soluciones acuosas de NTC-AF con IR genera un efecto de calentamiento dependiente de la concentración, de la potencia del haz y del tipo de interacción ácido fólico-NTC; los experimentos de control indican que el aumento de la temperatura se debe solo al NTC. Los estudios biológicos preliminares indican una internalización del bioconjugado en células THP-1 y en las infectadas con parásitos de *Leishmania*, observándose que el efecto térmico generado por la iluminación con IR puede disminuir la población de las células infectadas.

Palabras clave: nanotubos de carbono, ácido fólico, foto-activación, calentamiento térmico.

Photo-activation Heating of Carbon Nanotubes Functionalized with Folic Acid (NTC-AF)

Abstract

Methods for covalent and non-covalent functionalization of single-walled carbon nanotubes (CNTs) with folic acid and their spectroscopic characterization are described. The irradiation of NTC-AF aqueous solutions with IR generates a heating effect that it dependent on the concentration of solution, the beam power and the type of interaction between folic acid and NTC. The control experiments show that the increase in temperature is only due to NTC. Preliminary biological studies indicate an internalization of the bioconjugate in THP-1 and infected cells with *Leishmania* parasites, showing that the thermal effect generated by the IR illumination can reduce the population of infected cells.

Key words: Carbon nanotubes, folic acid, photo-activation, thermal heating.

Introducción

La síntesis controlada de materiales ha permitido la aplicación de nanomateriales bioconjugados para el desarrollo de terapias alternativas a los tratamientos tradicionales usados en medicina en su lucha contra el cáncer o en las células infectadas con parásitos (Tong R. et al, 2013). Por ejemplo, la ablación térmica se presenta cuando las células se calientan por encima de un umbral de temperatura, típicamente 55°C (Nikfarjam M. et al, 2005). Lo cual induce a una necrosis coagulativa, una forma de muerte celular que implica la desnaturalización de las proteínas y la lisis de la membrana (Hildebrandt B. et al, 2002). Este efecto térmico localizado se puede generar por la interacción de las nanopartículas con la radiación IR o de radiofrecuencia (Gannon et al., 2007; Manthe R. et al, 2010).

Se ha demostrado que cuando los nanotubos de carbono (NTC) son expuestos a luz del infrarrojo cercano (NIR) en el rango de 700 a 1100 nm, la cual es biológicamente transparente,

pueden inducir la destrucción térmica de las células cancerosas tanto in vitro como in vivo. (Levi-Polyachenko N., et al, 2009; Fisher J. et al, 2010; Burlaka A. et al, 2010; Moon H., et al, 2009). Los NTC tienen la ventaja sobre otros nanomateriales, ya que pueden lograr la destrucción térmica de tumores, usando dosis hasta 10 veces más bajas y con una potencia de radiación hasta 3 veces menores (Robinson J. et al, 2010).

Los NTC de pared simple, presentan propiedades físico-químicas únicas, emiten calor cuando absorben energía por radiación en el infrarrojo cercano (NIR). Los tejidos son relativamente transparentes a los rayos NIR, esto sugiere que la ablación térmica de un tumor se puede lograr con el ingreso de los NTC en las células tumorales y su exposición

Correspondencia:

Fernando Martínez O., fmartine@uis.edu.co

Recibido: 13 de marzo de 2014

Aceptado: 30 de julio de 2014

no invasiva a la luz NIR (**Chakravarty P. et al**, 2008). Los NTC liberan una apreciable cantidad de energía vibracional después de su exposición a la radiación NIR (**Robinson J. T. et al**, 2010), la cual dentro de un tejido produce un calentamiento localizado, que puede ser aprovechado para producir ablación térmica. (**Levi-Polyachenko N. et al**, 2009).

La propiedad de los NTC para convertir la luz del infrarrojo cercano (NIR) en calor, proporciona una oportunidad para preparar una nueva generación de materiales inmunoconjugados contra el cáncer mediante una fototerapia con un alto rendimiento y eficiencia. Además, la hipertermia se ha usado clínicamente en el tratamiento de tumores, ya que puede aumentar la citotoxicidad sinérgicamente cuando se combina con la quimioterapia o la radioterapia (**Kosuge H. et al**, 2012; **Chou H.-T. et al**, 2013). La hipertermia puede aumentar selectivamente la permeabilidad de la vasculatura tumoral en comparación con la vasculatura normal, lo que puede mejorar el ingreso de medicamentos en los tumores (**Kosuge H., et al**, 2012).

En consecuencia los efectos térmicos generados por NTC pueden tener ventajas terapéuticas importantes, ya que estudios fármaco-cinéticos han observado que los NTC internalizados en ratones por diferentes procedimientos no generan efectos tóxicos (**Robinson J. T. et al**, 2010)

El uso de nanoestructuras como nanocápsulas de oro ó NTC (**Wang H. et al**, 2013), en las células cancerígenas con el objeto de destruirlas mediante la ablación térmica está siendo investigado por varios grupos (**Loo C. et al**, 2005; **Huang X. et al**, 2006; **Gannon et al**. 2007; **Y. Hashida**, 2014). El uso de la radiación IR (700 - 1100-nm) para la inducción de la hipertermia es particularmente atractiva porque los tejidos vivos no absorben fuertemente en este rango y la luz NIR externa puede penetrar el tejido normal sin problemas y permitir la ablación de las células en las cuales se hallan los NTC. Un aspecto que se debe considerar en la ablación térmica selectiva de células mediada por NTC es permitir su internalización selectiva mediante “anclas” que orienten su ingreso sin que interfieran con las propiedades ópticas de los NTC. El ingreso selectivo de los NTC en las células tumorales puede lograrse mediante el anclaje de los mismos con ligandos que faciliten el reconocimiento celular tales como péptidos y anticuerpos, entre otros (**Burkea A. et al**, 2008; **Zhao D. et al**, 2011; **Elhissi A. M. A. et al**, 2012).

Se ha observado que la química de la superficie de los nanotubos es crítica para su comportamiento in vivo, lo cual probablemente se aplica a la mayoría de los nanomateriales con fines biológicos. El carácter hidrófobo de los NTC no permite su unión a especies biológicas. Esta hidrofobicidad tiene que bloquearse mediante una funcionalización química adecuada tal como se ha propuesto el recubrimiento de NTC con PEG convirtiéndolos en inertes biológicamente

y así permitiendo su circulación prolongada en el torrente sanguíneo, baja captación y una liberación relativamente rápida de los órganos y excreción del cuerpo (**Liu Z.** 2008; **Robinson J.T. et al**, 2010; **Zhou F.F. et al**, 2011).

Uno de los requisitos fundamentales para lograr la aplicación biológica de los NTC es la posibilidad de modificar químicamente la superficie en un proceso conocido como funcionalización. La funcionalización de los NTC con biomoléculas (ADN, anticuerpos, proteínas, péptidos y enzimas) así como otras nanopartículas tales como oro y plata, polímeros, liposomas y nanotubos biológicos han permitido aumentar el número de aplicaciones biomédicas. Entre las más importantes se tienen: la entrega controlada de fármacos, diagnóstico y detección de enfermedades y la terapia fotodinámica (**Vardharajula S. et al**, 2012; **Chen H. et al**, 2014).

El ácido fólico (AF) es una de las biomoléculas más utilizadas en aplicaciones biomédicas, ha sido utilizada como blanco estratégico en la detección, diagnóstico y tratamiento de enfermedades como el cáncer (**Bandara N. A. et al**, 2014; **Boca-Farreau S. et al**, 2014), debido a la sobreexpresión de receptores de folato observadas en células cancerígenas y en algunos casos en la células infectadas con *Leishmania* (**Novoa L. V.**, 2012; **Castillo J. J. et al**, 2013). Son pocos los estudios relacionados con la utilización de NTC funcionalizados con AF para permitir el ingreso selectivo de las nanopartículas en células enfermas o infectadas con parásitos como la leishmania y menos común, estudios relacionados con la detección de células cancerígenas utilizando nanotubos biológicos funcionalizados con AF (**Castillo J. J.**, 2012; **Graham E. G. et al**, 2013; **Niu L. et al**, 2013; **Zhang Y L. X, et al**, 2013).

En el presente trabajo se describen algunos procedimientos que permiten la funcionalización de los nanotubos de carbono de pared simple (NTC) con ácido fólico (AF), su caracterización y evaluación del efecto térmico al ser irradiados con radiación IR, con el fin de destruir células cancerosas o infectadas con parásitos, por ablación térmica y por ingreso selectivo de los NTC-AF.

Parte experimental

Materiales

Los NTC, NTC-COOH de pared simple (pureza >90% (base de carbono), D×L 4-6 nm×0,7-1,0 μm) y el ácido fólico, AF, (pureza >97%) fueron adquiridos comercialmente (Sigma, Aldrich USA) y los otros reactivos usados fueron de grado analítico.

Funcionalización de Nanotubos de Carbono con Ácido Fólico: NTC-AF

Para realizar la funcionalización de los NTC con el AF se usaron métodos de preparación covalente y no covalente a

temperatura ambiente. En el caso de la unión no covalente del AF al nanotubo se hizo simplemente mediante la sonicación de los dos compuestos sin el uso de una molécula enlazante al NTC. Para la unión covalente NTC-AF se llevó a cabo usando como *linker* una carbodiimida. Adicionalmente, se usaron NTC carboxilados que activaron mediante la N,N'-diciclohexilcarbodiimida, facilitando la formación de un enlace amida que posteriormente permite la formación del enlace amida con la etilendiamina y luego con el AF.

Funcionalización no covalente de NTC con AF

En este caso se requiere realizar la dispersión del NTC, para tal efecto se tomó un recipiente de vidrio de 50 mL para depositar 5 mg de NTC y luego se agregó 5 mL de una solución ligeramente básica (pH 9) de AF, la cual se preparó previamente mezclando 6.5 mg de AF y 10 mL de NaOH 1 M, luego se aforó a un volumen de 25 mL con agua destilada [Castillo J. J. et al, 2012].

La mezcla NTC-AF se agitó durante 5 minutos y luego se sonicó durante 20 minutos en una bañera termostataada a 15°C. Posteriormente la solución se centrifugó a 12000 rpm durante 20 min, el sobrenadante fue separado. Finalmente la solución fue dializada tres veces con agua destilada para eliminar el exceso de AF que no reaccionó. El esquema de preparación usado se indica en la siguiente figura 1.

Adicionalmente, se realizó un estudio teórico de este sistema mediante un método híbrido de cálculo (N-Integrated Orbital Molecular y Molecular Mechanics (B3LYP (6-31G (d): UFF)). Los resultados confirmaron que la interacción se

produce a través de puentes de hidrógeno entre los protones del fragmento glutámico del AF y los electrones p del NTC (Roza C. et al, 2013).

Funcionalización covalente de NTC con AF

En una primera etapa se realizó la preparación del conjugado formado entre los nanotubos de pared simple de carbono, chitosan y ácido fólico, siguiendo el procedimiento descrito por Castillo (Castillo J. J., et al, 2012).

Preparación del conjugado nanotubo de carbono chitosan y ácido fólico: NTC-chitosan y NTC-AF

En un frasco de vidrio se sonicaron 5 mg de NTC con una solución acuosa de chitosan (pureza <75%) (30 % p/v) durante 1 hora. Luego, la solución fue centrifugada a 2800 rpm durante 20 minutos; el sobrenadante se recogió y se separó cuidadosamente del sólido remanente y la solución de NTC se almacenó a 4°C, la se usa luego en la funcionalización con el AF.

La adición del AF al sistema NTC-chitosan se realizó mediante una metodología similar a la propuesta por Kam (Kang B. et al. 2009), una mezcla de solución acuosa NTC-chitosan (5 mL) con una solución 3.5 mM de EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida) se agitó magnéticamente a temperatura ambiente (25°C) durante 12 horas, protegiendo la mezcla de la luz. Posteriormente, a la anterior mezcla se le adicionó 500 µL de una solución acuosa (2.5 mM) de AF ligeramente básica. La mezcla se dejó en agitación durante la noche y luego fue dializada tres veces

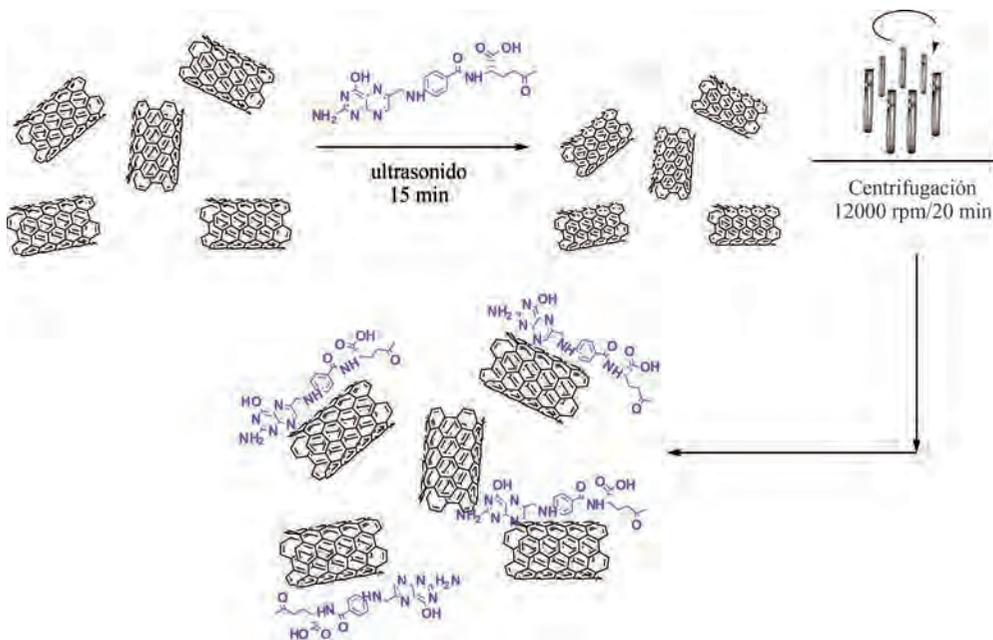


Figura 1. Esquema de la funcionalización no covalente de NTC-AF (Castillo J.J, et al 2011).

con una solución tampón de fosfato (pH 7.0) usando una membrana de diálisis (tamaño de poro 10000) para remover el exceso de AF y EDC. La estabilidad del conjugado se siguió mediante la medición del potencial zeta de la solución, la cual se almacenó a 4°C para su caracterización (Castillo J. J., et al, 2012).

Funcionalización covalente del nanotubo de carbono carboxilado (NTC-COOH) con ácido fólico

El anclaje del AF al NTC-COOH no se realizó directamente por el grupo amino presente en el ácido AF, debido a que este grupo tiene su par electrónico comprometido en la aromaticidad de la pterina, haciéndolo menos reactivo y dificultando el ataque nucleofílico por parte de este grupo. Se decidió realizar un procedimiento usado para la aminación de la lipasa B de la Candida antartica (Galvis, M., et al. 2012), usando la *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (EDAC) como agente de activación de los grupos carboxílicos presentes en la superficie de los NTC-COOH, esta permite el ataque nucleofílico de uno de los grupos amino de la EDAC, formando un enlace amida y dejando libre un grupo amino primario que actúa como nucleófilo y facilita el ataque a uno de los grupos carboxilo del AF, permitiendo así la funcionalización covalente del AF al NTC (Ayala B. E. et al 2013). En la figura 2 se indica el esquema de reacción usado.

En un tubo de Falcon se mezclan 5 mg de NTC-COOH con 15 mL de acetonitrilo y se sonicaron durante 20 min a temperatura ambiente de (25 °C). Este procedimiento se

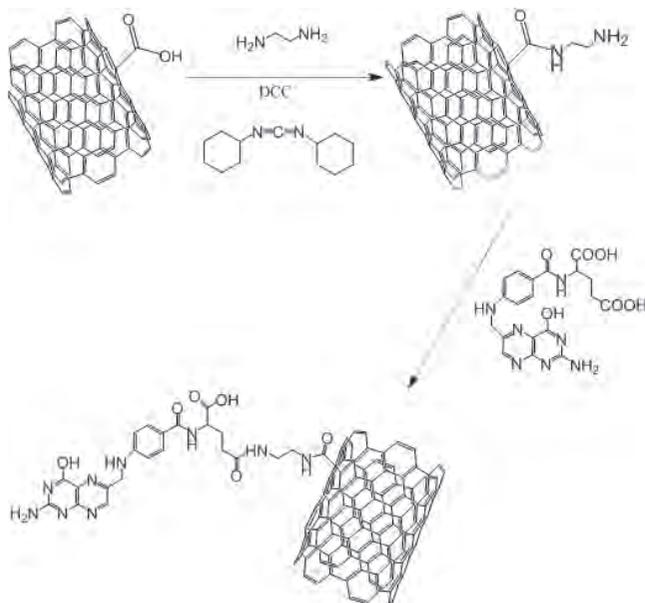


Figura 2. Esquema de la funcionalización covalente de NTC-AF (Ayala B. E. et al, 2013)

repetió modificando el solvente (DMF, agua-acetonitrilo). Además para cada funcionalización obtenida (NTC-EDA (Etilendiamina) y NTC-AF) se realizó una dispersión en cada uno de los solventes mencionados.

Funcionalización covalente de NTC-COOH con Etilendiamina (NTC-EDA).

En un vaso de vidrio se mezclaron 20 mg de NTC-COOH y una solución acuosa de EDA. La Solución de EDA se preparó previamente, tomando 1.3 mL de EDA (1M) y aforando a 20 mL (pH 4.75) y 2 mg de EDAC (10mM), en un baño de hielo con agitación magnética constante durante 1 hora. Luego, se centrifugó la mezcla a 14000 rpm, extrayendo el sobrenadante, lavando con agua destilada para eliminar el exceso de EDA que no reaccionó y finalmente el sólido obtenido se secó a temperatura ambiente (25 °C) (Ayala B. E. et al, 2013).

Funcionalización covalente de NTC-EDA con Ácido Fólico.

En un vaso de vidrio se preparó una solución de AF (10 mg) en 22 mL de una solución tampón de fosfato (25 mM; pH 4.75). Luego se adicionó 42 mg de EDAC y 10 mg de NTC-EDA, con agitación magnética constante durante 1 hora a temperatura ambiente. Posteriormente la mezcla se centrifugó a 14000 rpm, extrayendo el sobrenadante y lavando con agua destilada para eliminar el exceso de AF que no reaccionó. El sólido obtenido se secó a temperatura ambiente (25 °C) (Ayala B. E. et al, 2013).

Resultados y discusión

Caracterización

Análisis del NTC-AF (no covalente)

Espectroscopia de UV-Vis

La funcionalización no covalente de los NTC con el AF se evidenció mediante el espectro UV-Vis, en el cual se observan tres bandas de absorción que corresponden respectivamente a la banda de absorción de la estructura tubular de los NTC (265 nm) y dos bandas adicionales asociadas al AF, 282 y 364 nm, ver figura 3.

Espectroscopia de Fluorescencia

La asociación AF-NTC se analizó por medio del espectro de fluorescencia al excitar la solución con una longitud de onda de 364 nm, en el espectro de emisión se observó una disminución de la emisión de fluorescencia del AF en alrededor de 475 nm, en la cual la intensidad de la fluorescencia del AF libre y su conjugado con los NTC es muy diferente, ver figura 4. Este efecto de apagamiento de una molécula en presencia de los NTC se atribuye a mecanismos de transferencia electrónica (Cho E. S. et al, 2008).

El efecto de apagamiento del AF por los NTC puede ser un indicio de la interacción AF-NTC para formar el respectivo conjugado.

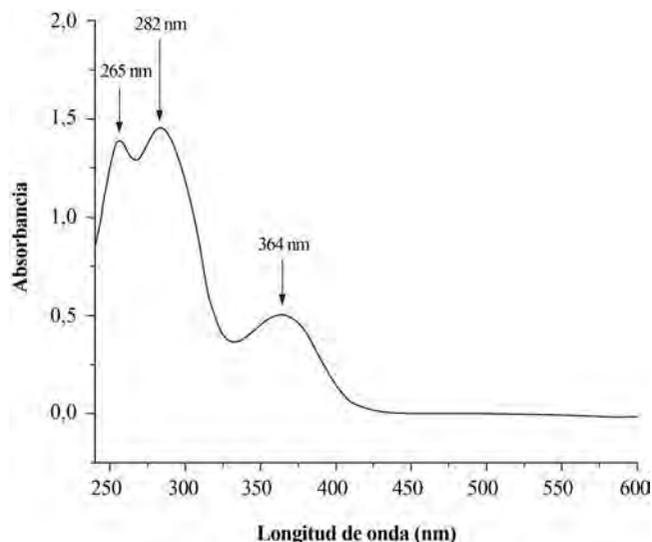


Figura 3. Espectro UV-Vis NTC-AF, el espectro se tomó después de lavar y centrifugar el conjugado con agua destilada, para eliminar el exceso de AF.

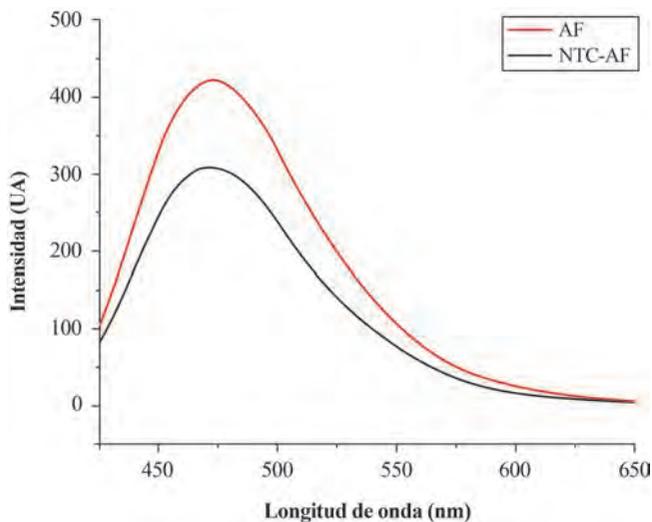


Figura 4. Espectros de emisión de AF libre y conjugado a los NTC ($\lambda_{exc} = 364 \text{ nm}$).

Espectroscopia Raman

El espectro Raman del NTC permite ver la modificación de los modos vibracionales por efecto de la funcionalización del NTC (Koh B., et al, 2011). Se identifica que la zona comprendida entre 200 y 300 cm^{-1} se presenta los modos de respiración radial conocidos como RBM (Radial Modes Breathing, siglas en inglés), los cuales presentan una relación inversa con el diámetro del nanotubo y son útiles para evidenciar la funcionalización de los NTC. Además, la presencia de una banda intensa en 1589 cm^{-1} , conocida como

la banda G, esta asociada a las vibraciones tangenciales de los NTC. Las otras dos bandas características son las bandas D (desorden inducido) y G^{*} ubicadas a 1300 cm^{-1} y 2600 cm^{-1} respectivamente, bandas asociadas a la estructura electrónica y fonónica de los NTC (Dresselhauss M., et al, 2002; Jinno M., et al, 2006).

Se ha propuesto que para evidenciar el grado de funcionalización de los NTC con alcanos lineales se analice la intensidad de la banda RBM. En nuestro caso, en el NTC funcionalizado con AF se observó un cambio de la intensidad de la banda a 270 cm^{-1} . La figura 5 compara los espectros Raman del NTC y NTC-AF. Se observa una disminución en la intensidad de los NTC-AF, asociada a la presencia del AF en el NTC, la cual afecta los modos de vibración RBM, afectando principalmente vibración radial en la (“respiración” del NTC). Este fenómeno ha sido observado por otros autores y ha permitido realizar un seguimiento de la funcionalización de NTC (Kim U., et al, 2005).

Las bandas G y D, además se han usado para la caracterización de la funcionalización del NTC con AF, mediante la relación de intensidades de las bandas G y D. Cuando el valor de la relación de intensidades se aproxima a 1, significa que un gran número de defectos superficiales están en la superficie del nanotubo. La figura 6, se indica las bandas de los espectros Raman de los NTC ($I_D=2219/I_G=11900$) y NTC-AF ($I_D=2220/I_G=10121$), para estimar la relación de intensidades.

La leve diferencia de las relaciones de las intensidades observadas para NTC y NTC-AF, indica una interacción débil, asociada a la interacción no covalente entre el AF y el NTC. En el trabajo desarrollado por Castillo (Castillo J. J.,

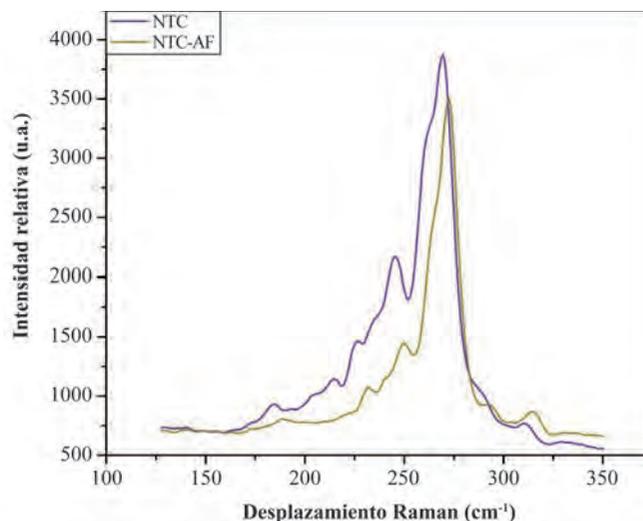


Figura 5. Comparación de los modos de vibración RBM del NTC y NTC-AF (no covalente).

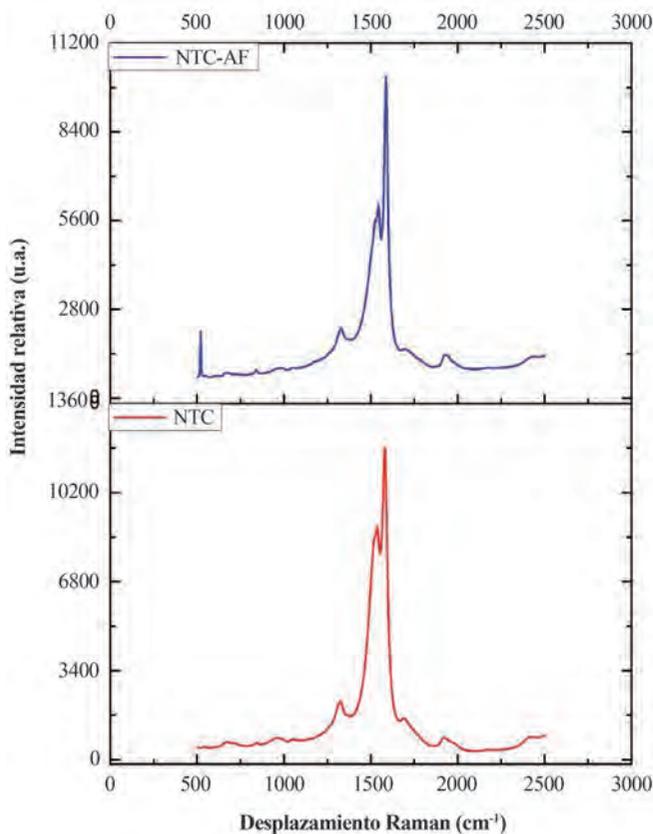


Figura 6. Espectros Raman de NTC y NTC-AF (no covalente).

2013) se ha realizado un estudio más detallado del sistema NTC-AF, incluyendo su excitación mediante dos láser (532 y 785 nm), observando que la excitación con el láser de 785 nm presentó una mejor resolución de sus picos.

Análisis del conjugado NTC-chitosan-AF

Espectroscopia UV-vis

El análisis por espectroscopia UV/Vis, indicó que los NTC se solubilizan en la solución acuosa de chitosan. En el espectro aparece una banda de absorción a 265 nm, característica de los fonones resonantes y de las transiciones electrónicas de los electrones p presentes en la estructura del NTC, ver figura 7, banda que ha sido observada por otros trabajos (Attal S., et al, 2006).

El espectro UV-vis no muestra ninguna señal relacionada con el chitosan. Adicionalmente, en la región de 500-800 nm, se aprecian varios picos asociados a las singularidades de van Hove pertenecientes a (750 nm) E_{11} de los NTC (Attal S. et al, 2006), indicio asociado a su dispersión.

Espectroscopia de Fluorescencia

En el espectro de fluorescencia del bioconjugado, se observó un apagamiento de la fluorescencia del chitosan dado a su

interacción con el NTC. La banda de 418 nm en el espectro de emisión del chitosan desaparece casi en su totalidad del sistema NTC-chitosan. Esto nos induce a indicar que ocurre una interacción molecular entre el chitosan y el NTC, la cual genera el efecto de apagamiento del chitosan (Ahmad A., et al. 2009), ver figura 8.

Espectroscopia Raman

El espectro Raman permite observar evidencias acerca de la interacción del chitosan al NTC. En la figura 9 se indican los espectros del NTC antes y después de su funcionalización con el chitosan. La presencia de algunas de las vibraciones características del NTC antes y después de su interacción con el chitosan (Castillo J. J., 2013), están en concordancia con los resultados de la literatura (Dresselhauss M. et al., 2002).

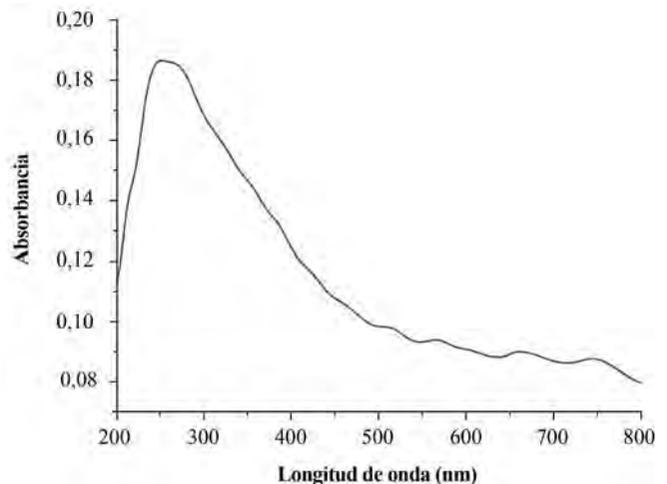


Figura 7. Espectro UV-vis de NTC-chitosan.

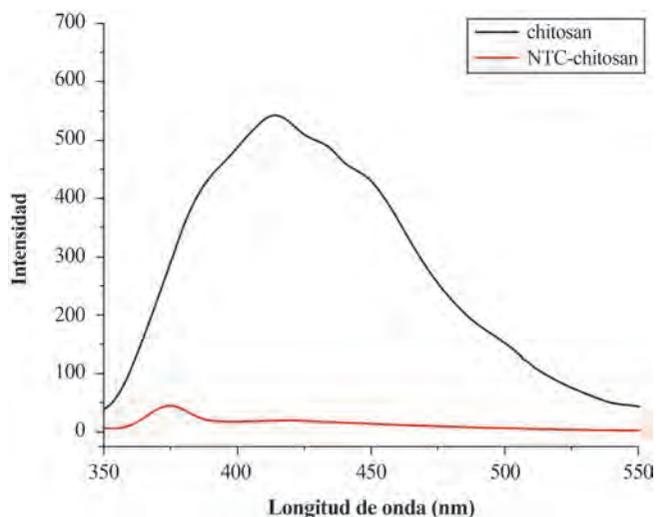


Figura 8. Espectro de emisión del chitosan y del chitosan conjugado a NTC.

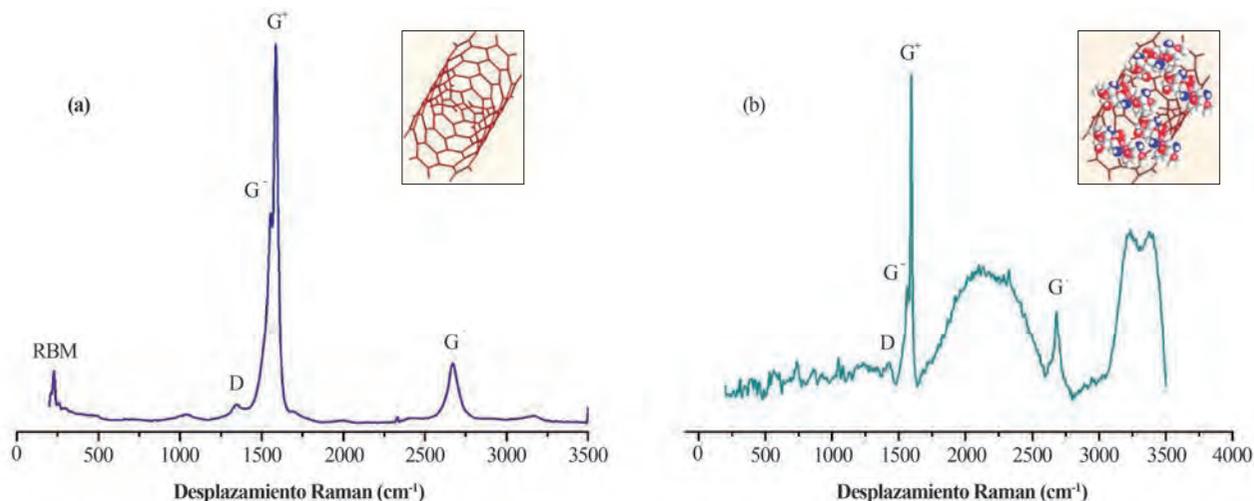


Figura 9. Espectro Raman de (a) nanotubos de carbono y (b) nanotubos de carbono-chitosan (Castillo, John, 2013).

Se aprecia una modificación de las bandas G y G' (asociadas a la hibridación sp^2 del doble enlace) que corresponden a la vibración fundamental (primer orden) de elongación tangencial y un sobretono de segundo orden ubicados a 1500 y 1350 cm^{-1} respectivamente. Igualmente, se observa la banda D en ambos espectros, ubicada entre 1250 y 1400 cm^{-1} , banda conocida de desorden inducido y se asocia a la presencia de defectos en el NTC por interacción, que en este caso es extremadamente débil.

Se estimó adicionalmente un cambio en la relación de intensidades de la banda D y G de 0.0637 a 0.096 para el NTC sin y con chitosan respectivamente, evidenciando una interacción del chitosan con el NTC. (Castillo et al., 2012).

Espectroscopia Resonancia Magnética Nuclear

Para evidenciar la funcionalización de los NTC con el AF mediante la preparación del conjugado NTC-chitosan-AF, se realizó un análisis de RMN bidimensional (DOSY), técnica llamada *cromatografía de RMN*, usada para separar los componentes de una mezcla compleja (Marega R et al., 2010). El espectro se midió disolviendo $400\text{ }\mu\text{L}$ de la muestra en $100\text{ }\mu\text{L}$ de agua deuterada (D_2O) y en el experimento DOSY se utilizó un gradiente pulsado por medio de una secuencia programada (pulso *ledbpgp2s*, Bruker), por cada gradiente se utilizaron 32 barridos y un tiempo de difusión 0.05 s . Todos los experimentos fueron realizados a 298 K . Los espectros se midieron en un espectrómetro de 400 MHz (Bruker Avance III) y se analizaron con el software Topspin 2.1.

Los respectivos espectros ^1H -RMN de la carbodiimida, AF libre, chitosan y conjugado NTC-chitosan-AF se indican en la figura 10. Se evidencia en los espectros las señales correspondientes del chitosan, AF y el conjugado.

En el espectro la señal intensa a 1.90 ppm se asigna a los protones metílicos de la isourea, formada como producto secundario de la reacción chitosan y AF. Las otras señales protónicas a 6.37 (d, $J=8.7\text{ Hz}$, 2H), 7.21 (d, $J=1.7\text{ Hz}$, 2H) corresponden a desplazamientos químicos de los protones de la región del ácido p-amino benzoico del AF y la señal a 8.61 (s, 1H) pertenece al protón de la parte pteridina del folato.

Adicionalmente, se observa un desplazamiento a campo alto de los protones aromáticos del AF conjugado comparado con las señales del AF libre, señales en 6.12 (d, $J=8.3\text{ Hz}$, 2H), 7.06 (d, $J=8.3\text{ Hz}$, 2H) y 7.93 (s, 1H). Este desplazamiento probablemente está asociado al efecto protector de los electrones π de los NTC, los cuales inducen una corriente y un campo magnético opuesta a la dirección del campo aplicado, generando un efecto protector y así desplaza las señales del AF hacia campo alto.

La determinación del coeficiente de difusión mediante un experimento de RMN-DOSY de NTC y NTC-AF, permite evidencias acerca de la interacción del AF al NTC (Marega R., 2010). A partir del espectro medido por el 2D DOSY-RMN, se calcula el log natural de los coeficientes de difusión, cuyos detalles son indicados en el trabajo doctoral de John Castillo (Castillo J. J., 2013). El valor estimado de los coeficientes de difusión evidencian que la difusión del AF cambia notoriamente, observando una difusión muy rápida para el AF libre, asociado a su menor tamaño, que cuando el AF está conjugado al NTC, donde por su mayor tamaño, se difunde a una menor velocidad, estos resultados evidencian la formación del sistema bioconjugado: NTC-AF. Este análisis DOSY permite sugerir que puede ser utilizado como una herramienta para la obtención de información acerca de la funcionalización de nanoestructuras de diferente origen. (Cohen Y., et al., 2005).

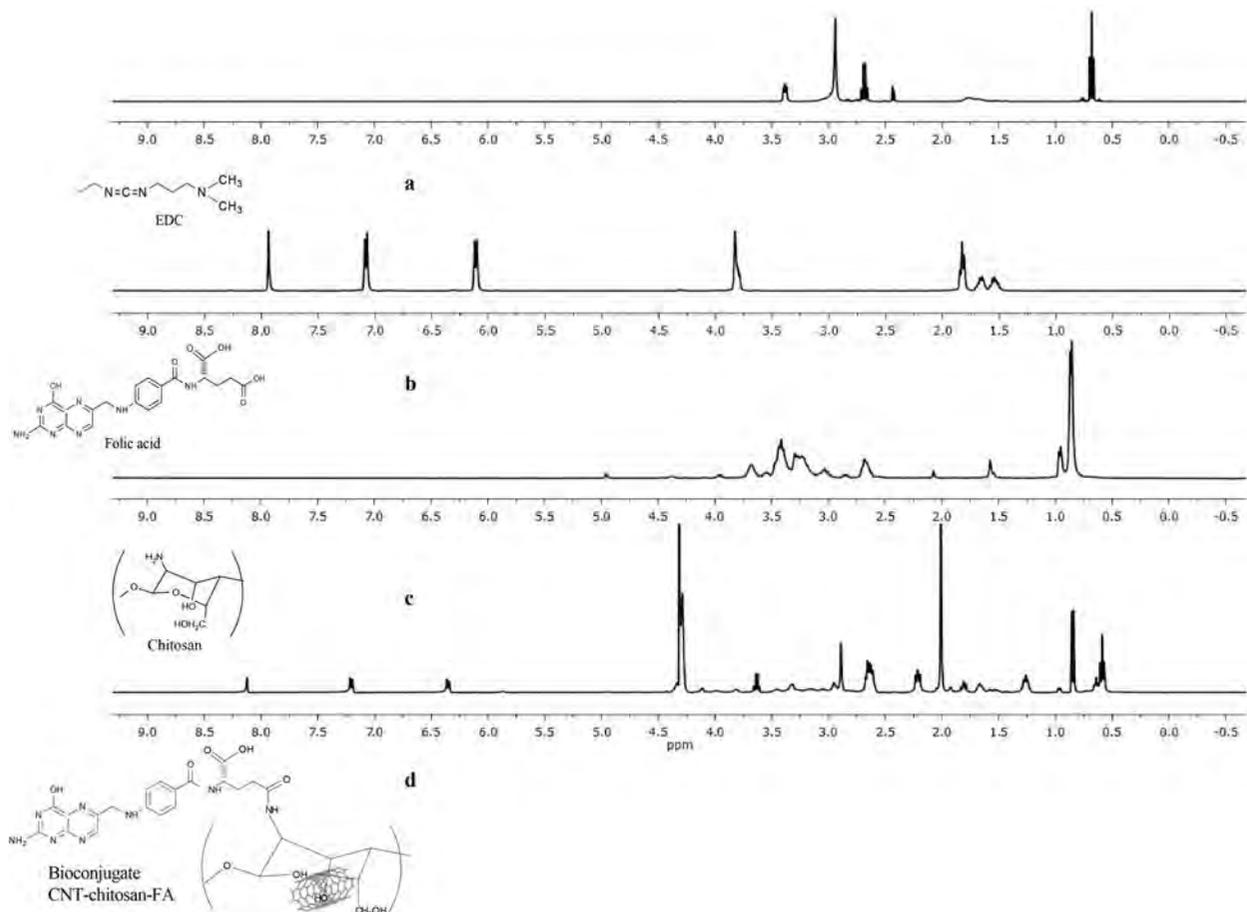


Figura 10. Espectros de RMN: a) carbodiimida (EDC), b) AF, c) chitosan and d) NTC-AF, (Castillo et al., 2012).

Análisis del NTC-AF (covalente)

Espectroscopia UV-VIS

El análisis por UV-Vis, permitió realizar un seguimiento de los intermediarios formados durante el proceso de la funcionalización covalente. En la figura 11a, se indican los espectros medidos, la etilendiamina presenta un pico de máxima absorción en 275 nm, característica de los pares electrónicos de los átomos dadores del nitrógeno y una transición $n-\sigma^*$ propia de los compuestos que contienen heteroátomos. En el caso del AF se presentan dos bandas de absorción en 281 nm ($n-\pi^*$) y 345 nm (efecto batocromico asociado a las transiciones $n-\pi^*$ y $\pi-\pi^*$).

En el caso de los espectros del NTC-COOH (negro) y las respectivas modificaciones del grupo carboxílico: NTC-EDA (rojo) y NTC-AF (azul), ver figura 11b, en estos últimos se evidencian pequeños corrimientos de las posiciones de las bandas asociadas a los precursores, debido a la presencia del grupo carbonilo en NTC, y se aprecia además, las señales muy débiles (500 - 800 nm) asociadas al NTC.

Espectroscopia de Fluorescencia

El análisis de fluorescencia UV-Vis realizado a NTC y NTC-EDA, dispersos en agua, se observa una disminución de la intensidad de la banda en el intervalo de 360-550 nm cuando la EDA se asocia al NTC, este apagamiento se debe al efecto desactivante del NTC (Wadzanai, C., Tebello, N., 2010). Adicionalmente, se mantiene la banda de absorción en 310 nm debido a la insaturación del grupo carbonilo (C=O) y formación del grupo amida con la etilendiamina, ver figura 12.

En el caso de la fluorescencia del sistema NTC-AF, se observa un cambio en el espectro, se da un aumento de la intensidad de la banda del AF cuando interacciona con el NTC. En este caso el AF no se encuentra unido directamente al NTC, lo cual podría explicar la ausencia del efecto de apagamiento asociada a la interacción directa con el NTC, ver figura 13.

Dado a la ausencia de un efecto de apagamiento de la fluorescencia, evidencia que el método de preparación conduce a una interacción diferente, quizás covalente, del AF con los

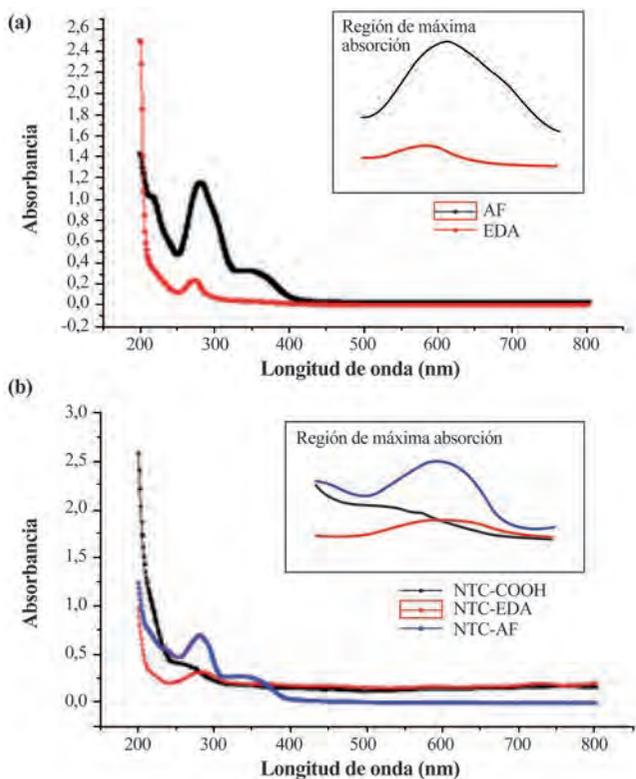


Figura 11. Espectros UV-Vis del NTC modificado. a) Precursores EDA (disuelto en agua) y AF (disuelto en acetonitrilo) b) Los sistema NTC-COOH, NTC-EDA y NTC-AF, dispersos en acetonitrilo.

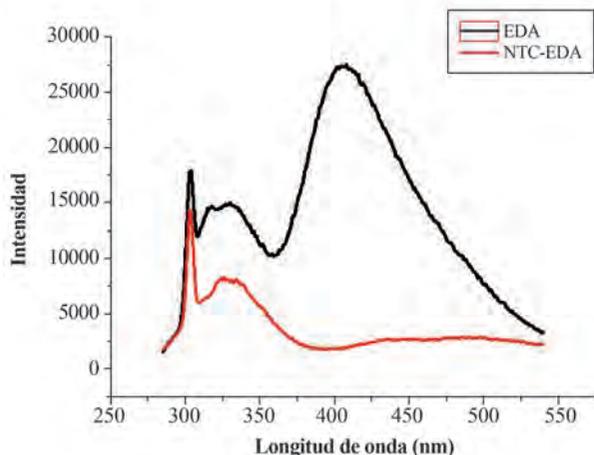


Figura 12. Espectros de Fluorescencia de la etilendiamina y el NTC-EDA dispersos en agua, para una longitud de onda de excitación de 281 nm.

NTC, que cuando se realiza la sonicación directa entre el AF y NTC que conduce a una funcionalización no covalente y donde se observa un apagamiento de la intensidad. La literatura lo explica mediante un mecanismo de desactivación

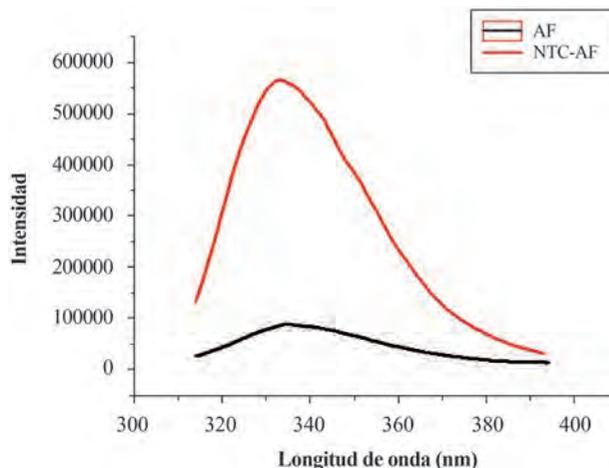


Figura 13. Espectros de Fluorescencia del AF y el NTC-AF dispersos en acetonitrilo.

de la energía colisional o transferencia Dexter, fenómeno de muy corto alcance, disminuye con la distancia de separación (e^{-R}) y depende del solapamiento entre los orbitales moleculares de las dos especies (NTC y AF).

Espectroscopia Infrarroja

Al realizar un análisis por espectroscopia IR/ATR de cada uno de los productos CNT-EDA y CNT-AF, ver figura 14, se observa la presencia de las bandas vibracionales asociadas a cada uno de los grupos funcionales (EDA y AF) de las moléculas que funcionalizan el NTC. En la tabla 1 se resumen las bandas más características de los sistemas mencionados (Ayala B. E. et al., 2013).

Al modificar los grupos superficiales COOH con la EDA, se observa las vibraciones correspondientes a la amida primaria ($3321, 2921.17$ y 2846.34 cm^{-1}) que se correlacionan con las bandas I ($\text{C=O}, 1620.16\text{ cm}^{-1}$) y II (1568.39 cm^{-1}) de una amida, lo cual evidencia la modificación de los grupos carboxílicos del NTC. En el caso de la preparación del sistema NTC-AF, se observa en la región ($1700\text{--}1110\text{ cm}^{-1}$) la presencia de las vibraciones asociadas al ácido fólico, que evidencia su interacción con el anillo. Las investigaciones realizadas acerca de la funcionalización de los NTC, resalta el hecho de aportar evidencias experimentales acerca de la funcionalización de los NTC (Nelson D. J. and Kumar R., 2013).

Estudio de la distribución del tamaño de partícula

Se puede observar un cambio en el tamaño medio de las partículas tanto de los intermediarios como del producto final al realizar una medición del potencial Z de las soluciones. Se evidencia un aumento del tamaño a medida que se adicionan los grupos al NTC, resultando un mayor tamaño medio para

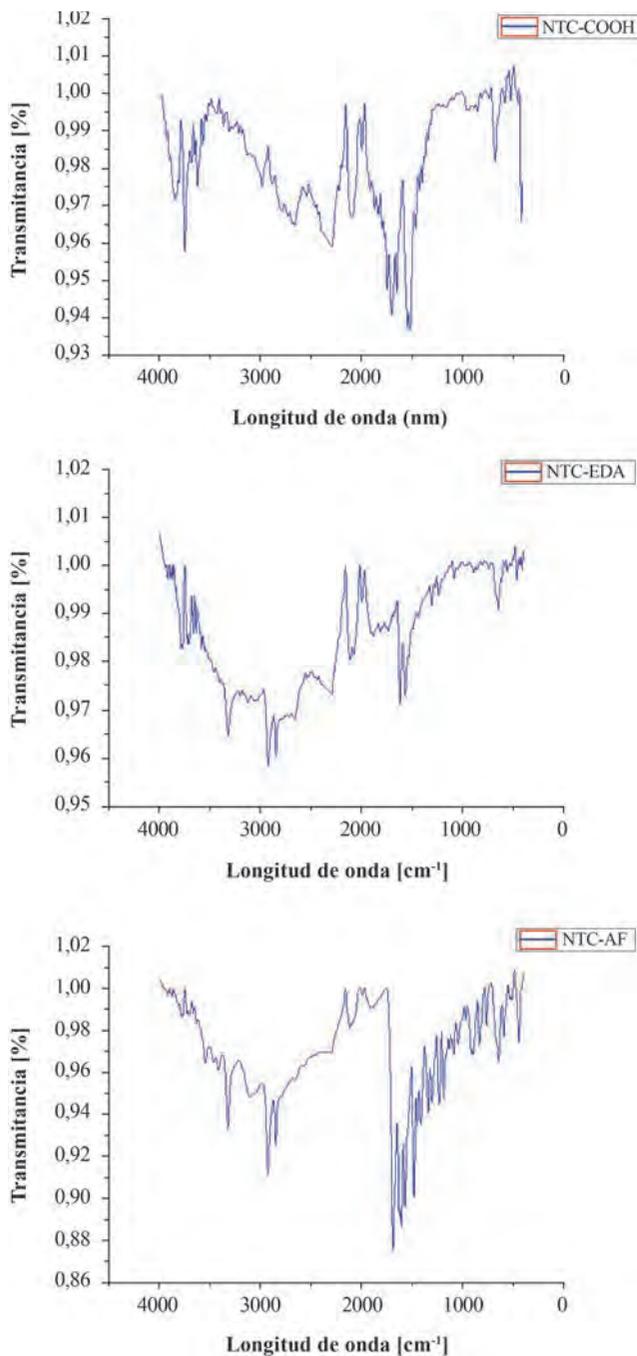


Figura 14. Espectro IR de (a) NTC-COOH, (b) NTC-EDA y (c) NTC-AF.

las partículas de NTC-AF. Este crecimiento puede estar asociado al tamaño del AF, el cual es mayor con respecto al EDA ó al COOH, como se indica en la tabla 2.

Teniendo en cuenta que la técnica supone que las partículas son esféricas, aquí se asume que el diámetro indicado para la esfera, corresponde a la longitud del NTC.

Mediante la microscopia de fuerza atómica, se evidencio una modificación del tamaño del tubo, debido a la interacción (covalente y no covalente) del AF con el NTC, observándose que las moléculas de AF envuelven la estructura del NTC, resultados que se indican en la investigación de Castillo et al. (Castillo J. J., 2013).

Evaluación del efecto térmico del sistema NTC-AF (no covalente)

Se ha indicado que la funcionalización de los NTC con AF podría mejorar su internalización celular, facilitando el transporte de fármacos o como agente generador de calor local. Luego al irradiar las células enfermas con radiación IRC se generará un efecto térmico letal. Son pocos los estudios publicados acerca de la preparación del sistema NTC-AF. Aquí se indicarán algunos de los resultados obtenidos al irradiar el NTC-AF (covalente y no covalente).

Se prepararon soluciones acuosas de NTC-AF (0.125–0.500 mg/mL) bajo condiciones de esterilidad, las cuales se irradiaron durante 10 minutos mediante un laser (ThorLabs, 808 nm) controlando la temperatura y la potencia (200, 400 y 600 mW).

Calentamiento de los NTC-AF en sistemas acuosos

Se realizaron curvas de calentamiento para cada concentración y potencia, se determinó la velocidad de calentamiento en °C/s en la solución mediante un termómetro electrónico de sonda metálica. Además, se hizo un experimento control usando únicamente agua, con una potencia de 600 mW. Se observó que el calentamiento de la solución se debe a los NTC, ya que en el agua no se presentó aumento de la temperatura en ausencia de NTC.

En la figura 15 se indican las curvas de calentamiento medidas durante 10 min de irradiación para tres soluciones con diferente concentración de NTC-AF y modificando la potencia del diodo láser. Se determinó que 10 min era suficiente para alcanzar los valores más altos de temperatura, para tiempos superiores de irradiación se observaba una disminución de la misma

La irradiación de las soluciones de NTC-AF produce un incremento de la temperatura y se observa un incremento significativo de la misma durante los 5 primeros minutos. Adicionalmente, se observa un aumento de la temperatura al modificar la concentración de la solución así como la potencia de irradiación. Se alcanzó un valor de 43.8°C con una potencia de 600 mW (0.5 mg/mL). Valores similares han sido indicados por Hussain. [Hussain S., et al, 2011], con valores de 44°C durante 4 minutos de irradiación usando un láser con una potencia de 4.5 W. Las diferencias de temperatura se han atribuido a las condiciones usadas y al tipo de NTC empleado en ese caso (Madani S., et al., 2012).

Tabla 1. Bandas características del espectro IR* del sistema NTC-X.

Tipo de vibración	Número de onda (cm ⁻¹)		
	NTC-COOH	NTC-EDA	NTC-AF
Alargamiento del O-H	3743	3778 y 3711	3543 y 3416
Alargamiento N-H		3321	3220
Alargamiento C-H aromático	3010		
Alargamiento C-H alifático		2921 y 2840	2923 y 2848
Alargamiento C=O	1700	1620	1689
Alargamiento C=C aromático	1541 y 1517	1620 y 1563	1612 y 1570
Alargamiento C=N aromático			1482
alargamiento asimétrico COO-			1412
alargamiento simétrico			1340
flexión en el plano C-O-H	1426.27		1481 y 1339
alargamiento C-N		1236 y 1086	
Flexión fuera del plano C-H aromaticos	675	646	648

* Los sólidos se midieron en el equipo Bruker Tensor 27, usando 32 barridos, con una resolución 2.0% de transmitancia y los espectros se analizaron con OriginLab versión 8.0.

Tabla 2. Tamaño promedio de las partículas de los sistemas funcionalizados covalentemente.

Compuesto	Tamaño medio (nm)	PDI*
NTC-COOH	120.8	0.318
NTC-EDA	122.0	0.255
NTC-AF	162.5	0.591

*PDI: índices de polidispersión, los valores menores a 1, indica que partículas están monodispersas.

El aumento de la temperatura esta asociado a la absorción de luz por NTC que libera su energía mediante una disipación de calor que conduce al aumento local de la temperatura en la solución de NTC-AF (Burlaka A., et al, 2010).

Evaluación del efecto térmico del sistema NTC-AF (covalente)

Se realizaron ensayos para medir el efecto de la radiación infrarroja en las soluciones acuosas de NTC-AF y teniendo en cuenta los dos métodos de preparación (covalente y no covalente). Para ello se utilizó una bombilla incandescente comercial (60 W), la cual emite (75% I:R, un 15% visible y el 10% UV), se evaluó el tiempo de irradiación de soluciones acuosas de NTC-AF (100 y 1000 ppm), teniendo en cuenta como blanco el agua (Ayala B. E. et al, 2013).

Se observó un aumento de la temperatura con el cambio de la concentración así como con el tiempo de irradiación, ver la figura 16. El incremento de la temperatura es mayor para aquella solución que contiene el sistema NTC-AF preparados covalentemente y es proporcional a la concentración de la solución.

Se ha indicado un aumento de la temperatura de 60°C al usar soluciones de NTC de pared múltiple e irradiadas con una lámpara IRC (780-1400 nm) (Hussain S. et al, 2011), resultados que están en concordancia con lo observado y permite deducir que el calentamiento de la solución es debido a la absorción de la radiación por el sistema NTC-AF.

Experimentos biológicos preliminares.

Se han realizado algunos ensayos biológicos observándose que soluciones de NTC-AF (no covalente) no presentan toxicidad en células de mamíferos THP-1 y forma dispersiones estables a pH fisiológico (Castillo et al, 2011). Además, los experimentos de internalización, THP-1 infectadas con *L. panamensis* y no infectadas (8×10^5 células/mL) fueron cultivadas en placas de 24 pozos con laminillas circulares y tratadas con diferentes concentraciones de NTC-AF (no covalente) (0.03 - 0.125 mg/mL) de 2 a 72 horas a 37°C, 5% CO₂, 95% de mezcla aire, indicaron el ingreso de los NTC-AF en células THP-1 y se observó una dependencia del tiempo de internalización con la concentración de nanotubos internalizados, seguido mediante microscopia óptica por conteo directo de 300 células (Novoa V.L., 2012). Los NTC-AF se ubicaron en el citoplasma y con el aumento en el tiempo de internalización ocuparon más del 50% de la célula. Además por medio de microscopia óptica se observó la formación de aglomerados de los NTC-AF los cuales se ubicaron en especies de vacuolas. El mecanismo de ingreso de los NTC funcionalizados con AF es probablemente mediado la expresión de receptores de folato (Castillo J. J. et al, 2013).

Al realizar un experimento con células THP-1 infectadas con amastigotes intracelulares de *Leishmania panamensis*, se observó la internalización de los NTC-AF (no covalente)

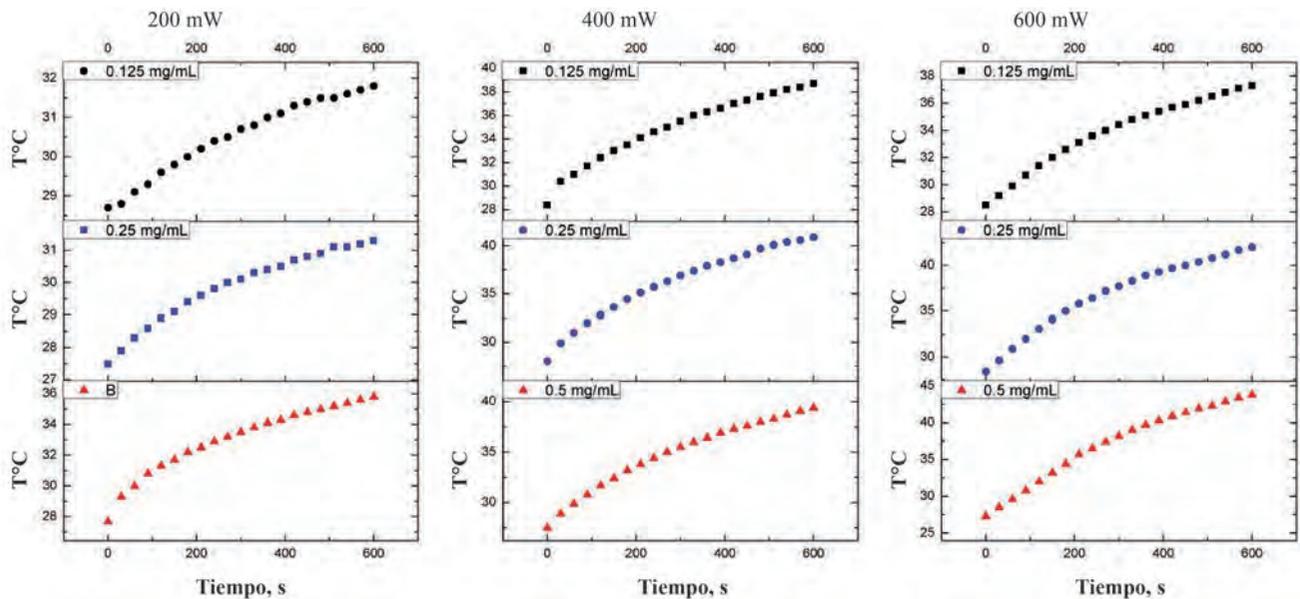


Figura 15. Curvas de calentamiento de soluciones acuosas de NTC-AF (no covalente), utilizando un diodo laser de 808 nm y modificación de la potencia (200, 400 y 600 mW) (Castillo, John, 2013).

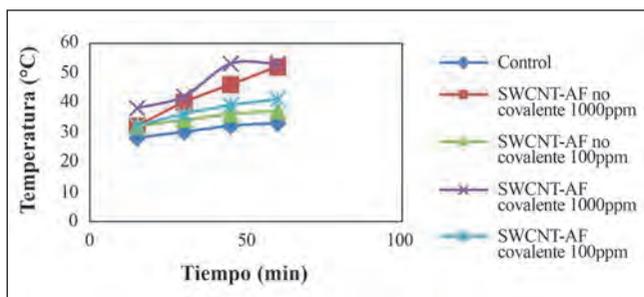


Figura 16. Efecto térmico sobre los NTC-AF funcionalizados covalente y no covalentemente (Ayala B. E. et al, 2013).

(0.060 – 0.500 mg/mL). Células THP-1 transformadas con PMA en cámaras de vidrio con sistema deslizante (labteck de NUNC) e infectadas con promastigotes de *L. panamensis* (fase estacionaria de crecimiento) utilizando una relación de infección de 1:5 célula: parásito por 48 horas a 32°C, 5% CO₂ 95% mezcla-aire. Después fueron tratadas con diluciones seriadas 1:2 de NTC-AF (no covalente) (0.25 a 0.016 mg/mL) por 24 horas. Posteriormente se irradiaron con IRC (808 nm) por 10 minutos. Células infectadas controles tratadas y no tratadas con NTC-AF (no covalente) fueron mantenidas sin irradiación, así como células infectadas no tratadas fueron irradiadas en las mismas condiciones. Luego, las células fueron fijadas con metanol por 10 minutos y coloreadas utilizando la tinción de Giemsa; cada experimento fue repetido tres veces. El porcentaje de infección fue determinado microscópicamente por conteo directo de 300 células infectadas. Se

observó una inhibición de los amastigotes intracelulares, lo cual probablemente este asociado al efecto térmico local generado por la irradiación sobre las células infectadas (Novoa L. V., 2012). Esto nos ha orientado que en la investigación debemos estudiar los efectos asociados a la longitud de onda incidente, el tiempo de irradiación, la potencia del haz de radiación, la concentración de NTC, la naturaleza de la interacción NTC y AF (covalente y no covalente) entre otros. En consecuencia, el conjugado NTC-AF es un buen candidato para generar la ablación térmica en sistemas biológicos.

Conclusiones

Se ha indicado que los métodos usados para la funcionalización de los nanotubos de carbono de pared simple con ácido fólico, permiten una interacción covalente y no covalente entre las dos moléculas.

La caracterización espectroscópica de los sistemas NTC-AF ha permitido evidenciar la interacción entre el AF y el NTC.

La irradiación de soluciones acuosas NTC-AF con IRC (laser y lámpara) genera un efecto de calentamiento que depende de la concentración, de la potencia del haz de iluminación así como del tipo de interacción ácido fólico y NTC, ya que se observa un cambio en la temperatura de la solución. Además, los experimentos de control evidencian que los NTC son los responsables del aumento de la temperatura.

Los estudios biológicos preliminares realizados indicaron que el bioconjugado NTC-AF (no covalente) se puede internalizar en células tipo THP-1, así como aquellas células

infectadas con la *Leishmania* y su mecanismo de ingreso celular probablemente esta mediado por la expresión de receptores de folato. Además, el efecto térmico generado por la iluminación con el IR puede eliminar la población de células infectadas, esto nos alienta a continuar evaluando el sistema conjugado preparado, teniendo en cuenta que se debe estudiar con más detalle factores como la longitud de onda incidente, el tiempo de irradiación, la potencia del haz de radiación, la concentración de NTC, la naturaleza de la interacción NTC y AF entre otros.

Finalmente, la síntesis y la utilización de estos sistemas conjugados abren nuevas posibilidades para el tratamiento de enfermedades infecciosas y las células cancerosas mediante la generación de un efecto térmico localizado que permita la ablación térmica de células enfermas y el conjugado NTC-AF es un buen candidato para generar la ablación térmica en sistemas biológicos.

Agradecimientos

Agradecimientos muy especiales a los Profesores Patricia Escobar y Edgar A. Páez por las amplias discusiones sobre el tema y a los investigadores que permitieron realizar los procedimientos experimentales y la continuidad de este trabajo: Doctor en Química John J. Castillo y a los Químicos Linda G. Bertel, Elizabeth Ayala B, Yeison G. Peña y la Magister en Ciencias Básicas Leidy V. Novoa L. Además, se agradece a COLCIENCIAS (Proyecto 110245921468) por la financiación del trabajo experimental.

Conflicto de interés

El autor declara que el artículo no tiene ningún conflicto de interés.

Bibliografía

- Ahmad A., Kurkina T., Kern K. and Balasubramanian K.**, 2009. Applications of the Static Quenching of Rhodamine B by Carbon Nanotubes. *Chem. Phys. Chem.* 10:2251–2255.
- Atthal S., Thiruvengadathan R., Regev O.**, 2006. Determination of the concentration of single walled carbon nanotubes in aqueous dispersion using UV-Vis absorption spectroscopy. *Anal. Chem.* 78 (23):8098-8104.
- Ayala B. E., Peña B.Y. G.**, 2013. Funcionalización covalente de nanotubos de carbono de pared simple con ácido fólico y evaluación de su efecto térmico, Trabajo de grado, Director Fernando Martínez O., Escuela de Química, Facultad de Ciencias, UIS.
- Ayala B. E., Peña Y. G., Barbosa O., Torres R., Martínez O. F.**, 2013. Evaluación del efecto térmico de nanotubos de carbono de pared simple funcionalizados con ácido fólico. *Rev. Invest. Univ. Quindío.* 1 (24): 107-111.
- Bandara N. A., Hansen M. J., and Low P. S.**, 2014. Effect of Receptor Occupancy on Folate Receptor Internalization. *Molecular. Pharmaceutics* 11 (3): 1007–1013.
- Boca-Farcau S., Potara M., Simon T., Juhem A., Baldeck P., and Astilean S.**, 2014. Folic Acid-Conjugated, SERS-Labeled Silver Nanotriangles for Multimodal Detection and Targeted Photothermal Treatment on Human Ovarian Cancer Cells. *Molecular. Pharmaceutics* 11 (2): 391–399.
- Burkea A., Ding X., Singh R., Kraft R. A., Levi-Polyachenko N., Rylander M. N., Szot C., Buchanan C., Whitney J., Fisher J., Hatcher H. C., D'Agostino R., Jr., Kock N. D., Ajayan P. M., Carroll D. L., Akman S., Torti F. M., and Torti S. V.**, 2009. Long-term survival following a single treatment of kidney tumors with multiwalled carbon nanotubes and near-infrared radiation. *PNAS* 106 (31): 12897–12902.
- Burlaka A., Lukin S., Prylutska S., Remeniak O., Prylutsky Y., Shuba M., Maksimenko S., Ritter U., Scharff P.**, 2010. Hyperthermic effect of multi-walled carbon nanotubes stimulated with near infrared irradiation for anticancer therapy: in vitro studies. *Exp. Oncol.* 32 (1): 48-50.
- Castillo J. J., Torres M. H., Molina D. R., Castillo-León J., Svendsen W. E., Escobar P., Martínez O. F.**, 2012. Monitoring the functionalization of single-walled carbon nanotubes with chitosan and folic acid by two-dimensional diffusion-ordered NMR spectroscopy. *Carbon* 50 (8): 2691–2697.
- Castillo J.J., Novoa L.V., Martínez F., Escobar P.**, 2011. Carbon nanotubes-chitosan in HOS and THP-1 cells. *Rev. Univ. Ind. Santander. Salud* 43 (1): 21–6.
- Castillo, J. J., Rindzevicius T., Novoa L. V., Svendsen W. E., Rozlosnik N., Boisen A., Escobar P., Martínez F. and Castillo-Léon J.**, 2013. Non-covalent conjugates of single-walled carbon nanotubes and folic acid for interaction with cells over-expressing folate receptors. *J. Mater. Chem. B.* 1: 1475-1481.
- Castillo J. J., Roza C. E., Castillo-León J., Rindzevicius T., Svendsen W. E., Rozlosnik N., Boisen A., Martínez O. F.**, 2013. Computational and experimental studies of the interaction between single-walled carbon nanotubes and folic acid. *Chemical Physics Letters* 564: 60–64.
- Castillo, John**, 2013. Diseño y Preparación de Nanocompuestos Funcionalizados con Ácido Fólico y sus Aplicaciones Biomédicas, tesis doctoral en química, escuela de Química, dirigida por Patricia Escobar R. y Fernando Martínez O., UIS, enero.
- Chakravarty P., Marches R., Zimmerman N. S., Swafford A. D.-E., Bajaj P., I. H. Musselman, P. Pantano, Draper R. K., and Vitetta E. S.**, 2008. Thermal ablation of tumor cells with antibody-functionalized single-walled carbon nanotubes. *PNAS* 105 (25): 8697– 8702.
- Cohen Y., Avram L., and Frish L.**, 2005. Diffusion NMR Spectroscopy in Supramolecular and Combinatorial Chemistry: An Old Parameter—New Insights, *Angew. Chem. Int. Ed.* 44 (4): 520– 554.

- Cho E. S., S. Hong W. and Jo W. H.**, 2008. A New pH Sensor Using the Fluorescence Quenching of Carbon Nanotubes. *Macromol. Rapid Commun.* **29** (22): 1798–1803.
- Chen H., Chi X., Li B., Zhang M., Ma Y., Achilefu S. and Gu Y.**, 2014. Drug loaded multilayered gold nanorods for combined photothermal and chemotherapy. *Biomater. Sci.*, **2**: 996–1006.
- Chou H.-T., Wang T.-P., Lee Y., Taia N.-H., Chang H.-Y.**, 2013. Photothermal effects of multi-walled carbon nanotubes on the viability of BT-474 cancer cells. *Materials Science and Engineering C* **33** (2): 989–995.
- Dresselhaus M., Dresselhaus G., Jorio A., Filho A., Pimenta A., Saito R.**, 2002. Single Nanotube Raman Spectroscopy. *Acc. Chem. Res.* **35** (12): 1070-1078.
- Elhissi A. M. A., Ahmed W., Hassan I. U., Dhanak V. R., and D'Emanuele A.**, 2012. Carbon Nanotubes in Cancer Therapy and Drug Delivery. *J. of Drug Delivery* Volume 2012, Article ID **837327**, doi:10.1155/2012/837327
- Fisher J., Sarkar S., Buchanan C.**, 2010. Photothermal Response of Human and Murine Cancer Cells to Multiwalled Carbon Nanotubes after Laser Irradiation. *Cancer Research*, **70** (23): 9855-9864.
- Galvis, M., Barbosa, O., Ruiz, M., Cruz, J., Ortiz, C., Torres R.**, 2012. Chemical amination of lipase B from *Candida Antarctica* is an efficient solution for the preparation of cross linked enzyme aggregates. *Process Biochemistry* **47** (12): 2373-2378.
- Gannon C. J., Cherukuri P., Yakobson B. I., Cognet L., Kanzius J. S., Kittrell C., Weisman R. B., Pasquali M., Schmidt H. K., Smalley R. E., Curley S. A.**, 2007. Carbon Nanotube-enhanced Thermal Destruction of Cancer Cells in a Noninvasive Radiofrequency Field. *CANCER*, Volume **110** (12): 2654-2665.
- Graham E. G., MacNeill C. M., Levi-Polyachenko N. H.**, 2013. Quantifying folic acid-functionalized multi-walled carbon nanotubes bound to colorectal cancer cells for improved photothermal ablation. *J. Nanopart. Res.* **15**: 1649-1662.
- Hashida Y., Tanaka H, Zhou S., Kawakami S. , Yamashita F., Murakami T., Umeyama T., Imahori H., Hashida M.**, 2014. Photothermal ablation of tumor cells using a single-walled carbon nanotube-peptide composite. *Journal of Controlled Release* **173**: 59-66.
- Hildebrandt B., Wust P, Ahlers O., Dieing A., Sreenivasa G, Kerner T, Felix R., Riess H.**, 2002. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **43** (1): 33–56.
- Huang X, El-Sayed IH, Qian W, El-Sayed M.A.**, 2006. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (6): 2115–2120.
- Hussain S., Dosser L., Payne S., Stacy B., Schrandt A.**, 2011. Fundamental Examination of Nanoparticle Heating Kinetics Upon Near Infrared (NIR) Irradiation. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **3**: 3971–3980.
- Jinno M., Ando Y., Bandow S., Fan J., Yudasaka M., Ijima S.**, 2006. Raman scattering study for heat-treated carbon nanotubes: The origin of $\approx 1855\text{ cm}^{-1}$ Raman band. *Chemical Physics Letters* **418** (1-3): 109-114.
- Kang B, Yu D. C, Dai Y.D., Chang S.Q., Chen D., Ding Y.T.**, 2009. Cancer-cell targeting and photoacoustic therapy using carbon nanotubes as “Bomb” agents. *Small* **5** (11): 1292–301.
- Kim U., Furtado C., Liu X., Chen G., Eklund P.** 2005. Raman and IR Spectroscopy of Chemically Processed Single-Walled Carbon Nanotubes. *J. Am Chem Soc.* **127** (44): 15437-15445.
- Koh B., Park J. B., Hou X. M. and Cheng W.**, 2011. Comparative Dispersion Studies of Single-Walled Carbon Nanotubes in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. B*, **115** (11): 2627–2633.
- Kosuge H., Sherlock S. P., Kitagawa T., Dash R., Robinson J. T., Dai H.; McConnell M. V.**, 2012. Near Infrared Imaging and Photothermal Ablation of Vascular Inflammation Using Single-Walled Carbon Nanotubes. *J. Am. Heart Assoc.* 2012; doi: 10.1161/JAHA.112.002568
- Levi-Polyachenko N., Merkel E., Jones B., Carroll D., Stewart J. H.**, 2009. Rapid Photothermal Intracellular Drug Delivery Using Multiwalled Carbon Nanotubes. *Molecular. Pharmaceutics* **6** (4): 1092-1099.
- Liu Z., Davis C., Cai W., He L., Chen X., and Dai H.**, 2008. Circulation and long-term fate of functionalized, biocompatible single-walled carbon nanotubes in mice probed by Raman spectroscopy. *PNAS* **105** (5): 1410–1415.
- Loo C., Lowery A, Halas N, West J, Drezek R.**, 2005. Immunotargeted nanoshells for integrated cancer imaging and therapy. *Nano Lett.* **5** (4): 709–711.
- Madani S., Tan A., Dwek M., Seifalian A.**, 2012. Functionalization of single-walled carbon nanotubes and their binding to cancer cells. *Int J Nanomedicine* **7**: 905-914.
- Manthe R., Foy S., Krishnamurthy N., Sharma B., Labhasetwar V.**, 2010. Tumor Ablation and Nanotechnology. *Molecular Pharmaceutics* **7** (6): 1880-1898.
- Marega R, Aroulmoji V, Bergamin M, Feruglio L, Dinon F, Bianco A.**, 2010. Two-Dimensional Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy as a Tool for Monitoring Functionalized Carbon Nanotube Purification and Composition. *ACS Nano.* **4** (4): 2051-8.
- Marega R., Aroulmoji V., Dinon F., Vaccari L., Giordani S., Bianco A., Murano E. and Prato M.**, 2009. Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy in the Structural Characterization of Functionalized Carbon Nanotubes. *J. Am Chem Soc* **131** (25): 9086–9093.

- Moon H., Lee S., Choi H.**, 2009. *In Vivo* Near-Infrared Mediated Tumor Destruction by Photothermal Effect of Carbon Nanotubes. *ACS Nano* **3** (11): 3707-3713.
- Nelson D. J. and Kumar R.**, 2013. Characterizing Covalently Sidewall-Functionalized Single-Walled Carbon Nanotubes by Using ¹H NMR Spectroscopy. *J. Phys. Chem. C* **117**: 14812-14823.
- Nikfarjam M, Muralidharan V, Christophi C.**, 2005. Mechanisms of focal heat destruction of liver tumors. *J. Surg. Res.* **127**: 208-223.
- Niu L., Meng L., Lu Q.**, 2013. Folate-Conjugated PEG on Single Walled Carbon Nanotubes for Targeting Delivery of Doxorubicin to Cancer Cells, *Macromol Biosci* **13** (6): 735-744.
- Novoa, L. V.**, 2012. Actividad de nanotubos de carbono acoplados a ácido fólico contra *Leishmania panamensis* después de irradiación con luz infrarroja cercana, Trabajo de Maestría en Ciencias básicas de la Escuela de Medicina, dirigida por Patricia Escobar R. UIS.
- Pavitra Chakravarty, Radu Marches, Neil S. Zimmerman, Austin D.-E. Swafford, Pooja Bajaj, Inga H. Musselman, Paul Pantano, Rockford K. Draper, and Ellen S. Vitetta.**, 2008. Thermal ablation of tumor cells with antibody-functionalized single-walled carbon nanotubes, *PNAS* **105** (25): 8697- 8702.
- Robinson J., Welsher K., Tabakman S., Sherlock S., Wang h., Luong R., Dai H.**, 2010. High Performance *In Vivo* Near-IR (>1 μm) Imaging and Photothermal Cancer Therapy with Carbon Nanotubes. *Nano Res.* **3** (11): 779-793.
- Tong R., Chiang H. H., and Kohane D. S.**, 2013. Photoswitchable nanoparticles for in vivo cancer chemotherapy. *PNAS* **110** (47): 19048-19053.
- Vardharajula S., Ali SZ, Tiwari PM, Eroğlu E, Vig K, Dennis V.A, Singh S.R.**, 2012. Functionalized carbon nanotubes: biomedical applications. *Int J Nanomedicine* (7): 5361-74.
- WANG H., ZHAO Y-L., and NIE G-J.**, 2013. Multifunctional nanoparticle systems for combined chemo-and photothermal cancer therapy. *Front. Mater. Sci.* **7** (2): 118-128.
- Zhang Y L. X, Tang HM. D, Xie Q. T. L, Yao S.**, 2013. Biocompatible multi-walled carbon nanotube-chitosan-folic acid nanoparticle hybrids as GFP gene delivery materials. *Colloids Surf B Biointerfaces* **111C**: 224-231.
- Wadzanai, C., y Tebello, N.**, 2010. Characterization of amine-functionalized single-walled carbon nanotube-low symmetry phthalocyanine conjugates. *Carbon* **48** (10): 2831-2838.
- Zhao D., Alizadeh D., Zhang L., W. Liu, Farrukh O., Manuel E., Diamond D. J. and Badie B.**, 2011. Carbon Nanotubes Enhance CpG Uptake and Potentiate Antiglioma Immunity. *Clin Cancer Res* **17** (4): 771-782.
- Zhou F.F., Wu S.N., Wu B.Y., Chen W.R., Xing D.**, 2011. Mitochondria-Targeting Single-Walled Carbon Nanotubes for Cancer Photothermal Therapy, *Small* **7** (19): 2727-2735.
- Zhuang L., Corrine D., Weibo C., Lina H., Xiaoyuan C., and Hongjie D.**, 2008. Circulation and long-term fate of functionalized, biocompatible single-walled carbon nanotubes in mice probed by Raman spectroscopy. *PNAS* **105** (5): 1410-1415.

Estudio de Parámetros de Síntesis de las estructuras zeolíticas Linde Tipo A (LTA) y Faujasita (FAU) X a partir de aluminio post-consumo y diatomita, para la remoción de metales pesados

Jose H. Quintana¹, Andrea P. Aparicio¹, Leidy K. Parra², José A. Henao^{1,*}, Carlos A. Ríos³

¹ Grupo de Investigación en Química Estructural (GIQUE), Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Colombia

² Grupo de Investigación en Química Estructural (GIQUE), Escuela Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander, Colombia

³ Escuela de Geología, Universidad Industrial de Santander, Colombia

Resumen

En este estudio, se sintetizaron las zeolitas LTA y FAUJASITA NaX por el método hidrotérmico, usando como material de partida la diatomita, como precursor para la obtención del silicato de sodio y aluminio post-consumo, como precursor de la solución de aluminio. Las zeolitas se caracterizaron por Difracción de Rayos X de Muestras Policristalinas (DRXP), Espectroscopia Infrarroja con atenuación (ATR-IR) y Análisis termogravimétrico (ATG), Calorimetría de Barrido Diferencial (CBD) y Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Las zeolitas sintetizadas presentaron una capacidad de fijación de 4,8mmol/g de Cu²⁺, 3,4mmol/g para el Cd²⁺ y 2,3mmol/g de Ni²⁺, partiendo de los nitratos de estos cationes, lo cual, demuestra el potencial de estos materiales para la remoción de metales pesados.

Palabras clave: diatomitas; Aluminio post-consumo; Tratamiento hidrotérmico; Zeolita LTA; Faujasita NaX; Cobre, Níquel y Cadmio.

Study of synthesis parameters of the sodic Linde Type A (LTA) and Faujasite (FAU) X zeolite frameworks from post-consumer aluminium and diatomite for removal of heavy metals

Abstract

In this study, the LTA and faujasite NaX zeolites are synthesized by the hydrothermal method, using as starting material the diatomite, as a precursor for the production of sodium silicate, and aluminum post-consumer, as a precursor of the aluminum solution. The zeolites were characterized by X-Ray Powder Diffraction (XRD), Infrared Spectroscopy with Attenuation (ATR-IR) and Thermogravimetric analysis (TGA), Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Scanning Electronic Microscopy (SEM). Sintered zeolites had a binding capacity of 4.8 mmol / g of Cu²⁺, 3.4 mmol / g for Cd²⁺ and 2.3 mmol / g of Ni²⁺, starting from the nitrates of these cations, which demonstrates the potential of these materials for the removal of heavy metals.

Key words: Diatomite, post-consumer aluminum; hydrothermal treatment; LTA-Na and Faujasite-NaX zeolites; Copper, Nickel and Cadmium

1. Introducción

Uno de los problemas más serios que enfrenta la industria en general es la generación de descargas residuales derivadas de los procesos industriales, cuya composición varía con el tipo de industria y/ o proceso; por esta razón, los efluentes industriales pueden contener sustancias disueltas y en suspensión, dentro de las cuales se encuentran compuestos orgánicos que pueden ser biodegradables o no biodegradables, y/o compuestos inorgánicos (sales de amonio, fosfatos, metales pesados, etc.), así como compuestos tóxicos (Nurul, *et al.*, 2011); haciendo de este hecho un

fenómeno reconocido como uno de los problemas de mayor responsabilidad ambiental que enfrenta la industria en Colombia.

Las zeolitas son aluminosilicatos con estructura cristalina, que contiene cavidades en forma de canales, ocupadas por grandes iones y moléculas de agua, ambos con libertad de movimiento permitiendo el intercambio iónico y la

*Correspondencia:

José A. Henao, jahenao@gmail.com

Recibido: 6 de mayo de 2014

Aceptado: 4 de agosto de 2014

deshidratación reversible (Salam, *et al.*, 2013; Wang & Peng, 2010, Qiu & Zheng, 2009). Su estructura consiste en una red tridimensional de tetraedros, con átomos de aluminio o silicio en el centro y átomos de oxígeno en los vértices. Las diferentes formas de coordinación de estos tetraedros, así como la relación silicio/aluminio originan diferentes tipos de zeolitas (Gómez, *et al.*, 2001); a su vez, esta relación influye directamente sobre la tendencia hidrofílica o hidrofóbica del material, la cual se define en función de la densidad de átomos de aluminio en el interior de las cavidades de su estructura, en general la hidrofobicidad aumenta con un aumento en la relación Si/Al (Herance *et al.*, 2005). Cada átomo de aluminio que sustituye un átomo de silicio, proporciona una carga negativa, la cual se neutraliza con las cargas positivas que aportan los iones intercambiables, los cuales se unen a la estructura de la red mediante un enlace iónico que permite su intercambio por otro catión orgánico o inorgánico sin que la estructura cristalina de la zeolita sea alterada (Danil, *et al.*, 2012; Kumar, *et al.*, 2008; Herance, *et al.*, 2005).

Pueden encontrarse en depósitos naturales, generalmente asociados con la activación hidrotérmica de rocas volcánicas vídrias ó pueden ser sintetizadas con una gran variedad de materiales con alto contenido de silicio y aluminio. Como consecuencia de sus propiedades fisicoquímicas, son utilizadas en una amplia gama de aplicaciones industriales. Particularmente, la gran capacidad de intercambio catiónico le confiere a las zeolitas una alta aplicabilidad como intercambiadores iónicos en el tratamiento de aguas para la eliminación de amonio, fosfatos o metales pesados principalmente (Danil, *et al.*, 2012, Borai, *et al.*, 2009; Kumar, *et al.*, 2008). Además, debido a su estructura de canales abiertos y vacíos, pueden ser usadas como tamices moleculares en la adsorción física de moléculas gaseosas y como catalizadores gracias a la presencia de protones como cationes intercambiables que pueden convertir a la zeolita en sólidos de elevada acidez (Herance, *et al.*, 2005; Villavicencio *et al.*, 2011).

Aunque actualmente gran parte del volumen total de la producción mundial de zeolitas es destinado para su uso en la formulación de detergentes (Wang & Peng, 2010), se han definido otras áreas de aplicabilidad como la agricultura, la horticultura, materiales para construcción y el tratamiento de efluentes mineros y metalúrgicos entre otros, por lo que la síntesis de estos materiales a partir de materiales post-consumo o de fácil acceso facilita su aplicación en la industria (Zhang *et al.*, 2013; Wang & Peng, 2010; Salam *et al.*, 2013).

Las diatomitas son rocas silíceas de origen biogénico, inertes y de baja toxicidad, compuestas por caparazones fosilizados de plantas acuáticas unicelulares morfológicamente sencillas, las diatomeas. Se forman por la acumulación sedimentaria de frústulas de diatomeas (Insung *et al.*, 1999; Mohamed, 2010; Yi-Qiu, *et al.*, 2012). Están constituidas esencialmente

de sílice hidratada, ya sea en forma amorfa o cristalina según la concentración de sílice en la fuente de agua y la edad del yacimiento. Soluciones sobresaturadas de sílice favorecen la precipitación de ópalo el cual según la antigüedad del depósito cambia su morfología hasta convertirse en cuarzo (Pozo M., & López M.J., 2004). Entre sus impurezas se encuentra la alúmina y el hierro, así como detritos sedimentarios que acompañan al material por su origen (Bahramian *et al.*, 2008; Hadjar *et al.*, 2008; Mohamedbaker H., & Burkitbaev, M., 2009).

Por sus propiedades físicas, químicas y térmicas, como gran área superficial por unidad de masa, baja densidad aparente, químicamente inerte y aislante térmico en un amplio rango de temperatura; son aptas para diversas aplicaciones industriales, entre las que se encuentran su uso como filtro, absorbente y su uso como materia prima para la fabricación de ladrillos y cemento (Mohamed, 2010; Yin-qiu *et al.*, 2012, Gerengi *et al.*, 2013). No obstante, ha sido utilizada también como materia prima para la síntesis de nuevos materiales en aplicaciones más específicas como las zeolitas (López *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2014).

En este orden de ideas, la diatomita constituye una valiosa herramienta ya que gracias a sus propiedades fisicoquímicas, abre la posibilidad para el desarrollo de nuevas tecnologías sobre síntesis de materiales como las zeolitas, aluminosilicatos de estructura cristalina con gran capacidad de adsorción e intercambio iónico, de sales inorgánicas con metales pesados, para su aplicación en la remediación de problemas ambientales en el país, que hasta ahora no figuran dentro de los usos convencionales de la diatomita (Wajima T. & Munakata K., 2012).

Adicionalmente, este trabajo permite potenciar su uso en nuevas aplicaciones y por lo tanto aumentar el valor agregado a los recursos de explotación industrial de diatomita en Colombia, promoviendo dentro del contexto de la minería de minerales no metálicos el desarrollo sustentable, la mitigación del impacto ambiental, el mejoramiento de ecosistemas y de la calidad de vida.

2. Protocolo experimental

La diatomita utilizada en el presente trabajo fue recolectada en la Vereda de Siatoca del Municipio de Chivata (Boyacá) a la altura del km 7 al margen derecho de la vía principal que comunica Tunja con Toca.

2.1. Reactivos

Ácido clorhídrico 37% (MERCK); Peróxido de hidrogeno 30% (MERCK); Hidróxido de sodio 99% (MERCK); Nitrato de cobre tri-hidratado (MERCK, extrapuro); Nitrato de Níquel hexa-hidratado (MERCK, Extrapuro), Nitrato de Cadmio marca tetra-hidratado (SIGMA-ALDRICH, 99%) y Ácido Sulfúrico 98% (MERCK).

2.2 Solubilización del silicio a partir de la diatomita

Las muestras de diatomita fueron reducidas a polvo en un mortero de ágata, secadas al aire y tamizadas a través de una malla de 38 μm , para aumentar el área de contacto. La diatomita fue caracterizada superficialmente por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) (FEI QUANTA 200, con un alcance hasta 260.000 aumentos); para complementar la información de la MEB se tomaron Micrografías en un Microscopio Óptico convencional (Olympus, BX51), las Micrografías se tomaron con luz paralela con objetivos de 60 y 100x (este último de inmersión); la caracterización elemental se efectuó mediante Fluorescencia de Rayos-X (FRX) de longitud de onda dispersiva de 4 KW utilizando un equipo marca BRUKER, modelo S8 TIGER; el estudio de la composición de fases cristalinas (programa especializado SEARCH/MATCH) y el cálculo del porcentaje de las fases cristalinas y material amorfo (programa especializado RIQAS) se realizó mediante Difracción de Rayos-X de muestras policristalinas (DRX) utilizando un equipo BRUKER, modelo D8 ADVANCE con geometría DA VINCI; la caracterización de los grupos funcionales se realizó mediante Espectroscopía Infrarroja con atenuación total (IR-ATR), utilizando un equipo BRUKER, modelo TENSOR 27, para determinar la Reflectancia Difusa de la muestras, se utilizó un espectrómetro marca SHIMADZU, modelo Tensor 27; la estabilidad térmica se estudió en un Calorímetro de Barrido Diferencial (CBD) calorímetro marca TA INSTRUMENTS, modelo DSCQ10 y la cuantificación de los lixiviados se realizó por Absorción Atómica (AA), utilizando un equipo PERKIN ELMER modelo 372.

2.3 Calcinación

La eliminación de los compuestos orgánicos presentes en la diatomita natural se realizó mediante oxidación térmica a 600°C durante 5 horas.

2.4 Lixiviación

El proceso de lixiviación se realizó a 15 muestras de 2g de diatomita las cuales fueron sometidas a digestiones (temperatura de 90°C, 750rpm por 6h en un autoclave de teflón de 65mL de volumen) con 40mL de cada una de las soluciones: HCl 4%-H₂O₂ 2% p/v, H₂SO₄ 2% p/v y HNO₃ 2% p/v. Las digestiones se aplicaron en la secuencia descrita en la **Tabla 1**. Una vez finalizado el proceso de lixiviación, los filtrados se analizaron por absorción atómica para determinar la concentración de hierro y aluminio extraídos.

2.5 Extracción del silicio como silicato de sodio

El sólido remanente de la lixiviación que presentó mayor concentración de silicio, se sometió a tratamiento hidrotérmico con una solución 3M de NaOH conservando la relación de 4g de sólido por cada 40mL de base, mezclados en un autoclave de teflón a 90°C, 750rpm por 6h (**Hollman et al., 1999**). La cantidad de silicio extraído se determinó por AA.

Tabla 1. Combinación de las soluciones lixiviantes. Los números arábigos indican la secuencia utilizada.

Número	Secuencia de las digestiones
1	1. HCl 4% p/v - H ₂ O ₂ 2% p/v
2	1. HCl 4% p/v - H ₂ O ₂ 2% p/v; 2. HNO ₃ 2% p/v
3	1. HCl 4% p/v-H ₂ O ₂ 2% p/v; 2. HNO ₃ 2% p/v; 3. H ₂ SO ₄ 2% p/v
4	1. H ₂ SO ₄ 2% p/v
5	1. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 2. HNO ₃ 2% p/v
6	1. HNO ₃ 2% p/v
7	1. HNO ₃ 2% p/v; 2. HCl 4% p/v - H ₂ O ₂ 2% p/v
8	1. HCl 4% p/v - H ₂ O ₂ 2% p/v; 2. H ₂ SO ₄ 2% p/v
9	1. HNO ₃ 2% p/v; 2. H ₂ SO ₄ 2% p/v
10	1. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 2. HCl 4% p/v-H ₂ O ₂ 2% p/v
11	1. HNO ₃ 2% p/v; 2. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 3. HCl 4% p/v- H ₂ O ₂ 2%p/v
12	1. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 2. HCl 4% p/v-H ₂ O ₂ 2% p/v; 3. HNO ₃ 2% p/v
13	1. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 2. HNO ₃ 2% p/v; 3. HCl 4% p/v- H ₂ O ₂ 2%p/v
14	1. HCl 4% p/v-H ₂ O ₂ 2% p/v; 2. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 3. HNO ₃ 2% p/v
15	1. HNO ₃ 2% p/v; 2. HCl 4% p/v-H ₂ O ₂ 2% p/v; 3. H ₂ SO ₄ 2% p/v

2.6 Extracción del aluminio de las anillas de cerveza.

Las anillas de aluminio se calcinaron a 600°C por 3h, posteriormente el material se sometió a tratamiento alcalino con NaOH 3M durante 2h, con agitación constante y conservando la estequiometría propuesta en la Reacción 1, (**Aleksandrov et al. 2003**). La solución se caracterizó por AA.



Reacción 1 Extracción de Aluminio

2.7 Síntesis y Caracterización de zeolitas.

Síntesis de la Zeolita LTA-Na.

Partiendo de las soluciones de silicio y aluminio disueltas, se tomaron tres autoclaves de teflón de 65mL y a cada uno se le mezclaron los precursores gota a gota con agitación constante conservando una relación Si/Al de 1 hasta completar 40mL de la mezcla. Al finalizar la adición, los autoclaves con los crudos de reacción se sometieron a envejecimiento a 90°C, el primero por 3h, el segundo por 6h y tercero por 9h, al término de este tiempo los materiales se filtraron y los precipitados se lavaron con agua tipo 1, hasta lograr un pH=7 en las aguas de lavado. Los sólidos se secaron a 90°C durante 10h, se denominaron como LTA-3, LTA-6 y LTA-9 y fueron caracterizados por DRXP, ATR-IR, ATG y CBD.

Síntesis de la Zeolita FAUJASITA-NaX.

Los precursores de aluminio y silicio se mezclaron en 16 autoclaves de teflón de 65mL, hasta completar un volumen de 40mL de la mezcla conservando una relación de Si/Al de 1,2 para los ocho primeros y de 2,4 para los ocho restantes. Al

término de cada una de las adiciones, el crudo de reacción se dejó en agitación constante por 30min. Posteriormente, los 16 crudos de reacción se sometieron a un estudio de maduración como se muestra a continuación.

Estudio del tiempo de maduración.

Los crudos de reacción mezclados bajo la relación Si/Al de 1,2, se sometieron a maduración de 24 y 120h a temperatura ambiente. Una vez finalizada la maduración, los crudos de reacción se sometieron a envejecimiento a 90°C por 0, 8, 16 y 24h. Para los crudos de reacción mezclados en una relación Si/Al 2,4, se les realizó un proceso de maduración a 24 y 48 horas. Posteriormente, se sometieron a envejecimiento por 0, 8, 16 y 24h. Cada uno de los productos obtenidos luego del envejecimiento, se filtraron, se lavaron con agua desionizada y se secaron a 90°C. Los sólidos se denominaron DE1, DE2, DE3 y DE4 para la relación Si/Al 1,2 y maduración de 24h siguiendo la secuencia de los tiempos de envejecimiento; mientras que para la maduración 120h se nombraron, DE5, DE6, DE7 y DE8. Los sólidos con relación 2,4 y 24h de maduración se denominaron ADE1, ADE2, ADE3 y ADE4 y los de 48 horas de maduración ADE5, ADE6, ADE7 y ADE8. Todos los materiales sintetizados se caracterizaron por DRXP.

2.8 Pruebas de intercambio iónico

Para las pruebas de intercambio iónico se prepararon tres soluciones de 2L de Níquel, Cobre y Cadmio a 1000mg/L, partiendo de nitrato de níquel, nitrato de cobre y nitrato de cadmio.

Intercambio catiónico de la zeolita LTA-Na.

Se tomaron tres muestras de 0,1000g de la muestra de zeolita sintetizada LTA-3, se sometieron a un tratamiento de secado a 300°C por 3h en atmósfera de argón. Transcurrido este tiempo, el material se llevó a 50°C, luego, se mezcló con 26,9mL de cada uno de los nitratos de níquel, cobre y cadmio, para luego

tomar una alícuota de 300µL de la solución cada 30 minutos hasta completar 2h y 30 minutos. Cada una de las alícuotas se analizó por AA para cada metal (Cu, Ni y Cd). El procedimiento anterior se repitió para las muestras LTA-6 y LTA-9.

Intercambio de la zeolita FAUJASITA NaX.

Se tomaron tres muestras de 0,1000g de la muestra de zeolita sintetizada ADE1, la zeolita se sometió a un tratamiento de secado a 300°C por 3h en atmósfera de argón. Transcurrido este tiempo, el material se llevó a 50°C y luego se mezcló con 39,9mL de cada uno de los nitratos de níquel, cobre y cadmio. Finalmente, se tomaron alícuotas de 300µL de la solución cada 30 minutos hasta completar 2h y 30 minutos. Cada una de las alícuotas se analizó por AA para cada metal (Cu, Ni y Cd). El procedimiento anterior se repitió para las muestras ADE2, ADE3 y ADE4.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de la diatomita

Microscopía Electrónica de Barrido

Mediante Microscopía Electrónica de Barrido se encontró que la especie de diatomeas más abundante en la muestra, pertenece a la clase de diatomeas céntricas del orden *Aulacoseirales*, más específicamente la especie *Aulacoseira granulata*. En la **Figura 1a** se puede apreciar la forma cilíndrica y porosa de la frústula, y en la **Figura 1b** se observa que poseen valvas circulares, las cuales se unen mediante espinas que se encuentran en el borde (**Naranjo *et al.*, 2007; Oliva *et al.*, 2005**).

Aunque en menor proporción, se estableció que en la muestra objeto de estudio hay presencia de otros dos tipos de diatomeas pertenecientes a la clase de diatomeas *penadas con rafe*, más específicamente las especies *Navicula Radiosa* y *Pinularia cf* (**Naranjo *et al.*, 2007; Oliva *et al.*, 2005**), como se puede apreciar en la **Figura 2**.

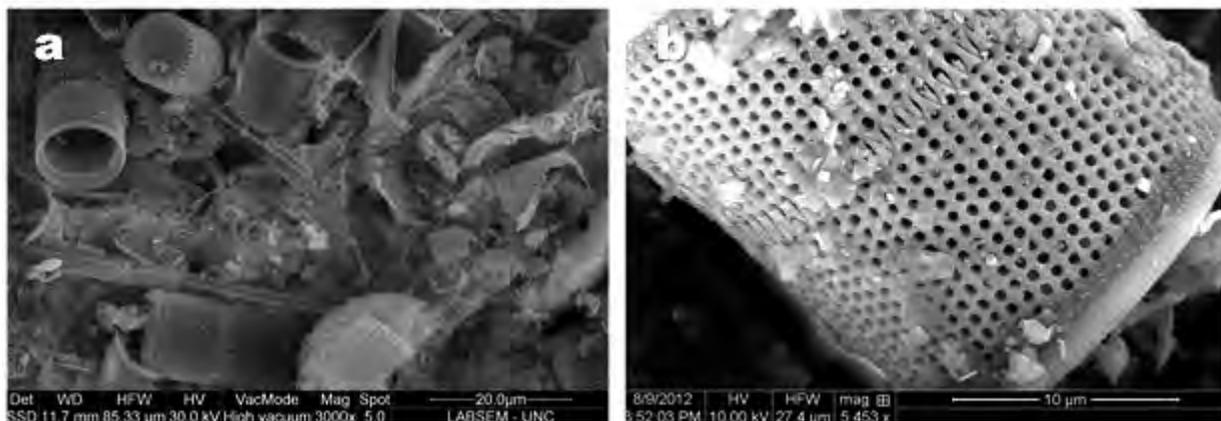


Figura 1. Imágenes por microscopía electrónica de barrido de la diatomita.



Figura 2. Diferentes especies de diatomeas fósiles identificadas. a) *Aulacoseira granulata*, b) *Navicula Radiosa*, c) *Pinularia cf.*

Análisis Elemental

A partir del análisis elemental por fluorescencia de rayos X de la diatomita, fue posible conocer la composición del material expresada en porcentaje en peso, indicando que sus componentes mayoritarios, son silicio, aluminio e hierro, los cuales presentados como óxidos están del orden de 71,853, 21,264 y 3,191% en peso, respectivamente. Además, se evidencia la presencia de los elementos potasio, titanio, calcio y magnesio entre otros, en menores proporciones. De acuerdo con estos porcentajes, la diatomita se clasifica como un material puzolánico de clase N según la norma ASTM C618, ya que la suma de los porcentajes de sus componentes mayoritarios (SiO_2 , Al_2O_3 y Fe_2O_3) supera el 70%, además, su contenido de azufre es inferior al establecido por la norma el cual debe ser menor al 4%.

El alto contenido silicio (expresado como SiO_2), aproximadamente del 71,853% en peso del material, hace evidente el potencial de la tierra de diatomáceas como fuente de silicio para su uso como precursor en la síntesis de materiales zeolíticos, ya sea en su forma natural ó modificada después de la extracción de cationes presentes en la misma (Liu *et al.*, 2014; Wajima T. & Munakata K., 2012; Shan *et al.*, 2004).

Caracterización Mineralógica de la diatomita

Análisis Cualitativo

Mediante el análisis cualitativo de fases cristalinas, se estableció la presencia de las fases *Moscovita* PDF 85-2147, *Caolinita* PDF 78-1996, *Cuarzo* PDF 85-0794, *Anatasa* 84-1285 y *Vermiculita* 76-0847. Además, se destaca la presencia de una elevación del ruido de fondo en la región de 2,9 a 4,6Å, correspondiente al Ópalo, material amorfo de silicio presente en la muestra (Naranjo *et al.*, 2007). El resultado del análisis cualitativo se presenta en la **Figura 3**. A partir del anterior resultado, se puede inferir que todas las fases cristalinas presentes diferentes de la *Anatasa*, hacen parte de la fuente de silicio en el material, además que el aporte de aluminio en la diatomita, es dado principalmente por la *Caolinita* y la *Vermiculita*.

Análisis cuantitativo

A partir de la cuantificación de las fases cristalinas en la muestra, se evidenció la presencia de una cantidad significativa de cuarzo, muy posiblemente debido a que la fuente de agua del yacimiento de diatomita tenía baja concentración de sílice o quizás por causa de fenómenos de envejecimiento del ópalo (Alonso-Zarza, 2010). Los resultados obtenidos del refinamiento del perfil de difracción por mínimos cuadrados empleando el Software comercial RIQAS, usando como patrón el *Corindón* PDF 73-1512, muestran que la diatomita presenta 40,1 % de material amorfo, 22,7 % de *Muscovita*, 20,1 % de *Caolinita*, 15,8 % de *Cuarzo* y 1,20 % de *Vermiculita*. El contenido de *Anatasa* en la diatomita no es cuantificable, debido a la baja proporción en la que se encuentra dentro del material, por lo que se reporta dentro del material amorfo. Aunque según el análisis cuantitativo, el 40,1% de la muestra de diatomita objeto de estudio corresponde a material amorfo, esto no necesariamente indica una falta de ordenamiento interno de parte de los átomos que conforman dicha estructura, muy probablemente el tamaño de los cristales de estos sólidos es muy pequeño y no son detectables por Difracción de Rayos-X de Muestras policristalinas.

3.2 Tratamientos previos a la síntesis de la zeolita

Calcinación

Con la incineración de la muestra, se lograron eliminar los compuestos orgánicos volátiles presentes en la diatomita y parte del agua de constitución de los minerales presentes en el material, correspondientes a aproximadamente el 9% del peso inicial de la muestra sólida. Se puede inferir que después de la calcinación, la diatomita ha sufrido transformaciones cristalográficas en donde su estructura pierde iones hidroxilo (Ghosh *et al.*, 2004) y pasa de un estado cristalino a un estado amorfo, en el cual sus componentes son más reactivos (Chaisena and Rangriwatananon, 2004; Rodríguez *et al.*, 2005; Yilmaz and Ediz, 2008), debido a la falta de ordenamiento interno de los átomos constituyentes de cada mineral.

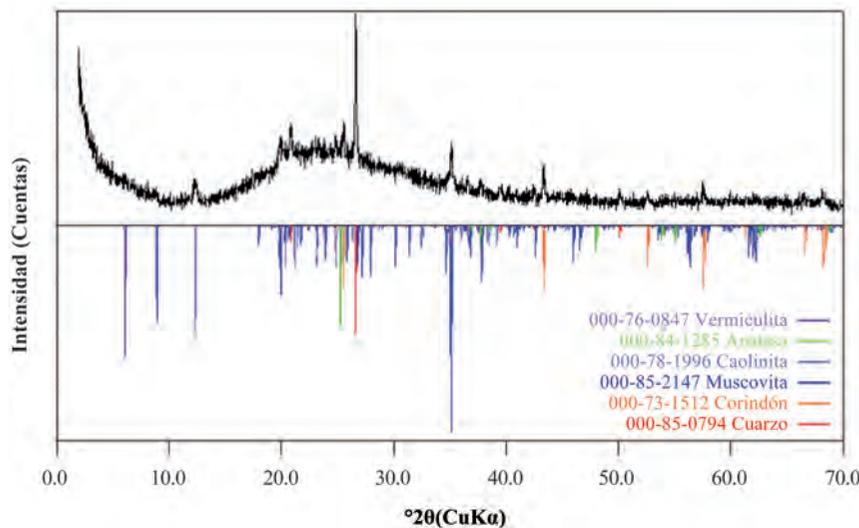


Figura 3. Perfil de difracción de rayos X de la diatomita.

Lixiviación

Después de realizado el tratamiento ácido bajo las condiciones anteriormente expuestas, fue posible reducir gran parte de los cationes presentes en la muestra de diatomita, diferentes al silicio. En la **Tabla 2** se muestran los resultados de AA para aluminio e hierro en los filtrados obtenidos tras cada uno de los procesos de digestión. Todos los filtrados se redujeron hasta un volumen de 19mL. De lo expuesto en la **Tabla 2** se puede evidenciar que la extracción de la secuencia 3, es la que mayor cantidad de aluminio retira (9099,0ppm), mientras que para el caso del hierro (2082,6ppm) es la secuencia 13 la que elimina la mayor proporción. Además, de las tres soluciones ácidas la digestión más efectiva para retirar los iones de hierro y aluminio es la de 4% HCl-2% H₂O₂ p/v. Lo anterior se debe a la alta dureza que presenta el cloruro, comparada con la del nitrato y el sulfato, los cuales al tener su carga distribuida entre tres y cuatro oxígenos respectivamente, se hacen más polarizables, y como los cationes de Fe (II, III) y el Al(III) presentan una dureza media comparada con la del Si(IV), reaccionan para formar sales que tienden a ser solubles al constituir una reacción catión-anión del tipo Blando-Duro (**Bernal J.P. & Railsback L.,2008**).

Extracción del silicio como silicato de sodio

Para extraer el silicato, se tomó el sólido tratado con la secuencia 3, debido a que el aluminio es el mayor contaminante presente en la diatomita natural, la cual, al aplicar la secuencia 3 partiendo de 4,000g de diatomita calcinada, se llega a 3,109g de diatomita tratada, lo que indica que con las lixiviaciones el material presenta una reducción de masa del 22,28% con la composición descrita en la **Tabla 3** lo anterior permite establecer que el porcentaje de extracción

del Al₂O₃ y Fe₂O₃ (contaminantes mayoritarios) es del 57,937 y 70,844% respectivamente, lo cual se traduce en una concentración del SiO₂ en la diatomita modificada del 83,812%, logrando aumentar la concentración en el material un 11,959% empleando soluciones diluidas de ácidos, este resultado es mejor, que el obtenido por (**Rangriwatananon et al, 2008**), en los que se logra una concentración de SiO₂ en un diatomita modificada del 22,52%, pero empleando una solución de ácido sulfúrico del 58,8% p/v (6M) por 24h a 100°C y presión autógena, mientras que en el presente trabajo se logran resultados semejantes empleando soluciones diluidas (**1.** HCl 4% p/v-H₂O₂ 2% p/v; **2.** HNO₃ 2% p/v; **3.** H₂SO₄ 2% p/v) en un término de 18h a 90°C, lo que hace el proceso de tratamiento más económico y ambientalmente más beneficioso, teniendo en cuenta la dificultad para sintetizar y obtener el H₂SO₄ a nivel industrial (**Davenport et al, 2006**).

Después de someter los 4,000g de diatomita modificada al tratamiento alcalino se obtuvo 1,000g de sólido con la composición descrita en la columna 5 de la **Tabla 3**, resultados que permiten afirmar que el porcentaje de solubilización del SiO₂ fue del 90,004%, además se evidenció la fijación de sodio en la muestra (en un 10401,25%), esto indica que en el material sólido el SiO₂ y el Al₂O₃ que no se solubiliza, reacciona con la base adicionada generando aluminosilicatos, proceso que es usual en el tratamiento alcalino de minerales (**Liu et al, 2004**), tal como lo confirma el análisis cualitativo de DRX, en el que se evidenció la presencia del aluminosilicato *Zeolita Theta-1* PDF-37-357. Otras fases encontradas fueron la *Illita -2 M* PDF-26-911, *Oxido de titanio (TiO₂)* PDF-77-443 y *Oxido de silicio* PDF-77-1060 (SiO₂). Por otro lado, la concentración de la solución de silicato a partir de la diatomita modificada fue de 24017,60 ppm de Si.

Tabla 2. Resultados de AA de los filtrados generados en la lixiviación de la diatomita natural.

Número	Soluciones Extractoras	Concentración Hierro en 19mL $\pm 0,1$ ppm	Concentración Aluminio en 19mL $\pm 0,2$ ppm
1	1. HCl 4% p/v - H ₂ O ₂ 2% p/v	1027,0	3867,0
2	1. HCl 4% p/v - H ₂ O ₂ 2% p/v; 2. HNO ₃ 2% p/v	1052,0	4012,0
3	1. HCl 4% p/v-H ₂ O ₂ 2% p/v; 2. HNO ₃ 2% p/v; 3. H ₂ SO ₄ 2% p/v	1074,0	9099,0
4	1. H ₂ SO ₄ 2% p/v	427,0	2957,0
5	1. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 2. HNO ₃ 2% p/v	1083,0	4094,0
6	1. HNO ₃ 2% p/v	60,5	3185,0
7	1. HNO ₃ 2% p/v; 2. HCl 4% p/v - H ₂ O ₂ 2% p/v	1515,5	5915,0
8	1. HCl 4% p/v - H ₂ O ₂ 2% p/v; 2. H ₂ SO ₄ 2% p/v	1512,4	4349,3
9	1. HNO ₃ 2% p/v; 2. H ₂ SO ₄ 2% p/v	688,3	6370,0
10	1. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 2. HCl 4% p/v-H ₂ O ₂ 2% p/v	1625,3	5459,0
11	1. HNO ₃ 2% p/v; 2. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 3. HCl 4% p/v- H ₂ O ₂ 2%p/v	1715,3	7534,0
12	1. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 2. HCl 4% p/v-H ₂ O ₂ 2% p/v; 3. HNO ₃ 2% p/v	1690,0	5823,0
13	1. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 2. HNO ₃ 2% p/v; 3. HCl 4% p/v- H ₂ O ₂ 2%p/v	2082,6	4894,0
14	1. HCl 4% p/v-H ₂ O ₂ 2% p/v; 2. H ₂ SO ₄ 2% p/v; 3. HNO ₃ 2% p/v	1560,0	4549,5
15	1. HNO ₃ 2% p/v; 2. HCl 4% p/v-H ₂ O ₂ 2% p/v; 3. H ₂ SO ₄ 2% p/v	1569,1	6155,2

Tabla 3. Análisis elemental por fluorescencia de rayos X (FRX) de la diatomita natural y modificada.

Compuesto	Diatomita Natural (DN)	Diatomita Modificada (DM)	Porcentaje de Extracción (%E)	Diatomita después de la extracción con NaOH 3M (DE)	Porcentaje de Solubilización (%S)
	Porcentaje (p/p)	Porcentaje (p/p)	Porcentaje (p/p)	Porcentaje (p/p)	Porcentaje (p/p)
SiO ₂	71,853%	83,812%	9,339%	33,374%	90,004%
Al ₂ O ₃	21,264%	11,504%	57,937%	27,376%	40,508%
Fe ₂ O ₃	3,191%	1,197%	70,844%	4,642%	3,049%
K ₂ O	1,471%	1,322%	41,251%	5,287%	0,019%
TiO	0,772%	0,686%	30,933%	2,534%	7,653%
CaO	0,483%	0,000%	100,000%..	0,000%	0,000%
MgO	0,438%	0,163%	71,066%	0,18%	72,546%
BaO	0,080%	0,060%	41,688%	0,12%	50,000%
ZrO ₂	0,017%	0,014%	35,970%	0,031%	44,643%
SO ₃	0,148%	0,066%	65,328%	0,040%	84,848%
SrO	0,006%	0,000%	100,000%..	0,000%	0,000%
P ₂ O ₅	0,170%	0,040%	81,706%	0,000%	100,000%..
RbO ₂	0,006%	0,005%	35,208%	0,007%	29,52%
Na ₂ O	0,050%	0,060%	6,700%	25,203%	-10401,25%, fijado 0,252g
ZnO	0,010%	0,000%	100,000%..	0,000%	0,000%
V ₂ O ₅	0,031%	0,004%	89,968%	0,000%	100,000%..
MnO	0,010%	N.C	100,00%....	0,000%	0,000%
H ₂ O	0,000%	1,067%	Fijaron 0,033g	2,206%	Fijaron 0,023g

Pre-tratamiento hidrotérmico de laminas de aluminio

Al tomar 20,000g de la muestra de anillas calcinadas y someterlas al tratamiento básico, se obtuvieron 12,730g de una muestra grisácea, la cual al realizar el análisis por DRX no permitió identificar ninguna fase cristalina, su análisis elemental se muestra en la **Tabla 4**. lo anterior indica que el porcentaje de solubilización alcalina del aluminio es del 91,15%, permitiendo obtener una solución con una concentración de aluminio de 58103,75ppm.

Síntesis de la zeolita LTA.

Al tomar tres autoclaves de 65mL y agregarles a cada uno 35,73mL de solución silicato de 24017,60ppm de silicio y 14,20mL de solución de aluminato de 58103,75ppm de aluminio y realizando el estudio de tiempo de envejecimiento de 3, 6 y 9h se obtuvieron los perfiles de difracción de Rayos-X descritos en la **Figura 4**. A partir de los patrones de difracción se puede establecer la presencia de una fase cristalina correspondiente a la zeolita LTA-Na. Los espectros de IR-ATR para los tres productos presentaron frecuencias de vibración típicas de la zeolita LTA, las cuales están representadas por bandas de estiramientos Al-O localizadas

en la región entre 1250-950 cm^{-1} y 770-630 cm^{-1} , bandas en la región entre 650-500 cm^{-1} relacionadas con la presencia de dobles anillos en la estructura y bandas entre 500-420 cm^{-1} que corresponden a la vibración de los enlaces Si-O y Al-O del tetraedro interno (**Van Oers *et al.*, 2014**). Por lo anterior, se puede deducir que los picos agudos centrados entre 555 y 463 cm^{-1} revelan un producto de síntesis de elevada cristalinidad (**Gross *et al.*, 2014**). Del ensayo de calorimetría de Barrido Diferencial (CBD), se estableció que la temperatura de descomposición del material es aproximadamente 300°C.

Síntesis de la zeolita tipo Faujasita NaX empleando el silicato de sodio extraído de la diatomita.

Estudio del tiempo de maduración en la relación 1,2.

Los estudios de DRXP para las muestras obtenidas cuando la relación Si/Al fue de 1,2 y el crudo de reacción se sometió a 24h de maduración y tiempos de envejecimiento de 0, 8, 16 y 24h (DE1, DE2, DE3 y DE4), mostraron que la fase cristalina que se forma en mayor proporción es la zeolita LTA con pequeñas trazas de la zeolita Faujasita NaX, lo cual demuestra que bajo este grado de saturación y con la

Tabla 4. Análisis elemental por fluorescencia de rayos X (FRX) de las anillas.

Elemento	Anillas de Aluminio (AAI)	Anillas calcinadas (AC)	Residuo extracción (RE)	Porcentaje de Solubilización
	Porcentaje (p/p)	Porcentaje (p/p)	Porcentaje (p/p)	$\%S = \left(1 - \frac{12,73g * \%RE}{20,00g * \%AC}\right) * 100\%$
Al	92,65%	64,97%	9,03%	91,15%
Mg	4,42%	28,48%	4,58%	89,76%
Si	1,39%	3,10%	0,12%	97,54%
Fe	0,29%	1,03%	1,28%	20,90%
Mn	0,36%	0,65%	1,69%	1,10%
Ca	0,16%	0,50%	0,07%	91,09%
Na	0,14%	0,43%	4,29%	-535,020%, Se fijaron 0,46g
K	0,10%	0,24%	44 ppm	88,33%
Cl	0,13%	0,16%	0,00%	100,00%
S	0,09%	0,12%	50 ppm	73,48%
C	0,00%	0,11%	0,00%	100,00%
P	0,15%	0,07%	28 ppm	74,54%
Zn	0,02%	0,07%	0,06%	45,44%
Ga	0,01%	0,02%	0,02%	36,35%
Ni	70ppm	0,02%	0,04%	4,53%
V	0,01%	0,01%	0,02%	4,53%
Ti	0,01%	0,01%	0,03%	4,53%
Cr	76ppm	75 ppm	0,00%	100,00%..
Zr	11ppm	27 ppm	0,00%	100,00%..

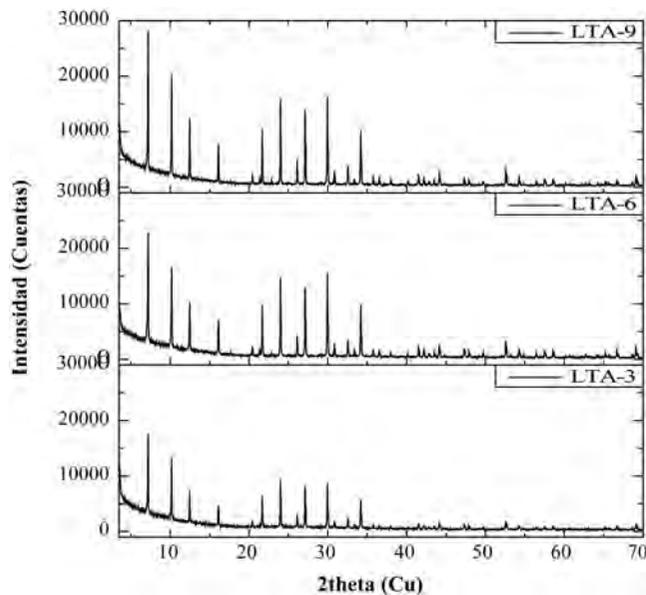


Figura 4. Difractogramas de la zeolita LTA-Na sintetizada, (LTA-3, 3h de envejecimiento; LTA-6 3h de Envejecimiento y LTA-9, 9h de Envejecimiento).

variación del tiempo de envejecimiento no se logra obtener la fase de la NaX como fase mayoritaria. Con el fin de establecer la influencia de la maduración, se estudiaron los perfiles de las muestras sometidas a 120h de maduración y envejecimientos de 0, 8, 16 y 24h (DE5, DE6, DE7 y DE8), los cuales, mostraron la presencia de fases zeolitas de la LTA sin la presencia de ninguna traza de Faujasita NaX.

Por lo anterior, se concluye que no es posible obtener la fase de Faujasita NaX en alta proporción cuando la relación en el crudo de reacción es de 1,2, empleando una solución de 24017,60ppm de silicato de sodio derivada de diatomita y una solución de 58103,75ppm de aluminio solubilizado. Por lo cual, se planteó aumentar la relación Si/Al con el fin de saturar el sistema con silicio y así favorecer la formación de cajas más abiertas, facilitando la formación de fases FAUJASITA NaX, lo anterior se fundamenta en que al haber más silicio en el crudo mayor es la capacidad de direccionamiento de los tetraedros de aluminio (Patrikeev *et al*, 2007).

Relación Si/Al 2,4 en el crudo de reacción y 24 horas de maduración.

Los perfiles obtenidos cuando el crudo de reacción de la síntesis se mantuvo en una relación Si/Al de 2,4 y el proceso de maduración se realizó en 24h utilizando tiempos de envejecimiento de 0, 8, 16 y 24h (ADE1, ADE2, ADE3, ADE4), muestran que la fase cristalina mayoritaria es la Faujasita NaX con la zeolita LTA-Na en menor proporción. Al aumentar el tiempo de maduración a 48h en la síntesis de

estos materiales y aplicar los envejecimientos de 0, 8, 16 y 24h (ADE5, ADE6, ADE7 y ADE8), se evidenció que la fase del tipo Faujasita NaX se forma con menos contaminantes y la fase LTA-Na se forma en muy baja proporción, (Ver **Figura 5**).

La **Figura 6**, de la imagen correspondiente a ADE6 muestra la aglomeración de cristales de diferente tamaño alrededor de un cristal de un tamaño superior, de lo que se podría suponer que la fase correspondiente a Faujasita NaX se encuentra en mayor proporción rodeada por pequeños cristales de LTA. En el sólido ADE8 los cristales observados son de menor tamaño que los observados en el sólido ADE6, notándose que la mayoría de cristales presentes son de diferentes tamaños sustentando los resultados obtenidos por DRXP en donde se evidencia 4 fases para esta muestra.

3.5 Pruebas de intercambio iónico

Pruebas de intercambio en la diatomita natural y modificada.

Al someter muestras de 0,100g de diatomita natural y modificada a 40,00mL de los nitratos de níquel, cobre y cadmio disueltos a 1000mg/L, no se presentaron cambios significativos en las concentraciones de las disoluciones mezcladas con los materiales diatomáceos. Por lo que, se puede afirmar que la diatomita natural y modificada bajo la secuencia tres, no presenta fijación o intercambio de los cationes Ni^{2+} , Cu^{2+} y Cd^{2+} con nitrato como contra anión.

Pruebas de intercambio con las zeolitas LTA-Na y FAUJASITA NaX.

Al someter cada una de las zeolitas sintetizadas a sus respectivas soluciones de nitrato de níquel, cobre y cadmio, y analizar las alícuotas tomadas cada medio hora por AA se obtuvieron las graficas mostradas en la **Figura 7**.

De la **Figura 7**, se puede afirmar que todos los materiales presentan su máxima capacidad de intercambio en los primeros 30 minutos para la mayoría de las zeolitas, lo cual, representa una ventaja en posibles procesos de purificación de aguas contaminadas con cationes como cobre y cadmio, al requerir tiempos bajos de exposición de las soluciones con el aluminosilicato. Por otro lado, se puede establecer que las zeolitas sintetizadas presentan mayor capacidad de intercambio para los cationes cobre (II) y cadmio (II), y baja capacidad de intercambio para el catión níquel (II), tal como se muestra en la **Tabla 5**.

A partir de los datos mostrados en la **Tabla 5** se puede afirmar que las zeolitas con mayor capacidad de fijación de cationes cadmio son la fase FAUJASITA NaX con trazas de LTA-NaX, la cual logra fijar $3,4 \times 10^{-3}$ mol de Cd^{2+} /g de material zeolítico, para el catión níquel la mezcla de la muestra ADE6 fija $2,3 \times 10^{-3}$ mol de Ni^{2+} /g. Para el catión cobre se fija $4,8 \times 10^{-3}$ mol de

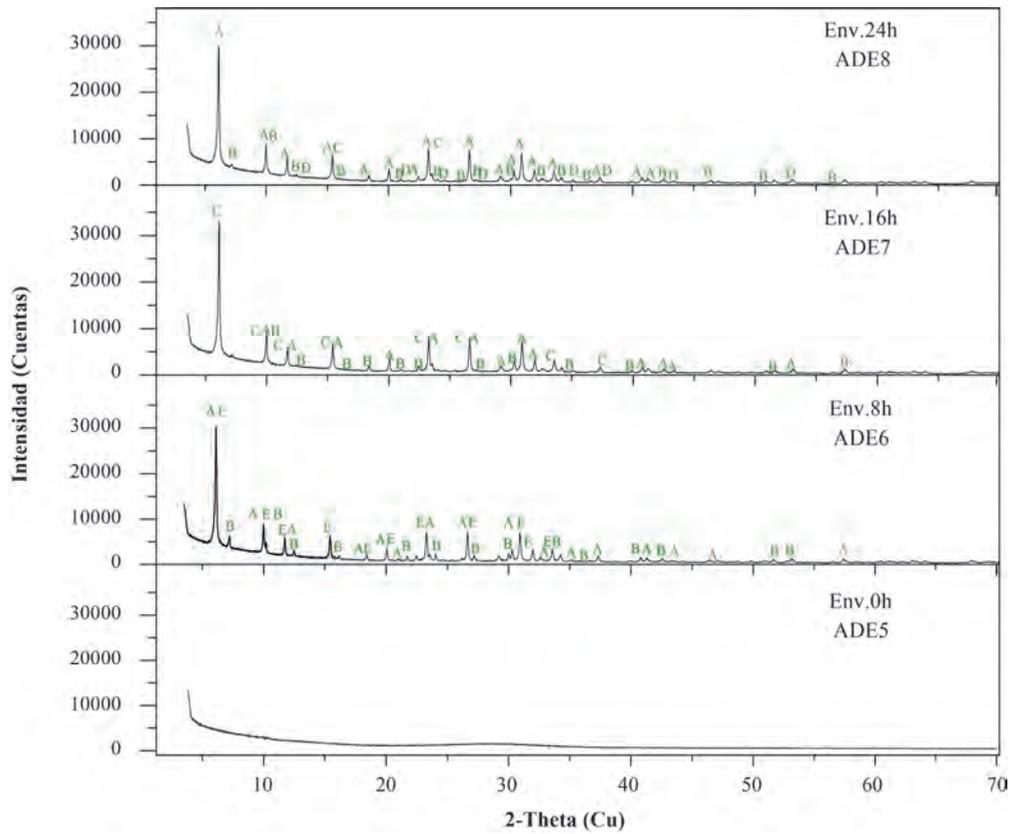


Figura 5. Comparación de los perfiles de DRX con relación Si/Al 2,4, 48h de maduración y variación en los tiempos de envejecimiento, A) $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (FAU NaX, PDF 38-0237), B) $\text{Na}_9\text{Al}_9\text{Si}_9\text{O}_{384}$ (LTA, PDF 39-0223), C) $\text{Na}_{56.6}(\text{Na}_{42.2})\text{Al}_{92}\text{Si}_{100}\text{O}_{384}$ (FAU NaX, PDF 88-0190), D) $\text{Na}_9\text{Al}_9\text{Si}_9\text{O}_{384} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (LTA, 39-0222) y E) $\text{Na}_{88}\text{Al}_{88}\text{Si}_{104}\text{O}_{384} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (FAU NaX, PDF 70-2168).

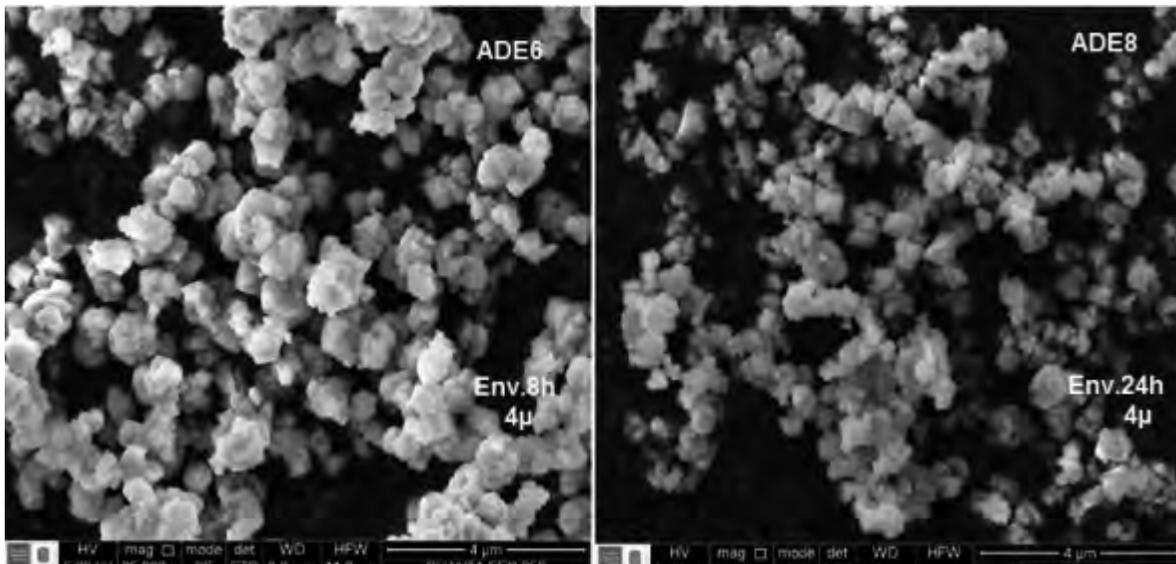


Figura 6. Microscopía electrónica de barrido de la serie con relación Si/Al 2,4 y 48 horas de maduración a partir de la diatomita a 8 (ADE6) y 24 horas de envejecimiento (ADE8).

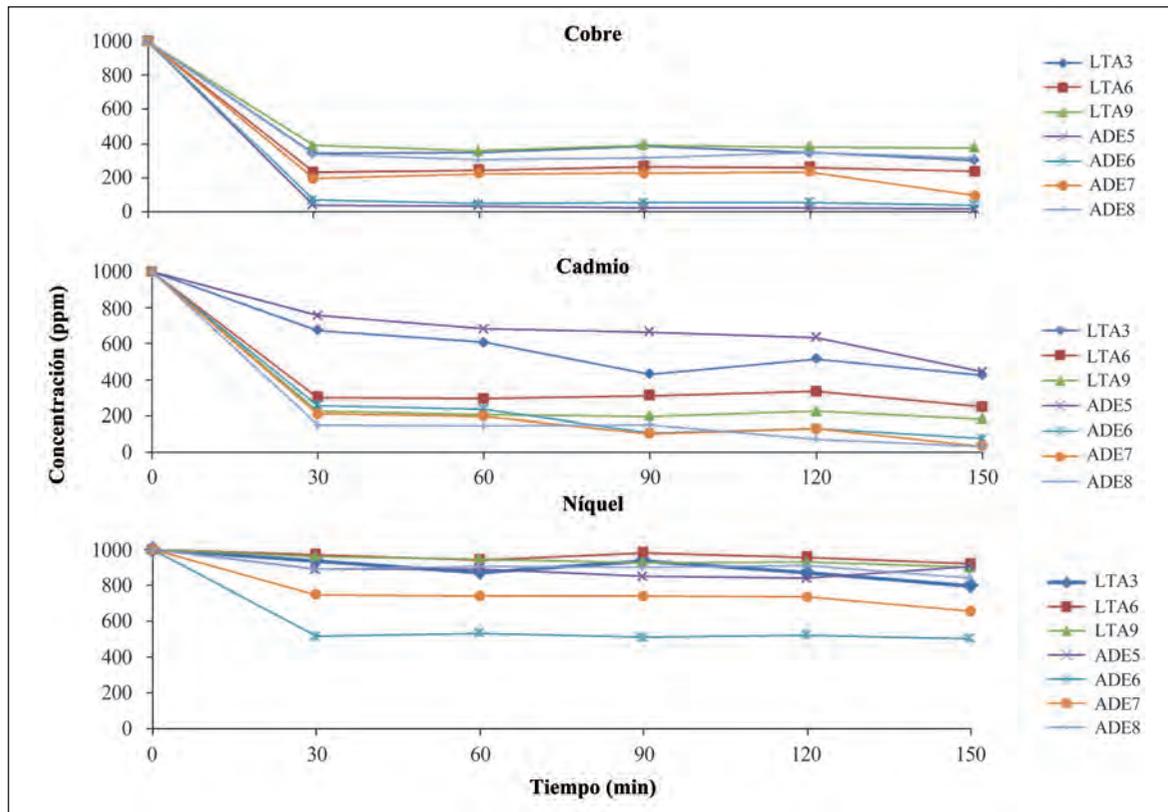


Figura 7. Curvas intercambio iónico para las zeolitas LTA-Na y FAUJASITA NaX.

Tabla 5. Porcentaje de cationes retirados de la soluciones problema y moles fijadas en la zeolitas de Ni²⁺, Cu²⁺ y Cd²⁺.

Tiempo de Envejecimiento (horas)	Muestra	Cadmio (II)		Níquel (II)		Cobre (II)	
		% de Intercambio	Moles fijadas por cada 0,1g de zeolita	% de Intercambio	Moles fijadas por cada 0,1g de zeolita	% de Intercambio	Moles fijadas por cada 0,1g de zeolita
0	ADE5	55,44%	2,0X10 ⁻⁴	9,25%	4,5x10 ⁻⁵	98,22%	4,2X10 ⁻⁴
8	ADE6	92,23%	3,3X10 ⁻⁴	49,62%	2,3x10⁻⁴	95,96%	4,1X10 ⁻⁴
16	ADE7	96,39%	3,4X10⁻⁴	34,52%	1,6x10 ⁻⁴	90,37%	3,8X10 ⁻⁴
24	ADE8	96,77%	3,4X10⁻⁴	15,75%	7,2x10 ⁻⁵	68,46%	2,9X10 ⁻⁴
3	LTA3	57,26%	2,0X10 ⁻⁴	20,15%	1,4x10 ⁻⁴	69,58%	4,3 X10 ⁻⁴
6	LTA6	74,79%	2,6X10 ⁻⁴	7,90%	5,4x10 ⁻⁵	76,77%	4,8 X10⁻⁴
9	LTA9	81,44%	2,9X10 ⁻⁴	9,85%	6,7x10 ⁻⁵	62,50%	3,9 X10 ⁻⁴

Cu²⁺/g de zeolita LTA-Na. Los anteriores resultados son mejores a los publicados por Pehlivan (Pehlivan & Altun, 2004), donde los autores reportan que por cada 2,4x10⁻³mol de Cd²⁺/g de resina DOWEX 50W (4,8mequivalente por 1g de resina), lo cual representa el 29,41% menor al resultado reportado en este trabajo, la misma tendencia se observa para el catión cobre, en el que los autores reportan una fijación de 2,3x10⁻³mol de Cu²⁺/g de resina DOWEX 50W (4,6mequi/g de resina), dato que representa una fijación menor en un

52,08% a la fijación reportada para la muestra LTA-6 en la Tabla 5. Para el catión níquel los resultados reportados en este trabajo son iguales a los de Pehlivan con la resina DOWEX 50W. Otro estudio referencia para el níquel es el reportado por Karthika & Sekeur en el 2013, en el que los autores estudian dos tipos de resinas modificadas para extraer Ni²⁺ de soluciones acuosas, reportando que la capacidad de intercambio es de 6,0x10⁻⁴mol de Ni²⁺/g y 6,80x10⁻⁴mol de Ni²⁺/g para las resinas Amberlite IRC86 y Amberlite 200C

respectivamente, al comparar estos datos con la capacidad de intercambio de la muestra ADE6 son inferiores en más de un 60%. Lo anterior evidencia la buena capacidad de intercambio de los materiales sintetizados con respecto a las resinas.

Al comparar el comportamiento de las zeolitas LTA con respecto a las FAUJASITAS NaX se puede establecer que la mezcla zeolita FAUJASITA NaX y trazas de LTA presenta mayor capacidad de absorción catiónicas de cadmio y níquel, en el caso del catión cobre, el efecto es contrario, la LTA-Na presenta mayor capacidad de intercambio.

Al medir los perfiles de Difracción de Rayos X de Muestras Policristalinas de cada uno de los materiales zeolíticos después de exponerlos a los intercambios catiónicos, mostraron que las fase zeolíticas se conservan después del intercambio, pero pierden cristalinidad lo que se debe a la reorganización catiónica, la cual afecta los enlaces de condensación en la red cristalina (**Salam K., Al-Nasri & SM Holmes, 2013**) para formar fases características a la inclusión de los metales, por ejemplo, para la ADE7 se registraron las siguientes fases $Cd_{48.96}Si_{104}Al_{88}O_{384} \cdot (H_2O)_{232.64}$, $Cd_{57.3}(OH)_{22.6} \cdot (Al_{92}Si_{100}O_{384}) \cdot (H_2O)_{3.4}$, $Cd_6Al_{12}Si_{12}O_{48}(H_2O)_6$, $Cd_{55.1}(Al_{92}Si_{100}O_{384})(OH)_{18.2} \cdot (H_2O)_{113.9}$, $Na_8Al_{9.7}Si_{26.3}O_{72} \cdot (Cd_{46}(Al_{92}Si_{100}O_{384}))(C_2H_4)_{29.5}$, $Cd_{5.8}Si_{12}Al_{12}O_{48}(H_2O)_{2.3}$, $Na_{87.30}(Al_{88}Si_{104}O_{384}) \cdot (H_2O)_{32.64}$, $Cd_6(Si_{12}Al_{12}O_{48})$,

5. Conclusiones

A partir de la diatomita con especie diatomácea *Aulacoseira granulata* en mayor proporción y con SiO_2 , Al_2O_3 y Fe_2O_3 en un 71,853%, 21,264% y 3,191% respectivamente, se logra establecer un proceso de lixiviación en secuencia empleando las soluciones **1.** HCl 4% p/v- H_2O_4 2% p/v, **2.** HNO_3 2%, p/v y **3.** H_2SO_4 2% p/v a 90°C, 750rpm, durante 6h, permite concentrar el SiO_2 en la muestra sólida (Diatomita modificada) en un 11,959%, extrayendo el 57,937% de Al_2O_3 y el 70,844% de Fe_2O_3 presentes en la diatomita natural.

A partir de 4g de diatomita modificada sometidas a un tratamiento hidrotérmico con NaOH 3M a 90°C y 750rpm, se logra obtener una solución con 24017,60ppm de Silicio (solubilización con un rendimiento del 90,004%), la cual, mezclada con la solución a 58103,75ppm de aluminio preparada a partir de las uñas de aluminio post-consumo bajo un tratamiento alcalino con NaOH 3M (rendimiento de la reacción del 91,15%), en una relación Si/Al de 1,0 (envejecimiento de 3, 6 y 9h a 90°C) y 2,4 (maduración 48h y 16h de envejecimiento a 90°C), permitió obtener las zeolitas LTA-Na y FAUJASITA NaX con pequeñas trazas de LTA-Na respectivamente. Las zeolitas sintetizadas mostraron buena capacidad de fijación de los cationes Cu^{2+} , Ni^{2+} y Cd^{2+} , evidenciando que la mezcla de zeolitas FAUJASITA NaX con trazas de LTA-Na tiene una capacidad de fijación de $2,3 \times 10^{-3}$ mol/g de Ni^{2+} y $3,4 \times 10^{-3}$ mol/g para el Cd^{2+} , mientras que la zeolita LTA-Na presenta una capacidad de fijación del $4,8 \times 10^{-3}$ mol/g de Cu^{2+} , mostrando el potencial de estos materiales para la extracción de metales pesados.

6. Agradecimientos

Los autores agradecen a la Vicerectoría de Investigación y Extensión (VIE), a los laboratorios de SEM, RMN y RX del Parque Tecnológico Guatiguará, a Colciencias y la Universidad Industrial de Santander por la beca Jóvenes Investigadores 2013 convocatoria 617.

7. Bibliografía

- Aleksandrov Y., Tsyganova E. & Pisarev A.** 2003, Reaction of Aluminum with Dilute Aqueous NaOH Solutions, **RUSS. J. GEN. CHEM.** **73** (689-694).
- Alonso-Zarza A.M.** 2010. Petrología sedimentaria. Notas de Teoría. Rocas Silíceas. **REDUCA Serie de Petrología Sedimentaria**, p. (113-116).
- Bahramian B., Ardejani F., Mirkhani V. & Badii K.,** 2008. Diatomite-supported manganese Schiff base: An efficient catalyst for oxidation of hydrocarbons, **APPL. CATAL. A-GEN.** **345** (97-103).
- Bernal J.P. & Railsback L.,** 2008, Introducción a la tabla periódica de los elementos y sus iones para ciencias de la tierra. **REVISTA MEXICANA DE CIENCIAS GEOLÓGICAS.** **25** (2) (236-246).
- Borai E., Harjula R., Malinen L. & Paajanen A.,** 2009, Efficient removal of cesium from low-level radioactive liquid waste using natural and impregnated zeolite minerals, **J. HAZARD MATER.**, **172** (416-422).
- Chaisena A., & Rangswatananon K.,** 2004. Synthesis of sodium zeolites from natural and modified diatomite. **MATER LETT** **59** (12) (1474-1479).
- Danil A., El Gamouz A., Frangie S., Martínez V., Valiente L. & Webb O.,** 2012, Turning the volume down on heavy metals using tuned diatomite. A review of diatomite and modified diatomite for the extraction of heavy metals from water, **J. HAZARD MATER.**, **241-242** (14-31).
- Davenport W.G., King M.J., Rogers B., Weissenberger A.** 2006, Sulphuric Acid Manufacture, **SOUTHERN AFRICAN PYROMETALLURGY**, **1** (1-16).
- Gerengi H., Kocak Y., Jazdzewska A., Kurtay M. & Durgun H.,** 2013, Electrochemical investigations on the corrosion behaviour of reinforcing steel in diatomite- and zeolite-containing concrete exposed to sulphuric acid, **CONSTR. BUILD. MATER.** **49** (471-477).
- Ghosh B., Agrawal D.C., & Bhatia S.,** 1994. Synthesis of zeolite A from calcined diatomaceous clay: Optimization studies. **IND. ENG. CHEM RES.** **33** (9) (2107-2110).

- Gómez, J., Ovejero G. & Romero M.** (2001). Síntesis, caracterización y aplicaciones de las zeolitas básicas. TRABAJO DOCTORAL. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- Gross E., Shu X., Alayoglu S., Bechtel H., Martin M., Toste F. & Somorjai G.**, 2014. In Situ IR and X-ray High Spatial-Resolution Microspectroscopy Measurements of Multistep Organic Transformation in Flow Microreactor Catalyzed by Au Nanoclusters, *J. AM. CHEM. SOC.* **136** (9) (3624-3629).
- Hadjar H., Hamdi B., Jader M., Brendle J., Kessaïssia Z., Balard H. & Donnet J.B.**, 2008, Elaboration and characterisation of new mesoporous materials from diatomite and charcoal, *MICROPOR. MESOPOR. MAT.*, **107** (219-226).
- Herance, J., Marquet J. & Bourdelande J.**, 2005, Reactivos ocultos en aluminosilicatos: Reactividad y comportamiento en óptica no lineal. *Universidad Autónoma de Barcelona*, Barcelona, España. TESIS DOCTORAL.
- Hollman G.G., Steenbruggen G. & Janssen-Jurkovičová M.**, 1999. A two-step process for the synthesis of zeolites from coal fly ash. *FUEL* **78** (10), 1225-1230.
- Insung O., Ter Meulen U. & Langholz H.**, 1999. Use of diatomite filter aid residue in cattle feed. *Georg-August-University Göttingen*, Göttingen, Germany. Ph.D THESIS
- Karthika C. & Sekar M.**, 2013. Comparison studies of Adsorption Properties on Ni(II) Removal by Strong and Weak acid Cation-exchange Resins, *RES. J. CHEM. SCI.* **3** (3) (65-69).
- Kumar V., Matsuda M. & Miyake M.**, 2008, Sorption properties of the activated carbon-zeolite composite prepared from coal fly ash for Ni²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺ and Pb²⁺, *J. HAZARD. MATER.*, **160** (148-153).
- Liu D., Yuan W., Deng L., Yu W., Sun. H. & Yuan P.**, 2014, Preparation of porous diatomite-templated carbons with large adsorption capacity and mesoporous zeolite K-H as a byproduct, *COLLOID INTERFACE SCIENCE*, Accepted Manuscript.
- Liu H., Lu G., Guo Y., Guo Yun & Wang J.**, 2004. Effect of pretreatment on properties of TS-1/diatomite catalyst for hydroxylation of phenol by H₂O₂ in fixed-bed reactor. *CATAL. TODAY.* **93-95** (353-357).
- Lopez P.J., Desclés J., Allen A.E. & Bowler Ch.** 2005. Prospects in diatoms research. *CURR OPIN BIOTECH*, **16** (2) (180-186).
- Mohamedbaker H., & Burkitbaev, M.** 2009. Elaboration and Characterization of Natural Diatomite in Aktyubinsk/ Kazakhstan. *THE OPEN MINERALOGY JOURNAL* **3** (1) (12-16).
- Mohamedbark**, (2010). Diatomite: Its Characterization, Modifications and Applications. *ASIAN J MAT. SCI.* **2** (3) (121-136).
- Naranjo W., Gaviria S., & Manosalva S.** 2007. Mineralógica y Geoquímica de Diatomitas (Boyacá, Colombia). *GEOLOGÍA COLOMBIANA* **32** (77-88).
- Oliva M., Ramírez J., Garduño G., Cañéas J., & Ortega M.** 2005. Caracterización diatomológica de tres cuerpos de agua de los humedales de Jilotepec-Xitlahuaca, Estado de México. *HIDROBIOLÓGICA* **15** (1) (1-26).
- Patrikeev V.A., Pavlov M.L., Kutepov B.I., Makhmatkhanov R.A., Travkina., Sthestopal A.L. & Dzhemilev U.M.**, 2007. Crystallization of X-Type Zeolite from Concentrated Sodium Silicate and Aluminate Solutions. *BRIEF COMMUNICATIONS* **80** (3) (498-500).
- Pehlivan E. & Altun T.**, 2006, The study of various parameters affecting the ion exchange of Cu²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺, and Pb²⁺ from aqueous solution on Dowex 50W synthetic resin, *J. HAZARD. MATER.*, **B134** (149-156).
- Pozo M. & López M.J.**, 2004. Facies biosilíceas en el neógeno de la cuenca de madrid: origen e implicaciones sedimentológicas. *REVISTA DE LA SOCIEDAD GEOLÓGICA DE ESPAÑA* **17** (3-4) (229-248).
- Qiu W. & Zheng Y.**, 2009, Removal of lead, copper, nickel, cobalt, and zinc from water by a cancrinite-type zeolite synthesized from fly ash, *CHEM. ENG. J.*, **145** (483-488).
- Rangsrivatananon, K., Chaisena, A., & Thongkasam, Ch.** 2008. Thermal and acid treatment on raw natural diatomite influencing on synthesis of sodium zeolites. *JOURNAL OF POROUS MATERIALS* **15** (5) (499-5059).
- Rodríguez A., Romero J. & Castro E.** 2005. Comportamiento refractario de probetas de morteros conformadas con diatomitas como agregado mineral. *REVISTA COLOMBIANA DE QUÍMICA* **34** (2) (139-146).
- Salam K., Al-Nasri & SM Holmes**, 2013. Effect of Different Conditions on the Sorption Behavior of Co²⁺ Using Celatom-Zeolite Y Compisite, *MATER SCI ENG*, Vol. **7** N° **9** (1-7).
- Shan W., Zhang Y., Wang Y., Xia J. & Tang Y.**, 2004. Synthesis of Meso-/Macroporous Zeolite (Fe,Al)-ZSM-5 Microspheres from Diatomite, *CHEM LETT*, **33** (3) (270-271).
- Van Oers C.J., Góra-Marek K., Sadowska K., Mertens M., Meynen V., Datka J. & Cool P.**, 2014. In situ IR spectroscopic study to reveal the impact of the synthesis conditions of zeolite β nanoparticles on the acidic properties of the resulting zeolite, *CHEM. ENG. J.* **237** (372-379).
- Villavicencio C., Molina A., & Fernández L.** (2009). Estudio de la adsorción sobre zeolitas sintéticas modificadas con surfactantes. *REVISTA DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA U.C.V.* **24** (3) (95-1079).
- Wajima T. & Munakata K.**, 2012, Synthesis of Zeolitic Material from Paper Sludge Ash Using Diatomite, *MATERIALS TRANSACTIONS*, **53** (4) (592-596).
- Wang S. & Peng Y.**, 2010, Natural zeolites as effective adsorbents in water and wastewater treatment, *CHEM. ENG. J.*, **156** (11-24).

Widiastuti. N., Wu H., Ang H. M., Dongke Z., 2011, Removal of ammonium from greywater using, **DESALINATION**, **277** (15–23).

Yang X., Yang S., Yang S., Hu J., Tan X. & Wang X., 2011. Effect of pH, ionic strength and temperature on sorption of Pb(II) on NKF-6 zeolite studied by batch technique, **CHEM. ENG. J.** **168** (86-93).

Yilmaz B., & Ediz N., 2008. The use of raw and calcined diatomite in cement production. **CEMENT AND CONCRETE COMPOSITES** **30** (3), 202-211.

Yi-qui., Lei Z. & Xin-you Z., 2012. Investigation of low-temperature properties of diatomite-modified asphalt mixtures, **CONSTR. BUILD. MATER.**, **36** (787-795).

Zhang K., Liu Y., Tian S., Zhao E., Enhong Z., Zhang J & Liu C., 2013. Preparation of bifunctional NiPb/ZnO-diatomite-ZSM-5 catalyst and its reactive adsorption desulfurization coupling aromatization performance in FCC gasoline upgrading process, **FUEL**, **104** (201-207).

Modificación Química en Fase Sólida de Lipasa B de *Candida antarctica* para mejorar sus propiedades de actividad, estabilidad y enantioselectividad

Rodrigo Gonzalo Torres-Sáez

Profesor Titular, Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Edificio "Camilo Torres",
Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Santander, Colombia

Resumen

En este trabajo, se llevó a cabo modificaciones químicas de preparaciones de lipasa B de *Candida antarctica* (CALB) inmovilizadas en soportes de octil-agarosa, agarosa-Bromuro Cianógeno-(BrCN) y Eupergit C usando diferentes compuestos químicos, por ej. Etilendiamina (EDA), anhídrido succínico (SA) y ácido 2,4,6-trinitrobenceno-sulfónico (TNBS). Estas modificaciones de la superficie de la enzima causó cambios en las propiedades tales como carga neta (punto isoeléctrico o balance de grupos catiónicos/aniónicos) o hidrofobicidad (solubilidad), y demostraron ser métodos prácticos para mejorar el funcionamiento del biocatalizador (estabilidad, actividad y enantioselectividad). Estas alteraciones en las propiedades de la enzima por modificación química podría ser debida a cambios en la estructura de la forma activa de CALB. De esta manera, la modificación química en fase sólida de lipasas inmovilizadas podría convertirse en una herramienta poderosa en el diseño de librerías de lipasas con propiedades muy diferentes.

Palabras claves: Lipasa, *Candida antarctica* B, enzimas, modificación química.

Chemical Modification in Solid Phase Chemistry of Lipase B from *Candida antarctica* for improving its properties of activity, stability and enantioselectivity

Abstract

In this work, it was carried out chemical modifications of *Candida antarctica* lipase B (CALB) preparations immobilized on octyl-agarose, BrCN-agarose and Eupergit-C supports using different chemical compounds, e.g. ethylenediamine (EDA), succinic anhydride (SA) and 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS). These modifications of the enzyme surface caused changes in physical properties such as net charge (isoelectric point or balance of cationic/anionic groups) or hydrophobicity (solubility), and proved to be practical methods to enhance the biocatalyst performance (stability, activity and enantio-selectivity). These alterations in enzyme properties by chemical modification should be due to changes in the structure of the active form of CALB. Therefore, solid phase chemical modification of immobilized lipases may become a powerful tool in the design of lipase libraries with very different properties.

Key words: Lipase, *Candida antarctica* B, enzymes, chemical modification.

1. Introducción

Las enzimas son biocatalizadores que llevan a cabo diversos procesos químicos bajo condiciones suaves de reacción. Sin embargo, las enzimas se han seleccionado a través de procesos naturales de evolución, lo cual ha generado que la gran mayoría operen generalmente en condiciones ambientales suaves de reacción. Esta situación ha limitado mucho su aplicación en procesos industriales que utilizan condiciones drásticas de reacción. Por esta razón, se requiere la estabilización funcional de las enzimas en condiciones diferentes a las fisiológicas, de manera de ampliar su espectro de acción en procesos de

transformación de sustratos que requieren condiciones no-conventionales de pH, temperatura, presión, sales, solventes orgánicos, etc. (Cantone et al., 2007; Durand et al., 2007; Sheldon, 2005).

En general, las enzimas no cumplen con todos los requerimientos de un biocatalizador industrial, por lo que requieren del mejoramiento de una o más de sus propiedades

Correspondencia:

Rodrigo Gonzalo Torres-Sáez, rtorres@uis.edu.co

Recibido: 6 de mayo de 2014

Aceptado: 16 de noviembre de 2014

funcionales antes de su implementación en un proceso enzimático o quimio-enzimático (**Shoemaker et al.**, 2003; **Polizzi et al.**, 2007; **Meyer**, 2006). La modificación de las propiedades bioquímicas de las enzimas se pueden lograr usando diferentes tipos de herramientas disponibles en ingeniería de proteínas. Por ejemplo, el desarrollo de técnicas metagenómicas ha permitido el descubrimiento y acceso a genes con nuevas funciones enzimáticas a partir de microorganismos extremófilos o no-cultivables (**Ferrer et al.**, 2007). Se han usado también técnicas de DNA recombinante para el clonamiento y sobreexpresión de enzimas (**Samuelson**, 2011; **Smith**, 1996), mutagénesis sitio dirigida y métodos de evolución molecular (**Kurtovic & Mannervik**, 2009; **Schmidt et al.**, 2009; **Reetz**, 2007; **Jäckel et al.**, 2008), lo cual ha hecho posible manipular prácticamente cualquier propiedad enzimática.

Por otro lado, se han desarrollado muchos avances en el diseño de nuevos soportes y protocolos de inmovilización de enzimas para el mejoramiento de las propiedades bioquímicas que incluyen actividad, selectividad y estabilidad (**Hernández & Fernández-Lafuente**, 2011; **Zhang et al.**, 2005; **Rodríguez et al.**, 2013). Tradicionalmente, las herramientas de ingeniería de proteínas han sido usadas de forma independiente para mejorar el funcionamiento de las enzimas. Sin embargo, el uso conjunto de diferentes estrategias genéticas y químicas han mostrado un efecto sinérgico (**Rodríguez et al.**, 2011), donde por ejemplo, las propiedades de enzimas genéticamente modificadas pueden ser posteriormente mejoradas mediante inmovilización en soportes (**Vallin et al.**, 2010; **Ortiz-Soto et al.**, 2009; **Van Loo et al.**, 2009; **Chiang et al.**, 2008) o modificación química (**Gron et al.**, 1990; **Matsumoto et al.**, 2002; **Davis et al.**, 1999); por otro lado, las enzimas modificadas de forma química pueden ser posteriormente estabilizadas por inmovilización enzimática (**Forde et al.**, 2010a; **Forde et al.**, 2010b). Existen muchos ejemplos de uso conjunto de diferentes herramientas para mejorar el funcionamiento de las enzimas (**Ulbrich-Hoffman et al.**, 1999; **Mansfeld et al.**, 1999; **Wynn & Richards**, 1993).

1.1 Modificación Química de Enzimas

Aunque la modificación genética de enzimas ha desplazado a la modificación de enzimas como estrategia de ingeniería de proteínas, la modificación química aún permanece como un método efectivo para la estabilización de proteínas (**Tyagi and Gupta**, 1998; **Davis**, 2003; **O'Fágáin**, 2003). La modificación química es generalmente no-sitio dirigida. Sin embargo, es posible dirigir las modificaciones a grupos únicos de la estructura proteica como por ej. Reacciones de Cicloadición Diels-Alder (**Palomo**, 2010) e intercambio de tioles, con grupos aminos terminales. Por otro lado, se ha logrado la modificación con grupos tioles de proteínas que contenían

sólo un residuo de cisteína en la superficie de la proteína (natural o introducido vía mutagénesis sitio dirigida) (**Wynn and Richards**, 1993; **De Santis & Jones**, 1999; **Chalker et al.**, 2009). A pesar del enorme poder de la manipulación genética, la modificación química tiene algunas ventajas que la distinguen (**Baslé et al.**, 2010; **Rodríguez et al.**, 2011). Por ejemplo, la modificación química permite la introducción de un amplio rango de grupos químicos a la estructura de la enzima (**Davis**, 2003), no requiere predicción de la estructura de la proteína, constituye un método rápido (comparado con la modificación genética) y se puede realizar con la enzima en su estructura nativa. Si la modificación es llevada a cabo en fase sólida (usando enzimas inmovilizadas), existen ventajas adicionales (**Rodríguez et al.**, 2011), tales como un mayor control de la modificación química minimizando interacciones indeseables proteína-proteína. Además, el uso de enzimas inmovilizadas facilita el uso de medios no convencionales (por ej. Medios orgánicos anhidros) y puede simplificar el número de pasos de la modificación química de enzimas (**Rodríguez et al.**, 2011; **Fernández-Lafuente**, 2009). El uso de enzimas estabilizadas por vía multipuntual o de múltiples subunidades también limita la extensión de la inactivación enzimática que puede resultar de los procesos de modificación química (**Rodríguez et al.**, 2011; **Fernández-Lafuente et al.**, 1992).

La modificación química de una enzima puede ser usada para cambiar las propiedades globales de la superficie de la enzima o para la modificación de residuos claves (**Rodríguez et al.**, 2011; **O'Fágáin**, 2003; **Davis**, 2003). Por ejemplo, se modificaron 17 residuos de lisina (Lys) de alfa-amilasa de *Bacillus amyloquefaciens* con anhídrido citracónico, estabilizando significativamente la enzima cuando se sometió a altas temperaturas (un efecto no encontrado a bajas temperaturas) (**Khajeh et al.**, 2001). Se ha llevado a cabo la modificación de enzimas con polietilenglicol o detegentes, que mejoran la solubilidad y estabilidad de las enzimas en medios orgánicos (**Gupta and Roy**, 2004). De igual manera, la modificación química puede usarse para modular las propiedades catalíticas de las enzimas. Sin embargo, los efectos de la modificación en las propiedades enzimáticas son difíciles de predecir (**Torchilin et al.**, 1997; **Rodríguez et al.**, 2011).

La estrategia de modificación química se puede usar también para generar entrecruzamiento covalente entre diferentes grupos de la superficie de la enzima (**Rodríguez et al.**, 2011; **Wong & Wong**, 1992). Los entrecruzamientos suceden entre diferentes elementos de una proteína, y favorecerán generalmente la rigidez estructural de la enzima incrementando su estabilidad con respecto a agentes que inducen cambios conformacionales (tales como agentes caotrópicos o calor). El entrecruzamiento intramolecular no es necesariamente sencillo. Por ej. El agente entrecruzante debe tener una longitud apropiada (**Torchilin et al.**, 1979), y cuando se usan reactivos homo-bifuncionales, podría generarse una fuerte

competencia entre el entrecruzamiento intramolecular, la modificación uni-puntual y el entrecruzamiento intermolecular (Rodríguez et al., 2011; Fernández-Lafuente, 2009). A su vez, el uso de polímeros multifuncionales simplifica la generación de enlaces de múltiples entrecruzamientos y está menos limitado por las restricciones de distancia o competición por la modificación uni-puntual. Sin embargo, la flexibilidad y longitud molecular de los polímeros limita el grado de rigidificación de la proteína que puede ser obtenida mediante este tipo de moléculas (Betancor et al., 2006). Por el contrario, los reactivos multifuncionales han prevenido efectivamente la disociación de proteínas multiméricas y oligoméricas, o complejos multiproteicos (Rodríguez et al., 2011; Fernández-Lafuente, 2009).

1.2 Lipasas como Biocatalizadores

Las lipasas están entre las enzimas más ampliamente usadas en biocatálisis (Gandhi, 1997; Pandey et al., 1999), debido a que son capaces de llevar a cabo reacciones de biotransformación con una alta selectividad y especificidad, y pueden ser usadas en diferentes medios de reacción (Peterson et al., 2007; Reetz, 2002; van Rantwijk et al., 2003; Itoh, 2009; Jaeger & Reetz, 1998). La aplicación de lipasas en procesos de biotransformación en diversos campos industriales, se ha debido esencialmente a la gran actividad que exhibe en medios acuosos y alta especificidad y selectividad hacia el sustrato sobre el cual actúan (Pollard & Woodley, 2007; Woodley, 2008; Schmid et al., 2001; Straathof et al., 2002). De esta manera, las lipasas han sido utilizadas tanto en la industria de alimentos, biocombustibles y química fina (Berglund, 2001; Fjerbaek et al., 2009; Aravindan et al., 2007; Adlercreutz, 2013; Iwasaki & Yamane, 2000; Stonkus et al., 2001).

Desde el punto de vista funcional, las lipasas (triacil glicerol acil-hidrolasas EC 3.1.1.3) constituyen un grupo de enzimas pertenecientes a la familia de las serina-hidrolasas que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y

catalizan la hidrólisis de triglicéridos para la formación de ácidos grasos y glicerol (Figura 1) (Martinelle et al., 1995; Svendsen, A., 2000; Sharma et al., 2011).

Las lipasas son consideradas las enzimas con mayor aplicación en síntesis orgánica debido a que exhiben alta especificidad, regio y enantioselectividad. Además, catalizan una gran variedad de reacciones químicas, entre las que se incluyen: reacciones de hidrólisis; reacciones de esterificación selectiva entre ácidos y alcoholes (Ortega et al., 2012; Wang et al., 2013); reacciones de trans-esterificación catalizando el intercambio de grupos acilo, ya sea entre un éster y un ácido carboxílico (acidólisis) (Xiong et al., 2012; Ray et al., 2013), un éster y otro éster (inter-esterificación), o un éster y un alcohol (alcoholólisis) (Santaniello et al., 2006; Gotor-Fernández et al., 2006a; Ahmed et al., 2012). Además, las lipasas catalizan reacciones de aminólisis para síntesis de amidas, tanto racémicas como ópticamente activas (Gotor-Fernández et al., 2006a; Prechter et al., 2012) y la hidrazinólisis selectiva de ésteres para la formación de hidrazinas (Hacking et al., 2000) (Ver Figura 2).

1.3 Estructura tridimensional (3D) de lipasas

En los años 90, se determinó la estructura 3D de diferentes lipasas mediante técnicas cristalográficas, identificándose en general una configuración de tipo α/β hidrolasa (Derewenda et al., 1992; Grochulsky et al., 1993; Ericsson et al., 2008). Además, se encontró que el centro activo de las lipasas estaba conformado por una triada catalítica constituida por residuos de serina (Ser), histidina (His) y otro aminoácido que suele ser ácido aspártico (Asp) o ácido glutámico (Glu), localizado en una cavidad conocida como hueco hidrofóbico de la enzima.

De igual forma, se determinó que en la mayoría de las lipasas existe un elemento móvil, el cual es conocido como "lid" o tapadera, conformado por una o dos estructuras alfa-hélice cortas, unidas al cuerpo de la lipasa mediante elementos

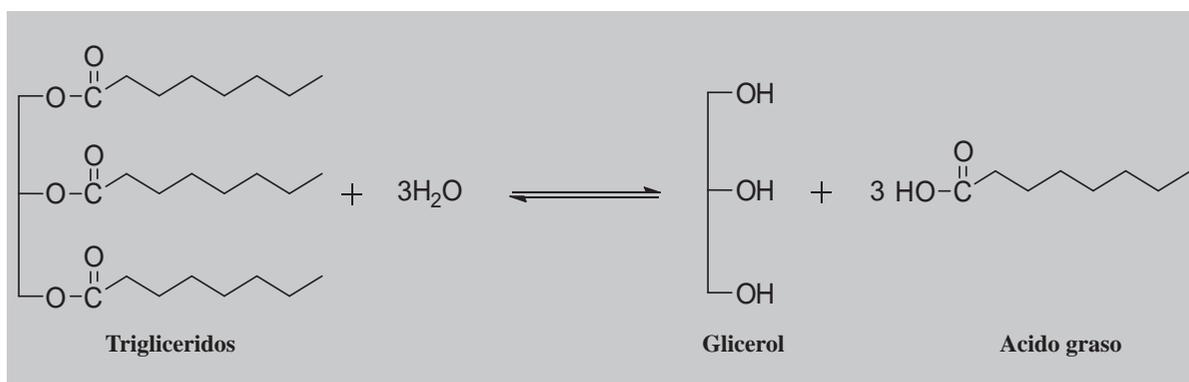


Figura 1. Función biológica de las lipasas. Hidrólisis de triglicéridos in vivo. Se ejemplifica la reacción de hidrólisis de tri-octil-glicerol por lipasa microbiana.

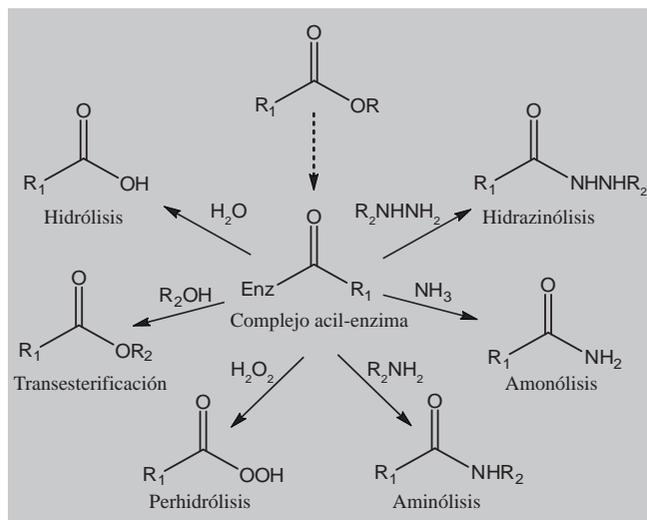


Figura 2. Reacciones catalizadas por lipasas in vitro.

flexibles. **Brzozowski et al.**, (1991) y **Uppenberg et al.**, (1994), confirmaron y demostraron la existencia del *lid* sobre el sitio activo de las lipasas a través del estudio de la formación de complejos enzima-inhibidor. La información acerca de la conformación estructural de las lipasas permitió establecer que en presencia de medios acuosos homogéneos, la lipasa cristaliza con el centro activo totalmente aislado del medio de reacción por la tapadera (*flat* o *lid*), haciendo inaccesible la entrada de los sustratos (conformación cerrada) hacia el sitio activo. Esta cadena polipeptídica presenta en su cara interna una serie de residuos hidrofóbicos que interactúan con las zonas hidrofóbicas que rodean al sitio activo de las lipasas (**Bastida et al.**, 1998).

Por el contrario, cuando la enzima se cristaliza en presencia de interfases hidrofóbicas se obtiene una conformación totalmente distinta, en la cual la tapadera se desplaza del centro activo producto de la interacción entre puentes salinos y puentes de hidrógeno con otra zona de la superficie de la lipasa, dejando libre el centro activo de la enzima (conformación abierta) (**Bastida et al.**, 1998; **Reis et al.**, 2008; **Reis et al.**, 2009; **Rehm et al.**, 2011). La figura 3 muestra las distintas conformaciones de las lipasas.

Las singulares características estructurales de las lipasas sugieren que la presencia del *lid* es un determinante estructural y funcional de la actividad y selectividad de esta enzima en la catálisis de diferentes reacciones de biotransformación en química orgánica (**Overbeeke et al.**, 2000; **Reetz**, 2002; **Barros et al.**, 2010; **Casas-Godoy et al.**, 2012). En 2006, **Secundo et al.** investigaron sobre la influencia del “*lid*” en las propiedades biocatalíticas de las lipasas. En el estudio, se modificaron por mutagénesis algunos aminoácidos de la secuencia del *lid* de tres lipasas recombinantes: *Candida*

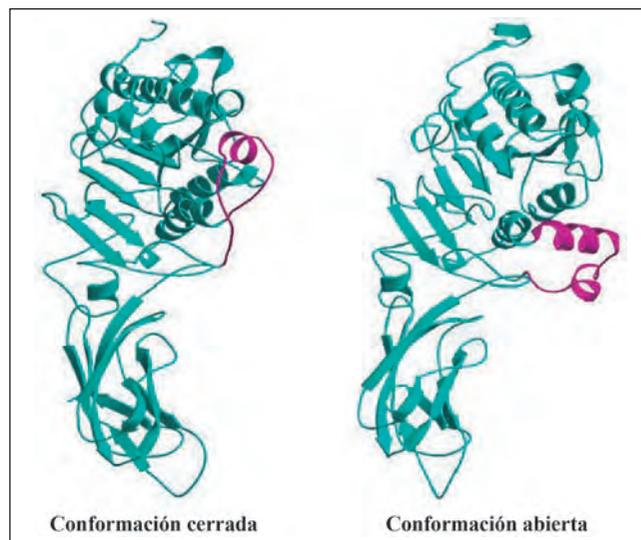


Figura 3. Conformaciones estructurales de la lipasa B de *Candida antarctica*. Tomada de Protein Data Bank, código de acceso ITCB.

rugosa (CRL), *Pseudomonas fragi* (PFL) y *Bacillus subtilis* (BSLA). Las lipasas modificadas presentaron menor actividad y selectividad en reacciones de esterificación en solventes orgánicos. Los resultados obtenidos soportan fuertemente la idea de la importancia que tiene el *lid* en la modulación, no sólo de la actividad, sino también en la especificidad, enantio-selectividad y estabilidad de las lipasas.

Recientemente, **Yu et al.**, 2012, investigaron el efecto de la flexibilidad conformacional del *lid* sobre la actividad catalítica y estabilidad térmica de la lipasa *Rhizopus chinensis*. En este caso, se indujo la formación de un enlace de puente disulfuro en la región del *lid*, con el fin de limitar su movilidad. Los resultados obtenidos mostraron que la enzima mutante es 12 veces más termo-estable que la enzima no mutada. A su vez, esta modificación estructural no afectó el rendimiento catalítico de la lipasa. De acuerdo con lo anterior, a la hora de utilizar las lipasas en reacciones de química orgánica, es preciso considerar algunas peculiaridades de su mecanismo de activación interfacial, para lo cual resulta indispensable el estudio de la estructura molecular.

1.3.1 Lipasa B de *Candida antarctica* (CALB)

La CALB es una isoenzima que proviene de la levadura *Candida antarctica*. Fue aislada por primera vez en la Antártida cuando se examinaban enzimas activas en condiciones extremas. Actualmente, es obtenida a partir de procesos de clonación y sobre-expresión en el hongo *Aspergillus oryzae* (**Kirk et al.**, 2002).

La lipasa B de *Candida antarctica* presenta un peso molecular de 33 kDa y un punto isoelectrico de 6.0. Exhibe una especificidad posicional de tipo *Sn-3* en la hidrólisis de

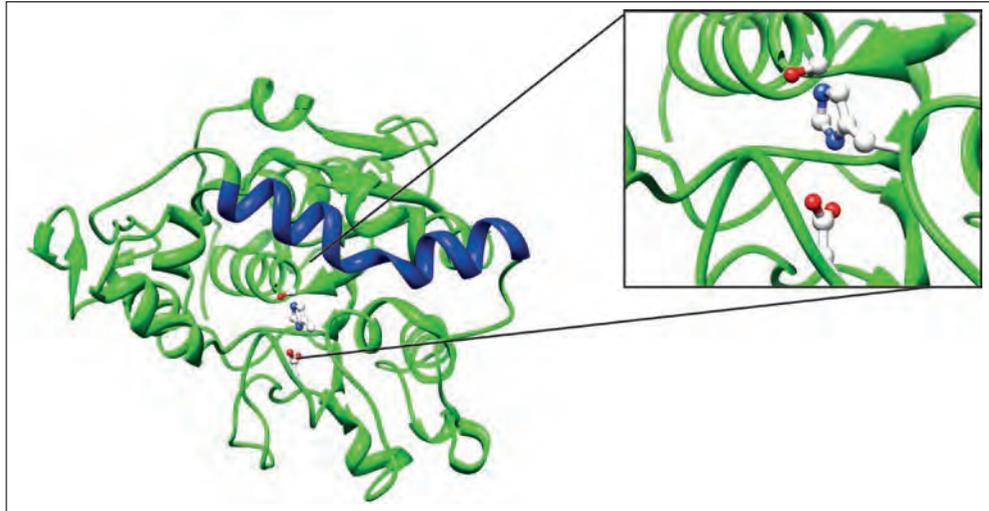


Figura 4. Estructura Lipasa B de *Candida antarctica*. Tomada de protein Data Bank (1LBT.pdb). Software de visualización Chymera.

triglicéridos (Kirk *et al.*, 2002). La secuenciación de CALB ha revelado que su estructura primaria está formada por 317 residuos, los cuales se pliegan en un modelo de α/β hidrolasa (Ver Figura 4). Su sitio activo consiste de una triada catalítica de serina, histidina y aspartato. La entrada a dicho sitio activo se encuentra restringida por una α -hélice hidrofóbica (*lid*) muy importante en la especificidad y estereoespecificidad de la enzima frente a diferentes sustratos (Uppenber *et al.*, 1994).

CALB es ampliamente usada como biocatalizador debido a la aceptable regioselectividad y enantioselectividad frente a alcoholes, aminas, ésteres y ácidos racémicos (Anderson *et al.*, 1998; Kirk *et al.*, 2002; Gotor-Fernández *et al.*, 2006b; Juhl *et al.*, 2010; Kolodziej *et al.*, 2012). CALB es provista por Novozymes in forma libre e inmovilizada (Novozym 435), y es producida en *Aspergillus niger*, presentando cierta heterogeneidad con poblaciones de moléculas enzimáticas con contenido de oligosacáridos de 8 a 35 unidades de manosa. En su forma inmovilizada, exhibe una gran estabilidad frente a un amplio rango de valores de pH y temperatura. De esta forma, se ha implementado su uso en diferentes reacciones orgánicas, incluyendo muchas que han sido utilizadas a escala comercial (Kirk *et al.*, 2002). Además, CALB se ha inmovilizado en muchos soportes hidrofóbicos con buenos resultados de rendimiento de inmovilización, estabilidad y recuperación de actividad enzimática (Fernández-Lorente *et al.*, 2007).

1.4 Mecanismo de acción de lipasas

La información de las conformaciones estructurales de las lipasas permitió establecer que en su mecanismo catalítico ocurre un fenómeno denominado “activación interfacial de lipasas” (Desnuelle, 1972). El término es usado para describir el incremento en la actividad catalítica de este tipo de

enzimas cuando interactúan con interfaces hidrofóbicas (Verger, 1997; Reis, 2009; Palomo & Guisan, 2012). La principal característica de las lipasas es la actividad en presencia de interfaces hidrofóbicas (micelas de sustratos, solventes orgánicos no miscibles, etc.), descrita inicialmente por Sarda & Desnuelle (1958). Posteriormente, se confirmaron los resultados previamente publicados con otros estudios cristalográficos (Brady *et al.*, 1990; Brozowski *et al.*, 1991; Nobel *et al.*, 1993; Ericsson *et al.*, 2008).

De acuerdo con el mecanismo de activación interfacial, las lipasas muestran una cadena polipeptídica (*lid*) en su estructura secundaria, la cual cubre el sitio activo, impidiendo el acceso del sustrato (conformación cerrada) cuando se encuentran en ausencia de interfaces. Sin embargo, en presencia de interfaces hidrofóbicas, se presentan importantes cambios que dan lugar a la generación de una “conformación abierta” de la enzima en la cual el *lid* es desplazado como resultado de la exposición de superficies hidrofóbicas que ahora interactúan con la interfase. De esta manera, se confiere funcionalidad a la enzima (Palomo & Guisan, 2012). Por otro lado, es evidente que las lipasas en medios acuosos presentan actividad catalítica, en muchos casos comparables a la de esterasas no lipásicas. Esto sugiere que las lipasas en sistemas acuosos homogéneos se encontrarían en un cierto equilibrio entre la conformación cerrada y la conformación abierta que les permiten ser catalíticamente activas en medios acuosos homogéneos.

1.5 Modulación de las propiedades catalíticas de las lipasas

La posibilidad de disponer de derivados enzimáticos altamente estables en condiciones de operación de la industria, es uno de los objetivos más importantes en reacciones de biotransformación. Para el caso particular de las lipasas,

en las cuales se presenta un equilibrio conformacional, es interesante conocer cuál de las dos configuraciones es más estable. Es decir, la estructura abierta o la cerrada. De acuerdo con lo anterior, resulta interesante la preparación de diferentes derivados de lipasas en los cuales a través de estrategias de inmovilización sea posible la modulación de las propiedades catalíticas por la alteración del equilibrio conformacional existente (Bastida *et al.*, 1998; Mateo *et al.*, 2000, Barbosa *et al.*, 2010).

El equilibrio conformacional de las lipasas sugiere que la permanencia de una estructura abierta o cerrada, se da a través de un gran número de fuerzas intra- e inter-moleculares. Por lo tanto, es posible que una variación en la densidad de carga de la enzima, altere la forma exacta del centro activo y en consecuencia las propiedades biocatalíticas de la lipasa. Para tal fin, es posible utilizar herramientas de ingeniería de proteínas tales como la modificación química de residuos aminoácidos superficiales de la enzima, la ingeniería del medio de reacción y la ingeniería del derivado (Palomo & Guisan, 2012; Marciello *et al.*, 2012). En este trabajo se describirá la modificación química de la superficie de la enzima CALB en su forma inmovilizada y el efecto de las modificaciones sobre actividad, estabilidad y selectividad de la enzima.

2. Metodología Experimental

En este trabajo se llevaron a cabo diferentes estrategias de modificación química en la superficie enzimática de lipasa B de *Candida antarctica* inmovilizada en soportes de agarosa.

La primera modificación química ensayada fue la modificación de los ácidos carboxílicos expuestos de la enzima con etilendiamina (EDA) después de activación con carbodiimida (EDAC) (Carraway *et al.*, 1969; Carraway & Koshland, 1972) (Ver Figura 5). Esta modificación da la posibilidad de ionización de la superficie de la enzima pero produce a su vez una gran alteración de los grupos iónicos presentes

en el superficie de la enzima. Esta modificación de proteína se ha usado para modular propiedades de lipasas (por ej. especificidad) (Palomo *et al.*, 2007; Cabrera *et al.*, 2009) y se ha usado para diversas aplicaciones como el mejoramiento de la inmovilización covalente multipuntual de enzimas (Fernández-Lorente *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2009), o favoreciendo el entrecruzamiento intramolecular (Fernández-Lafuente *et al.*, 1995). Esta modificación no es totalmente específica. La carbodiimida puede transformar algunos grupos carboxílicos en urea y modificar algunos residuos de Tyr. Sin embargo, esta última modificación química puede ser revertida por incubación de la proteína en presencia de hidroxilamina y obtener de esta manera Tyr en su forma libre no-modificada (Carraway & Koshland, 1968).

La segunda modificación llevada a cabo en este trabajo fue la modificación de los grupos primarios de la superficie de la enzima con 2,3,4-trinitrobenzeno-sulfonato (TNBS). Esta modificación de los grupos aminos primarios es altamente específica y se ha empleado para cuantificar grupos amino en proteínas y soportes (Snyder & Sobocinski, 1975) (Ver Figura 6). Esta modificación producirá una hidrofobización de la superficie modificada dejando una amina secundaria con un grupo hidrofóbico anexado a éste. Este reactivo se ha usado para hidrofobizar soportes ante de la inmovilización de lipasas (Mendes *et al.*, 2011). Debido a la alta especificidad de esta reacción, ésta se ha usado para elucidar la función estructural de los residuos de Lys en enzimas y proteínas (Jagtap & Rao, 2006; Dash *et al.*, 2001; Rao *et al.*, 1996). Sin embargo, pocos estudios han considerado el efecto de este reactivo como una forma de modular las propiedades de enzimas. La modificación con TNBS se ha usado para aumentar la estabilidad de invertasa (Husain *et al.*, 1996) y para aumentar la actividad maltosidasa de la enzima Alfa-amilasa pancreática de cerdo (Yamashita *et al.*, 1993). En este sentido, se propuso en este estudio llevar a cabo este tipo de

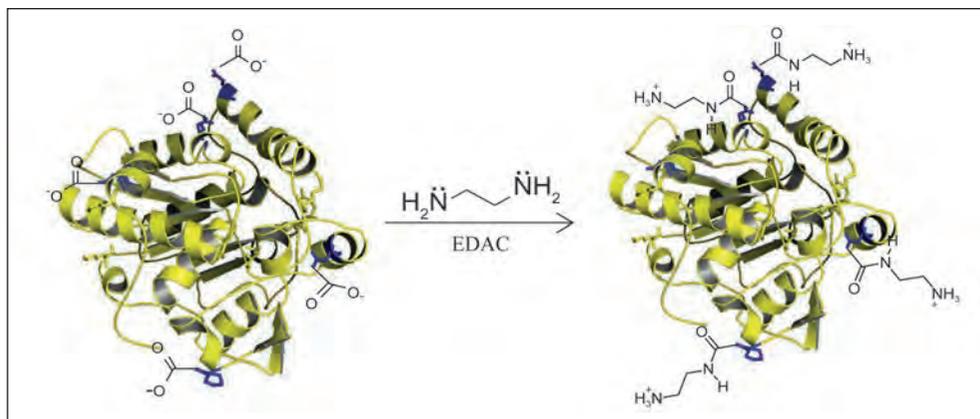


Figura 5. Aminación química de los grupos carboxilo de la superficie enzimática de CALB. Software de visualización Pymol 0.99. La estructura de la CALB fue tomada de Protein Data Bank (COD pdb 1TCA).

modificaciones para posiblemente alterar la estructura de la forma abierta de la lipasa, producir cambios conformacionales en la estructura de la enzima o restringir el movimiento del lid, y de esta manera sus propiedades bioquímicas.

La tercera estrategia que se propuso en este trabajo fue la modificación química de CALB utilizando anhídrido succínico. En este caso, la densidad de carga superficial de CALB también puede ser alterada a través de la acilación de los grupos amino de lisinas con anhídrido succínico. De forma tal, que la modificación permite obtener derivados estables con mayor densidad de carga negativa (**figura 7**) a valores de pH donde los grupos carboxilo están desprotonados (pH mayor a 5). Además, puede llegar a alterar la solubilidad de la proteína al generar interacciones intermoleculares adicionales. Por lo tanto, es posible que la modificación de CALB parcial y totalmente con anhídrido succínico ocasione cambios estructurales en la conformación 3D de la enzima y en consecuencia una alteración de las propiedades biocatalíticas de la lipasa.

El control del grado de modificación se puede realizar a través de la cantidad de anhídrido succínico sólido adicionado a la reacción (**Cabrera *et al.*, 2009**).

En general, se usaron diferentes estrategias de inmovilización para CALB, las cuales eran compatibles con la modificación química de las enzimas.

La primera estrategia se llevó a cabo por adsorción hidrofóbica en soportes de octil-agarosa (**Bastida *et al.*, 1998**), lo cual estabiliza la forma abierta de la lipasa, y pone el centro activo de la lipasa en un ambiente hidrofóbico, donde la concentración de los compuestos hidrofóbicos podría incrementarse por un efecto de partición (**Fernández-Lorente *et al.*, 2007**; **Hernández & Fernández-Lafuente, 2011**).

La segunda estrategia fue inmovilización covalente de la enzima en dos diferentes tipos de soporte: (1) En soportes de agarosa activados con BrCN (**March *et al.*, 1974**). Con estos soportes, bajo condiciones de pH y tiempo adecuado,

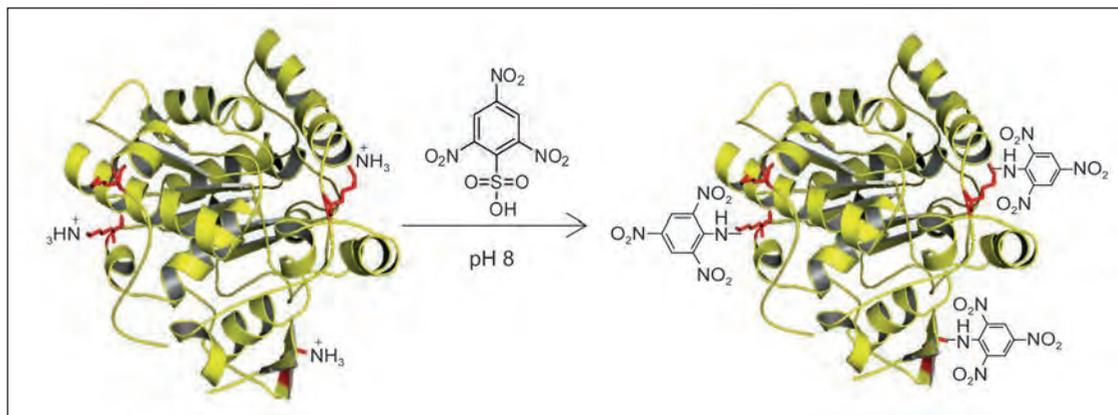


Figura 6. Modificación de los grupos amino primarios de la CALB con TNBS. Software de visualización Pymol 0.99. La estructura de la CALB fue tomada de Protein Data Bank (COD pdb ITCA).

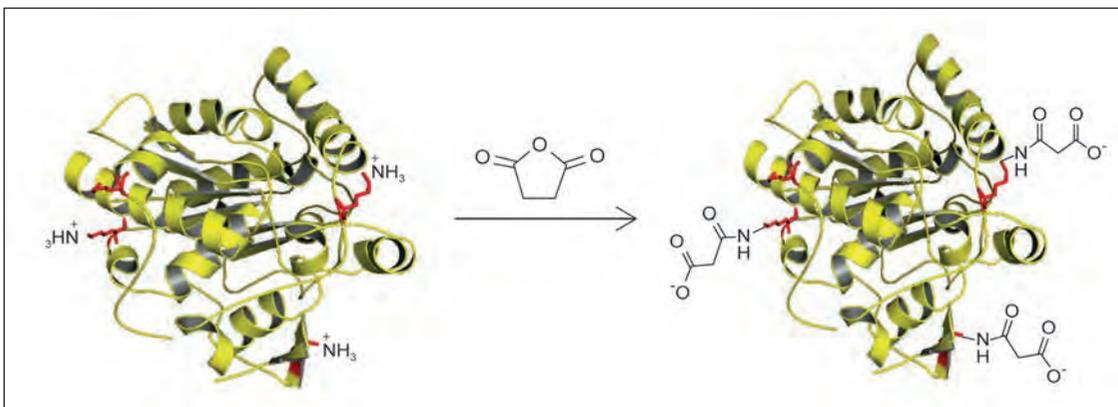


Figura 7. Succinilación química de la superficie enzimática de la CALB. Software de visualización Pymol 0.99. La estructura de la CALB fue tomada de Protein Data Bank (COD pdb ITCA).

se podría producir un enlace covalente multipuntual de la enzima sobre el soporte (**Pedroche et al.**, 2007), que mantendría el equilibrio entre las formas abierta y cerrada de la lipasa. Además, a pH 7.0, se esperaría que la enzima llegara a ser inmovilizada sobre el soporte por sus grupos amino, y muy probablemente por su amino-terminal (**Mateo et al.**, 2005). Se ha descrito que esta forma inmovilizada de la lipasa presenta a menudo diferentes propiedades en comparación con la enzima inmovilizada en octil-agarosa. (2) En soportes Eupergit C. En este caso la enzima se inmoviliza después de una adsorción de la enzima sobre el soporte (**Mateo et al.**, 2007b). Esta enzima se inmovilizó previamente en este soporte en presencia del detergente triton X-100 para evitar adsorción interfacial de la enzima y alta fuerza iónica para forzar la adsorción de la enzima por otras regiones hidrofóbicas de la proteína (**Barbosa et al.**, 2011).

2.1 Materiales. La lipasa B de *Candida antarctica* (CAL-B) fue obtenida de Novozymes. El Octil agarosa 4BCL, Agarosa-BrCN, Tritón X-100, p-nitrofenilbutirato (pNPB), el ácido picril sulfónico (TNBS), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDAC), Etilendiamina (EDA), Anhídrido Succínico (AS), (R/S)-mandelato de metilo y cada uno de los isómeros puros fueron obtenidos de Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, USA). El soporte de Eupergit C fue donado por Rohm Pharma (Darstamdt, Alemania). Los marcadores de peso molecular de proteínas para electroforesis de proteínas 1D y 2D se obtuvieron de Fermentas y Biorad, respectivamente. Los reactivos utilizados en la síntesis y en las reacciones fueron todos de grado analítico y suministrado por Sigma Aldrich y Merck.

2.2 Determinación de Actividad Enzimática. Se llevó a cabo por espectrofotometría, midiendo el incremento de la absorbancia a 348 nm, producida por la liberación de p-nitrofenol durante la hidrólisis de 0.4 mM del sustrato sintético p-nitro-fenil-butirato (p-NPB) disuelto en buffer fosfato 25 mM (**Quinn et al.**, 1982). Una Unidad Internacional de Actividad (U) se definió como la cantidad de enzima necesaria para hidrolizar 1 micromol de p-NPB por minuto bajo las condiciones de ensayo (pH 7.0 y 25 °C).

2.3 Determinación de proteína. Se determinó usando el método de Bradford usando Albúmina de suero de bovino (BSA) como proteína estándar (**Bradford**, 1976).

2.4 Purificación de CALB. Para la purificación de la enzima, la lipasa se inmovilizó en soportes de Octil-Agarosa (**Bastida et al.**, 1998). En general, 1.6 mL de la enzima comercial se diluyó en 78.4 mL de una solución de fosfato de sodio 5 mM a pH 7.0. Posteriormente se añadió a esta solución 8mL de Octil-Agarosa y se mantuvo en agitación magnética durante 60 min. Para evaluación de la actividad enzimática se tomaron periódicamente muestras de suspensión y sobrenadante. La enzima inmovilizada se lavó 3 veces con 80

mL de agua destilada. Para obtener la enzima soluble, se resuspendieron 8 g de Octil-Agarosa con CALB adsorbida en 80 mL de una solución 2%(v/v) Triton X-100 disuelto en una solución 5 mM sde fosfato de sodio phosphate a pH 7.0 por 1 h a 25 °C, de manera de liberar la enzima del soporte.

2.5 Electroforesis de Proteínas de CALB

Se llevó a cabo utilizando geles de poliacrilamida (PAGE) en condiciones nativas y denaturalizantes (SDS-PAGE). Fueron llevadas a cabo de acuerdo con lo descrito por **Laemmli**, (1970). En general, las muestras de proteína soluble se disolvieron en Buffer Tris-HCl 62.5 mM y pH 6.8, 2% (p/v) SDS, 5% (v/v) de beta-mercaptoetanol, 5%(v/v) de glicerol. Estas muestras (20 microlitros) se hirvieron a ebullición por 5 min. Los geles usados contenían poliacrilamida al 12%(p/v) en el gel de separación y 5%(p/v) en la zona de concentración. Para establecer la separación de las proteínas se usó una fuente de poder PowerPac HC (BIORAD) con un voltaje constante de 150 V a 25 °C por 1 h. Una vez finalizada la electroforesis, los geles se tiñeron con azul brillante de Coomassie R-250.

2.6 Determinación de Punto Isoeléctrico (pI) de Proteínas de CALB

Las muestras de enzimas (inmovilizadas o modificadas) se extrajeron y resuspendieron en 40 microlitros de buffer de lisis de proteínas (Urea, 7 M; tiourea, 2M; CHAPS, 4%(p/v) y solución de anfólitos pH 3–10 al 1% (v/v)) y solubilizaron por 1 h a temperatura ambiente bajo agitación magnética.

2.6.1 Electroforesis Bi-Dimensional (2D) de proteínas de CALB

Una muestra de proteína de 10 µg se mezcló con buffer de rehidratación (urea, 7M; thiourea, 2M; CHAPS al 4%(v/v); 0.5%(v/v) de solución de anfólitos de pH 3–10, DDT, 10 mM; y DeStreak, 1.2%) para obtener un volumen final de 200 mL y se aplicó a tiras de IPG de 11 cm, 3-10 I (General Electric, Healthcare).

La primera dimensión se corrió a 0.075 mA/tira de IPG en el IPGforo IEF System (GE Healthcare) siguiendo un incremento de voltaje en 8 pasos: 30 V/h por 8h, 60V/h por 8h, 120V/h por 1h, 250V/h por 1h, 500V/h por 1h, 1000V/h por 0:30 h, gradiente lineal a 8000 V en 0:30 h, 8000 V/h hasta que se alcanzara 12000 V/h. Después de la primera dimensión, las tiras se equilibraron por 10 min con Buffer de equilibración (Tris 50 mM, pH 8.8; urea, 6M; Glicerol, 30% (v/v); SDS, 2% (p/v), trazas de azul de bromofenol) conteniendo DTT al 1% (p/v), y después por 10 min adicionales usando buffer de equilibración conteniendo iodoacetamida al 4%(p/v).

La segunda dimensión (SDS-PAGE) se llevó a cabo en geles de poliacrilamida al 12.5% (p/v) (1 mm, 8 cm × 7 cm) usando una unidad de electroforesis Criterion Dodeca Cell (BIO RAD). 1.2 µl de solución de proteínas estándar (Invitrogen)

fueron pipeteados en 2 mm de papel filtro Whatman 3MM y puestos sobre el gel ceca de la zona ácida de cada tira de gel de isoelectroenfoque. Posteriormente los gels fueron corridos a Gels 20 mA por gel.

Una vez que la electroforesis finalizó, se tiñeron los gels con tinción de proteínas SYPRO Ruby (Invitrogen). Primero se fijó el gel en MeOH al 10%(v/v) y ácido acético al 7%(v/v) por 30 min, se incubó en solución de tinción SYPRO Ruby toda la noche, y se lavó en una solución de metanol 10%(v/v) y ácido acético 7%(v/v) durante 30 minutos cada lavado, y finalmente dos lavados en agua destilada por 10 min cada lavado.

2.6.2 Análisis de Imágenes de Geles

Los gels teñidos con SYPRO Ruby fueron escaneados fluorímetro Typhoon™ 9400 en modo variable (General Electric, Healthcare) equipado con un láser de excitación a 532nm (verde) y un filtro de emisión a 610 nm con un ancho de banda de 30 nm (SYPRO Ruby, ROX, EtBr) y 100 μm de resolución. El setting del tubo fotomultiplicador fue fijado a 700 V para optimizar sensibilidad del equipo.

2.7 Inmovilización de CALB en soporte Eupergit C 250L

La enzima CALB se desorbió de los soportes Octil-Agarosa usando Triton X-100 al 1% (v/v) y a continuación se diluyó 10 veces. Posteriormente, se suspendió una masa de 10g de soporte en 100 mL de solución enzimática (conteniendo 32 μg/mL de proteína en una solución de fosfato de sodio 1M con 0.1% (v/v) de Triton X-100 a pH 7) a 25 °C por 48 h (Barbosa *et al.*, 2011; Barbosa *et al.*, 2010). Periódicamente, se sacaron muestras de sobrenadante y suspensión y se midió actividad enzimática tal como se describió previamente. A continuación, y para bloquear los grupos epóxidos, la preparación inmovilizada de la enzima se incubó en 50 mL de fosfato de sodio 50 mM conteniendo 5%(v/v) de mercaptoetanol a pH 8 y 25 °C por 24 h (Mateo *et al.*, 2007a, b; Barbosa *et al.*, 2011; Barbosa *et al.*, 2010). Finalmente, la preparación inmovilizada de CALB se lavó con agua destilada y se almacenó a 4 °C.

2.8 Inmovilización de CALB en soporte octil-agarosa

La lipasa se inmovilizó en octil-agarosa a baja fuerza iónica (Bastida *et al.*, 1998). Se diluyeron 2 mL de CALB comercial (actividad específica de 21 U/mg proteína) en 98 mL de una solución de fosfato de sodio 5mM ajustada a pH 7. En algunos casos, se agregó etanol en diferentes cantidades porcentuales (v/v). A continuación, se añadió a esta solución una masa de 20 g de octil agarosa. Esta suspensión se dejó por una 1h y 25 °C bajo agitación a 250 rpm. En algunos casos, se inmovilizó durante 3h a 4°C. La suspensión enzimática una vez inmovilizada, se filtró y la lipasa soportada en el gel de agarosa se lavó varias veces con agua destilada.

2.9 Inmovilización de CALB en soporte de BrCN-agarosa

Este soporte se usó para chequear el efecto de la modificación con glutaraldehído y se llevó a cabo siguiendo un protocolo previamente establecido para esta enzima (Barbosa *et al.*, 2012). Un volumen de 1 ml de CALB comercial se diluyó en 99ml de una solución de fosfato de sodio 5mM a pH 7. Posteriormente, se añadió 6g de soporte BrCN-agarosa a la solución enzimática. Después de transcurridos 90 min a 4 °C bajo agitación a 250 rpm, se inmovilizó alrededor de un 45% de la lipasa sobre el soporte. La inmovilización enzimática sobre el soporte finalizó por incubación de la enzima inmovilizada en el soporte con una solución 1 M de etanolamina a pH 8 por 2 h. Finalmente, se lavó la preparación inmovilizada con agua destilada.

2.10 Aminación de CALB inmovilizada

Se añadieron 100 mL de EDA 1M a 10 g de CALB o CALB-TNBS inmovilizada a pH 4.75 bajo agitación continua. La modificación comenzó con la adición de EDAC sólida para obtener una concentración final de 10 mM en una sola adición. Después de 90 min de agitación suave a 25 °C, los derivados aminados (denominados CALB-EDA y CALB-TNBS-EDA) tenían modificados un 100% de los grupos carboxílicos expuestos en su superficie enzimática (Fernández-Lafuente *et al.*, 1995; Rodrigues *et al.*, 2011). Finalmente, la enzima inmovilizada y modificada se lavó con un exceso de agua destilada y almacenó a 4°C.

2.11 Modificación de los grupos amino de CALB con TNBS

Se añadieron 12 g de CALB o CALB-TNBS a 100 ml de una solución de TNBS al 0.1%(p/v) en una solución de fosfato de sodio 25 mM a pH 8.0 y la mezcla se incubó durante 60 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se lavó la preparación de la enzima modificada con agua destilada (Snyder *et al.*, 1975). Las preparaciones se llamaron CALB-TNBS o CALB-TNBS-EDA-TNBS.

2.12 Modificación de CALB con Anhídrido Succínico

Se añadió 1 g de derivado CALB inmovilizada en Octil-agarosa se incubó en 10 mL de buffer fosfato 10 mM de pH 8 bajo agitación magnética continua a temperatura ambiente. La reacción de modificación se inició con la adición de anhídrido succínico en diferentes concentraciones: 1, 20 y 100 mM, para obtener modificaciones de 10, 50 y 100 %, respectivamente. Después de 120 minutos de agitación, los derivados de la CALB succinilada (CALB-S), se lavaron con buffer fosfato pH 7 y un exceso de agua destilada. Posteriormente, se filtraron al vacío, y se almacenaron a 4 °C (Cabrera *et al.*, 2009). Los derivados obtenidos se llamaron OC-CALB-S-10%, OC-CALB-S-50% y OC-CALB-S-100%. Las condiciones de modificación anteriormente descritas fueron aplicadas también en el derivado de CALB inmovilizado en Eupergit C.

2.13 Desorción de CALB adsorbida sobre octil-agarosa

Se incubó la enzima inmovilizada en octil-agarosa en presencia de concentraciones crecientes de Tritón X-100 y determinó su actividad enzimática en el sobrenadante y la suspensión enzimática. Una vez que se añadió el detergente, se dejaron por 30 min antes de retirar las muestras de sobrenadante y suspensión para su análisis de actividad. Para cuantificar el efecto del detergente sobre la actividad de la enzima, se sometió una muestra de CALB soluble a las mismas condiciones.

2.14 Inactivación térmica de diferentes preparaciones de CALB

Para llevar a cabo estas inactivaciones, se tomaron 100 mg of diferentes preparaciones de CALB (solubles, inmovilizadas y/o modificadas) y se incubaron en buffer fosfato 25 mM, pH 7 y a diferentes temperaturas, dependiendo del experimento. Se tomaron muestras a diferentes tiempos de las preparaciones de CALB incubadas y se midió su actividad enzimática residual usando el método de p-NPB descrito previamente.

Para chequear la estabilidad de las preparaciones enzimáticas, 1 mL de enzima inmovilizada se suspendió en 10 mL de una solución de acetato de sodio 25 mM a pH 5, fosfato de sodio 25 mM a pH 7 y borato de sodio 25 mM a pH 9 a diferentes temperaturas. Periódicamente, se sacaron muestras de preparaciones enzimáticas y se midió su actividad residual usando pNPB como sustrato.

2.15 Ensayos de estabilidad enzimática en presencia de solventes orgánicos

Se incubaron las diferentes preparaciones enzimáticas (soluble, inmovilizadas o modificadas) en mezclas de co-solvente orgánico/buffer Tris-HCl 50 mM a pH 7 y diferentes temperaturas. La presencia de una muy pequeña cantidad de co-solvente orgánico (50 μ l) durante los ensayos de actividad enzimática hidrolítica, no afectó las velocidades de reacción enzimática observadas.

2.16 Hidrólisis de R y S mandelato de metilo

La actividad enzimática se determinó también usando R o S mandelato de metilo. Se añadieron 50 mg de las preparaciones inmovilizadas a 3 mL solución de mandelato de metilo 10 mM disuelta en buffer fosfato 25 mM a pH 7.0 y sometido a agitación continua. El grado de conversión se analizó por RP-HPLC (Agilent 1100) usando una columna Zorbax C-18 (5 μ m, 250 mm \times 4.6 mm). Se inyectaron muestras de 5 μ l al equipo y se eluyeron con un flujo de 1.0 mL/min usando Acetonitrilo/Buffer fosfato de amonio 25 mM (35:65, v/v) como fase móvil. La detección de los compuestos hidrolizados se llevó a cabo usando un detector de arreglos de diodos con detección UV a 225 nm. Una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad

de enzima necesaria para producir 1 μ mol de ácido mandélico bajo las condiciones descritas previamente. La actividad se determinó por triplicado con una conversión máxima de 20–30%, y los datos son dados como valores promedios. La enantioespecificidad (E) se calculó directamente a partir de las razones de las velocidades de reacción con el isómero R y S (Chen *et al.*, 1982).

3. Resultados y Discusión

3.1 Modificación Química de Biocatalizadores de CALB con EDA y TNBS

En la **Figura 9** se muestran los diferentes grupos que pueden ser modificados utilizando EDA y TNBS en la proximidad del *lid* y del centro activo de la enzima. Entre ellos, es importante señalar el Asp-145 que hace parte del *lid* (GLY-PRO-LEU-ASP-ALA), y se encuentra a menos de 10 Å del residuo de Glu-294. Este último grupo está muy cerca de la Lys-308 y Arg-309. Por tanto, las modificaciones químicas utilizadas en este trabajo podrían alterar las interacciones químicas en la zona próxima al centro activo, quizás alterando el movimiento del *lid* y de esta manera las propiedades bioquímicas de la lipasa. En un área diferente de la proteína, el Asp-187, el Asp-223 y el Glu-188 se encuentran también muy cerca de la región del *lid*, por lo que la modificación puede afectar los movimientos del *lid* de igual forma.

La inmovilización reversible de CALB sobre OC evita probables pérdidas de actividad por las condiciones de reacción de cada modificación química; permite desorber del soporte las moléculas de enzima modificadas utilizando un detergente; y permite la caracterización de las mismas mediante técnicas convencionales.

La **Figura 10** presenta la electroforesis nativa de los diferentes derivados modificados de CALB. Se aprecia que solo fue posible visualizar los derivados OC-CALB y OC-CALB-TNBS. Teniendo en cuenta que en este tipo de electroforesis, las proteínas migran en razón a su relación carga/masa, es posible que la modificación con EDA de los derivados de OC-CALB haya alterado el punto isoeléctrico de la enzima por encima del pH del buffer de corrida (pH 8) y por lo tanto no aparezcan en el gel. Este comportamiento era esperado, debido a que la modificación de CALB con EDA incrementa la densidad de cargas positivas sobre la superficie de la enzima, lo cual a su vez ocasiona un decrecimiento drástico de los grupos aniónicos externos de la lipasa (Fernández-Lafuente *et al.*, 1998; Rodrigues *et al.*, 2011).

Los resultados de la electroforesis nativa fueron confirmados determinando los puntos isoeléctricos (pI) de las 5 preparaciones a través de una electroforesis en 2D (Ver **Tabla 1**). Los resultados obtenidos muestran que la modificación de CALB con TNBS (CALB-TNBS) no afectó el punto

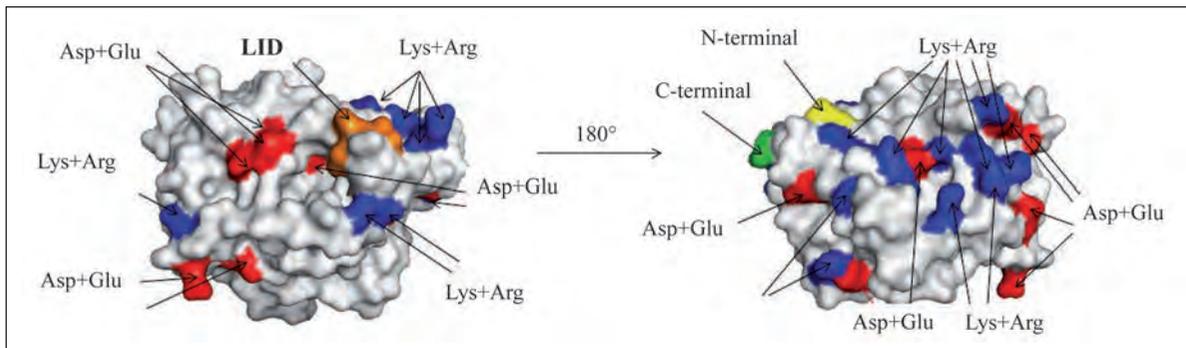


Figura 9. Modelo de estructura 3D de la superficie de CALB indicando los residuos lisínicos, los ácidos carboxílicos y las argininas. La estructura de superficie 3D fue modelada usando el visualizador Pymol 0.99. La estructura 3D de CALB fue obtenida de Protein Data bank (PDB), código 1TCA.

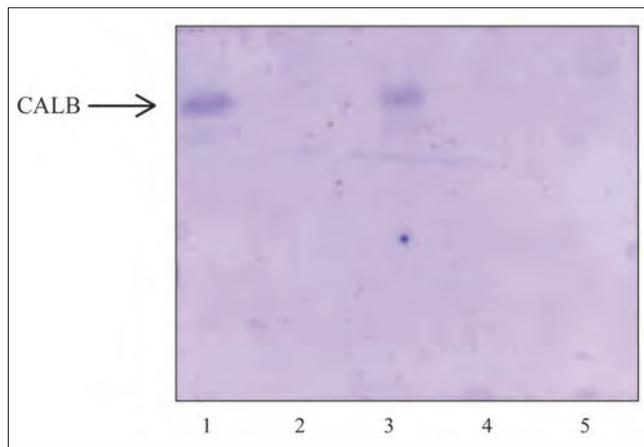


Figura 10. Electroforesis nativa de los diferentes derivados modificados de CALB. Carril 1: CALB; carril 2: CALB-EDA; carril 3: CALB-TNBS; carril 4: CALB-TNBS-EDA; carril 5: CALB-TNBS-EDA-TNBS.

isoelectrico de la enzima (pI= 5.8-5.9), mientras que la modificación con EDA (CALB-EDA), ocasionó un cambio notable en el punto isoelectrico de la CALB (pI>11).

Por su parte, los derivados CALB-TNBS-EDA y CALB-TNBS-EDA-TNBS alcanzaron un punto isoelectrico mayor que la enzima no modificada. Los resultados obtenidos se deben probablemente a la formación de aminas secundarias con un valor de pKa más bajo que los pKa de las lisinas y de los nuevos grupos amino introducidos (Fernandez-Lafuente *et al.*, 1998).

La **Tabla 2** muestra los cambios en la actividad frente al p-NPB (a pH 7) de los derivados OC-CALB y BrCN-CALB producidos por la modificación química secuencial con EDA y TNBS. Los resultados son diferentes dependiendo de la preparación de CALB inmovilizada y del agente modificante empleado. La aminación del derivado OC-CALB produjo un

Tabla 1. Puntos isoelectricos de las diferentes preparaciones modificadas de CALB. Los experimentos se realizaron de acuerdo con lo descrito en la sección de materiales y métodos.

Derivado	Punto Isoeléctrico (pI)
CALB	5.8 - 5.9
CALB-TNBS	5.8 - 5.9
CALB-EDA	>11*
CALB-TNBS-EDA	8.8 - 8.9
CALB-TNBS-EDA-TNBS	8.6 - 8.7

* Los geles utilizados permitían identificar el pI en el intervalo de pH 4-pH 11.

incremento en la actividad frente al p-NPB de 40%, mientras que la modificación con TNBS del mismo derivado produjo una disminución del 20% en la actividad frente p-NPB.

Usando el derivado BrCN-CALB, la modificación química con EDA y con TNBS produjo una disminución dramática en la actividad enzimática frente al p-NPB, siendo más significativo el efecto adverso cuando se usó EDA (la actividad disminuyó alrededor del 50%) que cuando se utilizó TNBS (la actividad disminuyó 40%).

Las diferencias generadas por la modificación química con EDA o TNBS, según sea el derivado de CALB usado, pueden deberse a varias causas. Por ejemplo, es posible que algunos grupos de CALB ubicados en un ambiente altamente hidrofóbico e implicados en la adsorción de la enzima al soporte OC (como el Asp-145, que se encuentra en el lid) no hayan sido modificados por el agente hidrofílico (EDA), permitiendo una mayor recuperación de la actividad enzimática (Hernández & Fernández-Lafuente, 2011; Hernández *et al.*, 2011). Otra posibilidad, es que mientras la lipasa adsorbida sobre el soporte Octil-Agarosa desplace y fije el lid, estabilizando la conformación abierta, la CALB inmovilizada de manera covalente tiene el lid completamente libre para moverse. Aunque el centro activo de CALB inmovilizado en BrCN no

esté completamente aislado del medio, es probable que después de la modificación química, algunos movimientos del *lid* se encuentren restringidos por impedimentos estéricos de manera que el efecto final de la modificación es una disminución en la actividad enzimática.

La posterior modificación con EDA de los derivados OC-CALB-TNBS y BrCN-CALB-TNBS altera el balance de cargas sobre la superficie enzimática al cambiar grupos aniónicos (grupos carboxilos ionizados) por grupos catiónicos (grupos amino ionizados), ocasionando probablemente un cambio conformacional en la enzima. En este sentido, la aminación del derivado OC-CALB-TNBS incrementó la actividad enzimática del nuevo derivado OC-CALB-TNBS-EDA en la hidrólisis del pNPB en un 15% y 30% en comparación con los derivados OC-CALB y OC-CALB-TNBS, respectivamente.

El efecto final de la modificación con EDA fue diferente cuando se utilizó el derivado BrCN-CALB-TNBS. La actividad del nuevo derivado BrCN-CALB-TNBS-EDA frente al pNPB disminuyó 41% y 5% con relación a los derivados BrCN-CALB y BrCN-CALB-TNBS, respectivamente (Ver **Tabla 2**). La disminución en la actividad de los derivados de CALB inmovilizados de forma covalente con EDA se debieron posiblemente a que la modificación pudo haber cambiado algunas interacciones electrostáticas existentes entre el *lid* y el área del centro activo de la proteína, por fuerzas de repulsión. Por ejemplo, es posible que la aminación de los residuos Asp-145 y Glu-294, o la modificación con TNBS del residuo de Lys-308 haya ocasionado algún efecto sobre el movimiento del *lid*.

Los derivados OC-CALB-TNBS-EDA y BrCN-CALB-TNBS-EDA fueron modificados con TNBS. La modificación puede ocasionar un incremento en la hidrofobicidad de la enzima, ya que implica la introducción de 15 grupos trinitrobenzil más (25 grupos TNBS en total) sobre la superficie de CALB. Los resultados obtenidos señalan que el derivado OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS fue 30% y 60% menos activo en la hidrólisis de pNPB que los derivados OC-CALB y OC-CALB-TNBS-EDA, respectivamente. Por su parte, la modificación

Tabla 2. Actividad relativa de los diferentes derivados de CALB modificados con TNBS y EDA en la hidrólisis de pNPB (0.4 mM) a pH 7 y 25°C. 100% corresponde a la actividad relativa del derivado de CALB no modificado. Los experimentos se realizaron de acuerdo con lo descrito en la sección métodos analíticos.

Derivado	Actividad relativa				
	CALB	CALB-EDA	CALB-TNBS	CALB-TNBS-EDA	CALB-TNBS-EDA-TNBS
OC	100	140 ± 3	83 ± 4	115 ± 5	70 ± 2
BrCN	100	49 ± 2	63 ± 3	59 ± 2	58 ± 1

del derivado de CALB inmovilizado de manera covalente BrCN-CALB-TNBS-EDA no afectó de forma significativa la actividad enzimática frente a pNPB del nuevo derivado.

Las diferencias de actividad encontradas entre los derivados OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS y BrCN-CALB-TNBS-EDA-TNBS se deben posiblemente a que mientras en el derivado inmovilizado por adsorción interfacial la modificación con TNBS ocasionó cambios en las interacciones existentes entre los residuos Asp-167, Glu-223 y Glu-188 alterando desfavorablemente la forma del centro activo, en el derivado inmovilizado covalentemente es probable que la modificación no haya tocado los residuos anteriormente mencionados.

Considerando que los derivados de OC-CALB modificados con TNBS y EDA retuvieron el mayor porcentaje de su actividad enzimática, y además, exhibieron una mayor estabilidad en comparación con los derivados modificados de BrCN-CALB, los estudios que se describen a continuación se realizaron solo con los derivados de OC-CALB.

La **Figura 11** muestra el efecto del pH sobre la actividad de los 5 derivados de OC-CALB modificados con EDA y TNBS. Sobresalen las diferencias en el valor del pH óptimo entre el derivado OC-CALB-EDA que exhibió la máxima actividad a pH 7 y el derivado no modificado OC-CALB que presentó la máxima actividad a pH 9.

El derivado OC-CALB-EDA presentó mayor actividad en todo el rango de pH estudiado (rango de pH 5-10) en comparación con el derivado no modificado. El derivado OC-CALB-EDA, presentó un marcado efecto de hiperactivación, con respecto al derivado no modificado a valores de pH entre pH 5 y pH 7. Por ejemplo, a pH 5 y pH 6, la actividad de OC-CALB-EDA se incrementó 180% y 170% en comparación con la actividad del derivado OC-CALB frente al pNPB (Ver **Figura 9**). Sin embargo, a pH 10, donde la enzima no modificada disminuyó su actividad un 65%, el derivado OC-CALB-EDA retuvo el 44% de la actividad máxima exhibida a pH 7.

El derivado OC-CALB-TNBS-EDA, a pH 5, incrementó en un 60% la actividad enzimática en comparación con la enzima no modificada. En el rango de pH entre pH 7 y pH 9 este incremento estuvo entre el 10% y 15% en comparación con OC-CALB, y entre 30% y 40% cuando se comparó con el derivado OC-CALB-TNBS. A pH 10, el derivado OC-CALB-TNBS-EDA fue menos activo que OC-CALB-EDA y OC-CALB, reteniendo tan solo el 20% de su actividad máxima.

El incremento en la actividad enzimática de los derivados OC-CALB-EDA y OC-CALB-TNBS-EDA frente a la hidrólisis de pNPB en el rango de pH 5 a pH 8 en comparación con el derivado no modificado OC-CALB, se debió posiblemente a que el tratamiento con EDA generó una conformación estructural de la enzima más favorable al modificar los

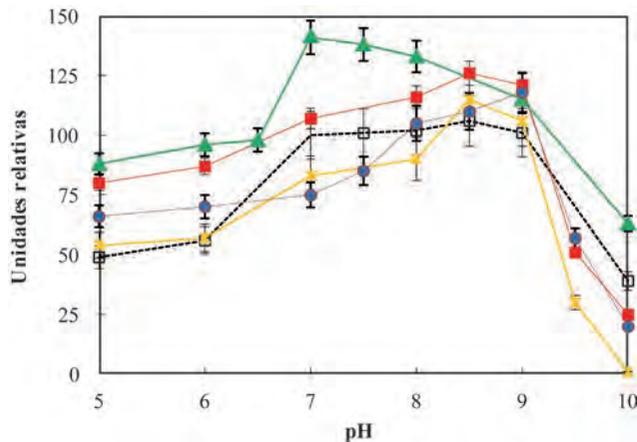


Figura 11. Influencia del valor del pH sobre la actividad de los diferentes derivados modificados de OC-CALB. Los experimentos se realizaron a 25 °C, usando p-NPB 0.4 mM como sustrato, de acuerdo con lo descrito en la sección de materiales y métodos. 100 unidades relativas corresponden a la actividad del derivado no modificado OC-CALB a pH 7. (□) OC-CALB (▲) OC-CALB-EDA; (x) OC-CALB-TNBS (■) OC-CALB-TNBS-EDA; (●) OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS.

residuos Asp-187, Asp-223 y el Glu-188 (Ver **Figura 9**) que se encuentran muy cerca de la región del lid, afectando los movimientos del mismo y cambiando la forma exacta del centro activo. Sin embargo, a valores de pH 9 y 10, es posible que la actividad haya disminuido en comparación con OC-CALB debido a que los nuevos grupos amino introducidos sobre la superficie enzimática se encuentran desprotonados -tienen un valor de pK de 9.2- ocasionando la pérdida de interacciones electrostáticas que mantenían una conformación más activa (**Rodriguez et al., 2009; Cabrera et al., 2009; Diaz-Rodriguez & Davis, 2011**).

El derivado OC-CALB-TNBS presentó una actividad muy similar al derivado no modificado OC-CALB en el rango de valores de pH estudiados (rango de pH 5-7). Las diferencias más notables se encontraron a pH 7, en donde el derivado OC-CALB-TNBS disminuyó la actividad enzimática un 20% frente al pNPB, con respecto al derivado OC-CALB. A pH 10, el derivado OC-CALB retiene cerca del 30% de su actividad mientras que OC-CALB-TNBS se inactivó por completo.

Finalmente, el derivado OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS fue entre 20% y 30% menos activo que el derivado OC-CALB-TNBS-EDA, en todo el rango de pH estudiado. Estos resultados reafirman que la modificación con TNBS causó un efecto negativo sobre la actividad de CALB, debido probablemente a que con la introducción de los grupos trinitrobenzil se rompieron interacciones electrostáticas importantes para el mantenimiento de una conformación de la enzima más activa.

La **Tabla 3** muestra los tiempos de vida media de los derivados de OC-CALB modificados con TNBS y EDA, bajo diferentes condiciones de inactivación térmicas. Éstas fueron realizadas sobre el derivado OC-CALB a pH 5, pH 7 y pH 9, mostraron que la enzima no modificada es altamente estable a pH 5, mientras que a pH 9 su tiempo de vida media fue corto, incluso a una temperatura más baja (50 °C a pH 9 y 60 °C a pH 5 y pH 7).

La modificación con EDA produjo una disminución en la estabilidad de CALB en los valores estudiados de pH 5, 7 y 9. A pH 7, la estabilidad decreció en un factor de 5 en comparación con el derivado OC-CALB, mientras que a valores de pH 5 y 9 disminuyeron en un factor de 1.35 y 1.4, respectivamente.

La modificación con TNBS redujo la estabilidad del derivado OC-CALB a pH 5 en un factor de 2 y a pH 7 en un factor de 1.6. Sin embargo, a pH 9 esta modificación incrementó la estabilidad de OC-CALB por un factor de 1.4. Comparando la estabilidad del derivado modificado con EDA (OC-CALB-EDA) con el derivado OC-CALB-TNBS, la modificación química únicamente con TNBS produjo derivados menos estables a pH 5.

El derivado OC-CALB-TNBS-EDA fue menos estable que el derivado OC-CALB-TNBS a pH 7 y pH 9, en un 28% y 52%, respectivamente. Sin embargo, a pH 5, el derivado OC-CALB-TNBS-EDA fue 28% más estable que OC-CALB. Por su parte, el derivado OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS fue el biocatalizador menos estable bajo las condiciones estudiadas. Esto sugiere que el aumento en la hidrofobicidad de la superficie de CALB ocasionada por la modificación con TNBS, produce un efecto desestabilizante sobre la enzima debido probablemente a que con la introducción de los grupos trinitrobenzil se rompieron interacciones electrostáticas que contribuían en la estabilidad de la estructura 3D de la enzima (**Ueji et al., 2003; Rodriguez et al., 2011**).

La estabilidad de los derivados OC-CALB, OC-CALB-EDA, OC-CALB-TNBS, OC-CALB-TNBS-EDA y OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS fue evaluada de forma similar a 37°C. En este caso, todos los derivados de OC-CALB modificados mantuvieron cerca del 95% de sus actividades después de una semana de incubación.

La estabilidad de los derivados modificados de CALB fue evaluada en presencia de una mezcla de 50% (v/v) de dioxano/ buffer Tris-HCl 100mM a valores de pH 5, 7 y 9 a 60°C, de acuerdo con lo descrito en la sección de métodos experimentales.

Los resultados presentados en la **Tabla 3** demuestran que las modificaciones químicas produjeron un decrecimiento en la estabilidad de los diferentes derivados de CALB modificados con EDA y TNBS. En general, los tiempos de vida media de

Tabla 3. Tiempos de vida media (horas) de los diferentes derivados modificados de OC-CALB en presencia de Dioxano 50% (v/v) a diferentes valores de pH. Los experimentos se realizaron de acuerdo con lo descrito en la sección de métodos experimentales.

DERIVADO	Tiempo de Vida Media (h)		
	pH 5, 45°C	pH 7, 45°C	pH 9, 45°C
OC-CALB	2 ± 0.15	4.8 ± 0.15	1.8 ± 0.12
OC-CALB-EDA	1.5 ± 0.05	3.5 ± 0.15	1 ± 0.07
OC-CALB-TNBS	1.8 ± 0.1	5.5 ± 0.25	1 ± 0.05
OC-CALB-TNBS-EDA	0.9 ± 0.1	2.8 ± 0.1	3 ± 0.15
OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS	1.5 ± 0.1	2.5 ± 0.15	2.5 ± 0.15

estos derivados se redujeron (sin exceder en un factor de 2) en comparación con el derivado no modificado OC-CALB. Las excepciones fueron el derivado OC-CALB-TNBS que fue 1.5 veces más estable a pH 7 y el derivado OC-CALB-TNBS-EDA que fue 1.6 veces más estable a pH 9.

De nuevo, el punto más relevante es que a pesar de las múltiples modificaciones químicas realizadas sobre la superficie de CALB, los derivados obtenidos retuvieron niveles aceptables (superiores a 50%) de estabilidad en presencia de dioxano. Los derivados de OC-CALB modificados con EDA y TNBS, fueron incubados a valores de pH 5, 7 y 9 a 25°C por una semana. Las actividades residuales de todas las preparaciones fueron superiores al 90%, destacando la elevada estabilidad a temperatura ambiente de los derivados de OC-CALB modificados.

Es posible que los efectos causados por las modificaciones químicas sobre la estabilidad del derivado OC-CALB, se deban a que las modificaciones químicas ocasionaron cambios drásticos en las interacciones entre los residuos que se encuentran sobre la superficie de la CALB y el microambiente que rodea la enzima.

Las modificaciones químicas realizadas sobre el derivado OC-CALB permitieron desarrollar una pequeña librería de biocatalizadores, en algunos casos con una leve hiperactivación frente a un sustrato sintético como el p-NPB y una ligera estabilización bajo ciertas condiciones experimentales. Sin embargo, diferentes estudios encontrados en la literatura (Cabrera *et al.*, 2009; Rodrigues *et al.*, 2011; Galvis *et al.*, 2012) señalan que la modificación química de lipasas es una poderosa herramienta que permite alterar la especificidad de la enzima. Por esta razón, se evaluó la actividad de los derivados modificados de OC-CALB en la hidrólisis del R-mandelato de metilo, sustrato de estructura química más compleja en comparación con el p-NPB.

La **Tabla 4** muestra el comportamiento de los diferentes derivados de OC-CALB en la hidrólisis del R-mandelato de metilo a valores de pH 5, 7 y 9.

Tabla 4. Actividad de las diferentes preparaciones de OC-CALB en la hidrólisis del R-Mandelato de metilo, 10 mM a pH 7 y 25°C. Los experimentos fueron realizados de acuerdo con lo descrito en la sección métodos experimentales.

Biocatalizador	Actividad Enzimática ^a		
	pH 5	pH 7	pH 9
OC-CALB	44.8 ± 1	48.4 ± 1	11.6 ± 0.5
OC-CALB-EDA	22.6 ± 0.5	30.6 ± 1.5	9.1 ± 0.5
OC-CALB-TNBS	71.3 ± 1	33.3 ± 1	10.9 ± 0.5
OC-CALB-TNBS-EDA	25.2 ± 1	29.8 ± 1	11.2 ± 0.5
OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS	25.8 ± 0.5	27.5 ± 0.5	11 ± 0.5

^a La Actividad se definió como $\mu\text{mol/g}_{\text{biocatalizador}}/\text{min}$ usando como sustrato R-mandelato de metilo (10mM).

En la **Tabla 4**, se destaca el derivado OC-CALB por ser el más activo a pH 7 (48U/g) en comparación con los derivados modificados de OC-CALB. Sin embargo, el cambio en el valor de pH del medio de reacción ocasionó una disminución en la actividad de este derivado. A pH 5, su actividad disminuyó levemente en un factor de 1.1, mientras que a pH 9 decreció 4 veces con respecto a la actividad a pH 7.

El comportamiento del derivado OC-CALB, fue totalmente diferente cuando se empleó como sustrato el p-NPB (ver **Figura 11**), en donde exhibió su máxima actividad a pH 9. Este cambio en el perfil pH/Actividad de la enzima, es consecuencia de la naturaleza química del sustrato. Mientras el p-NPB es un sustrato neutro, el R-mandelato de metilo tiene un grupo ionizable. Por tanto, la conformación “óptima” que adopte la enzima a un valor de pH dado, será diferente cuando se use p-NPB o se emplee como sustrato el R-mandelato de metilo. Esto se verá reflejado en un cambio evidente en la especificidad de la enzima hacia uno u otro sustrato (Barbosa *et al.*, 2012).

Por ejemplo, el derivado OC-CALB-EDA es menos activo frente al R-mandelato de metilo a los 3 valores de pH estudiados, en comparación con la enzima no modificada. Estos resultados contrastan con la alta actividad exhibida por este derivado frente al p-NPB, principalmente a valores de pH ácidos.

El derivado OC-CALB-TNBS que no mostró cambios drásticos en su actividad frente al p-NPB a los valores de pH estudiados, incrementó su actividad a pH 5 en un 160% cuando se empleó como sustrato el R-mandelato de metilo. A pH 7 disminuyó su actividad 1.45 veces, mientras que a pH 9 la actividad no sufrió ningún cambio significativo.

La aminación del derivado OC-CALB-TNBS produjo una disminución significativa de la actividad frente al R-mandelato de metilo a pH 5 (alrededor de un factor de 3) con respecto a este mismo derivado no aminado. A pH 7, sufrió una leve

disminución de la actividad, mientras que a pH 9, el efecto de la modificación con EDA fue despreciable. Además, esta preparación fue menos activa que el derivado de CALB sin modificar excepto a pH 9. La alteración adicional con TNBS (OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS) no causó un efecto significativo sobre la actividad enzimática frente a este sustrato.

Por lo tanto, los resultados obtenidos revelaron que diferentes derivados modificados de la misma lipasa presentan distinta actividad frente a un mismo sustrato; y, un mismo derivado presenta diferente actividad frente a distintos sustratos. Además, el efecto del pH sobre la actividad catalítica de las lipasas también es diferente dependiendo del derivado inmovilizado utilizado.

La propiedad catalítica más interesante de las lipasas es la enantioselectividad (E) frente a sustratos quirales. En este caso, se analizó el efecto de la modificación química sobre la enantioselectividad de los derivados de CALB en la hidrólisis del R y S mandelato de metilo bajo diferentes condiciones de reacción.

Estudios previos realizados en nuestro grupo de investigación han confirmado que esta reacción sigue una cinética de primer orden (hasta una concentración máxima del éster de 100 mM). Por lo tanto, la enantioselectividad (E) de los diferentes derivados modificados de CALB puede ser determinada como la razón entre la velocidad de reacción del enantiómero R con la velocidad del enantiómero S.

Bajo las condiciones de estudio a pH 5, 7 y 9 a 25°C (**Tabla 5**), todos los derivados modificados de la CALB presentaron una preferencia estereoquímica sobre el enantiómero R.

Los valores de E para cada derivado (**Tabla 5**) variaron en muchos casos de forma drástica, con el cambio de pH del medio de reacción. Por ejemplo, el derivado OC-CALB exhibió su valor máximo de enantioselectividad a pH 7 (E=25.5); a pH 9, el valor E disminuyó en un factor de 2.9 veces (E= 8.9) y a pH 5 disminuyó aproximadamente 2.2 veces (E=11.2).

La aminación produjo un incremento en la enantioselectividad del derivado OC-CALB-EDA a pH 7 (E=35.6) y a pH 9 (E=11.4) con respecto al derivado no modificado OC-CALB.

Sin embargo, a pH 5 el valor E disminuyó en un factor de 1.5 veces (E=7.3). En este punto, es importante resaltar, el valor E de 35.6 del derivado a pH 7, constituyendo la preparación más enantioselectiva encontrada en este estudio. El resultado sugiere que la modificación con EDA causó una disminución en la actividad del derivado OC-CALB-EDA frente al enantiómero S a pH 5.

La modificación química con TNBS produjo un aumento en la enantioselectividad del derivado OC-CALB-TNBS a pH 5 de 1.4 veces (E=16.2) y a pH 9 de 1.7 veces (E=15.2) con respecto al derivado no modificado. Por su parte, a pH 7 (E=22), no se registró alteración en el valor de E en comparación con el derivado OC-CALB.

La aminación adicional del derivado OC-CALB-TNBS, ocasionó que el derivado OC-CALB-TNBS-EDA fuera 7.6 veces menos enantioselectivo a pH 5, que el derivado OC-CALB. A pH 9, la preparación modificada fue 1.4 veces más enantioselectiva que la CALB. Sin embargo, a pH 7, la modificación química no afectó el valor de E del derivado modificado.

Por su parte, el derivado OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS exhibió una enantioselectividad similar a su derivado precursor (OC-CALB-TNBS-EDA) en los 3 valores de pH estudiados. Este comportamiento es interesante si se considera el cambio drástico que sufre la naturaleza química de la superficie enzimática como consecuencia del aumento de la hidrofobicidad.

Por lo tanto, las modificaciones químicas realizadas sobre la superficie de CALB, produjeron importantes cambios en la enantioselectividad de la enzima bajo diferentes condiciones experimentales. En este sentido, es de resaltar los valores aceptables de enantioselectividad que exhibieron los derivados OC-CALB-TNBS a pH 5 (E=16.2) y a pH 9 (E=15.2), y de OC-CALB-EDA a pH 7 (E=35.6).

3.1 Modificación Química de Biocatalizadores de CALB con EDA y Anhídrido Succínico

La caracterización electroforética de los derivados de CALB inmovilizados en octil agarosa y modificados por succinilación

Tabla 5. Enantioselectividad de los derivados modificados de CALB en la hidrólisis del R y S-mandelato de metilo 10 mM, bajo diferentes condiciones experimentales. Los experimentos fueron realizados de acuerdo con lo descrito en la sección de materiales y métodos

Biocatalizador	pH 5		pH 7		pH 9	
	Enantio-preferencia	E ^a	Enantio- preferencia	E ^a	Enantio- preferencia	E ^a
OC-CALB	R	11.2 ± 0.2	R	25.5 ± 0.2	R	8.9 ± 0.1
OC-CAL-EDA	R	7.3 ± 0.1	R	35.6 ± 0.2	R	11.4 ± 0.1
OC-CALB-TNBS	R	16.2 ± 0.2	R	22.2 ± 0.2	R	15.2 ± 0.1
OC-CALB-TNBS-EDA	R	7.6 ± 0.1	R	27 ± 0.3	R	12.4 ± 0.1
OC-CALB-TNBS-EDA-TNBS	R	6.1 ± 0.1	R	27.5 ± 0.15	R	12.2 ± 0.1

^a El valor E se determinó como la razón: Actividad frente a R-mandelato de metilo / Actividad frente a S-metil mandelato.

al 10% (OC-CALB-S-10%), 50% (OC-CALB-S-50%) y 100% (OC-CALB-S-100%) se realizó mediante electroforesis en condiciones desnaturalizantes y no desnaturalizantes.

En la **Figura 12** se muestra el perfil electroforético por SDS-PAGE de los derivados de CALB modificados químicamente por succinilación. En ella se puede observar como el proceso de modificación química con anhídrido succínico no causó la formación de dímeros o macromoléculas de la lipasa.

La electroforesis en condiciones no desnaturalizantes (Nativa-PAGE) (Ver **Figura 13**) permitió observar que la introducción de grupos carboxilos ionizables sobre la superficie proteica de la enzima, incrementó la densidad de cargas negativas, alterando con ello la carga neta de la CALB. Este efecto fue notable, en los derivados modificados al 50% y 100%, los cuales presentaron mayores velocidades de migración hacia el ánodo, en comparación con la modificación parcial del 10% y el derivado de CALB no modificado.

La estabilidad térmica de las distintas preparaciones de OC-CALB modificadas químicamente por succinilación, fue evaluada a 70 °C, de acuerdo con lo descrito en la sección de materiales y métodos.

En la **Figura 14** se muestra el perfil de inactivación térmica de los diferentes derivados de OC-CALB modificados con anhídrido succínico. Se observa que después de 5 horas de incubación a 70 °C, los derivados de OC-CALB modificados por succinilación al 50% y 100%, perdieron cerca del 45% de la actividad inicial. Aun así, fueron 2 veces más estables

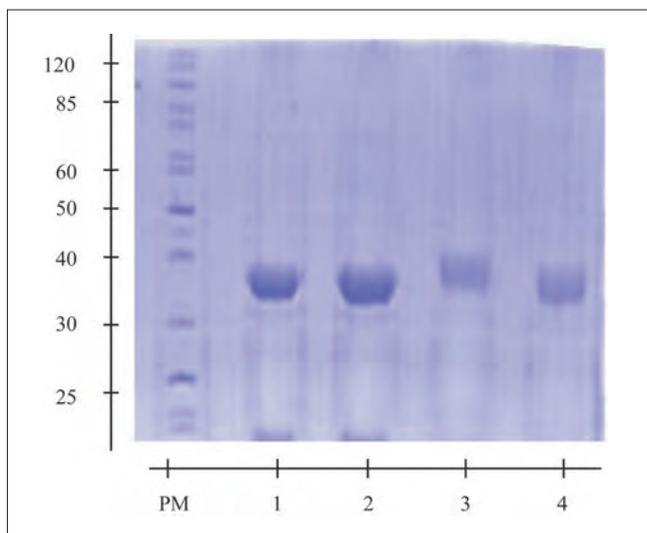


Figura 12. Electroforesis SDS-PAGE de los derivados de OC-CALB succinilados.

PM: Marcadores de PM conocido; Carril 1: OC-CALB; Carril 2: OC-CALB-S-10%; Carril 3: OC-CALB-S-50%; Carril 4: OC-CALB-S-100%.

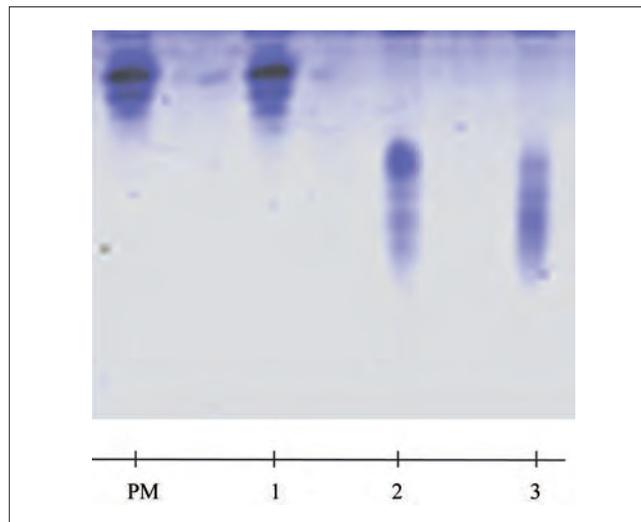


Figura 13. Electroforesis en condiciones No-desnaturalizantes (PAGE-nativa) de los derivados de OC-CALB succinilados. PM: Marcadores de PM conocido; Carril 1: OC-CALB-S-10%; Carril 2: OC-CALB-S-50%; Carril 3: OC-CALB-S-100%

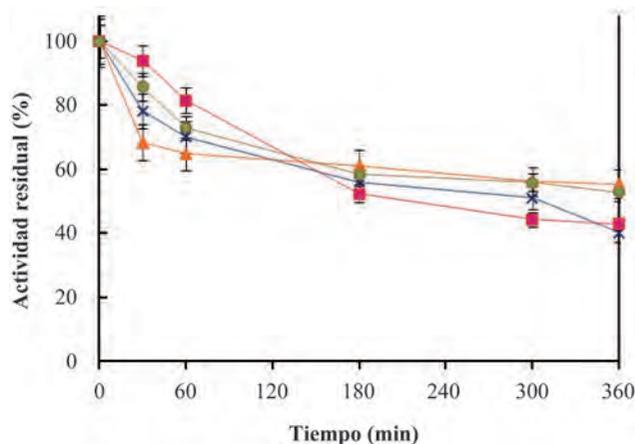


Figura 14. Cursos de inactivación térmica para los diferentes derivados succinilados de CALB. La inactivación térmica se realizó a pH 7 y 70°C, usando como sustrato p-NPB 0.4 mM para determinar la actividad residual. (X) OC-CALB, (■) OC-CALB-S-10%, (▲) OC-CALB-S-50%, (●) OC-CALB-S-100%.

que los derivados OC-CALB y OC-CALB-S-10%, los cuales transcurrido el mismo lapso de tiempo habían perdido el 58% de su actividad.

Estos resultados sugieren, que los derivados OC-CALB-S-50% y OC-CALB-S-100% son más estables que el derivado OC-CALB-S-10% y que la enzima no modificada. El incremento en la estabilidad de los derivados OC-CALB-S-50% y OC-CALB-S-100% se debió quizás a que la introducción de un mayor número de grupos aniónicos sobre la superficie proteica

de la CALB, generó nuevas interacciones electrostáticas en zonas de la proteína que pudieron estabilizar una conformación más favorable para la lipasa a la temperatura de estudio (**Kotormán *et al.*, 2009**).

Los derivados de OC-CALB se aminaron también a diferentes grados de modificación (10, 50 y 100%). En el proceso de aminación, el efecto de la modificación es más significativo que en la succinilación, debido a la mayor cantidad de grupos carboxilos reactivos en la superficie de CALB en comparación con los grupos amino. En este caso, 16 de los 19 grupos carboxilo totales de la CALB inmovilizada sobre octil agarosa fueron involucrados en la modificación, incluido el grupo carboxilo terminal.

De igual forma el grado de modificación de los derivados OC-CALB modificados por aminación, fue controlado mediante la concentración del agente activante (carbodiimida) de los grupos carboxilo en el medio de reacción. El incremento de grupos aminos se comprobó mediante la titulación de los grupos amino primarios disponibles en la enzima mediante el ácido picrilsulfónico (TNBS) (**Snyder *et al.*, 1975; Montes *et al.*, 2006**). Los derivados de OC-CALB modificados bajo las condiciones descritas en la tabla 10, se nombraron de acuerdo al grado de modificación así: OC-CALB-EDA-10%; OC-CALB-EDA-50% y OC-CALB-EDA-100%.

Teniendo en cuenta que la modificación química en ningún caso es completamente específica, algunos grupos, por ejemplo, los grupos hidroxilos de las cadenas laterales de los residuos de tirosinas, pueden ser afectados por la carbodiimida. Sin embargo, esta modificación sobre las tirosinas es revertida mediante la incubación de los derivados en una solución de

hidroxilamina, obteniendo así nuevamente las tirosinas libres (**Carraway & Koshland, 1968**). Estos derivados incubados en hidroxilamina se nombraron: OC-CALB-EDA-H-10%; OC-CALB-EDA-H-50% y OC-CALB-EDA-H-100%.

Al igual que para la caracterización de los derivados succinilados, los derivados aminados de CALB inmovilizados en octil agarosa, fueron caracterizados mediante estudios electroforéticos en condiciones desnaturalizantes y no desnaturalizantes. La electroforesis en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) se realizó para comprobar que el proceso de modificación por aminación de los derivados inmovilizados en octil agarosa CALB, no causaba formación de dímeros y oligómeros de la enzima (Ver **Figura 15a**).

La electroforesis en condiciones no desnaturalizantes (Nativa-PAGE) permitió comprobar el cambio en la densidad de carga causado por los diferentes grados de modificación de la CALB inmovilizada en octil agarosa. La **Figura 15b** muestra que la modificación gradual de los grupos carboxílicos (modificación del 10%, 50% y 100%) altera de la misma forma la movilidad electroforética de la CALB. Lo cual sugiere que el punto isoeléctrico de la enzima se modificó de acuerdo con el grado de modificación realizado. Por ejemplo, la modificación del 10% de los grupos carboxílicos alteró ligeramente la velocidad de migración de la CALB. La modificación al 50% ocasionó un incremento en el punto isoeléctrico de la enzima tal vez cercano al pH del buffer de corrido (pH 8). Por su parte, la modificación masiva (100% de modificación) alteró de forma drástica el punto isoeléctrico de la enzima -de un pI 5.9 a uno por encima de 11- lo cual se vio reflejado en la velocidad de migración en la electroforesis.

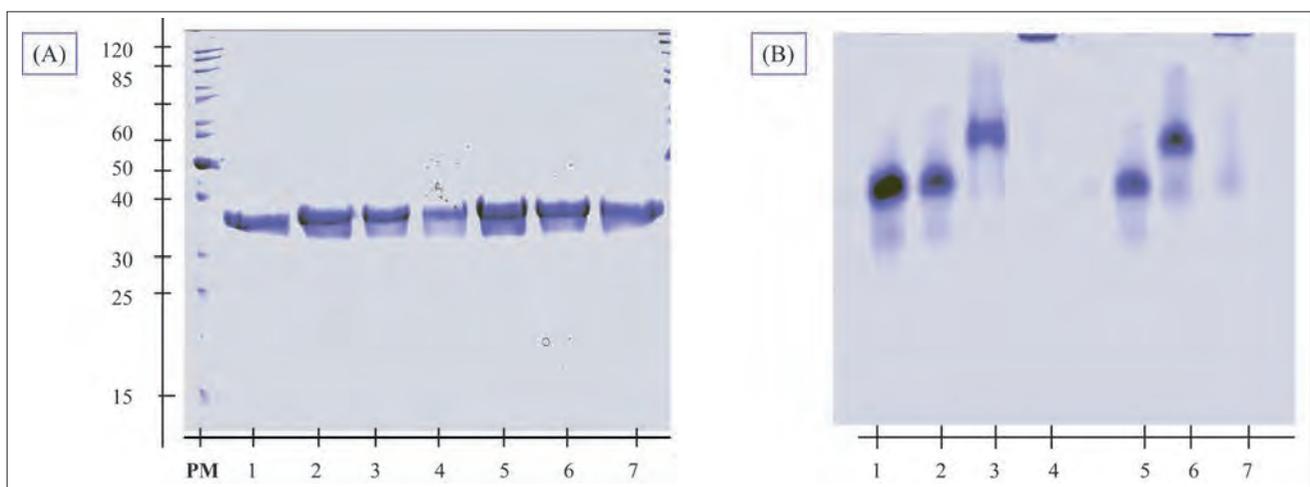


Figura 15. Caracterización electroforética de los derivados de OC-CALB aminados. A) Electroforesis SDS-PAGE. B) Electroforesis nativa-PAGE. Carril PM: Marcador de peso molecular. Carril 1: OC-CALB; Carril 2: OC-CALB-EDA-10%; Carril 3: OC-CALB-EDA-50%; Carril 4: OC-CALB-EDA-100%; Carril 5: OC-CALB-EDA-H-10%; Carril 6: OC-CALB-EDA-H-50%; Carril 7: OC-CALB-EDA-H-100%.

Adicionalmente, los derivados de CALB aminados al 10, 50 y 100% fueron incubados en hidroxilamina con el fin de recuperar los grupos hidroxilo de las cadenas laterales de los residuos de tirosina que pudieron haber sido afectados por la carbodiimida previo a la modificación con EDA. La SDS-nativa (Ver **Figura 15b**) muestra que el tratamiento no afectó la movilidad electroforética de los diferentes derivados.

La aminación gradual de los residuos carboxílicos ionizables en la superficie proteica del derivado OC-CALB no causó un efecto significativo sobre la actividad exhibida por los nuevos derivados obtenidos frente a la hidrólisis del p-NPB (Ver **Tabla 6**).

En la **Tabla 6** se puede observar que los derivados OC-CALB-A-10% y OC-CALB-A-50% retuvieron el 100% de la actividad inicial exhibida por el derivado no modificado. Sin embargo, el derivado de la CALB obtenido por la modificación masiva de sus grupos carboxilo (OC-CALB-EDA-100%) incrementó la actividad en un factor de 1.4 veces con respecto mostrada por el derivado no modificado OC-CALB. Este incremento notable en la actividad enzimática puede deberse a que el aumento en el número de grupos con carga positiva sobre la superficie enzimática de la CALB (16 grupos catiónicos más por molécula), ocasiona posiblemente un cambio conformacional favorable de la enzima, producto de la alteración de las interacciones electrostáticas presentes en su estructura 3D. Adicionalmente, se pueden estar generando cambios en las interacciones del lid con otros sitios de la proteína, generando así cambios en la forma exacta del centro activo de la lipasa (**Palomo et al., 2007; Rodrigues et al., 2009**).

Por otra parte, el tratamiento de los diferentes derivados modificados de OC-CALB con hidroxilamina para recuperar las tirosinas que posiblemente se vieron afectadas por la activación con carbodiimida, no afectó significativamente la actividad enzimática exhibida por cada derivado.

El estudio de inactivación de los derivados aminados de OC-CALB usando 50%(v/v) de solvente orgánico tetrahydrofurano (THF) a 40°C (Ver **Tabla 7**), mostró en general

Tabla 6. Efecto del grado de modificación con EDA sobre la actividad relativa de los derivados de OC-CALB frente al p-NPB. 100 corresponde a la actividad del derivado de CALB no modificado. Los experimentos se realizaron de acuerdo con lo descrito en la sección de métodos analíticos.

Derivados	Actividad relativa (%)	
	Derivados sin tratar con hidroxilamina	Derivados tratados con hidroxilamina
OC-CALB	100 ± 3	98 ± 2
OC-CALB-EDA-10%	100 ± 7	92 ± 4
OC-CALB-EDA-50%	100 ± 2	102 ± 5
OC-CALB-EDA-100%	140 ± 5	137 ± 3

que la aminación gradual de la CALB con EDA ocasiona posiblemente un cambio conformacional en la estructura 3D de la enzima desfavorable para la estabilidad. Ejemplo de ello, es la disminución en los tiempos de vida media exhibidos por los derivados OC-CALB-EDA-10%, OC-CALB-EDA-50% y OC-CALB-EDA-100% en comparación con el derivado de la enzima no modificada.

Así, OC-CALB-EDA-10% fue 1.15 veces menos estable que el derivado no modificado. Por su parte, los derivados OC-CALB-EDA-50% y OC-CALB-EDA-100% presentaron una estabilidad similar, siendo 3.8 veces menos estables que el derivado OC-CALB.

El tratamiento de los derivados aminados con hidroxilamina para regenerar las tirosinas afectadas por la activación con carbodiimida, permitió recuperar entre un 15 y un 20% de la estabilidad perdida por la modificación, para los derivados OC-CALB-EDA-50% y OC-CALB-EDA-100%. En este estudio, sobresale el incremento en la estabilidad del derivado OC-CALB-EDA-10%, el cual no solo recuperó el 100% de la estabilidad sino que fue 2.13 veces más estable que el derivado no modificado.

Los resultados sugieren que los grupos hidroxilo regenerados en las tirosinas (5 residuos accesibles al medio) forman tal vez interacciones adicionales de tipo puente de hidrógeno con el medio de reacción y con otros aminoácidos próximos en la superficie proteica que estabilizan más la conformación adquirida por la enzima modificada con grupos amino (**Rodrigues et al., 2011; Galvis et al., 2012**).

La **Tabla 7**, resume los tiempos de vida media de los diferentes derivados de OC-CALB aminados gradualmente con EDA, al ser incubados en tetrahydrofurano 50% (v/v).

La propiedad catalítica más interesante de las lipasas es la enantioselectividad frente a sustratos quirales. En este caso, se analizó el efecto de la inmovilización y la modificación con etilendiamina y anhídrido succínico sobre la actividad y enantioselectividad de la CALB en la hidrólisis de (R) y (S)-mandelato de metilo.

Tabla 7. Tiempos de vida media (horas) de los diferentes derivados modificados de OC CALB en presencia de tetrahydrofurano 50% (v/v) / buffer Tris-HCl 50mM de pH 7 a 40°C. Los experimentos se realizaron de acuerdo a lo descrito en la sección de métodos experimentales.

Derivados	Tiempos de vida media (h)	
	Derivados sin tratar con hidroxilamina	Derivados tratados con hidroxilamina
OC-CALB	1.5	1.5
OC-CALB-EDA-10%	1.3	3.2
OC-CALB-EDA-50%	0.4	0.3
OC-CALB-EDA-100%	0.4	0.7

Tabla 8. Efecto de la naturaleza del soporte y la modificación química en fase sólida con etilendiamina y anhídrido succínico sobre la enantioselectividad de la CALB catalizando la hidrólisis de (R) y (S)-mandelato de metilo 10 mM, pH 7.

Derivados	Enantiopreferencia	E*
OC-CALB	R	25.5 ± 0.2
OC-CALB-EDA-100%	R	35.6 ± 1.2
OC-CALB-S-100%	R	16.3 ± 0.5
EC-CALB	R	7.5 ± 0.7
EC-CALB-EDA-100%	R	16.6 ± 1
EC-CALB-S-100%	R	13.2 ± 0.8

* El valor E se determinó como la razón: Actividad frente a R-mandelato de metilo / Actividad frente a S-metil mandelato.

La enantioselectividad de la CALB en la hidrólisis del (R) y (S)-mandelato de metilo, se vio afectada tanto por la estrategia de inmovilización como por la modificación química realizada (Ver **Tabla 8**). Por ejemplo, el derivado OC-CALB-EDA-100% fue 2.2 veces y 1.4 veces más enantioselectivo que los derivados OC-CALB-S-100% y OC-CALB, respectivamente.

Con el cambio en la naturaleza química del soporte y la orientación de la enzima sobre el mismo, la enantioselectividad de la CALB se vio afectada de manera dramática. Por ejemplo, la disminución de la enantioselectividad del derivado EC-CALB-EDA-100% en un factor de 2.2 veces en comparación con el derivado OC-CALB-EDA-100%. Sin embargo, es de resaltar que la enantioselectividad del derivado EC-CALB se incrementó en un factor de 2.2 veces debido a la aminación con EDA y 1.8 debido a la succinilación.

Por lo tanto, los resultados obtenidos confirman que el efecto de la modificación química en fase sólida sobre las propiedades biocatalíticas de CALB es dependiente de la zona de la proteína involucrada en el proceso de inmovilización y de la rigidez que adopte su estructura 3D sobre la superficie del soporte (**Cabrera et al.**, 2009; **Forde et al.**, 2010; **Diaz-Rodriguez & Davis**, 2011).

4. Conclusiones

En este trabajo se muestra que la modificación química de enzimas es una herramienta interesante para modificar sus propiedades bioquímicas. Además, se demostró que la misma modificación química en enzimas inmovilizadas en diferentes soportes puede producir diferentes efectos en sus propiedades bioquímicas. Esto sugiere que la combinación de diferentes protocolos y de tipos de modificación química puede generar una librería de nuevos biocatalizadores incluso usando sólo una enzima.

Se ha usado como modelo la enzima CALB, la cual fue interfacialmente activada o inmovilizada de forma covalente en soportes poliméricos. A través de modificaciones químicas con EDA, TNBS o anhídrido succínico, se mejoró, en algunos casos, su estabilidad a la temperatura y a mezclas del solvente orgánico. Estas preparaciones fueron más estables que la preparación de CALB inmovilizada en octil-agarosa, Eupergit C y agarosa-BrCN no-modificadas.

Las modificaciones químicas ensayadas en este trabajo produjeron biocatalizadores con muy diferentes actividades, especificidades y enantioselectividades, permitiendo en algunos casos mejorar el valor de razón enantiomérica (E) de CALB en la hidrólisis de (R/S)-mandelato de metilo bajo diferentes condiciones experimentales, lo cual sugiere que estas modificaciones podrían tener un alto interés en modular sus propiedades en otros procesos enantioespecíficos.

Agradecimientos

Primero que todo, quisiera agradecer el haber tenido la oportunidad de poder trabajar y contar con el soporte brindado durante los últimos 15 años por estudiantes, colegas y profesores durante mi vida académica en Colombia. Deseo agradecer el apoyo prestado por mi colega y compañera, la doctora Claudia Ortiz, por su participación constante en el desarrollo de la línea de biocatálisis y biotransformaciones como directora del Grupo de Investigación en Bioquímica y Microbiología (GIBIM) de la Universidad Industrial de Santander. Al profesor de Investigación del CSIC, Roberto Fernández-Lafuente, por su colaboración en la formación de estudiantes de doctorado de nuestro grupo de investigación y su notable aporte al campo de la biocatálisis. Al Doctor Luis Oveimar Barbosa, por su aporte experimental a los resultados de esta investigación. A las químicas Magaly Galvis y Mónica Ruiz, por su esfuerzo y tenacidad al haber incursionado en el campo de la bioquímica experimental. Quisiera agradecer también el apoyo brindado por Colciencias (Proyecto N° 1102-489-25428), la Vicerrectoría de Investigación y Extensión (VIE) de la Universidad Industrial de Santander (UIS) y el Ministerio de Economía y Competitividad de España (Proyecos CTQ2012-31855) quienes han aportado a la financiación de este trabajo, así como el patrocinio de la compañía Novozymes, especialmente a través de la ingeniera Sandra La-Rotta (Coldanzimas Ltda) proveyendo las enzimas para el desarrollo de este trabajo de investigación.

Bibliografía

- Adlercreutz, P.** 2013. Immobilisation and application of lipases in organic media. *Chem Soc Rev.* **42**: 6406-6436.
- Ahmed, M.; Kelly, T. & Ghanem, A.** 2012. Applications of enzymatic and non-enzymatic methods to access enantiomerically pure compounds using kinetic resolution and racemization. *Tetrahedron.* **68** (34): 6781-6802.

- Anderson, E.; Larsson, K. & Kirk, O.** 1998. One Biocatalyst—Many Applications: The Use of *Candida antarctica* B-Lipase in Organic Synthesis. *Biocat Biotrans.* **16** (3): 181-204.
- Aravindan, R.; Anbumathi, P. & Viruthagiri, T.** 2007. Lipase applications in food industry. *Indian J Biotechnol.* **6**: 141-158.
- Barbosa, O.; Ariza, C.; Ortiz, C. & Torres, R.** 2010. Kinetic resolution of (R/S)-propranolol (1-isopropylamino-3-(1-naphthoxy)-2-propanolol) catalyzed by immobilized preparations of *Candida antarctica* lipase B (CAL-B)[®]. *New Biotechnol.* **27** (6): 844-850.
- Barbosa, O.; Ortiz, C.; Torres, R. & Fernández-Lafuente, R.** 2011. Effect of the immobilization protocol on the properties of lipase B from *Candida antarctica* in organic media: Enantiospecific production of atenolol acetate. *J Mol Catal B: Enzym.* **71**: 124-132.
- Barbosa, O.; Ruiz, M.; Ortiz, C.; Fernández, M.; Torres, R.; Fernández-Lafuente, R.** 2012. Modulation of the properties of immobilized CALB by chemical modification with 2,3,4-trinitrobenzenesulfonate or ethylenediamine. Advantages of using adsorbed lipases on hydrophobic supports. *Process Biochem.* **47**: 867-876.
- Barros M, Fleuri L, Macedo G.** 2010. Seed lipases: sources, applications and properties: a review[®]. *Brazil J Chem Eng.* **27** (1): 15-29.
- Baslé, E.; Joubert, N. & Pucheault, M.** 2010. Protein chemical modification on endogenous amino acids. *Chem Biol.* **17**: 213-227.
- Bastida, A.; Sabuquillo, P.; Armisen, P.; Fernández-Lafuente, R.; Huguet, J. & Guisan, J.M.** 1998. A single step purification, immobilization, and hyperactivation of lipases via interfacial adsorption on strongly hydrophobic supports. *Biotechnol Bioeng.* **58**: 486-493.
- Berglund, P.** 2001. Controlling lipase enantioselectivity for organic synthesis. *Biomol Eng.* **18**: 13-22.
- Betancor, L.; López-Gallego, F.; Hidalgo, A.; Alonso-Morales, N.; Mateo, C.; Dellamora-Ortiz, G.; et al.** 2006. Different mechanisms of protein immobilization on glutaraldehyde activated supports: effect of support activation and immobilization conditions. *Enzyme Microb Technol.* **39**: 877-382.
- Bradford, M.M.** 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
- Brady, L.; Brzozowski, A.; Derewenda, Z.; Dodson, E. & Dodson, G.** 1990. A serine protease triad forms the catalytic center of a triacylglycerol lipase[®]. *Nature.* **343**: 767-770.
- Brzozowski, A.; Derewenda, Z.; Derewenda, U.; Dodson, G. & Lawson, D.M.** 1991. A model for interfacial activation in lipases from the structure of a fungal lipase-inhibitor complex. *Nature.* **351**: 491-494.
- Cabrera, Z.; Fernandez-Lorente, G.; Fernandez-Lafuente, R.; Palomo, J.M. & Guisan, J.M.** 2009. Enhancement of Novozym-435 catalytic properties by physical or chemical modification. *Process Biochem.* **44**: 226-231.
- Cantone, S.; Hanefeld, U. & Basso, A.** 2007. Biocatalysis in non-conventional media-ionic liquids, supercritical fluids and the gas phase. *Green Chem.* **9**: 954-971.
- Carraway, K.L. & Koshland Jr, D.E.** 1968. Reaction of tyrosine residues in proteins with carbodiimide reagents. *Biochem Biophys Acta* **160**: 272-4.
- Carraway, K.L. & Koshland Jr DE.** 1972. Carbodiimide modification of proteins. *Methods Enzymol.* **25**:616-23.
- Carraway, K.L.; Spoerl, P. & Koshland Jr, D.E.** 1969. Carboxyl group modification in chymotrypsin and chymotrypsinogen. *J Mol Biol.* **42**: 133-137.
- Casas-Godoy, L.; Duquesne, S.; Bordes, F.; Sandoval, G. & Marty, A.** 2012. Lipases: An overview. *Methods Mol Biol.* **861**: 3-30.
- Chalker, J.M.; Bernardes, G.J.L.; Lin, Y.A. & Davis, B.G.** 2009. Chemical modification of proteins at cysteine: opportunities in chemistry and biology. *Chem Asian J.* **4**: 630-640.
- Chen, C.; Fujimoto, Y.; Girdaukas, G. & Sih, C.** 1982. General Aspects and Optimization of Enantioselective Biocatalysis. In: *Organic Solvents: The Use of Lipases.* *J Am Chem Soc.* **104**: 7294-7299.
- Chiang, C-J; Chern, J-T; Wang, J-Y & Chao, Y-P.** 2008. Facile immobilization of evolved *Agrobacterium radiobacter* carbamoylase with high thermal and oxidative stability. *J Agric Food Chem.* **56**: 6348-6354.
- Dash, C.; Phadtare, S.; Deshpande, V. & Rao, M.** 2001. Structural and mechanistic insight into the inhibition of aspartic proteases by a slow-tight binding inhibitor from an extremophilic *Bacillus* sp.: correlation of the kinetic parameters with the inhibitor induced conformational changes. *Biochemistry.* **40**: 11525-32.
- Davis, B.G.; Shang, X.; DeSantis, G.; Bott, R.R. & Jones, J.B.** 1999. The controlled introduction of multiple negative charge at single amino acid sites in subtilisin *Bacillus lentus*. *Bioorg Med Chem.* **7**: 2293-2301.
- Davis, B.G.** 2003. Chemical modification of biocatalysts. *Curr Opin Biotechnol.* **14**: 379-386.
- De Santis, G. & Jones, J.** 1999. Chemical modification of enzymes for enhanced functionality. *Curr Opin Biotechnol.* **10**: 324-330.
- Desnuelle P.** 1972. *The Enzymes.* 3rd Editorial Boyer, Academic Press, NY, 575.
- Derewenda, U.; Brzozowski, A.; Lawson, D. & Derewenda, Z.S.** 1992. Catalysis at the interface: the anatomy of conformational change in a triglyceride lipase. *Biochemistry.* **31**: 1532-1541.
- Díaz-Rodríguez, A. & Davis, B.G.** 2011. Chemical modification in the creation of novel biocatalysts. *Curr Opin Chem Biol.* **15** (2): 211-219.

- Durand, J.; Teuma, E. & Gómez, M.** 2007. Ionic liquids as a medium for enantioselective catalysis. *C R Chim.* **10**: 152-177.
- Ericsson, J.; Kasrayan, A.; Johansson, P.; Bergfors, T. & Mowbray, L.** 2008. X-ray Structure of *Candida antarctica* Lipase A Shows a Novel Lid Structure and a Likely Mode of Interfacial Activation. *J Mol Biol.* **376**: 109-119.
- Fernandez-Lafuente, R.; Rosell, C.M.; Alvaro, G. & Guisan, J.M.** 1992. Additional stabilization of penicillin G acylase-agarose derivatives by controlled chemical modification with formaldehyde. *Enzyme Microb Technol.* **14**: 489-495.
- Fernandez-Lafuente, R.; Rosell, C.M.; Rodriguez, V. & Guisan, J.M.** 1995. Strategies for enzyme stabilization by intramolecular crosslinking with bifunctional reagents. *Enzyme Microb Technol.* **17**: 517-23.
- Fernandez-Lafuente, R.** 2009. Stabilization of multimeric enzymes: strategies to prevent subunit dissociation. *Enzyme Microb Technol.* **45**: 405-418.
- Fernández-Lorente, G.; Palomo, J.M.; Cabrera, Z.; Guisán, J.M. & Fernández-Lafuente, R.** 2007. Specificity enhancement towards hydrophobic substrates by immobilization of lipases by interfacial activation on hydrophobic supports. *Enzyme Microb Technol* **41**: 565-569.
- Fernandez-Lorente, G.; Godoy, C.A.; Mendes, A.A.; Lopez-Gallego, F.; Grazu, V.; de las Rivas, B., et al.** 2008. Solid-phase chemical amination of a lipase from *Bacillus thermocatenuatus* to improve its stabilization via covalent immobilization on highly activated glyoxyl-agarose. *Bio-macromolecules.* **9**: 2553-2561.
- Ferrer, M.; Golyshina, O.; Beloqui, A. & Golyshin, P.N.** 2007. Mining enzymes from extremes environments. **10** (3): 207-214.
- Fjerbaek, L.; Christensen, K.V. & Norddahl, B.** 2009. A review of the current state of biodiesel production using enzymatic transesterification. *Biotechnol Bioeng.* **102**: 1298-1315.
- Forde, J.; Vakurov, A.; Gibson, T.D.; Millner, P.; Whelehan, M.; Marison, I.W.; et al.** 2010a. Chemical modification and immobilisation of lipase B from *Candida antarctica* onto mesoporous silicates. *J Mol Catal B: Enzym.* **66**: 203-209.
- Forde, J.; Tully, E.; Vakurov, A.; Gibson, T.D.; Millner, P. & Ó'Fágáin, C.** 2010b. Chemical modification and immobilisation of laccase from *Trametes hirsuta* and from *Myceliophthora thermophila*. *Enzyme Microb Technol.* **46**: 430-437.
- Galvis, M.; Barbosa, O.; Ruiz, M.; Cruz, J.; Torres, R.; Ortiz, C. & Fernandez-Lafuente, R.** 2012. Chemical amination of lipase B from *Candida antarctica* is an efficient solution for the preparation of crosslinked enzyme aggregates. *Proc Biochem.* **47**: 2373-2378.
- Gandhi, N.N.** 1997. Applications of lipase. *J Am Oil Chem Soc.* **74**: 621-634.
- Gotor-Fernández, V.; Brieva, R. & Gotor, V.** 2006a. Lipases: Useful biocatalysts for the preparation of pharmaceuticals. *J Mol Catal B: Enz.* **40**: 111-120.
- Gotor-Fernández, V.; Busto, E. & Gotor, V.** 2006b. *Candida antarctica* lipase B: an ideal bio- catalyst for the preparation of nitrogenated organic compounds. *Adv Synth Catal* **348**: 797-812.
- Grochulski, P.; Li, Y.; Schragm, J.; Boutthilier, F.; Smith, P.; Harrinson, D.; Rubin, B. & Cyler, M.** 1993. Insights into interfacial activation from an open structure of *Candida rugosa* lipase". *J Biol Chem.* **268**: 12843-12847.
- Gron, H.; Bech, L.M.; Branner, S. & Breddam, K.** 1990. A highly active and oxidation- resistant subtilisin-like enzyme produced by a combination of site-directed mutagenesis and chemical modification. *Eur J Biochem.* **194**: 897-901.
- Gupta, M.N. & Roy, I.** 2004. Enzymes in organic media: forms, functions and applications. *Eur J Biochem.* **271**: 2575-2583.
- Hacking, M.; Van Rantwijk, F. & Sheldon, R.** 2000. Lipase catalysed synthesis of diacyl hydrazines: An indirect method for kinetic resolution of chiral acids. *J Mol Catal B: Enz.* **9** (4-6): 183-191.
- Hernandez, K. & Fernández-Lafuente, R.** 2011. Control of protein immobilization. Coupling immobilization and site directed mutagenesis to improve biocatalyst or biosensor performance. *Enzyme Microb Technol.* **48**: 107-122.
- Hernandez, K.; Garcia-Verdugo, E.; Porcar, R. & Fernandez-Lafuente, R.** 2011. Hydrolysis of triacetin catalyzed by immobilized lipases: Effect of the immobilization protocol and experimental conditions on diacetin yield". *Enz Microb Technol.* **48** (6-7): 510-517.
- Husain, S.; Jafri, F. & Saleemuddin, M.** 1996. Effects of chemical modification on the stability of invertase before and after immobilization. *Enzyme Microb Technol.* **18**: 275-80.
- Itoh, T.** 2009. Recent development of enzymatic reaction systems using ionic liquids. *J Synth Org Chem.* **67**: 143-155.
- Iwasaki, Y. & Yamane, T.** 2000. Enzymatic synthesis of structured lipids. *J Mol Catal B: Enzyme.* **10**: 129-140.
- Jäckel, C.; Kast, P. & Hilvert, D.** 2008. Protein design by directed evolution. *Ann Rev Biophys.* **37**: 153-173.
- Jaeger, K.E. & Reetz, M.T.** 1998. Microbial lipases from versatile tools for biotechnology. *Trends Biotechnol.* **16**: 396-403.
- Jagtap, S. & Rao, M.** 2006. Conformation and microenvironment of the active site of a low molecular weight 1,4-beta-D-glucan glucanohydrolase from an alkalothermophilic *Thermomonospora sp.*: involvement of lysine and cysteine residues. *Biochem Biophys Res Commun.* **347**: 428-32.
- Juhl, P.; Doderer, K.; Hollmann, F.; Thum, O. & Pleiss, J.** 2010. Engineering of *Candida antarctica* lipase B for hydrolysis of bulky carboxylic acid esters. *J Biotechnol.* **150** (4): 474-480.

- Khajeh, K.; Naderi-Manesh, H.; Ranjbar, B.; Moosavi-Movahedi, A.A. & Nemat-Gorgani, M.** 2001. Chemical modification of lysine residues in *Bacillus* alpha-amylases: effect on activity and stability. *Enzyme Microb Technol.* **28**: 543-549.
- Kirk, O. & Christensen, M.** 2002. Lipases from *Candida antarctica*: Unique Biocatalysts from a Unique Origin". *Organic Process Research and Development.* **6**: 446-451.
- Kohn, J. & Wilchek, M.** 1982. A new approach (cyano-transfer) for cyanogen bromide activation of sepharose at neutral pH, which yields activated resins, free of interfering nitrogen derivatives. *Biochem Biophys Res Commun.* **107**: 878-884.
- Kolodziejaska, R.; Karczmarzka-Wódzka, A.; Wolan, A. & Dramiński, M.** 2012. *Candida antarctica* lipase B catalyzed enantioselective acylation of pyrimidine acyclonucleoside". *BioCAT Biotrans.* **30** (4): 426-430.
- Kotormán, M.; Cseri, A.; Laczkó, I. & Simon, LM.** 2009. Stabilization of α -chymotrypsin in aqueous organic solvents by chemical modification with organic acid anhydrides. *J Mol Catal B: Enzym.* **59** (1-3): 153-157.
- Kurtovic, S. & Mannervik, B.** 2009. Identification of emerging quasi-species in directed enzyme evolution. *Biochemistry.* **48**: 9330-9339.
- Laemmli, U.K.** 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* **227**: 680-685.
- Mansfeld, J.; Vriend, G.; Van Den Burg, B.; Eijssink, V.G.H. & Ulbrich-Hofmann, R.** 1999. Probing the unfolding region in a thermolysin-like protease by site-specific immobilization. *Biochemistry.* **38**: 8240-8245.
- March, S.C.; Parikh, I. & Cuatrecasas, P.** 1974. A simplified method for cyanogen bromide activation of agarose for affinity chromatography. *Anal Biochem.* **60**: 149-152.
- Marciello, M.; Filice, M. & Palomo, J.M.** 2012. Different strategies to enhance the activity of lipase catalysts. *Cat Sci Technol.* **2**: 1531-1543.
- Martinelle, M.; Holmquist, M. & Hult, K.** 1995. On the interfacial activation of *Candida Antarctica* lipase A and B as compared with *Humicola lanuginosa* lipase. *Biochim Biophys Acta.* **1258**: 272-276.
- Mateo, C.; Fernández-Lorente, G.; Abian, O.; Fernández-Lafuente, R. & Guisán, J.M.** 2000. Multifunctional epoxy supports: A new tool to improve the covalent immobilization of proteins. The promotion of physical adsorptions of proteins on the supports before their covalent linkage. *Biomacromolecules.* **1**: 739-745.
- Mateo, C.; Abian, O.; Bernedo, M.; Cuenca, E.; Fuentes, M.; Fernandez-Lorente, G.; et al.** 2005. Some special features of glyoxyl supports to immobilize proteins. *Enzyme Microb Technol.* **37**: 456-462.
- Mateo, C.; Palomo, J.M.; Fernández-Lorente, G.; Guisan, J.M. & Fernandez-Lafuente, R.** 2007a. Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques. *Enzyme Microb Technol.* **40**: 1451-1463.
- Mateo, C.; Grazú, V.; Pessela, B.; Montes, T.; Palomo, J.M.; Torres, R.; López-Gallego, F.; Fernández-Lafuente, R. & Guisán, J.M.** 2007b. Advances in the design of new epoxy supports for enzyme immobilization-stabilization. *Biochem Soc Trans.* **35**: 1593-1601.
- Matsumoto, K.; Davis, B.G. & Jones, J.B.** 2002. Chemically modified "polar patch" mutants of subtilisin in peptide synthesis with remarkably broad substrate acceptance: designing combinatorial biocatalysts. *Chem Eur J.* **8**: 4129-4137.
- Mendes, A.A.; De Castro, H.F.; De, S.; Rodrigues, D.; Adriano, W.S.; Tardioli, P.W., et al.** 2011. Multipoint covalent immobilization of lipase on chitosan hybrid hydrogels: influence of the polyelectrolyte complex type and chemical modification on the catalytic properties of the biocatalysts. *J Ind Microbiol Biotechnol.* **38**: 1055-1066.
- Meyer, H-P.** 2006. Chemocatalysis biocatalysis (biotransformation): some thoughts of a chemist and of a biotechnologist. *Org Process Res Dev.* **10**: 572-580.
- Montes, T.; Grazú, V.; Lopez-Gallego, F.; Hermoso, J.; Guisán, J.M. & Fernandez-Lafuente R.** 2006. Chemical modification of protein surfaces to improve their reversible enzyme immobilization on ionic exchangers". *Biomacromolecules.* **11**: 3052-3058.
- Nobel, M.; Cleasby, A.; Johnson, L.; Egmond, M. & Frenken, G.** 1993. The crystal structure of triacylglycerol lipase from *Pseudomonas glumae* reveals a partially redundant catalytic aspartate. *FEBS Lett.* **331**: 1265-1269.
- O'Fágáin, C.** 2003. Enzyme stabilization- recent experimental progress. *Enzyme Microb Technol.* **33**: 137-149.
- Ortega, S.; Máximo, M.; Montiel, M.; Murcia, M. & Bastida, J.** 2012. Esterification of polyglycerol with polycondensed ricinoleic acid catalysed by immobilised *Rhizopus oryzae* lipase. *Bioprocess Biosyst Eng.* **36**: 1291-1302.
- Ortiz-Soto, M.E.; Rudiño-Piñera, E.; Rodriguez-Alegria, M.E. & Munguia, A.L.** 2009. Evaluation of cross-linked aggregates from purified *Bacillus subtilis* levansucrase mutants for transfructosylation reactions. *BMC Biotechnol.* **9**: 68.
- Overbeeke, P.; Govardhan, C.; Khalaf, N.; Jongejan, J. & Heijnen, J.** 2000. Influence of lid conformation on lipase enantioselectivity. *J Mol Catal B: Enzym.* **10** (4): 385-393.
- Palomo, J.M.; Fernández-Lorente, G.; Guisán, J.M. & Fernández-Lafuente, R.** 2007. Modulation of immobilized lipase enantioselectivity via chemical amination. *Adv Synth Catal.* **349**: 1119-27.
- Palomo, J.M.** 2010. Diels-Alder cycloaddition in protein chemistry. *Eur J Org Chem.* **33**: 6303-6314.

- Palomo, J.M. & Guisan, J.M.** 2012. Different strategies for hyperactivation of lipase biocatalysts. *Methods Mol Biol.* **861**: 329-341.
- Pandey, A.; Benjamin, S.; Soccol, C.R.; Nigam, P.; Krieger, N. & Soccol, V.T.** 1999. The realm of microbial lipases in biotechnology. *Biotechnol Appl Biochem.* **29**: 119-131.
- Pedroche, J.; del Mar Yust, M.; Mateo, C.; Fernández-Lafuente, R.; Girón-Calle, J.; Alaiz, M.; et al.** 2007. Effect of the support and experimental conditions in the intensity of the multipoint covalent attachment of proteins on glyoxyl-agarose supports: correlation between enzyme-support linkages and thermal stability. *Enzyme Microb Technol.* **40**: 1160-1166.
- Peterson, A.E.; Adlercrutz, P. & Mattiason, B.** 2007. A water activity control system for enzymatic reactions in organic media. *Biotechnol Bioeng.* **97**: 235-241.
- Polizzi, K.M.; Bommarius, A.S.; Broering, J.M. & Chaparro-Riggers, J.F.** 2007. Stability of bio-catalysts. *Curr Opin Chem Biol.* **11**: 220-5.
- Pollard, D.J. & Woodley, J.M.** 2007. Biocatalysis for pharmaceutical intermediates: the future is now. *Trends Biotechnol.* **25**: 66-73.
- Prechter, A.; Gröger, H. & Heinrich, M.** 2012. Synthesis of (S)-(+)-cericlamine through lipase-catalyzed aminolysis of azo acetates. *Org Biomol Chem.* **17** (10): 3384-3387.
- Quinn, D.M.; Shirai, K.; Jackson, R.L. & Harmony, J.A.** 1982. Lipoprotein lipase catalyzed hydrolysis of water-soluble p-nitrophenyl esters. Inhibition by apolipoprotein C-II. *Biochemistry.* **21** (26): 6872-6879.
- Rao, M.N.; Kembhavi, A.A. & Pant, A.** 1996. Role of lysine, tryptophan and calcium in the beta-elimination activity of a low-molecular-mass pectate lyase from *Fusarium moniliformae*. *Biochem J.* **319**: 159-164.
- Ray, J.; Nagy, Z.; Smith K.; Bhaggan, K. & Stapley, A.** 2013. Kinetic study of the acidolysis of high oleic sunflower oil with stearic-palmitic acid mixtures catalysed by immobilised *Rhizopus oryzae* lipase. *Biochem Eng J.* **73**: 17-28.
- Reetz, M.T.** 2002. Lipases as practical biocatalysts. *Curr Opin Chem Biol* **6**: 145-150.
- Reetz, M.T.** 2007. Controlling the selectivity and stability of proteins by new strategies in directed evolution: the case of organocatalytic enzymes. *Ernst Schering Found Symp Proc* **2007**: 321-340.
- Rehm, S.; Trodler, P. & Pleiss, J.** 2011. Solvent-induced lid opening in lipases: A molecular dynamics study. *Protein Science.* **19** (11): 2122-2130.
- Reis, P.; Miller, P.; Kragel, K. & Leser, M., et al.** 2008. Lipases at Interfaces: Unique Interfacial Properties as Globular Proteins. *Langmuir.* **24**: 6812-6819.
- Reis, P.; Holmberg, K.; Watzke, H.; Leser, M. & Miller, R.** 2009. Lipases at interfaces: A review. *Adv Colloid Interface Sci.* **147-148** (C): 237-250.
- Rodrigues, R.C.; Ortiz, C., Berenguer-Murcia, A.; Torres, R. & Fernández-Lafuente, R.** 2013. Modifying enzyme activity and selectivity by immobilization. *RSC.* **42**, 6290-6307.
- Rodrigues, R.C.; Berenguer-Murcia, A. & Fernandez-Lafuente, R.** 2011. Coupling chemical modification and immobilization to improve the catalytic performance of enzymes. *Adv Synth Catal.* **353**: 2216-2238.
- Rodrigues, R.C.; Godoy, C.A.; Volpato, G.; Ayub, M.A.Z.; Fernandez-Lafuente, R. & Guisan, J.M.** 2009. Immobilization-stabilization of the lipase from *Thermomyces lanuginosus*: critical role of chemical amination. *Process Biochem.* **44**: 963-968.
- Samuelson, J.C.** 2011. Recent developments in difficult protein expression: a guide to *E. coli* strains, promoters, and relevant host mutations. *Methods Mol Biol.* **705**: 195-209.
- Santaniello, E.; Casati, S. & Ciuffreda, P.** 2006. Lipase-Catalyzed Deacylation by Alcoholysis: A Selective, Useful transesterification reaction. *Curr Org Chem.* **10** (10): 1095-1123.
- Sarda, L. & Desnuelle, P.** 1958. Actions of pancreatic lipase on esters in emulsions. *Biochim Biophys Acta.* **30** (3): 513-521.
- Secundo, F.; Carrea, G.; Tarabiono, C.; Gatti-Lafranconi, P.; Brocca, S.; Lotti, M.; Jaeger, K.; Puls, M. & Eggert, T.** 2006. The lid is a structural and functional determinant of lipase activity and selectivity". *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.* **39**: 166-170.
- Schmid, A.; Dordick, J.S.; Hauer, B.; Kiener, A.; Wubbolts, M. & Witholt, B.** 2001. Industrial biocatalysis today and tomorrow. *Nature.* **409**: 258-268.
- Schmidt, M.; Böttcher, D. & Bornscheuer, U.T.** 2009. Protein engineering of carboxyl esterases by rational design and directed evolution. *Protein Pept Lett.* **16**: 1162-1171.
- Schoemaker, H.E.; Mink, D. & Wubbolts, M.G.** 2003. Dispelling the myths - biocatalysis in industrial synthesis. *Science.* **99**: 1694-1697.
- Sharma, D.; Sharma, B. & Shukla, A.K.** 2011. Biotechnological approach of microbial lipase: A review. *Biotechnology.* **10**: 23-40.
- Sheldon, R.A.** 2005. Green solvents for sustainable organic synthesis: state of the art. *Green Chem.* **7**: 267-278.
- Smith, D.W.** 1996. Problems of translating heterologous genes in expression systems: the role of tRNA. *Biotechnol Prog.* **12**: 417-422.
- Snyder, S.L. & Sobocinski, P.Z.** 1975. An improved 2,4,6 trinitrobenzenesulfonic acid method for the determination of amines. *Anal Biochem.* **64**: 284-288.
- Stonkus, V.; Leite, L.; Lebedev, A.; Lukevics, E.; Ruplis, A.; Stoch, J., et al.** 2001. Lipases in racemic resolutions. *J Chem Technol Biotechnol.* **76**: 3-8.
- Straathof, A.J.J.; Panke, S. & Schmid, A.** 2002. The production of fine chemicals by bio-transformations. *Curr Opin Biotechnol.* **13**: 548-56.

- Svendsen, A.** 2000. Lipase protein engineering. *Biochim Biophys Acta*. **2**: 223-238.
- Torchilin, V.P.; Maksimenko, A.V.; Smirnov, V.N.; Berezin, I.V.; Klibanov, A.M. & Martinek, K.** 1979. The principles of enzyme stabilization IV. Modification of 'key' functional groups in the tertiary structure of proteins. *Biochim Biophys Acta*. **567**: 1-11.
- Tyagi, R. & Gupta, M.N.** 1998. Chemical modification and chemical cross-linking for protein/enzyme stabilization. *Biochemistry (Moscow)*. **63**: 334-344.
- Ueji, S.; Ueda, A.; Tanaka, H.; Watanabe, K.; Okamoto, T. & Ebara, Y.** 2003. Chemical modification of lipases with various hydrophobic groups improves their enantioselectivity in hydrolytic reactions. *Biotechnol Lett*. **25**: 83-87.
- Ulbrich-Hofmann, R.; Arnold, U. & Mansfeld, J.** 1997. The concept of the unfolding region for approaching the mechanisms of enzyme stabilization. *J Mol Catal B: Enzym*. **7**: 125-131.
- Uppenberg, J.; Hansen, M.; Patkar, S. & Jones A.** 1994. The sequence, crystal structure determination and refinement of two crystal forms of lipase B from *Candida antarctica*. *Structure*. **2**: 34-40.
- Vallin, M.; Syrén, P-O. & Hult, K.** 2010. Mutant lipase-catalyzed kinetic resolution of bulky phenyl alkyl sec-alcohols: a thermodynamic analysis of enantioselectivity. *Chembiochem*. **11**: 411-416.
- Van Loo, B.; Kingma, J.; Heyman, G.; Wittenaar, A.; Lutje Spelberg, J.H.; Sonke, T.; et al.** 2009. Improved enantioselective conversion of styrene epoxides and meso-epoxides through epoxide hydrolases with a mutated nucleophile-flanking residue. *Enzyme Microb Technol*. **44**: 145-153.
- Van Rantwijk, F.; Lau, R.M. & Sheldon, R.A.** 2003. Biocatalytic transformations in ionic liquids. *Trends Biotechnol*. **21**: 131-138.
- Verger, R.** 1997. Interfacial activation of lipases: facts and artifacts". *Trends Biotechnol*. **15** (1): 32-38.
- Wang, J.; Do, D.; Chuah, G. & Jaenicke, S.** 2013. Core-Shell Composite as the Racemization Catalyst in the Dynamic Kinetic Resolution of Secondary Alcohols. *Chem Cat Chem*. **5** (1): 247-254.
- Wong, S.S. & Wong, L-JC.** 1992. Chemical crosslinking and the stabilization of proteins and enzymes. *Enzyme Microb Technol*. **14**: 866-874.
- Woodley, J.M.** 2008. New opportunities for biocatalysis: making pharmaceutical processes greener. *Trends Biotechnol*. **26**: 321-327.
- Wynn, R. & Richards, F.M.** 1993. Unnatural amino acid packing mutants of *Escherichia coli* thioredoxin produced by combined mutagenesis/chemical modification techniques. *Protein Sci*. **2**: 395-403.
- Xiong, J.; Huang, Y. & Zhang, H.** 2012. Lipase-catalyzed transesterification synthesis of citronellyl acetate in a solvent-free system and its reaction kinetics. *Eur Food Res Technol*. **235** (5): 907-914.
- Yamashita, H.; Nakatani, H. & Tonomura, B.** 1993. Change of substrate specificity by chemical modification of lysine residues of porcine pancreatic alpha-amylase. *Biochim Biophys Acta*. **1202**: 129-134.
- Yu, X-W.; Tang, N-J; Xiao, R. & Xu, Y.** 2012. Engineering a Disulfide Bond in the Lid Hinge Region of *Rhizopus chinensis* Lipase: Increased Thermostability and Altered Acyl Chain Length Specificity. *Plos One*, **7** (10): e46388.
- Zhang, K.; Diehl, M.R. & Tirrell, D.A.** 2005. Artificial polypeptide scaffold for protein immobilization. *J Am Chem Soc*. **127**: 10136-10137.

Filogénesis y ontogénesis de la moral

Rubén Ardila

Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Ardila, R.: Filogénesis y ontogénesis de la moral. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 38(Supl.):205-15, 2014

Resumen

El estudio de la moral, la ética y la justicia han sido motivo de interés a lo largo de la historia de la cultura humana. Filósofos, psicólogos, políticos, juristas y pensadores de varios campos del conocimiento han trabajado en temas tales como lo correcto y lo incorrecto, lo bueno y lo malo, la justicia, la solidaridad, la cooperación, la armonía entre las personas y los grupos. Este artículo presenta un análisis de teorías y hallazgos científicos acerca de los orígenes de la moralidad en especies no humanas y en seres humanos. Coloca énfasis especial en trabajos recientes, desde la perspectiva de la ciencia. Señala que existen conductas morales en animales no humanos, ante todo en primates, delfines, perros, cuervos y otros. En el caso del desarrollo humano se analizan los hallazgos científicos más relevantes. Se señala que la moral en nuestra especie es más compleja que la moral en animales no humanos, pero se basa en raíces similares. Estas investigaciones ayudan a entender el concepto de “naturaleza humana” desde una nueva perspectiva.

Palabras clave: filogénesis, ontogénesis, moral, monos superiores, desarrollo humano, evolución.

Phylogenesis and ontogeny of morals

Abstract

The study of morals, ethics and justice has been of interest along the history of human culture. Philosophers, psychologists, politicians, lawyers and other thinkers, have worked in topics such as what is right and wrong, good or evil, justice, solidarity, cooperation, harmony among persons and groups. This article presents an analysis of theories and scientific findings about the origins of morality in non- human species, and in human beings. It places special emphasis on recent findings from the scientific perspective. The existence of moral behaviors in non- human primates is presented, particularly in apes, dolphins, dogs, crowns, and other species. In the case of human development the most relevant scientific findings are analyzed. It is pointed out that morality in our species is more complex that morals in non- human animals, but it is based on similar roots. These research findings help to understand the concept of “human nature” from a new perspective.

Key words: Phylogenesis, ontogenesis, morals, apes, human development, evolution.

Introducción

Los asuntos relacionados con lo bueno y lo malo, lo correcto y lo incorrecto, la justicia, la armonía entre las personas y entre los grupos, y otros temas similares, han interesado a los seres humanos desde los orígenes de la historia registrada. Los comienzos formales de la ética y la moral (en la cultura occidental) se encuentran en los filósofos pre-socráticos de Grecia. Más adelante posee especial importancia **Aristóteles** (384-322 a.e.c) con la *Ética a Nicómaco*.

La ética es una rama de la filosofía que investiga tanto el contenido de los juicios morales como su naturaleza (si tales juicios son objetivos o subjetivos). La ética se refiere a los principios de la conducta moralmente correcta aceptados por la persona o por el grupo. Dicho estudio sistemático de la

naturaleza de los conceptos de valor se centra en lo “bueno” y lo “malo” y lo que “debe” hacer una persona o grupo. Se enfatiza que lo bueno se tiene que considerar en sí mismo, no como medio para lograr otros fines. La tradición más arraigada en el estudio de la moralidad y los valores considera que su objetivo es guiar a las personas hacia el denominado “bien absoluto”. Esta teoría que se basa en **Platón**, fue retomada por **San Agustín** y los filósofos cristianos e integrada a la cultura occidental. Hay otra tradición diferente acerca de la naturaleza de la moralidad que parte de **Protágoras**, el sofista griego que considera que lo bueno es relativo y basado en

Correspondencia:

Rubén Ardila, ruben.ardila@outlook.com

Recibido: 28 de marzo de 2014

Aceptado: 12 de junio de 2014

preferencias personales y en las costumbres sociales que son obra humana. Esta segunda conceptualización fue retomada por **David Hume** y está en muchos de los conceptos de **Darwin** y la evolución. Las ideas de **Bertrand Russell** y otros filósofos que han trabajado sobre ética y moral tienen fundamentos en **Hume** y en **Darwin**. Por otra parte, **G.E. Moore** afirmó que era preciso distinguir entre “lo que es” y “lo que debe ser”. Esto último corresponde al campo de la ética y la moral, lo primero es el campo de la ciencia. Confundirlos, según **C.E. Moore** sería cometer la llamada por él “falacia naturalista” (ver **Hocutt**, 2013).

La ética es una rama de la filosofía que se nutre de los aportes de la ciencia, especialmente de la psicología, pero también de la antropología y otras disciplinas. Gran relevancia poseen los trabajos de **L. Kohlberg** (1927-1987) sobre el desarrollo del juicio moral. Por otra parte, desde la perspectiva de la antropología se destacan los estudios sobre relativismo ético en distintas culturas, de **E.A. Westermarck** (1862-1939).

La ética es el estudio de la conducta deseable. Aunque se nutre de las ciencias, por su misma naturaleza la ética no es una ciencia. La moral, por otra parte se refiere a las costumbres que rigen la conducta de una persona en relación con la sociedad, consigo misma y con lo que le rodea. La ética busca brindar esquemas que se fundamenten en principios racionales, y es más general que la moral. Esta es más concreta y específica. La moral se ha definido también como el acatamiento que los individuos hacen de las normas imperantes en el grupo social. En buena parte la moral es la aplicación práctica de la ética, y algunos pensadores afirman que la distinción ética/moral es equivalente a la distinción teoría/praxis. Otros filósofos y pensadores no están de acuerdo con dicha distinción. En el caso de la moral son relevantes los conceptos de autonomía, responsabilidad, relación consigo mismo y con el grupo social, acatamiento de normas, valores y asuntos similares.

Este trabajo busca presentar un cuadro coherente de las investigaciones contemporáneas sobre *los orígenes de la conducta moral*, tanto desde la perspectiva *filogenética* (en especies animales diferentes al hombre) como *ontogenética* (en niños de diversas edades y culturas). El interés por los problemas éticos, incluyendo los asuntos morales es de vieja data y dichas preocupaciones se encuentran en las primeras culturas registradas, como hemos indicado antes. Se asocian con la justicia, la estructura del estado, las relaciones de unas personas con otras, la filosofía y la religión.

En términos contemporáneos, el estudio ontogenético de la moral, sus orígenes en nuestra especie, tienen un fundamento en **Piaget** (1932) y de manera más elaborada en **Kohlberg** (1981). Es un área de trabajo que se desarrolló ampliamente en las últimas décadas del siglo XX y primeras del siglo XXI. Por otra parte, la filogénesis de la moral, sus orígenes

en especies no humanas, ante todo en primates, y también en otras especies de animales no humanos, es muy reciente y se fundamenta en la psicología evolucionista, en la etología, en estudios experimentales de laboratorio de gran refinamiento y con metodologías precisas y cuantitativas. Tenemos además observaciones de campo en varias especies de primates y no primates. Parece ser que la máxima validez y confiabilidad se ha logrado en los trabajos experimentales realizados con primates superiores (las cuatro especies: chimpancés, bonobos, gorilas y orangutanes).

Presentaremos en primer lugar las investigaciones recientes acerca de la filogénesis de la moral (o moralidad). En todos estos casos los trabajos han tenido gran refinamiento metodológico, han implicado el desarrollo de instrumentos de registro y medición de gran complejidad, en muchos casos con programas de *software* específicamente desarrollados para estas investigaciones.

Filogénesis

Según los principales investigadores en este campo, la moralidad se fundamenta en dos pilares: la *reciprocidad* (de la cual deriva la justicia) y la *empatía* (de la cual deriva la compasión). Por lo tanto para estudiar las raíces evolutivas de la moralidad es preciso investigar la reciprocidad y la empatía (ver **Tomasello**, 2009; **de Waal**, 2009; **Rowlands**, 2012). Existen observaciones de campo acerca de este tipo de conductas en chimpancés, perros, ratas, cuervos, delfines y otras especies. Los animales experimentan sentimientos de empatía, amor, tristeza, rabia, se solidarizan con otros, se vengan de quienes les causaron mal, se reconcilian con sus enemigos y presentan muchos otros comportamientos que antes se consideraban exclusivos de los seres humanos y que denominamos morales. Se ha observado a monos que se niegan a agredir a un congénere en situaciones experimentales, perros que ayudan a otros que están heridos, monos que socorren a niños en peligro, delfines que salvan a personas en riesgo de morir ahogados, perros que parecen “sentirse culpables” por haber comido un alimento que se le había prohibido, etc. En una situación experimental muy bien controlada se halló que macacos rhesus (*Macaca mulata*) hambrientos se negaban a dar descargas eléctricas a otros monos, incluso cuando necesitaban conseguir comida para ellos a cambio de las descargas (**Bekoff**, 2012). La empatía, la equidad, la compasión, el cuidar a los otros, estaría en la base de la moralidad y tales sentimientos se encuentran en los animales no humanos, según investigaciones recientes.

En los orígenes de la psicología comparada como ciencia que estudia los procesos psicológicos en animales diferentes de los seres humanos (**Papini**, 2009), abundaron las descripciones anecdóticas de animales que realizaban actividades de alta complejidad cognitiva que se consideraban exclusivos del hombre. Tales anécdotas fueron refutadas por observaciones

controladas, y llevaron al descrédito de esas supuestas conductas “superiores” producidas espontáneamente. Esto fue reemplazado por estudios experimentales, controlados, de laboratorio, que demostraron las limitaciones y posibilidades reales de las capacidades psicológicas complejas en animales. La denominada “Navaja de Occam” fue el rasero que se utilizó con tales descripciones anecdóticas y espontáneas.

Los trabajos de las décadas recientes del siglo XXI se controlan utilizando métodos refinados, replicaciones, pruebas de doble ciego, observadores independientes, registros que utilizan instrumentos y no la observación humana (que es falible y puede caer fácilmente en el *antropomorfismo*, y atribuir a los animales capacidades superiores similares a las humanas, que no poseen). Se toman todas las precauciones del caso antes de concluir, por ejemplo, que en los animales se presentan conductas morales, análogas a las que se observan en la especie humana.

La investigación contemporánea sobre filogénesis de la conducta moral considera que la moralidad es una forma de cooperación. Requiere que los individuos supriman sus propios intereses o que los igualen con los de otros. **Tomasello** (2009) presenta una secuencia de dos pasos: los individuos son justos con otros en particular, o los individuos siguen y respaldan las normas sociales amplias de los grupos. La moralidad surge en parte de manera natural y en parte como resultado de contextos e interacciones socioculturales.

En la moralidad se incluye la conducta prosocial, las interacciones cooperativas y los *juicios morales*, entre otros. Estos últimos se considera – en el estado actual de nuestros conocimientos – que son exclusivos de la especie humana y no se encuentran en otras especies. En una conducta que llamamos moral entran en juego factores cognitivos y emocionales, y existen procesos neurofisiológicos subyacentes. La principal función de la moral es regular las interacciones sociales de un individuo con otros. Implica, como indicábamos antes, que el individuo suprima su propio interés en favor de otros (lo que se observa en las conductas de compartir, ayudar, colaborar) o que iguale su propio interés con el de otros (se observa como equidad, reciprocidad, justicia, seguimiento de normas o acuerdos, exigencia del cumplimiento de normas). Ver **Kappeler & van Schaik** (2006).

La conducta moral en animales no humanos se ha estudiado ante todo en chimpancés (*Pan troglodytes*) incluyendo bonobos (*Pan paniscus*). Como es sabido, las relaciones sociales de los monos superiores son complejas. Los individuos forman relaciones con otros que abarcan diversos aspectos de la vida cotidiana. Parece ser que la competencia es central en las sociedades de monos superiores. Los monos saben quién es dominante, quién es amigo de quién en el grupo social. Toman sus decisiones conductuales en un complejo campo social que incluye todos los otros individuos de la vecindad,

sus metas y percepciones individuales y las relaciones sociales que los individuos establecen unos con otros (ver **Defler**, 2010).

La *dominación* es primordial en las sociedades de primates superiores. Se basa en la capacidad de lucha. Como se ha demostrado ampliamente, el macho alfa chimpancé toma el alimento que desea y los demás toman lo que queda después.

La *cooperación* se observa en estas sociedades de monos, y en muchos casos los individuos de menor jerarquía se alían para competir con otros. Es frecuente observar esta cooperación con el fin de lograr metas que un individuo aislado no podría obtener. La cooperación se ha observado en forma de ayuda a un congénere, e incluso a seres humanos. En algunos casos los chimpancés dan instrumentos a otros que los necesitan para obtener una meta, por ejemplo conseguir alimentos. Los alimentos se comparten en las siguientes situaciones:

- Las madres comparten alimentos con sus hijos. En algunos casos esta es una actividad pasiva, no les ofrecen los alimentos a los hijos sino que les permiten tomarlos, casi siempre restos de comida, hojas, cáscaras.
- Cuando los alimentos son abundantes y no demasiado valiosos, por ejemplo hojas de los árboles, se comparten en forma activa con otros chimpancés amigos.
- Cuando los alimentos son valiosos, por ejemplo la carne, los animales inferiores en la jerarquía los piden y en algunos casos los superiores se los ofrecen de manera activa.

La *reciprocidad* se observa con frecuencia en los chimpancés, estos se ayudan unos a otros. Un individuo ayuda generalmente al que le ha ayudado previamente, en algo que sea importante como acceder a la comida, abrir una puerta, acicalarlo (*grooming*) entre otros. También se ayudan para pelear o competir con otros congéneres. Es importante señalar que la reciprocidad se generaliza en diversos contextos, como los riesgos que se presentan en la selva, compartir alimentos, pelear, etc. Cuando un individuo se encuentra en situación de necesidad, otro le puede ayudar si el costo por hacerlo no es muy alto. En una situación de reciprocidad se puede dar la ayuda al otro aunque el costo sea muy alto. La actitud de reciprocidad se ha encontrado que implica afecto a quienes lo ayudaron previamente o compartieron situaciones similares en el pasado. Un individuo se siente más afiliativo con aquellos de los cuales depende. La actitud de reciprocidad es amplia, de dar afecto y no parece presentarse considerando las ventajas para el individuo que lo hace, no se trata de “cálculo” sino de afecto y afiliación, reciprocidad y sentimientos análogos.

La *colaboración* se encuentra dentro de este grupo de conductas. Los individuos forman alianzas y se apoyan unos a otros en las peleas. La alianza no se realiza necesariamente entre miembros de una misma familia. Además se ha

observado que después de un conflicto y de peleas que pueden ser muy violentas, los chimpancés y otras especies presentan conductas de *reconciliación*. La colaboración se asocia en ocasiones con la defensa grupal, y **Jane Goodall** (1986) observó que los grupos de chimpancés patrullan los límites del territorio y se pelean con otros grupos.

La *interdependencia* es una característica de estas actividades de colaboración. Los individuos colaboran para adquirir alimentos, aunque lo puedan hacer de manera individual. Pueden unirse para capturar presas, y en estos casos se observa que todos los participantes comparten el producido, por ejemplo carne de una presa que capturaron. Incluso los que no participaron y que están en el contexto reciben parte de la carne producto de la cacería llevada a cabo por el grupo. Se ha demostrado que los chimpancés entienden cuando necesitan de otros individuos para tener éxito en el logro de una meta. Se coordinan con un compañero para obtener metas individuales. Y en cautividad, en situaciones experimentales controladas, se ha observado que los chimpancés aprenden cuáles compañeros son buenos para realizar tareas en común.

Se considera como conducta moral en los monos superiores el control de la propia motivación relacionada con metas personales, por consideración con los demás. Estas conductas pueden traer beneficios mutuos de manera inmediata o hacerlo más adelante, lo que se ha denominado *reciprocidad posterior*. Los individuos generalmente invierten esfuerzos en otros de los cuales dependen directamente o con los cuales son interdependientes. Esto se observa en las actividades complejas de la vida social, como la solución de conflictos intragrupal e intergrupales, la búsqueda grupal de alimentos, la defensa del territorio, el mantenimiento de la estructura social jerárquica, entre otros. Probablemente lo más importante desde la perspectiva de la filogénesis de la moralidad son las conductas que se emiten para beneficiar a otros sin que exista aparentemente ninguna anticipación de recompensa, como en el caso de ayuda a un congénere, compartir alimento, defenderlo, y comportamientos similares. Por otra parte, es preciso tener en cuenta que en muchos casos los monos superiores colaboran con otros por beneficio propio sin tener en cuenta necesidades de sus aliados y sin presentar un sentido de igualdad. Los monos pueden presentar conductas de empatía, solidaridad, colaboración, o simplemente utilizar a los congéneres para lograr su propio beneficio.

La *retaliación* es otro comportamiento complejo en esta categoría: si a un chimpancé le roban alimento, la víctima lo atacará después sin que reciba ninguna recompensa por vengarse. Esta retaliación también se denomina “reciprocidad negativa” y es bastante frecuente en chimpancés.

Se discute si estas conductas de reciprocidad, empatía, colaboración, solidaridad, se pueden considerar conductas morales, como afirman los investigadores que trabajan en

estos campos. Quienes consideran que no se trata de actos morales se basan en afirmar que los animales no desarrollan ni siguen reglas en el caso de que no le sirvan al individuo o a la especie, y que no razonan acerca de su propia moralidad. Los seres humanos, por el contrario, poseen reglas, tabús morales, prohibiciones (por ejemplo de consumir ciertos alimentos), consideran inmoral destruir la reputación de otra persona, y otros comportamiento muy complejos y elaborados que no se encuentran en animales no humanos. La conducta moral de los animales no estaría basada en una elección consciente, en el intelecto, en la cultura y el lenguaje como la conducta moral de los seres humanos.

De hecho la moralidad humana se basa en normas y es mucho más compleja que la que presentan los monos superiores y otros animales no humanos (**Tomasello**, 2014). En todo caso se ha encontrado que los animales poseen expectativas estadísticas acerca de lo que harán los demás, que es la denominada “teoría de la mente” de los chimpancés (ver **Call & Tomasello**, 2008). Se ha señalado que las sociedades de primates están unidas por relaciones sociales mientras que las sociedades humanas lo están por las normas sociales.

Una diferencia importante entre las sociedades humanas y las sociedades de primates superiores es que estos últimos parece que no enseñan directamente a los jóvenes de su especie, sino que estos aprenden por imitación. La transmisión cultural es mucho más compleja y elaborada en nuestra especie (**Ardila**, 1979) aunque también existe en monos de muchas especies y ha sido estudiada con gran detalle a lo largo de varias generaciones. Los monos poseen cultura, modifican el ambiente, resuelven problemas y transmiten estos desarrollos a las siguientes generaciones. Algo que se suponía exclusivo del *Homo Sapiens* y evidentemente no lo es. Es importante señalar que además de los monos superiores y de los seres humanos, estas capacidades superiores también se encuentran en otras especies, incluso en cetáceos y en aves.

Delfines

Son mamíferos que viven en ríos y mares, poseen un cerebro grande y una corteza cerebral muy desarrollada. Se les ha considerado entre los animales más inteligentes del planeta, junto con los monos superiores y los cuervos. Los *Delphinidae*, incluyendo los *Delphinus capensis*, los *Delphinus delphis* y otros, conviven en grupos, que pueden llegar a ser muy numerosos, se comunican por medio de sonidos, saltos, etc. Son carnívoros y se han clasificado 34 especies de delfines. El delfin de nariz de botella (*Tursiops truncatus*) es uno de los más investigados. Una de las características más propias de los delfines es la ecolocalización.

Los delfines han mostrado conductas altruistas, ayudan a los congéneres heridos o enfermos, incluso a subir a la superficie para respirar. Igualmente se han reportado casos de delfines

que ayudan a los seres humanos que se están ahogando. Poseen fuertes lazos sociales. Han desarrollado instrumentos, cuyo uso transmiten a las siguientes generaciones, en forma similar a como lo hacen los monos (ver **Schusterman, Thomas & Wood**, 1986; **Mann et al**, 2000). Los delfines enseñan a sus crías a obtener alimento, a defenderse de los predadores, les enseñan los trucos aprendidos en cautividad (en espectáculos), interactúan con los seres humanos, y poseen conciencia de sí mismos. Esto último se ha demostrado por medio del “test del espejo” que ha permitido probar que los individuos se reconocen a sí mismos, algo que solo se ha demostrado en muy pocas especies animales.

En años recientes se ha propuesto que los delfines tienen derechos, como los tienen los seres humanos. Al ser animales tan inteligentes, al tener conciencia de sí mismos, no pueden ser asesinados, ni privarse de la libertad, ni abusar de ellos en los espectáculos como se hace frecuentemente. Este concepto de ética animal, o ética para los animales es bastante novedosa y se ha desarrollado para el caso de los delfines, entre otros. La “Declaración de los Derechos de los Cetáceos” es la formalización de esta propuesta (**White**, 2007).

Los Cuervos, su Percepción y Capacidad de Solucionar Problemas

Como señalamos, tradicionalmente se había considerado que las capacidades psicológicas complejas, que **Pavlov** atribuía a la actividad nerviosa superior eran exclusivas del ser humano y de los monos superiores. Estudios recientes con delfines, con pulpos y con aves, han abierto posibilidades nuevas y variadas a este campo de trabajo.

En el caso específico de los cuervos (*Corvuscorax*) una especie de aves muy extendida en el hemisferio norte y descrita en la literatura desde tiempos pretéritos, estudios experimentales recientes han demostrado que son capaces de utilizar instrumentos y construirlos, jugar, imitar, cooperar, etc. En el estado actual de nuestros conocimientos se puede afirmar que los cuervos se encuentran entre los animales más inteligentes del mundo. Su cociente de encefalización (concepto que se presenta más adelante) se acerca al de algunos primates superiores. Poseen uno de los cerebros más grandes de todas las especies de aves. Los cuervos son capaces de solucionar problemas complejos, juegan solos o con otras especies, almacenan objetos brillantes y reconocen diferentes voces humanas y las llamadas de otras especies.

Como animales carroñeros se han considerado “aves de mal agüero” en muchas culturas del norte de Europa. Pero la verdad es que se trata de especies que pueden cooperar, competir, razonar acerca de un evento causal oculto y presentan muchas conductas complejas (ver **Marzluff y Angell**, 2012).

Otra especie de ave con la cual se ha trabajado experimentalmente es el loro gris africano (*Psittacus erithacus*).

Pepperberg (2002) estudió durante años las habilidades cognitivas complejas en esta especie, con un individuo al que llamó “Alex” y que aprendió conductas que no se suponía que podían aprender las aves.

Complejidad Conductual en Animales no Humanos

Todas estas investigaciones acerca de conductas tan complejas como la reciprocidad, la justicia, la cooperación y otras, nos han llevado a preguntarnos acerca de las capacidades psicológicas de los animales (no humanos) que las presentan. El tema de la inteligencia de los animales ha sido estudiado durante varias décadas (ver **Ardila**, 2011) y se han diseñado instrumentos conductuales para medirla, además de medidas fisiológicas de masa cerebral, peso del cerebro en relación con el peso del cuerpo y asuntos similares.

En la actualidad se utiliza el *cociente de encefalización* como medida. Es el tamaño relativo del cerebro definido como la proporción entre la masa cerebral real de una especie, en comparación con la masa cerebral que se predice teóricamente para un animal de cierto tamaño. Es una fórmula que se ha estudiado en mamíferos y es posible que no sea relevante para otras especies. Anteriormente se utilizaba como medida la proporción entre peso del cerebro y peso del cuerpo. En la actualidad el *coeficiente de encefalización* se considera más apropiado. Con base en este coeficiente se ha encontrado que la inteligencia de los mamíferos es en promedio de 1, mientras que en primates, cetáceos y carnívoros es superior a 1, en herbívoros e insectívoros es inferior a 1. Veamos a continuación el *coeficiente de encefalización* de algunas especies:

Especie	Cociente de encefalización
Perro	1.2
Macaco rhesus	2.1
Chimpancé	2.2 – 2.5
Delfín	4.1
Ser Humano	7.4. – 7.8

Un factor que debe ser considerado es el gasto de energía del cerebro en comparación con el gasto de energía del resto del cuerpo. Los carnívoros, que tienen que emitir conductas complejas para encontrar la presa y matarla, requieren más complejidad cognitiva y esto se correlaciona con el mayor consumo de energía por parte del cerebro en comparación con el consumo por parte del resto del cuerpo. No ocurre lo mismo con insectívoros y otras especies. El cerebro del *Homo sapiens* consume proporcionalmente más energía que el resto del cuerpo.

Veamos ahora el desarrollo de la moral en nuestra especie.

Ontogénesis

Los orígenes de la moral, la moralidad, la ética, los juicios morales, se han estudiado más a nivel ontogenético (desarrollo en el individuo) que a nivel filogenético (en la especie). Existen estudios sobre el juicio moral en los niños desde la década de 1930, realizados por **Jean Piaget** y sus colaboradores. Este ha sido un campo de trabajo que ha tenido una gran amplitud y desarrollo en Europa, Estados Unidos, el Oriente y Latinoamérica, incluyendo Colombia. Se han realizado trabajos experimentales con niños de diversas edades y con adolescentes, repeticiones transculturales, se han propuesto hipótesis y teorías y se han buscado aplicaciones prácticas de dichos hallazgos investigativos (en la justicia y el derecho, en la educación, en la vida cotidiana, entre otros). Los principales fundamentos de este campo de investigación han sido los trabajos de **Jean Piaget** (1896 -1980) y de **Lawrence Kohlberg** (1927-1987).

Piaget y el Juicio Moral

Piaget y sus colaboradores comenzaron a estudiar el juicio moral en los niños a principios de la década de 1930. La pregunta de investigación era: ¿Qué piensan los niños sobre el sentido de las reglas morales? Para estudiar este problema **Piaget** realizó entrevistas a niños entre los 3 y los 12 años aproximadamente y llevó a cabo una serie de experimentos que buscaban indagar los orígenes de la justicia. Los experimentos utilizaron la situación de juego infantil, entre otros el juego de canicas, en situaciones experimentalmente controladas. **Piaget** insistió en que estaba indagando acerca del juicio moral, no de los sentimientos morales. Para él era central entender el papel que juegan las reglas en la conducta moral, en la cooperación, la justicia, el sentido de solidaridad y temas relacionados.

Piaget separa inicialmente dos formas de enfrentar los juicios morales que denomina *heteronomía* y *autonomía*. En el primero las reglas proceden del exterior, son normas impuestas por los adultos y por el contexto social. En el caso de la autonomía, por el contrario, las normas se han interiorizado.

El desarrollo del juicio moral en los niños se relaciona con su desarrollo cognitivo y con sus relaciones sociales. La sociedad se considera como la única fuente de la moralidad en los niños pequeños. Al comienzo los juicios morales se caracterizan por la subordinación del niño a la supremacía adulta (moral heterónoma). El grupo influye en todos estos cambios, y se desarrollan los conceptos de reciprocidad, de obligación, de compartir, “turnarse” en el desarrollo de una actividad. Los niños pequeños poseen el concepto de justicia inmanente, que lleva a considerar que si obramos mal inevitablemente recibiremos castigo. **Piaget** afirma que antes de los 2 años de vida no puede hablarse de juicio moral,

de modo que todos estos procesos comienzan más adelante, cuando existe más desarrollo cognitivo (y biológico), al igual que más relaciones sociales.

En la teoría piagetiana sobre la génesis de la moral en la especie humana se propone la existencia de tres estadios: moral de presión por parte de los adultos, moral de solidaridad entre iguales y moral de equidad. Este énfasis en los estadios de desarrollo moral se elabora mucho más detalladamente y con fundamento en la evidencia, con los trabajos de **Lawrence Kohlberg**, en los decenios de 1970 y 1980, con instrumentos de medición válidos y confiables y con repeticiones.

La teoría de **Piaget** tuvo mucha influencia y puede afirmarse que permitió pasar el estudio de la moral del campo de la filosofía al campo de la ciencia, en este caso de la psicología. Los filósofos habían reflexionado y especulado sobre la ética y la moral durante siglos, pero el estudio fáctico, con base en experimentos, teorías fundamentadas en la evidencia y formulación de leyes, comienza con **Piaget** en la primera mitad del siglo XX. Centrar el estudio de la moral en el desarrollo cognitivo del niño, en la socialización y las relaciones con los pares y en la progresiva independencia de las normas propuestas por los adultos, fueron aportes muy originales y decisivos. **Piaget** y sus ideas produjeron trabajos pioneros, que han dado origen a otros más refinados, y algunos de los cuales han sido comprobados mientras que en otros casos se han demostrado sus limitaciones. Para una evaluación contemporánea de **Piaget** a la luz de la ciencia, véase a **Smith** (1996).

Kohlberg y la Moralidad

Lawrence Kohlberg fue un psicólogo estadounidense que trabajó la mayor parte de su vida en la Universidad de Harvard. Allí fundó el Centro para el Desarrollo y la Educación Moral. Realizó investigaciones inicialmente en los suburbios de Chicago, con niños y adolescentes. Propuso una serie de “dilemas morales”, que son casos en los cuales existe un conflicto moral y la persona debe tomar una decisión al respecto. Como ejemplos de dilemas morales de Kohlberg podemos citar los siguientes:

1. *Tu esposa está muriendo de cáncer y el medicamento que la puede curar es muy costoso y tú no tienes el dinero para comprarlo. En la farmacia está disponible a un precio que consideras excesivo. El dilema es: robar el medicamento, o dejar que muera tu esposa.*
2. *En un supermercado has hecho compras por \$8.000. Pagas con un billete de 20.000 y el cajero te devuelve \$42.000 porque cree que le pagaste con un billete de \$50.000. El dilema es: devolver el dinero al cajero o quedarte con ese dinero, sabiendo que el cajero tendrá que reponerlo cuando se descubra el error al hacer el “arqueo” de la caja.*

3. *En un naufragio estás en un bote con otras cuatro personas, y la nave va a la deriva y está a punto de hundirse. Hay una persona con sobrepeso, que si la arrojas al mar permitirá que el peso del bote se equilibre y los demás sobrevivan. El dilema es: arrojar por la borda a la persona con sobrepeso, o dejar que todos mueran, incluyendo tú.*

Los participantes en la investigación deben decidirse por una de las alternativas y además describir los procesos psicológicos que los llevaron a tomar la decisión. Se usa una cantidad relativamente grande de dilemas morales, generalmente 10, y los anteriores son solamente ejemplos. De las respuestas dadas por los participantes se analizaron 30 factores diferentes. La teoría final es muy estructurada y bien fundamentada. Considera que las etapas son las mismas para todos los seres humanos y se dan en el mismo orden. No surgen del desarrollo biológico o cognitivo como afirmaba **Piaget** en el caso de su teoría, sino de la interacción con el ambiente, de la reflexión y análisis crítico, entre otros factores. **Kohlberg** considera que no todas las personas alcanzan las etapas superiores de desarrollo moral, y que los individuos se encuentran en diferentes niveles de moralidad.

La teoría de **Kohlberg** postula la existencia de tres niveles (I, Moral Preconvencional; II, Moral Convencional; y III, Moral Postconvencional o basada en principios). Dentro de estos niveles hay 6 etapas (1, El castigo y la obediencia; 2, El propósito y el intercambio, individualismo; 3, Expectativas, relaciones y conformidad interpersonal, mutualidad; 4, Sistema social y conciencia, la ley y el orden; 5, Derechos previos y contrato social, utilidad; 6, Principios éticos universales, autonomía).

Las seis etapas van precedidas por una etapa cero, en la cual se considera bueno todo lo que le gusta al individuo por el simple hecho de quererlo y de gustarle. Es una "pre-etapa". La descripción y análisis de las etapas del desarrollo moral según Kohlberg es la siguiente:

Etapa 1. La persona hace lo que considera correcto para evitar el castigo y para obedecer a los superiores. Se reconoce el propio interés (egocéntrico), no se reconocen los intereses de los demás. Se tienen en cuenta las acciones específicas y no las intenciones.

Etapa 2. La persona actúa de manera que considera justa para satisfacer sus propias necesidades y reconoce que los demás también poseen necesidades e intereses. Se considera justo seguir la norma cuando beneficia a la persona, se actúa en beneficio propio pero se deja que los demás individuos hagan también lo que les corresponde. Se desligan los intereses propios de los intereses de la autoridad y se considera que lo justo es relativo, ligado a los intereses individuales.

Etapa 3. El individuo hace lo correcto porque siente la necesidad de considerarse como una buena persona, ante sí mismo y ante los demás. Se pone en el lugar del otro y considera que los demás también deben colocarse en el lugar suyo. Se piensa que lo justo es vivir de acuerdo con lo que esperan de uno las personas cercanas. Ser buen hijo, hermano, amigo. Se busca tener relaciones de lealtad, respeto, gratitud y confianza.

Etapa 4. Se centra en el sistema social, la ley y el orden. Se considera que lo justo es cumplir los deberes previamente acordados con el grupo. Las razones para hacer lo que está bien se focalizan en mantener el funcionamiento de las instituciones y evitar la disolución del sistema.

Etapa 5. Se piensa que la persona posee valores y derechos anteriores a cualquier pacto social. Se integran las diferentes perspectivas mediante mecanismos formales de acuerdo, y procedimiento legal. Se reconocen las diferencias. La vida y la libertad se consideran que son valores absolutos y que deben respetarse en cualquier sociedad, incluso a pesar de la opinión mayoritaria. En esta Etapa 5 se enfatiza la utilidad general y se busca el mayor bien para el mayor número de personas.

Etapa 6. Se basa en principios éticos universales. Se enfatiza el imperativo categórico de tratar a las personas como fines en sí mismas y no como medios para conseguir un fin, sea individual o social. Lo justo, lo que está bien, es seguir los principios éticos universales que se descubren por medio de la razón. Los principios universales de la justicia son la igualdad de derechos de todos los seres humanos y el respeto a su dignidad como individuos. En esta etapa se habla de autonomía moral y lo justo se basa en los principios universales de dignidad de los seres humanos, libertad y respeto. La frase "Obra de tal manera que tu acción pueda ser erigida en ley universal" podría ser el fundamento de esta Etapa 6, la más alta del desarrollo moral.

En años posteriores, Kohlberg propuso una Etapa 7, basada en la espiritualidad, que fue muy discutida y no logró consenso entre la comunidad científica. En todo caso, el desarrollo moral, con 6 o con 7 etapas, no se logra de manera igual en todas las personas, algunas alcanzan los máximos niveles y otras llegan únicamente a etapas más convencionales.

Los trabajos de **Kohlberg** se encuentran en varios libros, siendo los principales **Kohlberg** (1981, 1984) y **Kohlberg, Levine & Hewe** (1983). La teoría derivada de estas investigaciones dio origen a importantes conceptualizaciones y también a aplicaciones en las escuelas y en las prisiones. **Kohlberg** siempre estuvo muy interesado en entender la naturaleza humana y también en mejorar la sociedad.

Medir el desarrollo del juicio moral y la contextualización en los tres Niveles y en las seis Etapas, implicó desarrollar técnicas y procedimientos para recoger los datos y analizarlos. En **Colby&Kohlberg** (1987) se presenta el sistema de medición del juicio moral propuesto por **Kohlberg** y sus colaboradores. Por otra parte **Rest** (1979), y **Rest, Narváez, Bebeau y Thoma** (1999) desarrollaron procedimientos de medición de alta validez y confiabilidad, el principal de los cuales se denomina Defining Issues Test (DIT). Estos trabajos constituyen en la actualidad líneas de investigación de alto nivel de complejidad (ver **Narváez**, 2005).

Los Valores Morales de los Colombianos

Nuestras investigaciones sobre los valores de los colombianos, el juicio moral y asuntos relacionados se presentan en el libro *Psicología del Hombre Colombiano* (**Ardila**, 1986), en la obra sobre altruismo (**Rivera y Ardila**, 1983) y en nuestro artículo (**Ardila, Gouveia&De Medeiros**, 2012), entre otros.

Colombia como sociedad ha sido estudiada previamente aunque en forma fragmentaria, e incluso todavía hoy existen muchos parámetros no investigados. Se consideró como una sociedad colectivista donde predominaban los valores de la familia, la sociedad, la tradición y similares. En nuestras investigaciones hemos encontrado que Colombia se encuentra en un proceso de cambio, de ser una sociedad colectivista a ser una *sociedad individualista*. En esta última categoría se incluyen los valores de desarrollo personal, las metas a largo plazo, la perspectiva larga del tiempo, la eficiencia, el logro, entre otros. Parece que nos encontramos en un estadio de transición, entre una sociedad colectivista (como Uganda, Filipinas, Paraguay, entre otras) y una sociedad individualista (como Estados Unidos, Holanda, Suecia, y otras).

Los resultados de nuestras investigaciones indican que los colombianos presentan todavía en este momento una orientación más social que personal y más idealista (humanista) que materialista. Los principales valores de los colombianos son el éxito, la madurez y la afectividad. Los considerados como menos importantes son el poder, la tradición, la belleza y la emoción. Lo que se encuentra en síntesis es que Colombia es una *sociedad en transición*, donde los valores de tradición, emoción, belleza, están dando paso a los valores de logro, éxito, individualismo, y similares. Los países llamados “desarrollados” enfatizan el logro, el éxito personal, la orientación hacia el futuro. Las naciones que se denominan “en desarrollo” enfatizan la tradición, la belleza, la afiliación. Todos estos valores tiene su lugar, no hay unos que sean mejores que otros, y en realidad el concepto de “mejor” o “peor” no tiene sentido alguno. Se trata de valores “diferentes”, no mejores ni peores, y algunos se asocian más con el desarrollo socioeconómico que otros.

En las investigaciones sobre la psicología de los colombianos fundamentadas en la categorización de **McClelland**,

de motivación humana con base en el logro, la afiliación y el poder, Colombia tradicionalmente puntuó alto en afiliación y bajo en poder. En este momento puntuamos alto en logro, mediano en afiliación y seguimos bajos en poder. Colombia no es un país que busque – como nación – ser un imperio, ni un líder político internacional (motivación de poder), a la manera de Estados Unidos y más recientemente Brasil, sino un país que está en proceso de planear sus metas a largo plazo, con énfasis en la eficiencia y la eficacia y enfatizando la importancia del individuo (motivación de logro), sin descuidar la familia y la colectividad (motivación de afiliación). Conocer los parámetros psicológicos de los colombianos nos ayudará a entender mejor la sociedad, la vida cotidiana y a planear nuestro futuro como país, incluyendo el papel de la ciencia en dicho proceso.

Críticas a la Teoría de Kohlberg

La teoría de **Kohlberg** sobre juicio moral y desarrollo moral fue muy bien recibida por la comunidad científica. Sin embargo se presentaron críticas a la misma – como ocurre generalmente en el mundo académico – desarrollos alternativos, se señalaron dificultades metodológicas, y asuntos similares. Una crítica que tuvo resonancia fue la de **Carol Gilligan** una colaboradora cercana de **Kohlberg** y una de las principales líderes feministas de la segunda mitad del siglo XX. Ella señaló que los asuntos morales se estudiaron principalmente en varones y no en mujeres y buscó investigar las diferencias de género en juicio moral. En los trabajos de **Kohlberg** se habían encontrado diferencias entre hombres y mujeres. **Gilligan** realizó otras investigaciones y encontró que los varones se concentran en la verdad y la justicia, mientras que las mujeres lo hacen en las relaciones, incluyendo problemas de responsabilidad y de cuidado. Su libro *In a Different Voice: Psychological Theory and Women's Development* (1982) presenta estas investigaciones y su conceptualización. Es una de las obras más influyentes del movimiento feminista y de los estudios de género. **Gilligan** propuso lo que denominó “ética del cuidado” que era predominante en las mujeres, a diferencia de la “ética de la justicia” que era central en los varones. Según ella las mujeres privilegian los vínculos con los demás y las responsabilidades en el cuidado, por encima del cumplimiento abstracto de los deberes y el ejercicio de los derechos. Una evaluación contemporánea de la teoría de **Kohlberg**, teniendo en cuenta todos los aspectos de su trabajo, se encuentra en **Gibbs** (2013).

Desarrollos Recientes

Durante estos años del siglo XXI se han llevado a cabo una serie de estudios experimentales sobre los orígenes de la moral en niños pequeños. Son trabajos centrados en la cooperación, la reciprocidad, la adhesión a normas y el seguimiento de reglas. Esas investigaciones experimentales están en proceso en varios países, entre ellos Colombia.

La pregunta central de investigación es cómo los humanos se convierten en seres morales, que se preocupan por el bienestar de los demás en el grupo y al mismo tiempo persiguen sus propios intereses. Se insiste en que los niños son tanto egoístas como cooperativos. La comprensión de las reglas morales se presenta a partir de los 3 años, y antes no puede decirse que los niños comprendan las normas. Esta afirmación está en consonancia con los trabajos sobre los procesos de lenguaje complejo, de cognición, con la maduración del cerebro, y con los trabajos anteriores de **Piaget**.

Los niños crecen en un contexto complejo de normas y reglas. Según estas investigaciones el desarrollo de la moralidad en nuestra especie requiere dos pasos: (1) los niños colaboran unos con otros y actúan de forma prosocial hacia individuos específicamente considerados; (2) los niños participan en las normas sociales e instituciones de su cultura. Todo el proceso se orienta hacia una moralidad humana completa.

Se ha encontrado experimentalmente que los niños aunque presentan conductas egoístas, también colaboran con otros, comparten recursos, evalúan a los demás en lo relacionado con sus conductas cooperativas. Incluso los niños muy pequeños son colaboradores, cooperan con otros niños y con los adultos, son interdependientes y saben que los demás los necesitan. Incluso cooperan con los demás aunque esto represente un costo para ellos. Los niños indican a los adultos dónde están los objetos que están buscando. Intentan cooperar con otros niños que son cooperadores (reciprocidad directa). Muestran un sentido básico de lo que podríamos llamar justicia retributiva y prefieren que la distribución de recursos sea equitativa entre los participantes.

Las normas y las reglas de la sociedad son generales y no dependen del agente que las presenta. En lo que respecta a la culpa, la restitución, el perdón, y temas similares, los niños presentan conductas complejas que indican un temprano desarrollo moral, mucho más avanzado de lo que se pensaba anteriormente.

Cuando se comparan los orígenes evolutivos de la moralidad y la cooperación se encuentra que aunque los monos superiores son prosociales y cooperativos, los seres humanos lo son mucho más, son más igualitarios, tienen más sentido de grupo y adhieren más claramente a las normas y a las instituciones. Los niños evalúan su propia conducta y entienden que los demás los evalúan en la misma forma como ellos están evaluando a los demás. Estas raíces de la moralidad han permitido que los seres humanos armonicen unos con otros, formen sociedades complejas y culturas muy elaboradas. La cooperación, la reciprocidad, el altruismo, que se encuentran en muchas especies no humanas, alcanzan niveles mucho más altos de desarrollo en nuestra especie.

Cuando un niño nace está ya inmerso en una cultura, con conductas, normas, reglas de alta complejidad. Sus comportamientos iniciales, egoístas, se complementan con otros más cooperativos, y se integran con las normas de la cultura. Cuando ya el lenguaje, la cognición y su fundamento en la maduración biológica han alcanzado un alto grado de desarrollo, se presentan comportamientos como los que se han encontrado en estos estudios experimentales recientes. El niño como ser moral es una de las resultantes de estos procesos. Ver **Hoffman** (2000), **Kenward&Dahl** (2011), **Killen&Smetana** (2006).

Moral y Sociedad Humana

La especie humana ha dado origen a una ética y a una conducta moral altamente elaboradas, cuyas raíces se encuentran en especies no humanas y que aparecen en los niños de pocos años. Esta moral tiene principios universales, comunes a la mayor parte de las culturas investigadas, más allá de las limitaciones del aquí y el ahora. Sería posible afirmar que son parte de la “naturaleza humana” aunque este concepto sea bastante discutido entre los investigadores. Podemos puntualizar que los *principios éticos universales* son los siguientes:

1. La prohibición del homicidio. “No matarás”. En las diferentes sociedades existen castigos por romper esta prohibición. Se aplica generalmente al interior del grupo (clan, cultura, país, religión), no a los extraños. En la guerra se mata al enemigo, no a los miembros del propio bando. La venganza, la pena de muerte, los sacrificios humanos ceremoniales, son casos extremos de violación de esta prohibición del homicidio. Ver **Ardila** (2012).
2. Prohibición de la violencia en todas sus formas. No se debe maltratar al prójimo ni causarle daño.
3. Los insultos, los ataques al honor y a la reputación están prohibidos.
4. No se debe violar el derecho a la propiedad.
5. Los padres deben proteger, cuidar y socializar a sus hijos.
6. Los hijos adultos deben ayudar a sus padres cuando lo necesiten y también a otros parientes dependiendo del rango y la distancia familiar.
7. La ayuda mutua y la generosidad son valoradas y enfatizadas.
8. Es preciso decir la verdad y cumplir las promesas. Esto no se aplica a los enemigos, a quienes se les puede mentir e incumplir lo prometido.
9. Es deseable ser modesto y humilde, no arrogante y presumido. Esta norma varía con el estatus de la persona.

Algunas religiones han exagerado esa norma de ser humildes y en ciertos casos han llegado incluso a la auto-denigración.

Es importante señalar que estas normas de conducta deseable (ética) se aplican siempre al propio grupo. No a los rivales o enemigos. El mundo se ha dividido en blanco y negro, amigos y enemigos, “nosotros” y “ellos”.

Señalemos que estas normas éticas universales, con base en la naturaleza humana, cuyas raíces se encuentran en especies no humanas, y que comienzan a aparecer a edades muy tempranas en nuestra especie, no han tomado en consideración, han dejado por fuera, valores que son centrales en la cultura humana, como el *crecimiento personal* y el *auto-desarrollo*. No se señala el papel de la realización de las propias potencialidades, ni el compromiso con las propias metas.

Conclusiones

La conducta moral, la ética, el concepto de justicia, lo bueno y lo malo, el comportamiento deseable, lo correcto y lo incorrecto, la justicia, la cooperación, el altruismo, han sido asuntos de interés en todas las culturas humanas estudiadas. Esas normas de convivencia, de armonía social, tienen sus fundamentos en la naturaleza humana, en nuestras predisposiciones genéticas, en aquellas conductas que aparecieron en nuestra especie porque eran adaptativas y permitían la supervivencia y la armonía del grupo. Al ser los humanos una especie altamente social, se requerían formas de relacionarse unos con otros, con el contexto, con los amigos y con los enemigos.

En décadas recientes se han investigado los orígenes de esas conductas, tanto a nivel filogenético como ontogenético. Hemos estudiado sus raíces en especies no humanas, ante todo en primates. Y sus orígenes en nuestra especie a lo largo del ciclo vital. Hemos comprobado que existe moral en animales diferentes de nosotros, y también que el niño no busca solamente satisfacer sus necesidades y lograr sus fines en forma egoísta, sino que también coopera, sigue normas y reglas, y que la conducta moral evoluciona a lo largo de nuestro desarrollo como seres humanos.

Darwin escribió en su libro *The Descent of Man* (1871): “... todo animal, cualquiera que sea su naturaleza, si está dotado de instintos sociales bien definidos, incluyendo entre estos las afecciones paternas y filiales, inevitablemente llegaría a la adquisición del sentido moral o de la consciencia, cuando sus facultades intelectuales llegasen o se aproximasen al desarrollo a que aquellas han llegado en el hombre...” (pp.130-131, de la traducción española *El Origen del Hombre*, 1953).

Por otra parte, los educadores, filósofos y científicos han señalado que si queremos mejorar el mundo debemos mejorar el aprendizaje y la socialización. Y en ese contexto el

desarrollo moral ocupa un lugar central. El estudio de la moral desde una perspectiva ontogenética y filogenética ofrece importantes posibilidades para conocer mejor al ser humano y su sociedad, con las herramientas de la ciencia, y para planear mejor nuestro futuro como individuos y como especie.

Referencias bibliográficas

- Ardila, R.** 1979. *Los orígenes del comportamiento humano*. Barcelona: Editorial Fontanella.
- 1986. *Psicología del hombre colombiano*. Bogotá: Editorial Planeta.
- 2011. Inteligencia: ¿Qué sabemos y qué nos falta por investigar? *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, **35** (134): 97-103.
- 2012. Nature and nurture. A nonkilling developing world perspective, In **D.J. Christie & J.E. Pim** (Eds.). *Nonkilling psychology* (pp. 71-84). Honolulu, Hawaii: Center for Global Nonkilling.
- Ardila, R., Gouveia, V.V., & De Medeiros, E.D.** 2012. Human values of Colombian people. Evidence for the functionalist theory of values. *Revista Latinoamericana de Psicología*, **44** (3): 105-117.
- Bekoff, M.** 2009. *Wild justice: The moral life of animals*. Chicago: University of Chicago Press.
- Call, J., & Tomasello, M.** 2008. Does the chimpanzee have a theory of mind? 30 years later. *Trends in Cognitive Science*, **12** (5): 187-192.
- Colby, A., & Kohlberg, L.** 1987. *The measurement of moral judgment*. New York: Cambridge University Press.
- Darwin, C.R.** 1871. *The descent of man and selection in relation to sex*. London: Murray. (Traducción española: *El origen del hombre*. México, D.F: Editorial Diana, 1953).
- De Waal, F.** 2006. *Primates and philosophers. How morality evolved*. Princeton: Princeton University Press.
- Defler, T.R.** 2010. *Historia natural de los primates colombianos*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Gilligan, C.** 1982. *In a different voice: Psychological theory and women's development*. Cambridge: Harvard University Press.
- Gibbs, J.C.** 2013. *Moral development and reality. Beyond the theories of Kohlberg, Hoffman, and Haidt*. New York: Oxford University Press.
- Goodall, J.** 1986. *The chimpanzees of Gombe: Patterns of behavior*. Cambridge, MA: Bellknap of Harvard University Press.
- Hocutt, M.** 2013. A behavioral analysis of morality and value. *The Behavior Analyst*, **36**: 239-249.
- Hoffman, M.L.** 2000. *Empathy and moral development: Implications for caring and justice*. Cambridge: Cambridge University Press.

- Kappeler, P.M., &van Schaik, C.P.** 2006. *Cooperation in primates and humans. Mechanisms and evolution.* Berlin: Springer Verlag.
- Kenward, B.,&Dahl, M.** 2011. Preschoolers distribute scarce resources according to the moral valence of recipients' previous actions. *Developmental Psychology*, **47**: 1054-1064.
- Killen, M., &Smetana, J.** (Eds.). 2006. *Handbook of moral development.* Mahwah, N.J.: Erlbaum.
- Kohlberg, L.** 1981. *The philosophy of moral development. Moral stages and the idea of justice.* San Francisco: Harper & Row.
- 1984. *The psychology of moral development. The nature and validity of moral stages.* San Francisco: Harper & Row.
- Kohlberg, L., Levine, C.,&Hewer, A.** 1983. *Moral stages: A current formulation and a response to critics.* New York: Karger.
- Mann, J.R., Connor, R.C., Tyack, P.L.,&Whitehead, H.** (Eds.). 2000. *Cetacean societies: Field studies of dolphins and whales.* Chicago: University of Chicago Press.
- Marzluff, J., &Angell, T.** 2012. *Gifts of the crow. How perception, emotion and thought allow smart birds to behave like humans.* New York: Simon & Schuster.
- Narváez, D.** 2005. The neo-kohlbergian tradition and beyond: Schemas, expertise, and character. *Nebraska Symposium on Motivation*, **51**: 119-163.
- Papini, M.R.** 2009. *Psicología comparada. Evolución y desarrollo del comportamiento.* Bogotá: Editorial Manual Moderno.
- Pepperberg, I. W.** 2002. *The Alex studies. Cognitive and communicative abilities of gray parrots.* Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Piaget, J.** 1932. *Le jugement moral chez l'enfant.* Paris: F. Alcan.
- Rest, J. R.** 1979. *Development in judging moral issues.* Minneapolis: University of Minnesota Press.
- Rest, J. R., Narváez, D., Bebeau, M. J.,&Thoma, S.J.** 1999. *Postconventional moral thinking: A neo-kohlbergian approach.* Mahwah, N.J.: Erlbaum.
- Rivera, A.N.,&Ardila, R.** 1983. *Altruismo: Bases biológicas, psicológicas y sociales.* Bogotá: Editorial Universidad Santo Tomás.
- Rowlands, M.** 2012. *Can animals be moral?* New York: Oxford University Press.
- Schusterman, R.J., Thomas, J.A.,&Wood, F.G.** (Eds.). 1986. *Dolphin cognition and behavior: A comparative approach.* Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Smith, L.** (Ed.). 1996. *Critical readings on Piaget.* New York: Routledge
- Tomasello, M.** 2009. *Why we cooperate.* Cambridge, MA: MIT Press.
- 2014. *A natural history of human thinking.* Cambridge, MA: Harvard University Press.
- White, T.** 2007. *In defense of dolphins: The new moral frontier.* Malden, MA:Blackwell Publishing.

Enfoque y alcance

La Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN) es una publicación periódica trimestral, multidisciplinaria, que tiene como objetivo dar a conocer artículos inéditos de investigación de alta calidad.

La Revista publica artículos científicos en las áreas de ciencias físicas (física, físico-química, materiales y matemáticas); ciencias naturales (biología, botánica, zoología, ecología, bioquímica, química); ciencias de la tierra (geología, medio ambiente); ciencias humanas (filosofía, sicología, antropología, sociología); ciencias biomédicas y ciencias químicas, está reseñada en varios índices nacionales e internacionales tales como Actualidad Iberoamericana, Agris, CIRS (International Center for Scientific Research), Current Mathematical Publications, EBSCO, Dialnet, Historia Mathematica, Index Kewensis, Latindex, Mathematical Reviews, MathSciNet (on line data base), PERIODICA, SciELO, Online Computer Library Center – OCLC, Zentralblatt für Mathematik, Zoological Record, RLG. Nacionalmente se encuentra reseñada en la base de datos Publindex de Colciencias.

La página web de la Revista (www.raccefyn.co) permite el acceso libre y abierto a los artículos con el fin de contribuir a la visibilidad, al acceso y a la difusión de la producción científica.

El primer número se publicó en diciembre de 1936, año de creación oficial de la Academia, bajo la dirección del doctor Jorge Álvarez Lleras y hasta el momento se han editado 37 volúmenes.

Criterios para publicar

Indicaciones a los autores

Los autores deben tener en cuenta las siguientes indicaciones:

1. Los trabajos presentados deberán ser originales en inglés o español y de alto nivel sobre aspectos relacionadas con las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Todos los trabajos aceptados quedan como propiedad permanente de la Academia Colombiana Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de manera que la misma podrá publicarlos en formato físico y electrónico, incluyendo internet (Ver transferencia de derechos de autor).
2. El autor de la correspondencia debe aceptar mediante comunicación escrita firmada que el manuscrito es un trabajo original y no ha sido publicado por ningún medio, ni está siendo evaluado por otra publicación impresa o

electrónica y que ha sido aceptado por todos los autores para su publicación en la Revista y que los derechos de autor no han sido cedidos a nadie con anterioridad (Ver formato declaración originalidad, conflicto de intereses y sesión de derechos de autor en la página web de la Revista: <http://www.raccefyn.co>).

3. La participación de los autores en el trabajo debe ser suficiente como para aceptar públicamente la responsabilidad de los aportes de cada uno. El orden de los autores en la publicación deberá ser una decisión compartida de los coautores, que deben ser capaces de explicar el orden en el que aparecen sus nombres.
4. De acuerdo con el ICMJE, todos los colaboradores que no cumplen los criterios de autoría o hayan realizado contribuciones menores deben aparecer en la sección de agradecimientos, pero no ser citados como autores. Las ayudas económicas y materiales deben aparecer en los agradecimientos.
5. La terminología física, química y bioquímica, debe seguir las normas del Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de la Química Pura y Aplicada (IUPAC). Deben usarse las abreviaturas internacionales convencionales y las unidades del Sistema Internacional (SI). Los nombres científicos se deben escribir con la forma recomendada por “International Code of Botanical Nomenclature”

Envío y presentación del manuscrito

Los artículos deben enviarse a través de <http://www.raccefyn.co>

El manuscrito, incluyendo además de la página del título, el resumen, las referencias, las tablas y sus títulos, las leyendas de figuras, deben estar escritos en procesador de palabras Word a doble espacio, usando la fuente Arial de tamaño 12, sin justificar el texto. No olvide usar la numeración en todo el manuscrito.

Los manuscritos deben incluir la siguiente información:

1. Una página en Word con los nombres y apellidos (nombre completo y apellido, si desea poner el segundo apellido, debe ir separado por un guion) de todos los autores (sin cargos, ni grado académico), filiaciones y correos electrónicos.
2. Título completo del manuscrito en español e inglés.
3. Título corto

4. Resumen en español y en inglés que no supere 250 palabras.
5. Palabras clave en español y en inglés que no superen en número a seis.
6. Nombre del autor responsable de la correspondencia con su dirección completa, número telefónico y dirección electrónica.
7. Direcciones electrónicas de todos los coautores.
8. Texto, referencias y tablas en un mismo archivo junto con las leyendas de las figuras.
9. Figuras en formato jpg o tiff.

Estructura del manuscrito

Introducción: se debe mostrar el marco teórico en el cual se inscribe el tema de la investigación, propósito del artículo y justificación del estudio, indicando además la delimitación de la pregunta problema.

Materiales y métodos: se describirán los sujetos de observación o experimentación, aparatos o dispositivos y la metodología empleada en el estudio.

Análisis estadístico: señalar los métodos estadísticos utilizados y cómo se han analizado los datos.

Resultados: deben presentarse en secuencia lógica, con las tablas y figuras acompañadas de una explicación y análisis de las mismas.

Discusión: debe hacerse énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio, contrastando los resultados con la información pertinente disponible en la literatura actualizada y relacionar las conclusiones con los objetivos propuestos. Se deben incluir las implicaciones y limitaciones de los hallazgos y comparar las observaciones relevantes con las de otros estudios.

Los resultados y la discusión pueden presentarse también en forma combinada. En cuyo caso la sección se denominará Resultados y Discusión.

Conclusiones: Resumen de la investigación y su estado actual. Aquí se pueden plantear objetivos futuros a seguir en la línea de investigación.

Citación: todas las referencias bibliográficas se insertarán en el texto y deberán llevar siempre el apellido del autor o autores y el año de publicación entre paréntesis. Si el apellido del autor o autores forma parte de la estructura formal de la frase, sólo se pondrá entre paréntesis la fecha; por ejemplo: Pérez y Ribas (1996). Si son tres, cuatro o cinco autores se pondrán los apellidos de todos los autores la primera vez que se referencian en el texto, y después

sólo se pondrá el apellido del primer autor seguido de *et al.* Si son seis o más autores sólo se pondrá el apellido del primero añadiendo “*et al.*”, desde la primera vez que se referencian. Si existieran varias referencias de un autor en un mismo año se consignarán con las letras a, b, c, etc., después del año.

Cita directa o textual

Si la cita textual tiene menos de 40 palabras se presenta entre comillas dentro del texto y al final se incluye entre paréntesis el apellido, año de publicación y la página de donde se extrajo.

Ejemplo:

El objetivo de los estudios explicativos es “responder a las causas de los eventos físicos o sociales” (Hernández, Fernández y Baptista, 1991, p.66).

Si la cita comprende más de 40 palabras se ubica en un bloque independiente del texto, sin comillas y dejando una sangría al lado izquierdo.

Ejemplo:

Las revistas científicas son sistemas contextuales de comunicación, de difusión académico investigativa y fortalecimiento de competencias científicas (escritura, investigación, evaluación, edición), en los cuales la comunidad académica comparte creencias, orientaciones y el compromiso de contribuir, utilizar y hacer avanzar el conocimiento de forma colaborativa y cooperativa. (Mesa & Sánchez, 2010, p.4).

Parafraseo o resumen

Se debe mencionar al autor y la fecha.

Ejemplo:

Según Sánchez (1991), el cemento es uno de los materiales más populares e indispensables en la construcción actual.

Existen dos tipos de aprendizaje: la recepción pasiva de conocimientos y el redescubrimiento de la realidad (Piaget, 1980).

Si se cita un documento escrito entre tres y cinco autores, deben escribirse los apellidos de todos la primera vez que se citen y después incluir el apellido del primer autor seguido de “*et al.*” (sin cursiva y con punto después del “*al.*”).

Si se cita un documento escrito por seis o más autores, se presenta la primera cita con el apellido del primer autor seguido de “*et al.*”. En la lista de referencias escriba las iniciales y apellidos de los primeros seis autores y para los restantes utilice “*et al.*”

Lista de referencia

Es el listado alfabético (según el primer apellido de los autores citados en negrilla) de las fuentes consultadas y citadas

durante la redacción de un trabajo. La lista de referencias es obligatoria. Se deben citar de la siguiente manera:

Libros

Autor. Año. Título completo. Edición. Editorial, lugar de publicación, página

Ejemplo:

Ramírez J. E., S.J. 1975. Historia de los terremotos en Colombia. Segunda edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá, 250 pp.

Revista seriada

Autor, A.A., B.B. Año. Título del artículo. Título de la revista publicación seriada, volumen (número entre paréntesis), páginas del artículo.

Ejemplo:

Ríos, L., Riva, F., Canaquire, L. 2008. Reporte situacional del tráfico ilegal de fauna silvestre en la Rev. Acad. Colomb. Cienc. 38(147):218-22.

Artículo de revista electrónica

Ejemplo:

Sarabia A., Cifuentes H., Dimate M. 2006. Estudio macrosísmico del sismo ocurrido el 12 de julio de 1785. Ingeominas. Bogotá. Fecha de consulta. Disponible en: <http://aplicaciones1.ingeominas.gov.co/sicat/html/Metadato.aspx?CID=239714>

Artículo de periódico impreso:

Ejemplo:

Duque, J. G. 7 de junio de 2012. Antioquia reasume competencia para decidir futuro del túnel. El Colombiano, pp. 10.

Tesis

Ejemplo:

Gómez Capera A.A. 1998. *Atenuación de la intensidad sísmica para el territorio colombiano*. Tesis de grado en Física, Facultad de Ciencias, Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Congresos y simposios

Ejemplo:

Sánchez Upegui, A. A. Octubre 2010. *Aplicación de la lingüística textual en los criterios de evaluación de artículos académicos e investigativos*. En Simposio Nacional de Pedagogía y Currículo. Red Colombiana de Pedagogía, Medellín

Trabajos inéditos o publicaciones informales

Si el trabajo está disponible en un sitio web institucional o personal agregue el nombre de la institución y URL.

Ejemplo:

Jaramillo, G. 2012. El patrimonio arquitectónico. Manuscrito inédito. Departamento de Artes, Universidad Latinoamericana. Disponible en: <http://..>

Materiales legales

En cuanto a las citas en el texto se proporcionan los mismos datos de cualquier referencia, autor, año y en lo posible número de página, si no hay un autor identificado, se anotan las primeras palabras del título y la fecha.

Ejemplo:

Colombia. Ministerio de Educación Nacional. Ley 23 de 1982 sobre derechos de autor.

Tablas y figuras

Las tablas y cuadros se denominan tablas y llevan numeración arábiga de acuerdo con el orden de aparición. El título correspondiente se coloca en la parte superior de la tabla y las notas en la inferior. Los símbolos para unidades deben aparecer en el encabezamiento de las columnas. Si es necesario exponer alguna información, utilice las letras minúsculas del alfabeto según orden de aparición en la respectiva tabla: a, b, c, d, e, etc.

Las fotografías, gráficos, dibujos y esquemas se denominan figuras, se enumeran según el orden de aparición y sus leyendas se escriben en hoja separada. Si se trata de micro fotografías debe indicarse el aumento utilizado. Las personas, o sus nombres, no deben ser identificables en las fotografías de lo contrario se requiere permiso escrito para su publicación.

Cuando las tablas y figuras hayan sido tomadas de revistas o libros, sean impresos o electrónicos, se debe especificar la fuente y adjuntar autorización de la respectiva publicación para su reproducción.

Agradecimientos

Podrán ser expresados a personas o entidades que hayan ayudado a la realización del trabajo. Se mencionarán las personas y el tipo de ayuda aportada, así como las entidades, instituciones o fundaciones que hayan financiado o suministrado materiales. En caso de proyectos de investigación financiados será suficiente con mencionar el código de registro y la entidad, institución o fundación que lo apoya económicamente.

Proceso de revisión por pares

Se recibirán solo los artículos que cumplan con todos los requisitos que se mencionan en las indicaciones a los autores. Los artículos serán evaluados en primera instancia por el Editor y el Comité Editorial de la Revista.

Cada manuscrito será enviado a dos especialistas en el tema, que evaluarán y enviarán sus recomendaciones. Este proceso de revisión tendrá una duración de 20 días.

El editor informará a cada uno de los autores el avance de su trabajo en el proceso de evaluación.

Los pares académicos adoptan tres opciones: a) aceptación sin modificaciones; b) aceptación con correcciones; c) no aceptación. En caso de desacuerdo de los pares, el original será enviado a una tercera evaluación.

En cualquiera de las opciones, el autor será informado y deberá realizar las modificaciones correspondientes en el manuscrito y enviarlo en las cuatro semanas siguientes. Además deberá enviar un documento en el que responda a todas las observaciones hechas por los evaluadores.

Cuando el autor demore más de 30 días en responder a las sugerencias de los evaluadores, el artículo no será considerado para publicación en el siguiente número de la revista. En caso de sobrepasar dicho plazo, se entenderá que los autores retiran el trabajo en su forma actual y, si se remite de nuevo, el Comité Editorial de la Revista podrá considerar que se trata de un nuevo trabajo.

Los trabajos aceptados son propiedad de la Revista ACCEFYN y podrán ser reproducidos total o parcialmente por la Revista.

La Revista no se hace responsable de los contenidos científicos ni de las implicaciones legales de los artículos publicados.

Corrección de estilo y publicación del manuscrito

Aceptados los artículos estos se enviarán a corrección ortotipográfica. Se usará la herramienta de control de cambios de Word, en la cual quedará registro de cada una de las sugerencias realizadas y los comentarios o dudas para que el autor o autores aprueben y contesten.

La versión corregida deberá ser enviada nuevamente para su aprobación definitiva en un plazo mínimo de 48 horas. El manuscrito deberá ir con una carta al editor, informando cuales correcciones fueron procesadas. El editor le informará al autor la fecha y el número del volumen en que será publicado.

Rectificaciones y correcciones de errores

Las rectificaciones sobre la información suministrada por parte de los autores, se harán en el número inmediatamente posterior al anuncio de las mismas y serán responsabilidad de los mismos autores. La Revista se encargará de publicar una nota aclaratoria a manera de erratas. En el caso que sean necesarias mejoras y corrección de errores ortotipográficos, de manejo visual de la información o imprecisiones involuntarias, el (los) autor(es) podrán comunicarse al correo de la Revista para que puedan realizarse en las versiones electrónicas de la Revista.

Falsificaciones de artículos

Si en el proceso editorial se encuentra falsificación, omisión de datos, duplicidad del artículo o plagio, se devolverá el original al autor con la debida notificación a su institución patrocinadora, centro de investigación o universidad.

Conflicto de intereses

Si los autores o coautores, editores o revisores (evaluadores) tienen algún conflicto de interés que pueda de alguna manera influir en la transparencia u objetividad en el proceso de revisión por pares y publicación, éste debe ser declarado.

Los conflictos de interés más evidentes son los llamados conflictos financieros, resultado de relaciones entre empleador-empleado, financiaciones y patentes, así como también honorarios, consultorías, investigación pagada por compañías que dependen de los resultados investigativos, etc.

También existen los conflictos personales resultado de amistades o animadversiones, competencias académicas y pasiones en el campo intelectual o moral (por ej. parientes en una compañía que se beneficiaría de los resultados que se van a publicar, el uso de los resultados publicados para promoción inmediata basada en el artículo publicado, creencias religiosas que estén en conflicto directo con la investigación que se va a publicar, etc.

Transferencia de derechos de autor

En caso de que el artículo enviado sea aprobado para publicación, el autor principal en nombre propio y en el de los coautores o el autor principal y los coautores deben ceder los derechos de autor del artículo mencionado a la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN), excepto en los siguientes casos:

a) Los autores y coautores retienen el derecho de revisar, adaptar, preparar trabajos derivados, presentaciones orales y distribuir a algunos colegas impresos de su propio trabajo publicado, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente a la revista de ACCEFYN. También pueden publicarse el título del trabajo, resumen, tablas y figuras del trabajo en los correspondientes sitios web de autores o de sus empleadores, también dando el crédito a la revista de ACCEFYN.

b) Si el trabajo ha sido realizado por contrato, el empleador del autor tiene el derecho de revisar, adaptar, preparar trabajos derivados, reproducir o distribuir en formato impreso el trabajo publicado, de una manera segura y para el uso exclusivo de sus empleados.

c) Si a la revista de ACCEFYN se le solicitara permiso individual por terceras personas para usar, imprimir o publicar específicamente artículos ya publicados, deberá obtenerse el permiso expreso del autor y coautores del trabajo y/o del empleador con excepción del uso en salones de clase, bibliotecas o reimpresos en un trabajo colectivo.

d) La revista ACCEFYN se reserva el posible uso en la portada de la revista, de figuras sometidas a revisión junto con los manuscritos.

e) Ningún otro derecho, además del de derechos de autor, debe ser reclamado por la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN).

Criteria for publication

Information for Authors

The authors must adhere to the following requirements:

1. The works submitted must be original, in English or Spanish, and of high quality in an area related to the Exact, Physical or Natural Sciences. All works accepted will remain permanent property of the Colombian Academy of Exact, Physical and Natural Sciences so that such work can be published in hard copy or in electronic format, including web posting. (See transference of authors' rights).
2. The author submitting the work must confirm via written and signed communication that the manuscript represents original work and that it has not been published in any form, and that it is not under review by any other publisher for publication in hard copy or in electronic format and that publication in the Revista has been agreed by all authors, and the authors' rights have not been previously granted to a third party. (See form for declaration of originality, conflicts of interest, and authors' rights).
3. The participation of the authors in the submitted work must be materially sufficient so as to share in the public responsibility of its contents. The order of appearance of the each of the authors of the publication must reflect a decision shared by all the co-authors, each of whom must be prepared to justify the order in which his name appears.
4. In accordance with the ICMJE (www.raccefyn.co), all collaborators who do not comply with the criteria for authorship, or who have realized minor contributions must be included in the Acknowledgement Section, and must not be cited as authors. The Acknowledgement Section must also include reference to any financial and economic assistance.
5. The terminology must adhere to the International Code for Botanical Nomenclature. The physical, chemical or biochemical terminology norms of the Nomenclature Committee of International Union for Pure and Applied Chemistry (IUPAC). The abbreviations must follow the international conventions as well as the units must conform to the International System (SI). The scientific names must be written in the format recommended by the "International Code of Botanical Nomenclature".

Submission and Presentation of manuscript

The manuscripts should be submitted using the website of the Academy: <http://www.accefyn.co>

The manuscript, including the title page, the abstract, tables with titles, graphics with descriptive legends, must be prepared in Microsoft WORD processor in double space. Use Areal font size 12 without justification. Do not forget to number the entire manuscript.

The manuscripts must contain the following information:

1. A page in Microsoft Word with the names and surnames (complete name , first and second family name separated by a hyphen) of all the authors (without positions , and without academic degrees), academic affiliations and email addresses.
2. Complete manuscript title in Spanish and English.
3. Short Title
4. Abstract in Spanish and English using 250 or less words
5. Key words in Spanish and English not containing more than 6 words.
6. Name of the author responsible for all correspondence, including his complete address, telephone number and email address.
7. Electronic addresses of all the co-authors.
8. Text, bibliographical references and tables in the same file together with the legends for all the figures.
9. Figures must be in jpg or tiff format.

Manuscript Structure

Introduction: there must be a clear description of the theoretical framework of the theme of the investigation, purpose of the article and justification of the study, indicating the limitation of the problem question.

Materials and methods: a description of the object of observation or experimentation, instruments or devices and the methodology employed in the study.

Statistical analysis: indicate the statistical methods used and the data analysis employed.

Results: these must be presented in a logical sequence, with the accompanying tables and figures with their respective explanations and analysis.

Discussion: emphasis must be given to those aspects of the study which are new and important, contrasting the results with the relevant information available in the recent literature and relate the conclusions with the proposed objectives. Mention must be made of the implications and limitations of the results found and a comparison of the relevant observations with that of other studies.

The results and the discussion may also be presented in a combined form.

Conclusion: an up to date survey of the investigation. Mention can be made here of future objectives of the same line of investigation.

Bibliography: these citations must be verifiable, enumerated and referred to in the body of the article enclosing each number with square brackets. When a citation is made, indicate in the text the author, the year and page in the following way:

Direct or textual quotation

If the textual citation has under 40 words it should be given in between quotation marks within the text and at the end it should include in parenthesis the surname, the year of publication and the page from which it was extracted.

Example:

The objective of the explicative studies is “ to respond to the causes of the physical or social events” (Hernández, Fernández and Baptista, 1991, p.66)

If the citation goes over 40 or more words it must be placed in a separate block independent of the text, without quotation marks allowing for bleeding on the left margin.

Example:

The scientific journals are contextual system of communication, of academic or investigative diffusion and strengthening of scientific competence (writing, investigation, evaluation, editing), in which the academic community shares beliefs, orientation and the commitment to contribute, use and advance the formal knowledge of collaboration and cooperation. (Mesa & Sánchez, 2010, p.4)

Paraphrase or summary

Mention must be made of the author and the date.

Example:

According to Sánchez (1991), cement is one of the most popular and indispensable materials in today’s construction.

There exist two types of learning: the passive reception of knowledge and the rediscovery of reality (Piaget, 1980)

If a cited document has between three or five authors, the surnames of all the authors must be given the first time they

are cited and afterwards include the surname of the first author followed by “ et al.” (not in italics and with a period after the “al.”).

If a cited document has six or more authors, place the first citation with the surname of the first author followed by “et al.” In the bibliographical list write the initials and surnames of the first six authors and for the rest use “ et al.”

Bibliographical list

It is the list, in alphabetical order (according to the first surname of the cited authors, which should be in bold) of the sources consulted and cited in the text of the article. It is mandatory to include the bibliographical list. It should be cited in the following way:

Books

Author. Year of publication. Title of the book. Edition. Publisher, place of publication, page(s).

Example:

Ramírez J. E., S.J. 1975. Historia de los terremotos en Colombia. Segunda edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá, 250 pp.

Article from periodical journal

Author, A.A., Author, B.B. Year. Title of the article. Title of the journal, volume (number in parenthesis), pages.

Example:

Ríos, L., Riva, F., Canaquire, L. 2008. Reporte situacional del tráfico ilegal de fauna silvestre en la en la región nororiental del Perú . Rev. Acad. Colomb. Cienc. 38(147):218-22.

On line periodical article

Example:

Sarabia A., Cifuentes H., Dimate M. 2006. Estudio macrosísmico del sismo ocurrido el 12 de julio de 1785. Ingeominas. Bogotá. Date of query: (day, month, year). Available at: <http://aplicaciones1.ingeominas.gov.co/sicat/html/Metadato.aspx?CID=239714>

Newspaper article

Example:

Duque, J. G. 7 de junio de 2012. Antioquia reasume competencia para decidir futuro del túnel. El Colombiano, pp. 10.

Thesis

Example:

Gómez Capera A.A. 1998. *Atenuación de la intensidad sísmica para el territorio colombiano*. Tesis de grado en Física, Facultad de Ciencias, Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Congresses and symposia

Example:

Sánchez Upegui, A. A. Octubre 2010. *Aplicación de la lingüística textual en los criterios de evaluación de artículos académicos e investigativos*. In: Simposio Nacional de Pedagogía y Currículo. Red Colombiana de Pedagogía, Medellín

Unpublished manuscript or informal publications

If the work is available at an institutional or personal web site, please add the name and URL of the institution.

Example:

Jaramillo, G. 2012. El patrimonio arquitectónico. Manuscrito inédito. Departamento de Artes, Universidad Latinoamericana. Recuperado de <http://...>

Legal documents

Regarding the citations in the text, the same data included in all other references should be provided (author, year, and if available, the same page number). If there is no identifiable author, the first words of the title should be noted, as well as the date.

Example:

Colombia. Ministerio de Educación Nacional. Ley 23 de 1982 sobre derechos de autor.

Tables and graphics

The tables and frames are called tables and carry an arabic numeration in accordance with the order in which they appear. The corresponding title is placed on the upper part of the table and notes are placed in the lower part. Symbols for unit measures must appear in the column headings.

If it is necessary to display some information, use lower case letters from the alphabet according to the appearance of the table: a, b, c, d, e, etc.

Photographs, graphics, pictures or sketches are named figures, are enumerated in order of appearance, and their legends must be written in a separate page. With respect to microfiches, indicate the size of the augmentation used. People or their names should not be identifiable in photographs, unless written permission for their publication has been obtained.

When tables and figures have been taken from magazines or books, published in hard copy or electronically, specify the source and include the authorization for its reproduction from the respective publication.

Acknowledgments

These can be expressed to persons or entities who have aided in the realization of the work. Mention is made

of persons and their type of aid provided, as well as to entities or institutions which have provided financial and material assistance. In case of investigative projects with financial support it suffices to mention the registry code and the entity, institution or foundation which provided the economic support.

The peer-review process

Only articles which comply with the requirements mentioned in the information for authors will be accepted. The articles will be given their first evaluation by the Editor and the Editorial Committee of the Revista.

Each manuscript will be sent to two experts on the topic who will provide recommendations after review and evaluation. This process of revision will have a duration of 30 days.

The editor will inform each of the authors of the status of the process of evaluation of their work.

The academic peers will adopt one of three options: a) acceptance without modifications; b) acceptance with corrections; c) Deny acceptance. In case of disagreement among the peers, the original manuscript will be sent out for a third evaluation.

Under any of the three options, the author will be informed and must follow the corresponding modifications of the manuscript and return it within the following four weeks. In addition, the author(s) must provide a written document with answers to all the peers observations.

If the author takes more than 30 days to respond to the suggestions from the reviewers, the article will not be considered for publication in the next issue of the Revista. In case the response from the author takes longer than the allocated time, it is understood that the authors will retrieve the work in its present form and, if a new submission is made, the Editorial Committee of the Revista may treat it as a new work.

The works accepted for publication become property of the Revista ACCEFYN and may be reproduced in their entirety or partially by the Revista.

The Revista does not assume responsibility for the scientific content, nor for the legal implications of any of the published articles.

Publication of the manuscript

Once the article has been accepted, it will undergo a style and format revision which will bring it to its definitive version. The authors will receive the galley proofs in PDF format for the correction of errors before its printing. The corrected version must be returned for final approval within a period

of 48 hours. The manuscript must be accompanied with a letter to the editor informing him of the corrections that were carried out. The editor will inform the author of the date and volume number in which the publication will appear.

Conflicts of interest

If the authors or co-authors, the editors or reviewers (evaluators) have some conflict of interest which may in any way influence the transparency and objectivity of the peer review process and publication, it must be so declared.

The most obvious conflicts of interest are those referred to as financial conflicts, which result between, employer-employee, investments and patents, as well as honoraria, consulting, paid investigation by companies which depend on the investigative results, etc.

There also exist personal conflicts arising from friendships, animosity, academic competencies and passions in the moral or intellectual field (for example relatives in a company which will benefit from the results to be published, the use of the results for immediate promotion based on the published article, religious beliefs which are in direct conflict with the investigation that will be published, etc).

Transfer of author rights

In case the article is approved for publication, the main author in representation of himself and his co-authors or the main author and his co-authors must cede the author rights

of the corresponding article to the Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCFYN), except in the following cases:

- a) The authors and co-authors will retain the right to revise, adapt, prepare derived works, oral presentations and distribution to some colleagues of reprints of their own published work, as long as the corresponding credit is given to the Revista of ACCEFYN. It is also permissible to publish the title of the work, summary, tables and figures of the work in the corresponding web sites of the authors or their employers, also giving credit to the Revista of ACCEFYN.
- b) If the work has been realized under contract, the author's employer has the right to revise, adapt, prepare derivative works, reproduce or distribute in hard copy the published work, in a secure manner and for the exclusive use of his employees.
- c) If the Revista of ACCEFYN were approached for permission by a third party for using, printing or publishing specifically articles already published, the Revista of ACCEFYN must obtain the express permission of the author and co-authors of the work and/or of the employer with the exception of use in classrooms, libraries, or reprinted in a collective work.
- d) The Revista of ACCEFYN reserves the possible use in its front cover of figures submitted with the manuscripts.
- e) No other right, other than the author's right, can be claimed by the Revista of ACCEFYN.

