

Vol. 11, Núm. 3 (2019)

aci

avances
en ciencias e
ingenierías



Vol. 11, Núm. 3 (2019)

aci

avances
en ciencias e
ingenierías

ACI Avances en Ciencias e Ingenierías

ISSN(e): 2528-7788
<http://avances.usfq.edu.ec/>
Quito, Ecuador

Volumen 11, Número 3, diciembre 2019

DOI: <http://doi.org/10.18272/aci.v11i3>

ACI Avances en Ciencias e Ingenierías es una revista científica con revisión por pares (*peer-reviewed*), de acceso abierto (*open access*), e indexada que publica trabajos en ciencias exactas, físicas, biológicas, ambientales, ingenierías, e investigaciones en el interfaz de estas disciplinas desarrollados por científicos de cualquier institución o país.

ACI Avances en Ciencias e Ingenierías es publicada por USFQ PRESS, departamento editorial de la Universidad San Francisco de Quito USFQ y es parte de las siguientes bases, catálogos e índices: DOAJ, Latindex Catálogo 2.0, Redalyc, REDIB.

Editor General: Eva O.L. Lantsoght, Universidad San Francisco de Quito, Ecuador

Editores Asociados

Melissa Infusino¹
René Parra Narváez¹
Daniela Almeida Streitwieser¹
Oihane Fernández Blanco¹
Lionel Trojman¹
Elisa Bonaccorso¹
Diego F. Cisneros-Heredia¹
Juan Manuel Guayasamin¹
Diana Alexandra Pazmiño¹
Esteban Suárez, Politécnico¹

¹Universidad San Francisco de Quito USFQ, Ecuador

Consejo Editorial

Nikolay Aguirre, Universidad Nacional de Loja, Ecuador
Ruth Mariela Alvarez, Universidad de Carabobo, Venezuela
Andrea Arias, DuPont Pioneer, Johnston, IA, Estados Unidos
John Blake, University of Florida, Gainesville, FL, Estados Unidos
Robert Cazar, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador
César Costa, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador
Salvador Godoy, Instituto Politécnico Nacional, México
Bette Loiselle, University of Florida, Gainesville, FL, Estados Unidos
Luis Rincón, Universidad de Los Andes, Venezuela
Mauricio Rivera-Correa, Universidad de Antioquia, Carmen de Viboral, Colombia
Santiago Ron, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador
Carlos Ventura, The University of British Columbia, Canadá
Stephen J. Walsh, The University of North Carolina at Chapel Hill, NC, Estados Unidos
Cesar Zambrano Semblantes, Universidad San Francisco de Quito, Ecuador

Producción editorial: USFQ PRESS

Corrección de estilo y ortotipográfica: Reema Azar, Fabiola Diaz, Luis López

Diseño general y de cubierta: Krushenka Bayas Ramírez

Fotografía de cubierta: Freepik

Webmaster y manejo de OJS: Jaime Páez, Luis López



Esta obra está bajo una licencia Creative Commons «Atribución-NoComercial-4.0 Internacional».

El uso de nombres descriptivos generales, nombres comerciales, marcas registradas, etc. en esta publicación no implica, incluso en ausencia de una declaración específica, que estos nombres están exentos de las leyes y reglamentos de protección pertinentes y, por tanto, libres para su uso general.

La información presentada en esta revista es de entera responsabilidad de sus autores. USFQ PRESS presume que la información es verdadera y exacta a la fecha de publicación. Ni la Editorial, ni los editores, ni los autores dan una garantía, expresa o implícita, con respecto a los materiales contenidos en esta obra ni de los errores u omisiones que se hayan podido realizar.

USFQ PRESS / Revista Avances en Ciencias e Ingenierías

Att. Eva Lantsoght, editora
Universidad San Francisco de Quito USFQ
Calle Diego de Robles y Vía Interoceánica, Campus Cumbayá
Quito 170901, Ecuador.
Correo electrónico: avances@usfq.edu.ec - usfqpress@usfq.edu.ec

Contenido

Sección A: Ciencias Exactas y Físicas

Capacidad antioxidante del 3,4-dihidroxibenzaldehído frente al radical hidroperoxilo en disolución: Un enfoque teórico 6

Antioxidant capacity of 3,4-dihydroxybenzaldehyde and the hydroperoxyl radical in solution:

A theoretical approach

Santiago Alvarez

Sección B: Ciencias Biológicas y Ambientales

Unusual Record For Greater Bulldog Bat *Noctilio leporinus* Linnaeus, 1758 (Chiroptera: Noctilionidae) in the Southern Andes of Ecuador 34

Registro inusual para el murciélago Pescador Mayor *Noctilio leporinus* Linnaeus, 1758

(Chiroptera: Noctilionidae) en Los Andes Sur del Ecuador

Carlos Niveló-Villavicencio, Francisco Sánchez-Karste, David C. Siddons, Javier Fernández de Córdova

Illustrated catalog of Phytoliths from the Galápagos Islands: Economic species of San Cristóbal Island 40

Catálogo ilustrado de Fitolitos de las Islas Galápagos: Especies económicas de la Isla San Cristóbal

Fernando J. Astudillo

Sección C: Ingenierías

Design of low-voltage low-power CMOS current reference in 180nm 92

Diseño de un espejo de corriente CMOS a baja potencia y voltaje en 180nm

Diego Fernando Jaramillo Calderón

Inulina: una alternativa para el desarrollo de productos cárnicos funcionales 102

Inulin: an alternative for the development of functional meat products

María Alicia Peña, Silvia Peña, María Aloyda Guerra

Neural network-based analytical model to predict the shear strength of steel girders with a trapezoidal corrugated web 122

Modelo analítico basado en redes neuronales para predecir la estabilidad a cortante de vigas de acero

con un alma corrugada trapecoidal

Jun He, Miguel Abambres

Rainfall Trend and Rainfall Design Values in the upper part of Ecuadorian Andean Mountains and their implications on Hydropower Projects 144

Tendencia de lluvia y valores de diseño para lluvia en la parte superior de las montañas andinas ecuatorianas y sus implicaciones en proyectos hidroeléctricos

Paulina Lima G., Jorge L. Santamaria C., Margarita Flor

Simple Hardware Implementation of Motion Estimation Algorithms 164

Implementación simple en hardware de algoritmos para la estimación de movimiento

Juan Romero, Damien Verdier, Clement Raffaitin, Luis Procel, Lionel Trojman

Proceso editorial 176

Capacidad antioxidante del 3,4-dihidroxibenzaldehído frente al radical hidroperoxilo en disolución: Un enfoque teórico

Santiago Alvarez¹

¹Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Física Aplicada, A.P. 73 Cordemex 97310 Mérida, Yucatán, México.

*Autor para correspondencia / Corresponding autor e-mail: santiago.alvarez@cinvestav.mx

Antioxidant capacity of 3,4-dihydroxybenzaldehyde and the hydroperoxyl radical in solution: A theoretical approach

Abstract

Herein, we studied the antioxidant capacity of the 3,4-dihydroxybenzaldehyde against the hydroperoxyl radical by means of a thermochemical and kinetic analysis using the Theory of Functional Density. The energies of the reaction barriers were computed at the M05-2X/6-311 G(d,p) level of theory employing the Transition State Theory. The thermochemical analysis identified the hydrogen transfer mechanism as the main route taken by the reaction. The kinetic analysis indicates that 3,4-dihydroxybenzaldehyde is effective to inhibit this radical since the overall kinetic constant was higher than the oxidation constant of fatty acids present in cell membranes.

Keywords: Chemical Kinetics, oxidative stress, free radical, antioxidant capacity.

Resumen

Esta investigación estudió la capacidad antioxidante del 3,4-dihidroxibenzaldehído, frente al radical hidroperoxilo por medio de un análisis termoquímico y cinético: se utilizó la Teoría de los Funcionales de la Densidad. Las energías de las barreras de las reacciones se calcularon recurriendo a la Teoría del Estado de Transición, con el nivel de teoría M05-2X/6-311+G(d,p). Los resultados termoquímicos muestran que el mecanismo de transferencia de hidrógeno es la vía principal que toma la reacción. Los cálculos cinéticos evidencian que el 3,4-dihidroxibenzaldehído es efectivo para inhibir a este radical, ya que la constante de velocidad global resultó mayor a la constante de oxidación de los ácidos grasos presentes en las membranas celulares.

Palabras clave: Cinética Química, estrés oxidativo, radical libre, capacidad antioxidante.



Editado por /
Edited by:
Eva O.L. Lantsoght

Recibido /
Received:
28/03/2019

Aceptado /
Accepted:
25/09/2019

Publicado en línea /
Published online:
20/02/2020

INTRODUCCIÓN

La Cinética Química se encarga del estudio de la velocidad con la que ocurren las reacciones químicas y posee una relación intrínseca con el mecanismo que las genera. Los modelos cinéticos permiten la comprensión de procesos químicos importantes como la descomposición de los alimentos, el crecimiento de microorganismos, la disgregación del ozono estratosférico o, en este caso, la determinación de la capacidad antioxidante de un compuesto [1, 2]. Desde el punto de vista teórico, los cálculos cinéticos se realizan al conocer las funciones de partición para las sustancias que participan en la reacción; entonces es posible calcular la constante de velocidad, si se emplea la teoría del estado de transición (TST, por sus siglas en inglés) [3, 4]. El método para determinar la capacidad antioxidante de un compuesto consiste en comparar la constante de velocidad del proceso, con la velocidad de oxidación de los lípidos presentes en las membranas celulares. La oxidación lipídica se genera por las especies reactivas de oxígeno durante el estrés oxidativo.

1. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo (OS) es un proceso biológico que se desarrolla en disolución y ocurre en los organismos vivos como consecuencia del metabolismo aerobio. El OS da lugar a un entorno que se produce por el desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad del sistema biológico de reparar el daño inducido por estas especies. Parte de los ROS se generan por procesos fisiológicos que se derivan del oxígeno molecular [5], el cual produce especies como el radical anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($HO\cdot$), el oxígeno singulete (1O_2), radicales alcoxilo ($RO\cdot$), radicales peroxilo ($ROO\cdot$) y, además, genera especies reactivas de nitrógeno [6]. En las células, la principal fuente de producción de ROS es la cadena respiratoria mitocondrial que utiliza aproximadamente el 80-90% del O_2 que consume una persona [7]. La producción de ROS también se da por la exposición a la radiación ionizante, radiación UV o metabolismo de algunos fármacos [8].

Los ROS regulan varios procesos celulares en los mamíferos, como la producción de hormonas de crecimiento, la comunicación entre células, la unión de las proteínas G, entre otros [9]. Cuando el nivel de especies reactivas de oxígeno supera significativamente la capacidad de las defensas antioxidantes en el sistema biológico, estas tienen efectos tóxicos en el medio [10]. La sobreproducción de ROS contribuye a la patogénesis de numerosas enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la edad y el deterioro cognitivo en los seres humanos, debido a su ataque en los ácidos grasos insaturados de las membranas celulares y las cadenas de ADN [11].

1.1. Reactividad de las especies de oxígeno

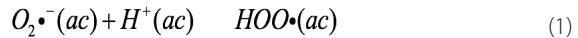
La reactividad de los ROS se evidencia por medio del potencial de reducción; se conoce que cuanto mayor es el potencial de reducción de los ROS, mayor es su capacidad de oxidación. El peróxido de hidrógeno no se involucra directamente en el inicio de la oxidación de los lípidos, debido a que su potencial de reducción de 320 mV es inferior a los 600 mV de los ácidos grasos insaturados. El potencial de reducción del radical anión superóxido es de 940 mV; no es lo suficientemente fuerte como para extraer hidrógeno de los ácidos grasos insaturados [12]. El radical hidroxilo tiene un potencial de reducción estándar más elevado (2310 mV), pero este se genera a partir del H_2O_2 [13]. El radical



hidroperoxilo, con 1060 mV, es más reactivo que el radical anión superóxido [14] y, por ello, su presencia en la membrana mitocondrial de las células origina la peroxidación de lípidos. La tasa de extracción de H· de los ácidos grasos insaturados varía entre $1\text{-}3 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, lo que representa un paso crítico en el proceso de peroxidación lipídica [12].

1.1.1 Formación del radical hidroperoxilo

El radical anión superóxido se forma en la cadena de transporte de electrones de la membrana mitocondrial, a partir del oxígeno triplete. En la célula, cuando el anión superóxido formado se difunde hacia el medio acuoso celular, forma su ácido conjugado: el radical hidroperoxilo, según la reacción (1) [15].



Esta reacción muestra que los dos radicales se encuentran en equilibrio en medio acuoso. La reacción inversa, correspondiente a la deprotonación del HOO· tiene una constante de equilibrio, $K_{\text{HOO}\cdot} = 1,6 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ [16]. Esto indica que, en medio acuoso, la formación del HOO· es favorable.

El radical hidroperoxilo se difunde a través de la membrana hidrofóbica [11] y produce una variedad de radicales lipídicos (R·) debido a su capacidad de extraer hidrógeno de los ácidos grasos presentes en las células, lo que da lugar a la aparición de varias enfermedades [17, 18]. Las velocidades de reacción del radical hidroperoxilo con los ácidos linoleico, linolénico y araquidónico son $1,2 \times 10^3$, $1,7 \times 10^3$ y $3,1 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, respectivamente [12, 19]. Estas constantes son relativamente altas y, por tanto, determinantes en los procesos oxidativos.

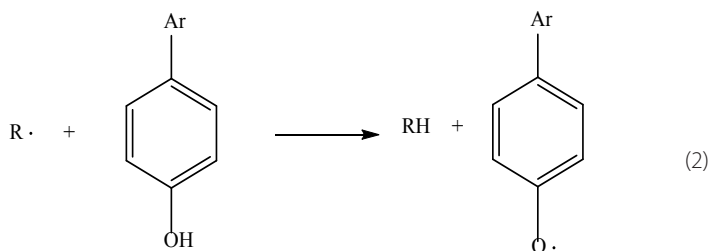
Algunas sustancias químicas, como los compuestos fenólicos, tienen la capacidad de inhibir el daño causado por estos radicales y ejercer un efecto protector a nivel celular [20].

2. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

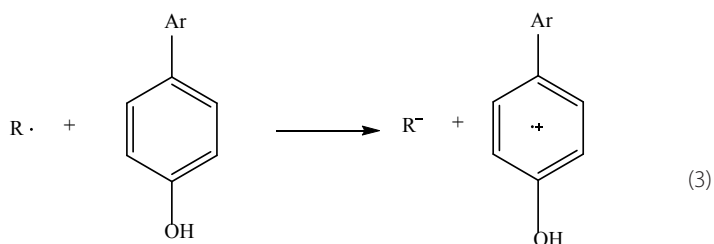
Los compuestos fenólicos son una clase de antioxidantes que constan de uno o más grupos hidroxilo (HO-) unidos directamente a uno o más anillos aromáticos. Los polifenoles se distribuyen ampliamente en las plantas, frutas, verduras, el vino y el té [21, 22]. Los compuestos fenólicos poseen la propiedad de prevenir, reducir o reparar el daño inducido por las especies radicales de oxígeno y nitrógeno en las biomoléculas.

El efecto inhibitorio de los antioxidantes polifenólicos sobre los ROS se desarrolla por medio de mecanismos que surgen de la reacción directa con radicales libres [23]. Estos son la formación radicalaria de aductos (RAF), transferencia de hidrógeno (HT) y transferencia de electrón (SET).

En el mecanismo de transferencia de hidrógeno, los antioxidantes inactivan los radicales libres por medio de la transmisión del átomo de hidrógeno. Así, un antioxidante polifenólico genérico, ArOH, reacciona con el radical libre R· y transfiere un átomo de hidrógeno a través de la ruptura homolítica del enlace O-H, para generar radicales más estables, como se representa en la reacción (2).

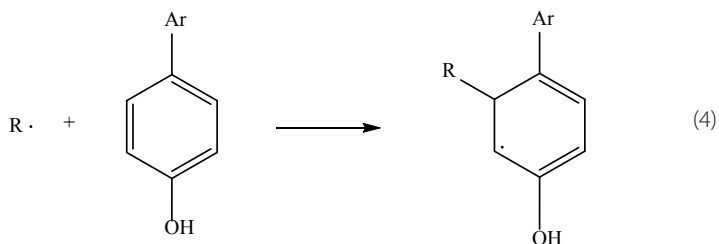


Los productos de la reacción conducen a la formación de las especies RH inofensivas y el radical oxidado ArO·. El radical que se forma es menos reactivo con respecto a R· [24]. El mecanismo de transferencia de electrón permite la donación de un electrón por parte del antioxidante ArOH al radical R· según la reacción (3).



El anión R⁻ es una especie con un número par de electrones, mientras que el radical catiónico ArOH^{·+} es una especie radical menos reactiva. En particular, el ArO· y ArOH^{·+} son estructuras aromáticas en las que el electrón impar -originado por las reacciones con el radical libre- tiene la posibilidad de extenderse por toda la molécula y producir una estabilización radical por resonancia [23].

Otro mecanismo que puede ocurrir entre un antioxidante y la especie radical R·, es la formación de aductos de acuerdo con la reacción (4). Esta es importante en antioxidantes que poseen dobles enlaces en su estructura, como en el caso de los carotenoides [25].



El 3,4-dihidroxibenzaldehído (nombre IUPAC) o aldehído protocatéuico (PAL) es un compuesto de tipo fenólico (Fig. 1) estructuralmente similar a otras moléculas con capacidad antioxidante [26]. Estudios experimentales revelaron que este compuesto inhibe la producción de especies reactivas de oxígeno relacionadas con la aparición de la enfermedad de Parkinson [27].

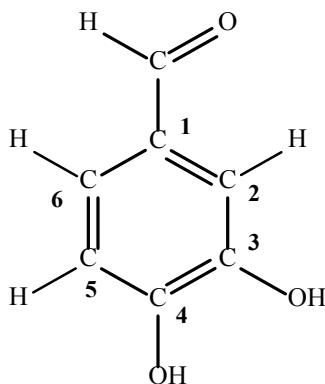


FIGURA 1. Estructura y numeración de los átomos del 3,4-dihidroxibenzaldehído. El 3,4-dihidroxibenzaldehído está presente en la *salvia miltiorrhiza* [28] (una de las plantas de la medicina tradicional China) y otras plantas y semillas comunes como la cebada. Jeong *et al.* purificaron e identificaron este compuesto en la cebada y evaluaron sus propiedades quimiopreventivas contra el cáncer, a través de la inhibición del daño oxidativo del ADN [29].

2.1. Cuantificación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante puede expresarse como *equivalentes de trolox*, una unidad de medida relativa con respecto al trolox (un antioxidante de referencia) [30] o como porcentaje de radicales libres removidos o inhibidos [29]. En un estudio experimental o teórico se determina la capacidad antioxidante al saber que, si la constante de velocidad de la reacción de inhibición de radicales es mayor a la velocidad de extracción de H· de los ácidos grasos insaturados por el radical hidroperoxilo, el compuesto es efectivo para la eliminación o inhibición de estas especies [2, 31].

MATERIALES Y MÉTODOS

Los cálculos electrónicos de las especies químicas se realizaron empleando la Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT). En particular, se utilizó el funcional híbrido M05-2X [32], diseñado para cálculos computacionales en termoquímica y cinética [33]. Según Truhlar *et al.*, aquel se encuentra entre los más efectivos para calcular las energías de reacción que involucran radicales libres [32]; al considerar que estos sistemas son de capa abierta, [34] se empleó el funcional correspondiente UM05-2X.

El conjunto de funciones base que se manejó es el 6-311+G(d,p) [35]: un conjunto de bases de valencia dividida con funciones de polarización (d,p) para la descripción del estado basal de cada átomo [36]. El signo + indica que la base se complementa con funciones difusas en los átomos pesados, para permitir a los orbitales ocupar un mayor espacio y describir mejor a los electrones que se encuentran distantes del núcleo. Estas funciones son básicas para representar apropiadamente a especies ionizadas y moléculas con pares de electrones no compartidos.

Para incluir los efectos del disolvente, se empleó el modelo de disolvente universal, SMD [37] que permite el cálculo de energías libres de solvatación para solutos neutros e iónicos en agua y en disolventes no acuosos. En la presente investigación, se realizaron

cálculos con dos disolventes: agua y etanoato de pentilo, para imitar el medio acuoso y no polar [38, 39] de las células. El agua presenta una constante dieléctrica, $\epsilon=78,3553$ y el etanoato de pentilo $\epsilon=4,7297$.

Los mínimos locales y los estados de transición se identificaron por el número de frecuencias imaginarias, 0 y 1, respectivamente. Para verificar que los estados de transición encontrados son los correctos, se efectuó el cálculo de Coordenada Intrínseca de Reacción (IRC) [40]. Este es un cálculo de trayectoria de mínima energía de reacción que permite verificar si el estado de transición se conecta con los reactivos y productos propuestos [41]. Todos estos cálculos se efectuaron con *Gaussian 09* [42].

Para determinar la capacidad antioxidante por medio de la Cinética Química se empleó el programa *Eyringpy*, un programa escrito en *Python* específico para calcular propiedades termoquímicas y cinéticas [43]. Aquí se evaluaron los caminos de reacción HT, RAF y SET que tomaría el 3,4-dihidroxibenzaldehído frente al HOO·.

Las constantes de velocidad se calcularon de acuerdo con la teoría del estado de transición para los mecanismos RAF y HT. La TST es una formulación mecano-estadística para computar las constantes de velocidad de las reacciones químicas [3, 4]; se basa en el supuesto de que una reacción química avanza a lo largo de una ruta de mínima energía que conecta reactivos y productos (Fig. 2). La configuración que divide la superficie de energía potencial (PES) en regiones de reactivos y productos, se conoce como estado de transición (TS) y es un máximo en la dirección de la coordenada de reacción [44]. La TST supone que existe un *quasi-equilibrio* entre los reactivos y el estado de transición [45] de donde se deriva la Ec. (5),

$$k_{TST} = \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^\ddagger / RT} \quad (5)$$

en la cual k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura, h es la constante de Planck y R es la constante universal de los gases. Las unidades de k_{TST} son $L \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

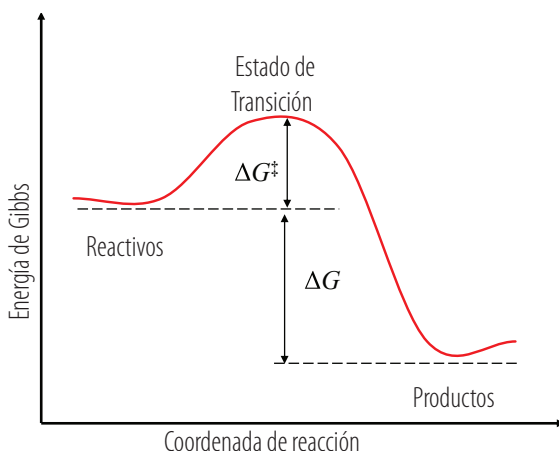


FIGURA 2. Representación unidimensional de la energía de Gibbs de una reacción.



En las reacciones que involucran transferencia de hidrógeno puede ocurrir el efecto túnel [45] Su importancia en Cinética Química radica en que la velocidad de este tipo de reacciones podría aumentar varios órdenes de magnitud [46]. El factor que permite conocer si existe tunelamiento en una reacción química es el coeficiente de tunelamiento o coeficiente de transmisión, el cual se introduce como un factor multiplicativo, κ , en la Ec. (5). En esta investigación, algunas de las constantes de velocidad se corrigieron por efecto túnel mediante la aproximación de Eckart [47], si κ resulta mayor que 1 existe tunelamiento y si resulta menor que 1, se lo descarta. La ecuación que incluye tal factor se representa en la Ec. (6).

$$k_{TST} = \kappa \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^{\ddagger, M}/RT} \quad (6)$$

En el caso de las reacciones de transferencia de electrón no ocurre la formación de un estado de transición, debido a que las moléculas de disolvente no están en equilibrio con las cargas de las especies que se oxidan y se reducen [48]. En este tipo de reacciones, las moléculas de disolvente se reorganizan, es decir se alejan o acercan de acuerdo al nuevo tamaño de las moléculas (o iones).

Marcus propuso una configuración en la que las energías de Gibbs de los reactivos y productos son iguales [48, 49]; así, la expresión matemática que permite el cálculo de la constante de velocidad para las reacciones en las que ocurre transferencia electrónica, se expresa por medio de la Ec. (7),

$$k_{ET} = \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G_{ET}^{\ddagger}/RT} \quad (7)$$

donde ΔG_{ET}^{\ddagger} es la energía de Gibbs de activación.

Además, las reacciones de transferencia de electrón y aquellas que involucran especies altamente reactivas, frecuentemente dependen de la difusión [31] y ocurren en procesos con barreras de activación pequeñas que hacen que la velocidad se limite por la rapidez con la que se difunden los reactivos a través del disolvente [50]; por ello, se empleó la corrección por el límite de difusión de Collins-Kimball [51] según la Ec. (8),

$$k_{ap} = \frac{k_{TST} k_D}{k_{TST} + k_D} \quad (8)$$

donde k_{ap} es la constante de velocidad aparente; k_{TST} es la constante de velocidad según la TST y k_D es la constante de velocidad de Smoluchowski o constante de difusión; esta se calcula por medio de la Ec. (9),

$$k_D = 4\pi R_{AB} D_{AB} N_A \quad (9)$$

donde R_{AB} es la distancia de reacción que se obtiene a partir del TS, al medir la distancia entre los átomos que transfieren el H y la distancia entre aquellos que forman el aducto radical para las reacciones que siguen el mecanismo HT y RAF, respectivamente. Para

el mecanismo SET, la distancia de reacción se obtiene a partir de la suma de los radios de los reactivos participantes. N_A es el número de Avogadro y D_{AB} es el coeficiente de difusión mutua de los reactivos A y B. $D_{AB} = D_A + D_B$ se calcula por medio de la Ec. (10) de Stokes-Einstein,

$$D_{AoB} = \frac{k_B T}{6\pi\eta a_{AoB}} \quad (10)$$

donde η es la viscosidad del disolvente, en este caso $\eta = 8,91 \times 10^{-4}$ Pa.s para el agua y $\eta = 8,62 \times 10^{-4}$ Pa.s para el etanoato de pentilo; a_{AoB} representa el radio del soluto y las unidades de D_{AoB} y k_D son $m^2 s^{-1}$ y $L mol^{-1} s^{-1}$, respectivamente.

En *Eyringpy* se encuentran implementadas las Ec. (5) - (10) y las demás funciones de la Termodinámica Estadística, necesarias para calcular las constantes de velocidad. En el archivo de entrada de *Eyringpy* se ajustan el método, el efecto túnel, la difusión, temperatura, pH, distancias de reacción y disolvente, junto con los archivos de salida (out) correspondientes a los reactivos, productos y estado de transición que arroja *Gaussian*. Si todos los valores de entrada son correctos y sus cálculos convergen, entonces el programa arroja un archivo de salida con los correspondientes datos termoquímicos y cinéticos.

RESULTADOS

El 3,4-dihidroxibenzaldehído se representa con la notación $H_2C_7H_4O_3$ y sus especies ionizadas correspondientes como $HC_7H_4O_3^-$ y $C_7H_4O_3^{2-}$. El resultado de la búsqueda conformacional indica que las moléculas que forman puentes de hidrógeno intramoleculares y tienen el oxígeno del grupo aldehído en la misma orientación que los OH en el plano del anillo aromático, son estructuras de mínima energía.

Para el $H_2C_7H_4O_3$, el oxígeno de la posición 3 forma un puente de hidrógeno de 2,155 Å que estabiliza al sistema. Cuando el $H_2C_7H_4O_3$ se disocia, el hidrógeno del OH de la posición 4 se desprende para formar el $HC_7H_4O_3^-$; la distancia C-O se contrae 0,08 Å respecto del 3,4-dihidroxibenzaldehído sin disociar y el hidrógeno del OH de la posición 3 gira hacia el oxígeno adyacente para formar un puente de hidrógeno de 2,045 Å. En la Fig. 3 se observa que cuando el 3,4-dihidroxibenzaldehído pierde los hidrógenos, las distancias de enlace C-O de las posiciones 3 y 4 disminuyen 0,05 Å y 0,07 Å respectivamente. Para el $C_7H_4O_3^{2-}$ el isómero de mínima energía es aquel cuyo átomo de oxígeno del grupo aldehído tiene la misma orientación del oxígeno en la posición 3. Cada estructura de la figura hace las veces de reactivo en los diferentes mecanismos que se estudian en esta investigación. Los cambios y la reactividad de estas moléculas se indican en la Fig. 3.

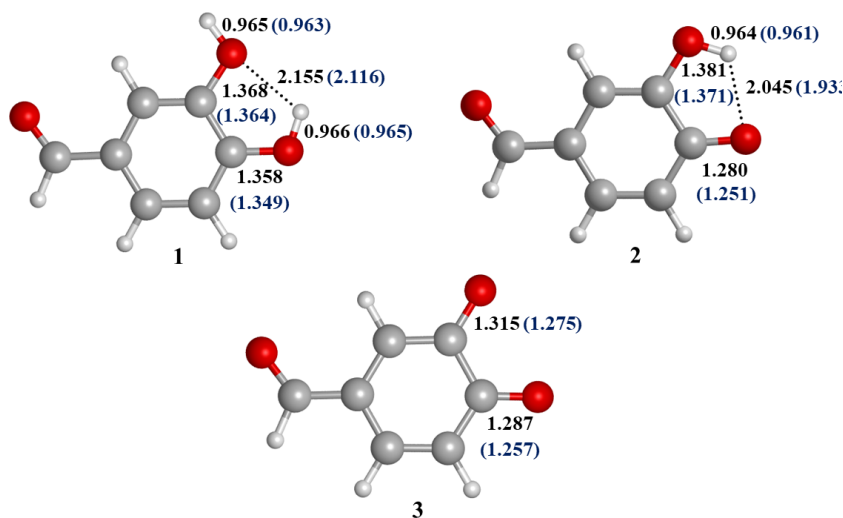


FIGURA 3. Estructura de las especies del 3,4-dihidroxibenzaldehído con el nivel M05-2X/6-311+G(d,p). Las distancias de enlace se expresan en Å. El **1** denota al $\text{H}_2\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_3$, el **2** al $\text{HC}_7\text{H}_4\text{O}_3$ y el **3** al $\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_3^{2-}$. Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

Mecanismo de transferencia de hidrógeno

El 3,4-dihidroxibenzaldehído tiene seis hidrógenos en su estructura, los cuales pueden ser removidos por el $\text{HOO}\cdot$. Las estructuras de los TS para este mecanismo se muestran en la Fig. 4. En etanoato de pentilo, los átomos de hidrógeno del 3,4-dihidroxibenzaldehído a transferirse se ubican más cerca del átomo de oxígeno del radical hidroperoxilo. Para extraer el hidrógeno del grupo aldehído y los hidrógenos 2, 5 y 6 enlazados a los carbonos, el $\text{HOO}\cdot$ se coloca junto al plano del anillo aromático; mientras que para extraer los hidrógenos de los grupos OH de las posiciones 3 y 4, el radical se dispone sobre el plano del anillo.

Los estados de transición correspondientes a las reacciones de transferencia del hidrógeno del grupo aldehído y los hidrógenos de los OH de las posiciones 3 y 4 son los de energía más baja. Los hidrógenos de los grupos OH son más ácidos que el H del grupo aldehído y, por tanto, su transferencia es más fácil. Ahora, entre el H3 y el H4, cuando el $\text{HOO}\cdot$ se aproxima, el H4 gira y se rompe el puente de hidrógeno formado con el oxígeno del OH de la posición 3 y, por ello, la transferencia del H4 cuesta 2,6 kcal/mol más que la del H3 en medio acuoso y 4,0 kcal/mol más en medio no polar.

Los hidrógenos 2, 5 y 6 enlazados a los átomos de carbono no son ácidos; su transferencia presenta barreras de energía mayor a las 20 kcal/mol y, por ello, un medio de reacción fisiológico con temperatura aproximada de 310 K no proveería tal demanda energética.

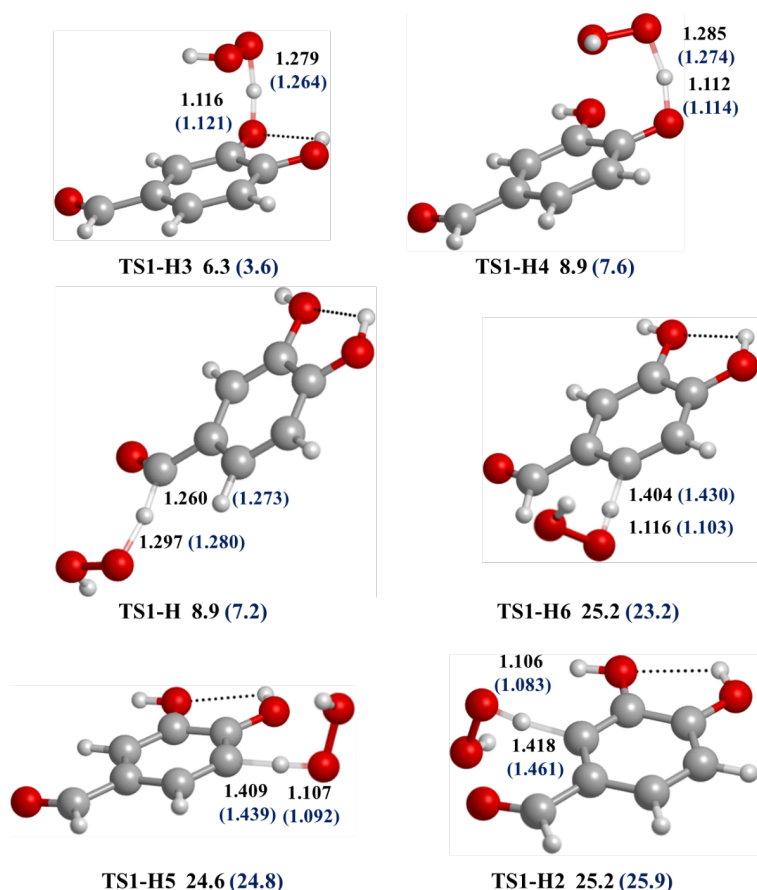


FIGURA 4. Estructura de los TS que se forman entre **1** y el HOO- en el mecanismo HT con el nivel M05-2X/6-311+G(d,p). Las distancias en Å. En la parte inferior de cada estructura se indica el valor de la energía en kcal/mol con respecto a los reactivos. Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

El parámetro termodinámico que determina la viabilidad de los mecanismos HT es el cambio de energía libre de Gibbs; si esta es menor a cero, la reacción es exergónica; si es cero, la reacción se encuentra en equilibrio, y, si es positiva, la reacción es endérgica. En la Tabla 1 se muestran los valores termoquímicos para los procesos HT entre **1** y el HOO- en ambos disolventes. La energía libre de Gibbs de los complejos de reactivos (ΔG_{CR}) es menor que la de los reactivos. Esto ocurre porque las moléculas forman interacciones intramoleculares fuertes entre el aldehído y el radical que varían entre 7 y 9 kcal/mol y estabilizan el complejo. En cambio, la energía de Gibbs de los complejos de productos (ΔG_{CP}) es en general mayor, debido a que el aumento de la entropía en el rompimiento de enlaces en los procesos HT, no compensa la disminución de la energía electrónica corregida con la energía de punto cero, de acuerdo con la relación $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$.

TABLA 1. Cambio de energía de Gibbs en kcal mol⁻¹ para el mecanismo HT ente **1** y el HOO· a 298,15 K.*

	ΔG_{CR}	ΔG_{TS}^\ddagger	ΔG_{CP}	ΔG_P
H	-9,7 (-13,6)	8,9 (7,2)	-0,8 (-3,1)	-7,3 (-9,3)
H2	-6,0 (-9,2)	25,2 (25,7)	20,8 (18,9)	15,4 (15,7)
H3	-8,3 (-9,2)	6,3 (3,6)	-9,9 (-12,7)	-15,0 (-17,0)
H4	-6,9 (-10,6)	8,9 (7,6)	-7,5 (-7,5)	-12,8 (-12,0)
H5	-8,3 (-10,0)	24,6 (24,8)	22,0 (22,1)	15,0 (15,5)
H6	-7,1 (-10,2)	23,7 (23,2)	20,5 (21,0)	14,1 (13,9)

* Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

La energía de Gibbs de reacción, calculada como la diferencia entre los reactivos y productos (ΔG_p) indica que se favorecen las reacciones HT en el H del grupo aldehído y la de los hidrógenos de los OH de las posiciones 3 y 4 en ambos disolventes. El proceso más exergónico y que presenta la energía de activación más baja, es la reacción de transferencia del H3. La energía de activación efectiva (calculada desde el complejo de reactivos) es 14,6 kcal/mol para la reacción en medio acuoso. En la tabla, H hace referencia al hidrógeno del grupo aldehído; H2, H5, H6 a los hidrógenos del anillo aromático; H3 y H4 a los hidrógenos de los grupos OH en las posiciones 3 y 4.

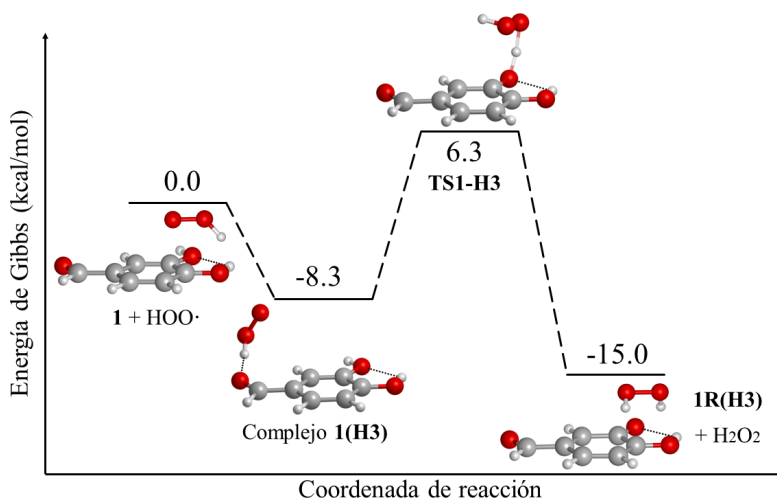


FIGURA 5. Perfil de reacción para **1** siguiendo el mecanismo HT en medio acuoso.

En la Fig. 5 se muestra el perfil de reacción de transferencia del H3 en medio acuoso. El complejo de reactivos se forma por medio de un puente de hidrógeno entre el H del radical hidroperoxilo y el O en el grupo aldehído; como productos se obtiene el radical en el oxígeno de la posición 3 más peróxido de hidrógeno. Termodinámicamente, el complejo se encuentra a -8,3 kcal/mol con respecto a los reactivos, entonces la energía

de activación efectiva se calcula desde el complejo hasta el TS que se encuentra a 6,3 kcal/mol. La barrera energética real de este proceso es 14,6 kcal/mol: la más baja de todos los procesos HT, y con la reacción más negativa en la energía de Gibbs. Se espera que las reacciones que presentaron energía de Gibbs más negativa, originen productos mayoritarios. El tamaño de las barreras de energía y la formación de complejos influye en la rapidez de las reacciones, como se indica a continuación.

Las constantes de velocidad para las reacciones de transferencia de hidrógeno entre **1** y el HOO· se muestran en la Tabla 2. El parámetro k_{TST} indica la constante de velocidad, sin considerar ninguna corrección. En los casos donde existe tunelamiento, el factor κ se multiplica por esta constante que da lugar a k_{TST}^{eck} . Los valores de k_{ap} consideran la corrección por difusión y tunelamiento, en caso de existirlo.

TABLA 2. Constantes de velocidad para el mecanismo de transferencia de hidrógeno en $M^{-1} s^{-1}$ para **1** frente al HOO· a 298,15 K.*

	k_{TST}	κ	k_{TST}^{eck}	k_D	k_{ap}
H	$4,6 \times 10^7$ ($8,4 \times 10^6$)	24,0 (20,6)	$1,1 \times 10^9$ ($1,7 \times 10^{10}$)	$2,8 \times 10^9$ ($2,9 \times 10^9$)	$7,9 \times 10^8$ ($2,5 \times 10^9$)
H2	$4,9 \times 10^5$ ($1,7 \times 10^5$)			$2,8 \times 10^9$ ($2,9 \times 10^9$)	$4,9 \times 10^5$ ($1,7 \times 10^5$)
H3	$3,7 \times 10^9$ ($3,3 \times 10^{11}$)	413,1 (114,9)	$1,5 \times 10^{12}$ ($3,8 \times 10^{13}$)	$2,6 \times 10^9$ ($2,7 \times 10^9$)	$2,6 \times 10^9$ ($2,7 \times 10^9$)
H4	$4,8 \times 10^7$ ($3,9 \times 10^8$)	$3,0 \times 10^3$ (165,1)	$1,5 \times 10^{11}$ ($6,4 \times 10^{10}$)	$2,7 \times 10^9$ ($2,7 \times 10^9$)	$2,6 \times 10^9$ ($2,6 \times 10^9$)
H5	$1,3 \times 10^4$ ($1,1 \times 10^4$)			$2,8 \times 10^9$ ($2,9 \times 10^9$)	$1,3 \times 10^4$ ($1,1 \times 10^4$)
H6	$6,2 \times 10^4$ ($1,5 \times 10^3$)			$2,8 \times 10^9$ ($2,9 \times 10^9$)	$6,2 \times 10^4$ ($1,5 \times 10^3$)

* Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

En los resultados termoquímicos se muestra que los procesos HT de los hidrógenos ácidos en medio de etanoato de pentilo presentan valores de energía de activación más baja que en medio acuoso; esto hace que el valor de k_{TST} sea más alto en medio no polar. En ambos medios, la reacción en H3 es tan rápida que su constante tiende al límite de difusión con una rapidez de $2,6 \times 10^9 M^{-1} s^{-1}$ para agua y $2,7 \times 10^9 M^{-1} s^{-1}$ para etanoato de pentilo. En la reacción de transferencia del hidrógeno del OH de la posición 4, el efecto túnel que se origina por la formación de los complejos de reactivos da lugar a valores altos de κ ; aumenta la rapidez de reacción y produce que la constante de velocidad tienda a la de difusión.

Las reacciones de transferencia de los hidrógenos 2, 5 y 6 presentan energías de activación elevadas; por ello, las constantes de velocidad tienden a cero y no tienen relevancia en la reactividad de ninguna de las especies del 3,4-dihidroxibenzaldehído frente al HOO·.

De igual forma, para **2** y el radical hidroperoxilo, los caminos de reacción más favorecidos son la transferencia del hidrógeno del grupo aldehído y el hidrógeno del OH de la posición 3 en ambos disolventes. La energía de activación efectiva más baja es de 10,7 kcal/mol en medio acuoso (Fig. 6) mientras que en medio apolar es de 18,9 kcal/mol: ambas para el proceso HT en el H3. La barrera para H3, en medio no polar, es significativamente más grande que en medio polar; esto explica por qué es más difícil que ocurra la reactividad de especies ionizadas en disolventes apolares.

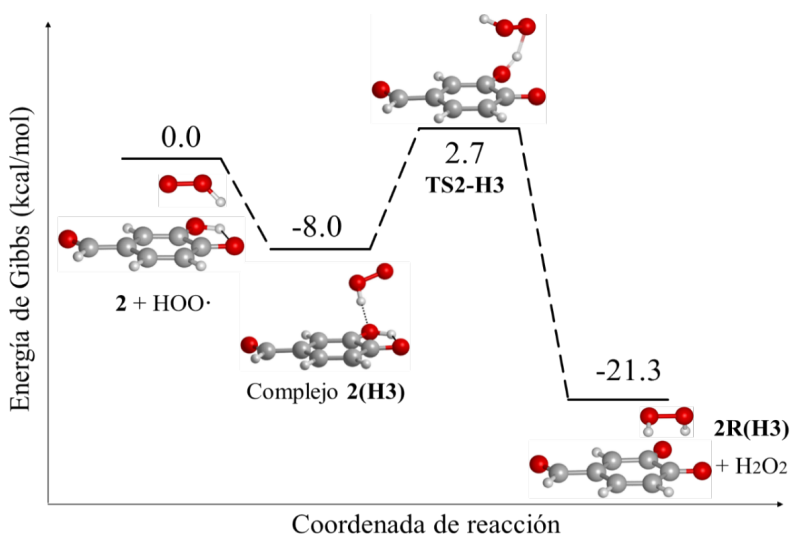


FIGURA 6. Perfil de reacción para **2** siguiendo el mecanismo HT en medio acuoso.

Para el caso de **3**, la reacción viable es la transferencia del H en el grupo aldehído, la energía de activación efectiva es de 17,7 y 19,6 kcal/mol con constantes de velocidad de $2,0 \times 10^9$ y $2,8 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ en medio acuoso y no polar, respectivamente.

Mecanismo de formación de aductos

El 3,4-dihidroxibenzaldehído posee un átomo de carbono en el grupo aldehído y 6 en el anillo aromático en donde puede darse la adición del radical hidroperoxilo. La estructura de los TS se muestra en la Fig. 7. En las reacciones de formación de los aductos de los carbonos 1, 3 y 4, el radical $\text{HOO}\cdot$ se adiciona de tal manera que el grupo aldehído y los grupos hidroxilo de esas posiciones se inclinan un ángulo aproximado de 15° , debido a las repulsiones electrónicas entre los oxígenos.

La reacción de formación del aducto en la posición 4 presenta el estado de transición TS1-C4 como el de menor energía, le sigue el TS1-C6 correspondiente a la adición del radical en el C6. Esta tendencia indica que el mecanismo RAF se favorece en las posiciones *orto* y *para* en el anillo aromático, respecto del grupo aldehído. Según este análisis, el siguiente estado de transición sería el TS1-C2 en lugar del TS1-C3 ; sin embargo, la adición del radical en el C3 hace que el anillo aromático no quede totalmente plano, por lo que la distancia entre el oxígeno de la posición 4 y el hidrógeno del OH de la posición 3 aumenta a $2,195 \text{ \AA}$, al romper el puente de hidrógeno y, por ello, existe una diferencia de $0,7 \text{ kcal/mol}$ entre el TS1-C3 y el TS1-C2 . El TS, correspondiente a la adición en el C5 y los demás procesos RAF, presenta energía más elevada y dificulta la formación de los productos en condiciones fisiológicas.

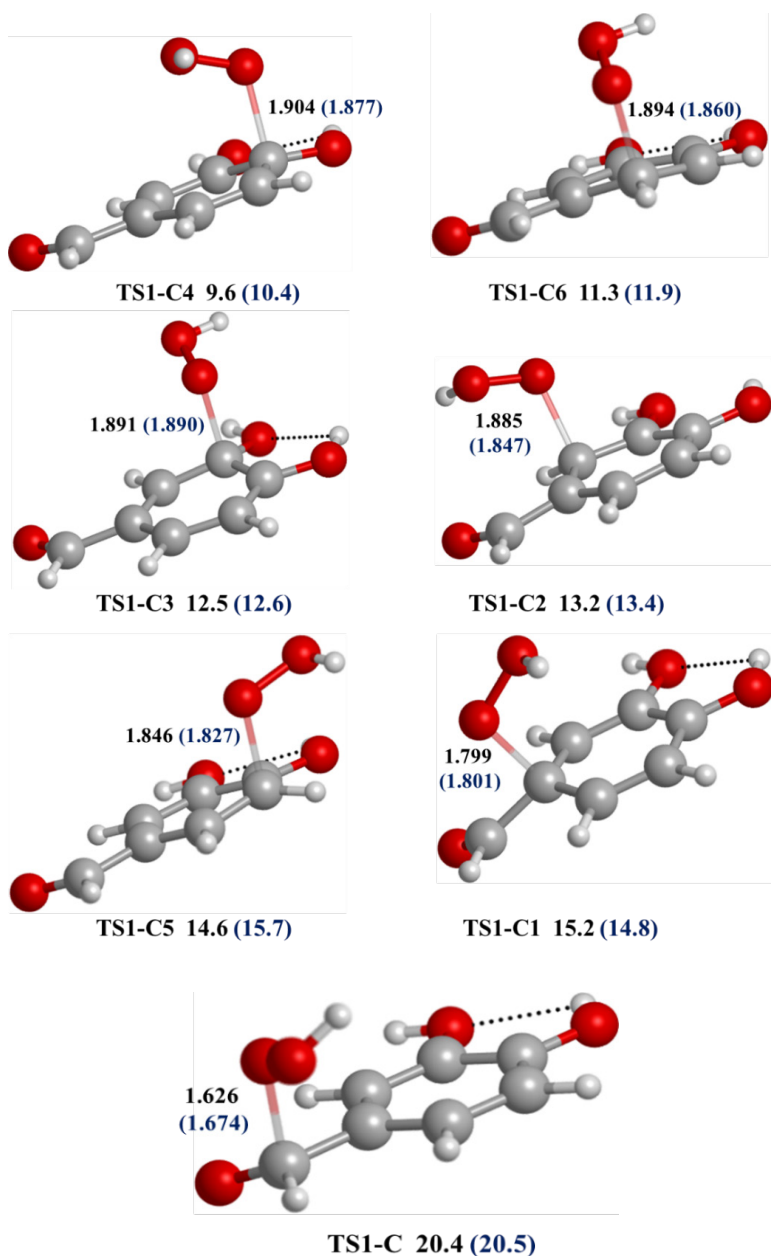


FIGURA 7. Estructura de los TS que se forman entre **1** y el HOO· en el mecanismo RAF con el nivel M05-2X/6-311+G(d,p). Las distancias en Å. En la parte inferior de cada estructura se indica el valor de la energía en kcal/mol con respecto a los reactivos. Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.



De acuerdo a la Tabla 3, los complejos de reactivos se favorecen en todos los procesos de adición y los de productos -en este caso- no se forman, ya que se trata de productos de adición y no de moléculas separadas como en el caso del mecanismo HT, donde había posibilidad de formar puentes intermoleculares. El cambio de energía de Gibbs entre productos y reactivos indica que la formación del aducto en el carbono 4 (posición *para*) es exergónica con un $\Delta G_p = -0,4$ kcal/mol en medio acuoso. En comparación con los productos del mecanismo HT, los de adición no son mayoritarios, ya que la energía de Gibbs es ligeramente negativa y, por tanto, la constante de equilibrio (K) es pequeña según la relación $\Delta G = -RT \ln(K)$. En la tabla, el literal C hace referencia al carbono del grupo aldehído.

TABLA 3. Cambio de energía de Gibbs en kcal mol⁻¹ para el mecanismo RAF entre **1** y el HOO· a 298,15 K.*

	ΔG_{CR}	ΔG_{TS}^{\ddagger}	ΔG_p
C	-10,0 (-14,5)	20,4 (20,5)	14,7 (8,1)
C1	-6,6 (-9,7)	15,2 (14,8)	10,8 (9,7)
C2	-7,0 (-13,3)	13,2 (13,4)	4,6 (0,2)
C3	-7,4 (-10,2)	12,5 (12,6)	4,0 (3,1)
C4	-7,1 (-9,6)	9,6 (10,4)	-0,4 (0,4)
C5	-6,2 (-10,4)	14,6 (15,7)	8,5 (8,5)
C6	-6,6 (-10,4)	(11,9)	2,2 (3,0)

* Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

La Tabla 4 indica las constantes de velocidad para el mecanismo de formación de aductos para cada carbono de **1**, frente al radical hidroperoxilo. En ninguno de estos procesos existe tunelamiento: el HOO· no puede atravesar las barreras de energía debido a la masa relativamente alta que posee. En general, las reacciones de formación de aductos no son espontáneas y, si ocurriesen, sus constantes de velocidad son bajas o próximas a la tasa de extracción de H en los ácidos grasos presentes en las células.

TABLA 4. Constantes de velocidad (M⁻¹ s⁻¹) para el mecanismo RAF de **1** frente al HOO· a 298,15 K.*

	k_{TST}	k_D	k_{ap}
C	$1,7 \times 10^{-1}$ ($1,3 \times 10^{-1}$)	$2,0 \times 10^9$ ($1,9 \times 10^9$)	$1,7 \times 10^{-1}$ ($1,3 \times 10^{-1}$)
C1	$1,1 \times 10^3$ ($2,3 \times 10^3$)	$2,0 \times 10^9$ ($2,1 \times 10^9$)	$1,1 \times 10^3$ ($2,3 \times 10^3$)
C2	$3,1 \times 10^4$ ($2,5 \times 10^4$)	$2,1 \times 10^9$ ($2,1 \times 10^9$)	$3,1 \times 10^4$ ($2,5 \times 10^4$)
C3	$1,0 \times 10^5$ ($8,3 \times 10^4$)	$2,1 \times 10^9$ ($2,2 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^5$ ($8,3 \times 10^4$)
C4	$1,3 \times 10^7$ ($3,4 \times 10^6$)	$2,1 \times 10^9$ ($2,2 \times 10^9$)	$1,3 \times 10^7$ ($3,4 \times 10^6$)
C5	$2,9 \times 10^3$ ($4,5 \times 10^3$)	$2,1 \times 10^9$ ($2,1 \times 10^9$)	$2,9 \times 10^3$ ($4,5 \times 10^3$)
C6	$7,9 \times 10^5$ ($3,2 \times 10^5$)	$2,1 \times 10^9$ ($2,2 \times 10^9$)	$7,9 \times 10^5$ ($3,2 \times 10^5$)

* Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

Los procesos RAF para **2** presentan mayor número de reacciones con energía de Gibbs negativa: esto se debe a que el puente de hidrógeno que estabiliza las estructuras se mantiene en los productos. En este caso, la adición en el carbono del grupo aldehído, los carbonos 2 y 3 en medio acuoso, al igual que los carbonos 2, 3, 4 y 6 en medio no

polar, son exergónicos. Cuando el disolvente es etanoato de pentilo, los complejos de reactivos presentan energía más baja en comparación con los del medio acuoso. En la Fig. 8 se muestra la reacción de formación del aducto radical en el carbono 2; esta es exergónica para ambos disolventes, con un cambio de energía de Gibbs de -0,4 en agua y -3,7 kcal/mol en medio apolar. La energía de activación efectiva es 16,2 kcal/mol en medio acuoso y 21,3 kcal/mol en medio no polar; debido a que el complejo de reactivos en medio apolar se encuentra a aproximadamente 5,4 kcal/mol más abajo en la superficie de energía potencial. Estos datos termoquímicos explican, además, por qué las reacciones de especies ionizadas en disolventes apolares no ocurren.

Las reacciones de adición en el $C_7H_4O_3^{2-}$ presentan barreras de energía que tienden a 0 kcal/mol con respecto a **3** + HOO·.

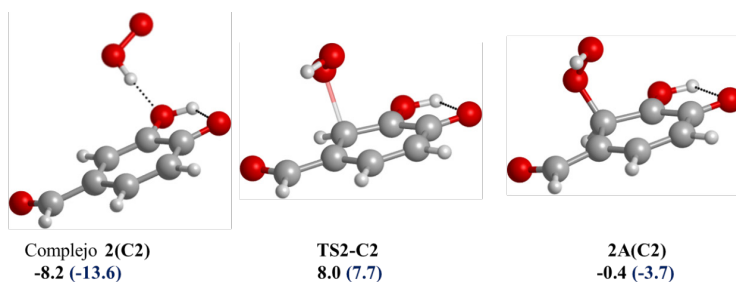
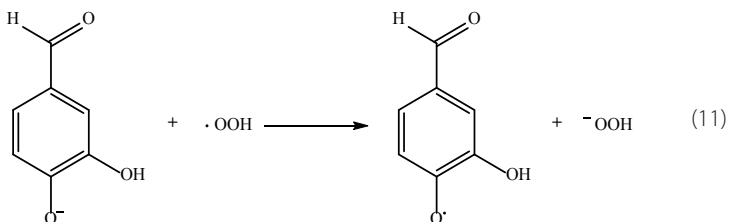


FIGURA 8. Estructura del complejo de reactivos, estado de transición y producto de adición correspondientes a la reacción de formación del aducto en C2 con el nivel M05-2X/6-311+G(d,p). En la parte inferior de cada estructura se indica el valor de la energía en kcal/mol con respecto a **2** + HOO·. Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

Mecanismo de transferencia de electrones

El $H_2C_7H_4O_3$ no participa en el mecanismo de transferencia de electrones; estos procesos resultan demasiado endergónicos, ya que es difícil transferir electrones desde una especie neutra como el $H_2C_7H_4O_3$ hacia el radical. El valor de energía de Gibbs de reacción es 23,8 kcal/mol cuando el disolvente es agua y 67,4 kcal/mol en medio de etanoato de pentilo. La energía de activación que deben alcanzar estos procesos es 23,9 y 81,6 kcal/mol, en medio acuoso y no polar, respectivamente.

La termoquímica de los procesos SET refleja la dificultad que presentan las especies ionizadas para reaccionar en disolventes apolares; así, para **2** en medio acuoso la reacción (11) es exergónica con un $\Delta G = -2,5$ kcal/mol y una energía de activación de 4,5 kcal/mol; mientras que en medio no polar, la reacción es endergónica con $\Delta G = 11,8$ kcal/mol y una barrera de 13,4 kcal/mol.





En general, **3** presenta valores elevados de las constantes de transferencia de electrón que en principio hacen pensar que el $C_7H_4O_3^{2-}$ es la especie predominante en el sistema; sin embargo, al analizar el diagrama de distribución de especies del 3,4-dihidroxibenzaldehído (Fig.9) se observa que en condiciones fisiológicas (pH=7,4) el $C_7H_4O_3^{2-}$ tiene una fracción molar de $1,8 \times 10^{-5}$ esto significa que la concentración de esta especie y las reacciones que genera son prácticamente despreciables.

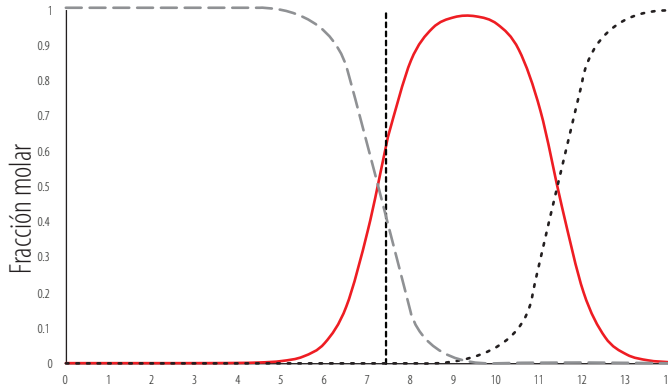
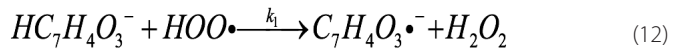


FIGURA 9. Diagrama de distribución de especies del 3,4-dihidroxibenzaldehído en función del pH.

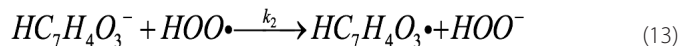
Actividad antioxidante del 3,4-dihidroxibenzaldehído

La fracción molar del $HC_7H_4O_3^-$ es 0,602 y la del $H_2C_7H_4O_3$ es 0,398, lo que indica que el monoanión es la especie que se encuentra en mayor proporción. Ahora, al considerar todos los mecanismos se deduce que el mecanismo HT es el principal camino de reacción que tomaría el 3,4-dihidroxibenzaldehído para reducir la toxicidad del radical hidropoxilo, ya que estos procesos reportan las constantes de velocidad con los órdenes de magnitud más altos, los valores de energía de activación efectiva más bajos, así como los valores de cambio de energía libre de Gibbs más negativos.

Para el proceso en medio acuoso, en el cual el monoanión transfiere un protón al radical hidropoxilo, se tiene una constante de velocidad k_1 según la reacción (12).



En una reacción paralela, el $HC_7H_4O_3^-$ transfiere un electrón hacia el $HOO\cdot$ con una constante de velocidad k_2 según la reacción (13).



Adicionalmente, la especie $C_7H_4O_3^{\cdot-}$, producto de la transferencia de hidrógeno también cede un electrón al radical según la reacción (14).



Las ecuaciones diferenciales que gobiernan estos procesos se reflejan en las Ec. (15) y (16)

$$\frac{d[HOO\bullet]}{dt} = -k_1[HC_7H_4O_3^-][HOO\bullet] - k_2[HC_7H_4O_3^-][HOO\bullet] - k_3[C_7H_4O_3^{\bullet-}][HOO\bullet] \quad (15)$$

$$\frac{d[C_7H_4O_3^{\bullet-}]}{dt} = k_1[HC_7H_4O_3^-][HOO\bullet] - k_3[C_7H_4O_3^{\bullet-}][HOO\bullet]. \quad (16)$$

Para encontrar $[C_7H_4O_3^{\bullet-}]$ se emplea la aproximación del estado estacionario en la Ec. (15):

$$k_1[HC_7H_4O_3^-][HOO\bullet] = k_3[C_7H_4O_3^{\bullet-}][HOO\bullet] \quad (17)$$

entonces:

$$[C_7H_4O_3^{\bullet-}] = \frac{k_1[HC_7H_4O_3^-]}{k_3} \quad (18)$$

al reemplazar la expresión de la Ec. (18) en la Ec. diferencial (16) se obtiene la Ec. (19):

$$\frac{d[HOO\bullet]}{dt} = -(k_1 + k_2)[HC_7H_4O_3^-][HOO\bullet] - k_3 \frac{k_1[HC_7H_4O_3^-]}{k_3}[HOO\bullet] \quad (19)$$

y al simplificar se obtiene la Ec. (20):

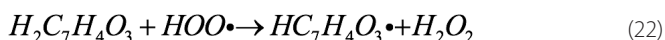
$$\frac{d[HOO\bullet]}{dt} = -(2k_1 + k_2)[HC_7H_4O_3^-][HOO\bullet]. \quad (20)$$

Como puede notarse en la Ec. (20), la constante de velocidad global para la inhibición del radical HOO• corresponde a $2k_1 + k_2$. El valor de k_1 es $2,8 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ mientras que el valor de k_2 es $2,2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (ver Tabla S.2 en Material Suplementario); es decir, la constante global tiene un valor de $7,8 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Al constituir la Ec. (20) se obtiene la ley integrada de velocidad del proceso de acuerdo con la Ec. (21).

$$\text{Ln} \left(\frac{[HC_7H_4O_3^-]_0 [HOO\bullet]}{[HOO\bullet]_0 [HC_7H_4O_3^-]} \right) = (2k_1 + k_2) ([HOO\bullet]_0 - [HC_7H_4O_3^-]_0) t. \quad (21)$$

donde $[HOO\bullet]_0$ y $[HC_7H_4O_3^-]_0$ son las concentraciones iniciales del radical hidroperoxilo y el monoanión, respectivamente, siendo $[HC_7H_4O_3^-]_0 = 0,602 C_{H_2C_7H_4O_3}$ (ver Material Suplementario). Esta ecuación permite conocer las concentraciones instantáneas del radical y el aldehído en función del tiempo.

En ambiente no polar, el $H_2C_7H_4O_3$ es la especie química que predomina al transferir un hidrógeno al radical según la reacción (22).



Esta reacción tiene una constante de velocidad $k = 2,7 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Tabla 2); al considerar que las constantes de velocidad correspondientes al daño que causa el HOO• en los ácidos grasos poliinsaturados, están en el rango de $1-3 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [12], se predice que el 3,4-dihidroxibenzaldehído tiene la capacidad de inhibir estos radicales.

DISCUSIÓN

La capacidad antioxidante del 3,4-dihidroxibenzaldehído frente al radical hidroperoxilo se estudió por medio de un análisis termoquímico y cinético en dos disolventes: agua para imitar el ambiente acuoso del citosol presente dentro de la células y etanoato de pentilo para imitar el medio no polar de la membrana celular, donde se generan estos radicales.

El análisis conformacional indica que las especies químicas más estables para el 3,4-dihidroxibenzaldehído poseen estructuras planas con un enlace de hidrógeno intramolecular. Este resultado coincide con un análisis que se realizó con el nivel de teoría B3LYP/6-31G [52].

Termodinámicamente, se encontró que las reacciones de transferencia de los hidrógenos ácidos del compuesto fenólico presentan los cambios de energía libre de Gibbs de reacción más negativos y las barreras de energía más bajas, lo que significa que el mecanismo HT es la vía principal que toma la reacción. A medida que aumenta el grado de deprotonación del aldehído, se favorecen las reacciones de adición en los átomos de carbono de la molécula; sin embargo, la exergonicidad de estos procesos sigue siendo menor a los procesos HT.

La constante de velocidad para la reacción entre el ácido 3,4-dihidroxibenzóico y el $\text{HOO}\cdot$ es $1,26 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ en medio acuoso y $5,14 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ en medio de etanoato de pentilo [39]: esto sugiere que la capacidad antioxidante del 3,4-dihidroxibenzaldehído es mayor que la del ácido 3,4-dihidroxibenzóico. Los ensayos experimentales de capacidad antioxidante equivalente de trolox (TEAC) y el ensayo de 2,2-difenil-1-picrililhidracilo (DPPH) [53] junto con los cálculos de varios descriptores moleculares en DFT realizados para estos compuestos, confirman esta tendencia [52]. Los resultados en ambiente no polar concuerdan con las propiedades de los antioxidantes fenólicos de retardar la oxidación de lípidos a través del mecanismo de transferencia de hidrógeno [54].

El mecanismo secuencial de transferencia de los hidrógenos 3 y 4 del aldehído se estudia, además, desde el punto de vista teórico; siempre y cuando se considere el carácter multirreferencial del proceso: su importancia radica en la determinación de la capacidad prooxidante del compuesto.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y al HCP Kukulcán-Cinvestav Mérida, México Proyecto CB-2015-252356, por la asignación de recursos computacionales; a la M. en C. Eugenia Dzib Reyes por su ayuda en el manejo del programa *Eyringpy*.

Material suplementario. Este trabajo generó una gran cantidad de estructuras que comprende reactivos, complejos, estados de transición y productos. Las coordenadas de estas estructuras se encuentran en un archivo electrónico que detalla primero las de medio acuoso y, luego, las correspondientes al etanoato de pentilo. Se adjunta, además, un documento que contiene las tablas y figuras para los mecanismos de reacción de la especie ionizada del 3,4-dihidroxibenzaldehído y el cálculo de la distribución de especies en función del pH.

REFERENCIAS

- [1] Gorban, A. N., & Yablonsky, G. S. (2015). Three waves of chemical dynamics. *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*, 10(5), 1-5. doi: <https://doi.org/10.1051/mmnp/201510501>
- [2] Maroz, A., Anderson, R. F., Smith, R. A., & Murphy, M. P. (2009). Reactivity of ubiquinone and ubiquinol with superoxide and the hydroperoxyl radical: implications for in vivo antioxidant activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 46(1), 105-109. doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.09.033>
- [3] Evans, M. G., & Polanyi, M. (1935). Some applications of the transition state method to the calculation of reaction velocities, especially in solution. *Transactions of the Faraday Society*, 31, 875-894.
- [4] Eyring, H. (1935). The activated complex in chemical reactions. *The Journal of Chemical Physics*, 3(2), 107-115. doi: <https://doi.org/10.1063/1.1749604>
- [5] Buonocore, G., Perrone, S., & Tataranno, M. L. (2010, August). Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* (Vol. 15, No. 4, pp. 186-190). WB Saunders. doi: <https://doi.org/10.1016/j.siny.2010.04.003>
- [6] Losada-Barreiro, S., & Bravo-Diaz, C. (2017). Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 133, 379-402. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.061>
- [7] Rosini, M., Simoni, E., Milelli, A., Minarini, A., & Melchiorre, C. (2013). Oxidative Stress in Alzheimer's Disease: Are We Connecting the Dots? Miniperspective. *Journal of medicinal chemistry*, 57(7), 2821-2831. doi: <https://dx.doi.org/10.1021/jm400970m>
- [8] Lee, J., Koo, N., & Min, D. B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 3(1), 21-33. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2004.tb00058.x>
- [9] Bartosz, G. (2009). Reactive oxygen species: destroyers or messengers?. *Biochemical pharmacology*, 77(8), 1303-1315. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.11.009>
- [10] Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
- [11] Silva, T., Reis, J., Teixeira, J., & Borges, F. (2014). Alzheimer's disease, enzyme targets and drug discovery struggles: from natural products to drug prototypes. *Ageing research reviews*, 15, 116-145. doi: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.03.008>
- [12] Bielski, B. H., Arudi, R. L., & Sutherland, M. W. (1983). A study of the reactivity of HO₂/O₂-with unsaturated fatty acids. *Journal of Biological Chemistry*, 258(8), 4759-4761.
- [13] Choe, E., & Min, D. B. (2005). Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Journal of food science*, 70(9), R142-R159. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb08329.x>
- [14] Gus' kova, R. A., Ivanov, I. I., Kol'tover, V. K., Akhobadze, V. V., & Rubin, A. B. (1984). Permeability of bilayer lipid membranes for superoxide (O₂-) radicals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 778(3), 579-585. doi: [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(84\)90409-7](https://doi.org/10.1016/0005-2736(84)90409-7)
- [15] Sawyer, D. T., & Valentine, J. S. (1981). How super is superoxide?. *Accounts of Chemical Research*, 14(12), 393-400. doi: <https://dx.doi.org/10.1021/ar00072a005>
- [16] Bielski, B. H., Cabelli, D. E., Arudi, R. L., & Ross, A. B. (1985). Reactivity of HO₂/O₂- 2 radicals in aqueous solution. *Journal of physical and chemical reference data*, 14(4), 1041-1100. doi: <https://doi.org/10.1063/1.555739>
- [17] Brand, M. D., Affourtit, C., Esteves, T. C., Green, K., Lambert, A. J., Miwa, S., ... & Parker, N. (2004). Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(6), 755-767. doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.05.034>
- [18] Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- [19] Aikens, J., & Dix, T. A. (1991). Peroxy radical (HO₂) initiated lipid peroxidation. The role of fatty acid hydroperoxides. *Journal of Biological Chemistry*, 266(23), 15091-15098.



- [20] Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences*, 74(17), 2157-2184. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.047>
- [21] Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2073S-2085S. doi: <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2073S>
- [22] Stevenson, D. E., & Hurst, R. D. (2007). Polyphenolic phytochemicals—just antioxidants or much more?. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(22), 2900-2916. doi: <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7237-1>
- [23] Leopoldini, M., Marino, T., Russo, N., & Toscano, M. (2004). Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism. *The Journal of Physical Chemistry A*, 108(22), 4916-4922. doi: <https://dx.doi.org/10.1021/jp037247d>
- [24] Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288-306. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012>
- [25] Galano, A., & Francisco-Marquez, M. (2009). Reactions of OOH radical with β -carotene, lycopene, and torulene: hydrogen atom transfer and adduct formation mechanisms. *The Journal of Physical Chemistry B*, 113(32), 11338-11345. doi: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jp904061q>
- [26] Kakkar, S., & Bais, S. (2014). A review on protocatechuic acid and its pharmacological potential. *ISRN pharmacology*, 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/952943>
- [27] Gao, J. W., Yamane, T., Maita, H., Ishikawa, S., Iguchi-Ariga, S. M., Pu, X. P., & Ariga, H. (2010). DJ-1-Mediated Protective Effect of Protocatechuic Aldehyde Against Oxidative Stress in SH-SY5Y Cells. *Journal of pharmacological sciences*, 1012100484-1012100484. doi: <https://doi.org/10.1254/jphs.10271FP>
- [28] Gu, M., Wang, X., Su, Z., & Ouyang, F. (2007). One-step separation and purification of 3, 4-dihydroxyphenyllactic acid, salvanolic acid B and protocatechualdehyde from *Salvia miltiorrhiza* Bunge by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1140(1-2), 107-111. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.057>
- [29] Jeong, J. B., Hong, S. C., & Jeong, H. J. (2009). 3, 4-Dihydroxybenzaldehyde purified from the barley seeds (*Hordeum vulgare*) inhibits oxidative DNA damage and apoptosis via its antioxidant activity. *Phytomedicine*, 16(1), 85-94. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.09.013>
- [30] Dávalos, A., Gómez-Cordovés, C., & Bartolomé, B. (2004). Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC— fluorescein) assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(1), 48-54. doi: <https://dx.doi.org/10.1021/jf0305231>
- [31] Galano, A., & Alvarez Idaboy, J. R. (2013). A computational methodology for accurate predictions of rate constants in solution: Application to the assessment of primary antioxidant activity. *Journal of computational chemistry*, 34(28), 2430-2445. doi: <https://doi.org/10.1002/jcc.23409>
- [32] Zhao, Y., Schultz, N. E., & Truhlar, D. G. (2006). Design of density functionals by combining the method of constraint satisfaction with parametrization for thermochemistry, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2(2), 364-382. doi: <https://dx.doi.org/10.1021/ct0502763>
- [33] Peverati, R., & Truhlar, D. G. (2012). Performance of the M11 and M11-L density functionals for calculations of electronic excitation energies by adiabatic time-dependent density functional theory. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(32), 11363-11370. doi: <https://dx.doi.org/10.1039/c2cp41295k>
- [34] Szabo, A., & Ostlund, N. S. (2012). *Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory*. Courier Corporation.
- [35] Binkley, J. S., Pople, J. A., & Hehre, W. J. (1980). Self-consistent molecular orbital methods. 21. Small split-valence basis sets for first-row elements. *Journal of the American Chemical Society*, 102(3), 939-947. doi: <https://doi.org/10.1021/ja00523a008>
- [36] Krishnan, R. B. J. S., Binkley, J. S., Seeger, R., & Pople, J. A. (1980). Self consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *The Journal of Chemical Physics*, 72(1), 650-654. doi: <https://doi.org/10.1063/1.438955>
- [37] Marenich, A. V., Cramer, C. J., & Truhlar, D. G. (2009). Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 113(18), 6378-6396. doi: <https://dx.doi.org/10.1021/jp810292n>

- [38] Alberto, M. E., Russo, N., Grand, A., & Galano, A. (2013). A physicochemical examination of the free radical scavenging activity of Trolox: mechanism, kinetics and influence of the environment. *Physical chemistry chemical physics*, 15(13), 4642-4650. doi: <https://dx.doi.org/10.1039/c3cp43319f>
- [39] Galano, A., & Pérez-González, A. (2012). On the free radical scavenging mechanism of protocatechuic acid, regeneration of the catechol group in aqueous solution. *Theoretical Chemistry Accounts*, 131(9), 1265. doi: <https://dx.doi.org/10.1007/s00214-012-1265-0>
- [40] Fujisaki, N., Ruf, A., & Gäumann, T. (1987). Barrier permeabilities for a symmetric Eckart potential as studied by the kinetic isotope effects for hydrogen/deuterium abstraction from neopentane by hydrogen atoms in the gas phase. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*, 83(11), 2053-2065. doi: <https://dx.doi.org/10.1039/F29878302053>
- [41] Gonzalez, C., & Schlegel, H. B. (1989). An improved algorithm for reaction path following. *The Journal of Chemical Physics*, 90(4), 2154-2161. doi: <https://doi.org/10.1063/1.456010>
- [42] Frisch, M. J., et al. (2009). *Gaussian 09*. Gaussian, Inc.: Wallingford CT.
- [43] Dzib, E., Cabellos, J. L., Ortiz Chi, F., Pan, S., Galano, A., & Merino, G. (2019). Eyringpy: a program for computing rate constants in the gas phase and in solution. *International Journal of Quantum Chemistry*, 119(2), e25686. doi: <https://doi.org/10.1002/qua.25686>
- [44] Henriksen, N. E., & Hansen, F. Y. (2018). *Theories of molecular reaction dynamics: the microscopic foundation of chemical kinetics*. Oxford University Press.
- [45] Zhang, Y., Stecher, T., Cvitaš, M. T., & Althorpe, S. C. (2014). Which Is Better at Predicting Quantum-Tunneling Rates: Quantum Transition-State Theory or Free-Energy Instanton Theory?. *The journal of physical chemistry letters*, 5(22), 3976-3980. doi: <https://dx.doi.org/10.1021/jz501889v>
- [46] Liu, Y. P., Lu, D. H., Gonzalez-Lafont, A., Truhlar, D. G., & Garrett, B. C. (1993). Direct dynamics calculation of the kinetic isotope effect for an organic hydrogen-transfer reaction, including corner-cutting tunneling in 21 dimensions. *Journal of the American Chemical Society*, 115(17), 7806-7817. doi: <https://dx.doi.org/10.1021/ja00070a029>
- [47] Eckart, C. (1930). The penetration of a potential barrier by electrons. *Physical Review*, 35(11), 1303. doi: <https://doi.org/10.1103/PhysRev.35.1303>
- [48] Marcus, R. A. (1993). Electron transfer reactions in chemistry. Theory and experiment. *Reviews of Modern Physics*, 65(3), 599. doi: <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.65.599>
- [49] Marcus, R. A. (1956). On the theory of oxidation-reduction reactions involving electron transfer. I. *The Journal of Chemical Physics*, 24(5), 966-978. doi: <https://doi.org/10.1063/1.1742723>
- [50] Truhlar, D. G. (1985). Nearly encounter-controlled reactions: The equivalence of the steady-state and diffusional viewpoints. *Journal of Chemical Education*, 62(2), 104. doi: <https://dx.doi.org/10.1021/ed062p104>
- [51] Collins, F. C., & Kimball, G. E. (1949). Diffusion-controlled reaction rates. *Journal of colloid science*, 4(4), 425-437. doi: [https://doi.org/10.1016/0095-8522\(49\)90023-9](https://doi.org/10.1016/0095-8522(49)90023-9)
- [52] Nenadis, N., & Tsimidou, M. Z. (2012). Contribution of DFT computed molecular descriptors in the study of radical scavenging activity trend of natural hydroxybenzaldehydes and corresponding acids. *Food research international*, 48(2), 538-543. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.014>
- [53] Bountagkidou, O. G., Ordouli, S. A., & Tsimidou, M. Z. (2010). Structure-antioxidant activity relationship study of natural hydroxybenzaldehydes using in vitro assays. *Food research international*, 43(8), 2014-2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.05.021>
- [54] Frankel, E. N. (1998). *Lipid Oxidation*. Dundee, Scotland: The Oily Press LTD.

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Tabla S.1. Cambio de energía de Gibbs en kcal mol⁻¹ para **2** frente al HOO· a 298,15 K.*

Mecanismo	ΔG_{CR}	ΔG_{TS}^\ddagger	ΔG_{CP}	ΔG_P
HT				
H	-11,8 (-19,5)	7,2 (2,7)	-2,5 (-6,9)	-8,1 (-11,3)
H2	-11,3 (-15,6)	20,6 (18,8)	16,8 (12,3)	13,1 (12,5)
H3	-8,0 (-16,2)	2,7 (2,7)	-17,2 (-24,8)	-21,3 (-19,8)
H5	-11,4 (-13,5)	20,4 (17,9)	17,8 (10,1)	13,1 (12,4)
H6	-11,2 (-14,0)	21,1 (17,3)	18,5 (13,6)	11,3 (9,9)
RAF				
C	-8,5 (-13,5)	4,2 (6,1)		-4,7 (0,9)
C1	-7,7 (-13,6)	10,1 (8,0)		8,6 (6,5)
C2	-8,2 (-13,6)	8,0 (7,7)		-0,4 (-3,7)
C3	-8,4 (-13,4)	4,0 (4,0)		-1,1 (-3,1)
C4	-8,2 (-12,9)	6,0 (8,0)		3,8 (-7,9)
C5	-7,7 (-13,4)	7,7 (6,5)		4,4 (2,4)
C6	-8,3 (-13,5)	9,4 (7,3)		2,1 (-0,7)
SET		4,5 (13,4)		-2,5 (11,8)

* Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

Tabla S.2. Constantes de velocidad (M⁻¹ s⁻¹) para **2** frente al HOO· a 298,15 K.*

	k_{TST}	K	k_{TST}^{ack}	k_D	k_{ap}
HT					
H	7,4 x 10 ⁸ (1,7 x 10 ¹²)	12,6 (6,1)	9,4 x 10 ⁹ (1,0 x 10 ¹³)	2,9 x 10 ⁹ (2,8 x 10 ⁹)	2,2 x 10 ⁹ (2,8 x 10 ⁹)
H2	1,2 x 10 ¹ (2,7)	(19,5)	(5,2 x 10 ¹)	2,9 x 10 ⁹ (2,8 x 10 ⁹)	1,2 x 10 ⁻¹ (5,2 x 10 ⁻¹)
H3	1,5 x 10 ¹² (1,6 x 10 ¹²)	1,2 x 10 ⁴ (11,6)	1,9 x 10 ¹⁶ (1,9 x 10 ¹³)	2,8 x 10 ⁹ (2,8 x 10 ⁹)	2,8 x 10 ⁹ (2,8 x 10 ⁹)
H5	1,6 x 10 ¹ (12)	(17,7)	(2,2 x 10 ²)	2,9 x 10 ⁹ (2,8 x 10 ⁹)	1,6 x 10 ⁻¹ (2,2 x 10 ²)
H6	5,1 x 10 ⁻² (31)			2,9 x 10 ⁹ (2,8 x 10 ⁹)	5,1 x 10 ⁻² (3,0 x 10 ¹)
RAF					
C	1,3 x 10 ¹¹ (5,1 x 10 ⁹)			2,5 x 10 ⁹ (2,2 x 10 ⁹)	2,4 x 10 ⁹ (1,5 x 10 ⁹)
C1	6,2 x 10 ⁶ (1,9 x 10 ⁶)			2,0 x 10 ⁹ (2,0 x 10 ⁹)	6,2 x 10 ⁶ (1,8 x 10 ⁶)
C2	2,2 x 10 ⁶ (3,6 x 10 ⁶)			2,2 x 10 ⁹ (2,8 x 10 ⁹)	2,0 x 10 ⁶ (5,2 x 10 ¹)
C3	1,7 x 10 ¹¹ (1,9 x 10 ¹¹)			2,2 x 10 ⁹ (2,2 x 10 ⁹)	2,2 x 10 ⁹ (2,1 x 10 ⁹)
C4	5,9 x 10 ⁹ (2,0 x 10 ⁹)			2,2 x 10 ⁹ (2,1 x 10 ⁹)	1,6 x 10 ⁹ (1,8 x 10 ⁹)
C5	3,4 x 10 ⁶ (2,4 x 10 ⁶)			2,1 x 10 ⁹ (2,1 x 10 ⁹)	2,9 x 10 ⁸ (1,1 x 10 ⁹)
C6	1,8 x 10 ⁷ (7,0 x 10 ⁶)			2,2 x 10 ⁹ (2,1 x 10 ⁹)	1,8 x 10 ⁷ (5,3 x 10 ⁶)
SET	3,1 x 10 ⁹ (9,6 x 10 ²)			7,8 x 10 ⁹ (8,9 x 10 ⁹)	2,2 x 10 ⁹ (9,6 x 10 ²)

* Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

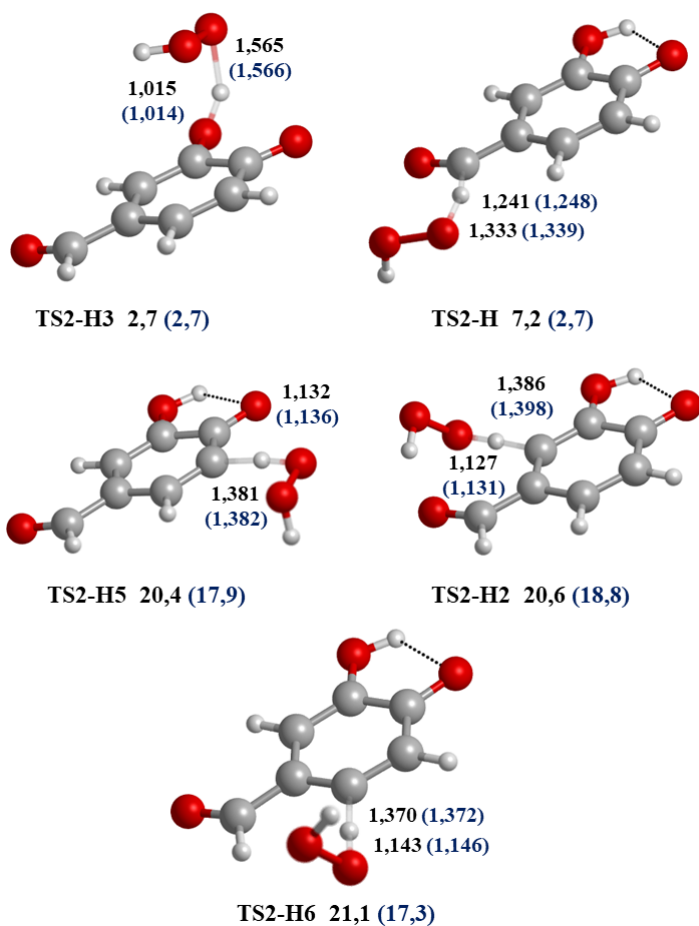


Figura S.1. Estructura de los TS que se forman entre **2** y el HOO⁻ en el mecanismo HT con el nivel M05-2X/6-311+G(d,p). Las distancias en Å. En la parte inferior de cada estructura se indica el valor de la energía en kcal/mol con respecto a los reactivos. Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

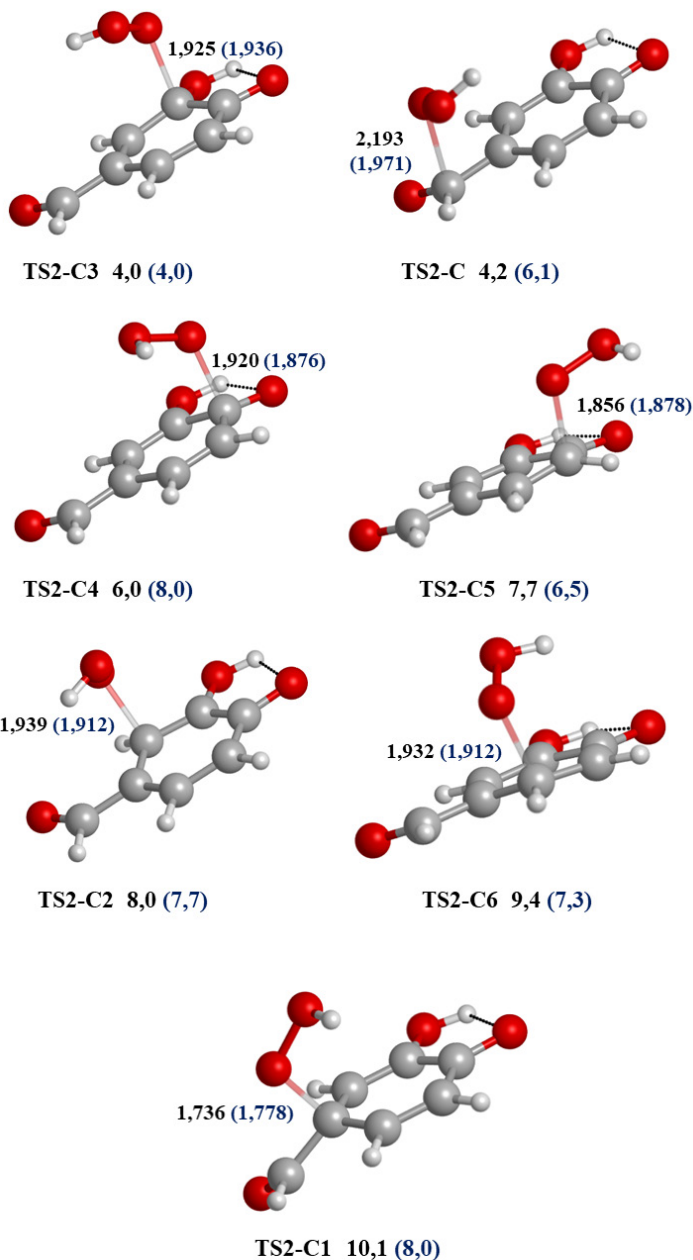


Figura S.2. Estructura de los TS que se forman entre **2** y el HOO· en el mecanismo RAF con el nivel M05-2X/6-311+G(d,p). Las distancias en Å. En la parte inferior de cada estructura se indica el valor de la energía en kcal/mol con respecto a los reactivos. Los valores entre paréntesis corresponden al medio de etanoato de pentilo.

Cálculo de la fracción molar para las especies del 3,4-Dihidroxibenzaldehído en función del pH.

En medio acuoso, la fracción molar de las especies $H_2C_7H_4O_3$, $HC_7H_4O_3^-$ y $C_7H_4O_3^{2-}$ se calculan por medio de los valores de pKa según el esquema de la Figura S.3.

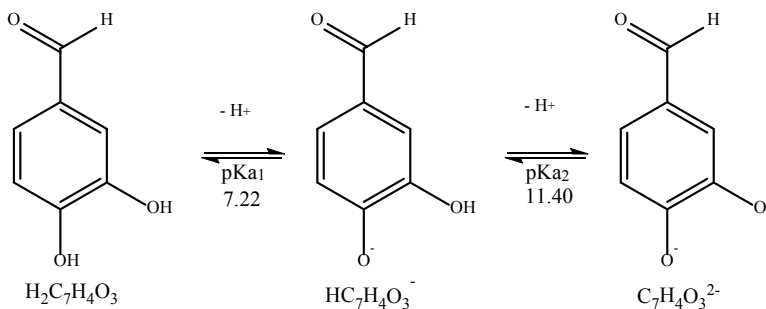
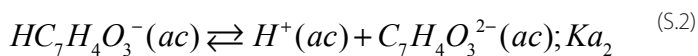
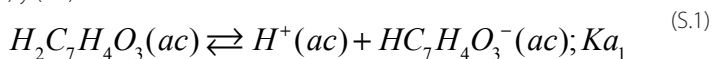


Figura S.3. Disociación del 3,4-dihidroxibenzaldehído en medio acuoso.

La concentración de las especies de $H_2C_7H_4O_3$, $HC_7H_4O_3^-$ y $C_7H_4O_3^{2-}$ dependen, en este caso del valor del pH fisiológico (7.4) y se representan por medio de las reacciones de equilibrio (S.1) y (S.2).



La constante de equilibrio para ka1 se representa en la Ec. (S.3).

$$K_{a1} = \frac{[H^+][HC_7H_4O_3^-]}{[H_2C_7H_4O_3]} \quad (S.3)$$

el balance de masa da lugar a la Ec. (S.4).

$$K_{a1} = \frac{[H^+][HC_7H_4O_3^-]}{C_{H_2C_7H_4O_3} - [H^+]} \quad (S.4)$$

resolviendo para las Ec. (S.3) y (S.4) se obtiene la Ec. (S.5).

$$\frac{[H_2C_7H_4O_3]}{C_{H_2C_7H_4O_3}} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_{a1}} \quad (S.5)$$



donde el cociente $\frac{[H_2C_7H_4O_3]}{C_{H_2C_7H_4O_3}}$ representa la fracción molar para el $H_2C_7H_4O_3$

($X_{H_2C_7H_4O_3}$), usando las relaciones: $[H^+] = 10^{-pH}$ y $Ka = 10^{-pKa}$ para el valor del pH fisiológico se tiene que $X_{H_2C_7H_4O_3} = 0,398$. De igual forma, para el $HC_7H_4O_3^-$ se tiene obtiene la Ec. (S.6).

$$Ka_2 = \frac{[H^+][C_7H_4O_3^{2-}]}{[HC_7H_4O_3^-]} \quad (S.6)$$

$$Ka_2 = \frac{[H^+][C_7H_4O_3^{2-}]}{C_{HC_7H_4O_3^-} - [H^+]} \quad (S.7)$$

de las relaciones anteriores se tiene que $[HC_7H_4O_3^-] = C_{H_2C_7H_4O_3} - [H_2C_7H_4O_3]$ y $C_{H_2C_7H_4O_3} \approx [HC_7H_4O_3^-]$, entonces resolviendo para las Ec. (S.6) y (S.7) se obtiene la Ec. (S.8).

$$X_{HC_7H_4O_3^-} = \frac{(1 - X_{H_2C_7H_4O_3})[H^+]}{[H^+] + Ka_2} \quad (S.8)$$

análogamente se obtiene que $X_{HC_7H_4O_3^-} = 0,602$. Para encontrar $H_2C_7H_4O_3$, $HC_7H_4O_3^-$ y $X_{C_7H_4O_3^{2-}}$ se sabe que la suma de las fracciones molares es igual a uno, de este modo se obtiene que $X_{C_7H_4O_3^{2-}}$ es $1,8 \times 10^{-5}$.

Unusual Record For Greater Bulldog Bat *Noctilio leporinus* Linnaeus, 1758 (Chiroptera: Noctilionidae) in the Southern Andes of Ecuador

Carlos Niveló-Villavicencio^{1,3*}, Francisco Sánchez-Karste², David C. Siddons³, Javier Fernández de Córdova⁴

¹ Museo de Zoología de la Universidad del Azuay. Escuela de Biología, Ecología y Gestión, Universidad del Azuay, Av. 24 de mayo 7-77 y Hernán Malo, Teléfono: (593) 7 4091000, Fax: (593) 72815-997, Apartado 01.01.981, Cuenca, Ecuador.

² Programa de biodiversidad, Parque Nacional Cajas, Subgerencia de Gestión Ambiental – ETAPA EP, 010150, Cuenca-Ecuador.

³ Laboratorio de Ecología Acústica, Escuela de Biología Ecología y Gestión, Universidad del Azuay, Av. 24 de mayo 7-77 y Hernán Malo, Teléfono: (593) 7 4091000, Fax: (593) 72815-997, Apartado 01.01.981, Cuenca, Ecuador.

⁴ Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 Ciudad Universitaria, Apartado C1428EGA, Argentina.

* Autor para Correspondencia / Corresponding Author, e-mail: cvillavicencio@uazuay.edu.ec

Registro inusual para el murciélago Pescador Mayor *Noctilio leporinus* Linnaeus, 1758 (Chiroptera: Noctilionidae) en Los Andes Sur del Ecuador

Abstract

The genus *Noctilio* includes two species which occur in elevation ranges that do not exceed 1000 m a.s.l. They have characteristic eating habits, which is why they are known as fishing bats. Their anatomy and shape of the face, as well as the coloration of the fur, make them very distinctive. In this work we report a record of an adult male of *Noctilio leporinus* at 3600 m elevation in Migüir locality near Cajas National Park in the Azuay province in the southern Andes of Ecuador. This is the first record for *Noctilio leporinus* in elevations that exceed 600 meters which makes it an unusual case.

Keywords: Cajas National Park, Cuenca, distribution range, coastal cities.

Resumen

El género *Noctilio* incluye dos especies que se encuentran distribuidas en rangos de elevación que no sobrepasan los 1000 m s.n.m. Tienen hábitos alimenticios muy característicos, por lo que son conocidos como murciélagos pescadores. Su anatomía y forma del rostro, así como la coloración del pelaje los hace muy distintivos. En este trabajo se da a conocer un registro de un macho adulto de *Noctilio leporinus* a 3600 m en la localidad de Migüir cerca del Parque Nacional Cajas en la provincia del Azuay en los Andes sur del Ecuador. Este registro es el primero para *Noctilio leporinus* en elevaciones que sobrepasan los 600 m lo que lo convierte en un caso inusual.

Palabras clave: Ciudades costeras, Cuenca, Parque Nacional Cajas, rango de distribución.



Editado por /
Edited by:
Elisa Bonaccorso

Recibido /
Received:
09/07/2019

Aceptado /
Accepted:
28/10/2019

Publicado en línea /
Published online:
20/02/2020

The genus *Noctilio* has two species of Bulldog bats *Noctilio albiventris* Desmartes, 1818 (Lesser Bulldog Bat) and *Noctilio leporinus* Linnaeus, 1758 (Greater Bulldog Bat), and both are restricted to the lowlands associated with streams, bodies of water, and coastal marine ecosystems [1-2]. These species are restricted to the Americas from the east coast of Mexico to northern Argentina, including Cuba and the Lesser Antilles [3]. Both species are present in Ecuador; *Noctilio albiventris* commonly occurs in Amazonia up to 400 m a.s.l. and *Noctilio leporinus* occurs on the western and eastern slopes of the Andes mountain range up to elevations of 660 m. The diet of both species includes aquatic insects and fish up to 12 cm in length [4-7]. These species have adaptations that make them easily recognizable. Some of these characteristics are: the snout and nose without excrescences, a projected nose pad, swollen lips and crests that give it a “bulldog” appearance, well developed feet and claws. The fur is striking reddish yellow, which differs from other species of bats, which are generally dark [7-9].

Here we report an adult male specimen of *Noctilio leporinus* found in February 2019 in the area of Migüir (2.79°S, 79.28°W, 3600 m), near the union of the Migüir river with the Contra Hierba creek in Azuay province, south Ecuador (Fig. 1). The specimen was located inside a cottage used as a warehouse. The bat was perched on a table and showed a weak physical condition probably due to its low body temperature. The specimen was collected for its respective description and deposited in the Zoology Museum of Universidad del Azuay under the code MZUA-MA470.

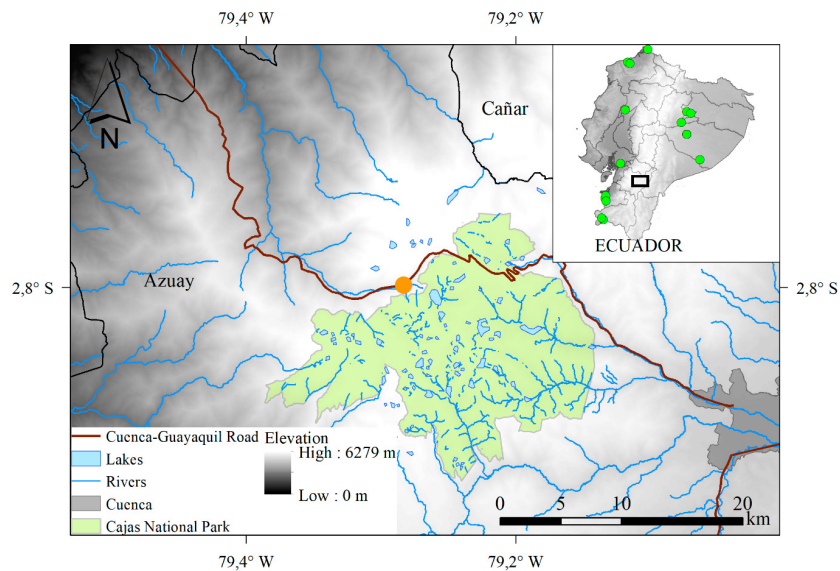


FIGURE 1. Record site of *Noctilio leporinus* in Migüir locality (orange circle), near Cajas National Park, Azuay Province, southern Ecuador. The green circles represent the literature localities taken from Albuja, Vallejo & Boada and Brito et al. [4, 10-11].



The specimen presents reddish orange fur with a pale line on the back. Lips are swollen with a projected snout. The forearm is long (87 mm), feet with curved claws and an elongated calcar. (Table 1, Fig. 2). Sex and age were determined by presence of scrotal testicles. These characteristics correspond to the description of *Noctilio leporinus* according to Hood & Jones, Albuja and Tirira [4,7,9]. The only similar species in Ecuador is *Noctilio albiventris*; however, this is smaller and the forearm reaches a maximum of 68.70 mm, so this record undoubtedly corresponds to a specimen of *Noctilio leporinus*.

Unusual records in the distribution range of species are not frequent; however, they do arise in nature. Some records of species out of their ordinary distribution include: *Peropteryx macrotis* in the Andean highlands of Ecuador, *Pseudalopex culpaeus* below its common altitudinal range, *Cardellina canadensis* with a new locality in southern Ecuador and *Nyctinomops macrotis* in the inter-Andean valley of southern Ecuador [12-15]. These and other cases can be attributed to different factors such as: accidental transportation by a vehicle across the highways, vagrant individuals due to climatic factors, or temporal availability of resources in the area [12].

TABLE 1. Main measurements (mm) of an adult male of *Noctilio leporinus* recorded in Migüir, Azuay province, south Ecuador.

Measurements	MZUA-MA470	Albuja 1999	Tirira 2017
HB	83	82-100	89-105
TL	21	30	26-35
FT	31	29-30	25-35
E	27	29-34	26-29
FA	87	81-88.3	75-88
CA	39		

HB= head and body, TL= tail length, FT= foot length, E=ear, FA= forearm, CA=calcaneus. Literature information from Albuja and Tirira [4,7].

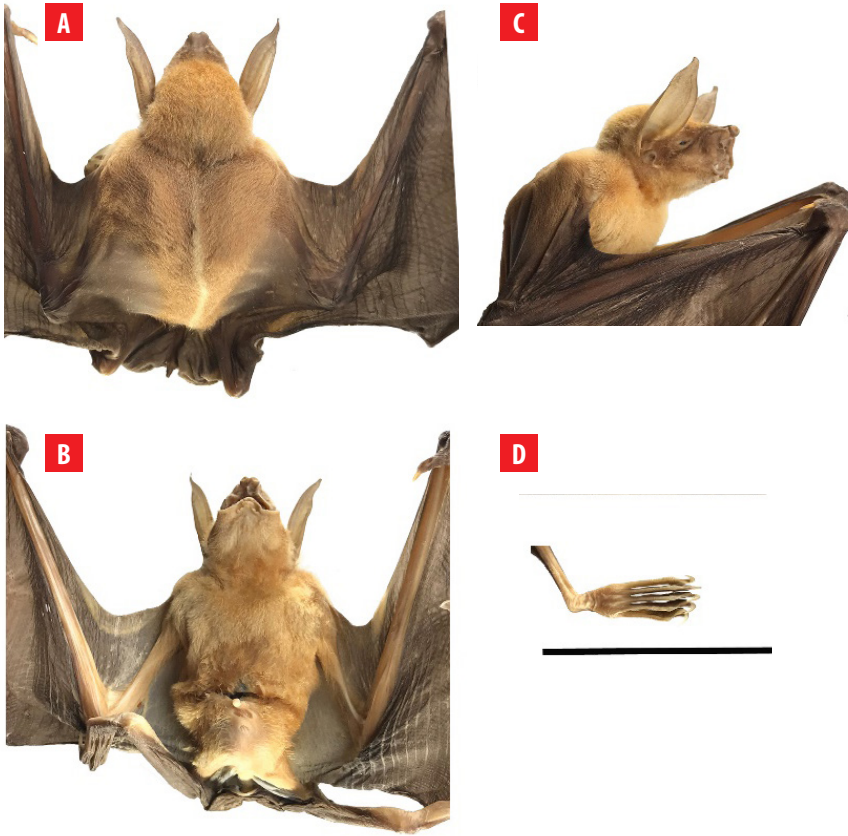


FIGURE 2. Specimen of *Noctilio leporinus* (MZUAMA470) recorded in Migüir, near Cajas National Park, Azuay Province, south Ecuador. **A)** dorsal view, **B)** ventral view, **C)** lateral view and **D)** right foot dorsal view. Scale bar = 5 cm.

In this sense, the presence of an individual of *Noctilio leporinus* in the high Andes in Ecuador at 3000 m above the common distribution may be a case of accidental transport by a vehicle [12,16,17]; the Cuenca-Guayaquil road is a highway transited by trucks that transport merchandise from coastal cities to Cuenca city. Finally, the altitudinal distribution of this species and the conditions in which the specimen was found do not support this as a new range in its distribution. However, the possibility of migration of this species cannot be completely ruled out, since within this group there are several migratory species such as *Tadarida brasiliensis* and *Leptonycteris curasoae* [18, 19]. For this reason, further studies on the ecology of this species are required.



ACKNOWLEDGEMENTS

This work was possible thanks to the support of the dean of research of the Universidad del Azuay, Jacinto Guillen. The Zoology Museum of the Universidad del Azuay is under the patent FAUS-UDA-Museo de Zoología-03-2018.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Carlos Niveló Villavicencio identified the specimen, wrote, and reviewed the document; Francisco Sánchez Karste reviewed the specimen and wrote the document; David C. Siddons wrote and reviewed the translation of the document; Javier Fernández de Córdova corroborated the specimen identification, wrote, and reviewed the document.

REFERENCES

- [1] Gardner, A. L. (2008). Family Noctilionidae. In A. L. Gardner (Ed.), *Mammals of South America* (pp. 384-388). Chicago, IL: University of Chicago Press.
- [2] Bárquez, R., Pérez, S., Miller, B., & Diaz, M. (2015). *Noctilio leporinus*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2015: e.T14830A22019554. doi: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T14830A22019554.en>
- [3] Emmons, L. H., & Feer, F. (1997). *Neotropical Rainforests Mammals: A field guide* (2nd ed.). Chicago, IL: University of Chicago Press.
- [4] Albuja, L. (1999). *Murciélagos del Ecuador*. Departamento de Ciencias Biológicas. Escuela Politécnica Nacional. 2nd Edición. Cicetrónica Cia.Ltda. Offset. Quito.
- [5] Brooke, A. P. (1994). Diet of the fishing bat, *Noctilio leporinus* (Chiroptera: Noctilionidae). *Journal of Mammology*, 75(1), 212-218. doi: <https://doi.org/10.2307/1382253>
- [6] Bordignon, M. O., & Franca, A. (2002). Fish consumption by *Noctilio leporinus* (Linnaeus, 1758) in Guaratuba Bay, southern Brazil. *Chiroptera Neotropical*, 8, 148-150.
- [7] Tirira, D. G. (2017). *Guía de campo de los mamíferos del Ecuador*. Incluye los Islas Galápagos y la Zona Antártica Ecuatoriana. Publicación Especial, 11.
- [8] Hood, C. S., & Pitocchelli, J. (1983). *Noctilio albiventris*. *Mammalian Species*, (197), 1-5. Retrieved from: http://www.bio-nica.info/Mammalia/Noctilio_albiventris.pdf
- [9] Hood, C. S., & Jones, J. K. (1984). *Noctilio leporinus*. *Mammalian Species*, (216), 1-7. Retrieved from: http://www.bio-nica.info/Mammalia/Noctilio_leporinus.pdf
- [10] Vallejo, A. F., & Boada, C. (2018). *Noctilio leporinus* En: Brito, J., Camacho, M. A., Romero, V. Vallejo, A. F. (2018). Mamíferos del Ecuador. (Versión 2018.0) Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Recuperado el 30 de octubre de 2019 de: <https://bioweb.bio/faunaweb/mammaliaweb/FichaEspecie/Noctilio%20leporinus>
- [11] Brito, J., Garzón-Santomaro, C., MenaValenzuela, P., GonzálezRomero, D., & MenaJaén, J. (Eds.). (2018). *MAMÍFEROS DE LA PROVINCIA DE EL ORO: Una guía de identificación de especies de mamíferos del Páramo al Mar*. GADPEOINABIO. Quito-Ecuador.
- [12] Jarrin-V, P. (2003). An unusual record of *Peropteryx macrotis* (Chiroptera: Emballonuridae) in the Andean highlands of Ecuador. *Mammalia*, 67(4), 613-616. doi: <https://doi.org/10.1515/mamm-2003-0421>
- [13] Ordóñez-Delgado, L., Vits, C., González, I., & Valle, D. (2018). Registro altitudinal inusual de Zorro Andino *Pseudalopex culpaeus* (Carnívora: Canidae) en el sureste de Ecuador. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 10(1). doi: <https://doi.org/10.18272/aci.v10i1.862>
- [14] Ordóñez-Delgado, L., Reyes-Bueno, F., Orihuela-Torres, A., & Armijos-Ojeda, D. (2016). Registros inusuales de aves en la hoya de Loja, Andes sur del Ecuador. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 8(14). doi: <https://doi.org/10.18272/aci.v8i14.276>
- [15] Sánchez-Karste, F., Niveló-Villavicencio, C., Fernández de Córdova, J., & Astudillo, P. X. (2017). New extension range of *Nyctinomops macrotis* Gray, 1840 (Chiroptera: Molossidae) in Southern Andes of Ecuador. *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 4(7), 3-8. doi: <https://dx.doi.org/10.21472/bjbs.040721>
- [16] Cancino, E. R., Myartseva, S. N., Agronomía, U. A. M., & UAT, C. (2002). *Distribución geográfica de animales*. Revista de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.
- [17] Gomez, J. M., Fernández, A. M., González, C. D., & González, A. (2009). Un polizón en un saco de patatas: transporte accidental de *Mauremys leprosa* desde Sevilla a Cantabria. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, (20), 111-112. Recuperado de http://www.herpetologica.org/bahe/BAHE20_029_Cons07.pdf
- [18] Villa, B. R. (1956). *Tadarida brasiliensis* mexicana (Saussure), el murciélago guanero, es una subespecie migratoria. *Acta Zoológica Mexicana*, 1(11), 1-11.
- [19] Sánchez, F., & Cadena, A. (1999). Migración de *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) en las zonas áridas del norte de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 23, S683-S683.

Illustrated catalog of Phytoliths from the Galápagos Islands: Economic species of San Cristóbal Island

Fernando J. Astudillo^{1,2}

¹Colegio de Ciencias Sociales y Humanidades, Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador

²Galapagos Science Centre, Galápagos, Ecuador

Autor para Correspondencia / Corresponding Author, e-mail: fjastudillo@usfq.edu.ec

Catálogo ilustrado de Fitolitos de las Islas Galápagos: Especies económicas de la Isla San Cristóbal

Abstract

Native, endemic, and introduced vascular plants from the Galápagos Islands were processed for phytolith extraction. Modern plant specimens of 43 species were collected in the field considering the possible uses of these plant species during the first years of colonization of San Cristóbal Island, Galápagos (1860s). This comparative illustrated catalog is limited to test the production of phytoliths in useful endemic, native, and introduced plant taxa. The results provided the main elements to discriminate morphotypes from native and introduced plants in San Cristóbal. This catalog will guide future paleoethnobotanical research in the Galápagos and other archipelagos of the far eastern Pacific islands.

Keywords: Microfossils, Endemic Trees, Comparative Collection, Ecuador.

Resumen

Especímenes de plantas vasculares nativas, endémicas, e introducidas de las Islas Galápagos fueron procesadas para la extracción de fitolitos. 43 plantas fueron recolectadas considerando los posibles usos de estas especies de plantas durante los primeros años de colonización de la Isla San Cristóbal, Galápagos (1860s). El catálogo ilustrado comparativo que se presenta aquí se limita a explorar la producción de fitolitos en taxones utilizados por los seres humanos. Los resultados proporcionaron los elementos principales para discriminar morfotipos de plantas nativas e introducidas en San Cristóbal. Este catálogo permitirá futuras investigaciones paleoetnobotánicas en las Galápagos y otros archipiélagos de las islas del Pacífico oriental.

Palabras clave: Microfósiles, Árboles Endémicos, Colección Comparativa, Ecuador.

INTRODUCTION

The Galápagos Islands are considered one of the last pristine natural paradises on Earth. However, during the past four centuries the local plant and animal populations have experienced a constant process of change caused mainly by anthropogenic activity. After accidental discovery by Bishop Tomas de Berlanga in the name of Spain, the

Galápagos Islands remained seasonally inhabited by pirates and whalers. They were the place later selected by planters to build industrial-size plantations for sugarcane, coffee, and quinine trees (*Cinchona pubescens*).

The *Historical Ecology of the Galápagos Islands* project aimed to explore the human history and ecological consequences of human colonization of San Cristóbal Island from an archaeological perspective. The project was divided into four main components for investigating the material and biological remains of El Progreso plantation: zooarchaeology, paleoethnobotany, material culture analysis, and landscape transformation (<https://goo.gl/CpKTpB>). As an integral aspect of the paleoethnobotanical component and for comparative purposes, a set of 43 plant samples representing 18 families and 42 species of vascular plants was processed for phytolith extraction during the summers of 2014 and 2015.

The overall goal of this work was to initiate a comparative collection of phytoliths from endemic, native, and introduced plant species existing in the highlands of San Cristóbal Island. The specific objectives were: (1) to identify the production of diagnostic phytoliths; and (2) to catalog the existing diagnostic phytolith morphotypes. Based on published sources, a pre-selection of prominent local taxa to be sampled in the field was used [1-5]. Nine endemic, eleven native, and twenty-two introduced modern plant species were collected considering the possible uses of these plant species during the first years of colonization of San Cristóbal Island. The comparative illustrated catalog presented here is limited to test the production of phytoliths in economic and useful endemic, native, and introduced plant taxa.

STUDY AREA

The Galápagos are a group of volcanic islands located below the equator in the Pacific Ocean, 1000 km west of the Ecuadorian coast. The Galápagos archipelago comprises approximately 128 named islands and islets formed about three million years ago. The age of the islands increases moving from west to east because of the drift of the Nazca tectonic plate away from the East Pacific Ridge to the southeast over a hotspot [6-8]. This study was located in the southeastern highlands of San Cristóbal, the easternmost and one of the oldest islands in the Galápagos.

The structure of the islands is that of coalescent and/or super-posed lava streams in the lower parts and cones of different pyroclastic material at higher elevations [9]. Soils are formed after decomposition of lava flow surfaces caused by moisture. The modern landscape is covered with poorly developed black soils; older soils are brown Andisols, and the oldest surfaces show eroded and highly cohesive red soils [10]. Soil pH averages from 6.37 to 6.52 in the humid highlands of San Cristóbal Island (Percy, 2015, personal communication).

Even though the islands are situated on the equator, they do not have a tropical climate due to the influence of two interacting oceanic systems: the Inter Tropical Convergence Zone and El Niño Southern Oscillation [11]. Local climate is influenced by altitude; the average annual temperature oscillates from 20 to 31°C, and only two seasons are recognized: cool and dry between June and December, and warm and rainy between January and May. The annual precipitation varies from 700-3000 mm and on the



windward slopes of the mountains a mist, called *garúa*, is responsible for continuous humidity throughout the cool season [9].

In Galápagos, approximately 600 plant taxa exist of which about 32% are endemic. Seven vegetation zones have been defined: Littoral (or Coastal) Zone, Arid Zone, Transition Zone, The Moist Zones: *Scalesia* Zone, *Zanthoxylum* (or Brown) Zone, *Miconia* Zone, Pampa or Fern-Sedge Zone [12]. The environmental setting selected for this project was the Humid Zone (also called the Agricultural Zone or *Scalesia* Zone), which extends from 200 to 400 m a.s.l. This zone is home to a variety of endemic taxa such as *Scalesia pedunculata*, *Psidium galapageium*, *Pisonia floribunda*, *Adenostemma lavenia*, *Adiantum henslovianum*, *Andiatum macrophyllum*, *Asplenium auritum*, *Asplenium cristatum*, *Asplenium formosum*, *Blechnum occidentale* var. *puberulum*, *Blechnum polypodioides*, *Conyza bonariensis*, *Desmanthus virgatus*, *Epidendrum spicatum*, *Justicia galapagana*, *Lycopodium dichotomum*, *Lycopodium passerinoides*, *Polypodium aureum*, *Polypodium phyllitidis*, *Psychotria rufipes*, *Tournefortia rufo-sericea*; and the native trees *Cordia lutea* and *Piscidia carthagenensis* [13, 14, 12]. Today, the vegetation is characterized by the presence of invasive trees and shrub species such as guava (*Psidium guajava*), blackberry (*Rubus niveus*), plum rose (*Syzygium jambos*), multicolored lantana (*Lantana camara*), and several grasses from the genera *Brachiaria*, *Eragrostis*, *Panicum*, and *Pennisetum* [15].

HUMAN COLONIZATION OF THE GALÁPAGOS ISLANDS

It is believed that humans never occupied the archipelago before European discovery in 1535. Heyerdahl and Skjølsvold (1974) presented evidence suggesting that pre-Columbian groups from coastal Peru and Ecuador visited the islands, but this proposition is still in dispute [16]. After independence from Spain in 1822 and separation from Gran Colombia in 1830, the nation of Ecuador claimed the archipelago as national territory. The government then negotiated concessions of some islands for exploiting natural resources and to implement industrial-scale plantations to maintain sovereignty over the islands. In this scheme, Ecuadorian businessmen Manuel J. Cobos, Angel Cobos, and José Monroy obtained a long-term concession to plant and export sugar cane (*Saccharum officinarum*) and coffee (*Coffea arabica* L.) from San Cristóbal Island –formerly named Chatham. They created a large plantation called *El Progreso* in the humid highland interior of the island, 1000 km west of the South American Pacific coast (Fig. 1).

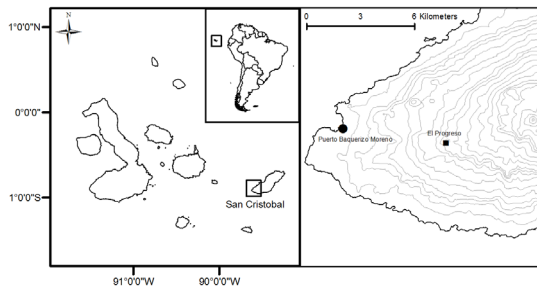


FIGURE 1. El Progreso Plantation operated in the humid highlands of San Cristóbal Island, 7 km east of the modern port city of Puerto Baquerizo Moreno. Modern plants for phytolith extraction were collected in the proximities of the modern village, also named El Progreso.

This industrial-scale plantation occupied most of the southwestern portion of the island. By 1904 El Progreso plantation was producing approximately 500 tons/yr. of sugar and great quantities of alcohol. Water was extracted from one of the few sources of fresh water in the entire archipelago, *El Junco* Lake, located 7 km away in the interior of the island. Over 100 km of roads were constructed and a 10-km railroad transported sugar products, coffee, tortoise oil, lime, salted and dried fish, meat, and leather to a deep-water port. Almost 400 laborers lived and worked on the plantation [17, 18]. The hacienda ceased operations in 1917. Since then, smallholder farmers have occupied some of the original El Progreso lands. Weeds invaded the abandoned fields and the useable machinery was returned to the mainland or removed by the remaining workers and visitors [18]. Today, the original hacienda land is a modern parish of the Province of Galápagos and is divided into small parcels used for farming.

METHODS AND LABORATORY PROTOCOLS

The plant specimens for this collection were collected during the summers of 2014 and 2015 in the proximity of El Progreso village (-0.90734, -89.55833; 334 m a.s.l.). Sections of leaves, stem, and wood were used to explore the presence and production of diagnostic phytoliths (Table 1).

Phytolith extraction from modern samples followed “dry ashing” protocols outlined by Albert and Weiner (2001) [19], with minor modifications from Mercader et al. (2011, 2010) [20, 21] and Astudillo (2018) [22]. The samples were processed in the laboratories of the Galápagos Science Centre (UNC-Chapel Hill) in Ecuador and Simon Fraser University in Canada. The protocol is ordered in four steps.

TABLE 1. Plants collected in San Cristóbal for phytoliths extraction
Key: L= leaves; S= stem; W= wood/bark; F = flowers

Family	Species	Parts	Category	TAL No.
Asteraceae	<i>Scalesia pedunculata</i> Hook. f.	L, S	Endemic	GLP-PRG-PLB-REF 4
Bombaceae	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	L, S, W	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 21
Boraginaceae	<i>Tournefortia pubescens</i> Hook.f.	L, S	Endemic	GLP-PRG-PLB-REF 25
Boraginaceae	<i>Cordia lutea</i> Lam.	L, S	Native	GLP-PRG-PLB-REF 32
Boraginaceae	<i>Tournefortia rufo sericea</i> Hook. f.	L, S, W	Endemic	GLP-PRG-PLB-REF 39
Burseraceae	<i>Bursera graveolens</i> (Kunth) Triana & Planch.	L, S, W	Native	GLP-PRG-PLB-REF 41
Cupressaceae	<i>Cupressus macrocarpa</i> Hartw.	L, S, W	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 36
Cyperaceae	<i>Rhynchospora nervosa</i> ssp. <i>Ciliate</i> (G. Mey.) T. Koyama	L, F	Native	GLP-PRG-PLB-REF 15
Cyperaceae	<i>Scleria melaleuca</i> Rchb. Ex Schtdl. & Cham.	L, F	Native	GLP-PRG-PLB-REF 16
Euphorbiaceae	<i>Aleurites moluccana</i> (L.) Willd.	L, S, W	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 28
Euphorbiaceae	<i>Croton scouleri</i> var. <i>scouleri</i> Hook. f.	L, S	Endemic	GLP-PRG-PLB-REF 29
Euphorbiaceae	<i>Hippomane mancinella</i> L.	L, S, W	Native	GLP-PRG-PLB-REF 40
Fabaceae	<i>Piscidia carthagenensis</i> Jacq.	L, S	Native	GLP-PRG-PLB-REF1
Lauraceae	<i>Persea americana</i> Mill.	L, S, W	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 35
Malvaceae	<i>Gossypium darwinii</i> G. Watt.	L, S, W	Endemic	GLP-PRG-PLB-REF 42

Family	Species	Parts	Category	TAL No.
Malvaceae	<i>Miconia robinsoniana</i> Cong.	L, S, W	Endemic	GLP-PRG-PLB-REF 43 (a/b)
Mimosaceae	<i>Inga insignis</i> Knuth.	W	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 33
Mimosaceae	<i>Prosopis juliflora</i> (Sw.)	L, S, W	Native	GLP-PRG-PLB-REF 34
Moraceae	<i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg	L, S	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 44
Myrtaceae	<i>Psidium galapageium</i> var. <i>howellii</i> Porter	L, S	Endemic	GLP-PRG-PLB-REF 2
Myrtaceae	<i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston	L, S	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 3
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	L, S	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 8
Poaceae	<i>Bambusa vulgaris</i> var. <i>vittata</i> Rivière & C. Rivière	L, S, W	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 22
Poaceae	<i>Bambusa vulgaris</i> var. <i>vulgaris</i> Schrad ex Wendl.	L, S, W	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 23
Poaceae	<i>Brachiaria decumbens</i> Stapf.	L, F	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 14
Poaceae	<i>Cynodon nlemfuensis</i> Vanderyst	L	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 11
Poaceae	<i>Digitaria</i> sp.	L, F	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 19
Poaceae	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn.	L, F	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 17
Poaceae	<i>Eragrostis amabilis</i> (L.) Wight & Arn. ex Nees	L, F	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 18
Poaceae	<i>Panicum maximum</i> Jacq.	L, F	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 10 & 12
Poaceae	<i>Pennisetum purpureum</i> Schum.	L, F	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 13
Poaceae	<i>Saccharum officinarum</i> L.	L	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 5, 6, & 9
Poaceae	<i>Stenotaphrum secundatum</i> (Walter) Kuntze	L	Native	GLP-PRG-PLB-REF 20
Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i> L.	L, S	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 7
Rubiaceae	<i>Psychotria rufipes</i> Hook. f.	L, S	Endemic	GLP-PRG-PLB-REF 30
Rutaceae	<i>Citrus paradisi</i> Macfad.	L, S, W	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 31
Rutaceae	<i>Zanthoxylum fagara</i> (L.) Sarg.	L, S, W	Native	GLP-PRG-PLB-REF 37
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	W	Introduced	GLP-PRG-PLB-REF 38
Solanaceae	<i>Solanum cheesmaniae</i> f. <i>cheesmaniae</i> (Riley) Fosberg	L, S	Endemic	GLP-PRG-PLB-REF 24
Urticaceae	<i>Laportea aestuans</i> (L.) Chew	L, S	Native	GLP-PRG-PLB-REF 26 & 27

(1) The plant tissue was cleaned by immersion in a soap solution to eliminate residues of soil or other kinds of impurities. Specimens were then dried overnight at ~100°C in an incubator oven. After cooling, plant mass was weighed on a precision balance.

(2) The dry samples then went into a muffle furnace for combustion over the course of 36 hours at 500°C. Ceramic crucibles of 30 and 50 ml with lids were used. (3) The mass of the resulting ash was weighed in a precision balance and received a 10 ml 50:50 solution made of hydrochloric (HCl) and nitric (HNO₃) acids at 3N. After acid reactions, the samples were placed to boil at ~70°C until a gelatin matrix was formed. After cooling, successive washing cycles removed acids from the sample by 5-minute centrifugation cycles at 3,000 r.p.m. When acid elimination was complete the remainder of a sample was dried overnight at ~100°C and weighed. Phosphate and carbonate loss was estimated by calculating mass differential. After this, approximately 10 ml of hydrogen peroxide (H₂O₂) at 30% was added to the sample to tear down organic matter. The sample was dried at ~100°C overnight.

(4) The resulting biominerals form the acid-insoluble fraction (A.I.F.) where phytoliths, among other biogenic precipitates, are present. An aliquot of ~0.001 g was taken for

mounting, after proper mixing. The mounting medium was made up of two droplets of resin solution 'Entellan new'. The aliquot was well mixed, and the microscopic inspection and counting took place within 48 hours of mounting before media were able to dry (3-D shifting of phytoliths was necessary to carry out identification).

Classifying criteria followed those presented by the International Code for Phytolith Nomenclature 1.0 [23] and the published literature for studies of phytoliths in archaeological sites in the Neo-tropics [24-35]; for grass phytoliths identification [36-49]; and for sugarcane and bamboo phytoliths identification [50, 51] (Table 2). Morphological features scrutinized were size, bi-dimensional outline, three-dimensional classification, and surface texture. All samples were analyzed under differential interference contrast (D.I.C.) microscopy at 40X magnification in 10 adjacent but not overlapping lines across the cover slip. Close examination of phytolith morphology was conducted on photographic frames using the image analysis software OLYMPUS Stream Basic 1.8 in a research microscope Olympus BX53 D.I.C.

TABLE 2. Classifying criteria

	Morphotype	Sources
1	Acicular columellate hair cell	This study
2	Acicular equal prickle	This study
3	Acicular hair cell	Piperno 2006
4	Bilobate concave outer margin short shaft	Fahmy (2008:15)
5	Carinate facetate bulliform	This study
6	Clavate facetate	This study
7	Clavate columellate hair cell	This study
8	Collapsed saddle	Piperno 2006
9	Cuneiform bulliform	Madella et al. 2005; Gu et al., 2016
10	Cylindrical striate	This study
11	Cylindrical sulcate tracheid	Madella et al. 2005
12	Elliptical rugulate	This study
13	Elongate cylindrical psilate	This study
14	Elongate echinate	Dickau et al. 2013
15	Elongate echinate long cell	Madella et al. 2005
16	Fusiform equal	This study
17	Globular sinuate	This study
18	Glume	Piperno 2006
19	Hair base	Piperno 2006
20	Irregular equal	This study
21	Mesophyll epidermal	Piperno 2006
22	Oblong columellate epidermal	This study

	Morphotype	Sources
23	Orbicular hair cell	Madella et al. 2005; Piperno 2006
24	Ovate	This study
25	Papillae	Madella et al. 2005
26	Parallepipedal bulliform	Madella et al. 2005
27	Parallepipedal granulate bulliform	This study
28	Polyhedral epidermal	Piperno 2006
29	Polylobate epidermal short cell	Piperno and Pearsall 2008
30	Quadra-lobate	Madella et al. 2005
31	Rondel tall pyramidal narrow flat top	Piperno and Perasall 2008
32	Rondel tall pyramidal ovate top	Mercader et al. 2010
33	Rondel wavy-top	Mercader et al. 2010
34	Saddle	Madella et al. 2005; Twiss et al. 1969.
35	Scutiform lanceolate	This study
36	Stellate bulliform	This study
37	Stellate linear	This study
38	Stellate psilate bulliform cell	This study
39	Stomate	Madella et al. 2005; Twiss et al. 1969

RESULTS

Biogenic Production

Biogenic content is the total percentage of phytoliths, silica, and diatoms produced by plants. The biogenic content of the comparative material from San Cristóbal Island are expressed in Table 3, where higher values in the Acid Insoluble Fraction (A.I.F.) indicate greater silica production. In native and endemic woody plants in San Cristóbal Island, biogenic silica production averages from 0.13% to 2.93% of the plant's dry mass; the highest amount of silica was produced by *Tournefortia pubescens* (Boraginaceae). In native/endemic grasses and members of the Cyperaceae family, the silica presence varies from 0.79% to 2.97%.

Typical ash production is between 0.95% and 6.78% of the original mass on introduced grass species, and between 0.10% and 1.23% on introduced woody plants. The absolute highest biogenic content (>6%) has been recorded among introduced members of C3 grasses from the Poaceae family: *Bambusa vulgaris* and *Panicum maximum*; while the lowest silica production (<0.09%) is noticed in members of the Asrestaceae (*Scalesia pedunculata*), Bombaceae (*Ceiba petandra*), Cupressaceae (*Cupressus macrocarpa*), Euphorbiaceae (*Croton scouleri* and *Hippomane mancinella*), Malvaceae (*Gossypium darwinii* and *Miconia robinsoniana*), Mimoseae (*Prosopis juliflora*), Myrtaceae (*Psidium guajava*), and Rubiaceae (*Coffea arabica*).

TABLE 3. Biogenic production of phytoliths from modern plants of San Cristóbal Island.
Key: L= leaves; S= stem; W= wood/bark; F = flowers

Family	Species	Part	Dry mass (g)	Ash (g)	A.I.F. (g)	A.I.F. (%)
Asteraceae	<i>Scalesia pedunculata</i> Hook. f.	L, S	1.976	0.192	0.001	0.051
Bombaceae	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	L, S, W	3.644	0.598	0.001	0.027
Boraginaceae	<i>Tournefortia pubescens</i> Hook. f.	L, S	1.360	0.159	0.041	3.015
	<i>Cordia lutea</i> Lam.	L, S	2.885	0.351	0.007	0.243
	<i>Tournefortia rufo sericea</i> Hook. f.	L, S, W	3.180	0.309	0.004	0.126
Burseraceae	<i>Bursera graveolens</i> (Kunth) Triana & Planch.	L, S, W	3.189	0.170	0.011	0.345
Cupressaceae	<i>Cupressus macrocarpa</i> Hartw.	L, S, W	7.878	0.424	0.001	0.013
Cyperaceae	<i>Rhynchospora nervosa</i> ssp. <i>Ciliate</i> (G. Mey.) T. Koyama	L, F	0.538	0.061	0.002	0.372
	<i>Scleria melaleuca</i> Rchb. Ex Schldt. & Cham.	L, F	2.084	0.393	0.061	2.927
Euphorbiaceae	<i>Aleurites moluccana</i> (L.) Willd.	L, S, W	1.902	0.198	0.002	0.105
	<i>Croton scouleri</i> var. <i>scouleri</i> Hook. f.	L, S	1.753	0.250	0.001	0.057
	<i>Hippomane mancinella</i> L.	L, S, W	4.205	0.410	0.003	0.071
Fabaceae	<i>Piscidia carthagenensis</i> Jacq.	L, S	2.005	0.133	0.003	0.150
Lauraceae	<i>Persea americana</i> Mill.	L, S	2.474	0.099	0.004	0.162
Malvaceae	<i>Gossypium darwinii</i> G. Watt.	L, S, W	3.761	0.351	0.001	0.027
	<i>Miconia robinsoniana</i> Cogn.	L, S, F	4.429	0.198	0.002	0.045
	<i>Miconia robinsoniana</i> Cogn.	L, S, F	2.993	0.246	0.001	0.033
Mimosaceae	<i>Inga insignis</i> Knuth.	W	n/a	n/a	n/a	n/a
	<i>Prosopis juliflora</i> (Sw.)	L, S, W	5.344	0.293	0.026	0.487
Moraceae	<i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.	L, S	3.919	0.856	0.048	1.225
Myrtaceae	<i>Psidium galapageium</i> var. <i>howellii</i> Porter.	L, S	2.710	0.180	0.007	0.258
	<i>Psidium guajava</i> L.	L, S	3.442	0.167	0.001	0.029
	<i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston.	L, S	2.842	0.147	0.023	0.809
Poaceae	<i>Bambusa vulgaris</i> var. <i>vittata</i> Rivière & C. Rivière.	L, S	2.630	0.232	0.175	6.654
Poaceae	<i>Bambusa vulgaris</i> var. <i>vulgaris</i> Schrad ex Wendle.	L, S	1.194	0.146	0.081	6.784
	<i>Brachiaria decumbens</i> Stapf.	L, F	1.404	0.165	0.039	2.778
	<i>Cynodon nlemfuensis</i> Vanderyst.	L	1.744	0.192	0.030	1.720
	<i>Digitaria</i> sp.	L, F	3.521	0.193	0.020	0.568
	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn.	L, F	2.206	0.092	0.021	0.952
	<i>Eragrostis amabilis</i> (L.) Wight & Arn. Ex Nees.	L, F	1.062	0.094	0.041	3.861
	<i>Panicum</i> sp.	L, F	0.985	0.140	0.064	6.497
	<i>Panicum maximum</i> Jacq	L, F	1.371	0.205	0.045	3.282

Family	Species	Part	Dry mass (g)	Ash (g)	A.I.F. (g)	A.I.F. (%)
	<i>Pennisetum purpureum</i> Schum.	L, F	1.640	0.243	0.069	4.207
	<i>Saccharum officinarum</i> L.	L	2.977	0.326	0.095	3.191
	<i>Saccharum officinarum</i> L.	L	3.170	0.437	0.060	1.893
	<i>Saccharum officinarum</i> L.	L	1.861	0.289	0.000	0.000
	<i>Stenotaphrum secundatum</i> (Walter) Kuntze.	L	3.644	0.141	0.029	0.796
Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i> L.	L, S	2.498	0.167	0.001	0.040
	<i>Psychotria rufipes</i> Hook. f.	L, S	2.007	0.162	0.002	0.100
Rutaceae	<i>Citrus paradisi</i> Macfad.	L, S, W	4.110	0.444	0.005	0.122
	<i>Zanthoxylum fagara</i> (L.) Sarg.	L, S, W	1.878	0.164	0.005	0.266
	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	W	n/a	n/a	n/a	n/a
Solanaceae	<i>Solanum cheesmaniae</i> f. <i>cheesmaniae</i> (Riley) Fosberg	L, S	0.961	0.172	0.001	0.104
Urticaceae	<i>Laportea aestuans</i> (L.) Chew	L, S	0.496	0.118	0.007	1.411
	<i>Laportea aestuans</i> (L.) Chew.	L, S	0.742	0.204	0.012	1.617

Phytoliths in Modern Plant Taxa. San Cristóbal Island, Galápagos

4.1 Asteraceae. *Scalesia pedunculata* Hook. f.

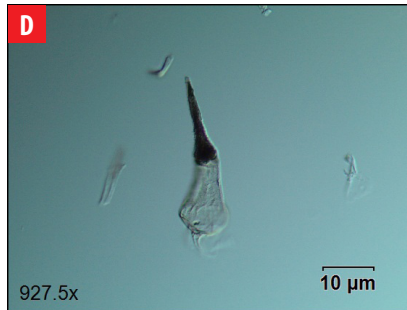
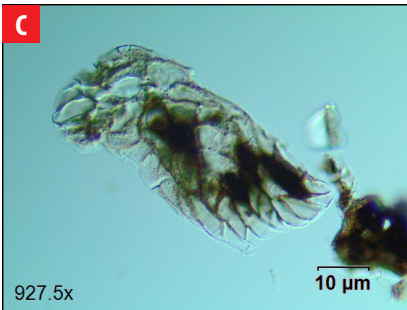
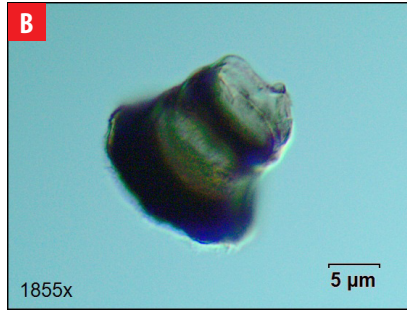
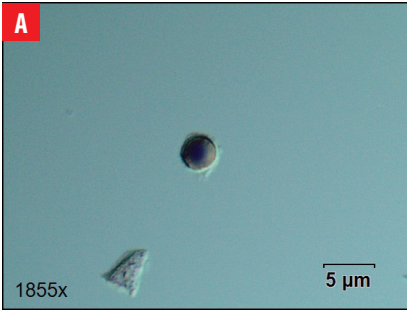
Common name: Scalesia / Lechoso

Origin: Endemic

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: (A) Globular sinuate; (B) hair base; (C) mesophyll epidermal phytoliths; (D) orbicular hair cell



4.2 Bombaceae. *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.

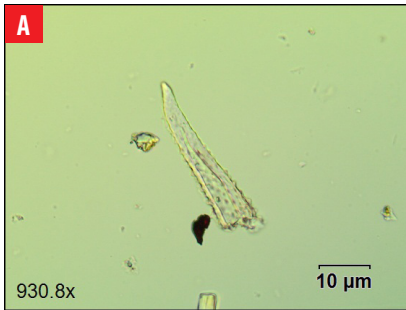
Common name: Silk cotton tree / Ceibo

Origin: Introduced (Cultivated)

Part Processed: Leaf, stem, wood

Density: Low

Morphotypes: (A) Clavate columellate hair cell; (B) acicular hair cell; (C) globular phytolith



4.3 Boraginaceae. *Tournefortia pubescens* Hook. f.

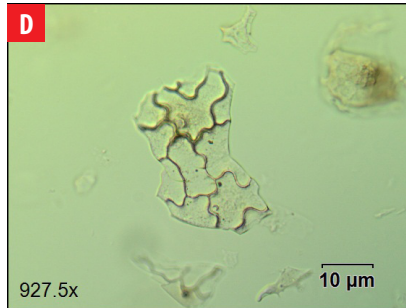
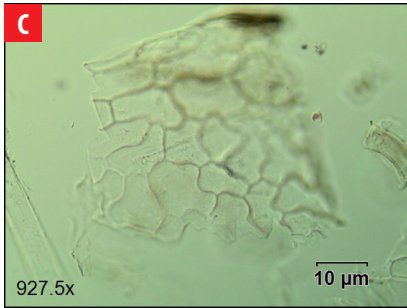
Common name: White haired tournefortia / Lengua de Vaca

Origin: Endemic

Part Processed: Leaf, stem

Density: High

Morphotypes: (A) Cylindrical striate long cell; (B) hair base; (C & D) polyhedral epidermal phytoliths





4.4 Boraginaceae. *Cordia lutea* Lam.

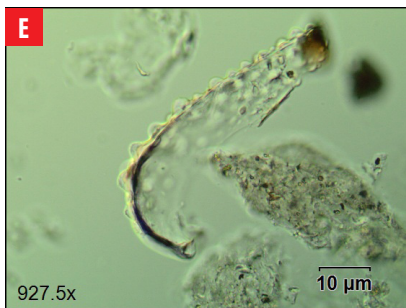
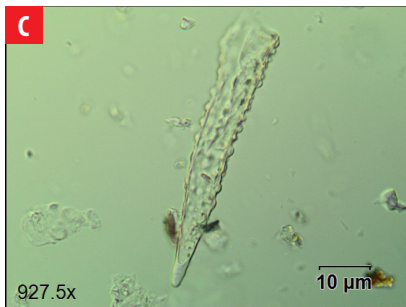
Common name: Yellow cordia / Muyuyo

Origin: Native (Indigenous taxon)

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: (A-E) Clavate columellate hair cell; (F) stellate bulliform cell



4.5 Boraginaceae. *Tournefortia rufo sericea* Hook. f.

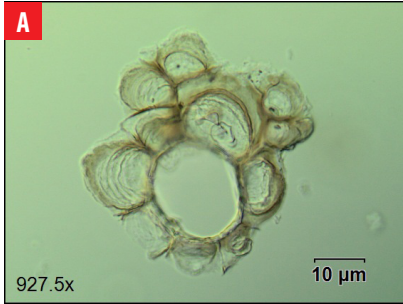
Common name: Red haired tournefortia / Palito Negro

Origin: Endemic

Part Processed: Leaf, stem, wood

Density: Low

Morphotypes: Hair base



4.6 Burseraceae. *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch.

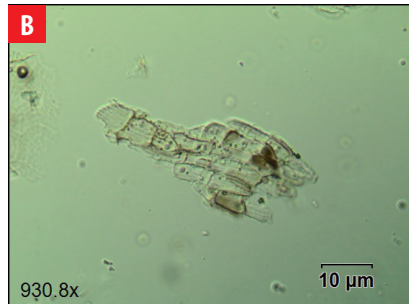
Common name: Incense tree / Palo Santo

Origin: Native (Indigenous taxon)

Part Processed: Leaf, stem, wood

Density: Low

Morphotypes: Mesophyll epidermal phytoliths





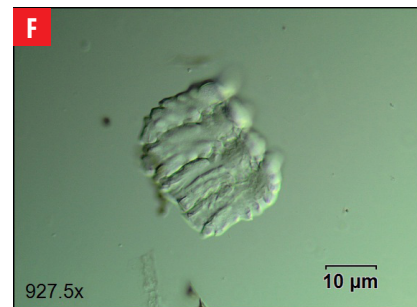
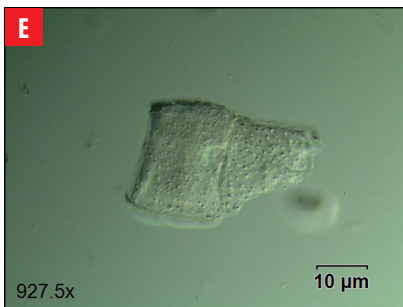
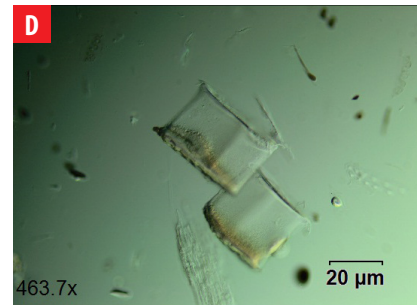
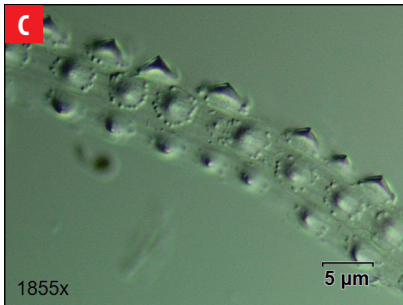
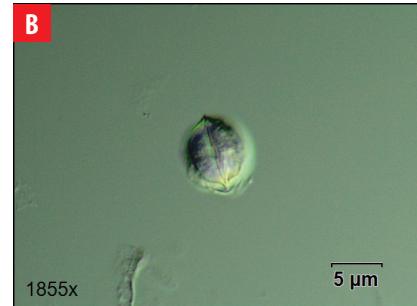
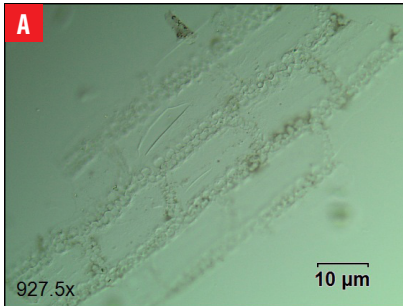
4.7 Cyperaceae. *Rhynchospora nervosa* ssp. *Ciliate* (G. Mey.) T. Koyama

Origin: Native (Indigenous taxon)

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: (A) Glume phytoliths; (B) globular phytoliths; (C) papillae cell; (D) parallepipedal bulliform cell; (E) parallepipedal granulate bulliform cell; (F) polyhedral epidermal phytoliths



4.8 Cyperaceae. *Scleria melaleuca* Rchb. Ex Schldl. & Cham.

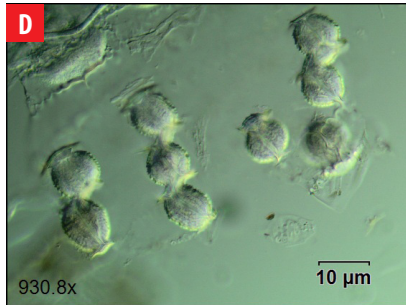
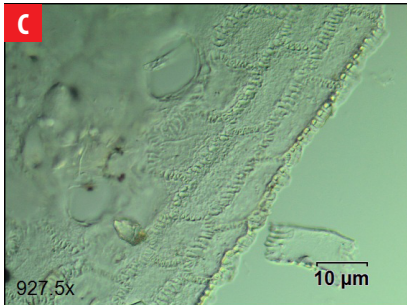
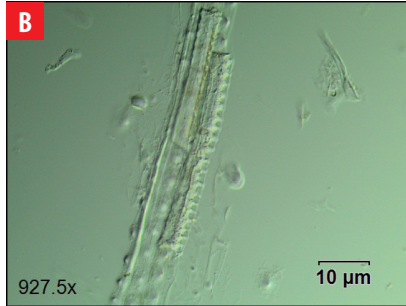
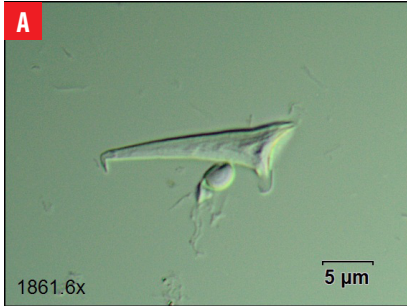
Common name: Cortadera

Origin: Native (Indigenous taxon)

Part Processed: Leaf, stem

Density: High

Morphotypes: (A) Acicular equal prickles; (B) elongate echinate long cell; (C) epidermal phytoliths; (D) ovate phytoliths; (E & F) papillae cells





4.9 Euphorbiaceae. *Aleurites moluccana* (L.) Willd.

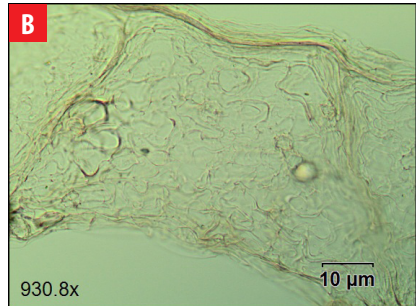
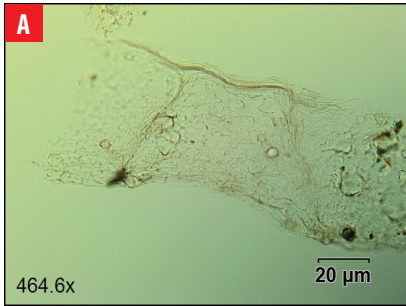
Common name: Candlenut / Tocte

Origin: Introduced (Cultivated)

Part Processed: Leaf, stem, wood

Density: Low

Morphotypes: Mesophyll epidermal phytoliths



4.10 Euphorbiaceae. *Hippomane mancinella* L.

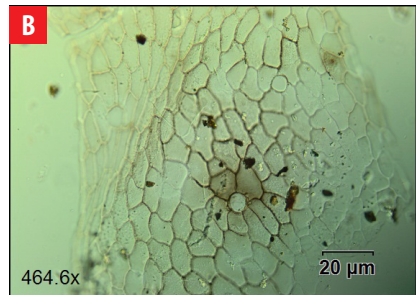
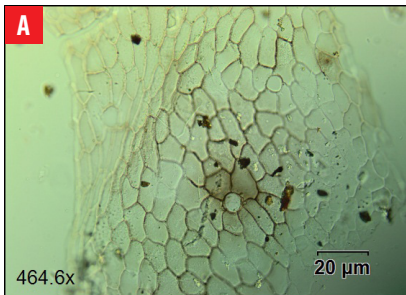
Common name: Poison apple / Manzanillo

Origin: Native (Indigenous taxon)

Part Processed: Leaf, stem, wood

Density: Low

Morphotypes: Mesophyll epidermal phytoliths



4.11 Fabaceae. *Piscidia carthagenensis* Jacq.

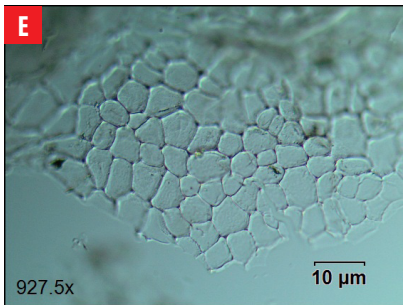
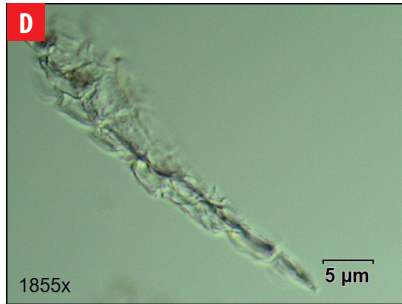
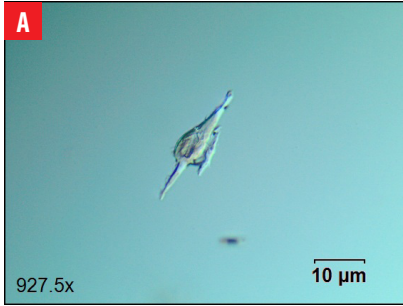
Common name: Piscidia/ Matazarno

Origin: Native (Indigenous taxon)

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: (A) Fusiform equal; (B) globular sinuate; (C) hair base; (D) irregular equal; (E) mesophyll phytoliths; (F) polyhedral phytoliths





4.12 Lauraceae. *Persea americana* Mill.

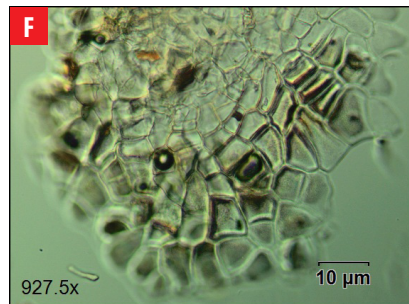
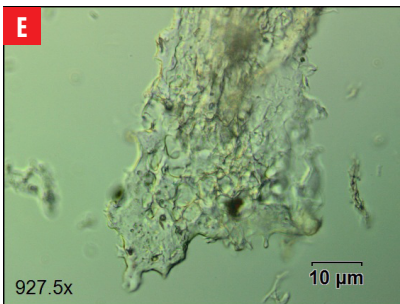
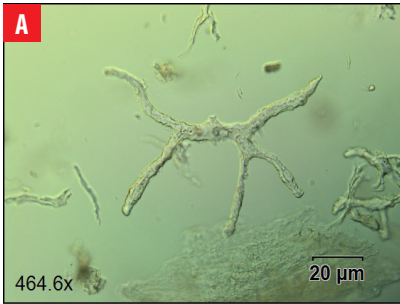
Common name: Avocado / Aguacate

Origin: Introduced (Cultivated)

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: (A) Cylindrical sulcate tracheid; (B – D) globular sinuate phytoliths; (E & F) mesophyll epidermal phytoliths



4.13 Malvaceae. *Gossypium darwinii* G. Watt.

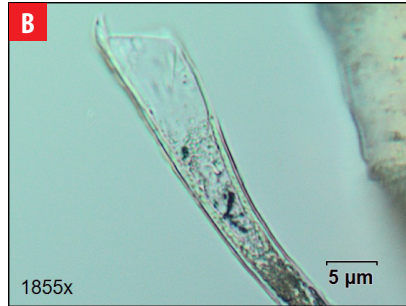
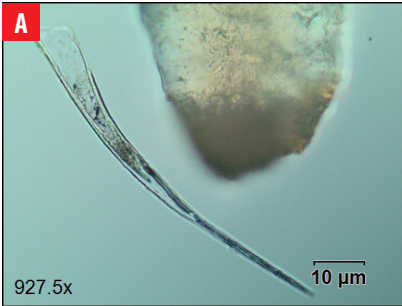
Common name: Galápagos Cotton / Algodón de Galápagos

Origin: Endemic

Part Processed: Leaf, stem, wood

Density: Low

Morphotypes: Acicular hair cell



4.14 Malvaceae. *Miconia robinsoniana* Cogn.

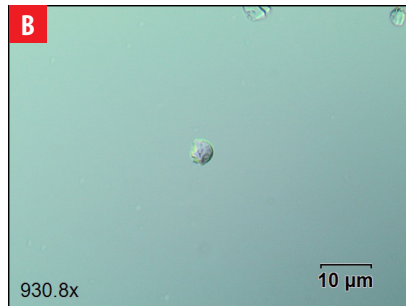
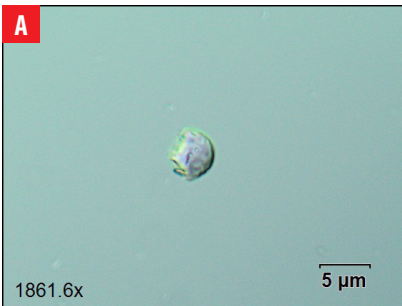
Common name: Miconia

Origin: Endemic

Part Processed: Leaf, stem, flowers

Density: Low

Morphotypes: Globular pisclate phytoliths from flowers





4.15 Moraceae. *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

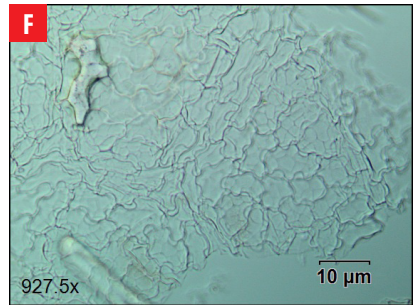
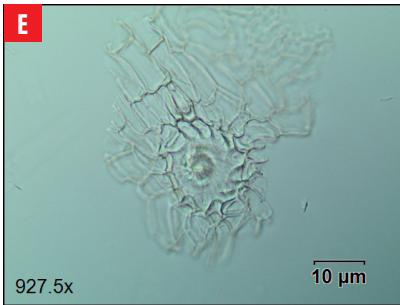
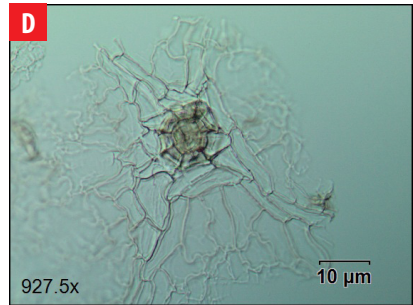
Common name: Breadfruit / Frutipan

Origin: Introduced (Cultivated)

Part Processed: Leaf and stem

Density: High

Morphotypes: (A) Acicular columellate hair cell; (B) acicular hair cell; (C) cylindrical sulcate tracheid; (D & E) hair base; (F) mesophyll epidermal phytoliths



4.16 Myrtaceae. *Psidium galapageium* var. *howellii* Porter

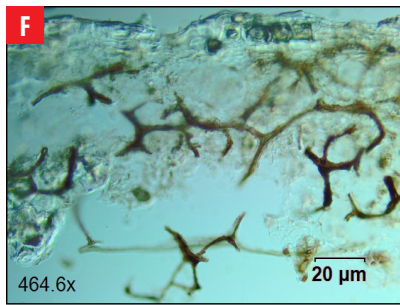
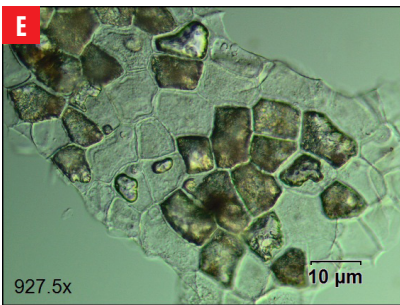
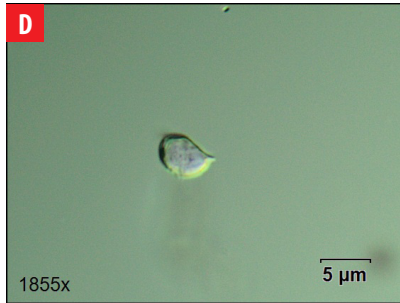
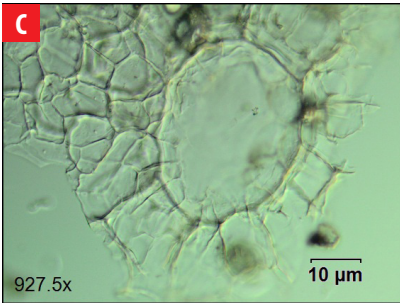
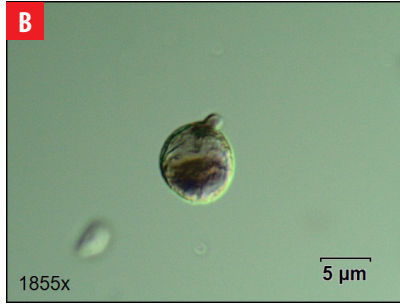
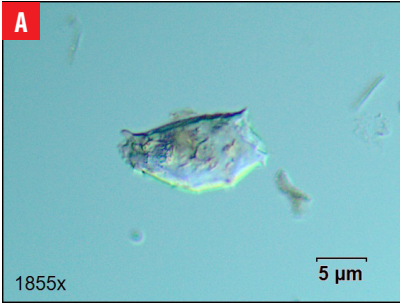
Common name: Guayabillo/ Galápagos guava

Origin: Endemic

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: (A) Elliptical rugulate; (B) globular sinuate; (C) hair base; (D) ovate equal; (E) polyhedral phytoliths; (F) stellate linear





4.17 Myrtaceae. *Syzygium jambos* (L.) Alston.

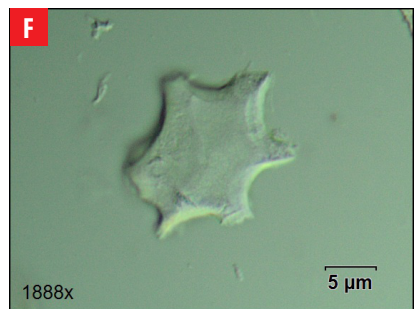
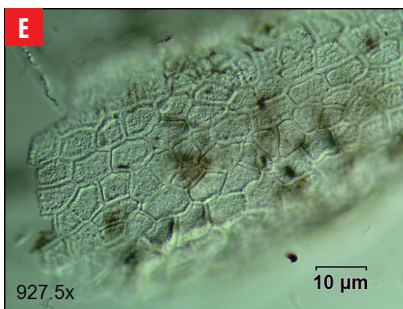
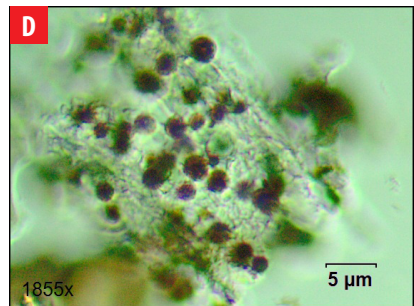
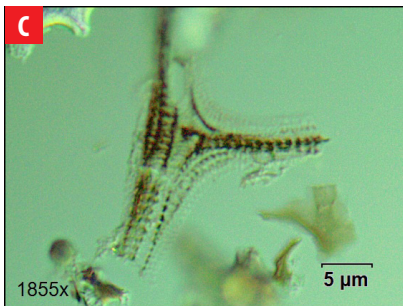
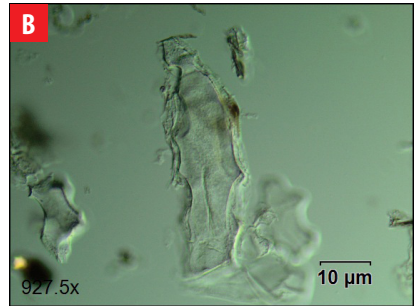
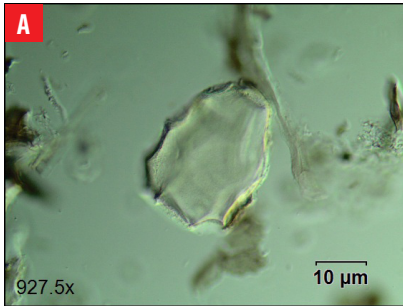
Common name: Plum rose / Pomarosa

Origin: Introduced (Escaped)

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: (A) Carinate facetate bulliform; (B) clavate facetate; (C) cylindric sulcate tracheid; (D) globular sinuate; (E) polyhedral phytoliths; (F) stellate psilate bulliform cell



4.18 Myrtaceae. *Psidium guajava* L.

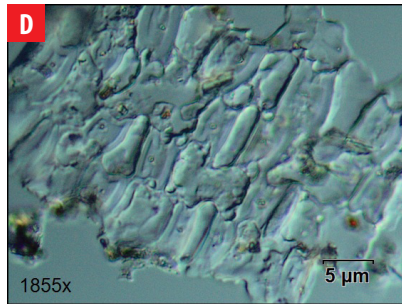
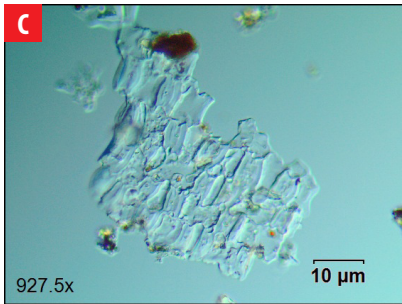
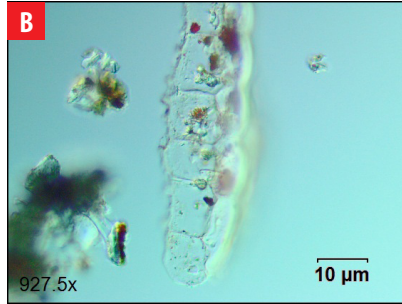
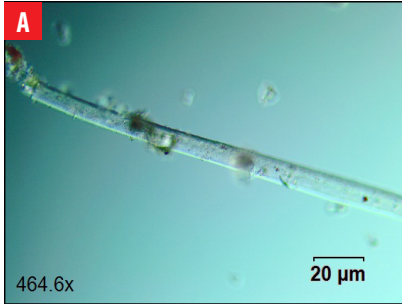
Common name: Common guava / Guayaba

Origin: Introduced (Cultivated)

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: (A) Elongate cylindrical; (B – D) polyhedral phytoliths



4.19 Poaceae. *Bambusa vulgaris* var. *vittata* Rivière & C. Rivière

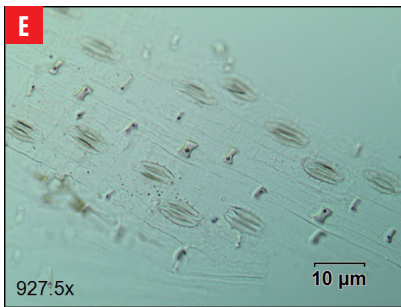
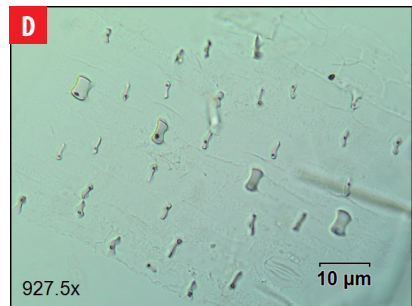
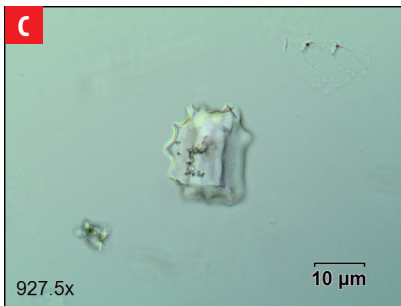
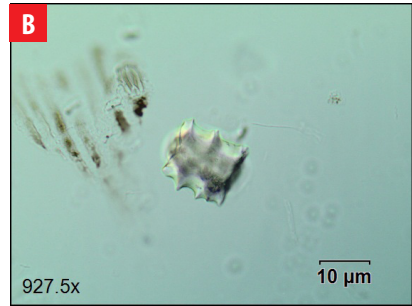
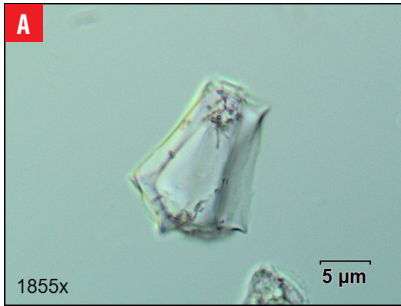
Common name: Bamboo

Origin: Introduced (Cultivated)

Part Processed: Leaf, stem

Density: High

Morphotypes: (A) Cuneiform bulliform cell; (B & C) parallelepipedal bulliform cell; (D) saddle epidermal short cells; (E) saddle short cell and stomatal phytoliths



4.20 Poaceae. *Bambusa vulgaris* var. *vulgaris* Schrad ex Wendle

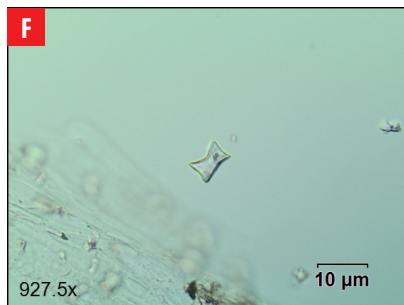
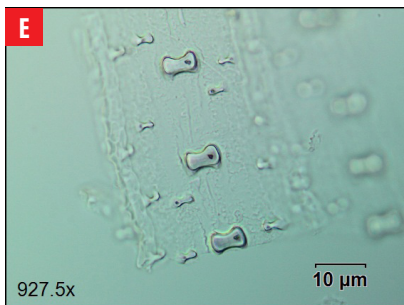
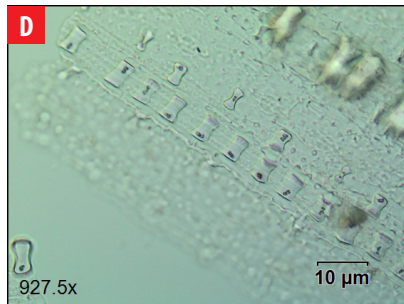
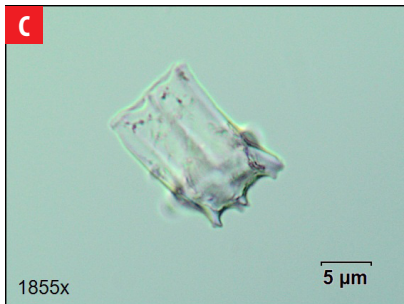
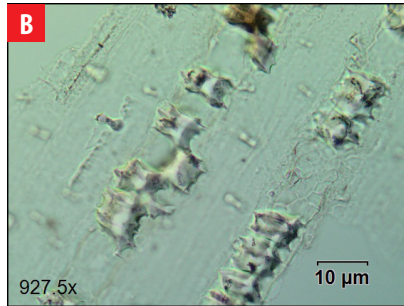
Common name: Bamboo / Caña verde, Caña Guadua

Origin: Introduced (Cultivated)

Part Processed: Leaf, stem

Density: High

Morphotypes: (A) Cuneiform bulliform cell; (B & C) parallelepipedal bulliform cell; (D – F) saddle epidermal short cells





4.21 Poaceae. *Brachiaria decumbens* Stapf.

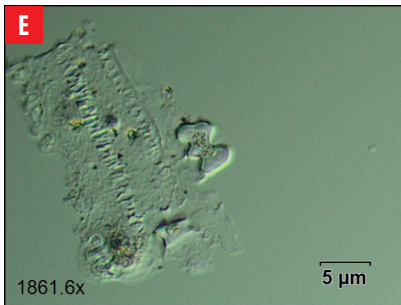
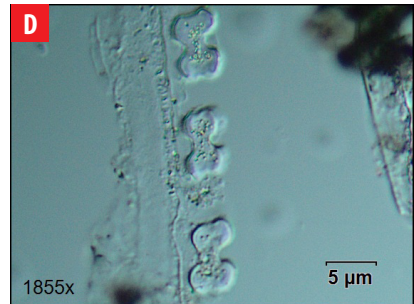
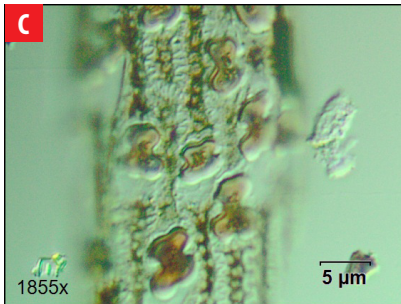
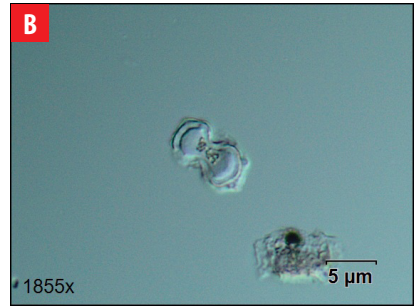
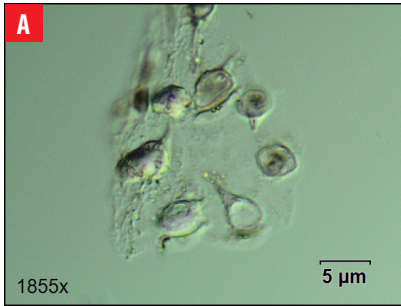
Common name: Signalgrass / Pasto Brachiaria

Origin: Introduced (Escaped)

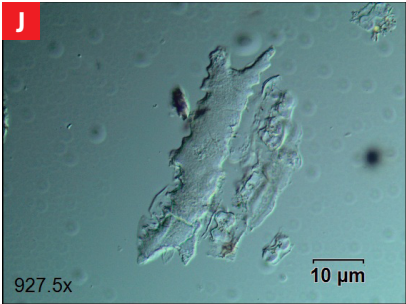
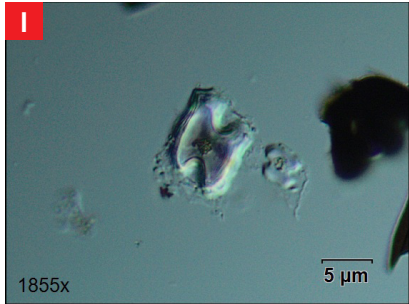
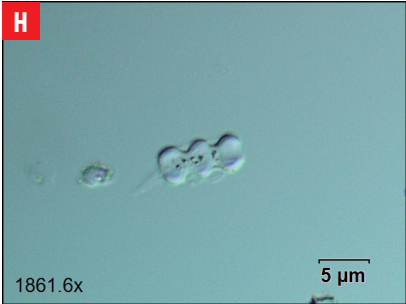
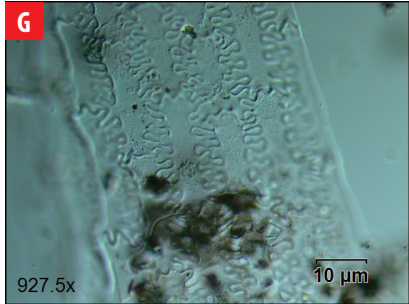
Part Processed: Leaf, flowers

Density: High

Morphotypes: (A) Scutiform lanceolate; (B – E) variants of bilobate concave outer margins short shaft; (F) cuneiform bulliform cell



Morphotypes continued: (G) Glume phytoliths; (H) polylobate epidermal short cell; (I) saddle short cell; (J) stomatal phytoliths,



4.22 Poaceae. *Cynodon nlemfuensis* Vanderyst.

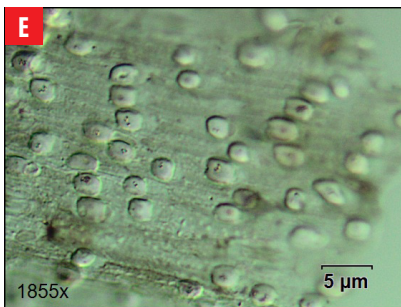
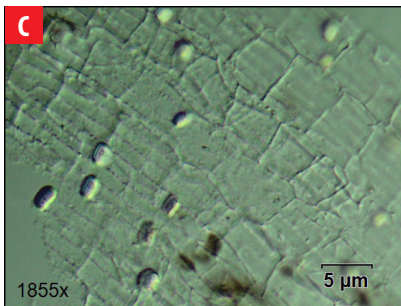
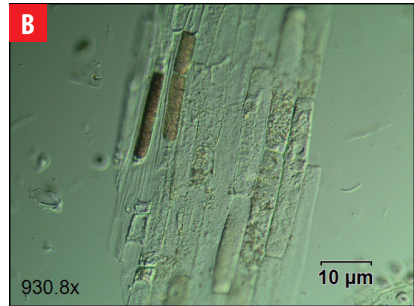
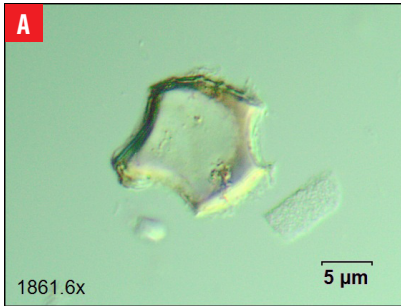
Common name: African bermudagrass / Pasto Estrella

Origin: Introduced (Accidentally)

Part Processed: Leaf

Density: High

Morphotypes: (A) Cuneiform bulliform cell; (B) elongate cylindrical psilate; (C) polyhedral epidermal phytoliths; (D & E) saddle epidermal short cell



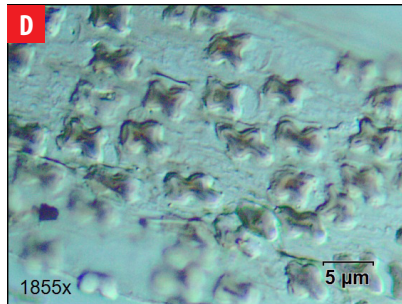
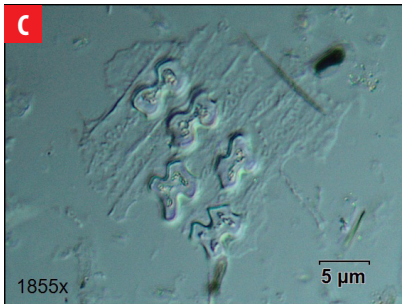
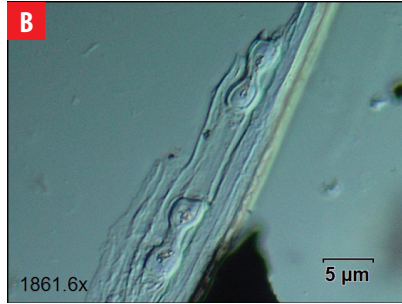
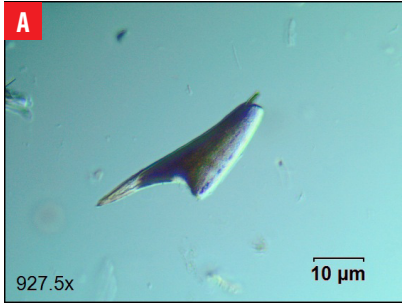
4.23 Poaceae. *Digitaria* sp.

Origin: Introduced (Accidentally)

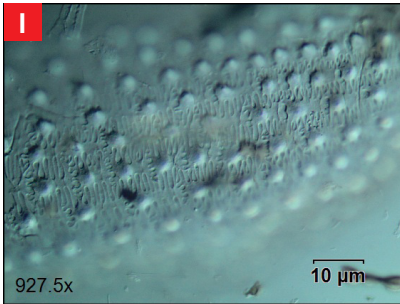
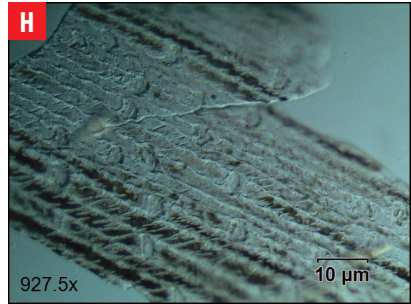
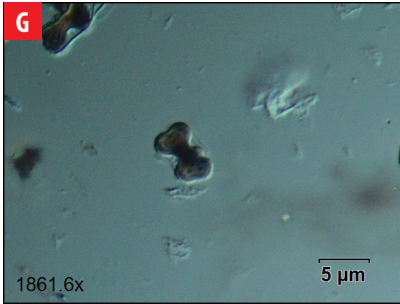
Part Processed: Leaf, flower

Density: High

Morphotypes: (A) Scutiform lanceolate; (B) bilobate concave outer margins long shaft; (C – F) variants of bilobate concave outer margins short shaft



Morphotypes continued: (G) Bilobate concave outer margins short shaft; (H) epidermal aggregation; (I) papillae cells.



4.24 Poaceae. cf. *Eleusine indica* (L.) Gaertn.

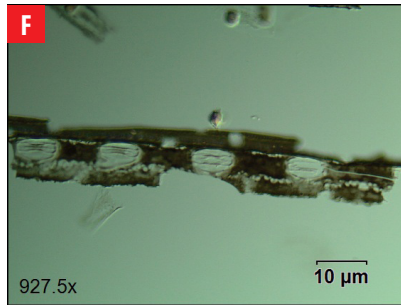
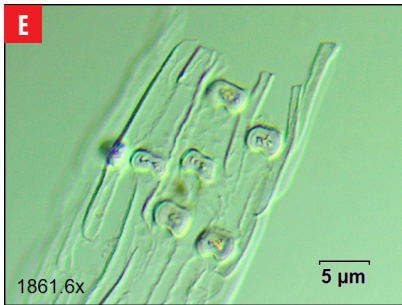
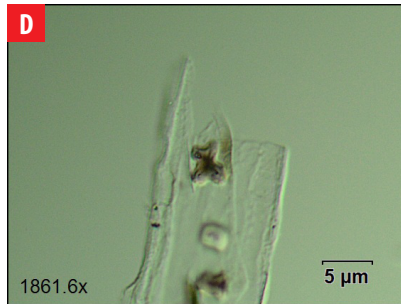
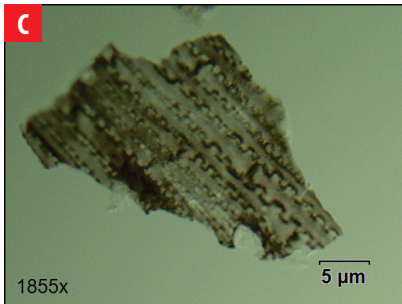
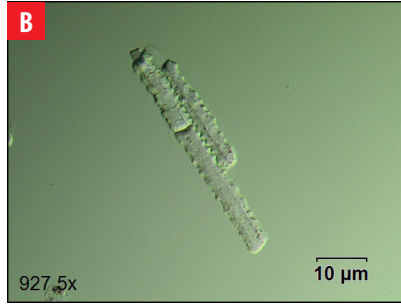
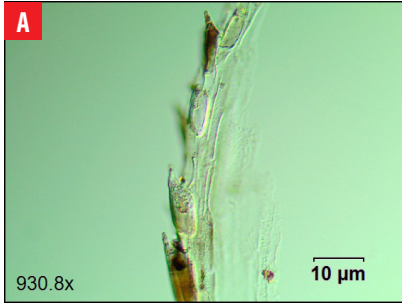
Common name: Crowfoot grass

Origin: Introduced (Accidental)

Part Processed: Leaf, flower

Density: High

Morphotypes: (A) Scutiform lanceolate; (B) elongate echinate long cell; (C) epidermal tissue; (D) quadra-lobate short cell; (E) saddle epidermal short cell; (F) stomatal phytoliths





4.25 Poaceae. *Eragrostis amabilis* (L.) Wight & Arn. ex Nees

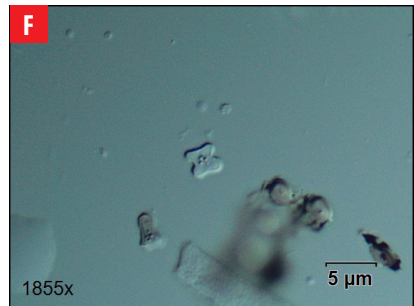
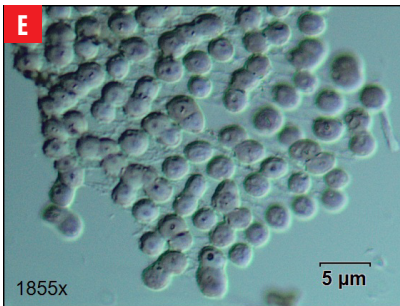
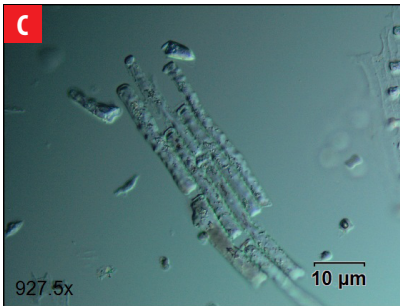
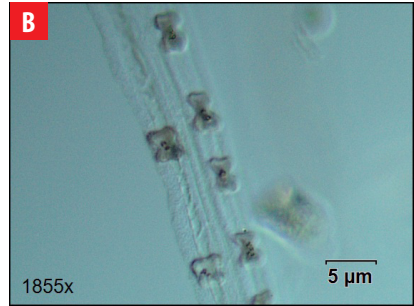
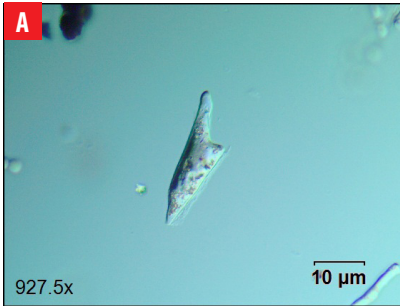
Common name: Japanese love-grass / Capim plumoso

Origin: Introduced (Accidental)

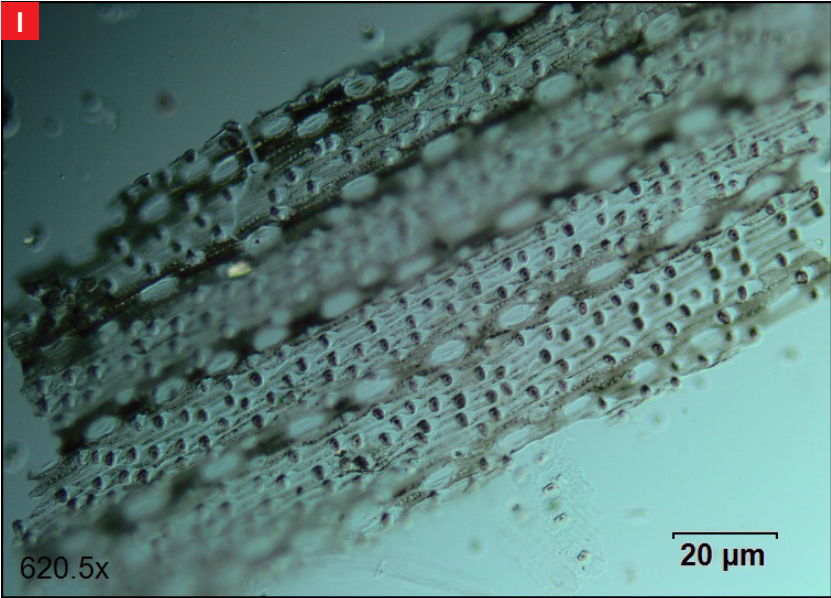
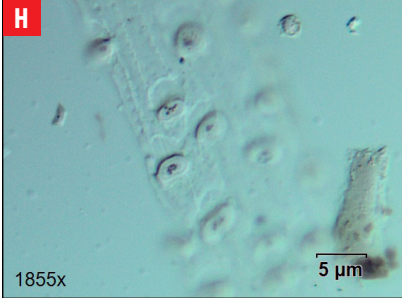
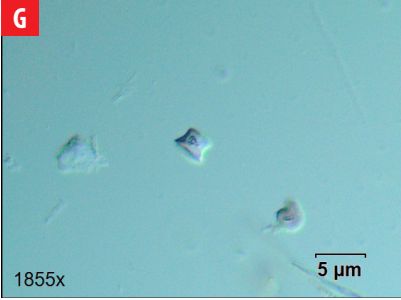
Part Processed: Leaf, flower

Density: High

Morphotypes: (A) Scutiform lanceolate; (B) bilobate concave outer margins short shaft; (C) elongate echinate long cell; (D) parallepipetal bulliform cell; (E) polylobate epidermal short cell; (F) quadra-lobate epidermal short cell



Morphotypes continued: (G) rondel tall pyramidal ovate top; (H) collapsed saddle; (I) stomatal and rondel short cells





4.26 Poaceae. *Panicum* sp.

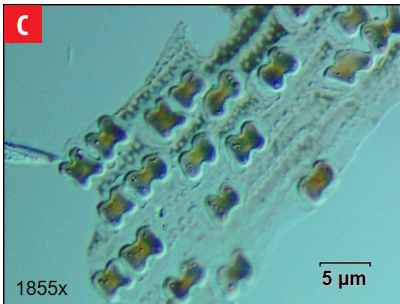
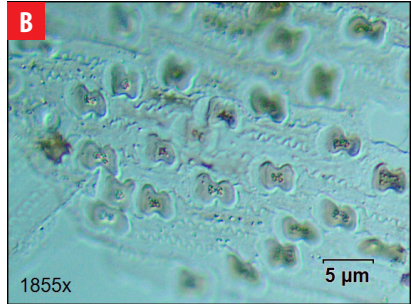
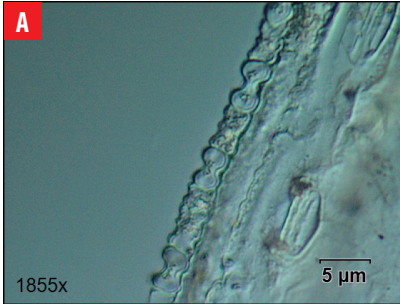
Common name: Guinea grass / Pasto Sabolla

Origin: Introduced (Escaped)

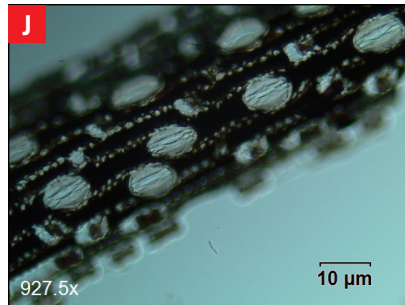
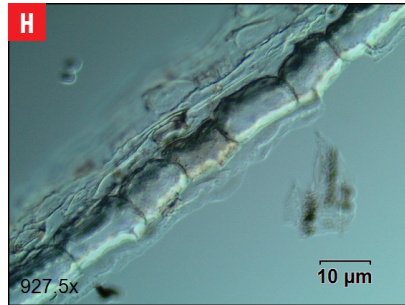
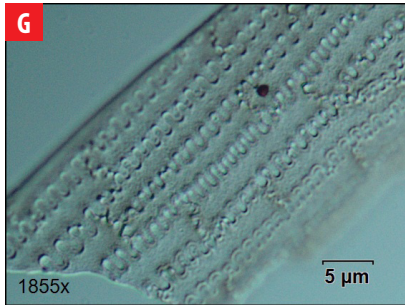
Part Processed: Leaf, flower

Density: High

Morphotypes: (A-E) variants of bilobate concave outer margin short shaft; (F) cuneiform bulliform cell.



Morphotypes continued: (G) glume phytoliths; (H) parallelepipedal billuform cell; (I) polylobate epidermal short cell; (J) stomate phytoliths.





4.27 Poaceae. *Panicum maximum* Jacq.

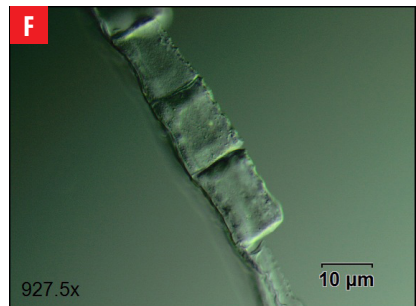
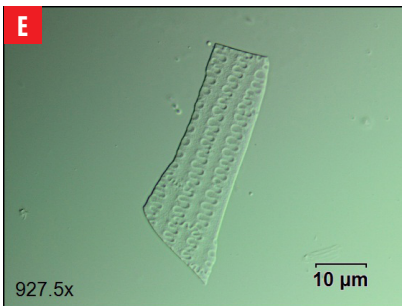
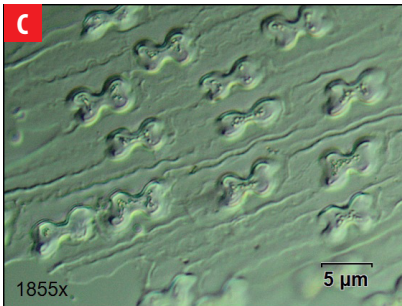
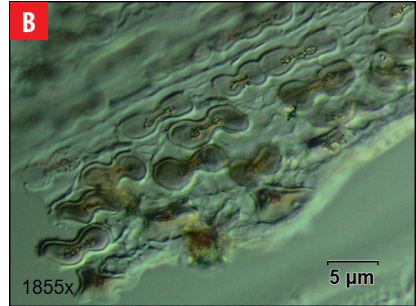
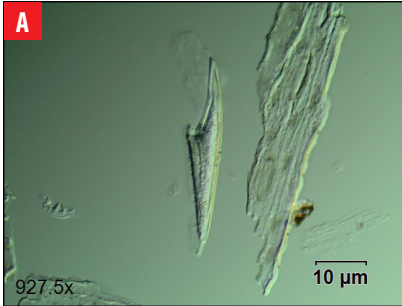
Common name: Guinea grass / Pasto Tanzania

Origin: Introduced (Escaped)

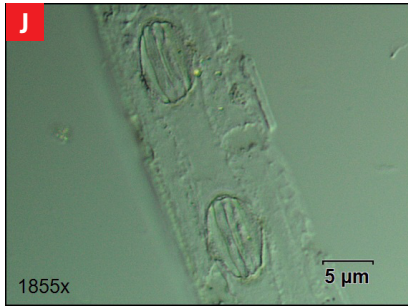
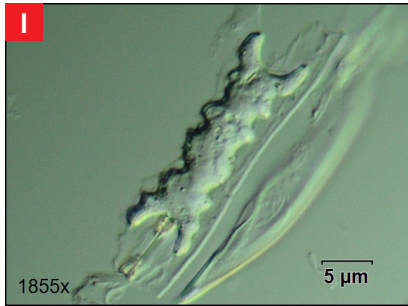
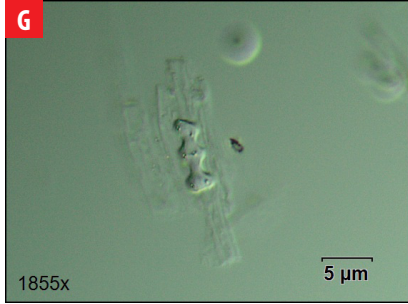
Part Processed: Leaf, flower

Density: High

Morphotypes: (A) Acicular hair cell; (B-D) variants of bilobate concave outer margins short shaft; (E) glume phytoliths; (F) parallelepipedal bulliform cell



Morphotypes continued: (G) Polylobate epidermal short cell; (H) quadra-lobate epidermal short cell; (I & J) stomate phytoliths.





4.28 Poaceae. *Pennisetum purpureum* Schum.

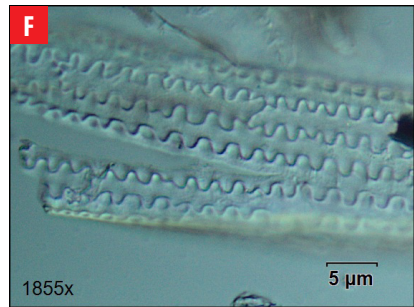
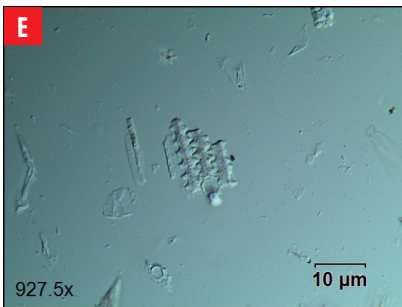
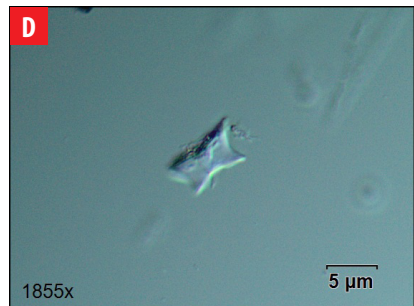
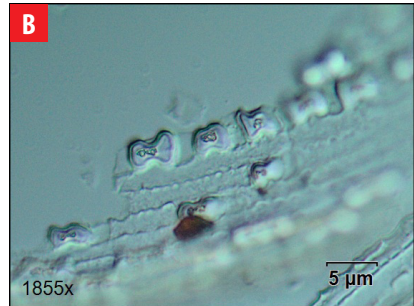
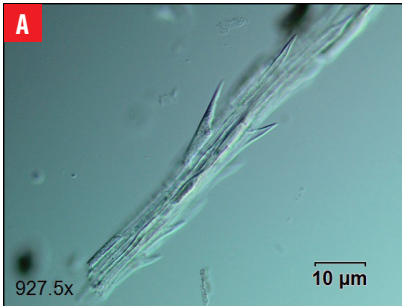
Common name: Elephant grass / Pasto elefante

Origin: Introduced (Escaped)

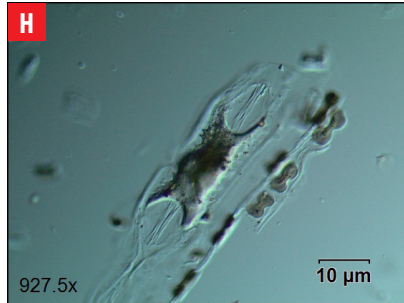
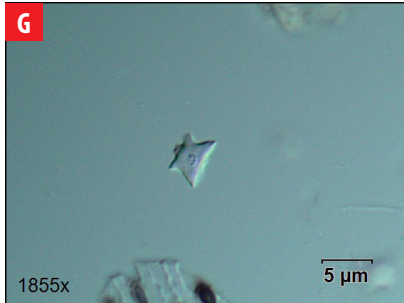
Part Processed: Leaf, flower

Density: High

Morphotypes: (A) Scutiform lanceolate; (B & C) variants of bilobate concave outer margin short shaft; (D) collapsed saddle; (E) elongate echinate; (F) glume phytoliths



Morphotypes continued: (G) Rondel tall pyramidal ovate top; (H) stomatal phytoliths





4.29 Poaceae. *Saccharum officinarum* L.

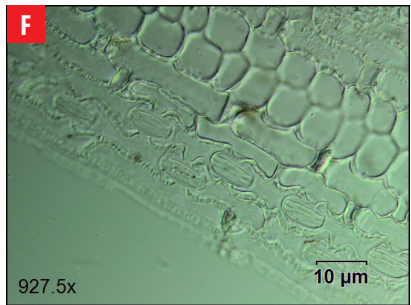
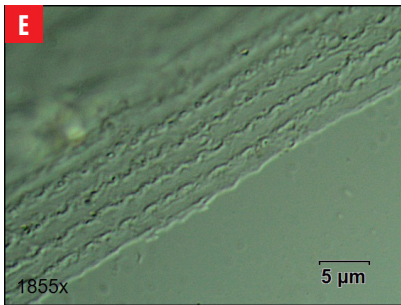
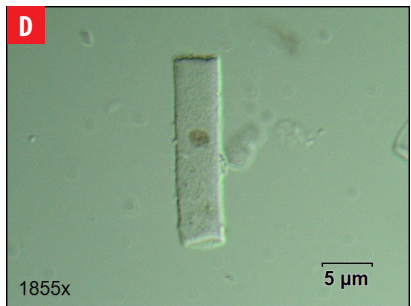
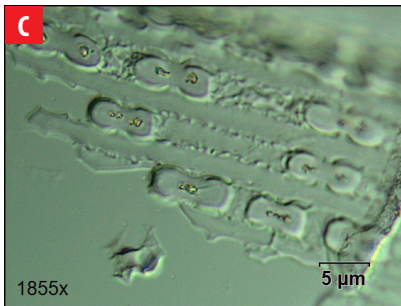
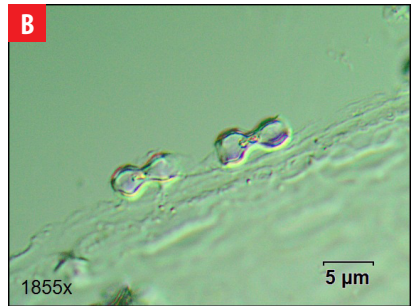
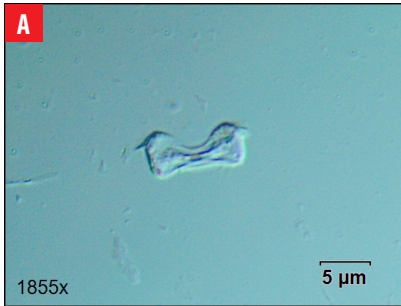
Common name: Sugarcane / Caña de Azúcar

Origin: Introduced (Cultivated)

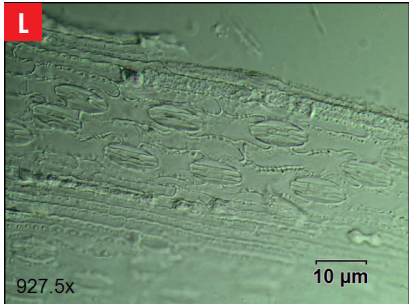
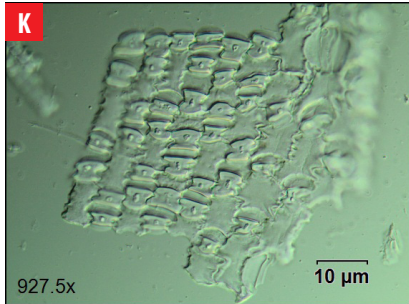
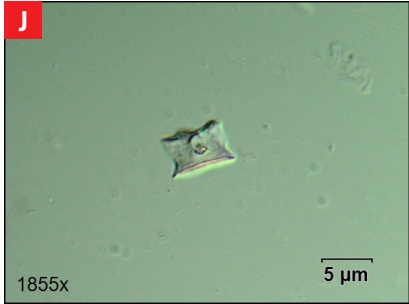
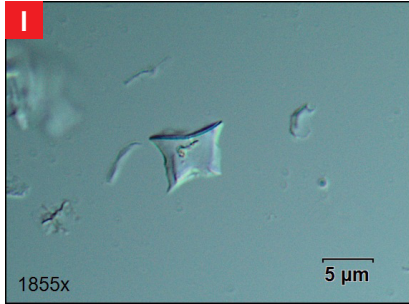
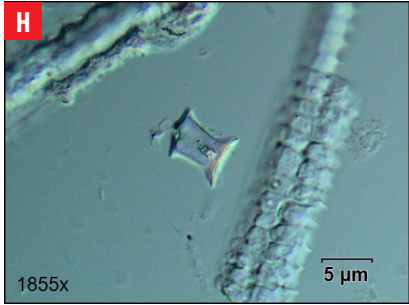
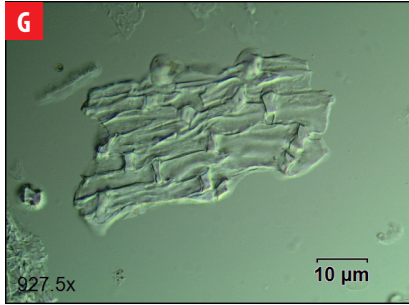
Part Processed: Leaf

Density: High

Morphotypes: (A-C) Variants of bilobate concave outer margin short shaft; (D) elongate cylindrical psilate; (E) glum phytoliths; (F) mesophyll & stomatal phytoliths



Morphotypes continued: (G) Polyhedral phytoliths; (H) rondel tall narrow flat top; (I) rondel tall pyramidal ovate top; (J) rondel wavy-top; (K) saddle phytoliths; (L) stomate phytoliths



4.30 Poaceae. *Stenotaphrum secundatum* (Walter) Kuntze

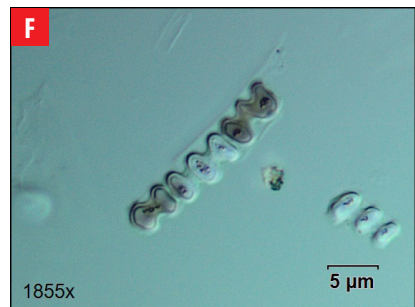
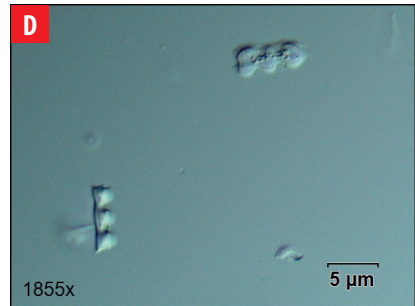
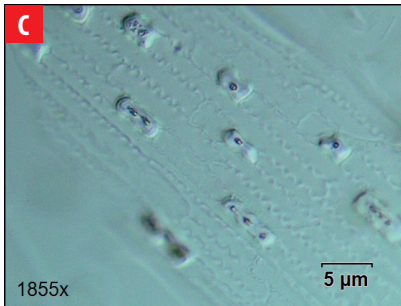
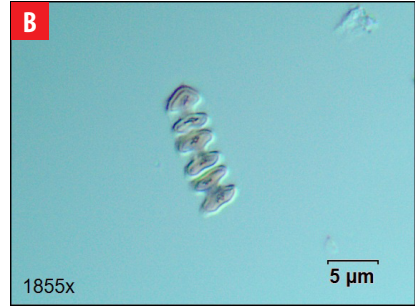
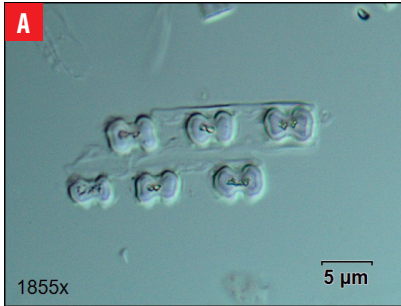
Common name: Buffalo grass.

Origin: Native

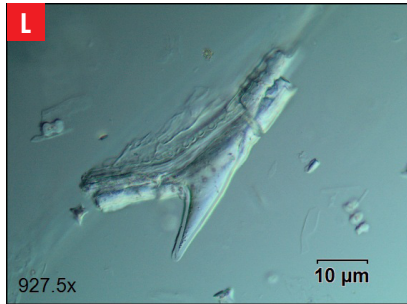
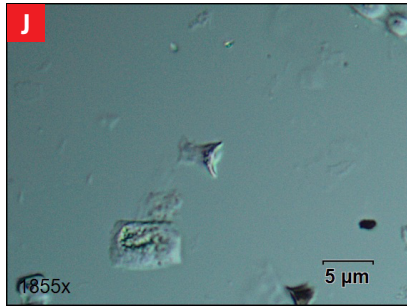
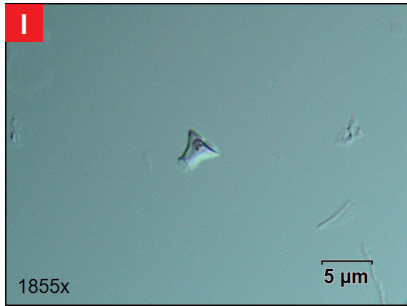
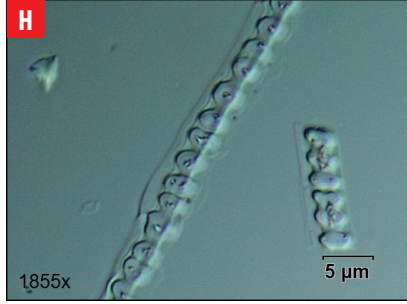
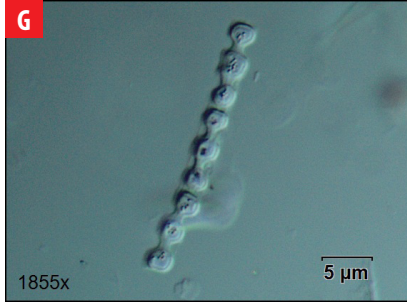
Part Processed: Leaf, stem

Density: High

Morphotypes: (A & B) Bilobate concave outer margins short shaft; (C-F) variants of polylobate epidermal short cell.



Morphotypes continued: (G & H) Polylobate epidermal short cell; (I & J) rondel tall narrow flat top; (K) rondel tall pyramidal ovate top; (L) scutiform lanceolate



4.31 Rubiaceae. *Coffea Arabica* L.

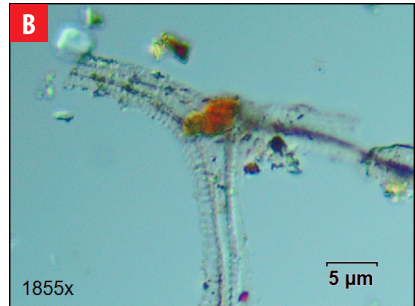
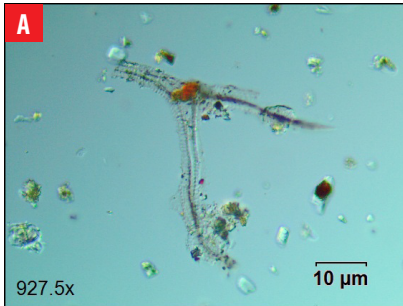
Common name: Coffee / Café

Origin: Introduced (Cultivated)

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: Cylindrical sulcate tracheid phytoliths



4.32 Rutaceae. *Citrus paradisi* Macfad.

Common name: Grapefruit / Toronja

Origin: Introduced (Cultivated)

Part Processed: Leaf, stem, wood

Density: Low

Morphotypes: (A) Globular phytolith; (B) trapeziform epidermal phytolith



4.33 Rutaceae. *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg.

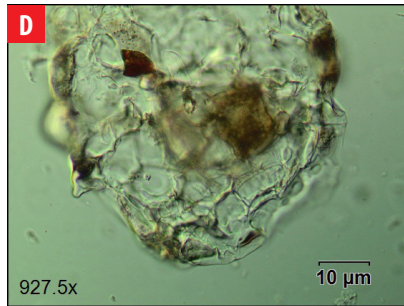
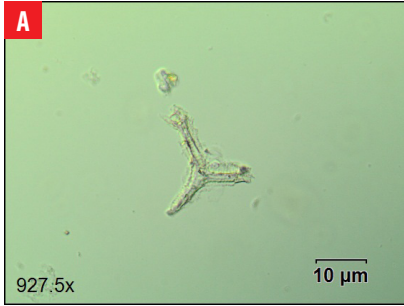
Common name: Cat's claw / Uña de Gato

Origin: Native

Part Processed: Leaf, stem, wood

Density: Low

Morphotypes: (A) Cylindrical sulcate tracheid; (B & C) hair base; (D) mesophyll epidermal phytoliths



4.34 Solanaceae. *Solanum cheesmaniae* f. *cheesmaniae* (Riley) Fosberg.

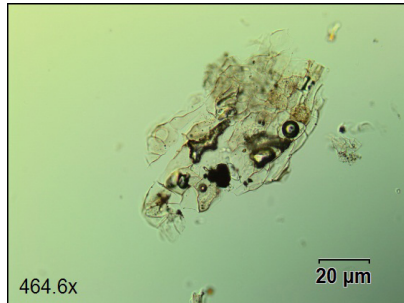
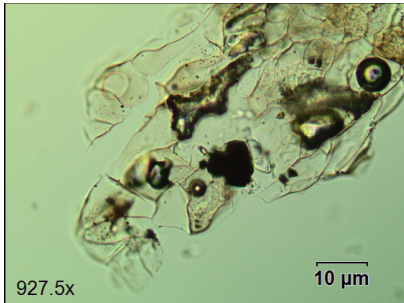
Common name: Galápagos tomato / Tomatillo

Origin: Endemic

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: Mesophyll epidermal phytoliths



4.35 Urticaceae. *Laportea aestuans* (L.) Chew

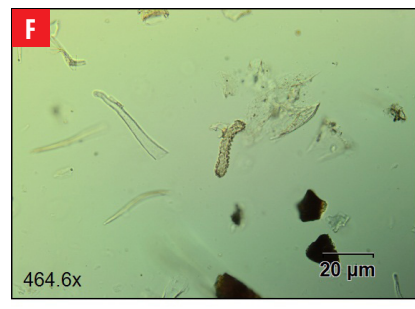
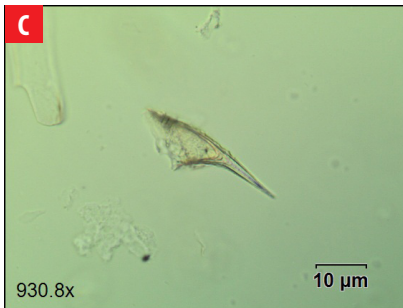
Common name: West Indian woodnettle / Ortiga.

Origin: Native (Indigenous taxon)

Part Processed: Leaf, stem

Density: Low

Morphotypes: (A-C) Acicular hair cell; (D) hair base; (E & F) oblong columellate epidermal cell.



DISCUSSION

The analysis of phytoliths extracted from modern plants of San Cristóbal does not show significant numbers of diagnostic morphotypes in native and endemic plant species but confirms that grasses are high producers of diagnostic phytoliths. The comparative collection presented here was limited to detecting the production of phytoliths in useful plants for humans such as trees and shrubs, which are generally low producers of diagnostic phytoliths. Further work will contribute to understanding the complete spectrum of phytolith production in the native and endemic vegetation of the island.

The results of this work, however, contributed in suggesting that the introduction of the several species of grasses existing on San Cristóbal today happened with human colonization and the start of intensive agriculture associated with El Progreso plantation. Vegetation clearing and expansion of grasslands were probably executed to sustain grazing activities that were an important economic aspect of the plantation enterprise [22, 52, 53]. The results presented here support the premise that the landscape around the modern village of El Progreso is an anthropogenic landscape resulting from about two centuries of continual agriculture and grazing that started in the 1860s [52]. The modern vegetation of the Agricultural Zone of San Cristóbal Island is a result of vegetation clearing, the introduction of plants and animals, episodes of abandonment of the landscape, and the adaptation of new plant species.

In this regard, Historical Ecology has proved to be a useful framework to investigate aspects of the human history of San Cristóbal Island. Current botanical and palaeoecological research in the Galápagos focuses on understanding the effects of introduced plants and animals on the local ecology in order to reduce its effects. However, it is also important to recognize the historical and political context of the time when these plants were introduced to the archipelago. It is crucial to understand the socio-political context of colonization during the middle 19th century to identify the history of invasive plant species on the archipelago. Most of the existing naturalized plants were intentionally introduced to the Galápagos by colonizers to maintain dietary patterns and cultural traditions [53]. People traveled with known plant species carrying a pre-conceived meaning and use of these species. Other plant taxa were transported to support agriculture and grazing aspects of the plantation enterprise, and some invasive plants traveled with pests or domestic animals. It is necessary, then, to identify the cultural associations between plants and humans during colonization of insular regions.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was conducted with permits from the Galápagos National Park N° PC-93-14 and N° PC-61-15; National Institute of Cultural Heritage of Ecuador (INPC) N° 006-2014 and N° 004-DR4-INPC-2015. Export of soil samples and dried plant material was conducted with the Authorization No.10, INPC'BC'EC'00705. The research was funded by the Government of Ecuador/SENESCYT with a scholarship for doctoral studies to Fernando Astudillo (Beca Convocatoria Abierta 2012 II Fase); a SSHRC Partnership Development Grant No. 890-2013-0013; and the Department of Archaeology of Simon Fraser University (SFU).



This multidisciplinary project was a collaborative research effort between the Department of Archaeology at Simon Fraser University (Canada), the Department of Anthropology at University of Victoria (Canada), the School of Social Sciences and Humanities of San Francisco de Quito University (Ecuador), the Galápagos Academic Institute for the Arts and Science (GAIAS), and the Galápagos Science Centre (USFQ/ University of North Carolina Chapel Hill). I am grateful to Dr. Carlos Mena, MA. Juan Pablo Muñoz, Ing. Leandro Vaca, and Ing. Luis Tasipanta at the Galápagos Science Centre; Dr. Catherine D'Andrea, Shannon Wood, and Peter Locher at SFU; and to all the people of El Progreso, especially Paulina Cango, Edy Becerra, and Jeffres Malaga.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The author was in charge of the conceptualization, formal analysis, investigation, methodology, resources, visualization, and writing of this paper.

REFERENCES

- [1] Bungartz, F., Herrera, H., Jaramillo, P., Tirado, N., Jiménez-Uzcátegui, G., Ruiz, D., . . . Ziemmeck, F. (Eds.). (2009). *Charles Darwin Foundation Galapagos Species Checklist - Lista de Especies de Galápagos de la Fundación Charles Darwin*. Puerto Ayora: Charles Darwin Foundation. Retrieved from <http://www.darwinfoundation.org/datazone/checklists/>
- [2] Guézou, A., Chamorro, S., Pozo, P., Guerrero, A. M., Atkinson, R., Buddenhagen, C., . . . Gardener, M. R. (2016). CDF Checklist of Galapagos Introduced Plants - FCD Lista de especies de Plantas introducidas de Galápagos. In *Charles Darwin Foundation Galapagos Species Checklist - Lista de Especies de Galápagos de la Fundación Charles Darwin*. Puerto Ayora: Charles Darwin Foundation / Fundación Charles Darwin. Retrieved from <http://www.darwinfoundation.org/datazone/checklists/introduced-species/introduced-plants/>
- [3] Jaramillo Díaz, P., & Guézou, A. (2010). List of all Known Species from the Galapagos Islands – Lista de todas las especies conocidas de las Islas Galápagos. In F. Bungartz, H. Herrera, & P. Jaramillo (Eds.), *List of all Known Species from the Galapagos Islands – Lista de todas las especies conocidas de las Islas Galápagos*. Online repository of the Charles Darwin Foundation/Fundación Charles Darwin, Puerto Ayora, Galápagos: <http://www.darwinfoundation.org/datazone/checklists/>
- [4] Jaramillo Díaz, P., Guézou, A., Mauchamp, A., & Tye, A. (2014). CDF Checklist of Galapagos Flowering Plants - FCD Lista de especies de Plantas con flores de Galápagos. In *Charles Darwin Foundation Galapagos Species Checklist - Lista de Especies de Galápagos de la Fundación Charles Darwin*. Puerto Ayora: Charles Darwin Foundation / Fundación Charles Darwin, Retrieved from <http://www.darwinfoundation.org/datazone/checklists/vascular-plants/magnoliophyta/>
- [5] McMullen, C. K. (1999). *Flowering plants of the Galapagos*. Ithaca, NY: Cornell University Press.
- [6] Gromme, S., Mankinen, E. A., & Prévot, M. (2010). Time-averaged paleomagnetic field at the equator: Complete data and results from the Galapagos Islands, Ecuador. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 11(11), Q11009. doi: <https://doi.org/10.1029/2010GC003090>
- [7] McBirney, A. R., & Williams, H. (1969). *Geology and petrology of the Galapagos Islands* (Vol. 118). Geological Society of America.
- [8] Simkin, T. (1984). Geology of Galapagos. *Biological Journal of the Linnean Society*, 21(1–2), 61–75. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1984.tb02053.x>
- [9] Stoops, G. (2014). Soils and Paleosoils of the Galápagos Islands: What We Know and What We Don't Know, A Meta-Analysis. *Pacific Science*, 68(1), 1–17. doi: <https://doi.org/10.2984/68.1.1>
- [10] Franz, H. (1980). Old soils and land surfaces on the Galápagos islands. *GeoJournal*, 4(2), 182–184. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00705525>
- [11] Trueman, M., & d'Ozouville, N. (2010). Characterizing the Galapagos terrestrial climate in the face of global climate change. *Galapagos Research*, 67, 26–37.
- [12] Wiggins, I. I. L., Porter, D. M., & Anderson, E. F. (1971). *Flora of the Galapagos islands*. Stanford University Press.
- [13] Lee, J. (2006). *Archaeological Charcoal of the Galapagos Islands. A species analysis of charcoal remains from historic campsites on Santiago and Santa Cruz Islands* (MSc. Dissertation). Oxford University.
- [14] McMullen, C. K. (1999). *Flowering plants of the Galapagos*. Ithaca, NY: Cornell University Press.
- [15] Guézou, A., Trueman, M., Buddenhagen, C. E., Chamorro, S., Guerrero, A. M., Pozo, P., & Atkinson, R. (2010). An Extensive Alien Plant Inventory from the Inhabited Areas of Galapagos. *PLoS ONE*, 5(4). doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010276>
- [16] Anderson, A., Stothert, K., Martinsson-Wallin, H., Wallin, P., Flett, I., Haberle, S., . . . Rhodes, E. (2016). Reconsidering Precolumbian Human Colonization in the Galápagos Islands, Republic of Ecuador. *Latin American Antiquity*, 27(2), 169–183. doi: <https://doi.org/10.7183/1045-6635.27.2.169>
- [17] Latorre, O. (2002). *Manuel J. Cobos: Su Vida y Su Obra*. Quito: Agencia Española de Cooperación Internacional.
- [18] Latorre, O. (2011). *Historia Humana de Galápagos. Nuevas Investigaciones*. Quito: Academia Nacional de Historia.
- [19] Albert, R. M., & Weiner, S. (2001). Study of phytoliths in prehistoric ash layers from Kebara and Tabun caves using a quantitative approach. In J. D. Meunier & F. Colin (Eds.), *Phytoliths: Applications in earth sciences and human history* (pp. 251–266). Lisse: Taylor & Francis.



- [20] Mercader, J., Bennett, T., Esselmont, C., Simpson, S., & Walde, D. (2011). Soil phytoliths from miombo woodlands in Mozambique. *Quaternary Research*, 75(1), 138–150. doi: <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2010.09.008>
- [21] Mercader, J., Astudillo, F., Barkworth, M., Bennett, T., Esselmont, C., Kinyanjui, R., & Walde, D. (2010). Poaceae phytoliths from the Niassa Rift, Mozambique. *Journal of Archaeological Science*, 37(8), 1953–1967. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.03.001>
- [22] Astudillo, F. J. (2018). Soil phytoliths as indicators of initial human impact on San Cristóbal Island, Galápagos. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 490(Supplement C), 522–532. doi: <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2017.11.038>
- [23] Madella, M., Alexandre, A., & Ball, T. (2005). International Code for Phytolith Nomenclature 1.0. *Annals of Botany*, 96(2), 253–260. doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mci172>
- [24] Albuquerque, E. S. B. de, Braga, J. M. A., & Vieira, R. C. (2013). Morphological characterisation of silica phytoliths in Neotropical Marantaceae leaves. *Plant Systematics and Evolution*, 1–12. doi: <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0823-9>
- [25] Dickau, R., Whitney, B. S., Iriarte, J., Mayle, F. E., Soto, J. D., Metcalfe, P., ... Killeen, T. J. (2013). Differentiation of neotropical ecosystems by modern soil phytolith assemblages and its implications for palaeoenvironmental and archaeological reconstructions. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 193, 15–37. doi: <https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2013.01.004>
- [26] Dickau, R., Bruno, M. C., Iriarte, J., Prümers, H., Jaimes Betancourt, C., Holst, I., & Mayle, F. E. (2012). Diversity of cultivars and other plant resources used at habitation sites in the Llanos de Mojos, Beni, Bolivia: Evidence from macrobotanical remains, starch grains, and phytoliths. *Journal of Archaeological Science*, 39(2), 357–370. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2011.09.021>
- [27] Ezell, K., Pearsall, D., & Zeidler, J. (2006). Root and tuber phytoliths and starch grains document manioc (*Manihot esculenta*) arrowroot (*Maranta arundinacea*) and Ilerén (*Calathea* sp.) at the real alto site Ecuador. *Economic Botany*, 60(2), 103–120. doi: [https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2006\)60\[103:RATPAS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0013-0001(2006)60[103:RATPAS]2.0.CO;2)
- [28] Iriarte, J., Glaser, B., Watling, J., Wainwright, A., Birk, J. J., Renard, D., ... McKey, D. (2010). Late Holocene Neotropical agricultural landscapes: phytolith and stable carbon isotope analysis of raised fields from French Guianan coastal savannahs. *Journal of Archaeological Science*, 37(12), 2984–2994. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.06.016>
- [29] Korstanje, M. A., & Cuenya, P. (2010). Ancient agriculture and domestic activities: a contextual approach studying silica phytoliths and other microfossils in soils. *Environmental Archaeology*, 15(1), 43–63. doi: <https://doi.org/10.1179/146141010X12640787648739>
- [30] Morcote-Ríos, G., Giraldo-Cañas, D., & Raz, L. (2015). *Catálogo ilustrado de fitolitos contemporáneos con énfasis arqueológico y paleoecológico. I. Gramíneas Amazónicas/ Catalogue of Contemporary Phytoliths for Archaeology and Paleoeecology. I. Amazonian Grasses*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- [31] Pearsall, D. M. (2016). The Phytoliths in the Flora of Ecuador Project: Perspectives on Phytolith Classification, Identification, and Establishing Regional Phytolith Databases. *Journal of Archaeological Science*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2015.06.014>
- [32] Pearsall, D. M., Chandler-Ezell, K., & Chandler-Ezell, A. (2003). Identifying maize in neotropical sediments and soils using cob phytoliths. *Journal of Archaeological Science*, 30(5), 611–627.
- [33] Perry, L., Dickau, R., Zarrillo, S., Holst, I., Pearsall, D. M., Piperno, D. R., ... Zeidler, J. A. (2007). Starch Fossils and the Domestication and Dispersal of Chili Peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science*, 315(5814), 986–988. doi: <https://doi.org/10.1126/science.1136914>
- [34] Piperno, D. R. (2009). Identifying crop plants with phytoliths (and starch grains) in Central and South America: A review and an update of the evidence. *Quaternary International*, 193(1–2), 146–159. doi: <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2007.11.011>
- [35] Piperno, D. R. (2006). *Phytoliths: A comprehensive guide for archaeologists and paleoecologists*. Lanham, MD: AltaMira Press.
- [36] Piperno, D. R., & Pearsall, D. M. (1998). *The silica bodies of tropical American grasses: Morphology, taxonomy, and implications for grass systematics and fossil phytolith identification*. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press.
- [37] Watling, J., & Iriarte, J. (2013). Phytoliths from the coastal savannas of French Guiana. *Quaternary International*, 287, 162–180. doi: <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2012.10.030>

- [38] Blinnikov, M. S., Bagent, C. M., & Reyerson, P. E. (2013). Phytolith assemblages and opal concentrations from modern soils differentiate temperate grasslands of controlled composition on experimental plots at Cedar Creek, Minnesota. *Quaternary International*, 287, 101–113. doi: <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2011.12.023>
- [39] Brown, D. A. (1984). Prospects and limits of a phytolith key for grasses in the central United States. *Journal of Archaeological Science*, 11(4), 345–368. doi: [https://doi.org/10.1016/0305-4403\(84\)90016-5](https://doi.org/10.1016/0305-4403(84)90016-5)
- [40] Fernández Honaine, M., Osterrieth, M. L., & Zucol, A. F. (2009). Plant communities and soil phytolith assemblages relationship in native grasslands from southeastern Buenos Aires province, Argentina. *CATENA*, 76(2), 89–96. doi: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2008.09.011>
- [41] Fernández Honaine, M., Zucol, A. F., & Osterrieth, M. L. (2006). Phytolith Assemblages and Systematic Associations in Grassland Species of the South-Eastern Pampean Plains, Argentina. *Annals of Botany*, 98(6), 1155–1165. doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mcl207>
- [42] Fredlund, G. G. (2005). Grass Phytolith Analysis. *Plains Anthropologist*, 50(196), 63–68. doi: <https://doi.org/10.1179/pan.2005.032>
- [43] Gallego, L., & Distel, R. A. (2004). Phytolith Assemblages in Grasses Native to Central Argentina. *Annals of Botany*, 94(6), 865–874. doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mch214>
- [44] Iriarte, J. (2003). Assessing the feasibility of identifying maize through the analysis of cross-shaped size and three-dimensional morphology of phytoliths in the grasslands of southeastern South America. *Journal of Archaeological Science*, 30(9), 1085–1094. doi: [https://doi.org/10.1016/S0305-4403\(02\)00164-4](https://doi.org/10.1016/S0305-4403(02)00164-4)
- [45] Mulholland, S. C. (1989). Phytolith shape frequencies in North Dakota grasses: a comparison to general patterns. *Journal of Archaeological Science*, 16(5), 489–511. doi: [https://doi.org/10.1016/0305-4403\(89\)90070-8](https://doi.org/10.1016/0305-4403(89)90070-8)
- [46] Rudall, P. J., Prychid, C. J., & Gregory, T. (2014). Epidermal Patterning and Silica Phytoliths in Grasses: An Evolutionary History. *The Botanical Review*, 80(1), 59–71. doi: <https://doi.org/10.1007/s12229-014-9133-3>
- [47] Twiss, P. C., Meunier, J. D., & Colin, F. (2001). A curmudgeon's view of grass phytolithology. *Phytoliths: Applications in Earth Sciences and Human History*, 7–25.
- [48] Twiss, P. C. (1992). Predicted world distribution of C3 and C4 grass phytoliths. *Phytolith Systematics, Emerging Issues, Advances in Archaeological and Museum Science*, 1, 113–128.
- [49] Twiss, P. C., Suess, E., & Smith, R. M. (1969). Morphological classification of grass phytoliths. *Soil Science Society of America Journal*, 33(1), 109–115.
- [50] Gu, Y., Liu, H., Wang, H., Li, R., & Yu, J. (2016). Phytolith as a method of identification for three genera of woody bamboos (Bambusoideae) in tropical southwest China. *Journal of Archaeological Science*, 68, 46–53. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jas.2015.08.003>
- [51] Parr, J., Sullivan, L., & Quirk, R. (2009). Sugarcane phytoliths: Encapsulation and sequestration of a long-lived carbon fraction. *Sugar Tech*, 11(1), 17–21. doi: <https://doi.org/10.1007/s12355-009-0003-y>
- [52] Astudillo, F. J. (2017). *Environmental Historical Archaeology of the Galápagos Islands: Paleoethnobotany of Hacienda El Progreso (1870-1904)* (PhD Dissertation). Department of Archaeology). Simon Fraser University, Burnaby, BC.
- [53] Astudillo, F. J. (2018). Environmental and historical archaeology of the Galápagos islands: Archaeobotany of Hacienda El Progreso, 1870–1920. *Vegetation History and Archaeobotany*, 27(5), 737–751. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00334-018-0668-9>

Design of low-voltage low-power CMOS current reference in 180nm

Diego Fernando Jaramillo Calderón¹

¹ Universidad San Francisco de Quito USFQ, Quito, Ecuador

*Autor para correspondencia /Corresponding autor e-mail: djaramillo@estud.usfq.edu.ec

Diseño de un espejo de corriente CMOS a baja potencia y voltaje en 180nm

Abstract

This paper describes design improvement of a current reference, originally based on dual-threshold voltage current mirror stages, these stages have been modified in order to improve the temperature dependence of the current of a diode-connected transistor and the figures of merit (FOM), both of them compared to the base-circuit. The proposed solution has been designed in a 0.18 μm CMOS TSMC technology and analyzed through circuit simulation. Simulation results, when a body-bias generator is used, show an output current of 342 nA and a power consumption below 513 nW at the maximum operating voltage of 1.5 V and at room temperature. The linear sensitivity is 1%/V, while the temperature coefficient is 17 ppm/ $^{\circ}\text{C}$. On the other hand, when the body-bias generator is neglected, the circuit shows an output current of 188 nA and a power consumption below 282 nW at the maximum operating voltage of 1.5 V and at room temperature. The linear sensitivity is 2.89%/V, while the temperature coefficient is 23 ppm/ $^{\circ}\text{C}$.

Keywords: current reference, low-voltage, low-power, CMOS, current mirror

Resumen

Este artículo muestra las mejoras de diseño para un espejo de corriente o *current reference* originalmente basado en un espejo de corriente con voltaje dual de umbral en dos etapas, dichas etapas han sido modificadas para mejorar tanto la dependencia de corriente para una configuración en modo diodo de un transistor así como las figuras de mérito, ambas cualidades son comparadas con el circuito base. La presente solución ha sido diseñada sobre tecnología CMOS TSMC en 0.18 μm y analizada a través de la simulación del circuito en Virtuoso de Cadence. Los resultados de las simulaciones muestran que cuando el voltaje del sustrato es polarizado se tiene una corriente en salida de 342 nA y una potencia de consumo por debajo de los 513 nW con un voltaje de operación máximo de 1.5 V a temperatura ambiente. La sensibilidad lineal es 1 %/V, mientras que el coeficiente de temperatura es 17 ppm/ $^{\circ}\text{C}$. Por otro lado, cuando la polarización del sustrato es omitida, es decir el sustrato conectado a la fuente del transistor, el circuito muestra una



Editado por /
Edited by:
Eva O.L. Lantsoght

Recibido /
Received:
14/05/2019.

Aceptado /
Accepted:
27/11/2019

Publicado en línea
/ Published online:
20/02/2020

corriente en salida de 188 nA y una potencia de consumo por debajo de 282 nW con un voltaje de operación máximo de 1.5 V a temperatura ambiente, La sensibilidad lineal es 2.89 %/V, mientras que el coeficiente de temperatura es 23 ppm/°C. El documento está compuesto de cuatro secciones, la primera sección muestra el estado de arte acerca de los espejos de corriente para un bajo consumo. La segunda sección muestra los métodos para implementar los cuatro diferentes diseños, como son el dimensionamiento y los parámetros eléctricos de las fuentes de alimentación. La tercera sección muestra los resultados obtenidos en cada uno de los circuitos y una comparativa de las figuras de mérito calculadas. Finalmente, la cuarta sección muestra las conclusiones de cada bloque, los beneficios obtenidos al implementar cada uno de los diseños así como la mejor solución acorde a las figuras de merito obtenidas.

Palabras clave: espejo corriente, CMOS, inversión débil, MOSFET, consumo, potencia, coeficiente temperatura, sensibilidad carga.

INTRODUCTION

The rapid growth of low power applications in fields like: Internet of Things (IoT), entertainment, biomedical, mobile networks and power control systems, is changing the lifestyle of the new generations, where the electronic devices are being used everyday life. However, the current control faces several challenges, such as temperature and power supply dependence. This paper presents a structure for designing a current reference circuit in low-voltage and power-consumption, which are the main arguments at the time of designing a current reference.

In response to the power scaling a wide quantity of topologies can be used where the bias point is the parameter to reach a better performance. One of these topologies is the peaking current mirror, where an increasing at the output current is due to a drop voltage over a resistance in order to drive the current [2]. Though, its dependency of resistances to work leads to an unsuitable option when the temperature dependence should be reduced since the final circuit is created by the addition of multiple current peaks until reaching the operational bias point [2]. The beta multiplier current reference whose resistor to bias the circuit in subthreshold operation is small, even for a value of current in nanoampere range, the drawback of this circuit is the needed of different voltages in order to bias the NMOS and PMOS transistors so the temperature and supply dependency can not be reached rapidly [4]. Other solution where the self-biased principle was used is a circuit where the temperature is compensated by gate-leakage transistors, these are biased by a reference voltage generated for a self-regulated 4T push pull circuit; in this case, occupancy area could be a problem at the design time [3]. Another solution where the self-biased principle is used, is the 3T CMOS current reference, where the circuit is composed by two stages. The first is a reference voltage where the temperature dependency is reduced and the second stage is composed by an active-load where the supply dependency is driven by the operational point reached in the previous stage [1].

METHODS

This paper shows an improvement for the 3T CMOS current reference showed in [1]. Fig. 1A shows the basic model for a current reference where the MH transistor must have a oxide thickness greater than the ML transistor in order to create a V_x as close as possible to the minimum-temperature-coefficient (MTC) point of the load transistor. Fig. 1B shows the block diagram representation of the improvement that was done in this paper. The main block represents the basic current reference where T1, T2 and T3 takes the place of ML, MH and load transistor from the 3T-design. The other block, composed by MA and MB represents a voltage reference circuit whose functions is biasing the bulk of the transistor in the blocks T2 and T3.

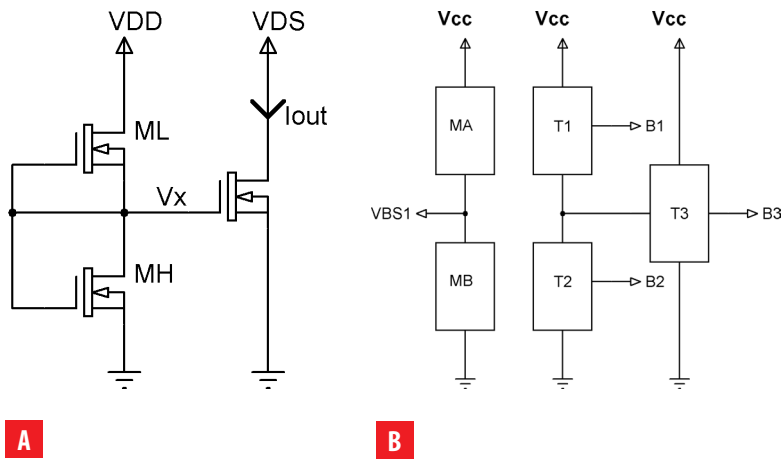


FIGURE 1. (A) 3T CMOS current reference model [1]. (B) Diagram block representation for this paper.

In function of the block diagram, four designs were implemented in this work to test different ways of designing a current reference with fixed requirements and the best response at the figure of merit. The first design shown in Fig. 2A where the T1 is composed by two transistors in series connection and T2 is composed by two transistor in diode-connected mode, while the active load has only one transistor. In this case, the body-bias generator was neglected. Fig. 2B shows a variation of the previous design in T1 and T3 block, T1-block presents a cascode connection between two transistors, in this case the variation of supply voltage is driven by the top transistor in T1 block and self-regulated since the gate is tied to the output voltage of the reference circuit, V_x . Moreover, T3 block presents a self-cascode connection between seven transistors to increase the effective length of the active load. Thus the possible current to control can be increased using the same MTC point.

Fig. 3A shows a design where an extra voltage reference is used to bias the bulk of the top transistor in block T2. This allows to change the threshold voltage of the transistor and to reduce the power consumption during the transistor working in weak-inversion mode.

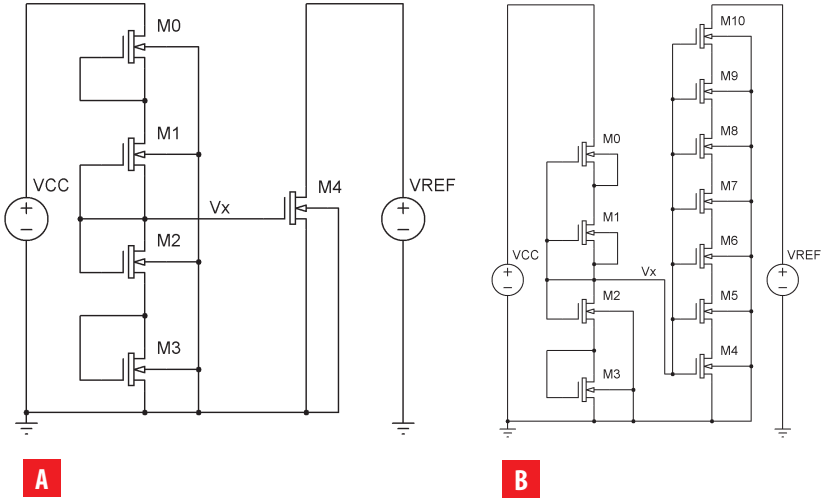


FIGURE 2. (A) Current reference with improvements in T1 and T2 block **(B)** Current reference with improvements in T1, T2 and T3 block

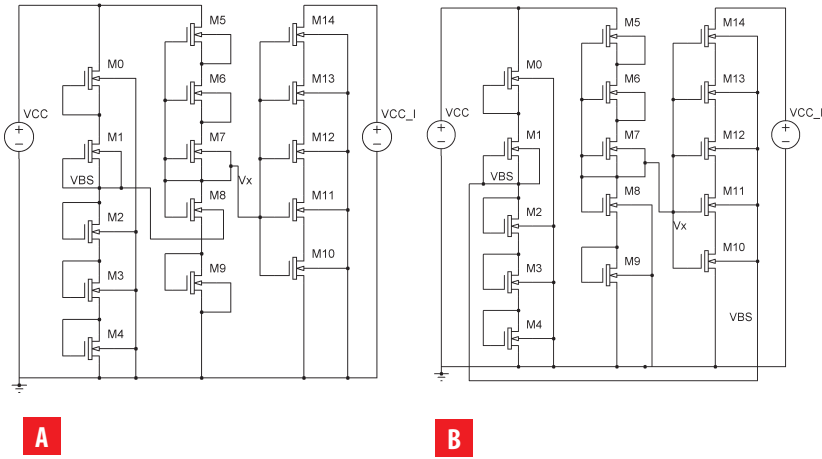


FIGURE 3. (A) Current reference with body-bias generator for T2 **(B)** Current reference with body-bias generator for T3 block

FINDINGS

The proposed current reference circuits were implemented in a 180nm TSMC CMOS technology. The circuit can operate by a supply voltage from 0.6V to 0.77V as V_{DD_MIN} . The I_{REF} can achieve in the best case 177 nA and 10uA for the worst case. Furthermore, the cases where the body-bias generator was used, these always give a nanoampere response whereas the first circuit presents larger power consumption in comparison to the other designs. The temperature coefficient in all the cases is always smaller than 50, the linear sensitivity is smaller than 5 and the best results are shown when the body-bias was used in the T2-block.

Fig. 4A shows the output current of all the designs. The first of them has the greater power consumption in micro-amperes since the active load was implemented only with one transistor, so its sizing was wider than the others designs. The best solution was reached in the second design, where the active load was implemented with seven transistors in self-cascode mode contemplating a better controlled transconductance and the channel length (which is the adding result of the length-transistor) that allows to reduce the power consumption by keeping the same gate-source voltage used to bias the active load.

Fig. 4B shows the output voltage from the voltage reference, the first path for the first and second design, and the second path for the third design. In this case the initial requirement, $V_{REF} \approx 500 [mV]$, was reached by all designs. The minimum voltage for the power supply was reached at 0.6V. Thus, if the initial requirement for the voltage reference is lower than the fixed in this paper, it will be possible to reduce the power supply.

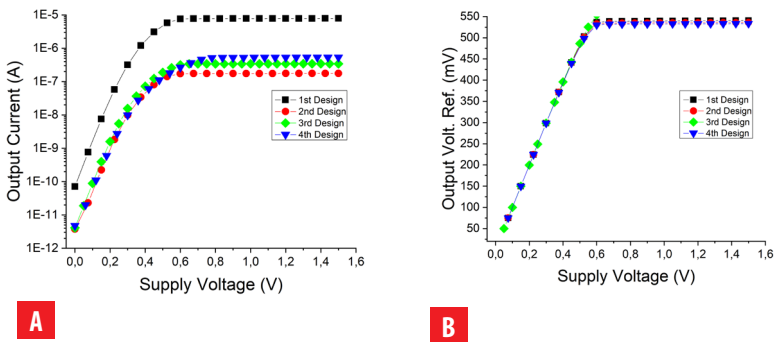


FIGURE 4. (A) Output current in function of the power supply variation (B) Output voltage reference in function of the power supply variation

Fig. 5A shows the linear sensitivity (LS) along the voltage supply variations, from 0.6 V to 1.5 V, where all designs exhibits a LS lower than 4%/V. The best solution is given by the design where the body-bias generator was used to provide voltage to the T2-Block, since higher body-source voltage lower the reference voltage, i.e. MTC point. In the active load yields a

slight variation at the output current so the linear sensitivity is reduced too. When the body-bias generator is used in T3-block, the reference voltage is not reduced while the body effect in the active load is reduced. This provides an improvement at the output current.

Fig. 5B shows the temperature coefficient (TC) of the all designs. The first three implementations show a TC lower than 20 ppm/°C, the third implementation shows the worst result due to the output current reached at the minimum voltage supply. This latter value is slightly greater than 0.6 V, and the temperature variations can not be driven by the active load where the body-bias is working.

Fig. 6A shows the total power consumption of the implementations. The second circuit shows the better result in view of the active load driven by seven transistors in self-cascode connection and the channel length that allows a better driving output current. In addition to the current driving, the SC connection allows to reduce the power because the bias voltage to power the active load is lower than a simple transistor with same composite channel length.

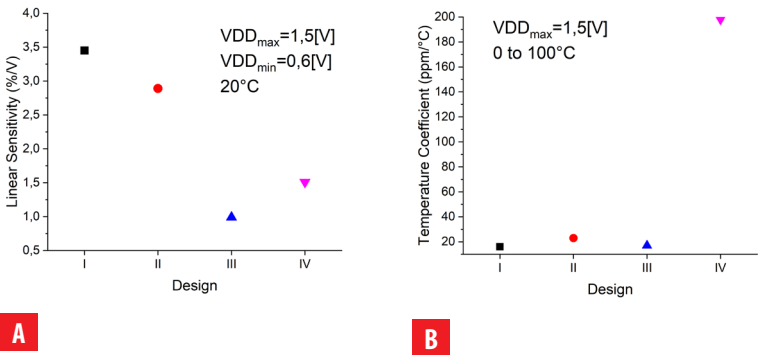


FIGURE 5. (A) Linear sensitivity results (B) Temperature coefficient results

Fig. 6B shows the power consumption of the voltage reference which work is to provide the reference, i.e. MTC point, to the active load. The best result is given by the design where the body-bias generator was used to bias the bulk of T2-block. For this reason, the path consumes less power due to a part of the power driven by the generator. In this path the power consumption is reduced because of the voltage reference sizing used to generate a body-bias voltage (VBS) that has a low value.

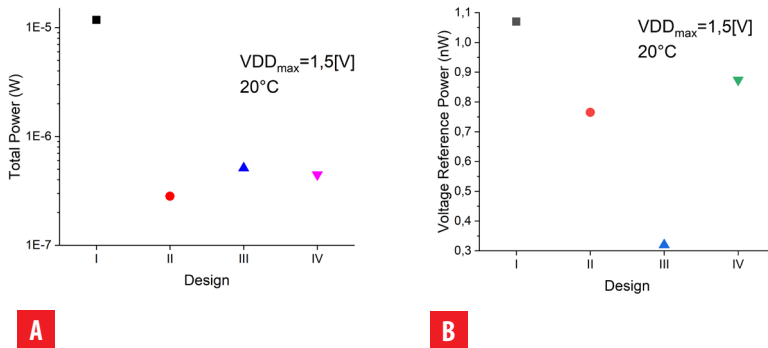


FIGURE 6. (A) Total power consumption (B) Voltage reference power consumption

The previous results can be improved if the design methodology follows the next steps:

- T1 block can be implemented with different structures, shown in Fig. 2A - 2B, from a simple transistor, which works in subthreshold regime since $V_{th} = 0$, to a series-connected MOSFETs which body can either be connected to a bias voltage or ground point. This improvement allows to the body-source voltage becomes more negative so the V_{TH} and T1 block conductivity is reduced.
- Stacking the transistors in the T2 block leads to amplifying the difference of threshold voltages of the transistors used in the block T1 and T2.
- The T3 block improvements used series-connected transistors to increase the effective channel length, i.e. A larger channel, a smaller load sensitivity of the circuit.
- The body connection can be used as a key to control the threshold voltage when the transistor works in weak region, and consequently the temperature coefficient, the linear sensitivity and the minimum voltage supply can be improved.

The final implementation showed in Fig. 3A, has three self-biased transistors in stacking, $M_5 - M_7$, in block T1, two transistors in diode-connected (gate to drain), $M_8 - M_9$ in block T2 and five series-connected transistors, $M_{10} - M_{14}$ for the block T3. In addition to these transistors, there are a body-bias circuit with five transistors, $M_0 - M_{4'}$ to bias the upper transistor, M8, of block T2. This implementation shows all the possible cases where the circuit can be controlled by the body connection. Hence, exploiting the transistor sizing, the designer can potentially use transistors of the same type in all the three main blocks T1, T2, and T3, therefore reducing significantly the process sensitivity of the current reference.

Table 1 shows the results for all designs in two cases where a trimming process was implemented. Thus, the performance of each design can be improved to the needs of the designer. The last two designs show an extra parameter which value is used to bias the substrate of the transistors, i.e. body-bias voltage V_{BS} . The drawback of "VBS to T3-block" design is the increasing of the minimum voltage supply and the temperature coefficient. In contrast, the best result is given by "VBS to T2-block" in which temperature coefficient and linear sensitivity gives smaller values in the trade-off to the body-bias voltage.

TABLE. 1. Figure of merit for all designs

	Design							
	1st Improv.		2nd Improv.		VBS to T2-block		VBS to T3-block	
FOM	case I	case II	case I	case II	case I	case II	case I	case II
TC[ppm/°C]	16	18	25	23	28	17	198	40
LS[%/V]	3.45	2.64	2.41	2.89	0.66	0.99	1.51	6.03
V_{DD_MIN} [V]	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.77
$V_{REF_@20\ C}$ [V]	0.54	0.52	0.524	0.535	0.528	0.564	0.533	0.691
$I_{REF_@20\ C}$ [nA]	7.85	10	176	188	263	342	298	534
PS[%]	3.73	2.34	2.18	2.63	1.94	7.87	1.36	3.81
Total Power[V]	11.77u	15u	263n	282n	394n	513n	447n	801n
$V_{BS_@20\ C}$ [mV]					62	55	50	106

CONCLUSIONS

In comparison to the 3T current reference showed in [1], these improvements need a greater occupancy area in trades-off the load sensitivity, process sensitivity and power consumption mainly.

- The aim of T1 block is controlling the linear sensitivity, larger length channel and conductivity. Thus, leading to reduce the impact of V_{DD} on V_x variations and consequently on I_{REF} . It is worth noting, the body to the source connection is used to avoid the body effect.
- The gate-drain connection was used to increase the threshold voltage in T2 block and consequently has a V_x more stable since a low V_{MTC} guarantees a current reference with a low-voltage and low-power consumption. The number of transistors in block T2 is due to reach of V_x required.
- The output current can be set with the number of transistors used to implement T3 block. A greater number of transistors, a smaller output current I_{REF} .
- If the body transistor load is biased with a voltage different to zero, the V_{MTC} can be minimized, hence the V_x required is reduced too. The increase in the number of body connections in the circuit means a more difficult circuit to control and more occupancy area.
- If the power consumption of the voltage reference and the linear sensitivity requirements are not relevant for the aim circuit for biasing, the design depicted in Fig. 2B can be used with some advantages. These advantages are: the circuit will use a smaller occupancy area, and the temperature coefficient should be lower than 20 ppm/°C and the linear sensitivity will be approximately 3%/V. In this manner, an output current dependency of the voltage supply is guaranteed.
- The body-bias generator allows to reduce the temperature coefficient and linear sensitivity. However, the total power consumption is increased by more transistors and as a result, greater current to bias the entire circuit is needed.



AUTHORS' CONTRIBUTION

Diego Jaramillo added the schematics for his simulation and analysis, in addition to the writing of the manuscript. Nanoelectronics Laboratory of the University of Calabria - DIMES, Italy tests the licenses for the Virtuoso Cadence software as well as the libraries for 180 nm technology from TSMC.

REFERENCES

- [1] Crupi, F., Rose, R. D., Paliy, M., Lanuzza, M., Perna, M., & Iannaccone, G. (2017, dec). A portable class of 3-transistor current references with low-power sub-0.5 v operation. *International Journal of Circuit Theory and Applications*, 46 (4), 779 795. doi: <https://doi.org/10.1002/cta.2439>
- [2] Hirano, M., Tsukiji, N., & Kobayashi, H. (2016, oct). Simple reference current source insensitive to power supply voltage variation improved minoru nagata current source. In *2016 13th IEEE international conference on solid-state and integrated circuit technology ICSICT*. IEEE. doi: <https://dx.doi.org/10.1109/icsict.2016.7998846>
- [3] Vang, H., & Mercier, P. P. (2016, may). A 14.5 pV, 31 ppm/ c resistor-less 5 pA current reference employing a self-regulated push-pull voltage reference generator. In *2016 IEEE international symposium on circuits and systems (ISCAS)*. IEEE. doi: <https://dx.doi.org/10.1109/iscas.2016.7527484>
- [4] Yadav, C., & Prasad, S. (2017, aug). 20na sub-threshold biased CMOS reference current source. In *2017 international conference on information, communication, instrumentation and control (ICICIC)*. IEEE. doi: [10.1109/icomicon.2017.8279144](https://doi.org/10.1109/icomicon.2017.8279144)

Inulina: una alternativa para el desarrollo de productos cárnicos funcionales

María Alicia Peña¹, Silvia Peña^{2,3}, María Aloyda Guerra⁴

¹Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del Azuay, Av. 24 de Mayo 7-77 y Hernán Malo, Cuenca, Ecuador

²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca, Av. 12 de Abril, Cuenca, Ecuador

³Departamento de Engenharia de Produção, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha, Belo Horizonte - MG, 31270-901, Brasil

⁴Instituto de Investigaciones Científicas para la Industria Alimenticia (IIIA), Carretera al Guatao km 31/2, La Habana, Cuba.

*Autor para correspondencia / Corresponding author, email: mpenag@uazuay.edu.ec

Inulin: an alternative for the development of functional meat products

RESUMEN

Los alimentos funcionales actualmente tienen una alta demanda en el mercado, lo cual constituye un desafío importante para la industria alimentaria. Es por ello, que el objetivo del presente trabajo fue elaborar un producto cárnico funcional con la adición de inulina logrando sustituir grasa y obtener un efecto prebiótico. Para ello se realizaron experimentos con combinaciones de inulina (0 a 12%) y grasa (8 a 12%), empleando almidón de papa al 4% en las formulaciones. A fin de evaluar las salchichas obtenidas en cada experimento se determinó: composición fisicoquímica, análisis de perfil textura, análisis microbiológicos y evaluación sensorial. Se caracterizó el material de envase y se determinó la vida útil de las salchichas seleccionadas envasadas al vacío, estudiando dos tratamientos posteriores: uno refrigeradas y el otro repasteurizadas-refrigeradas manteniendo en ambos casos una temperatura de 2-4 °C. Las muestras se caracterizaron al inicio y final del ensayo desde el punto de vista fisicoquímico y reológico, durante todo el estudio se realizaron análisis microbiológicos y evaluación sensorial, lo que permitió determinar la vida útil a través de un criterio de aceptación y rechazo. Tomando como base criterios reológicos y sensoriales, la combinación con un 6.67% de inulina y 8,73% de grasa resultó ser la mejor variante. Se observó que la inulina produce un aumento significativo de la dureza de los productos, sin embargo, no afecta las características sensoriales y mantiene la jugosidad del producto. El criterio de evaluación sensorial utilizado determinó una vida útil de 26 días para las con tratamiento envasadas al vacío refrigeradas y 112 días para las muestras repasteurizadas-refrigeradas mediante el gráfico de riesgos de Weibull. Resultados que ratifican la técnica de repasteurización como una opción viable para uso industrial.

Palabras claves: alimento funcional, grasa, inulina, salchicha, vida útil.

Abstract

Functional foods are currently in high demand in the market, which is an important challenge for the food industry. Thus, the objective of this work was to develop a functional meat product with the addition of inulin, replacing fat and obtaining a prebiotic effect. For this, experiment several combinations of inulin and fat were used: inulin (0 to 12%) and fat (8 to 12%), using potato starch 4% as an ingredient in the formulations. For each sausage physicochemical composition, texture profile analysis, sensory evaluation and microbiological analyses were carried out. The packaging material was characterized and the shelf life was determined for the sausages by studying two different treatments: a vacuum packed, refrigerated product and the other a vacuum packed, re-pasteurized, refrigerated product in both cases maintaining a temperature of 2-4 °C. The samples were studied at the beginning and the end of the experiment by physicochemical analysis, rheological characterization, throughout the study microbiological analysis and sensory evaluation were carried out. For the analysis of shelf life, acceptance and rejection criteria were used. Taking as reference rheological and sensory criteria, the combination with 6,67% inulin and 8,87% fat proved to be the best variant. It was observed that inulin produces a significant increase in the hardness of the products, however, it does not affect the sensory characteristics and maintains the juiciness of the product. The sensory evaluation criteria have been used to determinate the shelf life, resulting in 26 days for the vacuum-packed refrigerated sausages, while the vacuum packed re-pasteurized refrigerated sausages lasted 112 days, results obtained by Weibull plot. As a conclusion of this research, the repasteurization technique can be a viable process for industrial use.

Keywords: functional food, fat, inulin, sausage, shelf life.

INTRODUCCIÓN

Dada la estrecha relación existente entre la dieta y la salud, se ha evidenciado una creciente preocupación de los consumidores por alimentos saludables, lo que ha dado lugar a la aparición y crecimiento exponencial de nuevas tendencias de consumo de los llamados alimentos funcionales. Estos productos se refieren a los alimentos procesados que contienen ingredientes que desempeñan una función específica en la fisiología del organismo humano, más allá de su contenido nutrimental [1].

Por lo antes expuesto, en el sector alimentario han surgido diferentes alternativas de ingredientes funcionales, tal es el caso de la inulina. Este carbohidrato posee un efecto prebiótico que estimula el crecimiento selectivo y/o la actividad metabólica de un número limitado de bacterias en el colon [2]. Los prebióticos promueven la flora intestinal natural proporcionando nutrientes para las bacterias benéficas (bifidobacterias y lactobacilos) existentes, con la consecuente disminución de otras especies que pueden ser perjudiciales como: *Escherichia coli*, *Clostridium spp*, entre otros [3].

Se trata de un carbohidrato no digerible que se encuentra en frutas, vegetales y cereales, que en forma nativa es una mezcla de oligómeros y polímeros con un número variable



de moléculas de fructosa, unidas por enlaces β -(2-1) que pueden incluir en su extremo una molécula de glucosa [4]. Posee la poderosa propiedad de sustituir grasa a partir de su capacidad de gelificación con agua bajo fuerza de corte. El gel resultante tiene una textura cremosa que mejora la estabilidad de emulsiones, muestra excepcionales características semejantes a la grasa y presenta un efecto sinérgico con agentes gelificantes [3].

Por otro lado, los productos cárnicos son parte fundamental en una dieta diaria, pues aportan nutrientes de gran importancia para el desarrollo humano como ciertas vitaminas (siendo la fuente más importante la vitamina B_{12}), ácidos grasos y minerales (hierro y zinc) [5]. Su importancia nutricional radica principalmente en su importante contenido proteico de alto valor biológico. Sin embargo, los derivados cárnicos pueden contener sustancias que, al ser añadidas o formadas durante su procesamiento, conservación o consumo, en proporciones inadecuadas, pueden afectar adversamente la salud de los consumidores [6].

Específicamente, el alto contenido de sodio y grasa son los principales factores de riesgo asociados al consumo de productos cárnicos [7]. Diferentes estudios reportan que existe una alta probabilidad de padecer alguna de las enfermedades crónicas no transmisibles por una dieta con elevados índices de grasas saturadas, colesterol y sal. En los últimos años diferentes estudios recogen evidencias sobre los riesgos del consumo de carnes rojas y la enfermedad cardiovascular (ECV), el cáncer, obesidad y diabetes tipo 2 [5].

Con el objetivo de reducir el contenido de grasa en derivados cárnicos una gran variedad de métodos ha sido desarrollada. Dentro de estas alternativas se destaca el uso de ingredientes no cárnicos como derivados proteicos de origen vegetal y carbohidratos, los cuales han sido utilizados en la elaboración de embutidos con propósitos tecnológicos como: disminuir el contenido de grasa, bajar costos de formulación e incrementar su valor nutritivo [8]. Los sustitutos de grasa a base de carbohidratos tienen la ventaja de imitarla, otorgando características similares en términos de lubricidad y humedad [9].

En este contexto, el objetivo del presente trabajo es establecer el potencial efecto que presenta la adición de inulina, en la elaboración de productos cárnicos emulsificados funcionales, con bajo contenido en grasa y que cumplan con los requisitos nutricionales y de calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo del derivado cárnico emulsificado (salchicha) con propiedades funcionales se empleó carne de cerdo con un contenido de grasa del 5% y tocino de lomo. Estas materias primas se obtuvieron de cerdos con 48 horas de almacenamiento refrigerado *post-mortem*.

Como ingredientes no cárnicos se utilizó inulina (Orafti, Chile) y almidón de papa (Fai Berti S.L., España), por sus conocidas propiedades funcionales y nutricionales, actuando sobre las pérdidas de agua en la cocción y la estabilidad de la emulsión [10–12]. Además, se utilizó una solución de colorante carmín, sales, condimentos y humo líquido.

Fue empleado un diseño factorial 3², variando la cantidad de inulina: X₁ (0 a 12%) y grasa: X₂ (8 a 12%). El resto de los componentes se mantuvieron constantes. Los valores máximos y mínimos de inulina y tocino de lomo y el porcentaje de almidón de papa fueron seleccionados en función de los resultados obtenidos en pruebas de observación y reportes de la literatura [13–15]. De este procedimiento se definieron nueve combinaciones experimentales (Tabla 1). Se elaboraron 4 kg de salchichas de acuerdo a cada combinación experimental. De cada una de las variables se procesaron tres corridas experimentales.

TABLA 1. Puntos experimentales (Diseño factorial).

Variantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Inulina (%)	0	6	12	0	6	12	0	6	12
Tocino de lomo (%)	8	8	8	10	10	10	12	12	12

El proceso de elaboración fue el mismo que se usa habitualmente para la elaboración de la salchicha tradicional. Se prepararon piezas de 45 g empleando tripas impermeables de poliamida 6 (Kalle Nalo, España) de 22 mm de diámetro, y se envasaron en bolsas al vacío. La carne fue caracterizada mediante las determinaciones descritas en la Tabla 2:

TABLA 2. Determinaciones físico-químicas de la carne

Parámetro	Método
Humedad	NC 275 [16]
Grasa	NC ISO 1443 [17]
Proteína	NC ISO 937 [18]
pH	NC ISO 2917 [19]

Para caracterizar la inulina se emplearon ensayos físico-químicos como: humedad [20], ceniza [22] y pH [22], así como la fuerza de gel, para lo cual se prepararon dos soluciones: 1) inulina al 40% en agua destilada y 2) solución con 40% de inulina y 4% de almidón de papa en agua destilada. Cada una de las soluciones se calentó hasta 80 °C por 3 minutos con agitación constante, se enfrió hasta 10 °C y posteriormente se refrigeró entre 4 a 6 °C por 24 horas, lapso de tiempo en el que se alcanza la máxima fuerza de gel [23]. De los geles obtenidos se determinó su fuerza mediante el analizador de textura T.A HD Plus a 20 °C, para ello la penetración se realizó con una sonda de 1,9 cm de diámetro a la velocidad de 1mm/s y del gráfico obtenido se calculó la fuerza de gel expresada en gramos, siendo el valor máximo de la curva [24]. Adicionalmente, se elaboró una salchicha control (tradicional) con un 60% de carne de cerdo, un 25% de grasa y un 2% de proteína aislada de soya. En las salchichas obtenidas, se determinó la humedad, proteína, pH y grasa, mediante los métodos anteriormente reportados para carne, además de cenizas [25], cloruro de sodio [26] y nitrito de sodio [27].

Para los análisis microbiológicos, la toma de muestras fue llevada a cabo inmediatamente después del proceso de elaboración, realizado los ensayos descritos en la siguiente tabla:

TABLA 3. Determinaciones microbiológicas

Parámetro	Método
Aerobios mesófilos	NC ISO 4833-1 [28]
Conteo de coliformes fecales	NC ISO 4831 [29]
Conteo de coliformes totales	NC ISO 4832 [30]
Conteo de mohos y levaduras totales	NC 1004 [31]
Salmonella	NC ISO 6579 [32]
Staphylococcus coagulasa	NC ISO 6888-1 [33]

Adicionalmente se realizaron conteos de psicrófilos (en Análisis de Componentes Principales, ACP, 4 a 7 días, 2 a 4 °C) y conteo de bacterias ácido lácticas (en medio de cultivo agar MRS, 24 h, 37 °C). La calidad sensorial fue evaluada por 12 jueces entrenados, empleando una escala de valoración de calidad estructurada de siete puntos (1: pésimo y 7: excelente) para los atributos aspecto, textura, sabor y color. Para la jugosidad se utilizó una escala de siete puntos no estructurada (1: extremadamente seca y 7: extremadamente jugosa).

Para el perfil de textura se aplicó una prueba de compresión doble con un texturómetro universal Instron, modelo 1140 (ITW, USA). Se comprimió diametralmente hasta un 75% a una velocidad de 20 cm·min⁻¹. A partir del gráfico fuerza-distancia, se determinaron las siguientes propiedades: dureza, elasticidad y cohesividad [24]. Se caracterizó el material de envase (tripas impermeables y bolsas para envasado al vacío), mediante un espectrofotómetro infrarrojo, modelo Vector 22 (Bruker, Suiza), en un rango de medición entre 4000–600 cm⁻¹. Se determinaron las propiedades físico-mecánicas de: peso base [34], espesor [35] y resistencia a la tensión y elongación [36], así como a la permeabilidad al vapor de agua [37] y la resistencia del sellado térmico [38].

Para la selección de la mejor variante, se realizó la optimización en base al espacio de diseño acotado, para lo cual se impusieron restricciones (Tabla 4), que fueron fijadas en base a la formulación tradicional y criterios de diferentes especialistas [39]. Asimismo, se estableció priorizar el menor contenido de grasa con el objetivo de obtener un alimento funcional y económico.

TABLA 4. Restricciones impuestas al sistema para la optimización

Variable Respuesta	Restricción
Dureza instrumental	5 a 8 kg
Elasticidad instrumental	6 a 8 mm
Aspecto	> 5
Textura	> 5
Sabor	> 5
Color	> 5
Jugosidad	3 a 4
(Siendo 1: pésima valoración y 7: excelente)	

Fuente: [39]

Los atributos sensoriales y los parámetros de perfil de textura se procesaron mediante el programa "Design Expert Analysis" versión 7 para ajustar los modelos, generar las ecuaciones y sus correspondientes superficies de respuesta. El análisis estadístico de estos resultados se realizó mediante el programa Statgraphics Centurion XVI. A los resultados fisicoquímicos y microbiológicos de los productos, se les determinó la media y la desviación estándar.

Para el estudio de vida útil se tomó la variante seleccionada, se procesaron nuevos lotes de salchichas y se realizaron dos tratamientos de conservación: refrigeración (2-4 °C) y repasteurización (baño maría a 80 °C/10 min) seguida de refrigeración (2-4 °C). Durante este estudio se realizaron análisis fisicoquímicos, microbiológicos, evaluación sensorial y de textura instrumental al inicio del estudio y en el momento de rechazo.

Para determinar la vida útil del producto se aplicó el gráfico de riesgos de Weibull, utilizando un intervalo de confianza del 95% [40].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 5 muestra los contenidos de humedad, ceniza y valor del pH de la inulina. Los valores obtenidos se asemejan con lo reportado por la literatura [41]. En el caso de las cenizas (0,45%) está fuera del valor señalado por la literatura (<0,2%) sin embargo está dentro del rango reportado por el fabricante.

TABLA 5. Composición físico-química de la de la inulina

Humedad (%)	Ceniza (%)	pH
4,85 (0,02)*	0,45 (0,01)*	6,0

*(): Desviación estándar; n= 3

Los resultados obtenidos de la fuerza de gel de las soluciones ensayadas se muestran en la Tabla 6. Al comparar estos resultados con los reportados por Kim y col. (2001) quienes determinaron la fuerza de gel en la inulina Ratilin HP de la marca Orafit, se observa que los valores alcanzados en sus ensayos son mucho mayores en relación a los obtenidos en este estudio. Esta diferencia puede ser atribuida a que la inulina que se utilizó en la presente investigación es de un grado de polimerización más bajo (no reportado por el fabricante) al utilizado en el estudio citado, pues la literatura señala que mientras mayor sea el grado de polimerización de la inulina se obtienen geles más firmes [42]. En la misma tabla, se puede apreciar, que la presencia de almidón de papa (4%) favoreció la formación de gel de la inulina, obteniéndose una fuerza de gel mayor (82,73 g), lo cual demuestra el efecto sinérgico entre estos dos elementos. Esto concuerda con lo descrito por Madrigal (2007) [41] quien describe un efecto sinérgico entre la inulina y otros agentes gelantes.



TABLA 6. Propiedades funcionales de la inulina

Solución	Fuerza de gel (g)
Inulina al 40%	36.93 (2.05)
Inulina al 40% + almidón de papa al 4%	82.73 (4.26)

*() Desviación Estándar, n=3

Los resultados de los análisis de composición química y pH de las formulaciones propuestas en el diseño se reflejan en la Tabla 7. En los valores obtenidos para la humedad se observa una ligera tendencia de disminución de este parámetro a medida que aumenta la concentración de inulina. Resultados que son similares a los especificados en la literatura para productos con bajo contenido en grasa y altos niveles de agua añadidos [43]. La variación en la humedad puede deberse tanto a la presencia de inulina y almidón de papa, como al contenido en grasa, ya que, en las condiciones estudiadas, la disminución del nivel de grasa se realizó a costa de aumentar la cantidad de agua añadida.

TABLA 7. Composición proximal de las salchichas experimentales.

Fórmula	Inulina (%)	Grasa (%)	Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	NaCl (%)	NaNO3 (ppm)	pH
1	0	8	69,79 (0,05)	8,50 (2,4)	10,79 (0,53)	1,82 (0,02)	98,3 (2,83)	6,20
2	6	8	67,50(0,23)	7,33 (2,74)	11,00 (0,76)	2,07 (0,02)	73,2 (0,65)	6,40
3	12	8	66,70 (0,13)	8,32 (3,15)	10,84 (0,96)	1,82 (0,05)	60,9 (0,81)	6,09
4	0	10	64,14 (0,16)	9,94 (1,65)	10,91 (0,83)	1,82 (0,09)	54,4 (3,75)	6,17
5	6	10	63,70 (0,08)	10,00 (1,28)	11,96 (0,5)	2,05 (0,06)	63,3 (2,24)	6,43
6	12	10	61,36 (0,13)	10,45 (3,62)	12,00 (1,23)	1,84 (0,08)	84,4 (0,92)	6,12
7	0	12	69,59 (0,04)	12,00 (0,96)	10,67 (0,35)	1,47 (0,03)	78,9 (3,75)	6,25
8	6	12	64,52 (0,47)	12,23 (1,62)	11,15 (0,77)	2,07 (0,06)	67,9 (2,87)	6,40
9	12	12	59,66 (0,21)	12,36 (1,77)	11,95 (0,84)	1,94 (0,08)	87,3 (1,29)	6,15
Control			58,48 (0,02)	24,00 (2,36)	12,59 (1,56)	1,62 (0,03)	79,76 (0,01)	6,2

(*) Desviación Estándar; n = 3

Las variaciones de grasa fluctúan en valores que van del 7 al 12% que, si se compara con la salchicha control que tiene un 24% de grasa, se puede observar que se ha logrado una disminución considerable de hasta un 65%, semejante a lo logrado en otros trabajos con adición de inulina [44–46]. Los valores de grasa corresponden con los niveles diseñados para las fórmulas utilizadas. En el valor de pH se observa que no hay diferencias significativas entre los diferentes experimentos, por lo que se asume que la

inulina no tiene incidencia en este parámetro, concordando con los trabajos reportados por otros autores: [47,48,45]. Los contenidos de proteína obtenidos van desde 10,64% hasta 12%, al establecerse un contenido de carne constante en todos los casos, no se observan diferencias sustanciales.

Los resultados microbiológicos se pueden observar en la Figura 1, obteniéndose conteos de microorganismos mesófilos y psicrófilos bajos, manteniendo los niveles adecuados para este tipo de producto (menor a $1,0 \times 10^6$ UFC/g) según la norma NTE INEN 1338:2012 [50]. En el caso de las enterobacterias los conteos dieron resultados con valores inferiores a los límites de detección, lo que estuvo en correspondencia con el tratamiento térmico recibido.

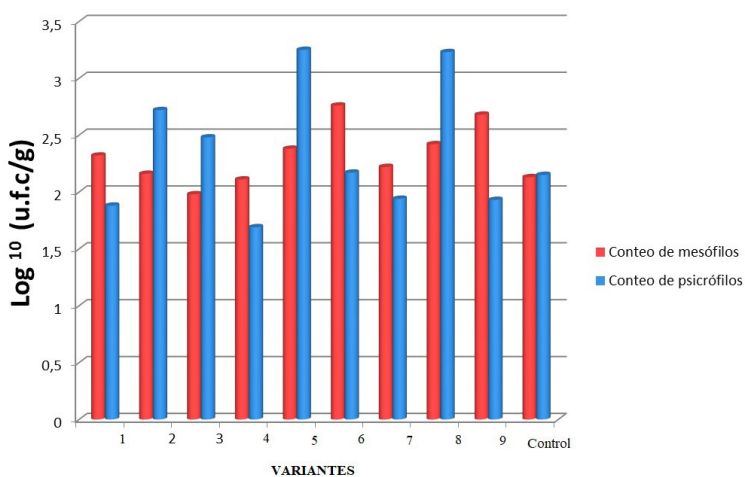


FIGURA 1. Calidad microbiológica inicial de las pastas cárnicas (log UFC/g).

Del análisis de regresión, se pudo observar que los modelos que resultaron significativos ($\alpha= 5\%$) fueron cuadráticos para el parámetro dureza instrumental y textura sensorial y resultaron no significativos (Tabla 8) para el resto de los parámetros evaluados elasticidad, cohesividad y atributos sensoriales (aspecto, color, sabor y jugosidad). Consecuentemente, no fue posible encontrar para estas variables un modelo matemático que explicara su comportamiento a partir de los niveles estudiados de inulina y grasa. Esto confirmó que dichos parámetros no se vieron afectados con las variaciones realizadas en los factores estudiados.

TABLA 8. Significancia de los modelos de predicción de las variables de respuesta analizadas.

Variable	Modelo	F	R ²	Significancia
Dureza	Lineal	3,89	0,8043	ns
	Cuadrático	44,13	0,9692	*
Elasticidad	Lineal	4,30	0,3007	ns
	Cuadrático	5,27	0,5350	ns



Variable	Modelo	F	R ²	Significancia
Cohesividad	Lineal	7,10	0,0051	ns
	Cuadrático	11,07	0,2051	ns
Aspecto	Lineal	2,68	0,2728	ns
	Cuadrático	3,78	0,4440	ns
Textura	Lineal	42,85	0,0248	ns
	Cuadrático	6,22	0,9153	*
Sabor	Lineal	41,89	0,0054	ns
	Cuadrático	48,03	0,4232	ns
Color	Lineal	1,53	0,1409	ns
	Cuadrático	1,44	0,4571	ns
Jugosidad	Lineal	38,51	0,0487	ns
	Cuadrático	25,12	0,6788	ns

*: Diferencias significativas entre tratamientos al 95%; ns: diferencias no significativas. Los modelos matemáticos de predicción de los parámetros de calidad de las salchichas a partir de las variables contenido de inulina (X₁) y grasa (X₂), cuyos ajustes resultaron significativos, se observan en la Tabla 9.

TABLA 9. Modelos de predicción de los parámetros de calidad de las salchichas

Ecuación	N°
Dureza = 5,15 + 0,23 X ₁ + 0,44 X ₂ - 0,22 X ₁ X ₂ - 0,26 X ₁ ² + 0,28 X ₂ ²	Ec. 1
Textura = 5,62 + 0,055 X ₁ + 0,006 X ₂ - 0,23 X ₁ X ₂ - 0,31 X ₁ ² - 0,12 X ₂ ²	Ec. 2

X₁: contenido de Inulina; X₂: contenido de grasa

Los valores de dureza para las variantes estudiadas oscilaron entre 4,50 y 5,85 kg (Tabla 10), correspondiendo el valor más bajo a la variante 8% de grasa, que contiene en su formulación solo 4% de almidón de papa. Lo que concuerda con lo descrito por la literatura que señala que en productos donde la disminución del nivel de grasa se realiza aumentando el porcentaje de agua y manteniendo constante la cantidad de proteína, se obtienen productos que exhiben valores inferiores de dureza [6].

TABLA 10. Parámetros texturales de las salchichas elaboradas bajo las diferentes variantes

Variante	Inulina (%)	Grasa (%)	Dureza (kg)	Elasticidad (mm)	Cohesividad (adimensional)
1	0	8	4,50 (1,15)	6,50 (0,03)	0,24 (0,02)
2	6	8	4,99 (0,36)	7,30 (0,03)	0,28 (0,01)
3	12	8	4,97 (0,98)	7,50 (0,01)	0,25 (0,02)
4	0	10	4,62 (0,85)	7,03 (0,02)	0,25 (0,02)
5	6	10	5,20 (1,34)	7,00 (0,01)	0,25 (0,02)

Variante	Inulina (%)	Grasa (%)	Dureza (kg)	Elasticidad (mm)	Cohesividad (adimensional)
6	12	10	5,13 (0,80)	6,80 (0,01)	0,29 (0,01)
7	0	12	5,43 (0,68)	7,35 (0,01)	0,28 (0,03)
8	6	12	5,85 (0,83)	7,10 (0,01)	0,25 (0,01)
9	12	12	5,81 (0,67)	7,90 (0,08)	0,24 (0,02)
	Control		6,60 (0,82)	7,00 (0,67)	0,25 (0,02)

() Desviación Estándar; n= 4

Como puede observarse en la Figura 2, a medida que aumenta el contenido de inulina y grasa, es mayor la dureza, esto se debe a las propiedades funcionales de la inulina [41] y el almidón de papa [43] las cuales ayudan a retener el agua añadida, formar un gel firme, resistente y proveen cohesividad y estabilidad a la emulsión.

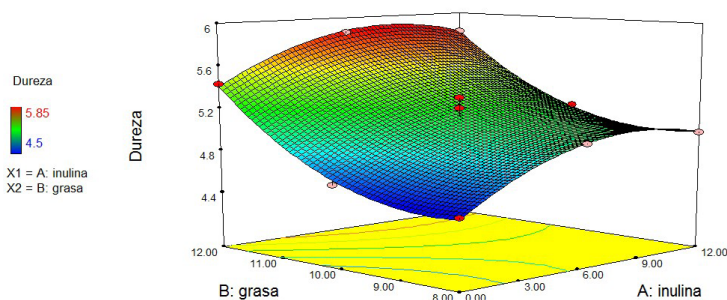


FIGURA 2. Superficie de respuesta para la dureza instrumental (mm) de las salchichas en función del contenido (%) de inulina y grasa de la formulación.

Los resultados obtenidos son similares a los descritos por diversos autores [46]. En un estudio realizado con salchichas con altos (39%) y bajos porcentajes en grasa (15%) y la adición de 7,5% de inulina, observaron que en salchichas bajas en grasa cuando se adiciona la inulina en forma de polvo, tiende a endurecer el producto. Se puede decir que la grasa enmascara el efecto endurecedor de la inulina en polvo a esa concentración, mientras que la elasticidad fue menor que la del control (39% de grasa). Cuando la inulina fue añadida en los mismos niveles, pero en forma de gel, no se modificó la elasticidad, pero la cohesividad y dureza mostraron cambios, observándose una menor dureza y cohesividad con respecto al control. Al parecer, la inulina en forma de gel transfiere su característica cremosa a la salchicha volviéndola más suave, alcanzando valores similares de dureza en relación a la salchicha convencional que contiene 39% de grasa.

En un estudio [44] con salchichas elaboradas con inulina en forma de gel como sustituto de grasa (3 a 12%), en el que fueron disminuyendo la grasa a medida que incrementaba la concentración de inulina y manteniendo constante el contenido de carne (55%). Se observó que con el incremento de inulina las salchichas mostraron una vaga tendencia



a ser más duras, hecho que pudiese ser mayoritariamente atribuido a la reducción del contenido de grasa (de 24% de grasa en el control a aproximadamente 8,5% de grasa en las salchichas con 12% de inulina) que a la adición de inulina. Lo cual concuerda con los resultados de otros investigadores [48,45,12]. No obstante en otro estudio [51], obtuvieron salchichas reducidas en grasa más suaves, donde concentraciones por encima de 10% de inulina tienen un efecto ablandador significativo, esta discrepancia puede deberse a las diferencias en el diseño experimental y la composición de la inulina, ya que las propiedades de la misma dependen de su grado de polimerización.

Con respecto a la influencia de la grasa y el agua, se conoce que la dureza aumenta al disminuir la grasa, siempre que se mantenga constante el contenido de proteína [10], pero en las pastas cárnicas elaboradas con poca grasa (6 a 12%) y grandes cantidades de agua, ésta última impide que ocurra un incremento significativo de la dureza, o al menos, evita en algo dicho incremento. En este experimento, en general se aprecia un aumento en los valores de dureza, a medida que se eleva el contenido de inulina, independientemente del nivel de grasa (Tabla 8). Situación que puede deberse a las propiedades funcionales de la inulina y del almidón de papa que ayuda a retener el agua añadida [10,11,45,12,44]. La elasticidad no se vio afectada por los porcentajes de inulina y grasa. Estos resultados concuerdan a los encontrados en [12] y [46], quienes trabajaron en mortadela reducida en grasa con adición de inulina en concentraciones del 2,5 al 7,5% donde obtuvieron valores de elasticidad muy similares con respecto al control en todos los casos.

Aunque la textura sensorial resultó significativa con un nivel de confianza del 95%, en el análisis de varianza, es importante señalar que al analizar los datos obtenidos de la evaluación sensorial se aprecia que no hay gran variabilidad en los mismos, por lo que, a efecto de la investigación se considera que esta variable respuesta no varía significativamente con los cambios de concentración de inulina y grasa (Figura 3).

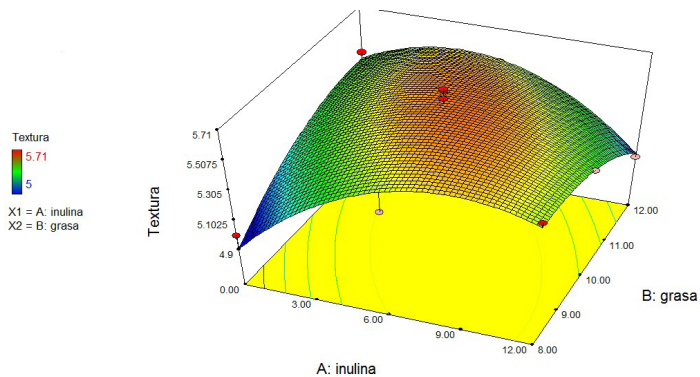


FIGURA 3. Superficie de respuesta de la textura sensorial de las salchichas en función del contenido (%) de inulina y grasa de la formulación

De la evaluación sensorial los parámetros aspecto, textura, sabor y color, recibieron calificaciones entre 5,0 y 6, es decir de “Bueno” a “Muy Bueno” (Figura 4), lo que significa que estos atributos no se afectaron con la relación inulina-grasa estudiada. A pesar

de que el atributo jugosidad no resultó significativo, se observa que las variantes con inulina obtuvieron una puntuación mayor que las muestras sin inulina, dado que por sus características funcionales mejora la jugosidad y la sensación bucal de los productos [44]. Las calificaciones de la jugosidad oscilaron entre 3,38 y 4,5, por lo que se podría decir que se obtuvieron productos jugosos. Con lo antes expuesto, se puede evidenciar que estos atributos no fueron afectados en los niveles inulina - grasa ensayados. Puede concluirse, que estos aditivos tienen una importante capacidad para retener la humedad y los jugos de la carne, además de actuar como estabilizadores contribuyendo a la apariencia, palatabilidad y la textura del producto final [11,41,3].

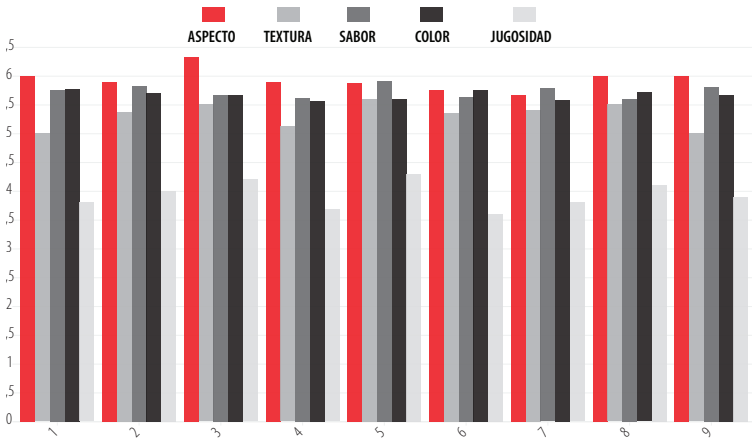


FIGURA 4. Resultados de la evaluación sensorial de las salchichas elaboradas con inulina y almidón de papa

Se destaca que las salchichas con inulina tuvieron un brillo que fue evaluado favorablemente por los panelistas en el parámetro color, no siempre observado en otros tipos de sustitutos de grasa. Este resultado en el color es semejante al reportado en [48] donde se elaboraron salchichas bajas en grasa con incorporación de dos tipos de fibras inulina y oligofruktosa al 15% y 30%, donde se observó un mejor resultado en cuanto al color en la salchicha con inulina por obtener valores muy parecidos frente al control (con alto porcentaje de grasa).

Con relación al efecto de la inulina y la grasa sobre las puntuaciones otorgadas a la textura, la literatura informa diferentes resultados. [45,46,52] describieron resultados similares a los obtenidos en este experimento, donde los catadores no fueron capaces de detectar los cambios que introdujeron los porcentajes de este aditivo, mientras que otros autores refieren que con cantidades de inulina por encima de 7,5%, los productos recibieron menores calificaciones por los panelistas [44,12].

Resultados similares fueron reportados por [53], quienes estudiaron la influencia de la inulina como sustituto de grasa en bolas de carne de cerdo, evidenciando diferencias significativas en cuanto al color, consistencia, jugosidad, aroma y sabor evaluados sensorialmente frente a un producto control con alto contenido de grasa. Otro trabajo realizado [45], que incorporó inulina a diferentes concentraciones 7,5, 12, 12,5 y 14%, en salchichas fermentadas reducidas en grasa, describe el mismo efecto en el sabor con calificaciones favorables y sin variabilidad significativa con excepción de la muestra con



adición de 6% de inulina en forma de gel que obtuvo una calificación menor. Con estos resultados se confirma lo descrito por [3] que dice que la inulina tiene sabor neutro y no tiene impacto sobre las propiedades sensoriales.

Caracterización del envase

El material de la tripa está compuesto por poliamida 6, el peso base y espesor fue de 46,23 g·m⁻² y 44,90 μm respectivamente. La fuerza de tensión y la elongación fueron de 70,67 N·mm⁻¹ y 49,45% y resistieron adecuadamente la presión de embutido de la salchicha. La permeabilidad al vapor de agua de la tripa fue de 13,15 g·m⁻²·24 h⁻¹, encontrándose dentro de los valores reportados en la literatura para tripas impermeables [54].

En la Tabla 11 se reporta el resultado obtenido de la medición del espesor del material complejo de ambas caras de la bolsa y sus respectivas capas, así como la identificación de los polímeros que la componen. En dicha tabla se muestra también la permeabilidad al vapor de agua de las dos películas complejas PET/PEBD correspondientes a la cara superior e inferior de la bolsa.

TABLA 11. Características del material de envase en ambas caras de la bolsa

Material	Grosor (μm)	Capa externa (PET)	Capa interna (PEBD)	Permeabilidad vapor de agua ¹ (g·m ⁻² ·24 h ⁻¹)
Cara superior	89,0 (0,8)	22,8 (0,4)	66,2 (0,6)	1,89 (0,06)
Cara inferior	88,8 (0,8)	22,4 (0,5)	66,4 (0,5)	2,01 (0,07)

¹: Permeabilidad medida a 23 °C y 85% HR; PET: Polietileno tereftalato (Poliéster); PEBD: Polietileno de baja densidad; () Desviación Estándar; n=

En los resultados de resistencia al sellado térmico de los diferentes cierres de la bolsa se encontró que ninguno de ellos se despegó o partió al aplicárseles tensión. En los cinco ensayos realizados a cada uno de estos cierres, la probeta se elongó más de 25 mm hasta registrarse una fuerza de tracción de 16 N, partiéndose la película por una zona fuera del área de sellado, lo que indicó la alta resistencia al sellado de estos cierres.

Selección de la mejor variante

En la Figura 5 se presenta la superficie de respuesta óptima que cumple con las restricciones impuestas en la Tabla 2. Tal como puede apreciarse, hay un área extensa donde se logran fórmulas de óptima calidad. Con el objetivo de obtener un alimento funcional y económico, se selecciona como mejor variante a la de menor contenido de grasa y bajas concentraciones de aditivo: 6,67% de inulina, 8,73% de grasa y 4% de almidón de papa.

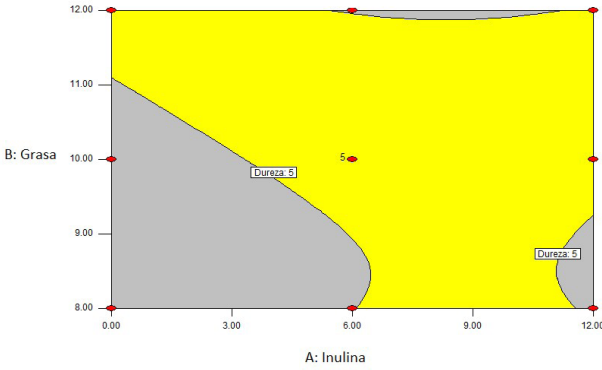


FIGURA 5. Superficie de respuesta óptima de salchichas en función del contenido (%) de inulina y grasa de la formulación

Vida útil de las salchichas seleccionadas

Los productos recién elaborados presentaron una composición química acorde con los índices que se prescriben para el mismo (Tabla 12) y se consideraron aptos para realizar las pruebas de vida útil. Los cambios detectados en la humedad indican que la reducción de grasa se hizo a expensas del incremento de la concentración de agua. La actividad de agua (a_w), que es el índice que resulta más importante para la durabilidad, presentó pocas variaciones debido al efecto más fuerte que tiene el cloruro sobre la misma.

TABLA 12. Composición, nitratos pH y a_w al inicio del almacenamiento en refrigeración

Formulación	Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	NaNO ₃ (ppm)	pH	a_w
6,67% I + 8,73%G	63,52	10,20	11,78	88,39	6,2	0,979

G:grasa; I:inulina

Se observó una disminución del pH (Figura 6), más marcado en las muestras no tratadas térmicamente, mientras que en las que se repasteurizaron luego del empaquetado fue menor. El empaquetado en bolsas previno a los productos cárnicos de la recontaminación microbiana, que incide en la disminución del pH. A esto contribuyó el tener un nuevo obstáculo, que es la repasteurización, que tiene un efecto reductor sobre la flora contaminante que pudo haber quedado luego del empaquetado al vacío.

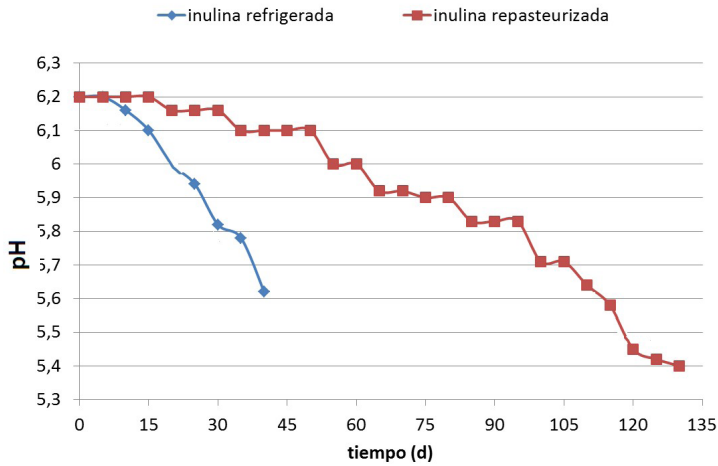


FIGURA 6. Evolución en el tiempo del pH de las salchichas de receta optimizada sometidas a diferentes tratamientos de conservación tras su elaboración.

La disminución de pH estuvo originada por el incremento en los conteos microbianos. Además de la disminución del pH, se vieron afectadas las características organolépticas del producto (olor, sabor y aroma), influyendo directamente en la aceptación del mismo y, por lo tanto, en la vida útil, ya que la evaluación sensorial fue el criterio de rechazo elegido, por ser éste el parámetro utilizado por los consumidores. La calidad microbiológica de los productos al inicio del almacenamiento fue la adecuada, cumpliendo con las exigencias de la Norma de Contaminantes Microbiológicos del Sistema de Normas Sanitarias de Alimentos (Tabla 13).

TABLA 13. Calidad microbiológica de los embutidos tipo salchicha al inicio del almacenamiento en refrigeración.

Muestras (t=0)	Aerobios mesófilos (log UFC)	Psicrófilos (log UFC)
Con inulina	1,48±0,008	2,70±0,007

El conteo de aerobios mesófilos totales fue del orden de 10^2 ; el de psicrófilos algo más elevado. Es fácil entender esta diferencia entre los conteos pues se trata de un producto refrigerado y el número de enterobacterias fue indetectable (datos no mostrados). Por lo antes expuesto, se puede concluir que los productos recibieron un adecuado tratamiento térmico, siendo elaborados con buenas prácticas de higiene, por lo que fueron aptos para los estudios de durabilidad.

Los conteos microbianos aumentaron significativamente con el tiempo, algo más marcado en las variantes que sólo recibieron el tratamiento de empaque al vacío, mientras que en las repasteurizadas el crecimiento de microorganismos alcanzó la fase de aceleración en un intervalo mayor de tiempo. Esto podría deberse al efecto combinado de los dos obstáculos que deben vencer los microorganismos presentes para desarrollarse. Se observó, además, que en las variantes que sólo fueron empacadas al vacío, en menos de 30 días los conteos de aerobios mesófilos se encontraron en 4

unidades logarítmicas, valor límite que se permite para este tipo de productos [55,56]. En el caso de las variantes que se sometieron a los dos tratamientos (empaque al vacío y repasteurización), después de 110 días, los valores de aerobios mesófilos llegaron al límite establecido.

La tendencia de los conteos de bacterias productoras de ácido durante el almacenamiento fue aumentar entre los 35 y 40 días hasta superar las cuatro unidades logarítmicas, dato que coincide con la fecha del rechazo de las variantes empacadas al vacío. Estos microorganismos tienen un lento crecimiento, por lo cual son capaces de desarrollarse en productos envasados al vacío donde otras bacterias de más rápido crecimiento en condiciones aerobias no se desarrollan debido al ambiente microaerófilico.

Al utilizar la repasteurización, el incremento en el tiempo de las bacterias productoras de ácido se hizo más lento y se extendió la durabilidad de los productos, sin embargo, entre los 125 y 130 días los recuentos de estos microorganismos indicadores estuvieron por encima de cuatro unidades logarítmicas. Shumaker y Feirtag (1997) [57] observaron que el deterioro de los productos empacados al vacío ocurría por la presencia de bacterias productoras de ácido que, a pesar de eliminarse durante el tratamiento térmico, se vuelven a reproducir por una recontaminación posterior a la cocción.

Con relación al resto de los indicadores microbianos determinados, en el caso de las levaduras y microorganismos psicrófilos, los conteos durante todo el estudio de durabilidad se mantuvieron en una unidad logarítmica, mientras que no se encontró presencia de coliformes fecales, hongos y *Staphylococcus coagulans* positivos, lo que avala la calidad sanitaria de los productos. Además, en ninguno de los productos se encontró presencia de *Salmonella* (datos no mostrados).

La seguridad y calidad en el estudio estuvieron también relacionadas con las operaciones de envasado, cuyo éxito está en función de las propiedades del material de envase, la eficiencia en conseguir el vacío deseado y la integridad del envase, así como de las condiciones y del control de la temperatura. En las salchichas únicamente envasadas a vacío, se presentó un exudado lechoso y los jueces calificaron el sabor de las mismas como ácidas a partir de los 47 días de almacenamiento.

Los parámetros texturales que se muestran en la Tabla 14, permiten observar que no se encontraron diferencias significativas con un 95% del nivel de confianza para la fórmula con 5% de inulina y 8% de grasa entre el inicio y final del estudio de vida útil de cada formulación.

TABLA 14. Resultados de los parámetros del perfil de textura de las variantes seleccionadas refrigeradas y repasteurizadas-refrigeradas al inicio y final del período de vida útil.

Parámetro	Tratamiento	Inicio	Final	Diferencias
Dureza (kg)	C/R	5,50	5,47	ns
	RP/R	6,23	6,12	ns
Elasticidad (mm)	C/R	7,32	7,28	ns
	RP/R	8,02	8,13	ns



**Cohesividad
(adimensional)**

C/R	0,23	0,22	ns
RP/R	0,25	0,23	ns

C/R: Cocinada-refrigerada; RP/R: Repasteurizada-refrigerada; ns: diferencias no significativas al 95 % de confianza

En la Tabla 15 se muestran los resultados del análisis de riesgos de Weibull para la determinación de la vida útil de las salchichas envasadas al vacío y refrigeradas y las que recibieron después de envasadas al vacío un tratamiento de repasteurización y posteriormente se refrigeraron. Se exponen los percentiles del 5% por ser el riesgo aceptado en el trabajo.

TABLA 15. Vida útil, calculada a partir del análisis de riesgos de Weibull, de las salchichas sometidas a diferentes tratamientos térmicos, y almacenadas en refrigeración entre 2 y 4 °C.

Tratamiento	Promedio (días)	Límite inferior ¹	Límite superior ¹
		(días)	
C/R	29,77 (0,012)	26,56 (0,007)	33,37 (0,011)
RP/R	114,37 (0,008)	112,18 (0,009)	116,60 (0,012)

C/R: Cocinada-refrigerada; RP/R: Repasteurizada-refrigerada; ¹: promedio +/- intervalo confianza 95%

Seleccionando de estos valores el límite inferior, para una mayor confianza, se puede decir que la vida útil de las salchichas envasadas al vacío y refrigeradas fue de 26 días para la formulación con 6,67 % de inulina, 8,73 % de grasa y 4 % de almidón de papa. Para las salchichas envasadas al vacío y repasteurizadas fue de 112 días para la misma formulación.

CONCLUSIONES

A partir del presente trabajo de investigación fue posible desarrollar un derivado cárnico emulsificado tipo salchicha con potencialidades funcionales, y que cumplen con el objetivo de reducir el contenido de grasa y una adecuada calidad sensorial y microbiológica, empleando concentraciones entre el 0 y el 12% de inulina, el 8% y el 12% de grasa y un 4% de almidón de papa, lo que concuerda con lo reportado por otros autores [58]. A partir de la metodología empleada, se verifica que la mejor variante seleccionada para los criterios establecidos dentro de este trabajo correspondió a salchichas elaboradas con un 6,67% de inulina y un 8,73% de grasa. Se observó que la inulina produce un aumento significativo de la dureza de los productos, independientemente del nivel utilizado, sin embargo, no afecta las características sensoriales y mantiene la jugosidad de las mismas.

La vida útil de la salchicha con 6,67% de inulina y 8,73% de grasa, empacada en bolsas al vacío y almacenada en refrigeración, utilizando como criterio de evaluación el análisis sensorial, se prolongó hasta 26 días, y aplicando un tratamiento adicional de repasteurización, su vida útil llegó a ser de hasta 112 días. Por ello, la técnica de repasteurización puede ser considerada como una opción viable para uso industrial.

REFERENCIAS

- [1] Alviórez-Morales, A., González-Martínez, B. E., & Jiménez-Salas, Z. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista salud pública y Nutrición*, 3(3).
- [2] Lajolo, F.M.; Menezes, E. (2006) Carbohidratos en Alimentos Regionales Iberoamericanos. Ed. Universidad de Sao Paulo. Brasil. p. 549.
- [3] January, L. (2005). Inulin, a soluble fibre as fat substitute in meat products. *Food Ingredients and Analysis International*, 27(4), 25.
- [4] Villegas, B. (2008). Efecto de la adición de inulina en las características físicas y sensoriales de batidos lácteos. (Tesis doctoral, Valencia: Universidad Politécnica de Valencia).
- [5] Olmedilla-Alonso, Begoña, & Jiménez-Colmenero, Francisco. (2014). Functional meat products: development and evaluation of their health-promoting properties. *Nutrición Hospitalaria*, 29(6), 1197-1209. doi: <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2014.29.6.7389>
- [6] Jiménez-Colmenero, F. (2004). Estrategias tecnológicas en el desarrollo de derivados cárnicos funcionales. En: F. Jiménez-Colmenero, F. J. Sánchez-Lin, M. J. Y.; Humbert, E. S. y Sosulsky, F. W.n (1974). *Journal of Food Science* 39(2) 368-370.
- [7] Sánchez, A. T. (2007). Productos cárnicos emulsionados bajos en grasa y sodio. *Nacameh*, 1(1), 53-66.
- [8] Colmenero, F. J. (1996). Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 7(2), 41-48. doi: [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)81327-6](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)81327-6)
- [9] Pacheco Pérez, W. A., Restrepo Molina, D. A., & Sepúlveda Valencia, J. U. (2011). Revisión: uso de ingredientes no cárnicos como reemplazantes de grasa en derivados cárnicos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín; Vol. 64, núm. 2(2011) 2248-7026 0304-2847*.
- [10] Ahmed, P. O., Miller, M. F., Lyon, C. E., Vaughters, H. M., & Reagan, J. O. (1990). Physical and sensory characteristics of low fat fresh pork sausage processed with various levels of added water. *Journal of Food Science*, 55(3), 625-628. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb05192.x>
- [11] MATULIS, R. J., McKEITH, F. K., SUTHERLAND, J. W., & BREWER, M. S. (1995). Sensory characteristics of frankfurters as affected by salt, fat, soy protein, and carrageenan. *Journal of Food Science*, 60(1), 48-54. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb05604.x>
- [12] Selgas, M. D., Cáceres, E., & García, M. L. (2005). Long-chain soluble dietary fibre as functional ingredient in cooked meat sausages. *Food Science and Technology International*, 11(1), 41-47. doi: <https://doi.org/10.1177%2F1082013205051273>
- [13] Guerra, M., Martín, M., Herrera, H., Jiménez-Colmenero, F., Casals, C. Núñez de Villavicencio, M., Barrero, E. (2001). Estudio de la estabilidad de salchichas con bajo contenido de grasa envasada al vacío. *La Industria Cárnica Latinoamericana*. No. 124, 33-39.
- [14] Jiménez-Colmenero, F. (1995). Productos Cárnicos con bajo contenido en grasa. *Eurocarne* 35, 53-62.
- [15] Mina, J., & Shirley, K. (2014). *Elaboración de salchicha tipo vienesa con sustitución parcial de grasa de cerdo por fibra dietética (Inulina)* (Tesis de licenciatura, Machala: Universidad Técnica de Machala).
- [16] NC 275. (2005). *Norma Cubana*. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de humedad. Método rápido. pp. 6.
- [17] NC ISO 1443 (2004). *Norma Cubana*. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de grasa total. pp. 6.
- [18] NC ISO 937 (2006). *Norma Cubana*. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de nitrógeno. pp. 7.
- [19] NC ISO 2917 (2004). *Norma Cubana*. Carne y productos cárnicos. Medición del pH. Método de referencia. pp. 9.
- [20] NC ISO 712. (2002). *Norma Cubana*. Cereales y productos de cereales. Determinación del contenido de humedad. pp. 11.
- [21] NC ISO 2171 (2002). *Norma Cubana*. Cereales y productos de cereales. Determinación de cenizas. pp. 9.



- [22] Horwitz, W. (1975). *Official methods of analysis* (Vol. 222). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- [23] Imeson, A. (Ed.). (2011). *Food stabilisers, thickeners and gelling agents*. John Wiley & Sons.
- [24] Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 32(7): 62-66, 72.
- [25] NC ISO 936. (2006). *Norma Cubana*. Carne y productos cárnicos. Determinación de ceniza total. pp. 9.
- [26] NC ISO 1841-1 (2004). *Norma Cubana*. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de cloruro. Parte I: Método de Volhard. pp. 8.
- [27] NC 357 (2004). *Norma Cubana*. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de nitrato. pp. 6.
- [28] NC ISO 4833-1 (2014). *Norma Cubana*. Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la enumeración de microorganismos. Parte 1: Conteo de colonias a 30 °C por la técnica de placa vertida. pp. 12.
- [29] NC ISO 4831 (2010). *Norma Cubana*. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección y enumeración de coliformes. Técnica del número más probable. pp.14.
- [30] NC ISO 4832 (2010). *Norma Cubana*. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección y enumeración de coliformes. Técnica de conteo de colonias método de referencia. pp. 10.
- [31] NC 1004 (2014). Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de levaduras y mohos. Técnica a 25°C. pp. 11.
- [32] NC ISO 6579 (2008). *Norma Cubana*. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección de *Salmonella* spp. Método de referencia. pp. 36.
- [33] NC ISO 6888-1 (2003). *Norma Cubana*. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la enumeración de *Staphylococcus* coagulasa positiva (*Staphylococcus aureus* y otras especies). Parte 1: Técnica utilizando el medio agar Baird Parker. pp. 17.
- [34] NC ISO 536 (1999). *Norma Cubana*. Papel y cartón. Determinación del gramaje. pp. 8.
- [35] ASTM E252-06 (2013). Standard Test Method for Thickness of Foil, Thin Sheet, and Film by Mass Measurement. ASTM International, West Conshohocken, PA. www.astm.org
- [36] NC ISO 527-3 (2012). *Norma Cubana*. Plásticos. Determinación de las propiedades en tracción. Parte 3: Condiciones de ensayo para películas y hojas. pp. 7.
- [37] NC ISO 2528 (2010). *Norma Cubana*. Materiales en lámina. Determinación de la velocidad de transmisión al vapor de agua. Método gravimétrico (de la cápsula). pp. 18.
- [38] ASTM F88 / F88M-09 (2009). Standard Test Method for Seal Strength of Flexible Barrier Materials. ASTM International, West Conshohocken, PA. www.astm.org
- [39] Guerra, M. A., Pérez, D., Hernández, U., de Hombre Morgado, R., Frómata, Z., Pérez, G., & Rodríguez, F. (2017). Efecto de la harina de plátano sobre la calidad de un embutido tipo mortadella. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 21(3). pág. 22-26.
- [40] Cardelli, C., & Labuza, T. P. (2001). Application of Weibull hazard analysis to the determination of the shelf life of roasted and ground coffee. *LWT-Food Science and Technology*, 34(5), 273-278. doi: <https://doi.org/10.1006/fstl.2000.0732>
- [41] Madrigal, L., & Sangronis, E. (2007). La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 57(4), 387-396.
- [42] Phillips, G. O., & Williams, P. A. (Eds.). (2000). *Handbook of hydrocolloids* (pp. 53-64). Boca Raton, FL: CRC press.
- [43] Carballo, J., Barreto, G., & Colmenero, F. J. (1995). Starch and egg white Influence on properties of bologna sausage as related to fat content. *Journal of Food Science*, 60(4), 673-677. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb06204.x>
- [44] Nowak, B., Von Mueffling, T., Grotheer, J., Klein, G., & Watkinson, B. M. (2007). Energy Content, Sensory Properties, and Microbiological Shelf Life of German Bologna Type Sausages Produced with Citrate or Phosphate and with Inulin as Fat Replacer. *Journal of Food Science*, 72(9), S629-S638. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00566.x>

- [45] Mendoza, E., García, M. L., Casas, C., & Selgas, M. D. (2001). Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat science*, 57(4), 387-393. doi: [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00116-9](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00116-9)
- [46] Luisa García, M., Cáceres, E., & Dolores Selgas, M. (2006). Effect of inulin on the textural and sensory properties of mortadella, a Spanish cooked meat product. *International journal of food science & technology*, 41(10), 1207-1215. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01186.x>
- [47] Mencía Guevara, A. M., Fuentes, B., & Acosta Marchetti, A. (2010). *Efecto de dos concentraciones de fosfato, de grasa y la adición de inulina sobre las propiedades físicas y sensoriales de una salchicha de pollo reducida en sal* (No. T3028). ESCUELA AGRÍCOLA PANAMERICANA.
- [48] Villalobos, C. E. V., Simental, S. S., & Delgado, L. H. V. (2010). Efecto de la fibra dietética sobre la textura de salchichas tipo Viena. *Nacameh*, 4(2), 37-43.
- [49] Mittal, G. S., & Barbut, S. (1994). Effects of fat reduction on frankfurters' physical and sensory characteristics. *Food Research International*, 27(5), 425-431. doi: [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(94\)90236-4](https://doi.org/10.1016/0963-9969(94)90236-4)
- [50] NTE INEN 1338 (2012). *Norma Técnica Ecuatoriana*. Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados—madurados y productos cárnicos precocidos—cocidos. Requisitos. pp. 11.
- [51] Cáceres, E., García, M. L., Toro, J., & Selgas, M. D. (2004). The effect of fructooligosaccharides on the sensory characteristics of cooked sausages. *Meat Science*, 68(1), 87-96. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.02.008>
- [52] Hadorn, R., Piccinali, P., Guggisberg, D., & Suter, M. (2008). Inulin-induced fat reduction in lyoner sausages. In *54th International Congress of Meat Science and Technology* (Vol. 3, pp. 1-3).
- [53] Flaczyk, E., Górecka, D., Kobus, J., & Szymandera-Buszcza, K. (2009). The influence of inulin addition as fat substitute on reducing energy value and consumer acceptance of model pork meatballs. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 16(4).
- [54] Theller, H. W. (1989). Heatsealability of flexible web materials in hot-bar sealing applications. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 5(1), 66-93. doi: <https://doi.org/10.1177%2F875608798900500107>
- [55] ICMSF (1986). *Ecología Microbiana de los Alimentos*. Acribia, Zaragoza.
- [56] NC 585 (2015). *Norma Cubana*. Contaminantes microbiológicos en alimentos. Requisitos sanitarios (Obligatoria). pp. 27.
- [57] Shumaker, S., & Feirtag, J. (1997). Environmental analysis methods utilized to determine the contamination sources in a sausage processing plant. *Dairy, food and environmental sanitation*, 17(5), 274-280.
- [58] Chávez, N.A.; Rodríguez, G.M. (2017). Elaboración de un producto cárnico funcional. (Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Aguas Calientes).

Neural network-based analytical model to predict the shear strength of steel girders with a trapezoidal corrugated web

Jun He¹, Miguel Abambres^{2,3}

¹ School of Civil Eng, Changsha University of Science and Technology, 410114, Changsha, PR China; ORCID: 0002-4353-5123

² R&D, Abambres' Lab, 1600-275 Lisbon, Portugal

³ Escola de Tecnologias e Engenharia, Instituto Superior de Educação e Ciências (ISEC), 1750-142 Lisboa, Portugal

*Autor para Correspondencia / Corresponding author, email: abambres@netcabo.pt

Modelo analítico basado en redes neuronales para predecir la estabilidad a cortante de vigas de acero con un alma corrugada trapezoidal

Abstract

Corrugated webs are used to increase the shear stability of steel webs of beam-like members and to eliminate the need of transverse stiffeners. Previously developed formulas for predicting the shear strength of trapezoidal corrugated steel webs, along with the corresponding theory, are summarized. An artificial neural network (ANN)-based model is proposed to estimate the shear strength of steel girders with a trapezoidal corrugated web, and under a concentrated load. 210 test results from previous published research were collected into a database according to relevant test specimen parameters in order to feed the simulated ANNs. Seven (geometrical and material) parameters were identified as input variables and the ultimate shear stress at failure was considered the output variable. The proposed ANN-based analytical model yielded maximum and mean relative errors of 0.0% for the 210 points from the database. Moreover, still based on those points, it was illustrated that the ANN-based model clearly outperforms the other existing analytical models, which yield mean errors larger than 13%.

Keywords: Shear strength, corrugated webs, trapezoidal corrugation, steel girders, artificial neural networks, analytical model

Resumen

Las almas corrugadas son usadas para incrementar la estabilidad a cortante de las almas de las vigas de acero de los elementos en forma de viga para eliminar la necesidad de rigidizadores transversales. Las fórmulas desarrolladas con anterioridad para predecir la resistencia a cortante de las almas de acero corrugado trapezoidales son resumidas junto con la teoría correspondiente. Se propone un modelo basado en una red neuronal artificial (ANN por su siglas en inglés) para estimar la resistencia a cortante de las vigas de acero con una alma corrugada trapezoidal y bajo una carga concentrada. Se recopilieron

210 resultados de pruebas de investigaciones publicadas previamente en una base de datos de acuerdo con los parámetros relevantes de la muestra de prueba para alimentar los modelos ANN simulados. Se identificaron siete parámetros (geométricos y materiales) como variables de entrada y el esfuerzo cortante final en caso de falla se consideró la variable de salida. El modelo analítico basado en ANN propuesto, arrojó errores relativos máximos y medios de 0.0% para los 210 puntos de la base de datos. Además, aún con base en esos puntos, se ilustró que el modelo basado en ANN claramente supera a los otros modelos analíticos existentes, que producen errores medios mayores al 13%.

Palabras clave: Resistencia a cortante, almas corrugadas, corrugado trapezoidal, vigas de acero, red neuronal artificial, modelo analítico

INTRODUCTION

Corrugated steel plates without additional stiffeners are characterized by high shear buckling strength and out-of-plane flexural stiffness, having been widely used in structural engineering applications, such as large span roofs, steel plate shear walls, and bridge girders [1-4]. The concept of replacing flat webs with corrugated webs in bridge structures was first proposed in France in 1986, then successfully applied worldwide in the past 30 years [5, 6]. Typically, the corrugations in the web are trapezoidal, but forms like sinusoidal, triangular, and rectangular have also been considered. Corrugations are used to increase the shear stability of webs in beam-like members, thus eliminating the need of transverse stiffeners. This paper focuses on the shear strength of steel webs with trapezoidal corrugations, a topic that has been extensively studied since the end of 20th century, covering both buckling and plasticity phenomena [7-13]. Shimada (1965) [14] was the first to study the shear strength of steel girders made of folded-plate webs. Easley and McFarland (1969) [15] proposed the global shear buckling equation of corrugated webs by treating them as flat and orthotropic. Lindner & Aschinger (1988) [16] carried out experimental tests to assess the shear strength of trapezoidal corrugated steel webs and suggested using 70% of the elastic shear buckling stress as the nominal strength for design purposes. Luo & Edlund (1994, 1996) [17, 18] analysed the buckling of trapezoidal corrugated panels under in-plane loading by spline finite strip and finite element (FE) methods. The influence on the elastic buckling load of various parameters, such as geometry, loading patterns and boundary conditions, was assessed. Elgaaly et al. (1996) [19] presented experimental and analytical results for steel beams with trapezoidal corrugated webs loaded predominantly in shear, and proposed buckling formulas based on (i) the local deformation of the corrugation folds modelled as isotropic flat plates, or (ii) the global deformation of the entire web panel modelled as an orthotropic plate. Metwally (1998) [10] investigated the behaviour of steel girders with trapezoidal corrugated webs and proposed a formula for predicting their nominal shear strength. Yamazaki (2001) [20] proposed formulae for the computation of the buckling strength of corrugated webs, based on results from six full-scale models of steel bridge girder webs. Driver et al. (2006) [21] tested full-scale corrugated web girders made of HPS 485W steel, assessed the effect of web initial geometric imperfections through measurements of the out-of-plane displacements, and proposed a lower bound design equation



that accounts for both local and global buckling of the web in the elastic and inelastic domains. Watanabe et al. (2007) [22] presented test results for the shear capacity of steel girders using four different trapezoidal corrugation shapes. Yi et al. (2008) [23] studied the nature of the interactive shear buckling of corrugated webs and concluded that the first order interactive shear buckling equation not accounting for material inelasticity provides a good estimation of the shear strength of corrugated steel webs by comparison with 15 tests and finite element analysis (FEA) results. Moon et al. (2009) [24] presented three test results, described the shear strength formula previously presented by Yi et al. (2008) [23], and compared the proposed formula and several other formulas with results from 17 tests. Sause & Braxtan (2011) [25] summarized previously developed formulas for predicting the shear strength of trapezoidal corrugated steel webs, along with the corresponding theory, and proposed a novel formula. Nie et al. (2013) [26] conducted an experimental and analytical study to investigate the shear strength of trapezoidal corrugated steel webs. The experimental program involved testing eight H-shaped steel girders with trapezoidal webs. Hassanein and Kharoob (2013a, b) [27, 28] carried out geometrically and materially nonlinear imperfect analyses (GMNIA) of full-scale bridge girders with corrugated steel webs failing by shear and found that when the ratio of flange's thickness to corrugated web's thickness was greater than three, the boundary conditions between flange and web were approximately fixed; a formula for computing the interactive shear buckling of corrugated webs under fixed boundary conditions was proposed. Leblouba et al. (2017a, b) [29, 30] conducted laboratory tests on a series of corrugated steel web beams to investigate their shear behaviors; three typical failure modes were observed and the failure mechanisms on the post-buckling phase were assessed; besides, five analytical models for the estimation of the critical shear buckling stress based on FE analysis results were proposed and validated against test data.

Despite all the research done on the shear behavior of steel members with corrugated webs, design codes or guidelines, with the Eurocode (2005) [31] and JSCE (1998) [32] as exceptions, are still lacking specifications for this type of structural elements [33]. Moreover, there are still many uncertainties and discrepancies associated with test data and proposed models due to many factors, including geometric imperfections of the web, material properties, shear buckling modes, and inconsistencies between the assumed test conditions and the theoretical models. In order to effectively (accurately and efficiently) estimate the shear capacity of corrugated web steel girders, this paper proposes the use of artificial neural networks (also referred in this manuscript as ANN or neural nets), a popular machine learning technique. Machine learning, one of the six disciplines of Artificial Intelligence (AI), without which the task of having machines acting humanly could not be accomplished, allows us to "teach" computers how to perform tasks by providing examples of how they should be done [34]. When there is abundant data (also called examples or patterns) explaining a certain phenomenon, but its theory richness is poor, machine learning can be a perfect tool; as such, its application to the problem of shear in corrugated steel web is suitable and timely. The artificial neural network is the (i) oldest [35] and (ii) most powerful [36] technique of machine learning. ANNs also lead the number of practical applications, virtually covering any field of knowledge [37, 38]. In its most general form, an ANN is a mathematical model designed to perform a particular task, based on the way the human brain processes information, i.e., with the help of its processing units (the neurons). ANNs have been employed to perform several types of real-world basic tasks. Concerning functional approximation,

ANN-based solutions are frequently more accurate than those provided by traditional approaches, such as multi-variate nonlinear regression, besides not requiring a good knowledge of the function shape being modelled (Flood, 2008) [39]. The proposed ANN was designed based on 210 experimental results available to date in the literature (see section 2). The focus of this study was not to understand the mechanics underlying the shear behavior of corrugated steel webs, but parametric studies by means of accurate and robust ANN-based models make it possible to evaluate and improve existing mechanical models.

DATA GATHERING

Many shear strength tests of I-shaped beams and girders with trapezoidal corrugated webs have been conducted. The 210-point dataset [40] used to feed the ANN software employed in this work was assembled from the following experimental results [13, 16, 19, 20, 22, 24-26, 29, 30, 41-45].

Seven independent variables were adopted as inputs in ANN simulations, as described and illustrated in Table 1 and Figure 1, respectively. In Figure 1(a), a simply supported girder with corrugated steel web (height h_w) is subjected to a concentrated load (Q) distanced a (shear span) from the left support, until (web) shear failure occurs. Figure 1(b) depicts details of the corrugated web mid surface (top-view of a single “wavelength”), namely the widths of parallel and inclined folds (b and c , respectively), the projected width of the inclined fold (d), the corrugation depth (h_f), and the thickness of the corrugated plate (t_w). The maximum shear stress (assumed uniform over web’s height) when failure occurs (τ_e) is the target/output (dependent) variable considered in all assessed ANNs. Target values were either reported by the authors of the experimental tests or calculated as $\tau_e = V_e / (h_w t_w)$, where V_e is the maximum shear force carried by the test specimen.

TABLE 1. Variables (and some stats on their values) considered for ANN simulations.

Input variables			ANN inputs	Values		
				min	max	average
Geometry	a (mm)	shear span	1	287	4500	990
	h_w (mm)	web height	2	260	2005	744
	t_w (mm)	web thickness	3	0.1	8	1.6
	b (mm)	width of the parallel fold	4	19.8	300	112
	d (mm)	projected width of the inclined fold	5	11.9	220	71.8
	h_f (mm)	corrugation depth	6	12	150.2	66.9
Material	f_y (MPa)	steel nominal yield stress	7	171	714	377.69
Target variable			ANN output	Values		
				min	max	average
Strength	τ_e (MPa)	ultimate shear stress	1	19.0	375.9	160.1

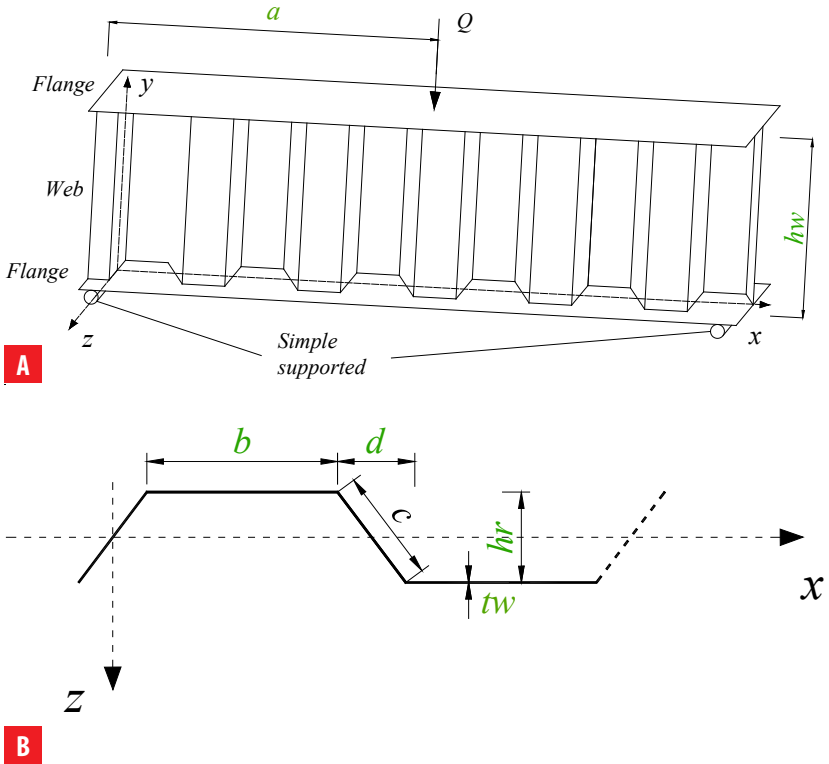


FIGURE 1. (A) Simple supported corrugated web steel girder under concentrated load, and (B) mid surface profile of a single “wavelength” of the trapezoidal corrugated web.

ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS

Brief Introduction

Since artificial neural networks (ANN) are a machine learning technique widely described in the scientific literature, please refer to Ref. [46] for a more thorough presentation of this topic. The general ANN structure consists of several nodes disposed in L vertical layers (input layer, hidden layers, and output layer) and connected between them, as depicted in Figure 2. Associated to each node in layers 2 to L , also called neuron, is a linear or nonlinear transfer function, which receives the so-called net input and transmits an output. In this work, only feedforward networks were implemented, i.e., output from any node is only transmitted to nodes located in subsequent layers (as shown in Figure 2). ANN's computing power makes them suitable to efficiently solve small to large-scale complex problems, which can be attributed to their (i) massively parallel distributed structure and (ii) ability to learn and generalize, i.e., produce reasonably accurate outputs for inputs not used during the learning (also called training) phase.

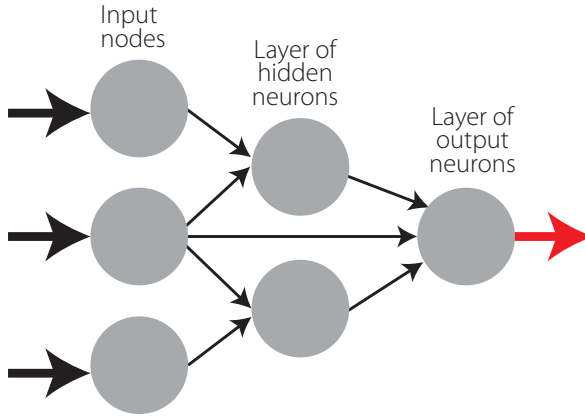


FIGURE 2. Example of a feedforward network with node structure 3-2-1.

Learning

Learning is nothing else than determining network unknown parameters through some algorithm in order to minimize network's performance measure, typically a function of the difference between predicted and target (desired) out puts. When ANN learning is iterative in nature, it consists of three phases: (i) training, (ii) validation, and (iii) testing. From previous knowledge, examples or data points are selected to train the network, grouped in the so-called training dataset. During an iterative learning, while the training dataset is used to tune network unknowns, a process of cross-validation takes place by using a set of data completely distinct from the training counterpart (the validation dataset), so that the generalization performance of the network can be attested. Once "optimum" network parameters are determined, typically associated to a minimum of the validation performance curve (called early stop – see Figure 3), many authors still perform a final assessment of model's accuracy by presenting to it a third fully distinct dataset called "testing." Heuristics suggest that early stopping avoids overfitting, i.e. the loss of ANN's generalization ability.

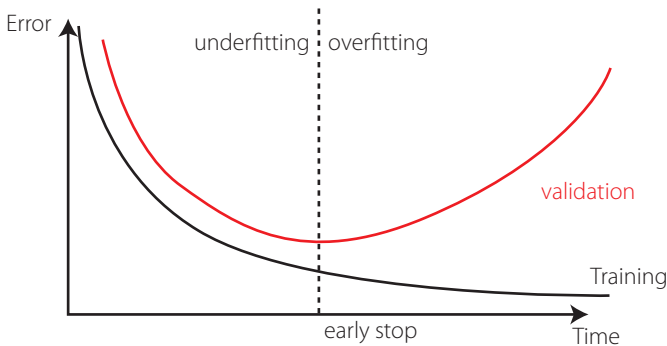


FIGURE 3. Assessing ANN's generalization ability via cross-validation.



Implemented ANN features

The “behavior” of any ANN depends on many “features,” having been implemented 15 ANN features in this work (including data pre/post processing ones). For those features, it is important to bear in mind that no ANN guarantees good approximations via extrapolation (either in functional approximation or classification problems), i.e., the implemented ANNs should not be applied outside the input variable ranges used for network training. Since there are no objective rules dictating which method per feature guarantees the best network performance for a specific problem, an extensive parametric analysis (composed of nine parametric sub-analyses) was carried out to find “the optimum” net design. A description of all methods/formulations implemented for each ANN feature (see Tables 2-4)—they are a selection from state of art literature on ANNs, including both traditional and promising modern techniques, and can be found in previous published works [47]—may need to be reviewed by the reader to fully understand the meaning of all variables reported in this manuscript. The whole work was coded in MATLAB [48], making use of its neural network toolbox when dealing with popular learning algorithms (1-3 in Table 4). Each parametric sub-analysis (SA) consists of running all feasible combinations (also called “combos”) of pre-selected methods for each ANN feature, in order to get performance results for each designed net, thus allowing the selection of the best ANN according to a certain criterion. The best network in each parametric SA is the one exhibiting the smallest average relative error (called performance) for all learning data.

TABLE 2. Implemented ANN features (F) 1-5.
a

FEATURE METHOD	F1	F2	F3	F4	F5
	Qualitative Var Represent	Dimensional Analysis	Input Dimensionality Reduction	% Train- Valid-Test	Input Normalization
1	Boolean Vectors	Yes	Linear Correlation	80-10-10	Linear Max Abs
2	Eq Spaced in [0,1]	No	Auto-Encoder	70-15-15	Linear [0, 1]
3	-	-	-	60-20-20	Linear [-1, 1]
4	-	-	Ortho Rand Proj	50-25-25	Nonlinear
5	-	-	Sparse Rand Proj	-	Lin Mean Std
6	-	-	No	-	No

TABLE 3. Implemented ANN features (F) 6-10.

FEATURE METHOD	F6	F7	F8	F9	F10
	Output Transfer	Output Normalization	Net Architecture	Hidden Layers	Connectivity
1	Logistic	Lin [a, b] = 0.7[ϕ_{min} , ϕ_{max}]	MLPN	1 HL	Adjacent Layers
2	-	Lin [a, b] = 0.6[ϕ_{min} , ϕ_{max}]	RBFN	2 HL	Adj Layers + In-Out
3	Hyperbolic Tang	Lin [a, b] = 0.5[ϕ_{min} , ϕ_{max}]	-	3 HL	Fully-Connected
4	-	Linear Mean Std	-	-	-
5	Bilinear	No	-	-	-
6	Compet	-	-	-	-
7	Identity	-	-	-	-

TABLE 4. Implemented ANN features (F) 11-15.

FEATURE METHOD	F11	F12	F13	F14	F15
	Hidden Transfer	Parameter Initialization	Learning Algorithm	Performance Improvement	Training Mode
1	Logistic	Midpoint (W) + Rands (b)	BP	NNC	Batch
2	Identity-Logistic	Rands	BPA	-	Mini-Batch
3	Hyperbolic Tang	Randnc (W) + Rands (b)	LM	-	Online
4	Bipolar	Randnr (W) + Rands (b)	ELM	-	-
5	Bilinear	Randsmall	mb ELM	-	-
6	Positive Sat Linear	Rand [- Δ , Δ]	I-ELM	-	-
7	Sinusoid	SVD	CI-ELM	-	-
8	Thin-Plate Spline	MB SVD	-	-	-
9	Gaussian	-	-	-	-
10	Multiquadratic	-	-	-	-
11	Radbas	-	-	-	-

Network Performance Assessment

Several types of results were computed to assess network outputs, namely (i) maximum error, (ii) % errors greater than 3%, and (iii) performance, which are defined next. All abovementioned errors are relative errors (expressed in %) based on the following definition, concerning a single output variable and data pattern,



$$e_{qp} = 100 \left| \frac{d_{qp} - y_{ql,p}}{d_{qp}} \right| \quad (1)$$

where (i) d_{qp} is the q^{th} desired (or target) output when pattern p within iteration i ($p=1, \dots, P$) is presented to the network, and (ii) $y_{ql,p}$ is net's q^{th} output for the same data pattern. Moreover, denominator in eq. (1) is replaced by 1 whenever $|d_{qp}| < 0.05 - d_{qp}$ in the nominator keeps its real value. This exception to eq. (1) aims to reduce the apparent negative effect of large relative errors associated to target values close to zero. Even so, this trick may still lead to (relatively) large solution errors while groundbreaking results are depicted as regression plots (target vs. predicted outputs).

Maximum Error

This variable measures the maximum relative error, as defined by eq. (1), among all output variables and learning patterns.

Percentage of Errors > 3%

This variable measures the percentage of relative errors, as defined by eq. (1), among all output variables and learning patterns, that are greater than 3%.

Performance

In functional approximation problems, network performance is defined as the average relative error, as defined in eq. (1), among all output variables and data patterns being evaluated (e.g., training, all data).

Software Validation

Several benchmark datasets/functions were used to validate the developed software, involving low- to high-dimensional problems and small to large volumes of data. Due to paper length limit, validation results are not presented herein, but they were made public online [49].

Parametric Analysis Results

Aiming to reduce the computing time by cutting in the number of combos to be run—note that all features combined lead to hundreds of millions of combos—the whole parametric simulation was divided into nine parametric SAs, where in each one feature 7 only takes a single value. This measure aims to make the performance ranking of all combos within each “small” analysis more “reliable,” since results used for comparison are based on target and output datasets as used in ANN training and yielded by the designed network, respectively (they are free of any postprocessing that eliminates output normalization effects on relative error values). Whereas (i) the 1st and 2nd SAs aimed to select the best methods from features 1, 2, 5, 8 and 13 (all combined), while adopting a single popular method for each of the remaining features (F_3 : 6, F_4 : 2, F_6 : {1 or 7}, F_7 : 1, F_9 : 1, F_{10} : 1, F_{11} : {3, 9 or 11}, F_{12} : 2, F_{14} : 1, F_{15} : 1—see Tables 2-4)—SA 1 involved learning algorithms 1-3 and SA 2 involved the ELM-based counterpart; (ii) the 3rd – 7th SAs combined all possible methods from features 3, 4, 6 and 7, and concerning

all other features, adopted the methods integrating the best combination from the aforementioned first SA; (iii) the 8th SA combined all possible methods from features 11, 12 and 14, and concerning all other features, adopted the methods integrating the best combination (results compared after postprocessing) among the previous five sub-analyses; and lastly (iv) the 9th SA combined all possible methods from features 9, 10 and 15, and concerning all other features, adopted the methods integrating the best combination from the previous analysis. Summing up the ANN feature combinations for all parametric SAs, a total of 475 combos were run for this work.

ANN feature methods used in the best combo from each of the abovementioned nine parametric sub-analyses are specified in Table 5 (the numbers represent the method number as in Tables 2-4). Table 6 shows the corresponding relevant results for those combos, namely (i) maximum error, (ii) % errors > 3%, (iii) performance (all described in section 3, and evaluated for all learning data), (iv) total number of hidden nodes in the model, and (v) average computing time per example (including data pre- and post-processing). All results shown in Table 6 (i) were obtained for single ANNs only, since no NNC networks yielded better results for this particular problem, and (ii) are based on target and output datasets computed in their original format, i.e., free of any transformations due to output normalization and/or dimensional analysis. The microprocessors used in this work have the following features: OS: Win10Home 64bits, RAMs: 48 GB, Local Disk Memory: 1 TB, CPUs: Intel® Core™ i7 8700K @ 3.70-4.70 GHz.

TABLE 5. ANN feature (F) methods used in the best combo from each parametric sub-analysis (SA).

SA	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15
1	1	2	6	2	5	1	1	1	1	1	3	2	3	1	3
2	1	2	6	2	2	7	1	2	1	1	9	2	5	1	3
3	1	2	6	3	5	1	1	1	1	1	3	2	3	1	3
4	1	2	1	1	5	1	2	1	1	1	3	2	3	1	3
5	1	2	1	2	5	1	3	1	1	1	3	2	3	1	3
6	1	2	6	4	5	7	4	1	1	1	3	2	3	1	3
7	1	2	6	3	5	5	5	1	1	1	3	2	3	1	3
8	1	2	6	3	5	5	5	1	1	1	3	5	3	1	3
9	1	2	6	3	5	5	5	1	2	3	3	5	3	1	3



TABLE 6. Performance results for the best design from each parametric sub-analysis.

SA	ANN				
	Max Error (%)	Performance All Data (%)	Errors > 3% (%)	Total Hidden Nodes	Running Time / Data Point (s)
1	0.7	0.0	0.0	28	1.93E-04
2	265.3	15.6	72.4	90	9.80E-05
3	0.8	0.0	0.0	28	1.51E-04
4	0.9	0.0	0.0	28	1.29E-04
5	0.8	0.0	0.0	28	1.44E-04
6	0.1	0.0	0.0	28	1.01E-04
7	26.6	1.5	14.3	28	1.26E-04
8	17.0	1.2	12.4	28	1.41E-04
9	0.0	0.0	0.0	28	1.35E-04

Proposed ANN-Based Model

The proposed model is the one, among the best ones from all parametric SAs, exhibiting the lowest maximum error (SA 9). That model is characterized by the ANN feature methods {1, 2, 6, 3, 5, 5, 5, 1, 2, 3, 3, 5, 3, 1, 3} in Tables 2-4. Aiming to allow implementation of this model by any user, all variables/equations required for (i) data preprocessing, (ii) ANN simulation, and (iii) data postprocessing are presented in 3.7.1-3.7.3, respectively. The proposed model is a single MLPN with four layers and a distribution of nodes/layer of 7-14-14-1. Concerning connectivity, the network is fully-connected, and the hidden and output transfer functions are all Hyperbolic Tangent and Bilinear, respectively. The network was trained using the Levenberg-Marquardt algorithm (978 epochs). After design, the average network computing time concerning the presentation of a single example (including data pre/postprocessing) is 1.35E-04 s—Figure 4 depicts a simplified scheme of some network key features. Lastly, all relevant performance results concerning the proposed ANN are illustrated in 3.7.4. The obtained ANN solution for every data point can be found in [40].

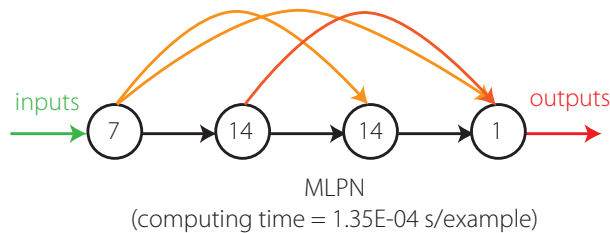


FIGURE 4. Proposed 7-14-14-1 fully-connected MLPN—simplified scheme.

It is worth recalling that, in this manuscript, whenever a vector is added to a matrix, it means the former is to be added to all columns of the latter (valid in MATLAB).

Input Data Preprocessing

For future use of the proposed ANN to simulate new data $Y_{1,sim}$ ($7 \times P_{sim}$ matrix), concerning P_{sim} patterns, the same data preprocessing (if any) performed before training must be applied to the input dataset. That preprocessing is defined by the methods used for ANN features 2, 3 and 5 (respectively 2, 6 and 5—see Table 2), which should be applied after all (eventual) qualitative variables in the input dataset are converted to numerical (using feature 1’s method). Next, the necessary preprocessing to be applied to $Y_{1,sim}$ concerning features 2, 3 and 5, is fully described.

Dimensional Analysis and Dimensionality Reduction

Since dimensional analysis (*d.a.*) and dimensionality reduction (*d.r.*) were not carried out, one has

$$\{Y_{1,sim}\}_{d.r.}^{after} = \{Y_{1,sim}\}_{d.a.}^{after} = Y_{1,sim} \tag{2}$$

Input Normalization

After input normalization, the new input dataset is defined as a function of the previously determined , and they have the same size, reading

$$\{Y_{1,sim}\}_n^{after} = \left(\{Y_{1,sim}\}_{d.r.}^{after} - \text{INP}(:,1) \right) ./ \text{INP}(:,2)$$

$$\text{INP} = \begin{bmatrix} 990.400346190476 & 668.905673826269 \\ 744.012857142857 & 396.481809107959 \\ 1.55576190476190 & 1.28849686190348 \\ 111.986666666667 & 71.5898412598522 \\ 71.8395776190476 & 52.3896551822015 \\ 66.8513071428572 & 47.7496285409415 \\ 377.690000000000 & 133.759804523706 \end{bmatrix} \tag{3}$$

ANN-Based Analytical Model

Once the preprocessed input dataset $\{Y_{1,sim}\}_n^{after}$ ($7 \times P_{sim}$ matrix) is determined, the next step is to present it to the proposed ANN to obtain the predicted output dataset $\{Y_{4,sim}\}_n^{after}$ ($1 \times P_{sim}$ vector), which will be given in the same preprocessed format of the target dataset used in learning. In order to convert the predicted outputs to their “original format” (i.e., without any transformation due to normalization or dimensional analysis—the only transformation visible will be the (eventual) qualitative variables written in their numeric representation), some postprocessing is needed, as described in detail in 3.7.3. Next, the mathematical representation of the proposed ANN is given, so that any user can implement it to determine $\{Y_{4,sim}\}_n^{after}$, thus eliminating all rumors that ANNs are “black boxes.”

$$Y_2 = \varphi_2 \left(W_{1-2}^T \{Y_{1,sim}\}_n^{after} + b_2 \right)$$

$$Y_3 = \varphi_3 \left(W_{1-3}^T \{Y_{1,sim}\}_n^{after} + W_{2-3}^T Y_2 + b_3 \right)$$

$$\{Y_{4,sim}\}_n^{after} = \varphi_4 \left(W_{1-4}^T \{Y_{1,sim}\}_n^{after} + W_{2-4}^T Y_2 + W_{3-4}^T Y_3 + b_4 \right)$$



where

$$\varphi_2 = \varphi_3 = \varphi(s) = \frac{e^s - e^{-s}}{e^s + e^{-s}} \tag{5}$$

$$\varphi_4 = \varphi_4(s) = \begin{cases} s, & s \geq 0 \\ 0, & s < 0 \end{cases}$$

Arrays W_{j-s} and b_s are stored online in Developer (2018b) [50], aiming to avoid an overlong article and ease model's implementation by any interested reader.

Output Data Postprocessing

In order to transform the output dataset obtained by the proposed ANN, $\{Y_{4,sim,n}\}^{after}$ (1 x P_{sim} vector), to its original format ($Y_{4,sim}$), i.e., without the effects of dimensional analysis and/or output normalization (possibly) taken in target dataset preprocessing prior training, one has

$$Y_{4,sim} = \{Y_{4,sim}\}_n^{after} \tag{6}$$

since no output normalization nor dimensional analysis were carried out.

Performance Results

Finally, results yielded by the proposed ANN, in terms of performance variables defined in sub-section 3.4, are presented in this section in the form of several graphs: (i) a regression plot per output variable (Figure 5), where network target and output data are plotted, for each data point, as x- and y- coordinates, respectively—a measure of quality is given by the Pearson Correlation Coefficient (R); (ii) a performance plot (Figure 6), where performance (average error) values are displayed for several learning datasets; and (iii) an error plot (Figure 7), where values concern all data (iii.) maximum error and (iii.) % of errors greater than 3%.

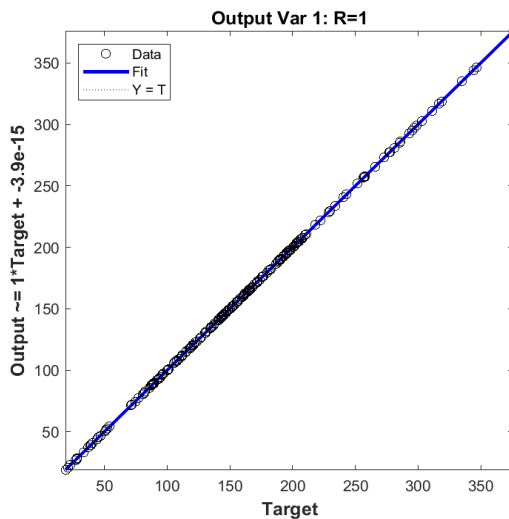


FIGURE 5. Regression plot for the proposed ANN (see output variable in Figure 1).

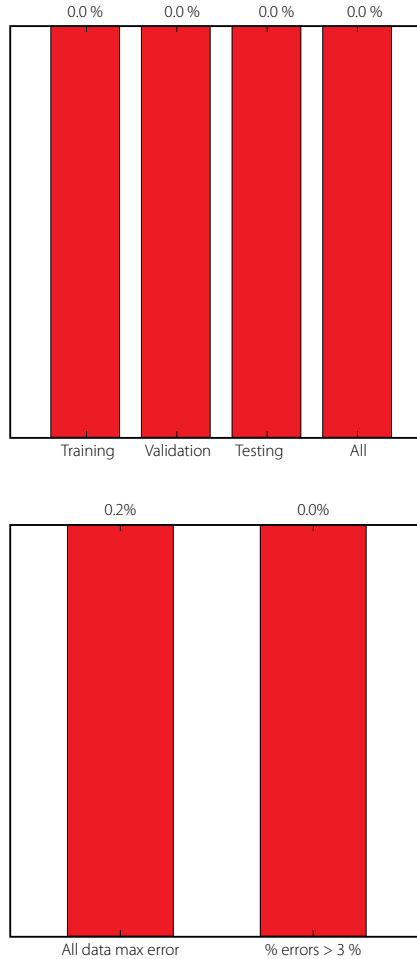


FIGURE 6. Performance plot (mean errors) for the proposed ANN.

ANN-BASED VS. EXISTING MODELS

Shear strength of steel I-girders is controlled by buckling and/or shear yielding of the corrugated web. Shear buckling of corrugated webs is often classified as local buckling, global buckling, and interactive buckling, as exemplified in Figure 8 via the FEA-based displacement contours for those elastic buckling modes. Global buckling involves multiple folds and the buckled shape extends diagonally over the height of the web. Local buckling is controlled by deformations within a single “fold” of the web. The interactive shear buckling mode is attributed to the interaction between local and global shear buckling modes.

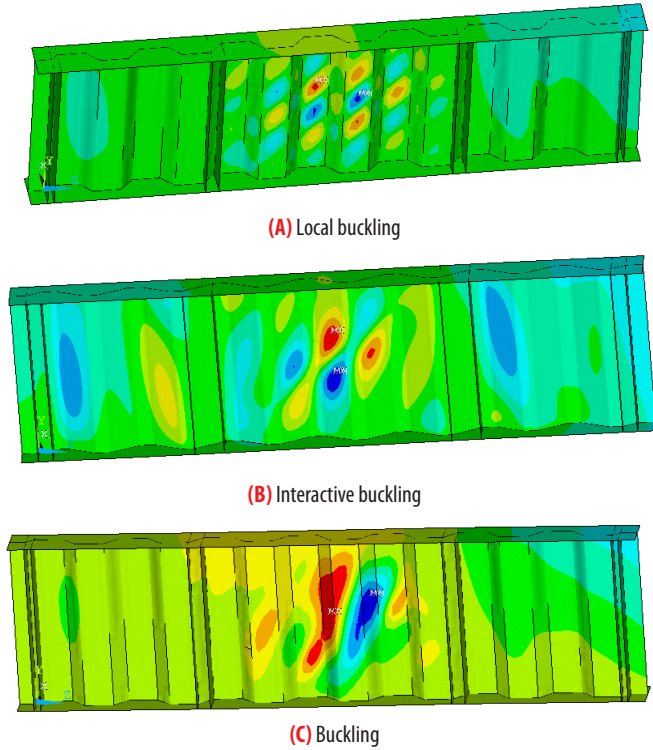


FIGURE 8. Shear buckling modes via FEA.

Local shear buckling

The local elastic shear buckling stress of a corrugated web can be predicted using classic plate buckling theory [51]. A single parallel or inclined fold is assumed to be supported by the adjacent folds and steel flanges. The corresponding local elastic shear buckling stress, $\tau_{cr,L}^e$ is

$$\tau_{cr,L}^e = k_L \frac{\pi^2 E}{12(1-\nu^2)} \left(\frac{t_w}{w} \right)^2 \quad (7)$$

where (i) w is the maximum fold width, $\max(b, c)$, and (ii) k_L is the local shear buckling coefficient, which depends on the boundary conditions and the fold aspect ratio – k_L lies between 5.34 (assuming simply supported edges) and 8.98 (assuming fixed edges). For practical design purposes, $k_L=5.34$ is recommend by Moon et al. (2009) [24].

Global shear buckling

An expression for the global elastic shear buckling stress of a corrugated steel plate ($\tau_{cr,G}^e$) was developed by Easley and McFarland (1969) [15] using orthotropic plate theory, reading

$$\tau_{cr,G}^e = k_G \frac{D_x^{3/4} D_y^{1/4}}{t_w h_w^2} \tag{8}$$

where (i) k_G is the global shear buckling coefficient, and (ii) D_x and D_y are the bending stiffnesses per unit length of the corrugated web with respect to its central principal axes x and y , respectively. Easley (1975) [52] proposed that k_G varies between 36 (assuming the web pin-ended by the flanges) and 68.4 (assuming the web fix-ended by the flanges). Elgaaly et al (1996) [19] suggested that k_G should be taken as 31.6 for simply supported boundaries and 59.2 for the clamped counterpart. D_x and D_y for trapezoidal corrugated webs can be determined as:

$$D_x = \frac{EI_x}{b + h_r} \tag{9}$$

$$D_y = \frac{Et_w^3}{12} \frac{b + d}{b + c} \tag{10}$$

where I_x is the moment of inertia about the x -axis, $I_x = 2bt_w(h_r/2)^2 + h_r^3 t_w / (6 \sin \alpha)$.

Interactive shear buckling

The interactive shear buckling mode is attributed to the interaction between local and global modes and governs shear buckling strength. Lindner & Aschinger (1988) [16] first proposed the corresponding elastic shear buckling stress formula ($\tau_{cr,I}^e$)

$$\tau_{cr,I}^e = \frac{\tau_{cr,L}^e \cdot \tau_{cr,G}^e}{\left((\tau_{cr,G}^e)^n + (\tau_{cr,L}^e)^n \right)^{1/n}} \tag{11}$$

where exponent n is an integer—several researchers have proposed distinct values [23, 25, 27, 30].

Shear strength

Previous studies [23, 25] have shown that shear strength of corrugated steel webs was generally controlled by interactive shear buckling. In this context, the shear buckling non-dimensional slenderness ($\lambda_{I,n}$) of a corrugated steel web is defined as

$$\lambda_I = \sqrt{\tau_y / \tau_{cr,I}^e} \tag{12}$$

where τ_y is the tangential yield stress (typically $f_y / \sqrt{3}$, being f_y the normal yield stress). Driver et al. (2006) [21] proposed eq. (11) to calculate the shear capacity of corrugated steel webs for all types of shear failures, reading ($n=2$)



$$\tau_D = \sqrt{\frac{(\tau_{cr,L}^e \cdot \tau_{cr,G}^e)^2}{(\tau_{cr,G}^e)^2 + (\tau_{cr,L}^e)^2}} \quad (13)$$

In case any elastic shear buckling stress ($\tau_{cr,G}^e$ or $\tau_{cr,L}^e$) exceeds 80% of the shear yield stress τ_y , its value in eq. (13) should be replaced by an inelastic counterpart given by Elgaaly et al. (1996) [19].

$$\tau_{cr}^{in} = \sqrt{0.8\tau_y \tau_{cr}^e} \leq \tau_y \quad (14)$$

Metwally (1998) [10] proposed the following equation to calculate the shear capacity of corrugated steel webs (using $n=2$ in eq. (11))

$$\tau_{EL} = \tau_y \times \left(1 / \left((\lambda_T)^4 + 1\right)\right)^{1/2} \quad (15)$$

Sauce and Braxtan (2011) [25] summarized a large number of previous experimental data and selected 22 groups of results to fit eq. (16), for the prediction of the shear capacity of corrugated steel webs (using $n=3$ in eq. (11))

$$\tau_{Sauce} = \tau_y \times \left(1 / \left((\lambda_T)^6 + 2\right)\right)^{1/3} \quad (16)$$

Leblouba et al. (2017a) [29], based on 113 test results collected from the literature and 12 tests carried out by themselves, developed the following analytical model (based on the hyperbolic Richards equation) to calculate the shear strength of corrugated steel webs (using $n=4$ in eq. (11))

$$\tau_{Leblouba} = \tau_y \times \left(1 / \left((\lambda_T / 1.58)^{1.6} + 1\right)\right)^{1.15} \quad (17)$$

Figure 9 compares the shear strengths yielded by the analytical models presented before ($\tau_D, \tau_{EL}, \tau_{Sauce}, \tau_{Leblouba}, \tau_{ANN}$) to those obtained experimentally (τ_e) for the 210 steel girders assessed in this work [40]. The average ratios $\tau_D/\tau_e, \tau_{EL}/\tau_e, \tau_{Sauce}/\tau_e, \tau_{Leblouba}/\tau_e$ are 0.78, 0.87, 0.82 and 0.83, with standard deviations of 0.13, 0.16, 0.13 and 0.11, respectively. It can be found that all those models underestimate the shear strength of trapezoidal corrugated web girders. For comparison, the average value of τ_{ANN}/τ_e is 1.00, with a standard deviation of 0.00. The major improvement of the proposed ANN-based analytical model (see sub-section 3.7), as compared to the existing calculation methods, is quite clear in Figure 9, where the x-axis shows the predicted shear capacity τ_{model} ($\tau_{ANN}, \tau_D, \tau_{EL}, \tau_{Sauce}, \tau_{Leblouba}$) and the y-axis shows the experimental counterpart τ_e .

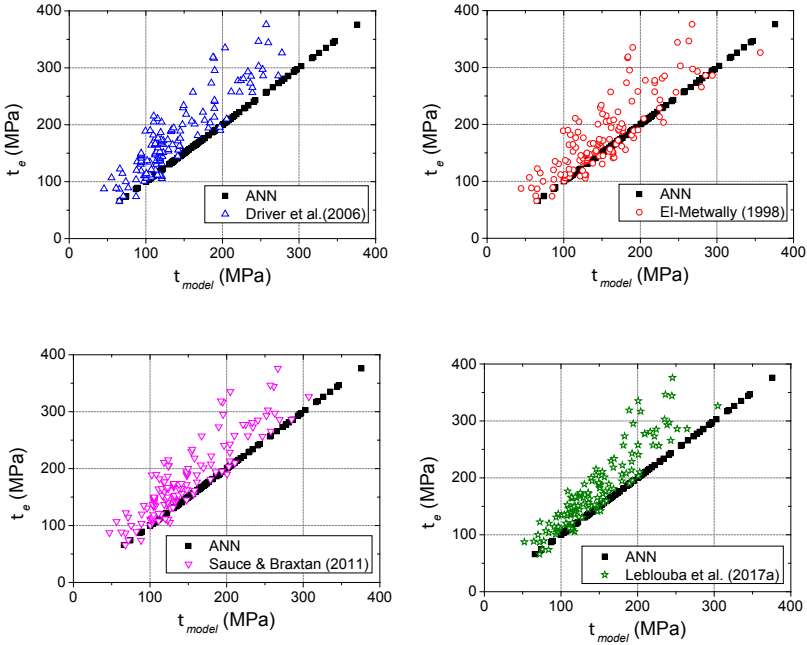


FIGURE 9. Comparison between tested and predicted shear strength for several proposed models.

DISCUSSION

In future publications it will be guaranteed that the validation and testing data subsets will be composed only by points where at least one variable (which does not have to be the same for all) takes a value not taken in the training subset by that same variable. Based on very recent empirical conclusions by Abambres, the author believes it will lead to more robust ANN-based analytical models concerning their generalization ability (i.e., prediction accuracy for any data point within the variable ranges of the design data).

CONCLUSIONS

This paper describes how artificial neural networks (ANN) can be used to predict the shear capacity of steel girders with a trapezoidal corrugated web and proposes an analytical model for that purpose. The developed model was designed from a 210-point database of test results available in the literature. Seven governing (geometrical and material) parameters were identified as input variables, and the ultimate shear stress (assumed uniform along web's height) at failure was considered as the target/output variable for the ANN simulations. The proposed ANN-based analytical model yielded maximum and mean relative errors of 0.0% concerning all the 210 test results previously



collected. Figure 9 shows that the ANN-based approach clearly outperforms the existing calculation models assessed in this work, for the dataset considered (made available at Developer 2018a)—latter models exhibit mean errors greater than 13%.

The focus of this study was not to assess the mechanics underlying the behavior of corrugated web steel girders, but parametric studies by means of accurate and robust ANN-based models make it possible to evaluate and improve existing mechanical models.

ACKNOWLEDGEMENTS

There are no conflicts of interest to disclose.

CONTRIBUTIONS

He, J. developed sections 1, 2 and 4; Abambres, M. developed sections 3 and 5 (ANN-related); remaining sections had equal contributions from both authors.

REFERENCES

- [1] He, J., Liu, Y., Chen, A., & Yoda, T. (2012). Mechanical behavior and analysis of composite bridges with corrugated steel webs: State-of-the-art. *International Journal of Steel Structures*, 12, 321–338. doi: <http://doi.org/10.1007/s13296-012-3003-9>
- [2] Wu, L., Gao, X., Shi, Y., & Wang, Y. (2006). Theoretical and experimental study on interactive local buckling of arch-shaped corrugated steel roof. *International Journal of Steel Structures*, 6, 45–54.
- [3] Jiang, R., Au, F. T. K., & Xiao, Y. (2015). Prestressed Concrete Girder Bridges with Corrugated Steel Webs : Review. *Journal of Structural Engineering, ASCE*, 141(2), 1–9. doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)ST.1943-541X.0001040](https://doi.org/10.1061/(ASCE)ST.1943-541X.0001040)
- [4] Emami, F., Mofid, M., & Vafai, A. (2013). Experimental study on cyclic behavior of trapezoidally corrugated steel shear walls. *Engineering Structures*, 48, 750–762. doi: <https://doi.org/10.1016/j.engstruct.2012.11.028>
- [5] Combault, J. (1988). The Maupre Viaduct Near Charolles, France. *Proceedings, AISC Engineering Conference*, 12.1-12.22.
- [6] Kondo, M., Shimizu, Y., Kobayashi, K., & Hattori, M. (1994). Design and construction of the Shinkai Bridge—Prestressed concrete bridge using corrugated steel webs. *Bridge Found. Eng.*, 13-20. (in Japanese).
- [7] Bergfelt, A., & Leiva-Aravena, L. (1984). Shear Buckling of Trapezoidal Corrugated Girder Webs, Division of Steel and Timber Structures, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Publication S 84:2, Sweden, 64p.
- [8] Leiva-Aravena, L., & Edlund, B. (1987). Buckling of trapezoidally corrugated webs. In: *ECCS colloquium on stability of plates and shells*. Belgium: Ghent University.
- [9] Johnson, R. P., & CaFolla, J. (1997). Local flange buckling in plate girders with corrugated steel webs. *Proceedings of the Institution of Civil Engineers – Structures and Buildings*, 123, 148-156. doi: <https://doi.org/10.1680/istbu.1997.29304>
- [10] Metwally, A. E. (1998). Prestressed composite girders with corrugated steel webs. M.S. thesis. Calgary (AB): Dept. of Civil Engineering, University of Calgary.
- [11] Sayed-Ahmed, E. Y. (2001). Behaviour of steel and/or composite girders with corrugated steel webs. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 28(4), 656-672. doi: <https://doi.org/10.1139/101-027>
- [12] Sayed-Ahmed, E. Y. (2007). Design aspects of steel I-girders with corrugated steel webs. *Electronic Journal of Structural Engineering*, 7, 27-40.
- [13] Abbas, H. H. (2003). Analysis and design of corrugated web I-girders for bridges using high performance steel. Ph.D. dissertation. Bethlehem (PA): Dept. of Civil and Environmental Engineering, Lehigh University.
- [14] Shimada, S. (1965). Shear strength of steel plate girders with folded web plate (Ripple Web Girders). *Proceeding of JSCE*, 124, 1-10. (in Japanese). doi: https://doi.org/10.2208/jscej1949.1965.124_1
- [15] Easley, J. T., & McFarland, D. E. (1969). Buckling of light-gage corrugated metal shear diaphragms. *Journal of the Structural Division, ASCE*, 95(ST7), 1497-516.
- [16] Lindner, J., & Aschinger, R. (1988). Grenzscherbtragfähigkeit von I-Tägern mit trapezförmig profilierten Stegen. *Stahlbau*, 57(12), 377-80. (in German).
- [17] Luo, R., & Edlund, B. (1994). Buckling analysis of trapezoidally corrugated panels using spline finite strip method. *Thin-walled structures*, 18, 209-224. doi: [https://doi.org/10.1016/0263-8231\(94\)90019-1](https://doi.org/10.1016/0263-8231(94)90019-1)
- [18] Luo, R., & Edlund, B. (1996). Shear capacity of plate girders with trapezoidally corrugated webs. *Thin-walled structures*, 26, 19-44. doi: [https://doi.org/10.1016/0263-8231\(96\)00006-7](https://doi.org/10.1016/0263-8231(96)00006-7)
- [19] Elgaaly, M., Hamilton, R. W., & Seshadri, A. (1996). Shear strength of beams with corrugated webs. *Journal of Structural Engineering, ASCE*, 122(4), 390-8. doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9445\(1996\)122:4\(390\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9445(1996)122:4(390))
- [20] Yamazaki, M. (2001). Buckling strength of corrugated webs. *Journal of Structural Engineering, JSCE*, 47A, 19-26. (in Japanese).
- [21] Driver, R. G., Abbas, H. H., & Sause, R. (2006). Shear behavior of corrugated web bridge girders. *Journal of Structural Engineering, ASCE*, 32(2), 195–203. doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9445\(2006\)132:2\(195\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9445(2006)132:2(195))



- [22] Watanabe, K., Uchida, S., & Kubo, M. (2007). Shear buckling capacity of steel girders with corrugated webs. *Journal of Structural Engineering, JSCE*, 53A, 13-24. (in Japanese). doi: <https://doi.org/10.11532/structcivil.53A.13>
- [23] Yi, J., Gil, H., Youm, K., & Lee, H. (2008). Interactive shear buckling behavior of trapezoidally corrugated steel webs. *Engineering Structures*, 30(6), 1659-66. doi: <https://doi.org/10.1016/j.engstruct.2007.11.009>
- [24] Moon, J., Yi, J., Choi, B. H., & Lee, H. E. (2009). Shear strength and design of trapezoidally corrugated steel webs. *Journal of Constructional Steel Research*, 65(5), 1198-205. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcsr.2008.07.018>
- [25] Sause, R., & Braxtan, T. N. (2011). Shear strength of trapezoidal corrugated steel webs. *Journal of Constructional Steel Research*, 67, 223-236. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcsr.2010.08.004>
- [26] Nie, J., Zhu, L., Tao, M., & Tang, L. (2013). Shear strength of trapezoidal corrugated steel webs. *Journal of Constructional Steel Research*, 85, 105-115. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcsr.2013.02.012>
- [27] Hassanein, M. F., & Kharoob, O. F. (2013a). Behavior of bridge girders with corrugated webs: (I) Real boundary condition at the juncture of the web and flanges. *Eng. Struct.* 57, 554-564. doi: <https://doi.org/10.1016/j.engstruct.2013.03.004>
- [28] Hassanein, M. F., & Kharoob, O. F. (2013b). Behavior of bridge girders with corrugated webs: (II) Shear strength and design. *Engineering Structures*, 57, 544-553. doi: <https://doi.org/10.1016/j.engstruct.2013.04.015>
- [29] Leblouba, M., Barakat, S., Altoubat, S., Junaid, M. T., & Maalej, M. (2017a). Normalized shear strength of trapezoidal corrugated steel webs. *Journal of Constructional Steel Research*, 136, 75-90. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcsr.2017.05.007>
- [30] Leblouba, M., Junaid, M. T., Barakat, S., Altoubat, S., & Maalej, M. (2017b). Shear buckling and stress distribution in trapezoidal web corrugated steel beams. *Thin-Walled Structures*, 113, 13-26. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tws.2017.01.002>
- [31] EN 1993-1-5. (2005). Eurocode 3: Design of steel structures, Part 1-5: Plated structural elements.
- [32] JSCE. (1998). Design manual for PC bridges with corrugated steel webs, Research committee for hybrid structures with corrugated steel webs, Japan. (in Japanese).
- [33] Papangelis, J., Trahair, N., & Hancock, G. (2017). Direct strength method for shear capacity of beams with corrugated webs. *Journal of Constructional Steel Research*, 137, 152-160. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcsr.2017.06.007>
- [34] Hertzmann, A., & Fleet, D. (2012). Machine Learning and Data Mining, Lecture Notes CSC 411/D11, Computer Science Department, University of Toronto, Canada.
- [35] McCulloch, W. S., & Pitts, W. (1943). A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *Bulletin of Mathematical Biophysics*, 5(4), 115-133. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02478259>
- [36] Hern, A. (2016). Google says machine learning is the future. So I tried it myself. Available at: www.theguardian.com/technology/2016/jun/28/all (Accessed: 2 November 2016).
- [37] Wilamowski, B. M., & Irwin, J. D. (2011). *The industrial electronics handbook: Intelligent Systems*, CRC Press, Boca Raton.
- [38] Prieto, A., Prieto, B., Ortigosa, E. M., Ros, E., Pelayo, F., Ortega, J., & Rojas, I. (2016). Neural networks: An overview of early research, current frameworks and new challenges. *Neurocomputing*, 214, 242-268. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2016.06.014>
- [39] Flood, I. (2008). Towards the next generation of artificial neural networks for civil engineering. *Advanced Engineering Informatics*, 228(1), 4-14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aei.2007.07.001>
- [40] Developer (2018a). dataset + target vs output [Data set]. Zenodo. doi: <http://doi.org/10.5281/zenodo.2336579>
- [41] Peil, U. (1998). Statische versuche an trapezestegträgern untersuchung der querkraftbeanspruchbarkeit, Institut für Stahlbau. Braunschweig (Germany): Technischen Universität Braunschweig.
- [42] Sause, R., & Clarke, T. (2003). Bearing Stiffeners and Field Splices for Corrugated Web Girders, Technical Report.
- [43] Sause, R., Abbas, H. H., Wassef, W., Driver, R. G., & Elgaaly, M. (2003). Corrugated web girder shape and strength criteria, Technical Report.

- [44] Gil, H., Lee, S., Lee, J., & Lee, H. (2005). Shear buckling strength of trapezoidally corrugated steel webs for bridges. In Transportation Research Board – 6th International Bridge Engineering Conference: Reliability, Security, and Sustainability in Bridge Engineering (pp. 473-480).
- [45] He, J. (2011). Mechanical performance and design method of composite bridge with corrugated steel webs. Ph.D. dissertation, Tongji University, Shanghai, China.
- [46] Abambres, M., Marcy, M., & Doz, G. (2019). Potential of Neural Networks for Structural Damage Localization. *ACI – Avances en Ciencias e Ingenierías*, 11(2). doi: <http://dx.doi.org/10.18272/aci.v11i2.1305>
- [47] Abambres, M., Rajana, K., Tsavdaridis, K., & Ribeiro, T. (2018). Neural Network-based formula for the buckling load prediction of I-section cellular steel beams. *Computers*, 8(1), 1-26. doi: <https://doi.org/10.3390/computers8010002>
- [48] The Mathworks, Inc (2017). MATLAB R2017a, User's Guide, Natick, USA.
- [49] The Researcher. (2018b). "Ann software validation-report. pdf", figureshare, doi: 10.6084/m9.figureshare.6962873
- [50] Developer (2018b). W and b arrays [Data set]. Zenodo, doi: <http://doi.org/10.5281/zenodo.2341590>
- [51] Timoshenko, S. P., & Gere, J. M. (1961). *Theory of elastic stability*. New York, NY: McGraw-Hill.
- [52] Easley, J. T. (1975). Buckling formulas for corrugated metal shear diaphragms. *Journal of Structural Division, ASCE*. 101(7), 1403–1417.

Rainfall Trend and Rainfall Design Values in the upper part of Ecuadorian Andean Mountains and their implications on Hydropower Projects

Paulina Lima G.¹, Jorge L. Santamaria C.¹, Margarita Flor¹

¹Faculty of Engineering, Physical Sciences and Mathematics, Central University of Ecuador, Quito, Ecuador.

*Autor para Correspondencia / Corresponding author, email: prlima@uce.edu.ec

Tendencia de lluvia y valores de diseño para lluvia en la parte superior de las montañas andinas ecuatorianas y sus implicaciones en proyectos hidroeléctricos

Abstract

Rainfall in the upstream drainage area of the Ecuadorian Andean Mountains (EAM) is an important source of runoff for the main hydropower projects. Although understanding the interaction between rainfall-runoff processes is a difficult task, it is important to understand these mechanisms in order to manage water resource projects. Although there are several local and regional mechanisms that control seasonal, annual, decadal and extreme rainfall variation, it is important to analyze the tools that are widely used in the hydraulic design of hydropower structures. Among other statistical resources, hydraulic civil engineers use the Gumbel Method to study extreme precipitation events, as well as mean and median statistical values to evaluate water availability in the design of a project. In addition, the analysis of rainfall-runoff processes depends on data availability. The main question at the heart of this study is: How can rainfall trends in the highlands of the Ecuadorian Andean Mountains be integrated to rainfall design of hydraulic structures of hydropower projects? The justifications of this question are as follows: First, the occurrence of extreme precipitation events increases the risk of flooding, resulting in the failure of the spillway's dams. Second, changes in annual rainfall variation could lead to water scarcity in the management of water resource projects. Additionally, we compared the extreme precipitation events with ENSO years. This study focuses on improving the understanding of rainfall trends at EAM and its implications in the management of hydraulic structures.

Keywords: El Niño, La Niña, rainfall, event, hydropower.

Resumen

La lluvia en el área de drenaje corriente arriba de las montañas andinas ecuatorianas (EAM) es una fuente importante de escorrentía para los principales proyectos hidroeléctricos. Si bien comprender la interacción entre los procesos de lluvia y escorrentía es una tarea difícil, es importante comprender estos mecanismos para gestionar los proyectos de recursos hídricos. Si bien existen varios mecanismos locales y regionales que controlan



Editado por /
Edited by:
Diego Cisneros

Recibido /
Received:
27/03/2018

Aceptado /
Accepted:
25/10/2019

Publicado en línea /
Published online:
20/02/2020

la variación estacional, anual, decenal y de precipitación extrema, es importante analizar las herramientas que se utilizan ampliamente en el diseño hidráulico de estructuras hidroeléctricas. Entre otros recursos estadísticos, los ingenieros civiles hidráulicos utilizan el Método Gumbel para estudiar eventos extremos de precipitación, así como valores estadísticos medios y medianos para evaluar la disponibilidad de agua en el diseño de un proyecto. Además, el análisis de los procesos de precipitación y escorrentía depende de los datos disponibles. La pregunta principal del centro de este estudio es: ¿Cómo se pueden integrar las tendencias de lluvia en las tierras altas de las montañas andinas ecuatorianas al diseño de lluvia de las estructuras hidráulicas de los proyectos hidroeléctricos? Las justificaciones de esta pregunta son las siguientes: Primero, la ocurrencia de eventos de precipitación extrema aumenta el riesgo de inundación, lo que resulta en la falla de las represas del vertedero. En segundo lugar, los cambios en la variación anual de las precipitaciones podrían provocar escasez de agua en la gestión de los proyectos de recursos hídricos. Además, comparamos los eventos extremos de precipitación con los años de ENSO. Este estudio se enfoca en mejorar la comprensión de las tendencias de lluvia en EAM y sus implicaciones en el manejo de estructuras hidráulicas.

Palabras clave: El Niño, La Niña, lluvia, evento, energía hidroeléctrica

INTRODUCTION

Mountain ecosystems contain important natural resources which play a decisive role in ecological and economic processes worldwide [1]. In Ecuador, the Andean Mountains, at over 3,000 MASL, represent 6.6% of its continental area and influence runoff which interacts with important water resource projects for the main cities in Ecuador, such as Quito, Ibarra, Riobamba, Cuenca, and Ambato. In addition, these zones are the harbor of the highland system, between 3,000 and 4,500 MASL, which interacts biogeochemically, thereby generating runoff sources [2,3].

The complexity in understanding how different pathways of diverse sources such as groundwater, precipitation, and snowpack contribute to runoff sources downstream makes it difficult to create rainfall-runoff models [4]. In addition to this complexity, rainfall in the Andean Mountain environment can present high spatial and temporal variations [2].

Water management projects are based on the construction of hydraulic features which rely on flood hydrology studies that are based on robust rainfall and runoff data [5]. The difficult access to these high altitudes has made hydro-meteorological stations scarce. The limited distribution of gauge stations in the Ecuadorian Andean Mountains also limited flood data. As a result, hydrologists use probability methods to define the design of flood hydrographs, which depend on extreme rainfall events. Nevertheless, the rainfall data available during the last decades was useful in designing several hydraulic structures.

Rollenbeck and Bendix [6] explained how complex patterns of rainfall formation in space and time are related to different mechanisms that interact with small and large topographic features. Large-scale mechanisms in rainfall are mainly influenced by atmospheric processes, such as the tropical easterlies coming from the Amazon forest.



Also, the local and regional mechanisms interact with topography. Furthermore, there are other global factors that influence rainfall. These factors are El Niño-Southern Oscillation (ENSO), Pacific Decadal Oscillation (PDO), and Intertropical Convergence Zone (ITCZ) [7].

Extreme precipitation events are quick and unexpected, and they have higher amounts of accumulated rainfall in a few minutes. These events pose risks to hydraulic structures and their operation systems. As a consequence, extreme rainfall events could be affected, causing loss of life, as well as rising food and energy costs. This work aims to expose the importance of the study of the influence of rainfall variation in the Ecuadorian highlands and link the results to the possible impacts on hydropower projects.

We used daily rainfall data of the Ecuadorian National Hydrological and Meteorological Institute (INAMHI) of 35 gauge stations in the Ecuadorian Andean Mountains (EAM) located above an elevation of 3,000 m. We analyzed how decadal rainfall variation and extreme rainfall could affect the management of the main hydropower projects. Additionally, we compared the extreme rainfall events to global processes such as ENSO. The extreme precipitation events were evaluated using Gumbel's probability curve, which is mostly used in the design of hydraulic structures in Ecuador.

METHODOLOGY

This is an applied research in civil engineering structures. Among these, we considered the most relevant hydropower projects in Ecuador. The analysis of data is based on local data available in the Hydrological and Meteorological Center of Ecuador (INAMHI), while the creation of maps of the geomorphic characteristics are based on the use of Geographical Information System (GIS) tools. The process that we used in the present study is shown in Figure 2.

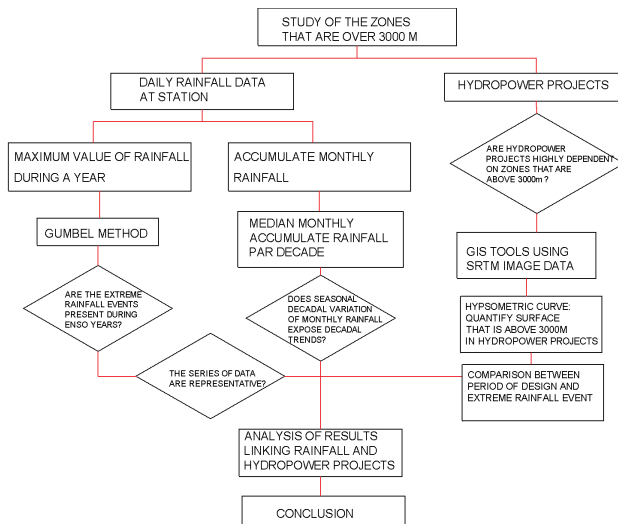


FIGURE 2. Methodology of the Analysis of Rainfall trends in the EAM

We chose the zones above 3,000 m because these areas produce runoff sources that are important for local hydraulic structures and hydropower projects downstream in Ecuador. The rainfall data at each station is used to calculate the probability of extreme rainfall using the Gumbel Method. The name of the station has a prefix M, and the identification numbers are the same as those used by the INAMHI. The statistical results are presented in Figures 5 and 6. These figures represent mean accumulated annual rainfall and accumulated median monthly rainfall variation, respectively.

A summary of the data availability registered in each station located in the zone of study is presented in Table 1. The percentage of availability is calculated by comparing the amount of data registered daily in each station with the maximum of data that should have been registered daily each month.

TABLE 1. Data available during a period in the Rainfall Stations in the EAM (red color describes no data available. Green represents that series of data is almost complete.)

period	years	M001	M003	M023	M102	M120	M141	M188	M308	M344	M354	M357	M364
1962-2015	53	71%	96%	60%	92%	79%	91%	83%	73%	76%	84%	72%	89%
1962-1964	2	0%	0%	0%	58%	0%	0%	21%	0%	0%	0%	0%	0%
1964-1974	11	1%	99%	2%	92%	100%	100%	93%	3%	91%	78%	0%	74%
1975-1984	10	86%	100%	98%	99%	98%	98%	98%	98%	98%	81%	97%	98%
1985-1994	10	99%	100%	55%	94%	72%	90%	97%	98%	88%	90%	98%	98%
1995-2004	10	100%	100%	87%	97%	54%	95%	54%	98%	30%	100%	97%	98%
2005-2015	10	100%	100%	83%	86%	82%	88%	86%	98%	84%	90%	98%	98%
period	years	M369	M371	M376	M377	M385	M390	M393	M396	M399	M409	M411	M414
1962-2015	53	94%	83%	92%	86%	76%	62%	94%	88%	84%	76%	83%	86%
1962-1964	2	33%	29%	0%	0%	0%	29%	13%	0%	0%	0%	0%	0%
1964-1974	11	92%	83%	88%	77%	43%	91%	91%	86%	84%	47%	89%	74%
1975-1984	10	99%	98%	99%	99%	95%	82%	97%	97%	81%	70%	99%	90%
1985-1994	10	98%	87%	100%	98%	73%	28%	99%	94%	91%	99%	58%	93%
1995-2004	10	97%	72%	99%	98%	95%	33%	98%	94%	82%	89%	86%	93%
2005-2015	10	98%	88%	94%	79%	95%	77%	100%	84%	99%	95%	99%	100%
period	years	M417	M535	M1066	M1111	M1130	M1167	M1183	M1209	M1212	M1231	M1261	
1962-2015	53	66%	58%	46%	28%	10%	9%	16%	16%	16%	9%	4%	
1962-1964	2	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
1964-1975	11	1%	90%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
1975-1985	10	100%	59%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
1985-1995	10	99%	34%	65%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
1995-2005	10	83%	13%	88%	53%	9%	0%	40%	0%	1%	0%	0%	
2005-2015	10	76%	100%	98%	99%	43%	49%	46%	87%	88%	49%	20%	



The analysis of extreme precipitation is based on the comparison of the largest extreme precipitation event within ENSO years indicated by the Earth System Research Laboratory (ESRL). Gumbel Curves of extreme rainfall events helped to identify the period of return. Later, this period of return was used in the analysis of the hydraulic structures considering their period of design. Figure 8 shows the Gumbel curves of the stations that have had robust data since 1964. These stations are M003, M102, M141, M369, M141, M369, M376, M377, M393 and M396. The decadal variation of the mean values of accumulated monthly rainfall in the same stations is presented in Figure 9.

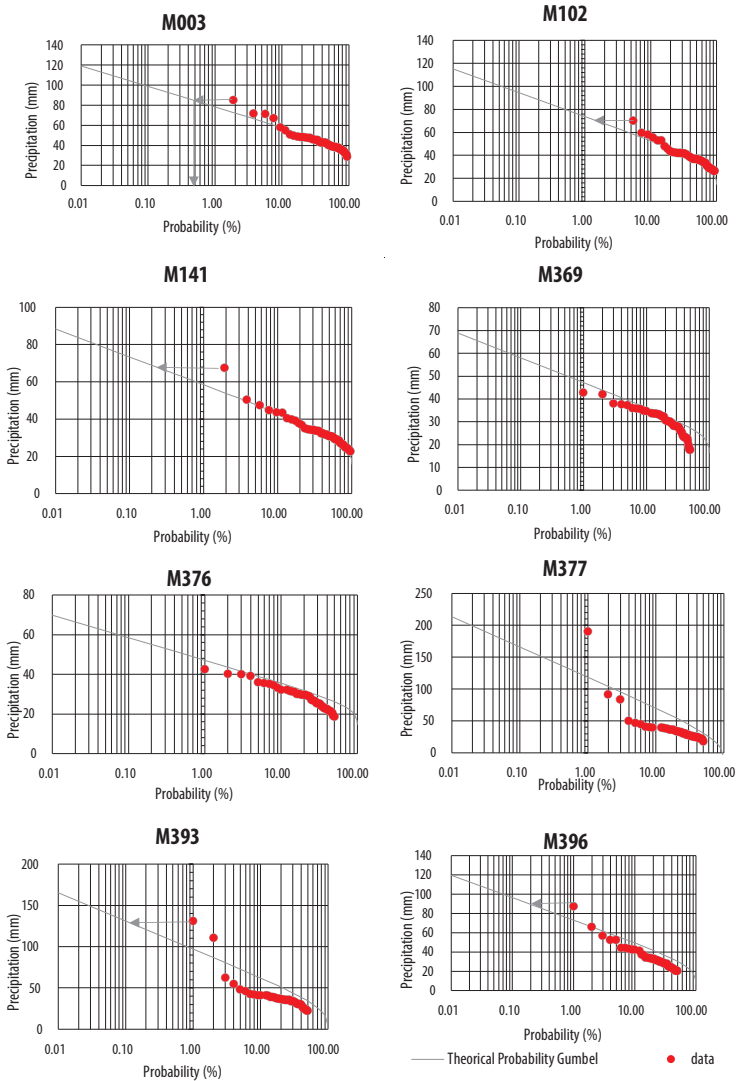


FIGURE 8. Gumbel probability curves in rainfall stations M003, M102, M141, M369, M376, M377, M393 and M396

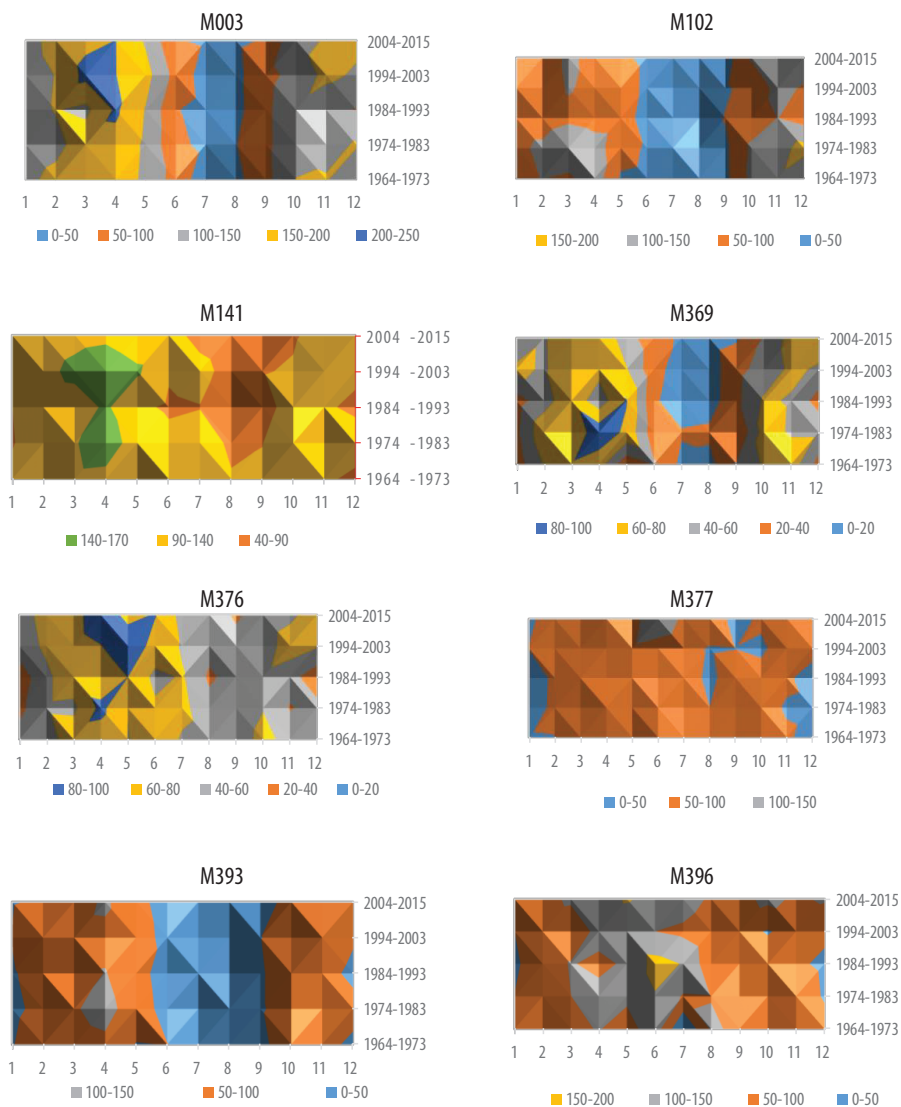


FIGURE 9. Decadal Variation in Rainfall Stations at EAM, legend shows accumulated median monthly rainfall in mm.



AREA OF RESEARCH

The zone of study is located in the region of the Ecuadorian Andean Mountains with more than 3000 meters of elevation. The zone of study has an area of 16,413 km² and represents 6.6% percent of the continental part of Ecuador (250,041 km²). The area extends from latitude 5.00°S – 1.50°N, longitude 79.53° – 77.50°, composed of mountains that can reach 6,263 m in the case of Chimborazo Mountain. Figure 1 geographically shows the zone of study and the main mountains that are distributed in the EAM. These types of mountains are the main sources of snowpack in the tributaries. The drainage area of the EAM influence downstream to the main hydropower projects that are listed in Table 2.

TABLE 2. Hydropower projects in Ecuador and the percentage of the drainage area that contributes to these projects in the EAM. Locations of dams are shown in Figure 7. Stations in red do not have data during the period 1962-2005.

Hydropower Project	Rainfall Stations	Percentage of the Drainage Area Over 3000 M	Surface Of Watershed Km ²
DELSATINAGUA	NO STATIONS	26%	1303.45
JUBONES	M1167, M1212	45%	3720.09
PAUTE	M417, M141, M111, M414	70%	4696.20
MANDURIACU	M001, M003, M344, M364, M357, M1183	55%	6977.55
TOACHI PILATON	M1066, M1231	50%	2482.25
COCA CODO	M188	60%	3700.90
AGOYAN	M120, M369, M371, M376, M377, M390, M393, M396, M1066, M1261, M1130, M1209	87%	8149.07

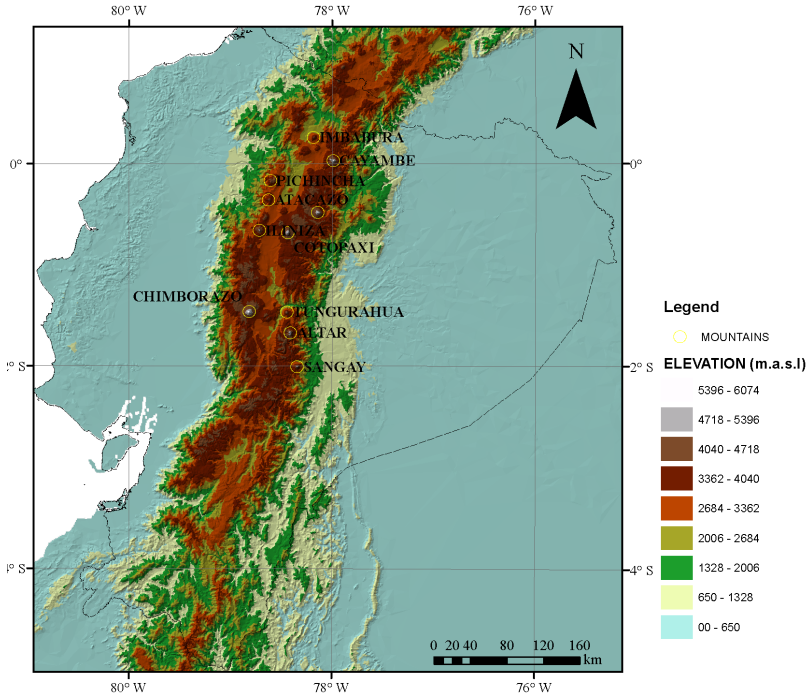


FIGURE 1. Location of zone of study

Rainfall Database

The Ecuadorian National Hydrological and Meteorological Institute (INAMHI) has collected weather data in Ecuador since 1962 at altitudes ranging from 3,000 MASL at M102 to 3780 MASL at M357. This zone of study contains 35 stations, listed in Table 3. None of them have 100% of the daily data complete during the period 1964-2015. Complete daily rainfall records at the stations is important to manage water resources. The zone of study contains the following stations: M003, M102, M141, M369, M376, M377, M393, M396, M399, and M414, which have almost complete data. The stations M1130, M1167, M1183, M1209, M1212, M1231, and M1261 do not have data for the period 1962-2005 and have incomplete data during the last decade. The spatial distribution of these stations is exposed in Figure 2.



TABLE 3. Summary of the analysis of extreme daily rainfall trends

	STATION	NAME	PERIOD		ELEVATION	STATISTICAL EXTREME	
			BEGIN	END	(m.a.s.l.)	MEAN EXTREME VALUES	STANDARD DEVIATION
						(mm)	
1	M001	INGUINCHO	1977	2015	3140	50,2	18,4
2	M003	IZOBAMBA	1964	2015	3058	42,7	11,3
3	M023	OLMEDO-PICHINCHA	1975	2015	3120	39,5	20,8
4	M102	EL ANGEL	1962	2015	3000	37,5	11,5
5	M120	COTOPAXI-CLIRSEN	1964	2014	3510	31,0	7,7
6	M141	EL LABRADOR	1964	2014	3335	32,2	8,3
7	M188	PAPALLACTA	1963	2014	3150	52,3	25,4
8	M308	TUFIÑO	1975	2015	3418	45,9	13,4
9	M344	CANGAHUA	1964	2015	3140	33,0	9,5
10	M354	SAN JUAN-PICHINCHA (CHILLOG.)	1965	2015	3440	37,5	20,7
11	M357	CANAL 10 TV.	1976	2015	3780	49,8	10,1
12	M364	LORETO PEDREGAL	1964	2015	3620	46,2	21,5
13	M369	CUSUBAMBA	1963	2015	3175	29,1	7,8
14	M371	PASTOCALLE	1963	2015	3074	39,6	40,9
15	M376	PILAHUIN	1964	2015	3314	27,2	6,3
16	M377	TISALEO	1964	2015	3266	35,6	26,4
17	M385	SALINAS-BOLIVAR	1969	2015	3600	41,2	50,8
18	M390	URBINA	1963	2015	3610	27,7	10,7
19	M393	SAN JUAN-CHIMBORAZO	1963	2015	3220	37,4	19,0
20	M396	ALAO	1964	2014	3200	32,4	12,9
21	M399	ACHUPALLAS-CHIMBORAZO	1964	2015	3178	32,9	10,5
22	M409	PANGOR-J. DE VELASCO (H. TEPEYAC)	1970	2015	3109	32,1	41,9
23	M411	INGAPIRCA	1964	2015	3100	30,7	12,4
24	M414	CHANIN	1964	2015	3270	41,9	20,1
25	M417	PISCICOLA CHIRIMICHAY	1976	2014	3270	39,1	14,8
26	M535	LAS HERRERIAS	1964	2015	3650	38,8	23,5
27	M1066	COTOPILALO	1988	2015	3250	30,0	7,8
28	M1111	CHANLUD	2000	2015	3336	17,2	19,7
29	M1130	SHIRY XII	2011	2015	3028	10,2	24,5
30	M1167	SABADEL	2011	2015	3238	10,1	25,5
31	M1183	RUNDOPAMBA	2013	2015	3351	17,8	24,2
32	M1209	TOTORILLAS	2005	2015	3207	14,4	21,0
33	M1212	PUCARA-CO	2004	2015	3113	10,6	15,7
34	M1231	ILLINIZA	2011	2015	3460	6,3	14,2
35	M1261	ILAPO	2014	2015	3466	3,2	10,3

DAILY RAINFALL PARAMETERS			ENSO EVENT	GUMBEL		
MAXIMUM RAINFALL REGISTERED	PROBABILITY EXPERIENCED (PERIOD)	YEAR MAXIMUM RAINFALL		0.1% (1000 years)	1% (100 years)	10% (10 years)
(mm)				(mm)	(mm)	(mm)
140,5	0.1% (1000 years)	1994		141,2	108,0	74,2
84,5	1% (100 years)	2009		98,0	78,0	57,4
31,9	1% (100 years)	1990		142,4	104,9	66,7
0,8	1% (100 years)	1962	LA NIÑA	94,4	76,7	52,5
9,8	10% (10 years)	2012	LA NIÑA	60,4	48,6	36,6
7,3	1% (100 years)	2000	LA NIÑA	73,4	58,4	43,1
83,0	0.1% (1000 years)	2003	EL NIÑO	177,6	131,9	85,4
2,0	1% (100 years)	1992	EL NIÑO	112,2	88,1	63,4
0,4	1% (100 years)	1971	LA NIÑA	79,8	62,8	45,4
20,6	1% (100 years)	1967		139,4	102,3	64,4
72,6	10% (10 years)	2012	LA NIÑA	99,8	81,6	63,0
137,0	1% (100 years)	1989	LA NIÑA	152,6	113,8	74,4
59,8	1% (100 years)	2003	EL NIÑO	67,8	53,7	39,3
56,2	0.1% (1000 years)	1969		241,5	168,0	93,0
42,5	10% (10 years)	2004		58,5	47,1	35,5
90,0	0.1% (1000 years)	2005		166,1	118,5	70,1
37,3	0.1% (1000 years)	1989	LA NIÑA	292,2	200,7	107,6
8,5	10% (10 years)	1980	EL NIÑO	80,4	61,2	41,6
30,8	0.1% (1000 years)	1964		131,2	97,0	62,2
87,0	1% (100 years)	1986		96,3	73,0	49,3
61,6	10% (10 years)	1972		87,8	65,9	46,6
215,1	1% (100 years)	2009		239,2	163,7	86,8
83,2	1% (100 years)	1965		92,2	69,8	47,0
126,6	1% (100 years)	2008	LA NIÑA	141,3	105,0	68,2
83,5	1% (100 years)	1976	LA NIÑA	112,2	85,5	58,4
102,5	10% (10 years)	2008	LA NIÑA	227,2	121,4	68,5
48,0	10% (10 years)	2001		68,3	54,4	40,2
71,6	10% (10 years)	2015		114,5	79,0	42,9
--		--		--	--	--
111,3		2013		--	--	--
75,0		2000		--	--	--
71,1		2015		--	--	--
45,2		2006		--	--	--
55,4		2011		--	--	--
--		--		--	--	--



Statistical Analysis

Although missing data could increase the uncertainty of the results, we use all the data to obtain the principal basic statistical parameters to calculate annual and seasonal rainfall distribution presented in Figures 1 and 2. The M003, M102, M141, M369, M376, M377, M393, M396, M399, and M414 stations, which have robust data, are delineated with darker color. For instance, they are analyzed individually considering the results of extreme rainfall trends and decadal variations, as displayed in Figures 8 and 9. The extreme rainfall event is compared to Gumbel's probability distribution curve. The decadal variation is based on the use of mean values of monthly accumulated rainfall data at the stations. According to the statistical theory of extremes, the Gumbel distribution function $F(x)$ represents the probability of a lower value to x .

$$F(x) = e^{-e^{-(x-\beta)/\alpha}} \tag{1}$$

$$\alpha = S_x / \sigma_y \tag{2}$$

$$u = \bar{x} - \mu_y \alpha \tag{3}$$

Where \bar{x} is the arithmetic mean of the sample, σ_y is the standard deviation. The values of α depend on the number of samples. In the case of the stations with a registration period between 1962 and 2015, the number of data is 54, hence. More details about the use of Gumbel's distribution is explained in Chow [8]. In addition, we used Excel to calculate the statistical parameters and generate the Gumbel curves in each station. This study is based on the probability analysis of the rainfall events that reach the return period of 10, 100, and 1,000 years to find out if the hydraulic structures in the EAM are vulnerable. The probability value P (%) and the return period for the hydraulic design of the structure T in years have the following relationship: $P=T/100$.

Hydropower Projects

In order to compare the surface of the EAM contributing to hydropower projects, we used the hypsometric curve of their watersheds. Langbein [9] showed in detail how to make the hypsometric curve presented in Figure 7. The elevation data used in the maps is part of the dataset of the Shuttle Radar Topography Mission (SRTM), with 90 m resolution data.

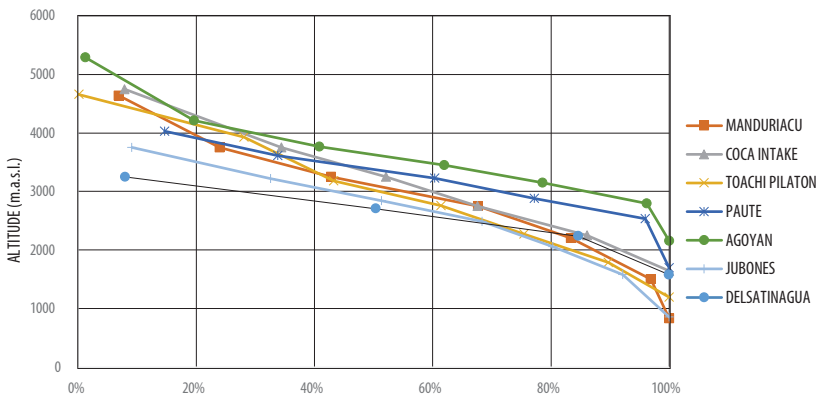


FIGURE 7. Hypsometric curve of the Watersheds influencing Hydropower Projects in Ecuador

Each hydropower project dam is the lowest part of the watershed, hence its control point. The National Corporation of Ecuador (CELEC) provided information about the locations of the main hydropower projects. Although the hydropower projects are composed of several structures, we considered the intake dam as the control point that defines the watershed used in this study. The hydraulic resource projects in Ecuador that are considered in this study include Delsatinagua, Jubones, Paute, Manduriacu, Toachi Pilaton, Coca-Codo, and Agoyan.

Parameters of Hydraulic Design

The total duration of the period of return in the design of hydraulic structures will vary, depending on the type of structure and population needs. In the EAM, the main hydraulic resource projects are water supply, hydropower projects, and sewer drainage systems. Each of these types of projects has a different period of return. The period of return can be one of the main return period values: 0.1%, 1%, and 10%. Even though these values have been regulated by the Ecuadorian Institute of Construction Regulations [10], it is important to note that these values can change depending on the different methodologies and data available. Table 1 and Figure 3 show the interaction between hydropower projects and drainage areas in the EAM.

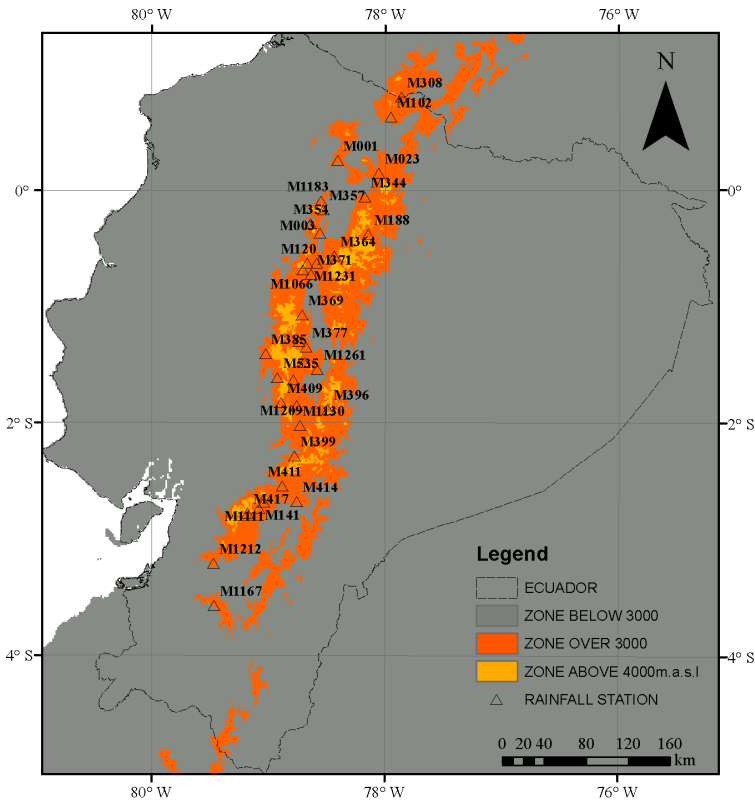


FIGURE 3. Location of rainfall stations in the EAM



For instance, the Manduriacu Hydropower Project interaction shows that 39% of the drainage area is located in the EAM.

The probability of 0.1% corresponds to a rainfall that has a period of return of 1,000 years, which is generally used in the design of the spillway in dams that are widely used in water supply and hydropower projects. The probability of 1% corresponds to a period of return of 100 years. That is used in most of the water supply structures. For instance, in Ecuador most water supply projects are based on the construction of water bottom intake and lateral intake structures in mountain streams in the EAM. Finally, the probability of 10% corresponds to 10 years of return period, which is widely used in sewer drainage systems cities. For example, the period of return in the design of micro-drainage in Quito is between 2 years to 30 years [11].

Additionally, the capacity of the reservoir in the hydropower projects is based on mean or median runoff values at the location of the dam. In this study we use the decadal rainfall variation as an indicator of the variation of the availability of runoff sources in the hydropower project.

RESULTS

Rainfall variation

The areas that are located above 3,000 MASL in the Ecuadorian Andean Mountains present two predominant seasonal rainfall distributions. Unimodal distribution presents the winter season during June and July, while bimodal distribution presents the dry season during August and September. For instance, stations M001, M003, M023, M102, M120, M308, M344, M354, M357, M364, M369, M385, M393, M535, M1231, M1066, and M1183 present a bimodal distribution. The stations M188, M377, and M396 present a unimodal distribution. The stations M390 and M1261 are not well-defined due to the limited amount of monthly data. Figure 4 shows the seasonal rainfall distributions in the zone of study.

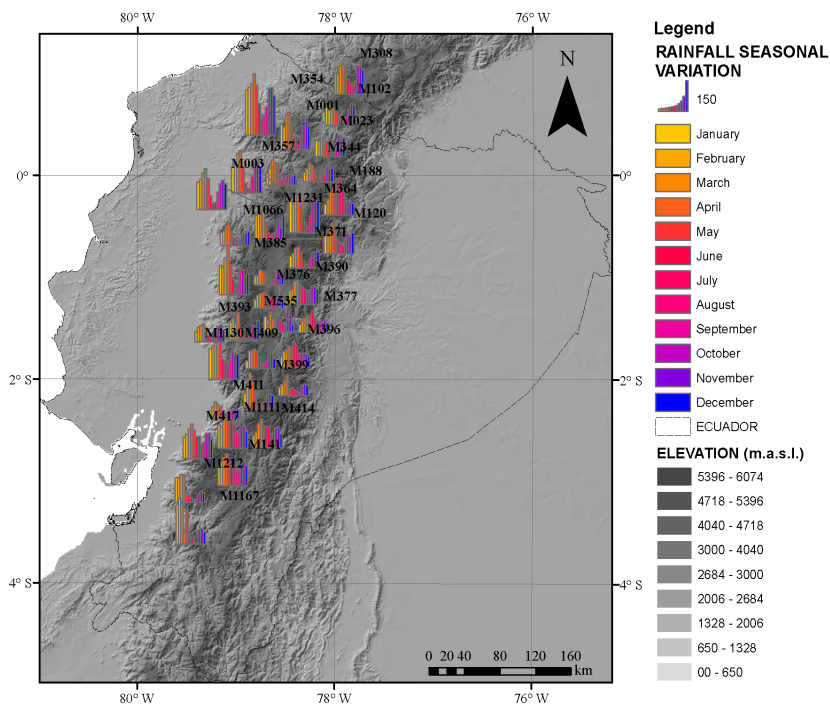


FIGURE 4. Seasonal Rainfall Variation in the EAM

The annual rainfall values of the stations located in the zone of study are shown in Figure 5. Although rainfall stations are located at elevations between 3,000 and 3,780 meters, they represent different climate regions. The station M1130 has an annual rainfall lower than 500 mm, having similar climate to an arid zone. The stations M023, M344, M399, M369, M371, M376, M377, M393, M411, M1065, M1183, and M1209 present annual rainfall between 500 mm and 700 mm. On the other hand, the stations M003, M357, M364, and M1111 have annual rainfall values greater than 1,300 mm.

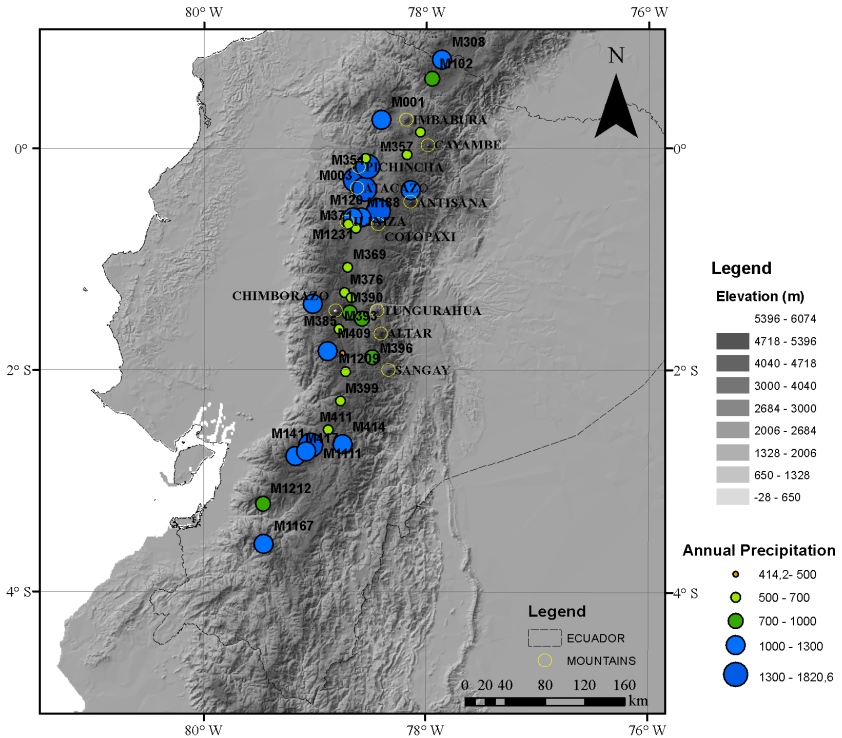


FIGURE 5. Spatial Accumate Median Annual Rainfall in the EAM stations

The EAM regions located in zones above 3,000 m represent big percentages of drainage area for the main hydropower projects in Ecuador. Figure 7 shows the hypsometric curve, which helps to summarize the surface distribution of the hydropower projects compared to mean altitude. The Delsatinagua Project, located in the southern part, has the lowest percentage of 26%, while the Agoyan Project has the largest, with 87%. The Jubones Hydropower Project has 45% of its watershed located in the zone of study, Manduriacu 55% and Toachi Pilaton 50%. Figure 6 and Table 3 show the spatial distribution and the main features of the hydropower projects. Another important point is that although all rainfall stations are located between 3,000 and 3,780 m, there are projects that have a strong dependency of areas above 4,000 m like the Manduriacu, Coca, and Agoyan hydropower projects. In addition, it is important to point out that even though the hydropower projects require exhaustive monitoring systems, only two projects have stations with continuous daily data since 1964. The Paute Project has the station M141, and the Agoyan Project contains the stations M369, M376, M377, M393, and M396.

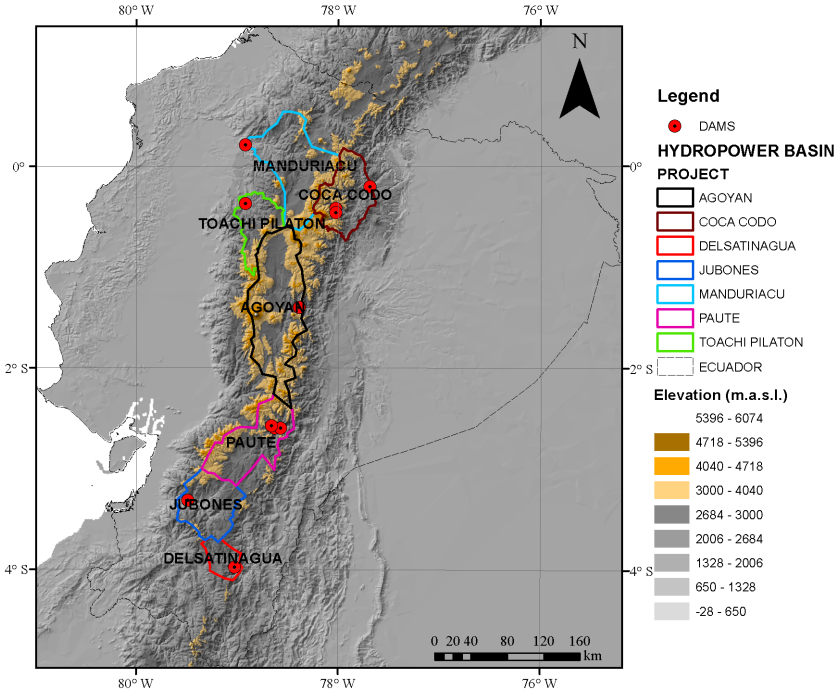


FIGURE 6. Main watersheds that contribute to hydropower and water supply projects in Ecuador

The Manduriacu, Toachi Pilaton, and Jubones Hydropower Projects have their drainage area towards the Pacific Coast, while the Coca Codo, Agoyan and Paute Projects have their drainage areas towards the Amazon Rainforest. Managing these hydropower projects relies on understanding rainfall-runoff processes in the watershed. However, different rainfall distribution in the same area exposes the complexity of runoff sources, resulting in different hydropower production. For example, the Manduriacu Project generates 65 KW, while the Coca Codo Project generates 1,500 KW.

Analysis of data with the Gumbel Curve and Decadal Variation

The probabilistic Gumbel Curves of each station to those completed during the period 1964-2015 are shown in Figure 10. The stations with complete representative data are M003, M102, M141, M369, M376, M377, M393, and M396. Representative parameters used in the Gumbel method such as the values of extreme rainfall daily event, the year of the event, and their comparison with ENSO event and the return period are shown in Table 2. Additionally, the decadal variation of the same stations is exposed in Figure 9.



The rainfall station M003, named *Izobamba*, is located at 3058 m in the southern part of Quito, Pichincha Province. This station has continuous registered data since 1964 and is located in the watershed of the Manduriacu Project. Figure 10 shows the greatest extreme precipitation event of 84.5 mm. This event took place in this station on 25 March 2009 with a probability of 0.5%, representing a period of design of 500 years. It is important to point out that this event does not match with the ENSO year. The decadal variation of the station in Figure 11 shows that monthly rainfall was greater during the decade 1994-2003.

The rainfall station called *El Angel* with notation M102 is located in the northernmost part of Ecuador in Espejo, Carchi Province. This station has near-complete data during the period 1964-2004. However, during the last decade of 2005-2015, 14% of the daily data was already missing. The extreme rainfall event has a return period of 90 years. Figure 11 shows that the driest decade was 1994-2003. There are no hydropower projects influenced by the results of this station.

The station M141, named *El Labrador*, is located in the southern part of Ecuador in Cuenca, Azuay Province. The greatest extreme rainfall event had a value of 67.3 mm on 3 September 2000. This extreme precipitation event has a period of return of 700 years and drains towards the Paute Project. This extreme event matched with La Niña's weak year between 2,000 and 2001. This return period increased the risk of failure of the complementary structures used in hydropower projects such as water bottom and lateral intakes. When analyzing the decadal variation of this station, it is important to point out that the dry season during August and September is becoming longer compared to the decade between 1964 and 1973. This change increases the risk of water scarcity in the yearly operation plans in the future of the project.

The station M369, named *Cusubamba*, located in Salcedo, Cotopaxi Province, presents an extreme precipitation event with a return period of 100 years. The decadal variation shows that the years 1974 to 1983 represented a rainy period. This station is located in the drainage area of the Agoyan Project.

The station M376, named *Pilahuin*, is located in Ambato, Tungurahua Province. The extreme precipitation event has a value of 42.5 mm on 13 April 2004 during the event of El Niño. This station drains toward the Agoyan Project. The decadal variation of rainfall in Figure 9 shows that in recent periods the rainy season is stronger compared to the first decade of 1964-1973.

The station M377, named *Tisaleo*, is located in Tisaleo, Tungurahua Province. This station has extreme rainfall of 190 mm on 28 June 2005 with a return period of 8,000 years, and there was no ENSO event during that year. This station is located in the watershed that drains the Agoyan Project. Although the decadal distribution is relatively homogeneous, the last decade 2004-2015 presented an increase in rainfall during June and July. Since the design of the dam's spillway is based on the probability 0.01% which corresponds to a return period of 10,000 years, this rainfall value should be carefully evaluated and validated in order to consider a high risk of flooding or failure. The risk increases when the extreme rainfall occurs during the rainy season in June and July.

The station M393, named *San Juan Chimborazo*, is located in Riobamba, Chimborazo Province. The extreme rainfall event had 130.8 mm of rainfall on 30 March 1964. This event has a return period of 1,000 years. This year Ecuador had a La Niña weak event. The decadal variation in Figure 9 shows the rainy seasons during the period 1974-1983. Finally, the station *Alao*, M396, presented an extreme rainfall event of 87 mm on 24 June 1986. This station is located in Riobamba in Chimborazo Province. The return period of this event is 900 years. The decadal variation of this station changes from the rainy period 1984-1993, to drier periods such as 1994-2003.

Only a few stations present coincidental dates of the extreme precipitation events with ENSO years. Summarizing the results of the comparison between both in the 35 stations: 10 stations experienced extreme precipitation events during La Niña event and 4 during El Niño. According to Tobar and Wyseure [12] the zone of study belongs to a highland seasonality type where the rain trends do not present a dependency on ENSO events.

CONCLUSIONS

Annual, seasonal and decadal rainfall variations behave differently at each station. Although understanding how global and local atmospheric mechanisms with topography interact is a difficult task, insights about how rainfall-runoff processes interact is important to manage water resource projects such as hydropower projects. In this study we used the stations with robust data to analyze the comparison of extreme rainfall events, return periods of design of hydraulic structures, and ENSO years. Also, we used the data to analyze possible decadal trends. The results showed that stations M003, M141, M377, and M393 have experienced extreme precipitation events that could increase the risk of failure of the hydraulic structures.

Additionally, it is important to point out that although some stations have few daily data sets, monitoring the EAM in the hydropower projects is important to manage water resources. Hence, stakeholders could make a wiser decision about the paramo conservation in zones of more water production in rainy zones. For instance, stations M1212 *Pucará* and M1167 *Sabadel*, located in a watershed that drains towards the Jubones Project, presented different annual rainfall with 873 mm and 1,162 mm, respectively.

Monitoring rainfall processes not only depends on rainfall stations, but also on other methodologies based on weather radar data. Rollenbeck and Bendix [6] presented excellent results about rainfall distribution in "Nudo de Loja" located in the south of Ecuador, considering global atmospheric processes such as easterlies, and local geographical effects on atmospheric circulation that explain drier and wetter zones within the same zone of study. It is important to consider this type of study in other areas, most importantly at rainfall stations. For instance, the Coca Hydropower Project is the largest in Ecuador. However, there is only one rainfall station in the southern part of its drainage area.



Future Research

Future research could be focused on the comparison of the flood values used in the design of hydraulic structures with the current data available. Additionally, this work is carrying us to important changes on how rainfall is affecting water resources projects in the EAM. The next research phase should be focused on the effect that future anomalies could produce on the biogeochemical interactions downstream. For example, geochemical composition and climatic interactions on sediments in the Andes Mountains contribute to higher chemical weathering rates associated to CO₂ consumption [13]. Also, biodiversity in the Andean flank of western Amazonia could be radically altered by climate change [14]. Unfortunately, there is little research about biogeochemical interactions in rivers. As a result, it is important to research these fields [15].

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was developed thanks to the support of the Central University of Ecuador through the PhD Program Project in coordination with the University of New Mexico in the United States. Furthermore, the authors want to recognize the National Institute of Meteorology and Hydrology (INAMHI) for contributing daily rainfall data from the stations at the EAM.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Paulina Lima conceived the research, tabulated data, analyzed the data, interpreted the results and wrote the document. Jorge Santamaria helped with developing maps, data analysis, revised the manuscript critically and collaborated with editing. Margarita Flor revised the manuscript critically and collaborated with editing.

REFERENCES

- [1] M. F. Price, L. Jansky, y A. A. Iastenia, *Key Issues for Mountain Areas*. Tokyo, JAPAN: United Nations University Press, 2004.
- [2] Buytaert, W., Celleri, R., Willems, P., De Bievre, B., & Wyseure, G. (2006). Spatial and temporal rainfall variability in mountainous areas: A case study from the south Ecuadorian Andes. *Journal of hydrology*, 329(3-4), 413-421. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2006.02.031>
- [3] A. Correa et al., (2017) Temporal dynamics in dominant runoff sources and flow paths in the Andean Páramo. *Water Resources Research*, 53(7), 5998-6017. doi: <https://doi.org/10.1002/2016WR020187>
- [4] Beven, K. (2008). On doing better hydrological science. *Hydrological Processes: An International Journal*, 22(17), 3549-3553. doi: <https://doi.org/10.1002/hyp.7108>
- [5] United States. Bureau of Reclamation. (1987). *Design of small dams*. US Department of the Interior, Bureau of Reclamation.
- [6] Rollenbeck, R., & Bendix, J. (2011). Rainfall distribution in the Andes of southern Ecuador derived from blending weather radar data and meteorological field observations. *Atmospheric Research*, 99(2), 277-289. doi: <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2010.10.018>
- [7] Veettil, B. K., Maier, É. L. B., Bremer, U. F., & de Souza, S. F. (2014). Combined influence of PDO and ENSO on northern Andean glaciers: a case study on the Cotopaxi ice-covered volcano, Ecuador. *Climate dynamics*, 43(12), 3439-3448. doi: <https://dx.doi.org/10.1007/s00382-014-2114-8>
- [8] Chow, V. T., Maidment, D. R., & Mays, L. W. (1988). *Applied hydrology*.
- [9] Langbein, W. B. (1947). Topographic characteristics of drainage basins.
- [10] CPE INEN, (1992) *Código Ecuatoriano de la Construcción C.E.C: Normas para estudio y diseño de sistemas de agua potable y disposición de aguas residuales para poblaciones mayores a 1000 habitantes*.
- [11] Guevara Espín, K. M. (2010). *Empresa metropolitana de alcantarillado y agua potable de Quito (EMAAP-QUITO): Propuesta de estrategias comunicacionales para involucrar a la ciudadanía quiteña, en la prevención de los eventos adversos que trae consigo la estación invernal* (Bachelor's thesis, Quito: Universidad de las Américas, 2010).
- [12] Tobar, V., & Wyseure, G. (2018). Seasonal rainfall patterns classification, relationship to ENSO and rainfall trends in Ecuador. *International Journal of Climatology*, 38(4), 1808-1819. doi: <https://doi.org/10.1002/joc.5297>
- [13] Moquet, J. S., Crave, A., Viers, J., Seyler, P., Armijos, E., Bourrel, L., ... & Pombosa, R. (2011). Chemical weathering and atmospheric/soil CO₂ uptake in the Andean and Foreland Amazon basins. *Chemical Geology*, 287(1-2), 1-26. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.01.005>
- [14] Cárdenas, M. L., Gosling, W. D., Sherlock, S. C., Poole, I., Pennington, R. T., & Mothes, P. (2011). The response of vegetation on the Andean flank in western Amazonia to Pleistocene climate change. *Science*, 331(6020), 1055-1058. doi: <https://dx.doi.org/10.1126/science.1197947>
- [15] Heglund, J. M., & Barkdoll, B. D. (2010). Can Climate Change Affect Sediment Transport in a Watershed?. In *World Environmental and Water Resources Congress 2010: Challenges of Change* (pp. 1643-1652). doi: [https://doi.org/10.1061/41114\(371\)173](https://doi.org/10.1061/41114(371)173)

Simple Hardware Implementation of Motion Estimation Algorithms

Juan Romero^{1,3*}, Damien Verdier², Clement Raffaitin², Luis Procel¹, Lionel Trojman¹

¹Instituto de Micro y Nano Electrónica, Universidad San Francisco, Quito, Ecuador.

²Departement electronique et traitement du signal, INP-ENSEEIH, Toulouse, France

³Departamento de Matemáticas, Universidad San Francisco, Quito, Ecuador.

Corresponding Author / Autor para Correspondencia, email: jromero@usfq.edu.ec

Implementación simple en hardware de algoritmos para la estimación de movimiento

Abstract

In the following work is presented a hardware implementation of the two principal optical flow methods. The work is based on the methods developed by Lucas & Kanade and Horn & Schunck. The implementation is made by using a field programmable gate array and Hardware Description Language. To achieve a successful implementation, the original algorithms were optimized. The results show the optical flow as a vector field over one frame, which enables an easy detection of the movement. The results are compared to a software implementation to ensure the success of the method. The results are a fast implementation capable of quickly overcoming a traditional implementation in software.

Key words: Horn & Schunck, Lucas & Kanade, FPGA, VHDL, Movement, Derivative, Optical Flow.

Resumen

En el siguiente trabajo se presenta la implementación en hardware de los dos métodos principales de flujo óptico. El trabajo se basa en los métodos desarrollados por Lucas & Kanade y Horn & Schunck. La implementación se realiza mediante una matriz de puertas lógicas programables en campo y en lenguaje de descripción de hardware. Para lograr una exitosa implementación los algoritmos originales fueron optimizados. Los resultados muestran el flujo óptico como un campo vectorial sobre un cuadro del video, lo que permite una fácil detección del movimiento. Los resultados se comparan con una implementación de software para asegurar el éxito de los métodos. Los resultados son una implementación veloz capaz de superar en rapidez a una implementación tradicional en software.

Palabras clave: Horn & Schunck, Lucas & Kanade, FPGA, VHDL, Movimiento, Derivada, Flujo Óptico.



Editado por /
Edited by:
Eva O.L. Lantsoght

Recibido /
Received:
15/01/2019

Aceptado /
Accepted:
17/06/2019

Publicado en línea /
Published online:
20/02/2020

INTRODUCTION

Computer vision intends to understand, in a mathematical way, the biological process of the interaction eye-brain with the tridimensional world, and to capture this stimulus in a systematic model compatible with an electronic device (for signal processing) [1-3]. Progress in technology has enabled the development of hardware and software letting a machine simulate comprehension, to a certain level, of some physical phenomena. Development in the field of computer science has enabled the optimization of algorithms, therefore machines get information and interact with the real world in a more efficient way [1-3].

Vision can turn on a complex subject when a model is interpreted in a mathematical way. The human brain uses the information that comes from the eyes and processes it. When the information is processed, the brain makes some assumptions to interpret parameters such as depth, brightness reflection over a surface, and the relative movement of an object [1-3]. All these assumptions enable us to construct a 3D model of the environment. When these processes are simulated by a computer, they become a great challenge because they are based on complex physical, mathematical and even statistical models [1-6].

Movement of objects in the real world induces a change in the 2D plane inside images [1-3]. This change can be described as a variation in the brightness patterns and can be analyzed between two frames of a video [3]. Optical flow describes the distribution of the apparent velocities of these changes of patterns [4-6]. In case of absence of change on the light from the source, the change of position brightness pattern between two or more images can be detected as movement [1-2]. This is a comprehensive concept if it is considering the definition of movement on video as well as the edge detection and if certain restrictions are considered as explained later. Optical flow is the pattern created by the relative movement of an object between two images, typically between two frames of a video. The optical flow result is a vector field where the movement is presented with vectors (arrows) [1-3]. While the movement is greater, so the vectors will be.

There are some motion estimation algorithms implemented in hardware, but most of them have a complex implementation [7-8]. The objective of this work is to present an innovative and simple way to implement the calculi of optical flow in hardware. To do so, the two principal and classical optical flow algorithms are tested. These algorithms are Lucas & Kanade and Horn & Schunck [4-5]. The reason these two algorithms are chosen is that they are classical algorithms that have proved to be reliable [6]. To implement the algorithm, a Field programmable gate array (FPGA) is chosen, mainly because of the relative low computing time. The algorithms are implemented in the FPGA in a hardware description language (HDL). The novelty of this work lies on a fast implementation of the optical flux algorithms over an FPGA.

METHODS

Edge Detection and Estimation of Derivatives by Finite Differences

Abrupt changes of brightness in an image can be useful data for image processing. Algorithms that detect these changes are known as *edge detection algorithms* [8-10]. The borders of objects generate abrupt changes of luminosity when compared with



the image's background. [1,3]. One of these abrupt changes (border) is described as a considerable gradient of the brightness in one or more segments of the image [1]. To calculate the gradient of brightness inside a digital image, it is necessary to approximate the derivatives, using the finite differences, as Eq. 1 shows [1,3].

$$\frac{\partial f(x,y)}{\partial x} = \lim_{\epsilon \rightarrow 0} \frac{f(x+\epsilon,y) - f(x,y)}{\epsilon} \quad (1)$$

It is also mandatory to know the *laplacian operator* when trying to solve a problem of optimization, as proposed by Horn & Schunck [4] and Lucas & Kanade [5] for optical flow calculation. Eq. 2 shows the *laplacian operator* [1-3].

$$\nabla^2 f(x,y) = \frac{\partial^2 f(x,y)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 f(x,y)}{\partial y^2} \quad (2)$$

ALGORITHMS

Assumptions

To compute an optical flow, two assumptions are needed. The first one is called *Brightness Constancy assumption*. It is assumed the brightness stays constant between two consecutive frames of a video, as Eq. 3 [4-6,9-10] shows, where E represents the brightness in the position x, y, t .

$$E(x,y,t) = E(x + dx, y + dy, t + dt) \quad (3)$$

From the idea generated in Eq. 3, it is reasonable to assume that the partial derivatives of E will be zero. Eq. 4 describes the brightness constancy assumption, where E_x, E_y and E_t are the space and time partial derivatives of the frame [6,8-11]. The values u and v are the horizontal and vertical components of a vector that show how a pixel moves from frame one to frame two. This vector is called optical flow when calculated for every pixel in the image.

$$E_x u + E_y v + E_t = 0 \quad (4)$$

The second one is called *Smoothness Constraint assumption*. The smoothness constraint suggests that all pixels conforming an object of finite dimensions inside an image (brightness pattern) tend to move as a rigid body, so it is unusual to find pixels moving independently to their neighbors [6,8-11]. Therefore, the velocity field will vary smoothly in almost every part of the image. The smoothness constraint implies the minimization of the space partial derivatives of the velocity components. It is accomplished using the Eq. 5 and 6, where u and v represent the local averages of the velocity components [6,8-11].

$$\nabla^2 u \approx \bar{u}_{i,j} + u_{i,j} \tag{5}$$

$$\nabla^2 v \approx \bar{v}_{i,j} + v_{i,j} \tag{6}$$

Lucas & Kanade

The algorithm presented by Lucas & Kanade segments the image in neighborhoods (square windows) for the calculation of partial optical flow. After optical flow is calculated for each neighborhood, it will be generalized for the entire neighborhood [5-6,8-10,12]. The method developed by Lucas & Kanade applies both the brightness constancy assumption and the smooth constancy to solve the optical flow equation by optimizing an energy functional. Eq. 7 represents the matrix model given by this method, where the derivative sub-indexes represent the number of the pixel being analyzed. This matrix model can be solved obtaining the optical flow components for the velocity of movement. In other words, Eq. 7 is the generalization of Eq. 4 and when solved the components of all velocity vectors are found. Every pixel will have one associate velocity vector representing how much that pixel is moving from frame to frame.

$$\begin{bmatrix} E_{x1} & E_{y1} \\ \vdots & \vdots \\ E_{xn} & E_{yn} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u \\ v \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -E_{t1} \\ -E_{t2} \\ \vdots \\ -E_{tn} \end{bmatrix} \tag{7}$$

Horn & Schunck

The method developed by Horn & Schunck uses the brightness constancy assumption and the smoothness constraint to solve the optical flow equation. This method suggests the minimization of two errors given by the constraints used, as shown in Eq. 8 and 9, where ϵ_b is the brightness constancy error and ϵ_c is the smoothness error [4,6,8-11]:

$$\epsilon_b = E_x u + E_y v + E_t \tag{8}$$

$$\epsilon_c = \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial y^2} \tag{9}$$

With help of variation calculus, finite differences and Eq. 4-5, 8-9 the derivatives to minimize the error are computed. Eq. 10-13 show a numerical solution for u and v [4,6,8-11]. α is a fixed parameter, normally a natural number less than 10.

$$u^{n+1} = (\bar{u})^n + E_x \left(\frac{P}{D} \right) \tag{10}$$

$$v^{n+1} = (\bar{v})^n + E_y \left(\frac{P}{D} \right) \tag{11}$$

In Eq. 10 and 11, n represents the number of iterations. For iteration n_i the calculus will be done for the entire matrix. Using that result the algorithm will proceed to do the calculus for the iteration n_{i+1} .

$$P = E_x \bar{u} + E_y \bar{v} + E_t \quad (12)$$

$$D = E_x^2 + E_y^2 + \alpha \quad (13)$$

HARDWARE IMPLEMENTATION

To implement the algorithm, the software Vivado from Xilinx is used. The code in every module in HDL uses a synchronous programming. In other words, every action is executed at each clock rising edge. The synchronous coding is very important because otherwise there would be issues synchronizing the modules. Moreover, each module begins when a flag is raised, and when the module is done, it notifies another flag. Using this idea each module needs an enabled flag to start and generate an ending flag, allowing the modules to start only when they should.

Flux Diagram

The implementation follows a process that involves several steps as shown in Figure 1. In this process, the coordinates of each vector are calculated by two different methods (Horn & Schunck algorithm and Lucas & Kanade algorithm). Each pixel in the image will have a vector associated with it. The vector will show the motion of the pixel between the two frames.

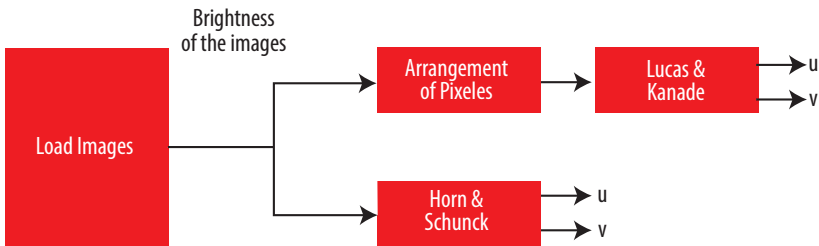


Figure 1. Flux Diagram

Module Description

Loading the Image

The two starting images are grayscale; in other words, they are monochromatic images. The images are coded in 8 Bits in binary. This encryption allows having 256 possible values of color between black and white. The values of the color are handled as integer where zero is black and two hundred fifty-five is white. To load the images, the pixel's values of brightness are written in a text file. Then these values are copied in our first module. The values are set in two vectors that contain values of brightness.

The vector size is the same as the number of pixels in the image. To sum up, the load Image module is in fact a ROM memory handwritten. This ROM memory contains the two Images to be processed.

Arrangement of pixels

1	2	3	4
5	6	7	8
9	10	11	12
13	14	15	16

Figure 2. Rearrangement of Pixels into small square window

In Lucas & Kanade algorithm, images are divided into little square windows of either two or four pixels. The last option is shown in Fig 2. The aim of this module is to facilitate the calculation of the Lucas & Kanade algorithm. Indeed, the input vector contains the values of the pixels by increasing the position. When calculating the coordinates of the vector, the values will be grouped by window. It is therefore desirable to rearrange the vector as follows:

$$[1,2,3,4,5,6,7,8\dots16] \text{ becomes } [1,2,5,6,3,4,7,8\dots16]$$

With this rearrangement, the useful values for each calculation are side by side in the vector. This reorganization depends on the window size chosen. The reorganization should be done to all the windows that conform the image.

Lucas & Kanade

The module implements Eq. 7. To do this, the partial derivatives of space and time are computed, and then the values of u and v . In order to implement this, Eq. 7 is split into small calculations. This small calculation is the spatial and time derivate. Finally, the module assembly all calculi together. In other words, the module solves the matrix equation in the form of several tensor equations. In digital images all the values of the position (x, y, t) of the pixels are natural numbers. Fig. 3 shows the details of the module solving Eq. 7. Fig. 3 shows the Finite State Machine (FSM) used to implement this module.

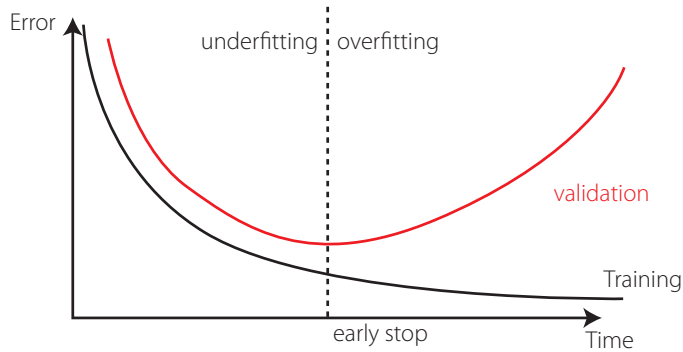


Figure 3. FSM to implement Lucas and Kanade Module

Horn & Schunck

The module implements the Eq. 10 and 11. With that, the values u and v of each vector are computed. Only the result obtained after the number of desired iterations is displayed. The module needs the number of iterations. The decision of how many iterations are needed could be challenging. Several iterations too small result in a miscalculation, and an overextended number of iteration results in a too high computing time. The images in the results section were obtained using 50 as the iteration number. In the discussion section will be more information about this number. Fig. 4 shows in detail how the module implements the numerical solution for Eq. 10 and 11 using a Finite State Machine (FSM).

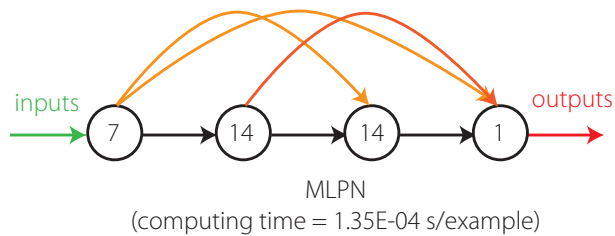


Figure 4. State Machine to Implement Horn & Schunck Module

RESULTS

Fig. 5 shows the two frames to test the algorithms implemented. Fig. 5a is the first frame and 5b is the second frame of a video. The main movement is in the trunk of the car. In addition, there is a slight movement at the level of the man. Next important results consist of evaluating the optical flow result for each method (Lucas & Kanade and Horn & Schunck). Each arrow represents the motion of each pixel between the first and the second image. In Horn & Schunck's algorithm, the number of iterations is critical; a higher number of interactions produces better results but generates a higher time in the synthesis step during the HDL compilation. The time elapsed in the synthesis step is closely related to the processor and memory of the computer where it is done. The number of iterations that best fit our resources were around 50. The price to obtain better results is a higher synthesis time.



a. Frame1



b. Frame2

Figure 5a. First Frame of the test image



a. Frame1



b. Frame2

Figure 5b. Second Frame of the test image

Figure 5. Original Images to test



Figure 6. Optical Flow computed using Lucas & Kanade's algorithm in VHDL

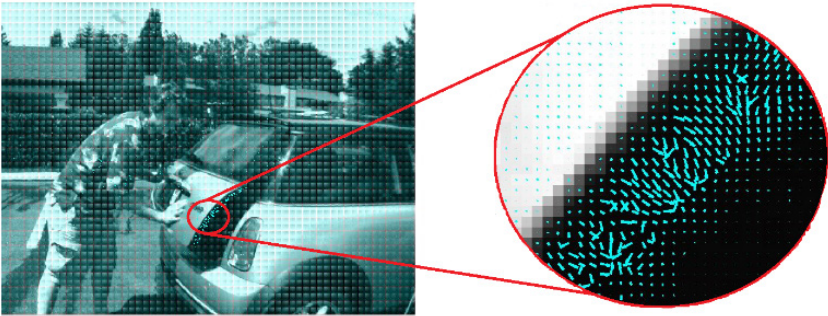


Figure 7. Optical Flow computed using Horn & Schunck's algorithm in VHDL

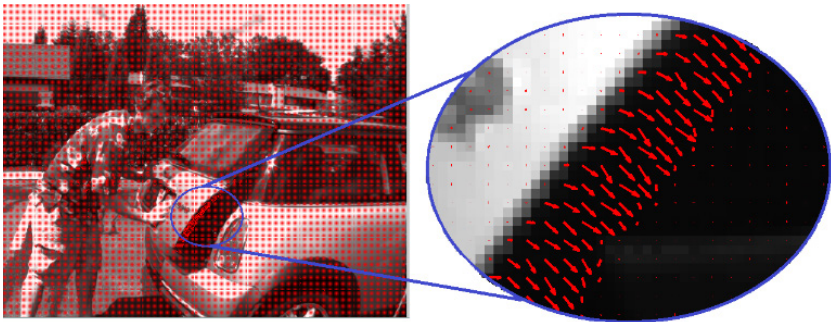
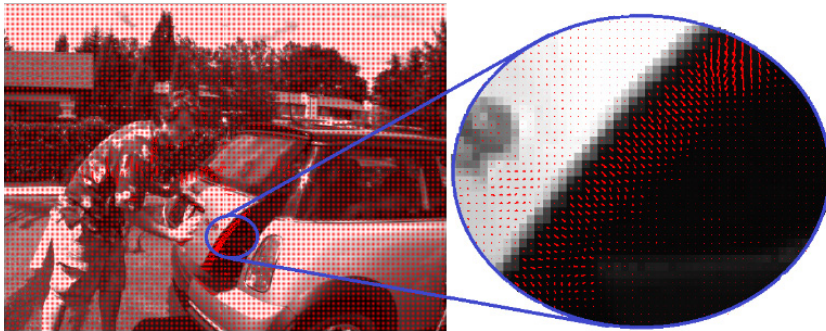


Figure 8. Optical Flow computed using Lucas & Kanade's algorithm in MATLAB



Optical Flow computed using Horn & Schunck’s algorithm in MATLAB

Table 1. Average Time Comparison

Platform	Algorithm	Time
Matlab	Lucas & Kanade	172 us
	Horn & Schunck	195 us
HDL	Lucas & Kanade	50 ns
	Horn & Schunck	51 ns

Table 1 registers how much time it takes to compute the components of the velocity vector for each pixel inside the image. It is important to remark that Table 1 shows the required time to compute the velocity vector for one pixel inside the image. To obtain the total time, this number should be multiplied by the total number of pixels in the image. Moreover, it is important to remember that it is an average time.

DISCUSSION

The specificity of the two algorithms is evaluated and compared based on two parameters: strengths and limits. In order to compare our FPGA’s implementation, we implement the algorithms in a traditional way in MATLAB as shown in Figs. 8 and 9. MATLAB’s implementation has better precision due to the difficulty in carrying the decimal in FPGA’s implementation. The decimal difficulty arises because the values of intensity (of the image) are handled in integer format. The solution for the decimals problem is to multiply the brightness values by one hundred before the calculi and afterward do a shift by two to the left. The shift by two means the decimal is pushed two positions to the left, similar to an arithmetic division by one hundred. The solution presented to the decimals problem tries to preserve two decimal precision. The implementation in VHDL is quite faster than MATLAB because it is implemented in hardware inside the FPGA.



Figs.6-7 show the hardware implementation. Figs.8-9 show the MATLAB's implementation. Comparing Figs 6-7 with 8-9, it is noticeable that MATLAB's implementation images have more arrow density than VHDL images. The lower arrow density is because the used FPGA has a limited memory, and therefore it is imperative to load images with low resolution. Table 1 shows a time comparison between the time elapsed to compute the velocity vector for each pixel in the image. The time is computed for each pixel instead of for each image. The images have different resolutions, so comparing the time per image would not be appropriate.

Both algorithms have some limitations; for example, rotation movements are not well detected. In that case, the algorithms will detect the movement, but not all the arrows will be in the right direction. The problem exists because the frames of a video are a 2D representation of a 3D world. In addition, both algorithms (Lucas & Kanade and Horn & Schunck) have the same goal: to show the motion of each pixel between the first and the second image. However, small differences can be observed in the results. In the case of the Lucas & Kanade algorithm, there is a strong detection of the main movement, but small movements (notably at the level of the man in Fig. 5) are not easily detected. For Horn & Schunck, small movements are well detected, but the direction of the strongest movement is less trustful, in comparison with Lucas & Kanade. Moreover, the computation time for Horn & Schunck is higher, as shown in Table 1, because the algorithm needs a greater number of iterations. This effect can be seen in both implementations: MATLAB and VHDL, as it is noticeable in Table 1. It is then suggested by the results of Figs. 6-9 that Lucas & Kanade has better quality results and, according to Table 1, is the fastest one; therefore, it is more suitable for a real time application.

Two motion estimation algorithms have been successfully implemented in hardware: Lucas & Kanade and Horn & Schunck. They are implemented on FPGA by using VHDL language, and their results are compared with software implementation. The results obtained clearly show the movement, but each algorithm and implementation has its own differences. The algorithm is very reliable to detect 2D movement, but when the movement includes rotation, the direction detected is not always the right one. The innovative VHDL implementation is faster than a conventional software implementation (MATLAB) due to the fact that it is a hardware implementation. Finally, in a timing analysis, Lucas & Kanade's algorithm is the best option to implement a real time application.

REFERENCES

- [1] Horn, B. K., & Schunck, B. G. (1981). Determining optical flow. *Artificial intelligence*, 17(1-3), 185-203. doi: [https://doi.org/10.1016/0004-3702\(81\)90024-2](https://doi.org/10.1016/0004-3702(81)90024-2)
- [2] Lucas, B. D., & Kanade, T. (1981). An iterative image registration technique with an application to stereo vision.
- [3] Bruhn, A., Weickert, J., & Schnörr, C. (2005). Lucas/Kanade meets Horn/Schunck: Combining local and global optic flow methods. *International journal of computer vision*, 61(3), 211-231. doi: <https://doi.org/10.1023/B:VISI.0000045324.43199.43>
- [4] Mallot, H. A. (2000). *Computational vision: information processing in perception and visual behaviour*. MIT Press.
- [5] Pratt, W. K. (2007). *Digital Image Processing: PIKS Scientific inside*. Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, Inc.
- [6] Harris, D., & Harris, S. (2010). *Digital design and computer architecture*. Morgan Kaufmann.
- [7] Kruger, W., Enkelmann, W., & Rossle, S. (1995, September). Real-time estimation and tracking of optical flow vectors for obstacle detection. In *Proceedings of the Intelligent Vehicles' 95. Symposium* (pp. 304-309). IEEE.
- [8] Zach, C., Pock, T., & Bischof, H. (2007, September). A duality based approach for realtime TV-L 1 optical flow. In *Joint pattern recognition symposium* (pp. 214-223). Springer, Berlin, Heidelberg.
- [9] Honegger, D., Meier, L., Tanskanen, P., & Pollefeys, M. (2013, May). An open source and open hardware embedded metric optical flow cmos camera for indoor and outdoor applications. In *2013 IEEE International Conference on Robotics and Automation* (pp. 1736-1741). IEEE.
- [10] Barron, J. L., Fleet, D. J., Beauchemin, S. S., & Burkitt, T. A. (1992, June). Performance of optical flow techniques. In *Proceedings 1992 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition* (pp. 236-242). IEEE.
- [11] Brox, T., Bregler, C., & Malik, J. (2009, June). Large displacement optical flow. In *2009 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition* (pp. 41-48). IEEE.
- [12] Stanisavljevic, V., Kalafatic, Z., & Ribaric, S. (2000). Optical flow estimation over extended image sequence. In *2000 10th Mediterranean Electrotechnical Conference. Information Technology and Electrotechnology for the Mediterranean Countries. Proceedings. MeleCon 2000 (Cat. No. 00CH37099)* (Vol. 2, pp. 546-549). IEEE.

Proceso editorial

Por favor, revise estas directrices para preparar su manuscrito, pues todos los manuscritos enviados a la revista ACI Avances en Ciencias e Ingenierías deben cumplirlas. Estas directrices le ayudarán a estar seguro que su manuscrito está completo y que el proceso editorial se conducirá lo más ágil posible.

Asegúrese de revisar el Enfoque y Alcance de ACI Avances en Ciencias e Ingenierías así como nuestros Criterios de Publicación para conocer lo que publicamos.

Lea nuestras Políticas Editoriales, incluyendo las Políticas de Sección, Proceso de Evaluación por Pares, Frecuencia de Publicación, Política de Acceso Abierto, y Requisitos de Autoría.

Todos los autores deben cumplir con los requerimientos de autoría establecidos de la política de Requisitos de Autoría de ACI Avances en Ciencias e Ingenierías. Aquellos que hayan contribuido al trabajo pero que no cumplan estos requisitos puede ser mencionados en los Agradecimientos.

El Autor para correspondencia debe ingresar su identificador único ORCID al momento del envío del manuscrito (óptimamente, todos los doctores del manuscrito deberían contar su propio ORCID). +Info sobre ORCID.

Los nombres de los autores se publicarán exactamente como aparecen en el manuscrito. Por favor revise la información con cuidado para asegurarse de que es correcta.

ACI Avances en Ciencias e Ingenierías recibe manuscritos que presentan información original y la evaluación de los manuscritos se realiza a través de un proceso de revisión por pares (peer-reviewed) que toma en consideración una determinación objetiva de la robustez científica y metodológica, no en factores subjetivos como “impacto” o “interés”.

Revisar los criterios de publicación de la revista y nuestras políticas del proceso de evaluación por pares en el siguiente enlace: <http://revistas.usfq.edu.ec/index.php/avances/about/editorialPolicies>

Para la organización de los artículos y comunicaciones, la revista se divide internamente en tres secciones:

Sección A: Ciencias Exactas y Físicas

Sección B: Ciencias Biológicas y Ambientales

Sección C: Ingenierías.

ACI Avances en Ciencias e Ingenierías se adhiere a los lineamientos de autoría de la ICMJE. Revisa más detalles sobre los requisitos de autoría en el siguiente enlace: <http://revistas.usfq.edu.ec/index.php/avances/about/editorialPolicies>

DIRECTRICES PARA AUTORES/AS

Por favor, revise estas directrices para preparar su manuscrito, pues todos los manuscritos enviados a la revista **ACI Avances en Ciencias e Ingenierías** deben cumplirlas. Estas directrices le ayudarán a estar seguro que su manuscrito está completo y que el proceso editorial se conducirá lo más ágil posible. Asegúrese de revisar el Enfoque y Alcance de ACI Avances en Ciencias e Ingenierías así como nuestros Criterios de Publicación, nuestras Políticas Editoriales, incluyendo las Políticas de Sección, Proceso de Evaluación por Pares, Frecuencia de Publicación, Política de Acceso Abierto, y Requisitos de Autoría en el siguiente enlace: <http://revistas.usfq.edu.ec/index.php/avances/about>

La revista ACI Avances en Ciencias e Ingenierías publica contribuciones en español e inglés, todas son sujetas a un proceso de revisión por pares, y se pueden enmarcar en una de las siguientes categorías:

Artículo: Un manuscrito que reporta conclusiones substanciales para el entendimiento de un problema, debiendo ser actualizado y exhaustivo en sus análisis y conclusiones, e incluir el conjunto completo de datos empíricos que soportan las ideas expuestas (se incluyen revisiones sistemáticas de la literatura y meta-análisis). Estos manuscritos usualmente tienen más de 2000 palabras y no hay límite máximo de palabras, figuras o tablas. Estos manuscritos deben tener divisiones con subtítulos (ver sección Organización del manuscrito).

Comunicación: Corresponde a un reporte conciso de un tema de investigación específico destinado a la presentación rápida de resultados novedosos pero de interés puntual. El tipo de información reportada es flexible, y puede incluir manuscritos que prueban nuevas metodologías, que describen observaciones de historia natural, o que presentan datos empíricos puntuales y novedosos. Estos manuscritos usualmente tienen menos de 2000 palabras y pueden incluir máximo tres tablas y tres figuras. El texto de estos manuscritos no tiene divisiones (ver sección Organización del manuscrito).

Ciertos manuscritos podrían ser reclasificados entre Artículos y Comunicaciones a discreción de los Editores de la revista y con el permiso del autor.

Revisión de Libro: Corresponde a una crítica objetiva que analiza el contenido y estilo de un libro recientemente publicado y de relevancia dentro del enfoque de la revista. Cada revisión resume, evalúa y discute el contenido del libro a la luz de las necesidades actuales de la comunidad científica. No se incluyen datos originales o sin publicar. Las revisiones son solicitadas por invitación de los Editores de la revista y tienen máximo 1500 palabras. Si está interesado en realizar una revisión o en sugerir un libro para revisión, por favor póngase en contacto con la revista: avances@usfq.edu.ec

Números especiales: La revista publicará números especiales sobre un tema específico o en honor a un académico (Festschrift). Cada número especial será coordinado por un Editor Invitado, quien trabajará junto a los Editores de la revista. Personas interesadas en liderar un número especial deben enviar su propuesta al Editor en Jefe de la revista. Todos los manuscritos aprobados del número especial serán publicados en versión digital y, dependiendo de la cantidad se imprimirán como parte del siguiente número de la revista o como un número impreso por separado.

PREPARACIÓN DEL MANUSCRITO

Formato de archivo. Para el envío inicial, los manuscritos pueden estar en cualquiera de los siguientes formatos: DOC, DOCX, RTF, o PDF.

Si utiliza Mendeley u otro paquete para sus referencias, debe transformar los campos de Mendeley en texto simple.

Se recomienda que los manuscritos que contengan ecuaciones sean producidos en LaTeX. Manuscritos producidos en LaTeX deben ser enviados en formato PDF (si el manuscrito es aceptado, se le solicitará el archivo *.TEX).

Tipo de letra. Times de 12 puntos

Los encabezados deben ir en mayúsculas y centrados (aquellos descritos en la sección Organización del manuscrito).

En caso de incluir subtítulos adicionales a los encabezados, se los colocará en negrillas y con estilo de oración (primera letra en mayúscula y el resto en minúsculas).

El resto del texto no debe tener ningún tipo de formato adicional, excepto colocar palabras en negrillas y en cursiva. No usar tabulaciones, diferentes tamaños de letra, numeración o estilos para subtítulos, etc.

Diseño de página. Alineación a la izquierda (no justificado), textos a espacio seguido, hojas tamaño A4, márgenes de 2,5 cm a cada lado.

Encabezados. Los encabezados principales se especifican en la sección Organización del manuscrito. Adicionalmente puede haber hasta dos niveles más de subtítulos.

Números de página. Todas las páginas deben estar numeradas de manera secuencial en la esquina inferior derecha.

Notas al pie. No se debe colocar notas al pie, pues toda la información debe estar en el texto principal o en las referencias.

Abreviaciones. Defina las abreviaciones en la primera vez que las usa en el texto (incl. acrónimos, acortamientos, abreviaturas, y siglas).

Mantenga al mínimo el número de abreviaciones. No utilice abreviaciones no estandarizadas al menos que las utilice más de tres veces en el texto.

Formato de referencias. Siga el estilo APA (6a edición). Revise las directrices para citas y referencias.

Ecuaciones. Manuscritos que contengan ecuaciones se recomienda sean producidos con LaTeX.

Utilizar MathType para generar y desplegar ecuaciones, caso contrario también es adecuado Equation Editor.

Numere las ecuaciones al lado derecho entre paréntesis. Por ejemplo: $\Delta t = \Delta t_1 + \Delta t_2 + \Delta t_3$ (1)

No utilice MathType o Equation Editor para colocar signos de variables, símbolos griegos, u operadores matemáticos en el texto general del manuscrito. En estos casos, inserte los símbolos como texto normal con los valores Unicode (hex) correctos.

Lenguaje. Escriba el texto y las leyendas de tablas y figuras de manera clara y sin ambigüedades, enfocado en una audiencia internacional. Siga las normas de escritura académica establecidas en el campo al cual corresponde el manuscrito.

Manuscritos en Inglés pueden usar Inglés Americano o Inglés Británico pero de manera consistente.

Manuscritos en Español deben seguir las recomendaciones de la Real Academia de la Lengua Española (con excepción del uso de tilde en "et al.").

Medidas, fechas y hora. Use el Sistema Internacional de Unidades. Puede usar unidades específicas a la disciplina que no son SI solo cuando estas han sido ampliamente adoptadas en dicho campo científico. Coloque un espacio entre el número y el símbolo de la unidad, no coloque un punto al final del símbolo de la unidad, ejemplo: 4 km

Las fechas deben indicarse como Día Mes Año. No abrevie el mes. Ejemplo: 12 de febrero 2015, 14 January 2013

La hora debe seguir el formato de 24 horas, ejemplo: 13h00

Numeración y porcentajes. Escribir los números del 1 al 9 en palabras, a menos que sean unidades.

No incluya un espacio entre el valor y el símbolo de porcentaje, ejemplo: 45%

Coordenadas geográficas. Expresé las coordenadas geográficas en grados decimales. No reporte coordenadas en grados-minutos-segundos o en UTM. Incluya el sistema de referencia geodésico.

Use N/S para denotar latitud y E/W para denotar longitud, independiente el idioma del manuscrito.

Nomenclatura

Nombres científicos de especies se escriben en cursiva. Escriba el género y la especie de manera completa en el título del manuscrito y la primera vez que mencione al organismo en el texto, abstract, resumen, y leyendas de tablas y figuras. Así mismo, escriba el género completo cada vez que lo mencione por primera ocasión en un párrafo o cuando inicie una oración. Luego de la primera mención en el párrafo se puede abreviar género utilizando sólo la primera letra.

Genes, mutaciones, genotipos o alelos se escriben en cursiva. Utilice el nombre recomendado consultando la base de datos apropiada de nomenclatura genética. Usualmente es recomendable indicar los sinónimos para el gen la primera vez que aparece en el texto. Los prefijos de genes tales como los usados para oncogenes o la localización celular deben mostrarse en caracteres de tipo romano (e.g., v-fes, c-MYC).

Compuestos químicos deben tener un nombre sistemático correcto, siguiendo los convenios de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC). Una vez que se ha proporcionado el nombre sistemático, es aceptable definir un nombre común o un acrónimo y para esto ser utilizado para el resto del texto, tablas y figuras. Los nombres generados por ChemDraw u otro software a partir de fórmulas gráficas introducidas deben ser verificados para guiones adicionales y otras desviaciones de las convenciones de la IUPAC. Los nombres sistemáticos o genéricos deben usarse para productos comerciales en lugar de nombres patentados o de marca registrada.

Sustancias farmacéuticas deben mencionarse bajo la Denominación Común Internacional (DCI, o INN International Nonproprietary Name)

Evidencia en estudios biológicos. Si su manuscrito utiliza datos de organismos biológicos, se debe declarar explícitamente la disponibilidad de la evidencia bajo una de las siguientes opciones:

Especímenes voucher depositados en colecciones científicas abiertas al público (es necesario indicar el nombre de la colección y los números de catálogo de los especímenes).

Secuencias de aminoácidos o genes depositadas en GenBank o un repositorio equivalente (indicando el nombre del repositorio y los códigos de acceso).

Fotografías, grabaciones de audio o vídeo enviadas como parte de las figuras o como material suplementario del manuscrito.

Fotografías, grabaciones de audio o vídeo que han sido depositadas en un repositorio institucional o público (por ejemplo, Macaulay Library, o xeno-canto), para las cuales es necesario indicar el nombre del repositorio y citar el registro usando el formato de citación APA para recursos electrónicos e incluirlo en la sección de Referencias.

La colección de datos de organismos biológicos debe realizarse de acuerdo a la legislación nacional e internacional vigente. Es imprescindible que los permisos de investigación y colección otorgados por las autoridades competentes se indiquen en la sección de Agradecimientos del manuscrito.

Datos y códigos. Si su manuscrito se basa en análisis de datos sin procesar (raw data) o códigos, estos deben estar a disposición de los revisores. Por favor, envíelos por una de las siguientes vías:

- Como enlaces a un repositorio donde los datos son accesibles y citados en el manuscrito. Este repositorio puede ser institucional, comercial o de acceso abierto (por ejemplo, figshare o Dryad)
- Como archivos de Material Suplementario.

Si el manuscrito es aceptado, los datos deberán hacerse públicos de tal forma que los datos estén disponibles públicamente para todos los investigadores interesados.

Sin embargo, entendemos que pueden haber restricciones éticas y legales que prohíban la apertura de los datos, por lo que cuando exista legislación o marcos éticos locales que llamen a evitar o limitar la liberación de datos, los autores deben dejar estas limitaciones claras al momento del envío de su manuscrito (en la sección de Comentarios para el editor/a).

Posibles excepciones a la disponibilidad de datos públicos incluyen: datos que no pueden ponerse a disposición del público pues comprometería la confidencialidad o la privacidad del participante; o datos que de ponerse a disposición pública podrían presentar alguna amenaza, como revelar las ubicaciones de depósitos fósiles, especies en peligro de extinción, etc.

Si los datos sin procesar o los códigos pertenecen a terceros y Ud. no tiene permiso para publicarlos, debe presentar la fuente y la verificación del permiso de uso de los datos así como la Información de contacto donde un investigador interesado tendría que aplicar para obtener acceso a los datos pertinentes, en la sección Materiales y Métodos. Sin embargo, tenga en cuenta que los autores son responsables de asegurarse de que los datos estarán disponibles a partir de la publicación, de la misma manera que los autores obtuvieron los datos.

ORGANIZACIÓN DEL MANUSCRITO

1. La primera página del manuscrito debe incluir las siguientes partes, cada una separada por una línea:

- **Título del artículo:** En negrillas, con máximo 300 caracteres, debe ser específico, descriptivo, conciso y comprensible

para los lectores fuera del campo. Sólo la primera palabra y los nombres propios empiezan con mayúsculas. Puede dividirse en título y subtítulo, separados por el signo de puntuación dos puntos (:). Para revisiones sistemáticas o meta-análisis, el subtítulo debe incluir el diseño del estudio.

- **Título abreviado:** En negrillas, con máximo 100 caracteres, describe el tópico de estudio. Sólo la primera palabra y los nombres propios empiezan con mayúsculas.
- **Nombres de los Autores:** Presente los nombres de los autores tanto en la primera página del manuscrito como en la plataforma de la revista. Para cada autor debe incluir el primer nombre, el segundo nombre (o su inicial, si la usa) y los apellidos. Los autores se separan entre sí por comas (no colocar y, and, &).
- **Afiliaciones:** Cada autor de la lista debe tener una afiliación. La afiliación debe incluir al menos el nombre de la organización o universidad y su ubicación. Las afiliaciones se asociarán con los autores por medio de superíndices numéricos. Múltiples afiliaciones por autor se separarán en líneas diferentes y con superíndices propios. Se marcará al autor responsable del manuscrito con un asterisco junto a los superíndices, asociado con la frase "Autor para Correspondencia / Corresponding Author, e-mail:" seguido por el correo electrónico. Si todos los autores comparten la misma afiliación o si hay un solo autor no usar superíndices numéricos. Si hay un solo autor, no incluir la frase "Autor Principal / Corresponding Author"
- **Título en idioma alternativo:** Si su manuscrito es en Español, el título alternativo es la traducción en Inglés, y viceversa.
- **Abstract:** En Inglés, redactado como un párrafo continuo de máximo 400 palabras. Detalla brevemente los principales objetivos del estudio; explica cómo se realizó el estudio, incluyendo cualquier organismo modelo utilizado, pero sin entrar en detalles metodológicos; resume los resultados más importantes y su significado. No debe incluir citas bibliográficas ni abreviaciones y no debe estar separado en párrafos.
- **Key words:** Máximo 10 palabras o grupos de palabras en Inglés. Deben ser diferentes a lo que aparece en el título del manuscrito.
- **Resumen:** Es la traducción al Español del Abstract, y tiene sus mismas características.
- **Palabras clave:** Máximo 10 palabras o grupos de palabras en Español. Deben ser diferentes a lo que aparece en el título del manuscrito.
- Se puede incluir un tercer resumen en Portugués, Francés, Italiano, Alemán u otra lengua, si lo considera necesario.

2. Desde la siguiente página se presentarán el texto organizado por encabezados, luego las tablas y las figuras del manuscrito. La organización dependerá del tipo de contribución. Se sugiere usar una organización según el método científico, por ejemplo:

Organización de un manuscrito sometido como Artículo	Organización de un manuscrito sometido como Comunicación
Introducción	Texto (sin divisiones)
Materiales y métodos	Agradecimientos
Resultados	Referencias
Discusión	Contribuciones de los autores
Agradecimientos	Tablas
Referencias	Figuras
Contribuciones de los autores	
Tablas	
Figuras	

Otras secciones pueden ser: revisión de literatura, conclusiones, recomendaciones. La estructura del artículo será revisado por y evaluado el/los editor(es) y los revisores.

3. En los **Agradecimientos** se incluye:

- Declaración explícita de las fuentes de financiamiento que permitieron el desarrollo del trabajo.
- Los detalles de los permisos o autorizaciones para el desarrollo de la investigación y las instituciones que los emitieron.
- Aquellos que hayan contribuido al trabajo pero que no cumplan con los requisitos de autoría pueden ser mencionados en los Agradecimientos con una descripción de sus contribuciones.
- Los autores son responsables de asegurarse que toda persona nombrada en los agradecimientos está de acuerdo con eso.

4. La sección de **Contribuciones de los Autores** es necesaria cuando hay más de un autor. Se debe describir la contribución de cada uno de los autores para el desarrollo del artículo de manera explícita pero sucinta. La contribución puede ser:

- concepción de la investigación;
- diseño de la metodología;
- curación de datos para la investigación;
- administración del proyecto;
- adquisición, análisis o interpretación de los datos, incluyendo las labores de campo, laboratorio, experimentales, estadísticas, o el soporte técnico;
- adquisición de fondos;

- provisión de recursos, incl. equipos, materiales, reactivos, entre otros;
- desarrollo de software;
- supervisión o tutoría;
- validación y verificación de los resultados;
- redacción del manuscrito;
- revisión crítica del contenido intelectual del manuscrito;
- producción de tablas, figuras o material complementario.

Ejemplo:

María Álvarez y Pedro Pérez concibieron la investigación; Juan Norton y María Álvarez desarrollaron la metodología y realizaron el trabajo de campo; Juan Norton, Jonathan Castro y Pedro Pérez diseñaron el modelo y corrieron los análisis; Jonathan Castro y María Álvarez realizaron los análisis moleculares; Pedro Pérez proveyó reactivos; Juan Norton y Jonathan Castro redactaron el manuscrito; Juan Norton, Jonathan Castro, Pedro Pérez, María Álvarez y Pedro Pérez revisaron críticamente el contenido intelectual del manuscrito; Juan Norton tomó las fotografías de las figuras 1 y 3.

Recuerde que la autoría del manuscrito debe seguir los lineamientos de autoría de la ICMJE.

DIRECTRICES PARA REFERENCIAS

- En el texto, usar citas numeradas colocadas al final de la oración entre corchetes. Los números de citas diferentes deben separarse por comas, a menos que sea un rango continuo de citas en cuyo caso se usará un guion. Ejemplos: [10] [10,15,22] [12-20].
- Numerar las citas secuencialmente según aparecen en el texto (NO en orden alfabético de las referencias).
- Citar los trabajos sin publicar, en preparación o en proceso de revisión como "(datos sin publicar)", precedido por las iniciales y apellido del autor. Por ejemplo: A. Suárez (datos sin publicar)
- Se debe evitar las citas de información proveniente de correos electrónicos, cartas o documentos enviados entre colaboradores, pero si es absolutamente necesario, se deben referir como "com. pers." cuando corresponden a comentarios sin respaldo de correspondencia, y como "in litt." cuando hubo correspondencia escrita. En ambos casos, precedidos por las iniciales y apellido del colaborador y seguida del año. Por ejemplo: (J. Muñoz in litt. 2009) (J. Muñoz com. pers. 2010)
- Subtitular la lista de referencias como Referencias (no Bibliografía o Literatura Citada).
- Ordenar la lista de Referencias de acuerdo al orden secuencial que aparecen en el texto del manuscrito (NO en orden alfabético).
- El formato de las referencias debe seguir el estilo APA (6a Edición). Este estilo arma cada referencia con los siguientes componentes generales:
- Autores. (Año). Título de la obra. Datos de publicación.
- Ejemplos:

Artículo en revista impresa:

Andersson, L. G. (1945). Batrachians from East Ecuador, collected 1937, 1938 by Wm. Clarke-Macintyre and Rolf Blomberg. *Arkiv för Zoologi (Stockholm)*, 37A(2), 1–88.

Artículo en revista con URL:

Ahlman, R. (2016). Green-winged Teal *Anas crecca carolinensis*, first record for Ecuador. *Cotinga*, 38, 40. Recuperado de <http://www.neotropicalbirdclub.org/wpcontent/downloads/C38online/Ahlman.pdf>

Artículo en revista con DOI:

Jacobsen, D., Schultz, R., & Encalada, A. (1997). Structure and diversity of stream invertebrate assemblages: the influence of temperature with altitude and latitude. *Freshwater Biology*, 38(2), 247–261. doi: <http://www.dx.doi.org/10.1046/j.1365-2427.1997.00210.x>

Libro impreso:

Diamond, J. (2006). *The Third Chimpanzee: The evolution and future of the human animal*. New York: Harper Perennial.

Libro con URL:

Suber, P. (2102). *Open Access*. The MIT Press Essential Knowledge Series. Cambridge: The MIT Press. Recuperado de <http://bit.ly/oa-book>

Libro con editores con DOI:

Walsh, S. J., & Mena, C. F. (Eds.). (2012). *Science and conservation in the Galapagos Islands: frameworks & perspectives*. Vol. 1. New York: Springer Science & Business Media. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-5794-7>

Capítulo de un libro impreso:

Minogue, K. (2014). Does the idea of "self-interest" explain the character of modern free societies? En P. Lucio Paredes &

S. Oleas (Eds.), *The Complexity of Liberty: Selected essays from the Mont Pelerin Society Special Meeting in Galápagos* June 2013. Quito: Universidad San Francisco de Quito.

Capítulo de un libro con DOI:

Maldonado, M., Maldonado-Ocampo, J. A., Ortega, H., Encalada, A. C., Carvajal-Vallejos, F. M., Rivadeneira, J. F., Acosta, F., Jacobsen, D., Crespo, A. & Rivera-Rondón, C. A. (2011). Biodiversity in aquatic systems of the Tropical Andes. En S. K. Herzog, R. Martínez, P. M. Jorgensen, & H. Tiessen (Eds.), *Climate change and biodiversity in the tropical Andes* (pp. 276–294). Paris/São José dos Campos: Inter-American Institute for Global Change Research (IAI) and Scientific Committee on Problems of the Environment (SCOPE). Recuperado de <http://www.iai.int/wp-content/uploads/2014/06/book.pdf>

Disertación:

Brandt, M. (2003). Influencia del erizo lapicero (*Eucidaris thouarsii*) en la estructura de la comunidad submarina de la cara norte del Islote Caamaño, Galápagos (Tesis de Licenciatura). Universidad San Francisco de Quito USFQ, Quito.

Enciclopedia en línea (cita global de toda la enciclopedia):

Frost, D. R. (2016). *Amphibian Species of the World: an Online Reference (Version 6.0)*. American Museum of Natural History. Recuperado el 5 de febrero de 2017 de <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>

Ficha en enciclopedia en línea con URL:

Frost, D. R. (2016) *Nymphargus buenaventura* (Cisneros-Heredia and Yáñez-Muñoz, 2007). En *Amphibian Species of the World: an Online Reference (Version 6.0)*. American Museum of Natural History. Recuperado el 5 de febrero de 2017 de <https://web.archive.org/web/20170206001235/http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/Amphibia/Anura/Centrolenidae/Centroleninae/Nymphargus/Nymphargus-buenaventura>

Noticia en periódico en línea:

En el limbo futuro de telescopio en Arecibo (2017, enero 30). *El Universo*. Recuperado de <https://web.archive.org/web/20170206002227/http://www.eluniverso.com/vida-estilo/2017/01/30/nota/6023449/limbo-futuro-telescopio-arecibo>

- Separar cada autor con una coma, y colocar “&” antes del último autor. Las iniciales de los nombres de los autores van después de los apellidos. Indicar todos los autores y no usar et al.
- Incluir el número de la revista entre paréntesis luego del volumen, si está disponible.
- Separar el rango de páginas por un guion n (–). No confundir esto con un guion simple (-).
- Colocar el DOI (Digital Object Identifier) en todas las referencias que lo tengan disponible, precedido por “doi:”. El DOI debe estar en formato de enlace largo: <http://doi.org/xxx.xxx.xxx>
- No colocar un punto después del DOI.
- Si un DOI no está disponible (debe hacer una búsqueda exhaustiva), colocar un enlace estable hacia el sitio web de la revista (por ejemplo, el enlace estable de JSTOR) o un repositorio institucional (por ejemplo, Archive.org), con el texto “Recuperado de”. No colocar enlaces a páginas web personales, servicios no-permanentes de carga/descarga de archivos.
- Para incluir la dirección de Internet o URL de una página que podría cambiar en el futuro debe primero respaldar dicho URL en un archivo digital que resguarden dicha referencia para el futuro. Para esto puede usar Wayback Machine de Internet Archive <https://archive.org/web/> o el sistema archive.is <http://archive.is>. Esto debe ser hecho en particular para páginas que provienen de enciclopedias en línea, periódico de noticias, páginas personales o institucionales.
- Cuando se hace referencia a publicaciones en línea que tienen fechas específicas (como los blogs), se debe colocar (Año, Mes día) y no solo el año.
- Colocar Anónimo cuando no exista un autor determinado.
- Colocar n/f cuando no se conozca el año de publicación.
- Citar manuscritos aceptados para publicación como “in press” solamente si ya tiene la información de publicación del artículo (número de la revista y páginas). Artículos que no tengan esta información son considerados aceptados, pero no en prensa y serán citados como “datos en proceso de publicación” dentro del texto, pero no se incluirán en las Referencias Bibliográficas.
- No se aceptará literatura gris entre las referencias bibliográficas. La literatura gris corresponde a documentos que no están disponible por canales bibliográficos regulares (como bibliotecas o bases de datos en línea), y usualmente corresponde a reportes técnicos, informes y otros trabajos sin publicar. De ser en extremo necesario, su uso será autorizado por el Editor del manuscrito. Sin embargo, es preferible considerar la opción de colocar esa información como “datos sin publicar” o “comunicación personal”. De ser aprobada su inclusión como referencia, una copia del documento de literatura gris debe ser depositada en la Biblioteca de la USFQ.

DIRECTRICES PARA TABLAS

- Citar tablas en el texto con numerales arábigos en el orden que aparecen. Ejemplos: “Tabla 1” “Tablas 1–3”
- Colocar las tablas luego del texto, cada una iniciará en su propia página.
- Las tablas deben alcanzar en una hoja A4 con márgenes de 2,5 cm, pudiendo esta orientarse de manera vertical y horizontal,

según sea mejor para la apariencia de la tabla.

- Cada tabla debe tener su propia leyenda explicativa, la cual debe ser comprensible sin hacer referencia al texto y será colocada antes de la tabla. Cada leyenda empezará con el número de la tabla. Ejemplo:

TABLA 1. Comparación de los efectos...

- Incluir unidades en los encabezados de columnas y filas entre paréntesis.
- De ser necesarias, colocar notas al pie de la tabla enlazadas con los siguientes símbolos en el mismo orden: *, †, ‡, §, ¶. Sin embargo, es preferible colocar cualquier aspecto importante como parte de la leyenda.

DIRECTRICES PARA FIGURAS

- Avances en Ciencias e Ingenierías publica sin costo figuras a color, siempre y cuando se relacionen directamente con el manuscrito.
- El término Figura hace referencia a todo tipo de imágenes, incluyendo gráficos, dibujos, fotografías y mapas.
- Citar figuras en el texto con numerales arábigos en el orden que aparecen usando la abreviatura "Fig". Ejemplo: "Figs. 1–3"
- En el envío inicial, las figuras deben ir en baja resolución, siempre que sean legibles, e incluidas en el archivo de texto del manuscrito, luego de las tablas. Sin embargo, una vez aceptado el manuscrito, las figuras deben ser enviadas en resolución alta (mínimo 300 dpi, recomendable 600 dpi) en uno de los siguientes formatos: *.tiff, *.eps, *.emf, *.bmp, como documentos separados del archivo de texto.

Cada figura irá en su propia página y precedida por su leyenda. La leyenda será autoexplicativa, debiendo ser comprensible sin hacer referencia al texto y será colocada antes de la figura. Cada leyenda empezará con el número de la figura. Ejemplo:

FIGURA 1. Mapa de la región...

- Figuras dibujadas con líneas (line artwork) se preparan mejor en programas gráficos basados en vectores (e.g. Corel Draw, Illustrator, Freehand, Inkscape, ArcView). Por lo que es recomendable presentarlas en formato EPS. No use líneas de un ancho menor a 0.3 puntos.
- Las fotografías en blanco y negro, fotografías a color y mapas y gráficos realizados en programas basados en raster (e.g. Photoshop, Gimp) es recomendable que sean enviadas en formato *.tiff. Para archivos *.tiff, note que la resolución es irrelevante, es importante el tamaño en pixeles, por lo que recomendamos un tamaño mínimo de 1000 pixeles.
- Todo manuscrito que incluya un sitio de estudio debe incluir un mapa del mismo. Dicha figura debe: (1) ir rodeada de un borde con líneas delgadas, (2) estar geográficamente referenciado con algunas marcas de latitud y longitud y con un pequeño mapa insertado que indique la localización general, (3) tener una barra de escala en km, (4) tener una flecha que indique el Norte (no usar una rosa de los vientos), y (5) tener líneas de referencia como límites de países, carreteras, ríos o elevaciones, extendiéndose hasta el borde.
- Para todas las figuras use líneas con un grosor entre 0.3-1.0 puntos y tamaños de letra de 12 puntos.
- Todas las letras y textos usados dentro de las figuras deben ir en Times.
- Si es que desea agregar varias imágenes como una sola figura compuesta o crear una lámina con varias imágenes que ocupe toda una página, no se preocupe por el diseño de la misma. En el primer envío del manuscrito no debe armar dicha figura, sino que debe colocar la leyenda de la figura y luego pegar cada imagen separada. Cada imagen debe tener su propia denominación a través de literales en mayúsculas (ej. A) colocados en la esquina inferior derecha de cada imagen. Cuando el manuscrito avance en el proceso de publicación, el equipo de diseño de la revista se ocupará de armar y diseñar sus imágenes compuestas o láminas.
- Recuerde que las figuras serán ajustadas al tamaño de una o dos columnas en una página A4, por lo que todos los elementos de la imagen deben ser lo suficientemente grandes para ser legibles después de la reducción de tamaño, en especial los textos internos y las líneas.
- Eliminar espacios blancos o vacíos innecesarios alrededor de las figuras.
- Incluir los créditos respectivos de la figura en la leyenda. Recuerde que es responsabilidad del autor tener los permisos necesarios para poder reproducir la figura bajo la Licencia Creative Commons de la revista.
- Si usa un mapa como una figura, debe citar la fuente del mapa. De ser posible, use mapas que sean de uso público o que permitan su uso irrestricto. Si usa Google Earth o Google Maps, debe seguir los lineamientos de atribución de Google.

DIRECTRICES PARA MATERIAL SUPLEMENTARIO

- Los autores pueden publicar material suplementario junto a su manuscrito. Este material corresponde a información que complementa o provee soporte al manuscrito publicado y que se podrá descargar como archivos independientes.
- Diferentes tipos de información pueden ser incluidos como material suplementario: textos extensos sobre metodologías, bases de datos, archivos de video, de audio, fotográficos y otros respaldos audiovisuales, entre otros.

- Los Materiales Suplementarios reemplazan a los Apéndices.
- Estos materiales serán citados al final del manuscrito con enlaces al portal de la revista donde estarán a disposición del público de manera gratuita.
- Si el material suplementario está compuesto por texto, debe ser presentado con el mismo formato general requerido para el manuscrito.
- De ser necesario, citar archivos de Material Suplementario en el texto siguiente el siguiente formato: Fig. S1, Tabla S1, Datos S1, Vídeos S1, Artículo S1, Audio S1. Donde la S indica que es material suplementario, y el número indica la secuencia numérica de dicho material.
- Para maximizar compatibilidad, sugerimos que envíe su Material Suplementario en los siguientes formatos: Imágenes en JPG, EPS o PNG; tablas en XLS o XLSX; textos en PDF; videos en AVI, MOV o MP4, y archivos de audio en WAV o MP3.
- Sets grandes de datos suplementarios se pueden presentar en formato comprimido (zip o tar).

DIRECTRICES SOBRE NOMENCLATURA BIOLÓGICA Y DESCRIPCIÓN DE NUEVAS ESPECIES

- ACI Avances en Ciencias e Ingenierías cumple con los requisitos establecidos por los diferentes códigos de nomenclatura sobre la validez para la descripción de nuevas especies y la disponibilidad de los artículos en línea como trabajos publicados, incluyendo el International Code of Zoological Nomenclature y el International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants.
- La revista se encargará de obtener los registros y el GUID (LSID) en Zoobank, IPNI y Mycobanl o Index Fungorum.
- Todos los artículos y comunicaciones de ACI Avances en Ciencias e Ingenierías están siendo depositados en Internet Archive Archive.org y en el repositorio USFQ.
- Los autores deben adherirse a los lineamientos establecidos por los códigos internacionales de nomenclatura respectiva al organismo tratado.
- Las descripciones de especies nuevas de seres vivos o los análisis taxonómicos deben seguir lo establecido en el respectivo código de nomenclatura.
- Cuando un taxón biológico es mencionado por primera vez, se debe escribir su nombre común (como nombre propio) seguido por su nombre científico en cursiva, por ejemplo: Oso de Anteojos *Tremarctos ornatus*. No colocar el nombre científico o el nombre común entre paréntesis. Más adelante en el manuscrito se puede usar solamente el nombre científico o el nombre común.
- Si el manuscrito corresponde a un análisis taxonómico o si existe controversia en relación a la nomenclatura del organismo estudiado, presentar el nombre del taxón seguido por los datos de autoría taxonómica al mencionarlo por primera vez. Los datos de autoría taxonómica de nombres zoológicos son los apellidos de los descriptores y el año de descripción, separados por una coma, ejemplo: *Grallaria ridgelyi* Krabbe et al., 1999. La autoría taxonómica de nombres botánicos debe seguir lo especificado en The International Plant Names Index. Colocar la autoría taxonómica entre paréntesis solo si existió un cambio a nivel del género. Cuando hay tres o más descriptores utilizar “et al.” sin cursivas.

ENVÍO DEL MANUSCRITO

1. Todos los manuscritos sometidos a la revista ACI Avances en Ciencias e Ingenierías deben ser enviados a través del portal en línea. En la sección Envíos en Línea podrán registrarse y crear un Nuevo Envío.
2. Si manuscrito tiene más de un autor, por favor incluya la información de todos los autores en el sistema (incluyendo sus correos electrónicos).
3. Al momento de someter su manuscrito, debe indicar el nombre, institución y correo electrónico de por lo menos cuatro posibles revisores que podrían hacer la evaluación de pares académicos de su manuscrito. Estas personas deben ser capaces de proveer una evaluación objetiva de su manuscrito, por lo que no pueden pertenecer a la institución de ninguno de los autores, ni estar involucrados en el estudio de manera directa o indirecta. El equipo editorial de la revista se reserva el derecho de seleccionar a los revisores sugeridos al momento del envío del manuscrito o de buscar a otros revisores.
4. Para el envío inicial, el manuscrito debe consistir de un solo archivo que incluya: el texto, las tablas y figuras. Las tablas y las figuras deben ir luego del texto (no intercaladas en el texto). Cada tabla y figura irá en su propia página y estará precedida por su leyenda. En caso de enviar Material Suplementario, deberá ser enviado como archivos separados y subidos al momento del envío inicial.
5. Si es que algunas de las figuras de su manuscrito es una figura compuesta por varias imágenes, no debe armar dicha figura sino que debe colocar la leyenda de la figura y luego pegar cada imagen separada. Cada imagen debe tener su propia denominación a través de literales en mayúsculas (ej. 5A) colocados en la esquina inferior derecha de cada imagen.
6. La revista mantendrá comunicación directa con el autor para correspondencia, quien es el responsable de someter el manuscrito, recibir las revisiones, enviar el manuscrito revisado, aprobar la corrección de originales y las pruebas de imprenta.

LISTA DE COMPROBACIÓN PARA LA PREPARACIÓN DE ENVÍOS

Como parte del proceso de envío, los autores/as están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Se devolverán a los autores/as aquellos envíos que no cumplan estas directrices.

- El estudio presenta los resultados de investigación científica primaria.
- El envío no ha sido publicado previamente ni se ha sometido a consideración en otra publicación.
NOTA: ACI Avances en Ciencias e Ingenierías apoya a los autores que desean compartir su trabajo de manera temprana a través de archivos/repositorios de prepublicaciones (preprint servers/repositorios), incluyendo arXiv, bioRxiv, figshare, PeerJ Preprints, SSRN, Zenodo, entre otros. De igual forma consideramos manuscritos que han salido únicamente como tesis en repositorios institucionales o trabajos que han sido presentados en actas de conferencias.
- Todas las metodologías de análisis, tanto experimentales, estadísticas y otras, se han realizado bajo estándares técnicos de alta calidad y se describen en suficiente detalle para garantizar su reproducibilidad.
- Todas las conclusiones se pasan en la interpretación justificada y apropiada de los resultados. Los autores deben evitar exagerar el alcance de sus conclusiones y si bien pueden discutir el posible impacto de sus resultados deben identificar sus ideas como hipótesis y no como conclusiones.
- Los textos están escritos de una manera entendible y clara, teniendo un correcto uso del lenguaje. Los manuscritos aceptados por la revista ACI Avances en Ciencias e Ingenierías pasan por una corrección del lenguaje y estilo, sin embargo errores en el uso del lenguaje pueden nublar el correcto entendimiento del contenido y provocar evaluaciones negativas por parte los revisores.
- El estudio debe cumplir con todos los estándares aplicables de ética en la experimentación e integridad científica. Todos los estudios relacionados con seres vivos, líneas celulares, muestreo de campo o que tengan potenciales implicaciones de bioseguridad deben contar con las aprobaciones de un comité de ética institucional / IRB, así como con todos los permisos legales requeridos por el país donde se realiza la investigación.
- El manuscrito sigue estándares utilizados por la comunidad de su disciplina científica y garantiza la disponibilidad de los datos. La disponibilidad de los datos se puede realizar colocándolos como material suplementario del manuscrito o depositándolos en repositorios digitales confiables.
- Todos los autores han participado en el desarrollo del manuscrito, lo han leído y están de acuerdo con su envío a la revista ACI Avances en Ciencias e Ingenierías, y de ser aceptado, están de acuerdo que sea publicado según a la *Política de Acceso Abierto* de la revista.
- Todos los autores cumplen con los requisitos de autoría detallados en la *Política de Autoría*.
- El envío inicial del manuscrito consiste de un solo archivo, que incluye: el texto, las tablas y figuras en el mismo archivo. Las tablas y las figuras van luego del texto (no intercalarlas con el texto). Cada tabla y figura está en su propia página y está precedida por su leyenda. En caso de enviar Material Suplementario, se lo envía como archivos separados.
- Si es que hay figuras compuesta por varias imágenes, se colocó la leyenda de la figura y luego se pegó cada imagen separada. Cada imagen tiene su propia denominación a través de literales en mayúsculas (ej. A) colocados en la esquina inferior derecha de cada imagen.
- Siempre que sea posible, se proporcionan DOI o direcciones URL estables para las referencias.

AVISO DE DERECHOS DE AUTOR/A

Los autores que publiquen en la revista ACI Avances en Ciencias e Ingenierías aceptan los siguientes términos:

- Los autores conservarán sus derechos de autor y garantizarán a la revista el derecho de primera publicación de su obra, la cual estará simultáneamente sujeto a la *Licencia de reconocimiento de Creative Commons* que permite a terceros compartir la obra siempre que se indique su autor y su primera publicación esta revista.
- Los autores podrán adoptar otros acuerdos de licencia no exclusiva de distribución de la versión de la obra publicada, pudiendo de esa forma publicarla en un volumen monográfico o reproducirla de otras formas, siempre que se indique la publicación inicial en esta revista.
- Se permite y se recomienda a los autores difundir su obra a través de Internet.
- Antes del envío a la revista, los autores pueden depositar el manuscrito en archivos/repositorios de pre-publicaciones (preprint servers/repositorios), incluyendo arXiv, bioRxiv, figshare, PeerJ Preprints, SSRN, entre otros, lo cual puede producir intercambios interesantes y aumentar las citas de la obra publicada (Véase *El efecto del acceso abierto*).
- Después del envío, se recomienda que los autores depositen su artículo en su repositorio institucional, página web personal, o red social científica (como Zenodo, ResearchGate o Academia.edu).

DECLARACIÓN DE PRIVACIDAD

Los nombres y las direcciones de correo electrónico introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines establecidos en ella y no se proporcionarán a terceros o para su uso con otros fines.

aci
avances
en ciencias e
ingenierías

