

AVANCES

EN CIENCIAS E INGENIERIAS

JULIO - 2012

www.usfq.edu.ec/publicaciones/avances/

Publicación Semestral de la Universidad San Francisco de Quito www.usfq.edu.ec
ISSN 1390-5384

AVANCES

EN CIENCIAS E INGENIERÍAS

Editor

Cesar Zambrano, Ph.D.

Vice Decano del Colegio de Ciencias e Ingeniería

Co-Editor

Diego F. Cisneros-Heredia, M.Sc.

Coordinador de Comunicación y Difusión Científica

Consejo Editorial

Santiago Gangotena, Ph.D.
Canciller

Carlos Montúfar, Ph.D.
Presidente Académico

Ing. Fernando Romo, M.Sc.
*Decano del Colegio de
Ciencias e Ingeniería*

Stella de la Torre, Ph.D.
*Decana del Colegio de
Ciencias Biológicas y Ambientales*

Ximena Córdova, Ph.D.
*Vice Decana del Colegio de
Ciencias e Ingeniería*

María de Lourdes Torres, Ph.D.
*Vice Decana del Colegio de
Ciencias Biológicas y Ambientales*

Producción y Distribución

F. Javier Torres, Ph.D.
Editor de Producción

Julio Ibarra, M.Sc.
Coordinador de Distribución

Editores Asociados - USFQ

Carlos Montúfar, Ph.D.

Fernando Romo, M.Sc.

Stella de la Torre, Ph.D.

María de Lourdes Torres, Ph.D.

Ximena Córdova, Ph.D.

René Játiva, M.Sc.

F. Javier Torres, Ph.D.

Edison Bonifaz, Ph.D.

Fausto Pasmay, M.Sc.

Julio Ibarra, M.Sc.

Carlos Marín, Ph.D.

Darío Niebieskikwiat, Dr.

Alexis Hidrobo, Dr.

Carlos Valle, Ph.D.

Carlos Fabara, M.Sc.

Sonia Zapata, M.Sc.

Editores Asociados - Externos

Eric E. Dueno, Ph.D.

Bainbridge College

John G. Blake, Ph.D.

University of Florida

Bette A. Loiselle, Ph.D.

University of Florida

Theofilos Toulkeridis, Ph.D.

Escuela Politécnica del Ejército

Cesar Costa, Ph.D.

Escuela Politécnica Nacional

Marcelo Albuja, M.Sc.

Escuela Politécnica Nacional

Robert Cazar, M.Sc.

Escuela Superior Politécnica del Chimborazo

Carlos Ventura, Ph.D., P.E., P.Eng.

The University of British Columbia

Diseño e Impresión

G&R, USFQ

Web Master

Diego Cisneros-Heredia

Avances en Ciencias e Ingenierías es una publicación científica, multidisciplinaria, que publica trabajos originales producidos por investigadores de cualquier institución o país que deseen reportar resultados de alta calidad y relevancia en todas las áreas de las ciencias y las ingenierías, incluyendo trabajos en la interfase de varias disciplinas. *Avances en Ciencias e Ingenierías* tiene como propósito divulgar trabajos de investigación de importancia dirigidos a la comunidad científica local e internacional.

Guía para autores

Todos los manuscritos deben cumplir los lineamientos mínimos de esta guía, caso contrario serán devueltos a los autores para su corrección. Se recibirán manuscritos en formatos de Microsoft Word, OpenOffice Writer y LaTeX. No se aceptarán manuscritos enviados en formato PDF. Para manuscritos en LaTeX se debe seguir el estilo disponible en la página web de la revista (usfq.cls). Los manuscritos con más de 2000 palabras serán considerados como *Artículos* y deben tener: (a) Título, nombres de los autores, afiliación institucional y direcciones postales; (b) Resumen y Abstract; (c) Introducción; (d) Metodología; (e) Resultados y Discusión; (f) Agradecimientos; (g) Referencias bibliográficas; (h) Leyendas de figuras y tablas. Los manuscritos con menos de 2000 palabras serán considerados *Comunicaciones Breves* y deben tener: (a) Título, nombres de los autores, afiliación institucional y direcciones postales; (b) Resumen y Abstract; (c) Texto –sin divisiones adicionales– (d) Agradecimientos; (e) Referencias bibliográficas; (f) Leyendas de figuras y tablas. Las figuras no deben incluirse en el archivo del manuscrito. El texto y las tablas van en un mismo archivo, mientras que las figuras serán enviadas en archivos separados. Si las figuras o tablas han sido previamente usadas, es responsabilidad del autor el obtener el permiso necesario.

Formato del Manuscrito

- El manuscrito deberá ser escrito usando un tipo de letra *Times New Roman* con un tamaño de letra de 11 puntos y a espacio seguido. Los márgenes deben ser de 30 mm a la izquierda y 15 mm a la derecha.
- El título debe ser conciso y directo, indicando los elementos claves. Debe ser escrito con un tamaño de letra de 12 puntos, en negrillas, centrado y sólo la primera palabra debe ser mayúscula.
- La afiliación completa de cada investigador debe ir asociada con su nombre por medio de superíndices y colocarse separada por una línea debajo de los nombres con un tamaño de letra de 10 puntos. El autor para correspondencia debe ir claramente identificado por un asterisco y se debe incluir su correo electrónico.
- Todo artículo deberá incluir como mínimo un resumen detallado en español y un abstract detallado en inglés. Cada uno será redactado en un párrafo continuo y no debe superar las 300 palabras.
- La introducción debe ser concisa y detallada, revisando literatura relevante y actual, y presentando antecedentes del estudio, datos sobre su importancia, justificación y objetivos.
- La primera vez que una especie de ser vivo sea mencionada, debe siempre ir primero su nombre científico (en cursiva), luego del cual se puede mencionar el nombre común (con formato de nombre propio).
- Las referencias en el texto deben ir numeradas secuencialmente y se colocarán al final de la oración correspondiente dentro de un corchete, ejemplos: [10], [10,15,22], [12-20]
- Las abreviaciones deberán usarse lo menos posible y no deberán permitir ambigüedad alguna. El significado de todas las abreviaciones deberá ser indicado la primera vez que se use la abreviación.
- Las tablas y figuras deberán estar citadas con números arábigos en el orden que aparezcan en el texto; ejemplos: Tabla 1; Tablas 1-3; Figura 1; Figuras 1,4; Figuras 1-3
- Cada tabla o figura debe tener su propia leyenda explicativa, la cual debe ser corta y comprensible sin hacer referencia al texto y será colocada debajo de la tabla o figura respectiva.
- La lista de referencias debe titularse: Referencias Bibliográficas; y debe ordenarse de acuerdo al orden de aparición en el texto del manuscrito y su formato seguirá los ejemplos detallados en:
<http://www.usfq.edu.ec/Publicaciones/Avances/Paginas/ParaAutoresyrevisores.aspx>

Instrucciones para Figuras

Las figuras deben ser enviadas en alta resolución. Las fotografías en blanco y negro, fotografías a color y mapas y gráficos realizados en programas basados en raster (*e.g.* Photoshop, Gimp) deben ser enviadas en formato *.tiff de 1000 pixeles.

Envío del Manuscrito

Los manuscritos deben ser enviados al Editor, Cesar Zambrano, vía correo electrónico a la dirección: usfq-avances@usfq.edu.ec. Al enviar el manuscrito, los autores deben confirmar en su mensaje de envío que el manuscrito no ha sido publicado o sometido para publicación en otro sitio y que todos los autores han participado en el desarrollo del manuscrito, lo han leído y están de acuerdo con su envío.

Revisión del Manuscrito

Los manuscritos serán manejados por el Co-Editor y los Editores Asociados, quienes enviarán el manuscrito para evaluación por parte de revisores externos reconocidos (nacionales e internacionales) en cada área. Los autores del artículo pueden sugerir revisores apropiados (no ligados directamente al desarrollo del estudio reportado). Los principales criterios para la aceptación son originalidad, rigor científico, contexto, relevancia y seguimiento del estilo y formato requerido para la revista. Nuestro objetivo es indicar a los autores la decisión tomada en un tiempo máximo de ocho semanas luego del envío.

Pruebas de Imprenta y Publicación del Manuscrito

Las pruebas de impresión serán enviadas al autor para correspondencia como un archivo PDF. Las pruebas revisadas y corregidas deben ser enviadas al Editor dentro de 15 días hábiles luego de su recepción. El autor para correspondencia recibirá vía correo electrónico un archivo PDF en alta definición de su artículo y 1 revista impresa para cada co-autor, entregada vía correo postal.

Avances en Ciencias e Ingenierías –ISSN 1390-5384–

Publicación semestral (Junio y Diciembre) de la Universidad San Francisco de Quito

Diego de Robles y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador.

Telf. Ed. +593 2 297 1700 Ext. 1451 FAX +593 2 289 0070.

Email Comité Editorial: usfq-avances@usfq.edu.ec

<http://www.usfq.edu.ec/Publicaciones/Avances>

SECCIÓN A: CIENCIAS EXACTAS

A1–A5 ■

DFT study of the effect in surface energy of metallic overlayers in semiconductors

J. Cuesta, L. Basile, S. González

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. A1-A5

A6–A12 ■

Zipper-like structures, alternative conformations of DNA in guanine rich regions and importance of cations for their stability

M. A. Méndez, A. Montero, A. Samaniego, A. Sosa, D. Vallejo, S. Velasteguí, F. Yanqui-Rivera

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. A6-A12

SECCIÓN B: CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

B1-B2 ■

Observations of courtship in *Megaceras jasoni* (Coleoptera, Scarabaeidae), the rhinoceros beetle or great horned scarab

K. Swing

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. B1-B2

B3-B4 ■

Observations on the distribution and density of the rare and poorly known flower urchin, *Toxopneustes roseus*, (Phylum Echinodermata, Class Echinoidea, Family Toxopneustidae) in Ecuador.

K. Swing

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. B3-B4

B5-B10 ■

Evaluación in vitro de fungicidas para el control de *Monilinia spp.* que afecta el cultivo de durazno (*Prunus persica*) en provincias de la Sierra Ecuatoriana

V. Arahana, E. Borja, C. Salgado, J. Tobar, M. L. Torres

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. B5-B10

B11-B18 ■

Molecular and morphological characterization of S2 lines of black corn (*Zea mays L.*) from Ecuadorian Andes

M. L. Torres, A. L. Bravo, M. Caviedes, V. Arahana

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. B11-B18

SECCIÓN C: INGENIERÍAS

C1–C3 ■

Puncture test as an additional qualifying index of control on pineapple, mango and cassava

S. Santacruz, P. Pólit

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. C1-C3

C4–C7 ■

Estudio de factibilidad para la industrialización del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) como fuente de fructooligosacáridos (FOS) para la aplicación en yogur tipo II en Cayambe

R. Cadena, S. Santacruz

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. C4-C7

C8–C13 ■

Sistema de localización en interiores por ultrasonido

P. Chávez Gracia

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. C8-C13

C14–C21 ■

Cota inferior de Crámer-Rao en la estimación del tiempo de llegada en un canal Rice

R. P. Játiva, J. Vidal M.

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. C14-C21

C22–C36 ■

Storm-Source-Locating algorithm based on the dispersive nature of ocean swells

J. Portilla

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. C22-C36

C37–C41 ■

Detección y agrupación de logos

L. M. Prócel, V. Casillas

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. C37-C41

C42–C45 ■

Ultra thin depleted silicon on insulator MOSFET: a simulation based on COMSOL Multiphysics

J. Bustamante, L. Trojman

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. C42-C45

C46–C52 ■

Diseño del sistema de producción y distribución de leche pasteurizada para la comunidad agrícola de San Agustín de Callo en Ecuador

G. Baldeón, G. Moreno, D. Merchán

Avances, 2012, Vol. 4, No. 1, Pags. C46-C52

DFT study of the effect in surface energy of metallic overlayers in semiconductors

Jéssica Cuesta¹ Leonardo Basile^{2,3} Silvia González^{1,3*}

¹ Instituto de Química Aplicada, Universidad Técnica Particular de Loja,
San Cayetano Alto, Loja, Ecuador

² Departamento de Física, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.

³ Grupo Ecuatoriano para el Estudio Experimental y Teórico de Nanosistemas –GETNano–
Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador

Autor principal/Corresponding Author e-mail: sgonzalez@utpl.edu.ec

Editado por/Edited by: F. J. Torres, Ph.D.

Recibido/Received: 12/28/2011. Aceptado/Accepted: 04/09/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

The surface energy of various systems: semiconductors (Ge and Si), metals (Ag and Pb) and metallic overlayers on semiconductors Ag/Ge and Pb/Si) have been calculated using a DFT approximation. The Pb(111) and Ag(111) adlayers on Si and Ge(111) surfaces had been modeled using the periodic supercell approach. Self-consistent field energy periodic calculations for bulk and surfaces of Ge, Si, Pb and Ag, with 12, 11, 10, 9, 8, 7 and 6 layers and $SC_{12-n}M_n$ (where SC is Ge or Si; M is Ag and Pb, respectively and n is the number of layers) metallic adlayers on semiconductor super-system slab models were calculated using plane wave density functional theory, in particular employing the Perdew Wang (PW91) functional. The metallic adlayers on semiconductors modify its surface energy and vice versa. The values for $SC_{12-n}M_n$ systems follow a sinusoidal trend in similar way to for semiconductors, but softer. The surface energy values lay in between those corresponding to semiconductors and metals. These results indicate that if the number of metallic overlayers on a semiconductor can be controlled then the surface energy can be addressed.

Keywords. Metallic overlayers, Pb/Ge, Ag/Si, DFT.

Resumen

Se calculó teóricamente la energía superficial de Ag, Pb, Ge y Si de los sistemas formados por capas metálicas (Ag y Pb) en los semiconductores (Ge y Si), respectivamente para formar los sistemas Ag/Ge y Pb/Si. Para ello, se utilizó el funcional Perdew Wang (PW91) dentro de una aproximación DFT. Para modelar el *bulk* y las superficies (111) de Ag, Pb, Ge y Si se utilizó el modelo periódico de *slab*. Los modelos de los semiconductores se construyeron con 12, 11, 10, 9, 8, 7 y 6 capas, los de metales con 1, 2, 3, 4, 5 y 6 capas y para estudiar las monocapas metálicas en los semiconductores se empleó un modelo de 12 capas en total: $SC_{12-n}M_n$ (donde SC es Ge o Si; M es Ag y Pb, respectivamente y n es el número de capas). Conforme a los resultados obtenidos, se concluyó que el metal modifica la energía superficial de los semiconductores, y éstos a su vez modifican la energía superficial del metal. Los valores de los sistemas $SC_{12-n}M_n$ oscilan en forma similar a la de los semiconductores, aunque con valores intermedios entre el metal y el semiconductor. Estos resultados indican que si el número de monocapas metálicas en un semiconductor se puede controlar, también se puede controlar la energía de superficie del sistema.

Palabras Clave. Monocapas metálicas, metal-semiconductor, Pb/Ge, Ag/Si, DFT

Introducción

The study of metallic self-assembled monolayers on various substrates such as metals, semiconductors or oxides has attracted much attention due to novel chemical and electronic phenomena and the possibilities for innovative applications [1], for instance, bimetallic catalysts with enhanced activity and selectivity [2, 4]. The dif-

ferences between thin film systems and the bulk metals have been attributed to ligand and structural effects. The ligand effect is due to the different electronic environment of the atoms, in a monometallic or bimetallic system, caused by the hetero - atom bonds. The ensemble effects include geometric modifications caused by the interactions of the parent metals, with different metal-metal bond lengths to the original bonds [1, 5, 6]. On



the other hand, metallic films on semiconductors have received attention by their particular electronic and optical properties [7, 8]. In addition, due to their particular structural properties, metal-semiconductor systems are attractive materials for electronic devices.

The metallic overlayers have shown novel morphologies when grown on semiconductors substrates which cannot be classified in the traditional growth modes. Bauer proposed the actual thermodynamic criterion for classify thin film growth on a support [9], which he called Frank-van der Merwe (layer-by-layer growth), Volmer-Weber (island growth) and Stranski-Krastanov growth (layer + island growth).

Thin film growth is a complex process and depends on the amount of material adsorbed on a substrate. For instance, an analysis of STM (Scanning Tunneling Microscopy) and AES (Auger Electron Spectroscopy) measurements of Sn grown on Mn(110), before to complete a monolayer is formed, show tin is nucleated randomly and forms islands on the Mn substrate suggesting island type of growth; however on continuous deposition the growth mode switch to layer-by-layer growth (Frank-van der Merwe mode) for the first two layers [10]. Moreover, impurities can modify the growth behavior, by changing the arrangement of substrate atoms, mobility of deposited atoms or growth energetics, this process has been named ‘surfacting mediated’ growth [7].

Pb adlayers on Ge and Si substrates are model systems to probe a metal-semiconductor interface due to the inert nature of Pb and its insolubility in these substrates which produces a sharp interface [11, 13]. Several experimental and theoretical studies have been carried out to measure, for example, the conductance of Pb wires grown by self-assembly on Si(557) as a function of coverage and calculate the surface diffusion of metallic atoms [11, 15, 16].

The adsorption of Ag on Si had been extensively studied by experimental techniques [15, 16]. Mathew et al. [11] employing TEM (transmission electron microscopy) and RBS (Rutherford backscattering spectrometry) studied Ag growth on a hydrogen-passivated Si (100) surface. They concluded that under controlled experimental settings nanoscale Ag islands of a desired size form via surfactant action of Pb. A study using RHEED-TRAXS (reflection high-energy electron diffraction-total reflection angle X-ray spectroscopy) showed that Stranski-Krastanov growth of Ag crystals ensues above 2.47 monolayers on a Si (110) substrate [16]. Deng et al. [17] analyzed structural and morphological changes of Ag grown on Si(111) as a function of temperature and coverage using SGH (Second-harmonic generation) and proposed the existence of a critical size of Ag islands for the nucleation on Si(111). Tong et al. [18] measuring coverage arrived to a similar conclusion, employing STM (Scanning Tunneling Microscopy). Zhang et al. [19] proposed a model for metallic thin films deposited

on semiconductor substrates, and showed the existence of critical/magic thicknesses above which smooth growth takes place. By contrast, Basile et al. [20] did not observe magic thickness in this system using x-ray measurements and RHEED (Reflection - High - Energy - Electron - Diffraction) system.

X-ray studies of Pb overlayers on a Si(111) surface revealed an unusual growth behavior. On initial deposition, Pb islands of uniform height formed. These islands grew laterally as additional material was deposited. Once the surface was completely covered by a the Pb film the growth switched to layer-by-layer growth; this particular behavior was attributed to quantum effects [21]. Theoretical calculations on the adsorption of Pb atoms on a clean Si(001) surface showed that the growth of chains from the most stable monomer configuration proceeds via the formation of inter- and intra-row ad-dimers, and ad-trimers [22]. The surface morphologies and stability of ultra-thin Pb films with thicknesses of 2, 4 and 6 monolayers on a substrate of Si(111)- α - $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$, using STM and TDARPS (Temperature-Dependent Angle Resolved Photoemission Spectroscopy); the authors conclude that the diffusion barrier in Si(111)- α - $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$ structure is lower than in Pb/Si(111) - 7x7; and different critical thickness interface and charge transfer are different, under same conditions [23].

The goals of this study is to model theoretically Ag and Pb overlayers on Si and Ge substrates and calculate modifications of the surface energy of Ge and Si, provoked by the presence of Ag and Pb, respectively; and analyze the results with respect to experimental data.

Computational model

The Pb(111) and Ag(111) adlayers on Si and Ge(111) surfaces had been modeled using the periodic supercell approach. Although, the studied metals and semiconductors have different structures (fcc for metals and diamond for semiconductors), we have chosen the (111) surface orientation for both fcc and diamond structures due to their similar atomic arrangement.

In all calculations, the computed lattice constants were used, for Ag, Pb, Ge and Si are 4.16 Å, 5.0301 Å, 5.7785 Å, and 5.4904 Å respectively, which compare well with the experimental value, 4.0853 Å, 4.9508 Å, 5.6575 and 5.4309 Å[24]. Therefore, the atom-atom distance bond for Ge-Ge is 2.50 Å, for Ag-Ag is 2.94 Å, for Si-Si 2.35 Å and for Pb-Pb is 3.55 Å.

The Ge model contains 16 atoms for layer with 2x4 structure, because this structure was found experimentally; the Ag model has 15 atoms for layer with a (3x5) structure, because its size is similar to (2x4) structure of Ge. Si and Pb models are (4x3) cell with 24 atoms for layer and 12 atoms, respectively.

All studied systems were modeled using periodic slab models containing 12 atomic layers. For analyze the

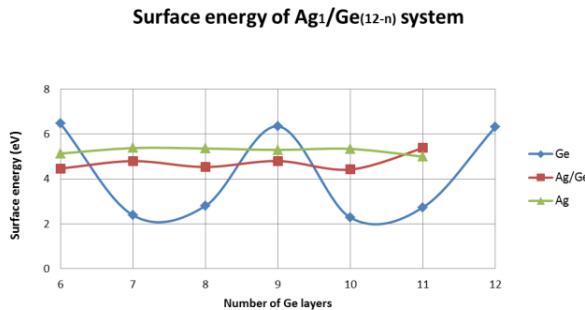


Figure 1: Surface energy of Ag/Ge surfaces, with respect to number of Ag adlayers. The energy is in eV.

effect of a metallic adlayer in the properties of the semiconductors, we started considering a supercell with 12 layers of Ge or Si, and the metal-semiconductor supercell was built substituting one-by-one layer for a metallic layer: $\text{Ge}_{12-n}\text{Ag}_n$ (where n is the number of metal layer) in example, 11 Ge layers and 1 Ag adlayer ($\text{Ge}_{11}\text{Ag}_1$), following until 6 Ge layers and 6 Ag layers (Ge_6Ag_6). The same procedure is followed to build the Pb/Si system. In this way, we will have models for study the effect of metal with 12 atoms per layer have been employed, this corresponds to a 4x3 supercell and is large enough to represent a variety of number of metallic layers on a enough amount of semiconductor layers. In all cases, the one upper layer of the semiconductor was allowed to relax completely during geometry optimization; and the metal atoms in the remaining layers were fixed at the bulk-like positions. Because of the use of a plane wave basis set, the slab model needs to be repeated in the direction perpendicular to the surface, the repeated slab models were separated by a vacuum width of 20 Å guarantee no interaction between slabs consecutives in normal direction of the surface.

Computational details

Self - consistent field energy periodic calculations for bulk Ge, Si, Pb and Ag, with 12, 11, 10, 9, 8, 7 and 6 layers and $\text{SC}_{12-n}\text{M}_n$ (where SC is Ge or Si and M is Ag and Pb, respectively) metallic adlayer on semiconductor super-system slab models described in the previous sections were calculated using plane wave density functional theory [25, 26] as implemented in the VASP (Vienna Ab-initio Simulation Package) computational code [27]. The Perdew Wang (PW91) [28] functional was used within the Generalized Gradient Approximation (GGA) to describe non-local exchange and correlations effects. The Projected Augmented Wave (PAW) [29] method implemented by Kresse and Joubert [30] has been used to reproduce the effect of the core of the corresponding atoms in the electronic density of valence electrons. The Kohn-Sham one-electron wave functions were expanded in a basis of plane waves with kinetic energy below 240 eV. The Brillouin zone of the surface unit cell was described using a 3x3x1 Monkhorst-Pack mesh [31]. The partial occupancies were set for each

ML Ge	Ge	Ag/Ge	Ag	ML Ag
11	6.31			
12	2.73	5.38	5.00	1
10	2.29	4.43	5.34	2
9	6.35	4.80	5.30	3
8	2.80	4.54	5.36	4
7	2.39	4.80	5.38	5
6	6.48	4.47	5.14	6

Table 1: Surface energy of Ge and Ag models with different number of layers and of Ag self-assembled monolayers on Ge models with respect to number of Ag monolayer

Bloch function obeying the order 2 Methfessel-Paxton scheme [32]. The calculations were carried out using a $k_{BT}=0.2$ eV for metals and 0.05 for semiconductors, smearing of the electron density in the corresponding one electron wavefunctions, and upon convergence of the self-consistent field procedure the total energy was extrapolated to $k_{BT} = 0$ eV. The RMM-DIIS (residual minimization method direct inversion in the iterative subspace) was employed as electronic minimization algorithm. The atomic positions were optimized using the quasi-Newton algorithm. All calculations carried out in this work are of the closed shell type.

Results

The surface energy of different systems: semiconductors (Ge and Si), metals (Ag and Pb) and metallic overlayers on semiconductors (Ag/Ge and Pb/Si) had been calculated using a DFT approximation for study effect of the metal in the properties of the semiconductor.

First, the work function was calculated for all pure materials, to validate the theoretical data with experimental ones. These values obtained by means of experiments for Si, Ag and Pb are 4.7, 4.72 and 4.25 eV, respectively and the calculated data in this work were: 5.21, 4.70, and 4.36 eV. The calculated value for Ge is very different to experimental one and we are re-calculating it. The difference between both data is not significant; consequently it is possible to consider the theoretical data as suitable.

The results of surface energy of Ge are shown in table 1 and figure 1, the graph with respect to the number of monolayers follows a sinusoidal trend each multiples of 3, it can be understood because both semiconductors, Ge and Si have a diamond structure and the (111) surface is formed periodically by blocks with two bilayers. The atoms of the upmost layer of each bilayer are the most stable, because the surface energy is the highest. On the other hand, the surface energy of Ag is very similar in the models with different number of monolayers; but when Ag monolayers are assembled to Ge, the trend follows a similar behavior of Ge but softer. The difference of surface energy in the block of bilayers is wide, from 6.3 to 2.3 eV. The surface energy of the models of Ag is around 5.3 eV, this value is inside the range of values for Ge. Comprehensibly, the range of surface energy of all adlayers-Ge systems is intermediate between

ML Si	Si	Pb/Si	Pb	ML Pb
12	13.67			
11	10.52	4.33	2.71	1
10	5.25	4.14	3.50	2
9	13.67	3.27	3.37	3
8	6.53	3.99	3.54	4
7	5.25	4.27	3.53	5
6	13.65	3.59	3.20	6

Table 2: Surface energy of Si and Pb models with different number of layers and of Pb self-assembled monolayers on Si models with respect to number of Pb monolayer

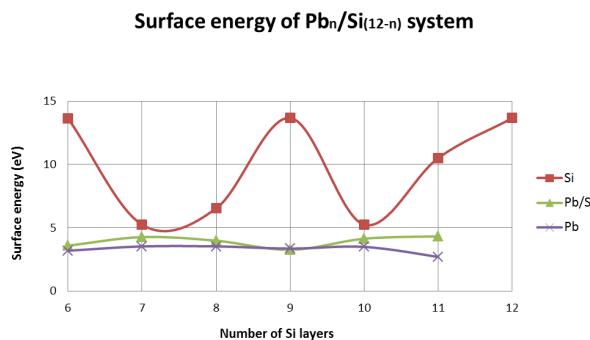


Figure 2: Surface energy of Pb/Si surfaces, with respect to number of Pb adlayers. The energy is in eV.

both materials, Ge and Ag; but the data are closer to Ag and the highest value for Ge.

The surface energy values of Si have an oscillant behavior in similar way to Ge, as is shown in table 2 and figure 2. However, the values are higher than of Ge, and the range is between 13.6 and 5.3 eV. While the values of surface energy for Pb models with 2 or 6 layers are almost 3.4 eV, out of range of values of Si. The trend of values of surface energy of $\text{Pb}_{12-n}\text{-Si}_n$ systems is sinusoidal, between 3.3 and 4.3 eV, this range is closer to corresponding to Pb and the lowest value of Si.

Conclusions

The surface energy of a diamond structure with (111) orientation follows a sinusoidal behavior, in multiples of 3, because the structure is on series of bilayers, and each 3 layers, the atoms are more stable. The metallic adlayers on semiconductors modifies surface energy of the semiconductors and vice versa. The values for the $\text{SC}_{12-n}\text{M}_n$ systems follow a trend similar to for semiconductors, but softer and the values are intermediate between both, the surface energy of the semiconductor and the metal. These results indicate that if the number of metallic overlayers on a semiconductor can be controlled then the surface energy can be addressed. So, if it is possible to control the surface energy, probably others properties can be controlled, this fact opens some interesting possibilities of manufacturing materials with special properties, modeled first with theoretical methods and after to probe the conclusions with experimental procedures.

References

- [1] Chen, J., Menning, C., and Zellner, M. 2008. "Monolayer Bimetallic Surfaces: Experimental and Theoretical Studies of Trends in Electronic and Chemical Properties". *Surface Science Reports.* 63, 201–254.
- [2] Sinfelt, J. 1983. "Bimetallic Catalysts: Discoveries, Concepts and Applications", John Wiley and Sons.
- [3] Bartholomew, C. and Farrauto, R. 2006. "Fundamentals of Industrial Catalytic Processes".
- [4] Campbell, C. 1990. "Bimetallic Surface Chemistry". *Annual Review of Physical Chemistry.* 41, 775–837.
- [5] Rodriguez, J. 1996. "Physical and Chemical Properties of Bimetallic Surfaces". *Surface Science Reports.* 24, 225–287.
- [6] Goodman, D. 1996. "Correlations Between Surface Science Models and "Real-World" Catalysts". *Journal of Physical Chemistry.* 100, 13090–13102.
- [7] Kandel, D. and Kaxiras, E. 1999. "The Surfactant Effect in Semiconductor Thin-Film Growth". *Solid State Physics.* 54, 219–250, A250, B250, C250, D250, 251–262.
- [8] Wei, C. and Chou, M. 2003. "Effects of the Substrate on Quantum Well States: A First-Principles Study for Ag/Fe(100)". *Physical Review B.* 68, 2–6.
- [9] Bauer, E. 1958. "Phänomenologische Theorie der Kristallabscheidung an Oberflächen". I. *Zeitschrift für Kristallographie.* 110, 372–394.
- [10] Krupski, A. 2011. "Growth of Sn on Mo(110) Studied by AES and STM". *Surface Science.* 605, 1291–1297.
- [11] Mathew, S., Satpati, B., Joseph, B., and Dev, B. 2005. "Role of Pb for Ag Growth on H-Passivated Si(1 0 0) Surfaces". *Applied Surface Science.* 249, 31–37.
- [12] Roesler, J., Miller, T., and Chiang, T.-C. 1996. "Structure Determination of Ordered 1 / 3 = Monolayer Pb on Ge (111) by Photoelectron Holography". *Surface Science.* 348, 161–167.
- [13] Lay, G., Hricovini, K., and Bonnet, J. 1989. "Synchrotron Radiation Investigation and Surface Spectroscopy Studies of Prototypical Systems: Lead-Semiconductor Interfaces". *Applied Surface Science.* 41-42, 25–37.
- [14] Saranin, A. e. a. 1999. "Ag-Induced Structural Transformations on Si (111): Quantitative Investigation of the Si Mass Transport". *Surface Science.* 429, 127–132.
- [15] Hirayama, H., Komizo, T., Kawata, T., and Takayanagi, K. 2001. "Optical Second Harmonic Generation Spectrum of Ag/Si(111) Reconstructed Surfaces". *Physical Review B.* 63, 155413–155418.
- [16] Yamamoto, Y. 1992. "Observation of Superstructures Induced by Ag Adsorption on a Si(110) Surface". *Japanese Journal of Applied Physics.* 31, 2241–2242.
- [17] Deng, D. and Suzuki, T. 2005. "Nucleation and Growth of Si(111)-3x3-Ag Investigated in Situ Using Second-Harmonic Generation". *Physical Review B.* 72, 085308.
- [18] Tong, X. et.al. 1998. "STM Observations of Ag Adsorption on the Si (111) - $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$ -Ag Surface at Low Temperatures". *Surface Science.* 408, 146–159.

- [19] Zhang, Z., Niu, Q., and Shih, C.-K. 1998. “‘Electronic Growth’ of Metallic Overlayers on Semiconductor Substrates”. *Physical Review Letters*. 80, 5381–5384.
- [20] Basile, L., Hong, H., Czoschke, P., and Chiang, T.-C. 2004. “X-Ray Studies of the Growth of Smooth Ag Films on Ge(111)-c(2x8)”. *Applied Physics Letters*. 84, 4995.
- [21] Hong, H. et.al. 2003. “Alternating Layer and Island Growth of Pb on Si by Spontaneous Quantum Phase Separation”. *Physical Review Letters*. 90, 1–4.
- [22] Jurczyszyn, L., Radny, M.W., and Smith, P. 2011. “Pb Chain-Like Structures on the Clean Si(001) Surface – a DFT Study”. *Surface Science*. 605, 1881–1888.
- [23] Li, W.-J. e. a. 2011. “Growth and Stability of Ultra-Thin Pb Films on Pb/Si(111)- α - $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$ ”. *Surface Review and Letters*. 18, 77–82.
- [24] <<http://www.webelements.com>> webelements.at
- [25] Hohenberg, P. 1964. “Inhomogeneous Electron Gas”. *Physical Review*. 136, B864–B871.
- [26] Kohn, W. and Sham, L. 1965. “Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects”. *Physical Review*. 140, A1133–A1138.
- [27] Kresse, G. and Furthmüller, J. 1996. “Efficient Iterative Schemes for Ab Initio Total-Energy Calculations Using a Plane-Wave Basis Set”. *Physical review. B, Condensed matter*. 54, 11169–11186.
- [28] Perdew, J. and Wang, Y. 1992. “Accurate and Simple Analytic Representation of the Electron-Gas Correlation Energy”. *Physical Review B*. 45, 13244–13249.
- [29] Blöchl 1994. “P.E. Projector Augmented-Wave Method”. *Physical Review B*. 50, 17953–17979.
- [30] Kresse, G. and Joubert, D. 1999. “From Ultrasoft Pseudopotentials to the Projector Augmented-Wave Method”. *Physical Review B*. 59, 1758–1775.
- [31] Monkhorst, H. and Pack, J. 1976. “Special Points for Brillouin-Zone Integrations”. *Physical Review B*. 13, 5188–5192.
- [32] Methfessel, M. and Paxton, A. 1989. “High-Precision Sampling for Brillouin-Zone Integration in Metals”. *Physical Review B*. 40, 3616–3621.

Zipper-like structures, alternative conformations of DNA in guanine rich regions and importance of cations for their stability

Miguel Angel Méndez^{1,2*}, Andrea Montero^{1,2}, Ana Samaniego^{1,2}, Andrea Sosa^{1,2}
Dennis Vallejo^{1,2}, Silvia Velastegu^{1,2}, Francisco Yanqui-Rivera^{1,2}

¹ Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias de la Salud,

Vía Interoceánica Km 2 1/2 y Av. Florencia, Quito, Ecuador.

² Grupo Ecuatoriano para el Estudio Experimental y Teórico de Nanosistemas –GETNano–

Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador

Autor principal/Corresponding author e-mail: mmendez@usfq.edu.ec

Edited por/Edited by: C. Fabara, M.Sc.

Recibido/Received: 03/15/2012. Aceptado/Accepted: 04/15/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

The manufacture of nanostructures from bio-molecules such as DNA strands is an ongoing exploration frontier by a multitude of potential applications in biological complex systems. The analyzed sequences are found in biological systems as origins of replication of viruses and bacteria. In this paper we report the detailed characterization at the atomic level of Guanine-rich DNA that forms zipper-like structures by molecular mechanics modeling. Models were constructed and these structures minimized, allowing analysis via molecular mechanics to understand the factors that determines the most stable structure. It was found that the presence of positively charged ions near the Gs-rich region of the studied sequences, is critical to the stability of these DNA structures. In summary, the results allow a better understanding of this system at the molecular level allowing the development of more efficient procedures for the control of the manufacture of zipper-like DNA nanostructures and finding their applications in biological systems.

Keywords. guanine rich DNA sequences, zipper-like structures, molecular mechanics, nanotechnology

Resumen

La fabricación de nanoestructuras a partir de biomoléculas como fibras de ADN es una frontera en continua exploración gracias a una multitud de aplicaciones potenciales en sistemas biológicos complejos. Las secuencias analizadas se encuentran en sistemas biológicos como en orígenes de replicación de virus y bacterias. En este artículo se reporta la caracterización detallada a nivel atómico de ADN rico en Guaninas que forman estructuras en cremallera. Para esto se utilizaron métodos de modelación con mecánica molecular. Se construyeron modelos para las estructuras y se minimizaron, lo cual permitió su análisis vía mecánica molecular para entender los factores que determinan la estructura más estable. Se encontró que la presencia de iones con carga positiva cercanos a la región rica en Gs de las secuencias estudiadas es de importancia fundamental en la estabilidad de estos ensambles de ADN. En resumen, los resultados permiten mejorar la comprensión de este sistema a escala molecular permitiendo desarrollar procedimientos más eficientes para el control de la fabricación de nanoestructuras en ADN en cremallera y encontrar sus aplicaciones en sistemas biológicos.

Palabras Clave. secuencias de ADN ricas en guanina, estructuras tipo cierre, mecánica molecular, nanotecnología

Introduction

Nanotechnology is exploring a new field directed to the manufacture of objects, devices and materials starting from bio-molecules with potential applications in complex biological systems [1] DNA is one of the most versatile molecules that are being explored for applica-

tions in this area. These processes, implies the usage of DNA in scaffold materials, nano-electronic components and polymers for the formation of biological nanostructures and nano-fibers. The nanofibers have become a topic of great interest in recent years due to its enormous potential in many areas, especially in biomedical applications [2]. DNA has emerged as a versatile ma-



terial to build artificial molecular structures with excellent intrinsic properties which include programmability, self-organization, molecular recognition, and molecular scale structure fabrication. Therefore, these properties make DNA attractive as a nano-scale construction material [3]. The DNA has the capacity of self-assembly making it into a natural candidate to form nanostructures, leading and directing their self-assembly. This is the principle whereby the DNA is a bio-molecule especially important in the field of nanotechnology [3]. In this paper, it will be studied a non-conventional DNA: DNA in a zipper-like folding. This conformation of DNA has been found in naturally occurring sequences and it has been observed that it has a very stable structure [4, 5]. Some bacteriophages present in their origin of replication a hairpin loop with a rich purine sequence, same as repetitive sequences found in centromeric DNA that can form a structure zipper-like type *in vitro* [4]. The stability of these structures is directly related to the formation of hairpins or unusual duplexes [4]. These have been repeatedly studied through nuclear magnetic resonance (NMR) indicating that the sequence of origin of replication of bacteriophage usually forms hairpins or loops, while the same sequence in centromere results in duplex formation and stem loops [4].

Methods

Through molecular dynamics modeling it is intended to establish whether a sequence of DNA rich in guanine would self-assemble in a DNA with a zipper-like structure. A model structure for these sequences is minimized iteratively utilizing the program NAMD (Theoretical and Computational Biophysics Group – University of Illinois at Urbana-Champaign) in order to optimize the geometry of the structure [6]. In this process once you get the three dimensional structure of the modeled sequence, the program proceeds to relax the tensions within the structure so that the atomic positions are reasonable. This requires several steps of energy minimization [6]. The series of experiments described here seeks to make an atomic-level characterization of this model system analyzing various structures of duplexes with a central region of base-pair mismatches, rich in guanine to obtain principles that can be applied to understand under what conditions these molecules can form alternative structures such as zipper-like on biological systems [7].

Preparation of the Model

The zipper-like type structure was created in the program 3DNA, where initially we copy the coordinates of a normal guanine then the bases were stacked manually in the form of a zipper [8]. For this we had to change a number of properties in each guanine, such as helical twist, distance between bases, etc. We rely on the structure parameters for 2FZA crystal structure available in the Protein Data Bank [9]. This was done so that the Gs would not overlap in the same coordinates and

they would be distributed in a zipper-like structure. After preparing a structure with 8 Gs, it was loaded twice in Visual Molecular Dynamics (VMD) software package (Theoretical and Computational Biophysics Group – University of Illinois at Urbana-Champaign) and through translations and rotations of both molecules a 16 Gs stacked structure (zipper-like DNA) was achieved. This structure was saved in PDB file format that stores the structural position of all atoms, and constituted the initial zipper-like DNA model.

Two models were created for two similar sequences, SQ1 and SQ2 that differ in the sequence of the B-DNA duplex ends. Both models were prepared using the 3DNA program parameters 2.0 for Windows [8]. Moreover, visualization and analysis was performed using VMD (Visual Molecular Dynamics) for Windows version 1.9 (University of Illinois-Urbana Champagne).

SQ1 and SQ2 both were introduced in a water box with boundary dimensions that are at least 12 Å greater than the position from any atom of the DNA molecule. The size of the water box ensures that there is no interaction between the molecules of DNA and that during the simulation the molecule does not exit the box of the solvent. Subsequently, we proceeded to neutralize the charge of the DNA molecule with sodium ions following the protocol of auto-ionization, an application of VMD that sets water molecules randomly distributed with a minimum solutes distance of 5 Å and between ions also of 5 Å. It was also changed the position of various ions by moving them from the solvent and getting them closer to the guanine-rich zone since the structures of zipper-like DNA, from which there is experimental structural information, include cations close to the bases in the zipper-like zone [9]. With this change it is expected to see the effects of cations in the structures analyzed in this study and to see if these cations help stabilizing these present structures allowing them to find the most stable geometries.

Minimization

The minimization of the molecules was conducted in several stages. The first step included only the solvent (water and sodium ions of the solvent) such that the DNA atoms were left fix together with the ions in close proximity to the Gs-rich region; this system was minimized by 3000 steps. In the second phase the solvent was minimized including the ions found in the region rich in Gs by 3000 steps. Finally, the whole system was minimized by 17000 steps. This process was carried out using NAMD Scalable Molecular Dynamics 2.8 (University of Illinois-Urbana Champagne) for Linux installed on a cluster of 12 processors (Linux Rocks distribution 5.4.3 (viper)). For the geometry optimization the parameters and topology such as found in top_all27_prot_lipid_na.inp and par_all27_prot_lipid_na.inp files were used. A 10 Å cutoff was applied to the non-bonded interactions, the non-bonded pair list was updated every 10 steps. The particle mesh Ewald method (PME)

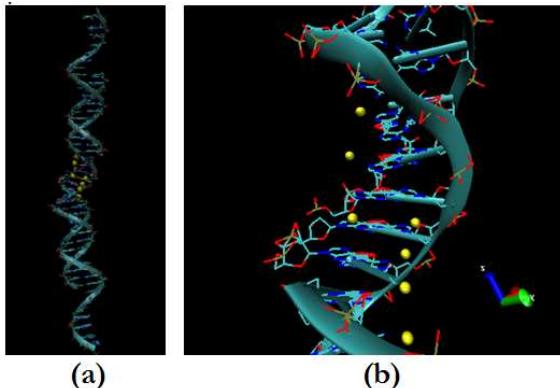


Figure 1: (a) Visualization in New Cartoon in VMD of sequence SQ2. (b) Zoom of the Gs rich region with ions Na^+ added for stabilization of the structure.

was used thorough the simulations. To speed up the fast Fourier transform in the calculation of the reciprocal sum, the size of the PME charge grid was chosen to be a product of powers of 2, 3 and 5 [10].

Results

For the construction of models of SQ1 and SQ2 structures we rely on modified sequences from those originally used by Venczel in the formation of DNA synapsable [11]. In our models the sodium ions were placed manually with a VMD program implementation, they are distinguished as golden spheres in the region rich in Gs (Figure 1).

During the minimization of the SQ2 sequence it was observed that the ions moved from their positions. There were changes in the arrangement of the guanines as well (at the area where the ions are added) in comparison with the minimization of the same structure without ions in the region analyzed (Figure 2 and 3). In Table 1 the distances at which the ions are placed on the SQ1 sequence at the end of the minimization are reported. Namely, the presence or absence of ions influences significantly the final optimized geometry of the analyzed sequences. Geometry optimizations for the sequences SQ1 and SQ2 were performed by a total of 25000 and 29000 steps respectively, which assured the structures reach a minimum in energy. To check if the structure is not changing anymore certain parameters were used as the total energy of the system (Figure 4), the RMSD (root media square displacement) (Figure 5). The minimization of unconventional DNA structures zipper-like type came to converge; we see that the energy of the optimized geometry of the two molecules reached a constant energy way before the final steps of minimization. (Figure 4)

We can see in Figure 5 and Figure 6 that the Gs with the most significant changes are the ones in the guanine rich region (the zipper-like structure in these particular models). In these zipper-like structures the Gs are not normally connected (by hydrogen bonds) with its complementary base, but are overlapped one upon the other.

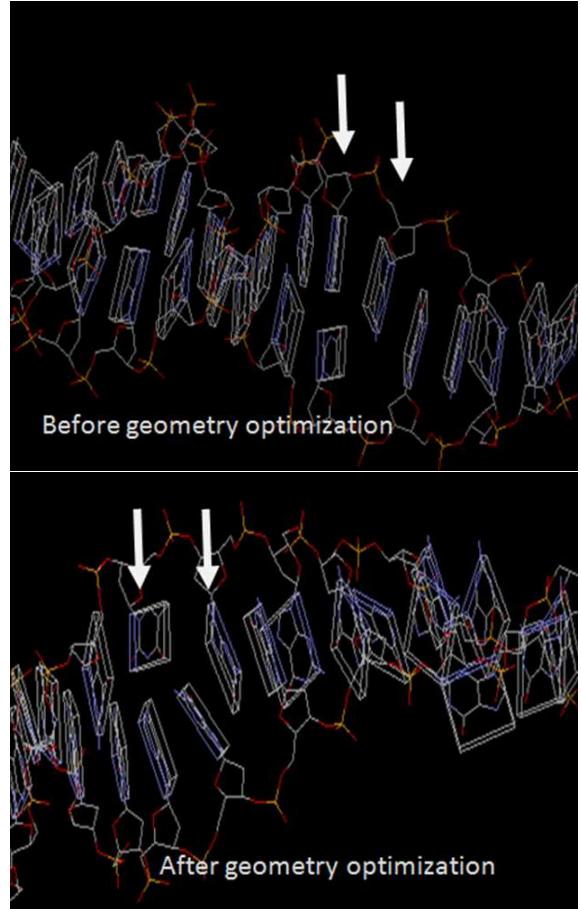


Figure 2: Block diagram of the sequence SQ1 (with ions) before and after minimization. The arrows indicate one of the two regions of transition between double-stranded region and the zipper-like zone.

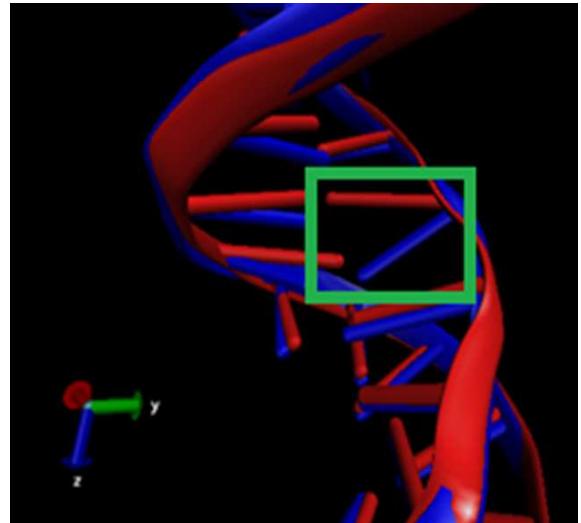


Figure 3: Comparison of Gs-rich region in the sequence SQ2 with Na^+ (red) and without Na^+ (blue). The green frame shows clearly changes in the position of the base.

Discussion

According to *in silico* experiments and laboratory observations, it is observed that the structural form, topology and therefore function of a biological system depends

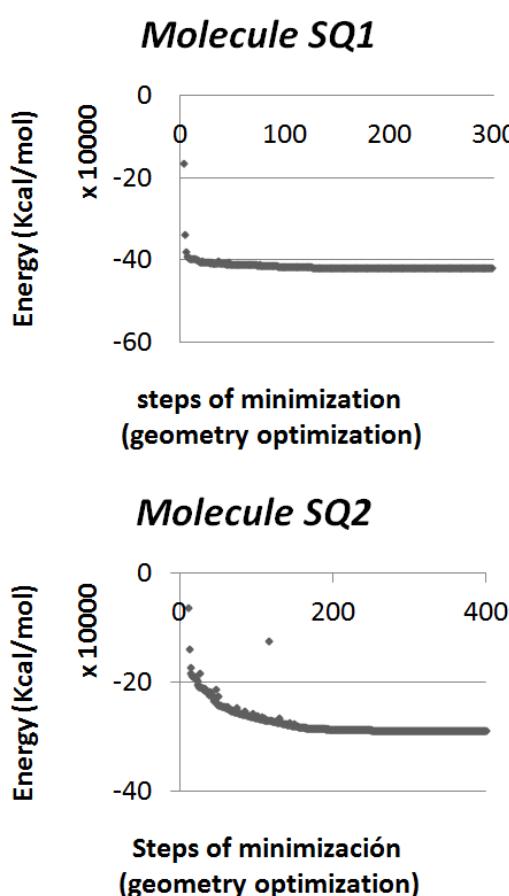


Figure 4: Plots of the total energy vs steps of minimization for the structures after minimization (geometry optimization). (a) The SQ1 sequence. (b) SQ2 sequence. In both cases a minimum in energy has been reached.

greatly on the environmental conditions were it is found [12]. The DNA molecule is rich in negative charges due to phosphate backbone, therefore it is of great importance the addition of cations to stabilize the system and reduce the free energy of hydration [13]. For example, the presence or absence of ions in the surrounding of a DNA molecule can cause it to be stacked (or folded) in a different way, such is the case for G-quadruplex DNA configurations [14]. Thus, one can propose the possibility of controlling the fabrication of different DNA structures from the same or similar sequences but under different solution composition (i.e. different ionic strength) that will influence how DNA stacks, compact, or fold at the nano-scale. Therefore, changing the structure we can change the properties of molecules, for example, their electronic conductivity, with possible applications in the electronics field [5, 15, 16, 17].

There are specific interactions between ions and DNA which are essential in many biological processes [18]. In this work it can appreciated the functionality of the ions in stabilizing the three dimensional structure of DNA in both molecules. This is shown in Figure 1, in which the sodium ions are visible in the zipper-like region; in

			Inicial (Å)	Final (Å)
Gua 19	O6	Na 1	2.28	2.36
Gua 64	O6	Na 1	6.2	6.78
Gua 20	O6	Na 2	2.29	2.25
Gua 63	O6	Na 2	4.06	3.9
Gua 21	O6	Na 3	2.29	2.25
Gua 62	O6	Na 3	4.12	5.08
Gua 22	O6	Na 4	7.03	9.01
Gua 61	O6	Na 5	4.65	7.86
Gua 23	O6	Na 5	2.32	2.29
Gua 60	O6	Na 6	6.06	7.2
Gua 24	O6	Na 6	2.4	2.26
Gua 59	O6	Na 6	5.28	5.29
Gua 58	O6	Na 7	7	5.74
Gua 25	O6	Na 7	5.27	5.89
Gua 57	O6	Na 8	6.2	6.01

Table 1: Distances measured from O6 from a guanine to the closest sodium cation.

Figures 2 and 3, we observe how during the minimization of the system, the sodium ions move into the space directly interacting with the DNA until atoms are accommodated in a geometry where the molecule and ions are stable (geometry optimized). (See Figures 2 and 3 and Table 1)

Because these structures (unusual DNA structures) are more common in the presence of alkali metal cation, sodium was used as the stabilizer cation [19]. There is an important biological meaning in the addition of ions as they cause conformational changes to the DNA molecules. In addition these experiments *in silico* comply with the premise that the DNA can have different structures depending on the solution in which it is placed [20, 21]. The effect of the cations in the structure of the zipper-like SQ2 (Figures 2 and 3), is the neutralization of a significant negative charge in the central area of the structure. In Figure 5 and 6 the structural changes in the zipper-like area and in the duplex region are compared. The amount of changes in the structures shows that the effect of adding ions is greater in the structure of the zipper-like region than in the duplex B-DNA region. By having base to base stacking interactions in the structure of the zipper-like DNA, charged atoms (such as sodium cations) are needed to neutralize the molecule, thus obtaining a system with lower free energy after minimization. However, it is observed that in a conventional duplex of DNA (Figure 6), the structure is stabilized quickly without the presence of cations placed a priori in proximity to the bases; but it does so only by the presence of ions in the aqueous medium (water box) of the molecule positioned using the VMD auto-ionization tool.

It is noteworthy that the final conformational structure of the molecule was able to be achieved by geometry optimization only when the cations were placed in a relatively correct place at the beginning of the minimization. In other words, we do not observe cations migrating from the solution to close proximity of the G-rich

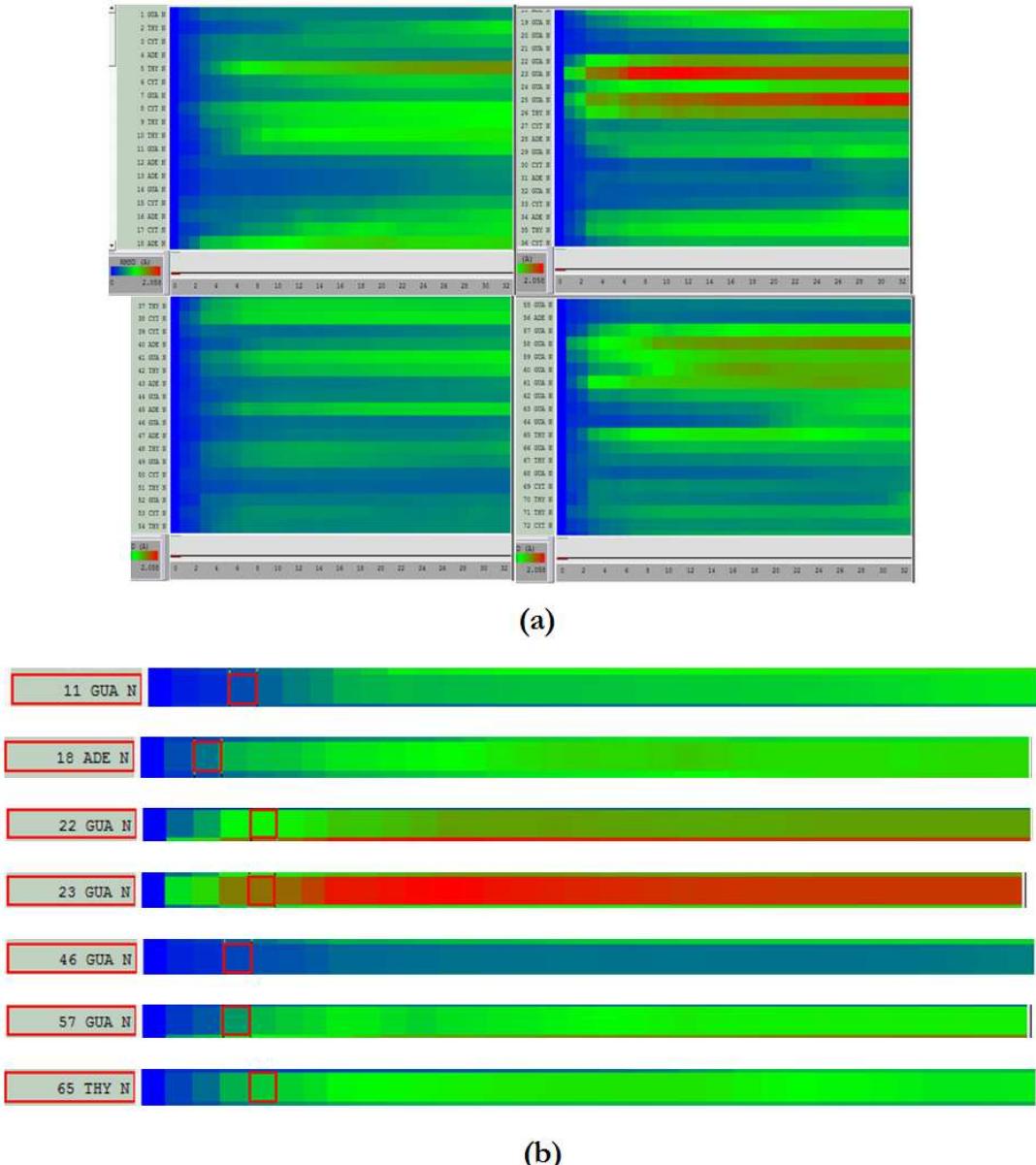


Figure 5: (a) RMSD for the SQ1 structure after minimization (geometry optimization). Each frame corresponds to 250 steps of minimization. (b) RMSD for selected bases from SQ1. Gua 11, guanine base in the interior of the double stranded region; Ade 18, base on the transition area between double stranded B - DNA and the zipper-like region; Gua 22 and Gua 23 bases in the center of the guanine rich zone. Gua 46, randomly selected base in the double stranded B-DNA region. Gua 57, guanine in the transition zone. Thymine 65 (THY 65), the first DNA base in the transition region.

region in the model prepared without the cations manually positioned close to these G bases.

Conclusions

The structural study of guanine rich DNA has implications and importance in both basic and applied biology of cancer, new therapies, and possibly nano-electronics. G-rich sequences are widely distributed in the human genome complying roles for the regulation of gene expression and maintenance of chromosomes; offering unique targets for the future development of anti-cancer drugs [22]. In particular, the recent advances in biochemistry have allowed the construction of various types

of DNA to be selectively used as new therapeutic agents or as targets for these agents [22, 23]. In public databases, we have access to detailed structural models that can be used for discovery / drug design based on these structures. This is why DNA is such an important bio-molecule in the field of nanotechnology specially because the predictability of its interactions.

Acknowledgment

Researchers want to acknowledge funding by the program USFQ Chancellor Grants 2012; CEDIA (Ecuadorian Corporation for Advanced Internet Development), which partially funds the group GETNano (Ecuadorian

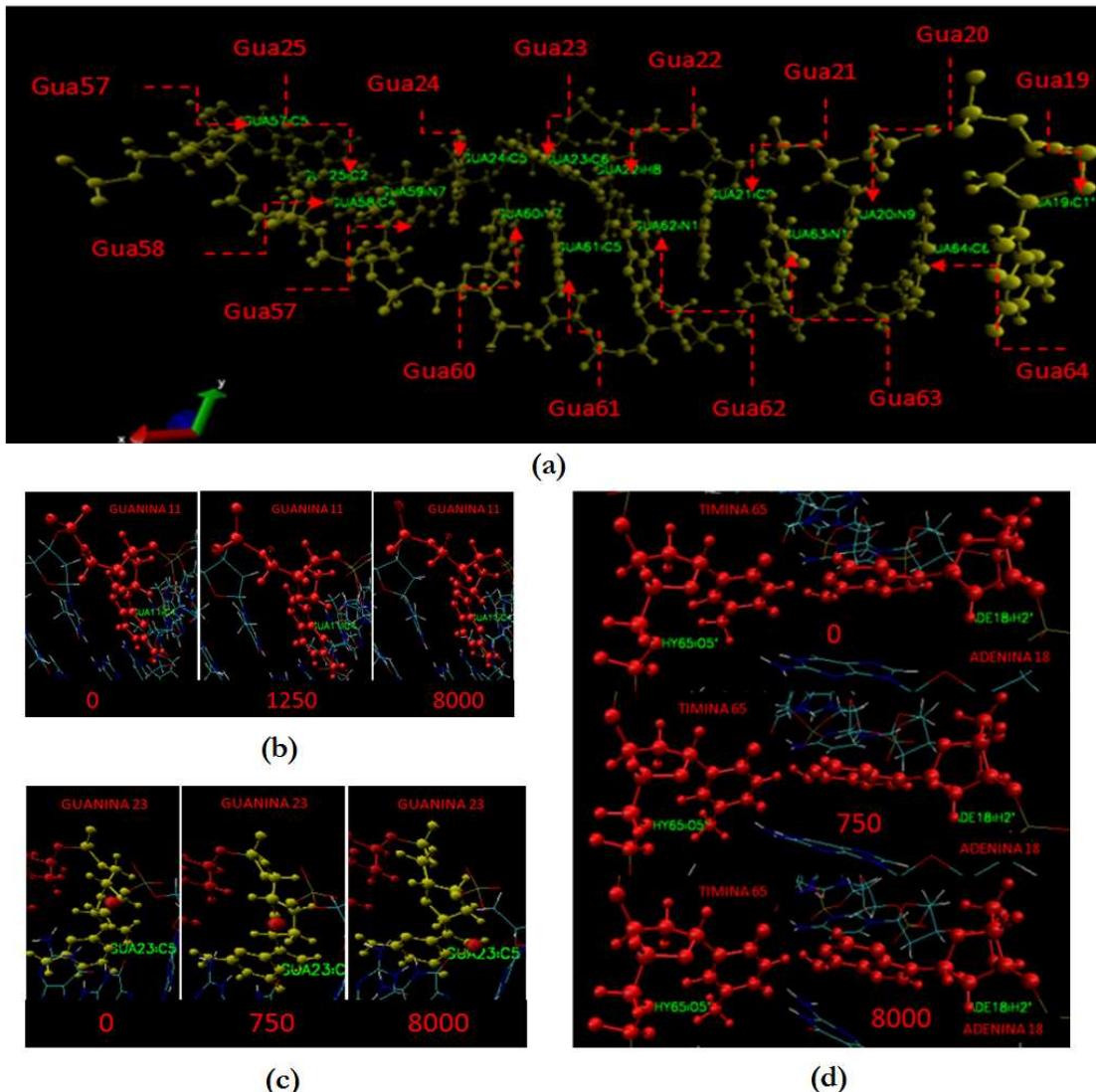


Figure 6: SQ1 optimized geometry corresponding to the G-rich region and the duplex region. (a) guanine-rich zone of the central part. (b) Guanine chosen randomly from the duplex region. (c) Guanine 23 located in the center of the guanine-rich region. (d) Base pair immediately before the region of guanines.

Group for the Study of Experimental and Theoretical Nanosystems) without its help and support this work would not have been possible. We thank F. Javier Torres, director of the Computational Chemistry and Theoretical USFQ (QCT-USFQ) for logistical support and project review. To Veronika A. Szalai with whom we are studying the assembly properties of these sequences.

References

- [1] Seeman, N. 2007. "An Overview of Structural DNA Nanotechnology". *Molecular Biotechnology*. 37, 246–257.
- [2] Park, K., Park, W.H., Sik, J., Dong, S., and Han, K. 2009. "Biomedical Polymer Nanofibers for Emerging Technology". *NanoScience in Biomedicine*. 21–42.
- [3] Sadhasivam, S. and Yun, K. 2010. "DNA Self-Assembly: Prospectus and its Future Application". *Journal of Materials Science*. 45, 2543–2552.
- [4] Shepard, W., Cruse, B., Fourme, R., de la Fortelle, E., and Prange, T. 1998. "A Zipper-Like Duplex in DNA: the Crystal Structure of d(GCGAAAGCT) at 2.1 Å Resolution". *Structure*. 6, 849–861.
- [5] Balaeff, A., Craig, S., and D., B. 2011. "B-DNA to Zip-DNA: Simulating a DNA Transition to a Novel Structure with Enhanced Charge-Transport Characteristics". *The Journal of Physical Chemistry A*. 115, 9377–9391.
- [6] Flores, O., Rendón, J.L., Martínez, F., Guerra, G., Sierra, E., and Pardo, P.J. 2008. "Las Herramientas del Modelado Molecular".
- [7] Chou, S., Chin, K., and Wang, A. 2003. "Unusual DNA Duplex and Hairpin Motifs". *Nucleic Acids Research*. 31, 2461–2474.
- [8] Lu, X. and Olson, W. 2008. "3dna: a Versatile, Integrated Software System for the Analysis, Rebuilding and Visualization of Three-Dimensional Nucleic-Acid Structures". *Nature Protocols*. 3, 1213–1227.
- [9] Kondo, J., Ciengshin, T., Juan, E. C.M., Sato, Y., Mitomi, K., Shimizu, S., and Takénaka, A. 2006. "Crystal Structure of d(gcGXGAgc) with X = G: a Mutation

- at X is Possible to Occur in a Base-Intercalated Duplex for Multiplex Formation". *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids.* 25, 693–704.
- [10] Špačková, N.A., Berger, I., and Šponer, J. 2000. "Nanosecond Molecular Dynamics of Zipper-Like DNA Duplex Structures Containing Sheared G•A Mismatch Pairs". *Journal of the American Chemical Society.* 122, 7564–7572.
- [11] Venczel, E.A. and Sen, D. 1996. "Synapsable DNA". *J. Mol. Biol..* 257, 219–224.
- [12] Burge, S., Parkinson, G., Hazel, P., Todd, A., and Neidle, S. 2006. "DNA: Sequence, Topology, and Structure". *Nucleic Acids Research.* 34, 5402–5415.
- [13] Hud, N. V., Smith, F. W., Anet, F. A. L., and Feigon, J. 1996. "The Selectivity for K⁺ versus Na⁺ in DNA Quadruplexes is Dominated by Relative Free Energies of Hydration: a Thermodynamic Analysis by ¹HNMR". *Journal of Biochemistry.* 35, 15383–15390.
- [14] Méndez, M. and Montero, A. 2011. *Avances en Ciencias e Ingenierías.* 3, A35–45.
- [15] Endres, R., Cox, D., and Singh, R. 2004. "Colloquium: The Quest for High Conductance DNA". *Reviews of Modern Physics.* 76, 195.
- [16] vonKiedrowski, G., Naumann, K., Pankau, W., Reimold, M., and M., R. 2003. "Toward Replicatable, Multifunctional, Nanoscaffolded Machines. A Chemical Manifesto ". *Pure Applied Chemistry.* 75, 609–619.
- [17] Ongaro, A., Griffin, F., Beecher, P., Nagle, L., Lacopino, D., Quinn, A., et.al. 2005. "DNA-templated Assembly of Conducting Gold Nanowires Between Gold Electrodes on a Silicon Oxide Substrate". *Chemistry of Materials.* 17, 1959–64.
- [18] Rohs, R., Jin, X., West, S .M. Joshi, R., Honig, B., and Mann, R. 2010. "Origins of Specificity in Protein-DNA Recognition". *Annual Reviews of Biochemistry.* 79, 233–269.
- [19] Gellert, M., Lipsett, M.N., and Davies, D.R. 1962. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.* 48, 2013–2018.
- [20] Savelyev, A. and Papoian, G.A. 2007. "Inter-DNA electrostatics from Explicit Solvent Molecular Dynamics Simulations". *Journal of the American Chemical Society* 129, 6060–6061.
- [21] Lee, J., Latimer, L., and Reid, R. 1993. "A Cooperative Conformational Change in Duplex DNA Induced by Zn²⁺ and other Divalent Metal Ions". *Biochemistry and Cell Biology.* 71, 162–8.
- [22] Read, M.A., Wood, A.A., Harrison, J.R., Gowan, S.M., Kelland, L.R., Dosanjh, H.S., and Neidle, S. 1999. "Molecular Modeling Studies on G-Quadruplex Complexes of Telomerase Inhibitors: Structure-Activity Relationships". *Journal of Medical Chemistry.* 42, 4538–4546.
- [23] Kelley, S., Boroda, S., Musier-Forsyth, K., and Kankia, B. I. 2011. "HIV-Integrase Aptamer Folds into a Parallel Quadruplex: A Thermodynamic Study". *Biophysical Chemistry.* 155, 82–88.

Observations of courtship in *Megaceras jasoni* (Coleoptera, Scarabaeidae), the rhinoceros beetle or great horned scarab

Kelly Swing*

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad San Francisco de Quito

Diego de Robles y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador

Casilla postal: 17-1200-841

**Autor principal/Corresponding author, e-mail:kswing@usfq.edu.ec*

Edited por/Edited by: D. F. Cisneros-Heredia, M.Sc.

Recibido/Received: 03/20/2010. Aceptado/Accepted: 04/07/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

Megaceras jasoni has been observed in courtship at the Tiputini Biodiversity Station (TBS-USFQ) in Yasuní on two occasions, but only once resulting in mating. Observations of related behavior are reported here.

Keywords. scarab, courtship, Yasuní, *Megaceras*

Resumen

Megaceras jasoni ha sido observado en cortejo en la Estación de Biodiversidad Tiputini (EBT-USFQ) en Yasuní en dos ocasiones, con una sola terminando en apareamiento. Observaciones relacionadas con este comportamiento se reportan aquí.

Palabras Clave. escarabajo, cortejo, Yasuní, *Megaceras*



Figure 1: Rhinoceros beetles, *Megaceras jasoni*

Rhinoceros beetles, *Megaceras jasoni*, are large horned scarabs that are rarely observed in most parts of their range and consequently, essentially nothing is known of the species' behavior. While they may not be truly rare, their nocturnal habits make them relatively inaccessible to most observers in Neotropical rainforests [1]. Certainly, these beetles are rarely seen at the Tiputini Biodiversity Station (TBS-USFQ) on the northern boundary of the Yasuní National Park. Like most members of their subfamily, Scarabeinae, they exhibit obvious sexual dimorphism; in this species, males are much larger

than females and have one large horn extending upward and curving backward from the snout to meet another pair of forward-directed horns that arise from an elevated portion of the thorax. Because the head is mobile, these horns may be brought together in a forceps-like manner, supposedly useful in male-male competition for access to females [1]. However, when two to three males were experimentally brought together in captivity on 18 April 2011 in the presence of a female, no such sparring/wrestling behavior was witnessed.

These beetles have been observed in courtship on two occasions, 18 April 2008 and 18 April 2011, after having been attracted to artificial lights at the Tiputini Biodiversity Station between the hours of 1930 and 2100. They were observed to mate only on the earlier date. The name rhinoceros applies very nicely to these beetles in many ways, including their overall appearance and lumbering movements. The analogy can be further extended in one aspect of courtship; once a female has attracted a male, likely through pheromone cues, she begins walking quickly and he gives chase. In the rhinoceros mammals, similar female "coyness" and male following behavior involve a steady trot and may continue for hours and several kilometers [2, 3, 4], provoking our

typical evolutionary explanation that this serves to test the male's level of fitness [5] and thereby, his potential to pass along genes for strength and endurance to offspring which, in the lifetime of any female, are extremely few and which require tremendous effort on the part of the mother in the form of parental care. In these beetles, a similar chase may continue for more than an hour and cover several meters through the leaf litter. This may also be interpreted as a test of strength and endurance in order to ensure that the best possible genes may be passed on to any offspring. When the male actually catches up with the female, she slows her pace and he may walk around her slowly as if to give her a chance to evaluate his size and shape. Eventually he will push his head against her mid-body at a perpendicular angle. After several minutes of this behavior, she again begins to walk slowly, but this time, much more slowly than in the previous phase. The male follows once again, now in a position very close behind her, with his head actually touching the posterior part of her body. Soon, after about 2 minutes, she stops and he proceeds to mount her, very much in a style similar to land tortoises. Copulation ensues and continues for at least 15 minutes. After mating, the individuals separate and show no further interest in one another. They rest almost motionless for nearly one half hour before moving off in different directions.

References

- [1] Hogue, C. 1993. "Latin American Insects and Entomology." *University of California Press.* pp. 536.
- [2] Kes Hillman-Smith, A.K. and Groves, C.P. 1994. "*Diceros bicornis*)" *Mammalian Species. Am. Soc. Mammalogists.* 455, 1-8.
- [3] Owen-Smith, R. N. 1975. "The Social Ethology of the White Rhinoceros *Ceratotherium Simum* (Burchell 1817)." *Z. Tierpsychol.* 38, 337-384.
- [4] Rachlow, J.L., Berkeley, E.V. and Berger, J. 1998. "Correlates of Male Mating Strategies in White Rhinos (*Ceratotherium simum*)."*J. Mamm.* 79(4), 1317-1324.
- [5] Darwin, C. 1899. "The Descent of Man and Selection in Relation to Sex." *2nd ed.* 693. *John Murray, London.*

Observations on the distribution and density of the rare and poorly known flower urchin, *Toxopneustes roseus*, (Phylum Echinodermata, Class Echinoidea, Family Toxopneustidae) in Ecuador.

Kelly Swing*

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad San Francisco de Quito

Diego de Robles y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador

Casilla postal: 17-1200-841

*Autor principal/Corresponding author, e-mail:kswing@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: D. F. Cisneros-Heredia, M.Sc.

Recibido/Received: 06/20/2010. Aceptado/Accepted: 05/29/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

A southern range extension is reported for *Toxopneustes roseus*, the flower urchin, along the central continental coast of Ecuador. Indications are provided for likelihood of encountering this species.

Keywords. flower urchin, *Toxopneustes*, range extension, densidad

Resumen

Se reporta una extensión de rango hacia el sur para la costa continental del Ecuador para *Toxopneustes roseus*, el erizo de mar flor. Se indica la probabilidad de encontrar esta especie.

Palabras Clave. erizo de mar flor, *Toxopneustes*, extensión de rango, densidad



Figure 1: *Toxopneustes roseus*

The distribution of *Toxopneustes roseus*, the flower urchin, has been previously described as extending from the “Gulf of California to Ecuador and the Galapagos Islands” [1], with the southeasternmost occurrence previously documented for Isla de la Plata [2]. Reported depths occupied by this echinoderm vary widely. Caso [2] reviewed 93 museum specimens collected at depths ranging between the intertidal zone and 20 fathoms (36m) but Hickman [1] describes its distribution as “low inter-

tidal to 20m”. This species has been observed infrequently in tide pools of less than 25cm depth at low tide along the Ecuadorian coast among rocky outcrops in the province of Manabí at the southern end of the town of Puerto Cayo ($1^{\circ}22'04''S$, $80^{\circ}44'24.34''W$), which represents a range extension within the Panamic marine province. In Galapagos, well over one thousand hours of observations using snorkeling techniques from 1997-2010 confirm that this species is quite uncommon in water less than 4m deep. A few thousand hours of experience in various tide pools along the entire coast of Manabí since 1990 confirm this report to be a more reliable representation of the distribution of *T. roseus* than previous publications. In all cases, flower urchins are reported to occur at very low densities [1] and this is confirmed here by extensive field observations. Encounter rate for this species is certainly less than one individual per 100 hours of searching, whether on foot in appropriate shallow habitats or snorkeling.

References

- [1] Hickman, C. 1998. “A Field Guide to Sea Stars and Other Echinoderms of Galapagos.” *Galapagos Marine Life Series*. Sugar Spring Press.

- [2] Caso, M. 1977. "Ordenes Stiridonta y Camarodonta." *Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Ciencias del Mar y Limnología. Contribución 84.*

Evaluación in vitro de fungicidas para el control de *Monilinia spp.* que afecta el cultivo de durazno (*Prunus persica*) en provincias de la Sierra Ecuatoriana

Venancio Arahana^{1,*}, Estefanía Borja¹, Cristina Salgado¹, José Tobar¹ y María de L. Torres¹.

¹Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad San Francisco de Quito.

Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: varahana@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: C. Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 05/10/2012. Aceptado/Accepted: 06/01/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

Monilinia spp. is a phytopathogen that affects peach crops in the Ecuadorian highlands causing a disease known as brown rot. This disease represents a limiting factor in the crop's yield, producing losses of up to 50 %. The aim of this study was to evaluate the efficiency of five commercial fungicides used for the control of *Monilinia* in 4 Ecuadorian provinces (Carchi, Imbabura, Pichincha and Tungurahua). For this purpose, fungi were isolated from peach fruits presenting the typical disease symptoms, and 21 samples were positively identified as *Monilinia* by morphological analysis (mycelium stain and spore shape). To evaluate the fungicide efficiency, the EC₅₀ value (the effective fungicide concentration at which 50 % of the conidial germination is inhibited) was determined using samples from Imbabura, Carchi and Tungurahua. It was found that the five fungicides tested (Bravo, Mertec, Rovral, Tilt and Switch) were very efficient in controlling this phytopathogen (EC₅₀ <0.01 µg/ml). This research presents a useful approach for the establishment of strategies to control and prevent *M. fructicola* in peach cultivars and other crops that may be susceptible to this fungus in the country.

Keywords. *Monilinia spp.*, brown rot, fungicide, EC₅₀

Resumen

Una de las enfermedades que afecta al cultivo de durazno en la Sierra Ecuatoriana es producida por el hongo *Monilinia spp.*; se la conoce como podredumbre morena o parda y constituye un factor limitante del rendimiento de esta fruta, ya que produce pérdidas mayores al 50 %. El objetivo de este trabajo fue evaluar *in vitro* la eficiencia de cinco fungicidas comerciales usados para el control de la enfermedad. Para esto se aisló el hongo de frutos de durazno que presentaban la sintomatología de la enfermedad, obteniéndose un total de 21 aislamientos los cuales fueron escogidos mediante análisis morfológico (coloración de micelio y forma de esporas). La evaluación de los fungicidas se hizo mediante la determinación del EC₅₀ (concentración de fungicida a la que el 50 % de las esporas del hongo deja de germinar) en aislamientos de Imbabura, Carchi y Tungurahua; se encontró que los cinco fungicidas (Bravo, Mertec, Rovral, Tilt y Switch) utilizados para este experimento resultaron ser muy efectivos (EC₅₀ <0.01 µg/ml) para el control del fitopatógeno. Los resultados de esta investigación pueden contribuir a establecer métodos eficientes para el control y prevención de *Monilinia* tanto en cultivos de durazno, como en otros frutales sensibles a este fitopatógeno.

Palabras Clave. *Monilinia spp.*, podredumbre morena, fungicida, EC₅₀

Introducción

El durazno (*Prunus persica*) es un árbol deciduo, originario del Oeste de China, que pertenece a la familia Rosaceae. Puede alcanzar una altura de 8 metros, su fruto se caracteriza por presentar un endocarpio endurecido y un mesocarpio carnoso [1]. Este frutal puede llegar a tener una vida media de 12 a 17 años, alcanzando su edad productiva a partir del sexto o séptimo año. La floración

del árbol es inducida por la acumulación de entre 600 a 900 horas frío, las mismas que varían de acuerdo a la variedad de durazno. En los países tropicales, la necesidad de horas frío se compensa mediante la aplicación de compuestos hormonales [2].

En el mercado mundial el durazno se comercializa de forma fresca y en productos procesados, como conservas, pulpas, mermeladas, jugos y jaleas [3]. En el Ecu-



dor se estima que la producción de durazno alcanza los 3.125 TM anuales, con aproximadamente 650 hectáreas de tierra cultivadas [4]. A pesar de que la producción de esta fruta se ha incrementado en los últimos años, el abastecimiento nacional es limitado por diferentes factores, entre los más importantes están las enfermedades causadas por hongos, especialmente la que es producida por *Monilinia spp.* Este hongo provoca la podredumbre morena o “Brown rot” que ataca a las plantas en la etapa de floración, madurez del fruto y especialmente en la etapa post - cosecha (transporte, almacenamiento y venta en el mercado); sin un manejo adecuado las pérdidas pueden superar el 80 %. La podredumbre morena, conocida de esta forma por atizonar las inflorescencias, ramas y el fruto, provoca una condición en el fruto de durazno denominada “momia” o fruto momificado, el mismo que constituye el principal reservorio de esporas [5].

Monilinia spp. está clasificada dentro de los hongos superiores y pertenece a la subdivisión de los Ascomycetos. La fase asexual del hongo se denomina Monilia y se produce cuando las hifas terminan en conidios, los cuales son las esporas asexuales externas. La fase sexual consiste en la formación de ascosporas, que son grupos de ocho esporas dentro de un saco [5]. Estas ascas tienen la apariencia de copa, por lo que se agrupan dentro de la clase Discomycetes. *Monilinia* pertenece al orden Helotiales y a la familia Sclerotiniacea. Actualmente se conocen cuatro especies de *Monilinia*: *M. laxa*, *M. fructigena*, *M. fructicola* y *M. polystroma* [6].

Para controlar la infección que causa este hongo se encuentran disponibles en el mercado diferentes tipos de fungicidas, algunos son sistémicos y otros de contacto. Los primeros son absorbidos y diseminados por los tejidos de la planta, brindándole mayor protección contra la colonización del hongo [7]. Mientras que los fungicidas de contacto, protegen a la planta en la superficie donde han sido rociados, evitando que los esporangios germinen y penetren en las células [8]. A nivel mundial los fungicidas más utilizados para prevenir la diseminación de esporas y controlar la enfermedad son: captan, dicarboximidas, benzimidazoles e IBE. En el Ecuador se utilizan otros principios activos como el Fludioxinil, Ciprodinil, Tiabendazol, Iprodione, Propiconazole y Carbendazin (Tabla 2) [9].

El objetivo de esta investigación fue determinar *in vitro* la eficacia de cinco fungicidas: Rovral, Tilt, Mertec, Bravo y Switch (Tabla 2), utilizados en el control de la podredumbre morena, identificando la dosis letal media (EC_{50}) de cada uno de ellos en tres muestras de *Monilinia spp.* de la Sierra Ecuatoriana. Esto ayudará a diseñar de manera eficiente las estrategias de control del hongo, especialmente en la elección del fungicida a ser utilizado y la dosificación de las aplicaciones, contribuyendo de esta manera a reducir los costos y el impacto sobre el ambiente.

Provincia	Total de Muestras Colectadas	Muestras positivas Identificación Morfológica
Carchi	4	3
Imbabura	9	7
Pichincha	7	5
Tungurahua	14	6
Total	34	21

Tabla 1: Número de muestras colectadas e identificadas como *Monilinia* en cada provincia. Se presenta el total de muestras colectadas en cada provincia y el número de aislamientos identificados como *Monilinia spp.* mediante observación morfológica.

Producto	Principio Activo	Tipo de Fungicida
Mertec	Tiabendazol	Sistématico
Tilt	Propiconazole	Sistématico
Switch	Fludioxinil	Sistématico y Contacto
Bravo	Ciprodinil	Contacto
Rovral	Cloratalonil	Contacto
	Iprodione	Contacto

Tabla 2: Fungicidas utilizados para determinar *in vitro* la efectividad de su principio activo contra *Monilinia*. Se indica el principio activo de cada producto y el tipo de fungicida.

Materiales y métodos

Material Vegetal

El material biológico fue colectado en 34 localidades del Ecuador (Tabla 1). En cada plantación se colectaron entre 1 y 8 frutos de durazno que presentaban sintomatología típica de la enfermedad, algunos con indicios de infección y otros completamente momificados. Los frutos momificados, fueron colectados tanto del suelo como de las ramas del árbol. Adicionalmente, se compraron frutos de durazno con indicios de la sintomatología en 5 mercados: 3 en Tungurahua y 2 en Imbabura. Todas las muestras fueron colocadas individualmente en recipientes de plástico con tapa para su transporte al laboratorio. La colección se realizó entre febrero y julio de 2010.

El aislamiento del hongo y la evaluación *in vitro* de fungicidas fueron realizados en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad San Francisco de Quito. La nomenclatura usada, para identificar las muestras colectadas y posteriormente los aislamientos, corresponde a un código formado por la inicial de la provincia de procedencia, seguida de un número ordinal de colección (ejemplo: C01, corresponde al primer aislamiento colectado en Carchi).

Para la evaluación *in vitro* de fungicidas se escogieron los tres aislamientos que presentaron mayor tasa de esporulación, ya que a partir de éstos se pudo obtener más fácilmente cultivos monospóricos. Además por cuestiones logísticas fue importante no aumentar el número de muestras ya que cada una fue testeada con cinco fungicidas y tres réplicas. Entonces, se trabajó con un aislamiento de Tungurahua (T04) ya que esta provincia es el centro tradicional de cultivo de durazno en el país y con

dos muestras del norte de la Sierra Ecuatoriana, Carchi (C03) e Imbabura (I03), donde actualmente el cultivo de este frutal se ha expandido.

Aislamiento de *Monilinia*

Dentro de una cámara de flujo laminar (Thermo Forma), se realizó el aislamiento del hongo de dos formas diferentes, dependiendo del estado de afectación del fruto. Los frutos que presentaban sintomatología leve de la enfermedad fueron desinfectados externamente, siguiendo la metodología estandarizada previamente en el laboratorio [9, 10]. Brevemente, se lavó los frutos de durazno con agua de la llave, se obtuvo segmentos rectangulares del pericarpio de manera que una mitad estuviera afectada por el hongo y la otra sana, se sumergió los segmentos en agua destilada estéril por 30 segundos, posteriormente se los mantuvo en hipoclorito de sodio 2.5 % por 30 segundos, se los lavó en agua estéril, y se los secó en papel absorbente autoclavado. Luego se los colocó en medio de cultivo V8-MA [8] y se incubó a 25°C por 4 días en oscuridad. Posteriormente se hizo varias rondas de purificación mediante subcultivos hasta obtener colonias típicas de *Monilinia*. En el caso de los frutos momificados se los colocó en cámaras húmedas y se los incubó a 25°C, entre 4 y 6 días, para inducir esporulación del hongo sobre la superficie de la fruta momificada. Las esporas que crecieron fueron sembradas en medio de cultivo V8-MA e incubadas 4 días a 25°C en oscuridad.

Identificación de *Monilinia spp.*

Tanto el micelio como las esporas fueron observados al microscopio óptico mediante tinción con azul de metile no. Los aislamientos que presentaban esporas características de *Monilinia* por su forma (conidios de forma ovoide truncados en sus extremos), tamaño (12–16 x 8–11 μm) y disposición ramificada en los cuerpos fructíferos del hongo y que además mostraban el micelio con un aspecto y coloración propios del hongo (coloración de micelio gris o crema) [11, 12] fueron conservados en medio V8-MA y PDA. Se realizaron subcultivos cada tres semanas para mantener el material viable y posteriormente realizar cultivos monospóricos.

Adicionalmente se realizó una confirmación de los aislamientos escogidos para la evaluación, mediante marcadores SCAR y regiones ITS, utilizando protocolos previamente estandarizados en el laboratorio [10].

Preparación de cultivos monospóricos

Con el propósito de contar con un cultivo homogéneo del hongo para evaluar su respuesta a los fungicidas en estudio, se procedió a realizar cultivos monospóricos de cada aislamiento.

Los 21 aislamientos del hongo identificados como *Monilinia spp.* fueron sometidos a continuos subcultivos en medio V8-MA (3-5 veces) para inducir mayor esporulación. Los tres aislamientos que presentaban abundante

esporulación fueron utilizadas para realizar los cultivos monospóricos.

Se colocó las cajas que contenían el hongo dentro de la cámara de flujo laminar y se añadió 5000 μl de agua destilada estéril, con el fin de resuspender las esporas en el líquido. Paralelamente, se colocaron 900 μl de agua destilada estéril en 6 tubos eppendorf de 1,5 uL, para realizar diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-6} . Para esto se tomó con una micropipeta 100 μl de cada caja de Petri que contenía esporas en suspensión y se añadió en el primer tubo de 10^{-1} , luego se tomó 100 μl de esta última solución y se transfirió este volumen al tubo eppendorf de 10^{-2} y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 10^{-6} . Se sembró 50 μl de cada dilución de esporas en una caja de Petri diferente con medio V8-MA, distribuyéndola uniformemente con un asa de vidrio previamente flameada. Las cajas así tratadas se incubaron a 25°C por 7 días. Las colonias que provenían de esporas individuales y que habían tenido un crecimiento independiente, fueron sembradas individualmente en nuevas cajas de Petri con medio V8-MA e incubadas bajo las mismas condiciones de cultivo mencionadas anteriormente.

Determinación *in vitro* del EC₅₀ de cinco fungicidas para el control de *Monilinia*

A fin de establecer una ecuación de regresión que permita derivar los valores de EC₅₀ para cada uno de los fungicidas en estudio (Tilt, Bravo, Mertect, Switch, y Rovral) (Tabla 2), se preparó cuatro concentraciones (1, 10, 100 y 1000 $\mu\text{g/ml}$) más el control (0 $\mu\text{g/ml}$) de los cinco fungicidas en medio de cultivo V8-MA [13]. Se distribuyó 20 ml del medio preparado en cada caja de Petri. Se usó tres aislamientos de *Monilinia*, de las provincias de Tungurahua (T04), Imbabura (I03) y Carchi (C03). Se realizaron tres repeticiones por cada concentración de fungicida. Con la cámara de Neubauer se ajustó la concentración de la solución de esporas de los aislamientos de *Monilinia* a 10^5 esporas/ml y se sembró 100 ul en cada caja [14]. Finalmente, las cajas fueron incubadas a 25°C. Al séptimo día se tomaron los datos de germinación usando un estereó-microscopio (Thomas Scientific) (40X), contando el número de esporas germinadas en tres campos ópticos en cada caja y luego se obtuvo el promedio de las tres lecturas.

Análisis de datos

Los datos de germinación de esporas fueron tomados en cada repetición para las diferentes concentraciones de fungicidas y luego fueron promediados y utilizados para obtener los valores logit (Logit = $\ln(p/(1-p))$, donde p = probabilidad) [7], y con ellos establecer una ecuación de regresión lineal para derivar el valor EC₅₀ de cada fungicida en cada uno de los aislamientos de *Monilinia* analizados.

Resultados y Discusión

Colección de frutos infectados y aislamiento del hongo

Se colectaron frutos de durazno que presentaban sintomatología de las primeras fases de infección causada por *Monilinia*, así como frutos momificados, en 34 localidades de cuatro provincias: 4 en Carchi, 9 en Imbabura, 7 en Pichincha y 14 en Tungurahua (Tabla 1). De estas muestras se obtuvieron 21 aislamientos que tenían las características descritas para el género *Monilinia* en las claves taxonómicas utilizadas [9, 10]. La eficiencia en el aislamiento de *Monilinia* a partir de frutos parcialmente infectados fue menor (32,35 %) comparado con el aislamiento del hongo proveniente de frutos momificados (53,8 %). Esto pudo deberse a que existen otros fitopatógenos como *Glomerella cingulata* que producen la misma sintomatología de *Monilinia fructicola* en las primeras etapas de la infección en el pericarpio del durazno (manchas cafés) [15], lo cual pudo haber causado confusión en el momento de la recolección. Por otro lado, se conoce que los frutos momificados constituyen el principal reservorio de conidios (fase asexual del hongo) [16]. Esto podría explicar por qué el porcentaje de eficiencia al aislar *Monilinia* fue mayor usando frutos momificados que frutos recientemente infectados. Otra observación fue que los frutos momificados de los cuales se pudo aislar *Monilinia* fueron los que se colectaron directamente de las ramas de los árboles y no de los que se recogieron del suelo, lo que sugiere que estos últimos pudieron haber estado contaminadas con otros hongos, lo que habría complicado el aislamiento de *Monilinia*, a pesar de que la literatura menciona que los frutos momificados mantienen los conidios de *Monilinia* viables por largos períodos [17].

Específicamente en la provincia de Tungurahua, la eficiencia de aislamiento del hongo fue más baja que en las otras provincias, lo cual se debió quizás a las condiciones ambientales en la época de muestreo (finales de febrero e inicios de marzo del año 2010) que no fueron favorables para el desarrollo de *Monilinia*, ya que la región soportó un periodo extenso de sequía, baja humedad y a esto se sumó la presencia de ceniza volcánica por la erupción del Volcán Tungurahua [18]. Este fitopatógeno se desarrolla en temperaturas que oscilan entre 20 y 25°C en el día y noches frescas, con requerimientos altos de humedad [7].

Determinación del EC₅₀ de los cinco fungicidas

El objetivo de este experimento fue determinar la concentración de fungicida a la cual el 50 % de las esporas del hongo estudiado dejaba de germinar (EC₅₀). Acoyendo la recomendación de Obanor y colaboradores [19], para este estudio se consideró que el valor EC₅₀ <1 µg/ml correspondía a un fungicida efectivo para el control del patógeno.

En cada concentración (1, 10, 100 y 1000 µg/ml) de fungicida se sembró 100 ul de una solución de 10⁵ esporas/ml de cada aislamiento. El número de esporas que

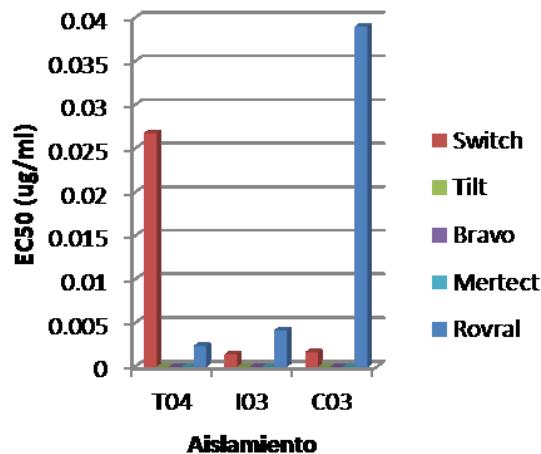


Figura 1: Concentración efectiva (µg/ml) de los cinco fungicidas utilizados donde el 50 % de las esporas dejan de germinar (EC₅₀) utilizando los tres distintos aislamientos de *Monilinia*: T04 (Tungurahua), I03 (Imbabura) y C03 (Carchi).

germinaron en las cuatro concentraciones de los cinco fungicidas se registró al tercero, quinto y séptimo días, pero para el análisis solo se tomaron en cuenta los datos que corresponden al día séptimo, debido a que la mayoría de aislamientos tuvo un crecimiento evidente en este tiempo.

Se esperaba que los fungicidas más efectivos fueran Bravo (Clorotalonil), Rovral (Iprodione) y Tilt (Propiconazole), porque en un estudio realizado por Adaskaveg y sus colaboradores [20], se encontró que los principios activos más efectivos para el control de la podredumbre parda eran el IBE (Inhibidores de Biosíntesis del Ergosterol), el captan, los dicarboximidas, los triazoles y los benzimidazoles. Estos principios activos corresponden al mismo grupo químico al que pertenecen los principios activos probados en este estudio. Los fungicidas que mejores resultados mostraron para controlar la germinación de esporas de *Monilinia* fueron Tilt, Bravo y Mertect (Figura 1).

El fungicida Tilt no es específico para el control de *Monilinia* pero su uso ha aumentado en los últimos años en las plantaciones de durazno en el Ecuador (Tobar José, comunicación personal). El principio activo de Tilt es el Propiconazole que proviene del mismo grupo químico de los triazoles [19]. Se determinó que el Propiconazole al tener un EC₅₀ menor a $1,15 \times 10^{-5}$ µg/ml es muy efectivo inhibiendo la germinación de esporas de *Monilinia*, los resultados son similares a los descritos en estudios con *Phaeomoniella chlamydospora*, en donde los triazoles obtuvieron un valor menor a 0,3 µg/ml [21].

El fungicida Bravo es específico para el control de *Monilinia* [22]. El principio activo de este fungicida es el clorotalonil, el cual fue efectivo previniendo la germinación de las esporas aisladas de *Monilinia* con un EC₅₀ menor a $1,14 \times 10^{-5}$ µg/ml. Para el control de *Spilocaea oleagina*, en Nueva Zelanda, se encontró que el EC₅₀ del clorotalonil fue menor a 0,06 µg/ml [19]. Estos resultados muestran que el principio activo del fungicida

Bravo es de amplio espectro, a pesar de que se lo use específicamente para inhibir el crecimiento de *Monilinia*. El clorotalonil tiene la capacidad de intervenir en la síntesis de las enzimas provocando que el hongo no se desarrolle y muera [23].

Mertect es un fungicida sistémico y su principio activo es el tiabenzanol, el mismo que pertenece al grupo químico de los benzimidazoles. El valor EC₅₀ usando este fungicida fue menor a $1,19 \times 10^{-5}$ µg/ml. Existen otros estudios que reportan valores similares para *Sclerotinia homoeocarpa* y *Botritis cinerea* [24, 25]. La efectividad del tiabendazol puede deberse a que es un fungicida relativamente nuevo en el mercado ecuatoriano, y se lo utiliza muy poco para la fumigación de los cultivos de durazno (José Tobar, comunicación personal).

Con el fungicida Rovral, las esporas de los tres aislamientos utilizados (Imbabura, Carchi y Tungurahua) germinaron hasta una concentración de 1 µg/ml, y el EC₅₀ fue menor a 4×10^{-2} µg/ml (Figura 1). En otros estudios, realizados con diferentes fitopatógenos de interés agronómico como *Sclerotinia homoeocarpa* y *Botrytis cinerea*, en donde se evaluó al principio activo de este fungicida Rovral, (dicarboximidas), se encontraron valores de sensibilidad parecidos a los obtenidos en este estudio con *Monilinia* [24, 25, 26, 27, 28].

En el Ecuador el fungicida Switch no es utilizado mayormente para inhibir la germinación de *Monilinia*, se lo usa más para control de *Botritis* [22]. Se sabe que este fungicida se lo aplica para hacer lavados de post cosecha (José Tobar, comunicación personal). A pesar que es un fungicida usado para otro tipo de hongo se pudo determinar que si es un fungicida eficaz para inhibir el crecimiento de *Monilinia*.

Tanto Switch como Rovral no mostraron mayor eficiencia comparados con Mertect, Bravo y Tilt, porque las esporas de los tres aislamientos de *Monilinia* germinaron a una concentración de 1 µg/ml y su EC₅₀ fue menor a $2,8 \times 10^{-2}$ µg/ml. Los valores obtenidos en este estudio se parecen a los de Hilber y Schuepp, donde se estudió la susceptibilidad de *Botritis* hacia el fungicida Switch [25].

Al realizar las pruebas de germinación de esporas de los aislamientos de *Monilinia* en las diferentes concentraciones de fungicidas se pudo determinar que los fungicidas utilizados en este experimento resultaron ser eficaces para inhibir la germinación de esporas de *Monilinia*, llegando a tener EC₅₀ menores a 0,01 µg/ml (Figura 1) en los aislamientos utilizados para la evaluación. Los fungicidas más efectivos para el control de *Monilinia* fueron Mertect, Bravo y Tilt, pues inhibieron la germinación de esporas en concentraciones sumamente bajas en los tres aislamientos utilizados.

Es importante que se aumente el número de muestras y se realicen pruebas de campo para evaluar el EC₅₀ de estos fungicidas y corroborar los resultados obtenidos en este estudio, ya que la eficiencia de estos productos

puede variar por factores externos como el viento, temperaturas, humedad e insectos [24, 25].

Este estudio es una base para establecer estrategias efectivas de control para la podredumbre morena en los cultivos de durazno del país, al igual que retardar el aparecimiento de resistencias a los fungicidas que se están utilizando actualmente.

Agradecimientos

Este proyecto fue financiado por el Programa “Small Grants”, Universidad San Francisco de Quito.

Los autores agradecen a Carlos Ruales por su apoyo en la identificación morfológica de *Monilinia spp*. A Bernardo Gutiérrez por la edición de este manuscrito especialmente en la redacción del resumen en inglés, y a todo el grupo de investigación del Laboratorio de Biotecnología Vegetal.

Referencias

- [1] Layne, D. and Bassi, D. 2008. “The Peach: Botany, production and uses”, Biddle: King's Lynn.
- [2] Whealy, K., Vásquez, W., and Viteri, P. 2001. “Fruit berry and nut inventory”, Third edition. United States.
- [3] USDA: Foreign Agricultural Service. 2010. “Global agricultural information network”. 2010-05-10. Consultado: 2010-11-06. <<http://gain.fas.usda.gov>>.
- [4] SIGAGRO 2010. Ministerio de Agricultura, Ganadería Acuacultura y Pesca, MAGAP.
- [5] Agrios, G. 1995. “Fitopatología”, Segunda Edición. Uteha Noriega Editores: México.
- [6] Coté, M., Tardif, M., and Meldrum, A. 2004. “Identification of *Monilinia fructigena*, *M. fructicola*, *M. laxa* and *Monilinia polystroma* on inoculated and naturally infected fruit using multiplex PCR”. *Plant Disease*. 88, 1219 – 1225.
- [7] Thomson, W. 1994. “Agricultural Chemical Book IV-fungicides”, Fresno.
- [8] Gregorí, B. 2005. “Estructura y actividad de los antifúngicos. Instituto cubado de investigaciones de derivados de la caña de azúcar”. *Rev. Cubana Farm.* 39(2).
- [9] Borja, E. 2011. “Evaluación in vitro de fungicidas para el control de *Monilinia spp*. aislada de duraznos (*Prunus persica*) de diferentes localidades de la sierra del Ecuador”. Universidad San Francisco de Quito, Tesis de Ingeniería: Quito.
- [10] Salgado, C. 2011. “Identificación molecular de especies de *Monilinia spp*. que afectan la producción de durazno, *Prunus persica*, en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha y Tungurahua”. Universidad San Francisco de Quito, Tesis de Licenciatura: Quito.
- [11] EPPO 2009. *Diagnostic Protocol of Monilinia fructicola*, European and Mediterranean Plant Protection Organization.
- [12] Streets, R. 1982. “The diagnosis of plant diseases”, Tucson: The University of Arizona.

- [13] Cañedo, V. and Ames, T. 2004. "Medios de cultivos de laboratorio: Manual de Laboratorio para el manejo de Hongos Entomopatógenos". Perú: Centro Internacional de la papa (CIP). pp. 18 – 22.
- [14] Everett, K. and Torrevilla, O. 2007. "In vitro fungicide testing for control of avocado fruit rots". *New Zealand Plant Protection*. 60, 99 – 103.
- [15] Hartman, J. 2007. "Peach fruit diseases". *Plant Pathology Fact Sheet: University of Kentucky, College of Agriculture*.
- [16] Gell, I., Cubero, J., and Melgarejo, P. 2007. "Two different pcr approaches for universal diagnosis of brown rot and identification of *Monilinia spp.* in stone fruit trees". *Journal of Applied Microbiology*. pp. 1364 – 5072.
- [17] Mitidieri, M., Constantino, A., Brambilla, J., Gabilondo, E., Parra, M., Veron, R., and Bimboni, G. 2005. "Effect of different early/season sprays on blossom blight incidence and yield in peach orchards". *Acta Horticulturae 713: VI International Peach Symposium*.
- [18] INAMHI, boletín anual 2010.
- [19] Obanor, F., Walter, M., Jones, E., and Jaspers, M. 2005. "In vitro effects of fungicides on conidium germination of *Spilocaea oleagina*, the cause of olive leaf spot". *New Zealand Plant Pathology Protection Society*. 58, 278 – 282.
- [20] Adaskaveg, J., Foster, H., Gubler, W., Teviotdale, B., and Thompson, D. 2005. "Reduced-risk fungicides help manage brown rot and other fungal disease of stone fruit". *California agriculture*. 59, 109 – 114.
- [21] Jaspers, M. 2001. "Sensitivity of phaeomoniella chlamydospora to fungicides in vitro". *New Zealand Plant Protection Society, Horticultural Pathology*. 54, 225 – 228.
- [22] Burpee, L. 1997. "Control of dollar spot of creeping bentgrass caused by an isolate of *Sclerotinia homeocarpa* resistant to benzimidazole and the demethylation-inhibitor fungicides". *Plant Disease*. 81, 1259 – 1263.
- [23] Thomson, W. 1997. "Agricultural Chemicals. Book IV: Fungicides", Thomson Publications, Fresno, CA., 12 edition.
- [24] Grindle, M. 1981. "Variations among field isolates of *Botrytis cinerea* in their sensitivity to antifungal compounds". *Pesticide Science*. 12, 305 – 312.
- [25] Hermann, D. and Gisi, U. 1994. "Cross-resistance among dmi fungicides and sensitivity distributions of *Septoria tritici* populations". *Brighton Crop Prot. Conf. - Pests and Diseases*. 1, 487 – 492.
- [26] Liggit, J., Jenkinson, P., and Parry, D. 1997. "The role of saprophytic microflora in the development of fusarium ear blight of winter wheat caused by *Fusarium*".
- [27] Hilber, U. and Schuepp, H. 1996. "A reliable method for testing sensitivity to *Botryotinia fuckeliana* to anilopyrimidines in vitro". *Pesticide Science*. 47, 241 – 247.
- [28] Parker, K. and Sutton, T. 1993. "Effect of temperature and wetness duration on apple fruit infection and eradicant activity of fungicides against *Botryosphaeria dothidea*". *Plant Disease*. 77, 181 – 185.

Molecular and morphological characterization of S2 lines of black corn (*Zea mays L.*) from Ecuadorian Andes

María de Lourdes Torres^{1,*}, Ana Lucía Bravo¹, Mario Caviedes¹ Venancio Arahana¹

¹Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales.

Universidad San Francisco de Quito

Calle Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador

E-mail: ltorres@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: C. Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 06/01/2012. Aceptado/Accepted: 06/21/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

Black corn is a native variety of this crop, present in the Andean Highlands of Ecuador. Despite its importance as a functional food, due to its anthocyanin content with antioxidant and anti-carcinogenic properties, its usage has tended to be reduced because of a widespread preference in farmers and consumers for the improved yellow corn varieties. In this research, twenty four S2 lines of black corn were morphologically and molecularly evaluated to determine their diversity level and thus their potential as a source of parents for future breeding programs, especially aimed to developing varieties with high anthocyanin content. For the molecular evaluation, a set of ten SSR primer pairs, one per chromosome, was used to amplify microsatellite regions from the corn genome. For the morphological analysis, seven traits were measured in two vegetative cycles of self pollination. A total of 43 alleles were revealed for the 10 SSR loci. The number of alleles per locus ranged from 2 to 8, with an average of 4.3 ± 2.06 . The genetic distances ranged from 0.29 to 0.95. UPGMA analysis grouped the S2 lines in six groups with one predominant group. The morphological data showed variation especially in plant height, ear insertion height and leaf length. Endogamy depression was evidenced mainly for plant height and ear insertion height. A morphological dendrogram also grouped the 24 S2 lines of black corn in six groups, although they were not the same as in the molecular dendrogram. It is concluded that a moderate variability level exists in this collection and therefore a potential for the development of new varieties.

Keywords. *Zea mays L.*, black corn, anthocyanins, morphological characterization, SSRs, genetic diversity.

Resumen

El maíz negro es una variedad nativa de este cultivo, presente en las zonas elevadas de los Andes ecuatorianos. A pesar de su importancia como un alimento funcional, por su alto contenido de antocianinas con propiedades antioxidantes y anti carcinogénicas, su uso se ha visto reducido a causa de una preferencia generalizada por variedades de maíz amarillo mejorado por parte de agricultores y consumidores. En este estudio, 24 líneas S2 de maíz negro fueron evaluadas morfológica y molecularmente para determinar su nivel de diversidad y por lo tanto su potencial como parentales para programas de mejoramiento futuros, especialmente aquellos enfocados en el desarrollo de variedades con alto contenido de antocianinas. Para la evaluación molecular, un set de diez primers de SSR, uno por cromosoma, fueron usados para amplificar una región de microsatélites del genoma del maíz. Para el análisis morfológico, siete características fueron medidas en dos ciclos vegetativos de autopolinización. Un total de 43 alelos fueron encontrados para los 10 loci de SSR. El número de alelos por locus varió entre 2 y 8, con un promedio de 4.3 ± 2.06 . La distancia genética varió entre 0.29 y 0.95. El análisis UPGMA agrupó a las líneas S2 en seis grupos con uno predominante. Los datos morfológicos mostraron variación, especialmente en cuanto a la altura de la planta, altura de inserción de espiga y longitud de hoja. Se evidenció depresión endogámica principalmente para altura de planta y altura de inserción de espiga. El dendrograma de este análisis, también agrupó a las 24 líneas S2 de maíz negro en seis grupos, aunque no fueron los mismos grupos que los presentados en el análisis molecular. Se concluye que existe un nivel moderado de variabilidad en esta colección y, por lo tanto, posee potencial para el desarrollo de nuevas variedades.

Palabras Clave. *Zea mays L.*, maíz negro, antocianinas, caracterización morfológica, SSRs, diversidad genética.

ISSN 1390-5384



Introduction

Corn (*Zea mays* L.) is part of the group of the most important cereals in the world. Its importance is related with the variety of uses in which it is involved, such as human food, animal feed and as a source for industrial products [1]. There are two possible centers of origin of this cereal: the highlands of Peru, Ecuador, and Bolivia; and the southern Mexico and Central America region [2].

In Ecuador, 24 native races of corn have been identified. One of these races is the black corn, also known as “grape bunch” [3]. This black corn is characterized by its rounded kernels with red or black pericarp which are tightly grouped giving a grape bunch appearance. The cob is medium size with a conic shape; ear row number is around eight to fourteen, stem is thin and plant height is short [3]. For centuries, black corn has been used as a colorant for food and beverages in the Andes, because of its rich anthocyanin content [4]. Studies have shown that anthocyanins found in black corn have health benefits, such as antioxidant and antimutagenic properties [5, 6]. Moreover, it has been demonstrated that black corn has higher antioxidant content than fresh blueberries [7]. Therefore, black corn is considered a potential crop in the functional and nutraceutical food industry. Due to the growing demand of natural food colorants and functional foods, this type of corn represents a valuable genetic resource from the Ecuadorian Andean Highlands.

Both phenotypic and genetic diversity are necessary to identify promising individuals in order to evaluate and utilize genetic resources for the development of commercial lines [8]. Specifically in corn breeding, the assessment of genetic diversity is essential to the exploitation of heterosis [9, 10, 11, 12]. Molecular markers assess genetic diversity at DNA level, do not present interactions with the environment, and identify high polymorphism levels which can be used for characterization of corn accessions [10, 13]. In particular, SSR markers in corn have been used to construct genetic linkage maps, study populations and evolution, assist breeding programs, and characterize inbred lines [9, 14, 15, 16].

Genetic variability in Ecuadorian highland corn populations has been studied by different groups, and all have reported high genetic diversity [4, 17, 18]. Few studies have been focused on the molecular characterization of highland corn, especially in races like black corn. Among these, in 2003, INIAP (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias) in Ecuador [19], characterized 19 accessions and 9 lines from different types of highland corns, using 22 microsatellite sequences.

In this study, we evaluated 24 black corn S2 lines with microsatellites and morphologic traits to assess their genetic diversity and to analyze the possibility of developing commercial lines of Ecuadorian “grape bunch” black corn.

Materials and Methods

Plant material

Twenty four black corn S2 lines classified in two groups were evaluated. Group A consisted of six S2 lines whose parents were yellow corn individuals derived from an inter-population cross between two CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center) gene pools, pool 5 and pool 6, which segregated black kernels. Pool 5 HLWF (High Land White Flint) and Pool 6 HLWD (High Land White Dent) are populations with a genetic base from highland corn germplasm. Group B had eighteen S2 lines whose parents were collected from El Quinche, Pichincha - Ecuador. The twenty four S2 lines were generated and evaluated in the Experimental station of INIAP-USFQ, in Tumbaco, Pichincha - Ecuador. Two self pollinations were performed to fix the black kernel color and as a source of progenitors for the development of new commercial black corn lines and varieties.

DNA extraction, PCR amplification and Electrophoresis

About 0.25 grams of fresh leaf tissue from corn seedlings were used to extract genomic DNA. The DNA extraction was performed using CTAB, as previously described [20]. A set of 10 primer pairs, one pair per chromosome, were chosen based on their high PIC value described in a previous study [15]. The DNA sequence and genomic position for each primer pair are described in Table 1. A 10 μ L PCR reaction mix contained 20 ng template DNA, 0.4 mM dNTPs, 0.2 mM SSR primers (forward and reverse), 1X reaction buffer, 2mM MgCl₂, and 1 U Taq polymerase (Invitrogen). The amplification was performed using a Techne TC-142 Thermal Cycler with the following cycling program: initial denaturation at 94 °C for 2 min, followed by 30 cycles consisting of 30 sec at 95 °C, 1 min at X °C (depending on the primer) and 1 min at 72 °C, and a final extension at 72 °C for 5 min. The electrophoresis was conducted at 85W for 2.5 hours on a vertical electrophoresis system (BIORAD) and the products were visualized by silver staining [21].

Molecular data analysis

Data were recorded as an allelic matrix, where molecular weights of each allele (bands) were determined through a comparison with a lineal regression based on the migration distance of a 10 bp molecular weight ladder (Invitrogen). Allele frequency for each locus was calculated using the following formula:

$$\text{Allele frequency} = \frac{2N_{xx} + N_{xy}}{2N} \quad (1)$$

where N_{xx} represents homozygous individuals, N_{xy} are heterozygous individuals, and N is the number of samples. Polymorphism Information Content was determined according to the following formula:

$$PIC = 1 - \sum f_i^2 \quad (2)$$

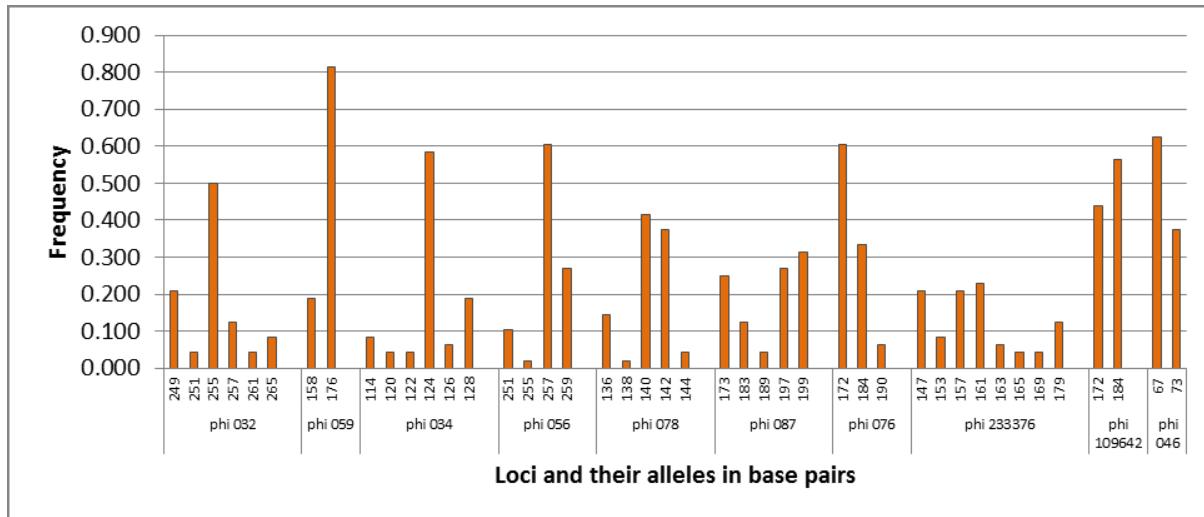


Figure 1: Allele frequency per locus detected in 24 S2 lines of black corn from the Ecuadorian Andes. Allele 176 of locus Phi059 is by far the most frequent allele. On the other hand, locus Phi233376 has the highest number of alleles.

Locus	Genomic position	Sequence	PIC VALUE
phi 032	9.04	5'-CTCCAGCAAGTGATGCTGGAC-3' 5'-GACACCCGGATCAATGATGGAAC-3'	0.68
phi 059	10.02	5'-AAGCTAATTAAAGGCCGGTCATCCC-3' 5'-TCCGTGTACTCGGCCGGACTC-3'	0.3
phi 034	7.02	5'-TAGCGACAGGATGCCCTTTCT-3' 5'-GGGGAGCACGCCCTCGTTCT-3'	0.61
phi 056	1.01	5'-ACTTGCTTGCCTGCCGTTAC-3' 5'-CGCACACCCTCCAGAA-3'	0.55
phi 078	6.05	5'-CAGCACCAGACTACATGACGTGTAA-3' 5'-GGGCCGCGAGTGATGTGAGT-3'	0.66
phi 087	5.06	5'-GAGAGGAGGTGTTGTTGACACAC-3' 5'-ACAACCGGACAAGTCAGCAGATTG-3'	0.75
phi 076	4.11	5'-TTCTTCCGGCGGCTTCATTGACC-3' 5'-GCATCAGGACCCGCAGAGTC-3'	0.52
phi 233376	8.03	5'-CCGGCAGTCGATTACTCC-3' 5'-CGAGACCAAGAGAACCTCA-3'	0.83
phi 109642	2.00	5'-CTCTCTTCCTCCGACTTCC-3' 5'-GAGCGAGCGAGAGAGATCG-3'	0.49
phi 046	3.08	5'-ATCTCGCGAACGTGTGCAGATTCT-3' 5'-TCGATCTTCCCGGAACCTGTGAC-3'	0.47

Table 1: Sequences, genomic position and PIC values of the SSR loci primers used in this investigation.

where f_i^2 is the frequency of ith allele. The data were also recorded in a binary matrix which was used to generate a similarity matrix by means of the Jaccard coefficient. The similarity matrix was then used for cluster analysis using the UPGMA clustering algorithm. The genetic associations were also analyzed with a two dimensional Principal Coordinate Analysis. All of the statistical analyses were performed using the NTSYS-pc software [22].

Morphological data analysis

Seven morphologic traits were considered in this study: plant height, ear insertion height, tassel type, stem color, leaf length, leaf width and anthocyanin concentration. The anthocyanin concentration from kernels was determined using a procedure previously described [6]. Kernels were ground to a fine powder and dried in an oven

at 70 °C overnight. 100 mg of homogenized powder was then mixed with 7.5 ml 1% acetic acid. Each sample was vortexed for 10 min and sonicated for 30 min at 30 °C. Following sonication, samples were centrifuged (10,000 rpm, 25 min) and the supernatant was discarded. A volume of 1.7 mL of a methanol 1% acetic acid (90/10 v/v) solution was added to the remaining sample. Samples were vortexed for 10 min and sonicated for 30 min at 30 °C. Then, they were adjusted to pH1 and pH5 and the absorbance was measured at a wavelength of 520 nm using a spectrophotometer Spectronic 20D+ (Thermo Scientific). The following formula was used to quantify anthocyanin concentration.

$$\text{Anthocyanin concentration} = \frac{(Abs\ pH1 - Abs\ pH5) \times DF}{0.775} \quad (3)$$

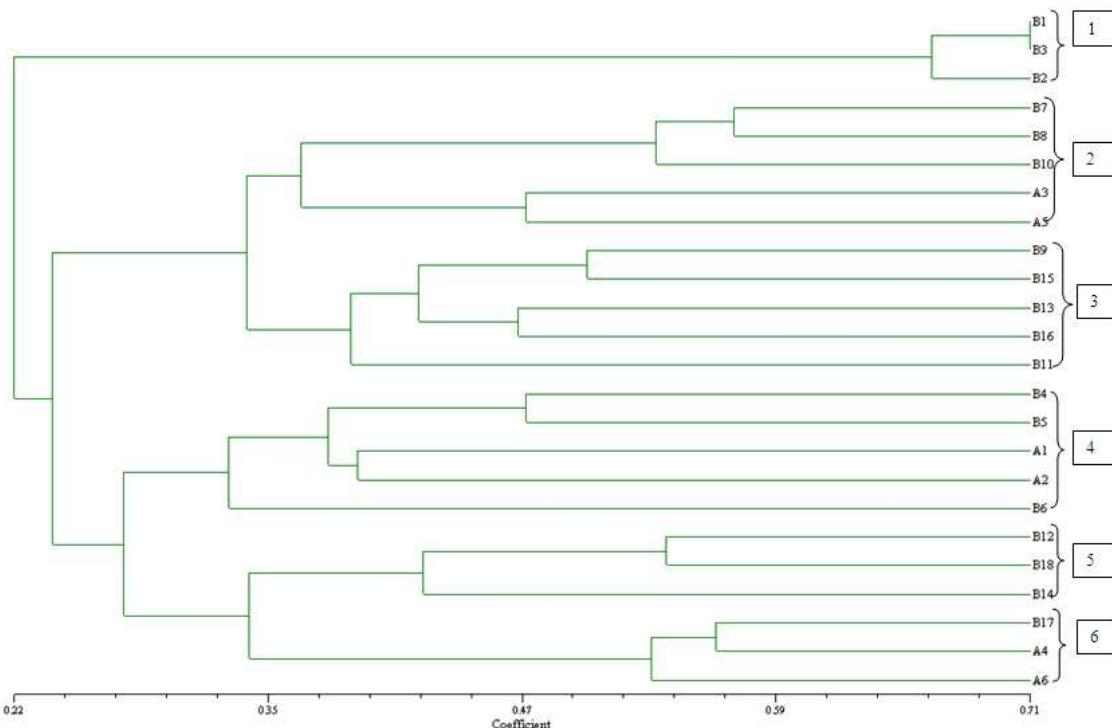


Figure 2: UPGMA dendrogram showing the grouping of 24 S2 lines of black corn from the Ecuadorian Andes, generated with molecular data of 10 SSR loci distributed in the ten chromosomes of corn. Six groups are evident, most of which include individuals of groups A and B (group A from CIMMYT; group B from El Quinche, Ecuador).

where $A_{\text{abs}}^{pH_X}$ represents the absorbance measured at an X adjusted pH value, DF is the dilution factor and 0.775 is a correction factor. For morphological quantitative data, mean and standard deviation values were calculated while qualitative data were analyzed by a determination of proportions. In order to verify differences between the mean values from lines of Group A and lines of Group B, t tests were performed. For this purpose, accessions from Group B were set in groups of n=6 to be compared to Group A, also n=6. The tests were performed using Excel 2008 (Microsoft Corporation). Quantitative and qualitative data were used to build a binary matrix, on which a similarity matrix was based, using the Jaccard coefficient. The results were used to obtain a dendrogram by UPGMA cluster analysis using the program NT-SYS 2.0.

Results

Allelic diversity at SSR loci

A total of 43 alleles were revealed for the 10 SSR loci (Fig. 1). The number of alleles per locus ranged from 2 (loci phi059, phi109642 and phi046) to 8 (locus phi059) with an average of 4.3 ± 2.06 . The allele frequency varied from around 2% (allele 255 of locus phi 078), to 81% (allele 176 of locus phi059). The polymorphism information content (PIC) value for the 10 loci ranged from 0.30 (phi059) to 0.83 (phi233376) with an average of 0.59 ± 0.15 (Table 1). The average homozygosity level reached by the 24 S2 lines was 82% which coincides with the expected level due to the two cycles of

self pollination undergone.

Genetic diversity and cluster analysis

The binary matrix was used to compute the genetic distances for all pairs of corn S2 lines studied. The genetic distances ranged from 0.29 between B1 and B3 lines to 0.95 for lines B8 and B12. Distance measures were later used to construct a hierarchical tree using the UPGMA method. At about 70% of genetic distance six groups are evident in the dendrogram constructed with the molecular data (Fig. 2). Clusters 1, 3 and 5 consist exclusively of corn lines from El Quinche (Group B), whereas the other clusters are constituted by corn lines of both El Quinche and CIMMYT (Groups A and B). Considering the level of association between clusters, cluster 1 is the most distant in the dendrogram, such that it appears as an external group, linked to the rest of clusters at about 80% distance. Clusters 2 and 3 join together at 68% distance and clusters 4 and 6 converge at 75% distance. There is also variation within the clusters, being cluster 1 the most homogeneous since the three corn lines that constitute it converge at 45% distance. The Principal Coordinate Analysis (Fig. 3) distributed the individuals in a similar way as in the dendrogram, obtaining the same major clusters.

Morphological variation

The S2 lines from Group A showed higher mean and standard deviation values compared to the S2 lines from Group B. Both groups evidenced a reduction in the magnitude of the different descriptors compared to the parental

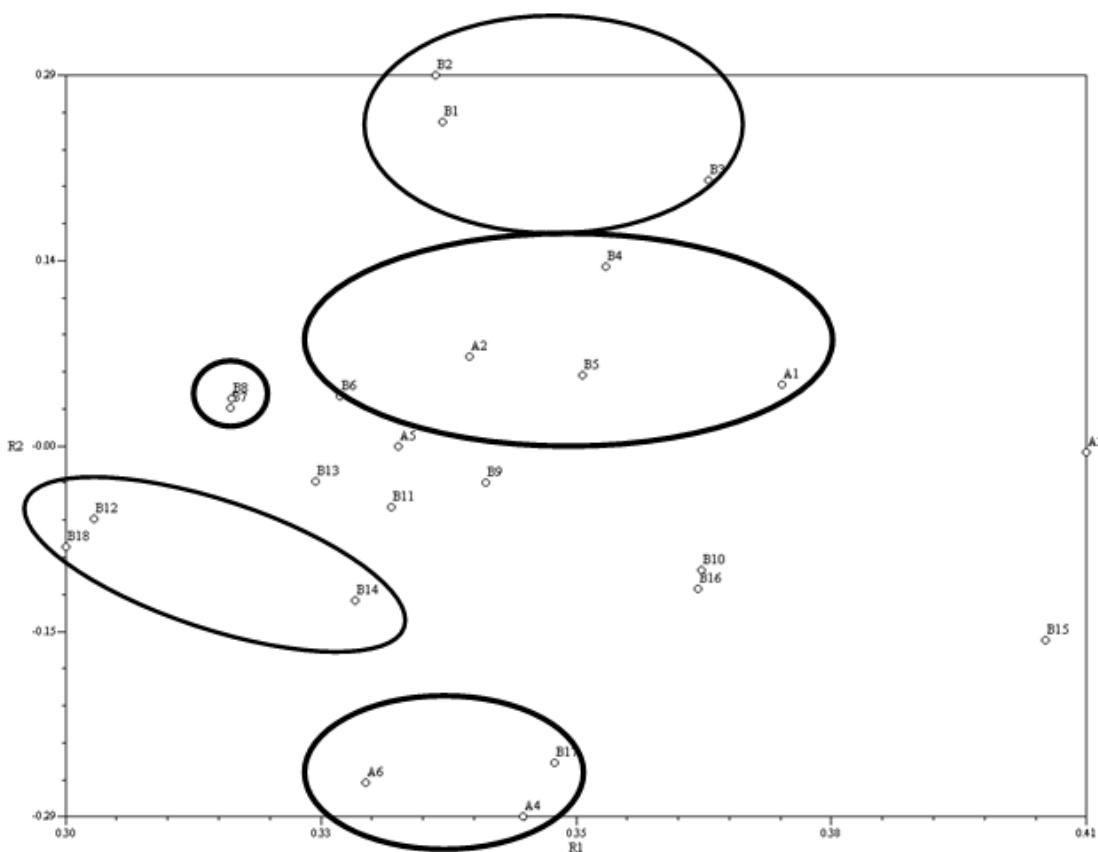


Figure 3: Principal Coordinate Analysis using molecular data generated by analyzing 10 SSR loci in 24 SSR lines of black corn of the Ecuadorian Andes. Grouping is similar to that of the dendrogram.

generation. Thus, plant height and ear insertion height showed the highest depression by means of endogamy. Groups B and A showed a reduction of 36.97% and 26.82% of plant height respectively compared to the average for this descriptor in the type of corn “grape bunch”. For ear insertion height, the reduction was 27.94% for Group B, and 20.42% for Group A (data not shown).

The t test was performed to evaluate whether there was a significant difference between Groups A and B regarding morphologic descriptors. No significant differences were found between groups B1 and A for plant height, ear insertion height, and leaf length. Also, groups B2 and A had no significant differences between them in ear insertion height, leaf length and leaf width. On the other hand, Group B3 had significant differences compared to group A in leaf length, leaf width, plant height, and ear insertion height.

Regarding anthocyanin content, an ample variation was observed in the corn S2 lines studied, ranging from 2.3 g/cm³ (line A1) to 0.07 g/cm³ (lines B5 and B7), with an overall average of 0.821 g/cm³. The highest variability corresponded to Group B (from El Quinche - Ecuador), probably because of its bigger sample size. The highest value of anthocyanin content (2.3 g/cm³) however, was seen in accession A1 (from CIMMYT).

Cluster analysis was used to reveal the association between Group A and B. Genetic similarity was calculated from the morphological binary matrix by UPGMA. Six major clusters were observed in the morphological dendrogram (Figure 4). The first main cluster (1) included most of the individuals with leaf length of 46-55 cm and leaf width of 5.16 cm. The second main cluster (2) mainly grouped individuals with plant height of 106-120 cm, ear insertion height of 61-70 cm, and leaf length of 66-75 cm. The third cluster (3) grouped individuals with green stem and leaf length of 36-45 cm. The fourth cluster (4) grouped highly heterogeneous individuals that share primary-secondary-tertiary tassel type. The fifth cluster (5) contained also a heterogeneous group that shared ear insertion height of 71-80 cm. Finally, the sixth cluster (6) had individuals with green stem, primary-secondary tassel type, leaf length of 46-55 cm, and leaf width of 7.1-8 cm. Clusters 1 and 3 contained S2 lines from group B only, whereas the rest of clusters were heterogeneous for both Groups A and B.

Discussion

The size of the alleles (in base pairs) found in this study for the 10 SSR loci analyzed corresponded to the sizes that have been reported in the web database “MaizeGDB”

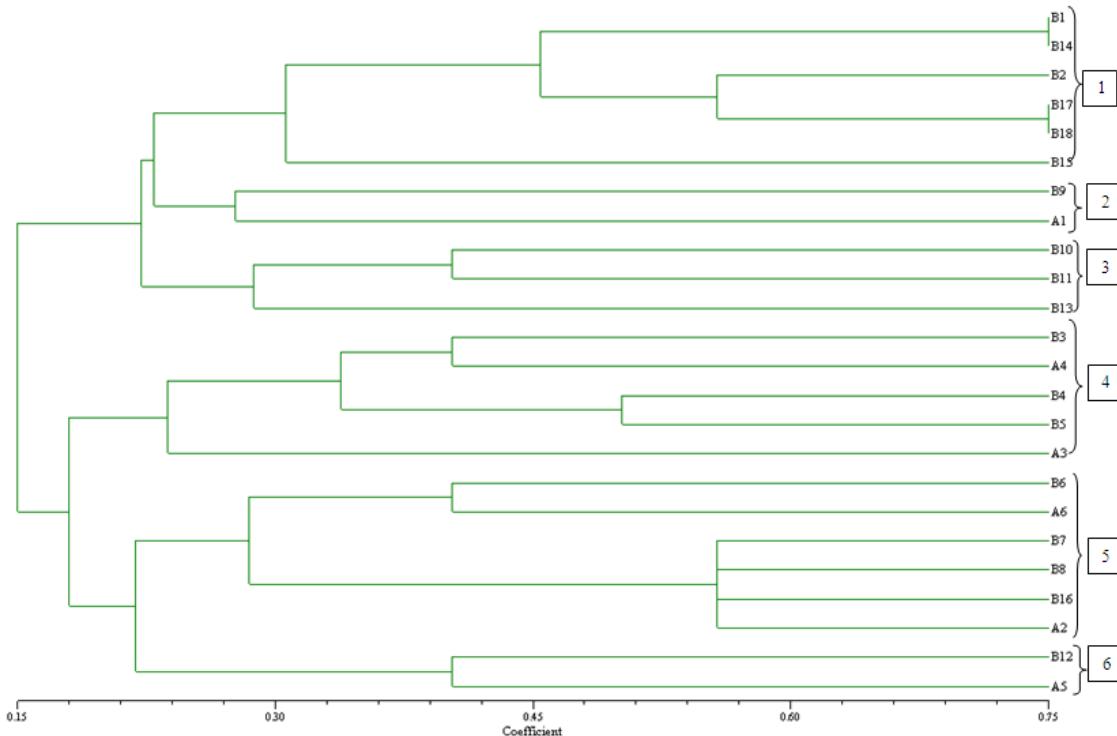


Figure 4: UPGMA dendrogram showing the grouping of 24 S2 lines of black corn from the Ecuadorian Andes, generated with morphological data by analyzing four quantitative traits.

available in <http://www.maize.gdb.org>. The PIC value is considered as the best method to measure the distribution of alleles among a germplasm [23]. The mean PIC value of 0.59 in this study is similar to those of other studies in corn like Enoki et al [24] that reported a mean PIC value of 0.69, Smith et al [25] 0.62, and Senior et al [26]. 0.59. This PIC value showed the discriminatory power of the primers used in this study to evaluate the diversity between the 24 black corn lines analyzed. Besides, a high PIC value was expected because of the previous high values reported by Warburton et al [15] for the same set of primers. The genetic distance is the measure of the genetic relationship among individuals from a population. The genetic similarity matrix with the Jaccard coefficient had an average similarity value of 0.60 ± 0.14 . This value is similar with other studies [25, 26, 27]. In addition, corn is an allogamous species; therefore, a high allelic diversity is likely to be shown [28]. The results also made possible the distinction between lines closely related like the minimum genetic distance of 0.29 for B1 and B3 and the maximum of 0.95 for lines B8 and B12.

The grouping of the 24 S2 lines shown in the dendrogram and the distribution shown in the PCA displayed several coincidences that suggest that this could be the real distribution between the genotypes of the accessions studied [24, 29]. These groupings would help to select the parental individuals for the following crosses between the lines in the breeding program to generate commercial black corn hybrids, and most importantly, to develop new varieties of black corn.

The dendrogram generated with the morphological traits showed clusters of individuals that share more than one characteristic. Hartings et al [30] also reported that the morphological characterization of 54 individuals, using 20 morphological traits, grouped individuals that shared more than one trait. Corn is a crop with a high diversity in phenotypic traits. However, morphological traits are not accurate to study genetic variability in a group due to the fact that they can be environmentally affected [11, 30].

More variation was observed in the group A even though it's a small group. This was true for most characteristics, except for anthocyanin content, where group B was more variable. The reason for this might be that Group A is made of individuals from an interpopulation cross; hence it has a wider genetic base. A major genetic variability is expected and available if populations from diverse origins are intercrossed [31]. The corn germplasm in the Ecuadorian Andean region has a low tolerance to endogamy. Studies made in the South American Andean region suggested that the degree of depression by endogamy in some traits was higher in populations with floury kernels than in populations with dent and semi dent kernels [31, 32].

The results obtained in this study demonstrated that the S2 lines derived from the local population Group A and Group B had a reduction in the vigor, due to the effect of the two consecutive self pollinations. The successive self pollination decreases the frequency of heterozygotes, which results in a higher endogamy. Breeding programs that use self-pollination to develop pure

lines describe that heterozygosity is reduced by 50% in each self-pollination cycle [2]. In this study, 82% of homozygosity was found for the 10 SSR loci analyzed in the 24 accessions of black corn, which shows how the heterozygosity was reduced as a result of the two consecutive self pollinations. The main objective of self-pollination is to reduce the heterozygosity [29]. As a result, the lines had reduced the expression of different characteristics. No relationship was found between morphological and molecular distribution in the dendograms. The reason for this might be the limited number of loci and accessions analyzed in this study. Moreover, the loci examined were not necessarily related to the morphological traits. Vaz et al [11] found that traits such as plant height, ear insertion height and type of kernel were not related with the variation detected by 15 microsatellite markers. As in the present study, Vaz et al [11] also used primers based on genomic position and not on primers that targeted genes related to morphological traits [2].

Summarizing, the black corn S2 lines analyzed in this study showed an intermediate level of variability, both morphologically and molecularly, which potentially opens the possibility of finding adequate parents for the developing of new varieties with enhanced characteristics. Especially interesting was the finding of a wide range of variation in anthocyanin content, which eventually will make it possible to combine the genes contributing to this trait in one variety. Increasing the sample size in future studies will contribute to completing the spectrum of genetic variability available in black corn varieties of Ecuador.

Acknowledgements

This study was financially supported through a Small Grant by Universidad San Francisco de Quito. We would like to thank Valeria Ochoa, PhD, for her assistance in the spectrophotometry measurements for anthocyanin content in our samples, as well as Bernardo Gutiérrez for his contributions for the writing of this paper. Also, we would like to thank Viviana Jaramillo for reading this manuscript and the research group of the Plant Biotechnology Laboratory at Universidad San Francisco de Quito.

References

- [1] Acquaah, G. 2007. "Principles of Plant Genetics and Breeding", Blackwell Publishing: Oxford.
- [2] Sleper, D. and J., P. 2006. "Breeding Field Crops", Fifth. Blackwell Publishing: Iowa.
- [3] Timothy, H.W., Grant, V., Terregnoza, M., Sarrio, D., and Varela, D. 1996. "Razas de maíz en Ecuador", Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá, Colombia.
- [4] Yáñez, C., Sánchez, V., Caicedo, M., Zambrano, J., Franco, J., and Taba, S. 2004. "La Colección Núcleo de los Recursos Genéticos de Maíces de Altura Ecuatorianos", En XX Reunión Latinoamericana de Maíz. Memorias. Lima, Perú.
- [5] Pedreschi, R. and Cisneros-Zevallos 2006. "Antimutagenic and Antioxidant Properties of Phenolic Fractions from Andean Purple Corn (*Zea mays L.*)". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 4557–4567.
- [6] Zhang, W. and Furusaki, S. 1999. "Production of Anthocyanins by Plant Cell Cultures". *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 4, 231–252.
- [7] Moyer, R.A., Hummer, K.E., Finn, C.E., Frei, B., and Wrolstad, R.E. 2002. "Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: Vaccinium, Rubus, and Ribes". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 519–525.
- [8] Franco, J., Crossa, J., Ribaut, J., Betran, J., Warburton, M., and Khairallah, M. 2001. "A method for combining molecular markers and phenotypic attributes for classifying plant genotypes". *Theor. Appl. Genet.* 103, 944–952.
- [9] Gethi, J., Labate, J., Lamkey, K., Smith, M., and Kresovich, S. 2002. "SSR Variation in Important U.S Maize Inbred lines.". *Crop Sci.* 42, 951–957.
- [10] Souza, S., Carpentieri-Pípolo, P., Ruas, C., Carvahlo, V., Ruas, P., and Gerage, A. 2008. "Comparative Analysis of Genetic Diversity Among the Maize Inbred Lines (*Zea mays L.*) obtained by RAPD and SSR Markers". *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 1, 183–192.
- [11] Vaz-Patto, M., Satovic, Z., Pego, S., and Fevereiro, P. 2004. "Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers". *Euphytica*. 137, 63–72.
- [12] Carvalho, M., Ganança, J., Ivo, A., Nélia, S., Santos, T., Vieira, M., and Motto, M. 2008. "Evaluation of the maize (*Zea mays L.*) diversity on the Archipelago of Madeira". *Genet Resour Crop Evol.* 55, 221–233.
- [13] Reif, J., Melchinger, A., Xia, X., Warburton, M., Hoisington, D., Vasal, S., Srinivasan, S., Bohn, M., and Frisch, M. 2003. "Genetic Distance Base on Simple Sequence Repeats and Heterosis in Tropical Maize Populations". *Crop Sci.* 43, 1275–1282.
- [14] Xu, Su-Xia, Jie Liu and Gong-She Liu. 2004. "The use of SSRs for predicting the hybrid yield and yield heterosis in 15 key inbred lines of Chinese maize". *Hereditas*. 141, 207–215.
- [15] Warburton, M., Xia, X., Crossa, J., Franco, J., Melchinger, A., Frisch, M., Bohn, M., and Hoisington, D. 2002. "Genetic Characterization of CIMMYT Inbred Maize Lines and Open Pollinated Populations Using Large Scale Fingerprinting Methods". *Crop Sci.* 42.
- [16] Vigouroux, Y., Jaqueth, J., Matsuoka, Y., Smith, O., Beavis, W., Smith, S., and Doebley, J. 2002. "Rate and Pattern of Mutations at Microsatellite Loci in Maize". *Mol. Biol. Evol.* 8, 1251–1260.
- [17] Caicedo, M., Vaca, R., Caviedes, M., Yanez, C., and Heredia, J. 2004. "Efecto de la Endogamia sobre el Rendimiento de una población mejorada de maíz amarillo duro para la sierra ecuatoriana", En XX Reunión Latinoamericana de Maíz. Memorias. Lima, Perú.
- [18] Gamarra, G. and Sevilla, R. 2004. "Ganancia genética por selección mazorca–hilera modificada en tres poblaciones de maíz amarillo", En XX Reunión Latinoamericana de Maíz. Memorias. Lima, Perú.

- [19] INIAP 2003. *Catálogo de Recursos Genéticos de Maíces de Altura Ecuatorianos*, Quito, Ecuador.
- [20] Shagai-Maroff, M., Soliman, K., Jorgensen, R., and Al-lard, R. 1984. "Ribosomal DNA space-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics". *Proc. Nac. Acad. Sci.* 81, 8014–8018.
- [21] Benbouza, H., Jacquemin, J., Baudoin, J., and Mergeai, G. 2006. "Optimization of reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR marker in polyacrylamide gels". *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2, 77–81.
- [22] Rohlf, F. 1992. "*NTSYS-pc: Numerical and multivariate analysis system*", Stony Brook, Ny: Department Ecology and Evolution, State University of New York.
- [23] Jones, E., Sullivan, H., and Bhatramakki, D. 2007. "A comparison of simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism marker technologies for the genotypic analysis of mazi (*Zea mays L.*)". *Theor Appl. Genet.* 115, 361–371.
- [24] Enoki, H., Sato, H., and Koinuma, K. 2002. "SSR analysis of genetic diversity among maize inbred lines adapted to cold regions of Japan". *Theor Appl. Genet.* 104, 1270–1277.
- [25] Smith, J., Chin, E., Shu, H., Smith, O., Wall, S., Senior, M., Mitchell, S., Kresovich, S., and Ziegler, J. 1997. "An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays L.*): comparisons with data from RFLPs and pedigree". *Theor Appl Genet.* 95, 163–173.
- [26] Senior, M., Murphy, J., Goodman, M., and Stuber, C. 1998. "Utility of SSRs for Determining Genetic Similarities and Relationships in Maize Using an Agarose Gel System". *Crop Sci.* 38, 1088–1098.
- [27] Legesse, B., Myburg, A., Pixley, K., and Botha, A. 2007. "Genetic diversity of African maize inbred lines revealed by SSR markers". *Hereditas.* 144, 10–17.
- [28] Ramírez, E.R., Timothy, D.H., Díaz, B.E., and Grant, U.J. 1960. "Races of maize in Bolivia". *National Academy of Sciences, National Research Council.* 747.
- [29] Fernández, H., San Vicente, F., Marín, C., and Torrealba, D. 2006. "Determinación de la relación genética entre líneas de maíz usando marcadores SSR". *Agronomía Trop.* 56, 643–650.
- [30] Hartings, H., Berardo, N., Mazzinelli, G., Valoti, P., Verderio, A., and Motto, M. 2008. "Assessment of genetic diversity and relationship among maize (*Zea mays L.*) Italian landraces by morphological traits and AFLP profiling". *Theor Appl Genet.* 117, 831–842.
- [31] Sevilla, R., Manrique, A., Sánchez, H., and Nakaodo, J. 1997. "*Heterosis en maíces harinosos de la Región Alta Andina*", En IV Reunión Latinoamericana y XVII Reunión de la Zona Andina de Investigaciones en Maíz. Memorias. Cartagena, Colombia.
- [32] Mejía, E., Ceballos, H., Navarro, L., DeLeón, C., Salazar, F., and Arias, M. 1999. "*Heterosis y aptitud combinatoria entre líneas endogámicas de maíz contrastantes por su reacción a suelos ácidos*", En Memorias XVIII Reunión Latinoamericana de Maíz. Minas Gerais, Brasil.

Puncture test as an additional qualifying index of control on pineapple, mango and cassava.

S. Santacruz^{1*} P. Pólit²

¹Colegio de Agricultura, Alimentos y Nutrición, Universidad San Francisco de Quito.

Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador.

²Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología, Escuela Politécnica Nacional
P.O. Box 17012759 Quito, Ecuador.

Autor principal/Corresponding author e-mail: stalin.santacruz@gmail.com

Edited por/Edited by: E. Dueno, Ph.D.

Recibido/Received: 03/20/2012. Aceptado/Accepted: 05/25/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

Mango and pineapple fruits together with cassava roots were subjected to different post-harvesting processing in order to increase their shelf life. Mechanically driven instrument (Lloyd machine), hand operated penetrometer and sensory analyses were used to study the changes produced on the three samples along the storage, establishing correlations with qualifying indexes. Results of firmness of mango fruits obtained by using a Lloyd have a poor correlation with °Brix and a good one with hand operated penetrometer ($r^2 = 0.97$). No correlation was found between puncture results of firmness obtained by a Lloyd machine with either the internal colour or firmness of sensory analyses of mango. Instrumental measurements could be used as an additional tool to control maturity for mango fruits. No correlation was found between firmness obtained by a Lloyd machine, with quality parameters or maturity indexes obtained by sensory evaluation of pineapple. A good correlation was found between firmness and fibrosity determined by sensory evaluation with firmness determined by a Lloyd machine for different cassava genotypes ($r^2 = 0.9$). No correlation was found between the firmness obtained by a Lloyd and firmness determined by sensory analyses when one cassava genotype was used. No correlation was found between a hand operated penetrometer and a Lloyd on pineapple and cassava.

Keywords. puncture test, firmness, mango, pineapple, cassava, maturity index

Resumen

Frutas como mango y piña conjuntamente con raíces de yuca fueron sometidas a diferentes tratamientos pos cosecha con el objeto de incrementar su tiempo de vida. Instrumentos de análisis de textura como la máquina Lloyd y penetrómetros manuales conjuntamente con análisis sensorial se emplearon para estudiar los cambios producidos en los tres materiales durante su almacenamiento y establecer al mismo tiempo correlaciones con índices de madurez. Resultados de la firmeza de mango obtenidos mediante una máquina Lloyd tuvieron pobre correlación con °Brix y una buena correlación con penetrómetros manuales ($r^2 = 0.97$). No se encontró correlación entre los valores de firmeza obtenidos con análisis de penetración en una máquina Lloyd con el color interno del mango ni tampoco con la firmeza obtenida por análisis sensorial de la fruta. Los análisis instrumentales pueden ser utilizados como una herramienta adicional para el control de madurez en mango. No se encontró correlación entre la firmeza obtenida por una máquina Lloyd con índices de madurez obtenidos por evaluación sensorial en piña. Una buena correlación fue obtenida entre la firmeza y la fibrosidad obtenidas sensorialmente con la firmeza determinada por una máquina Lloyd para diferentes genotipos de yuca ($r^2 = 0.9$). No se obtuvo correlación entre la firmeza obtenida por una máquina Lloyd y la firmeza determinada sensorialmente cuando un solo genotipo de yuca fue analizado. No se encontró correlación entre los resultados obtenidos por el penetrómetro manual y la máquina Lloyd en piña y en yuca.

Palabras Clave. Análisis de penetración, firmeza, mango, piña, yuca, índices de madurez

Introduction

The world economy has grown as a result of and international trade between Asia, Africa, Europe and Latin

America. As a result of this change, Latin America has shown an increased in the production of agricultural products as flowers, fruits and vegetables (fresh and pro-

ISSN 1390-5384



cessed).

The losses of agricultural products due to the lack or absence of post harvesting techniques are between 15 to 50% in developing countries, whereas they are between 5 and 25% in developed countries, where post harvesting techniques have been used. However of the obvious advantage of using such techniques, these are not widely used in developing countries. Ecuador is not an exception and the production of mango and pineapple among others requires technological processes to avoid losses after harvesting.

Textural measurements performed by hand or by sensory evaluation have been used widely to evaluate the quality of fruits. Additional parameters to evaluate the maturity of fruits are brix, acidity and colour. Puncture tests are a useful index of quality and maturity on pears, peaches and strawberry fruits [1, 2, 3].

The present paper presents a study of the possible correlation between firmness obtained by puncture test of both hand and mechanically driven instruments with maturity indexes and sensory parameters of mango, pineapple and cassava subjected to different post-harvesting techniques and storing temperatures.

Methods and Materials

Materials

Mango

Mangoes of the varieties Tommy Atkins and Haden from Puná Island, Ecuador were used for the study. Mangoes of two maturity indexes, minimal physiological maturity and maximum physiological maturity, were used. The mangoes were subjected to the following post-harvesting treatments:

- Hydro thermal treatments.
- Covering by using plastic films: low density polyethylene, width 15 and 30 μm ; and Criovac D-995
- Covering with Britex wax
- Bath in calcium solution

After the post-harvesting treatment was given, the fruits were stored at refrigeration conditions for different times, followed by storage at 25°C for 5 days.

Pineapple

Pineapple fruits, variety Cayena Champaca from Santo Domingo de los Colorados, Ecuador were used during the study. The fruits were transported and subjected to the following treatments:

- Pre cooling by using air flow at 2° and 10°C, and normal cooling at 8°C

- Covering by using 5% Tandem wax; adding a fungicide, 0.5% Bayleton.
- Covering by using plastic films: low-density polyethylene, with either 4 or 200 holes.

After the post-harvesting treatment was given the pineapples were stored at refrigeration conditions for different times, followed by storage at 20°C for 7 days.

Cassava

The following four cassava genotypes were used: MCOL 1468, SG 107-35, and CM 2177-2, identified by CIAT, Cali, Colombia (Centro Internacional de Agricultura Tropical), and the Escansela genotype (criolla) from the Ecuadorian market.

Cassava samples with good morphological characteristics and less susceptibility to physiological damage were covered with wax at 120°C and stored at 8°C and 92% moisture.

Methods

The soluble solids content (° Brix) was performed at 20 °C by using an ABBE refractometer. Translucidity and colour of mangoes was done according to [4].

Firmness studies were performed by using puncture tests with a Lloyd machine and a hand operated penetrometer. Puncture tests were done at duplicate on each sample. Mango samples were obtained from the sides of a peeled fruit. When pineapple was analysed, the central part of the fruit was used. In all the cases removing of the skin was done before the puncturing test was performed [5]. Taking into account one treatment only, two samples for each day of storage were used for the study, for both mango and pineapple. Firmness studies of cassava samples were performed by using a Lloyd machine with a compression-extrusion (Kramer cell). Analyses were done in duplicate for each cassava variety. Cassava samples were peeled by hand and boiled before the analyses of firmness were performed. Cassava samples were obtained from the central part of a cassava root. For each sample, half of the sample was used for the sensory analyses and the other half for the instrumental analyses.

Hand operated penetrometer together with a Lloyd machine were used on the analyses. Hand operated penetrometer, 5 and 15-kgf scale, McCormick, with a dial, a spring and round tips of 6 and 8 mm diameter for mango and pineapple, respectively.

A Lloyd machine (Lloyd Instruments Ltd., Hampshire, United Kingdom) together with round tips of 6 and 8 mm diameter, was used for analyses of mango and pineapple respectively. A depth of penetration of 30 mm and speed of travel 20 mm/min were used for mango and pineapple. The yield point was used to evaluate the firmness on both fruits. A Kramer cell operated at a speed of 10mm/min was used for the analyses of cooked

cassava, and the yield point was used to evaluate the firmness of the sample. The average of two fracturability measurements was used for further analyses.

A group of 8 semi-trained persons performed the sensory analyses. The firmness of fruits and cassava samples was determined using a lineal scale. The firmness was evaluated as the necessary force to cut the sample with the teeth. Fibrosity of cassava was evaluated as the presence of fibres on the cooked samples.

Results were analysed by using STATGRAPH software in order to obtain the correlations between the parameters.

Results and Discussion

Mango

Results of firmness obtained by using a Lloyd machine with those obtained with a hand operated penetrometer had a high correlation, $r^2 = 0.97$. A poor correlation was found between measurements obtained with a Lloyd machine and brix and with internal colour, with r^2 of 0.75 and 0.42, respectively (Table 1).

	Correlation between	r^2
Mango	Lloyd - penetrometer	0.97
	Lloyd - internal colour	0.42
	Lloyd - Brix	0.75
Pineapple	Lloyd - penetrometer	0.60
	Lloyd - sensory	0.02
	Lloyd - translucidity	0.25

Table 1: Correlation between firmness determined by a Lloyd machine with hand operated penetrometer and maturity indexes of mango and pineapple

No correlation was found between puncture results of firmness obtained from a Lloyd machine with the internal colour or firmness of sensory analyses (Table 1).

Measurements of firmness determined by either hand operated penetrometer or mechanically driven instruments (Lloyd machine) could be used as an additional index of maturity for mango fruits.

Pineapple

No correlation was found between firmness obtained from a Lloyd machine with firmness obtained by sensory evaluation, with firmness of a hand operated penetrometer or with translucidity (Table 1).

Instrumental measurements are not a good index to evaluate the maturity of pineapple. The lack of correlation could be due to the variability among the small fruits contained on each pineapple (Table 1).

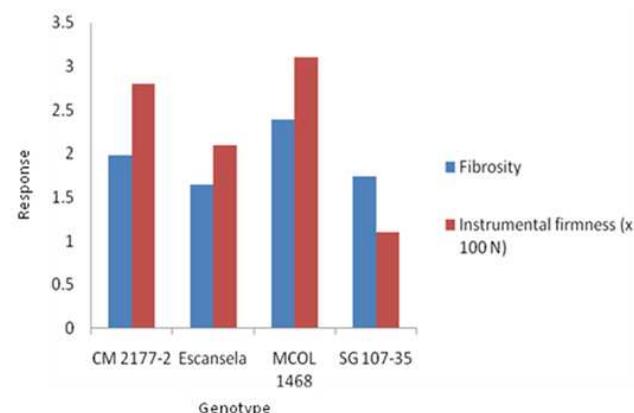


Figure 1: Firmness determined by a Lloyd machine and fibrosity determined by sensory analyses of four cassava genotypes

Cassava

The figure 1 shows the results of firmness and fibrosity of four cassava genotypes obtained by a Lloyd machine and sensory analyses, respectively. A good correlation was found between firmness and fibrosity with regression coefficients of 0.9. The Ecuadorian variety has the lowest firmness and fibrosity among the four genotypes.

Conclusions

Firmness determined by using a Lloyd machine could be used as an additional tool to control maturity of mango fruits and cassava roots. However the maturity control of cassava is valid only when different cassava genotypes are used.

References

- [1] Ourecky, D. and Bourne, M. 1968. "Measurement of Strawberry Texture with an Instron Machine." *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 93, 317-325
- [2] Salunkhe, E. and Norton, R. 1966. "Evaluation of Variety, Maturity, and Storage on the Processing Quality of Utah-Grown Fruits, Special Report 20, Utah AG." *Experiment Station*.
- [3] Bourne, M. 1965. "Studies on Punch Testing of Apples." *Food Technology*, 19, 113-115.
- [4] Paull, R. and Chen, W. 1997. "Minimal Processing of Papaya (*Carica Papaya* L.) and the Physiology of Halved Fruit." *Postharvest Biology and Technology*, 12, 93-99.
- [5] Bourne, M. 1974. "Textural Changes in Ripening Peaches." *J. Can. Inst. Food Sci. Technol.*, 7, 11-15.

AVANCES

EN CIENCIAS E INGENIERÍAS

ARTÍCULO/ARTICLE

SECCIÓN/SECTION C

Estudio de factibilidad para la industrialización del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) como fuente de fructooligosacáridos (FOS) para la aplicación en yogur tipo II en Cayambe

Roberto Cadena¹ Stalin Santacruz^{1*}

¹Colegio de Agricultura, Alimentos y Nutrición (CAAN), Universidad San Francisco de Quito

Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador

Autor principal/Corresponding author e-mail: stalin.santacruz@gmail.com

Edited por/Edited by: E. Dueno, Ph.D.

Recibido/Received: 03/15/2012. Aceptado/Accepted: 04/25/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 6/30/2012.

Abstract

For the feasibility study of the industrialization of yacon, laboratory tests were performed by mixing yacon and yogurt. Yacon was added in three different ways, chopped, liquid or extract. The mixture which contained yacon extract had the best organoleptic characteristics. This prototype met the 2 % required by the standard FOS INEN. The financial analysis revealed and TIR of 60 %, a VAN of \$ 416.326,10 and a benefit/ cost ratio of 1,53 taking into account the five year project.

Keywords. Yacón, fructooligosaccharides, feasibility study, *Smallanthus sonchifolius*

Resumen

Para el estudio de factibilidad de la industrialización del yacón se realizaron pruebas a nivel de laboratorio donde el yacón fue adicionado al yogur de tres maneras distintas, en trozos, licuado o en extracto. El prototipo que contenía extracto de yacón fue el que mejores características organolépticas presentó. Este prototipo cumplió con el 2 % de FOS requerido por la norma INEN. El análisis financiero reveló un TIR del 60 %, un VAN de \$ 416.326,10 y una relación beneficio/costo de 1,53 tomando en cuenta los cinco años de duración del proyecto.

Palabras Clave. Yacón, fructooligosacáridos, estudio de factibilidad, *Smallanthus sonchifolius*

Introducción

El yacón (*Smallanthus sonchifolius*) es una planta perteneciente a la familia de las asteráceas, domesticada en los Andes desde la época preincaica. A diferencia de la mayor parte de raíces y tubérculos que almacenan almidón, el yacón contiene una cantidad importante de fructooligosacáridos (FOS). Estos FOS son azúcares lentamente metabolizados en el tracto digestivo y aportan pocas calorías al organismo. Esta característica le hace interesante para ser utilizado por diabéticos ya que no elevan el nivel de glucosa en la sangre [1].

Diferentes estudios han asociado las siguientes propiedades a un consumo elevado de FOS: reduce el nivel de triglicéridos y colesterol, mejora la asimilación del calcio, fortalece la respuesta del sistema inmunológico, previene el estreñimiento, reduce el riesgo de cáncer de colon y restaura la flora intestinal [1, 2, 3]. Sin embargo, la mayoría de estos efectos han sido observados en animales de laboratorio mientras que la mayor parte de

estudios clínicos en humanos han dado resultados frecuentemente contradictorios.

El sabor neutro del yacón permite que este producto pueda ser utilizado en la industria como una fuente de FOS [1].

El yogur es uno de los productos representativos y económicamente más importantes entre las leches fermentadas [4]. De acuerdo a investigaciones de mercado [5] en los años 2007 y 2008 salieron a la venta en el mercado ecuatoriano 207 y 301 productos nuevos respectivamente. De ellos, los productos con ingredientes funcionales correspondieron a 11 y 9 respectivamente. Debido a la baja oferta de productos con atributos que benefician la salud en el mercado ecuatoriano, este proyecto se basa en crear una alternativa innovadora de negocio que beneficie a un círculo productivo desde pequeños agricultores con la introducción del cultivo yacón hasta empresas que puedan aprovechar esa materia prima para fortificar varios de sus productos alimenticios. La



aplicación de los FOS a un producto lácteo acidificado que contenga bifidobacterias con características benéficas, dará como resultado un producto simbiótico con fibras solubles y bacterias pro-bióticas, que potenciarán sus funcionalidades en el organismo humano.

De acuerdo con Garrido (2008) [5] que realiza estudios de mercado en el Ecuador en el 2007 y 2008 salieron a la venta 207 y 301 nuevos productos, respectivamente, de los cuales en yogur light y productos con ingredientes funcionales correspondieron a 11 y 9 respectivamente.

Materiales y Métodos

El yacón fue cultivado en la granja experimental de la USFQ y correspondió a las variedades del INIAP 1239 y 1240.

Elaboración del extracto de yacón

Se realiza un proceso de selección del yacón donde se descartan las raíces menores a 50 g. Las raíces se lavan con agua y se sumergen posteriormente en una solución de 200 ppm de hipoclorito de sodio por 5 minutos. Se pella el yacón utilizando peladores domésticos de papa. Se utiliza una picadora de fruta tipo industrial para obtener pequeños trozos de 2 cm x 2 cm x 2 cm, estos se reciben en agua que contiene 1,3 g de ácido ascórbico por cada kilogramo de yacón [6]. Se obtiene el jugo de yacón mediante un extractor de jugos al que se adiciona 0,13 % de ácido ascórbico. Se filtra el jugo con un filtro prensa o mallas con un diámetro de poro menor a 100 μm . Se calienta el jugo hasta una temperatura de 75°C por 10 minutos y se envasa en fundas de polietileno de baja densidad, las que pueden ser almacenadas una temperatura de aproximadamente 4°C por 15 días sin ninguna alteración.

Prototipos

La elaboración de los prototipos se realizó variando la presentación del yacón en el yogur. Se planificaron 3 formas de presentación, esto es yacón en trozos, yacón licuado y extracto de yacón. El análisis de los prototipos se lo realizó con la participación de un grupo focal conformado por 3 personas. A cada uno de los miembros del grupo focal se le entregó una muestra del prototipo y se le solicitó evaluar las características organolépticas del mismo. Todos los prototipos elaborados cumplieron con la norma INEN 2395: 2009 [7] además de que se controló de que el contenido de FOS sea máximo del 2 % [2, 3].

Prototipo 1: Yogur con trozos de yacón: En este prototipo se utilizó una mezcla de una base de yogur tipo II a la que se adicionó 15-20 % de trozos de yacón

Prototipo 2: Yogur con yacón licuado: En este prototipo se adicionó 15-20 % de trozos de yacón a la base de yogur tipo II. La mezcla fue posteriormente homogenizada mediante la utilización de una licuadora.

Prototipo 3: Yogur con extracto de yacón: Se realizó una mezcla que contuvo 24 % de extracto de yacón y 76 % de la base de yogur tipo II.

Investigación exploratoria del mercado

Se la realizó en las zonas urbanas de la provincia de Pichincha a un total de 100 personas. La edad de los encuestados fue entre los 16 y 60 años, el 58 % perteneció al género femenino y 42 % al género masculino, todos ellos pertenecientes a un grupo socio-económico medio-alto. Se elaboraron diez preguntas con respuestas de si o no. Las preguntas se enfocaron básicamente a establecer la frecuencia de consumo de yogurt, el conocimiento de los encuestados sobre productos con ingredientes funcionales y la intención de pagar más por un producto que contenga ingredientes funcionales. Las respuestas de cada pregunta se tabularon y se representaron en diagramas de barras para su interpretación.

Estudio Financiero

Se determinaron tres indicadores financieros TIRF, VAN, y relación beneficio costo. Los valores que fueron utilizados para los cálculos y la realización del análisis financiero del año 2009 fueron: tasa de interés activa en el Ecuador del 9,11 %, tasa de interés corporativo anual de 9,5 % como tasa de descuento. Se consideró un crecimiento de la población anual del 1,49 % [8].

Resultados y Discusión

Investigación exploratoria del mercado

De acuerdo con el estudio de mercado, la penetración del yogur en el mercado nacional depende también de la capacidad adquisitiva de una familia, según el INEC, cuando los ingresos de un hogar son mayores, mayor es el consumo de este producto [8]. Según el mismo informe el yogur ocupa el puesto 21 dentro de los 51 productos alimenticios más importantes que consumen las familias ecuatorianas de mayores ingresos económicos. El yogur ha conseguido situarse entre los productos más consumidos, aunque es menos prioritario que el pan, arroz, vario tipos de carne, queso, gaseosas, huevos y papas. La investigación exploratoria del mercado dio como resultado que el 38 % de los encuestados consume yogurt entre 2 y 3 veces al mes. El 63 % de los encuestados identifican los productos que contienen ingredientes funcionales, y finalmente el 68 % de los consumidores estarían dispuestos a pagar más por un producto con ingredientes que ayuden a reforzar el sistema inmunológico de las personas.

Resultados de los prototipos

El prototipo más aceptado por sus buenas características organolépticas fue el que contenía extracto de yacón. El mismo que según los análisis físico químicos obtuvo los siguientes valores: pH 4,27, acidez titulable de 85° Dornic, Grasa 2,5 % y 17 grados Brix. Según el análisis organoléptico, se determinó el siguiente perfil

del producto: color claro, olor lácteo moderado; sabor lácteo y dulzor moderado; acidez muy ligera y textura ligera.

Resultados del estudio financiero

El total de la inversión del proyecto tiene un monto de \$ 648.139, la misma que será solventada en un 44,48 % con capital propio y 55,53 % mediante un préstamo bancario a un plazo de 5 años, tal como se puede observar en la tabla 1.

En la tabla 2 se puede apreciar el total de ingresos así como la presentación del producto al consumidor conjuntamente con el total de producción. Los valores fueron calculados considerando un incremento de la producción del 4 % anual.

En la Tabla 3 se puede apreciar el flujo de caja para el presente proyecto. Se puede apreciar un incremento de la utilidad neta lo largo de los 5 años de análisis del proyecto

La tasa interna de retorno financiero (TIRF) del proyecto es de 60 %, esto indica que si el dinero de la inversión inicial fuera colocado en una entidad financiera, el rendimiento de este sería menor que el obtenido en el proyecto. Los valores actuales netos (VAN) permiten calcular el valor presente de un número de flujos de caja futuros con una tasa de descuento de 9,5 %. El VAN para este proyecto es de \$ 416.326,10. La relación beneficio-costo del proyecto es de 2,53 (tabla 4), que permite diagnosticar que por cada dólar que se invierte en este proyecto se obtiene un retorno económico de \$ 1,53.

El punto de equilibrio (tabla 5) está determinando la cantidad de producción requerida para no ganar ni perder dinero. Estas cifras representan el 53 % de la producción normal estimada

Conclusiones

El yogur simbiótico representa una interesante opción de negocio que promete buenos réditos económicos, ya que es un producto nuevo con respecto a las alternativas del mercado local. La explotación del yacón, crearía nuevas alternativas de negocios más estables para los pequeños agricultores de la zona. En el presente estudio se encontró que la manera óptima de incorporación del yacón en el yogur fue mediante un jugo rico en FOS previamente obtenido por extracción acuosa. El presente proyecto resulta rentable porque los indicadores financieros demuestran su viabilidad: TIRF (60 %), VAN (\$ 416.326,10) y relación beneficio-costo (2,53).

Referencias

- [1] I., M., Hermann, M., and Berner, T. 2004. "El Potencial del Yacón en la Salud y Nutrición". *International Potato Center (CIP)*. Obtenido y disponible en línea: <http://www.cipotato.org/artc/cipcrops/factsheetyacon.pdf>.
- [2] Sangeetha P., Ramesh M. and Prapulla S 2005. "Recent Trends in the Microbial Production, Analysis and Application of Fructooligosaccharides". *Trends in Food Science and Technology*. 16, 442–457.
- [3] Fanaro S., Ntherboehm G., Garssen J., Bernd F. and Vi- gi V. 2005. "Galacto-oligosaccharides and Long-chain Fructo-oligosaccharides as Prebiotics in Infant Formulas: A Review" *Acta Paediatrica*.. 94, 22–26.
- [4] Tamme A. and Robinson R. 1991. "Yogurt Ciencia y Tecnología" *Acribia*, España.
- [5] Garrido, R. 2008. "Lanzamiento de Nuevos Productos". *IPSA Researchers. Revista de Investigación de mercados*, Noviembre - Diciembre, Ecuador
- [6] Rivera, D. and Manrique 2005. "Zumo de Ya-cón - Ficha Técnica". *Centro Internacional de la Papa (CIP)*. Obtenido y disponible en línea: <http://www.cipotato.org/artc/cipcrops/fichazumoyacon.pdf>. Fecha de consulta: noviembre 2010
- [7] Norma INEN NTE INEN 2395:2009
- [8] Instituto Nacional de Estadística y Censos. INEC. 2010. Obtenido y disponible en línea: <http://www.inec.gov.ec/home>. Fecha de consulta: noviembre 2010.

Table 1: Inversión total del proyecto

INVERSIÓN TOTAL	VALOR(USD)	%
Préstamo	350.000	54 %
Aporte Propio	298.139	46 %
Total	648.139	100 %

Table 2: Producción e ingresos de yogur simbiótico por año

CANTIDAD DE ENVASES DE YOGUR PRODUCIDAS POR AÑO					
Referencia	Precio (USD)	1	2	3	4
Yogur 200 g	0,55	296.683	308.551	320.893	333.729
Yogur 1000 g	2,37	257.646	267.952	278.670	289.817
Yogur 2000 g	4,33	366.951	381.629	396.894	412.770
Total kg de producción	1.050.885	1.092.920	1.136.636	1.182.102	1.229.386
Total de ingresos (USD)	2.436.636,8	2.533.823,6	2.635.176,6	2.740.583,6	2.850.206,97

Table 3: Flujo de caja

Detalle	Años				
	0	1	2	3	4
Ingresos	2.436.636,8	2.533.823,61	2.635.176,56	2.740.583,62	2.580.206,97
Costos variables	-1.956.074	-2.034.316,68	-2.115.689,35	-2.200.316,92	-2.288.329,60
Costos fijos	-65.003,2	-67.603,28	-70.307,41	-73.119,71	-76.044,50
Gastos administrativos	-97.504,7	-101.404,92	-105.461,12	-109.679,56	-114.066,74
Interés del préstamo	-33.250,00	-27.749,24	-21.725,91	-15.130,35	-7.908,23
Depreciación	-20.450,00	-20.450,00	-20.450,00	-20.450,00	-20.450,00
Utilidad antes del impuesto	264.354,9	282.299,49	301.542,78	321.887,07	343.407,90
Impuesto	-49.238,2	-55.146,82	-61.881,97	-69.002,48	-76.534,76
Utilidad neta	216.335,9	227.152,67	239.660,80	252.884,60	266.873,13
Depreciación	20.450,00	20.450,00	20.450,00	20.450,00	20.450,00
Inversión	-215.000,00				
Capital de trabajo	-433.139,76				
Préstamo	350.000,00				
Amortización		-57.902,7	-63.403,51	-69.426,84	-76.022,40
Utilidad + depreciación	-298.139,8	178.883,2	184.199,16	190.683,96	197.312,2
					204.078,61

Table 4: TIRF, VAN y relación beneficio costo

TIRF	60 %
VAN (USD)	416.326,10
B/C* (USD)	2,53

*relación beneficio costo

Table 5: Punto de equilibrio

PUNTO DE EQUILIBRIO (USD)	AÑOS				
	1	2	3	4	5
kg de yogur	1.090.799	1.101.817,22	1.105.555,73	1.107.763,30	1.108.219,05

Sistema de Localización en Interiores por Ultrasonido

Pablo Chávez García^{1*}

¹Colegio de Ciencias e Ingeniería – El Politécnico–, Universidad San Francisco de Quito

Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: pablo.a.chavez.g@gmail.com

Editado por/Edited by: R. Játiva, M.Sc.

Recibido/Received: 06/01/2012. Aceptado/Accepted: 06/19/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

This article explain the development of a prototype for tracking system, which is made for low cost, and for closed environments such as offices and rooms with low density of obstacles. The position is obtained from pseudo-ranges, which are calculated from the time taken by the ultrasound signal to travel from a known-point to the receiver. This process is repeated continuously until the receiver has received three pseudoranges, then the process of estimation starts based on the trilateration algorithm. [1]

Keywords. Time Of Arrival (TOA), Global Positioning System (GPS); Synchronization; Ultrasound (US); Radiofrequency (RF); Trilateration.

Resumen

En este artículo trata sobre el desarrollo del prototipo de un sistema de localización, de bajo costos, para ambientes cerrados tales como oficinas y habitaciones con baja densidad de obstáculos. La estimación de la posición se obtiene a partir de pseudo-rangos calculados del tiempo empleado por la señal sonora en viajar desde un punto conocido hacia el receptor. Este proceso se repite continuamente hasta que el receptor haya obtenido tres pseudo-rangos momento en el cual se inicia el proceso de estimación basado en el algoritmo de trilateración [1].

Palabras Clave. Tiempo de llegada (TOA), Sistema de Posicionamiento Global (GPS), Sincronización, Ultrasonido, Radiofrecuencia, Trilateración

Introducción

En la actualidad, los sistemas de localización se han establecido como una pieza esencial de la tecnología de vanguardia de última generación. Los teléfonos móviles actuales gozan de aplicaciones de localización, generalmente basadas en GPS, aunque es posible también estimar la posición de los suscriptores a partir del procesamiento de las señales intercambiadas con la red. El sistema GPS utiliza un conjunto de 21 satélites, los cuales emiten códigos de acceso que permiten determinar la distancia entre satélite y dispositivo a ser localizado usando el desfase entre los códigos que emite los satélites y los códigos que genera el receptor [2]. Cuando se han establecido al menos tres de estos pseudo-rangos, se inicia un proceso iterativo para estimar la ubicación del usuario, conocido como Matriz H. Si bien es cierto que las estimaciones basadas en GPS suelen ser las más exactas, debido a su capacidad de resolver la posición a partir de un conjunto determinado de ecuaciones, su problema radica en la falta de habilidad de operación

de estos sistemas en ambientes cerrados tales como edificios, casas, o cualquier otra estructura que obstruya la línea de visión directa que existe entre satélite y usuario.

Para solventar este problema, se han realizado numerosos estudios acerca de la localización en interiores y como resultado, se desarrollaron dos sistemas de localización por ultrasonido (US) conocidos como “The Bat Ultrasonic Location System” [3] y “The Cricket Location-SupportSystem” [4]. Cada uno de estos sistemas funciona con señales de ultrasonido y radiofrecuencia; sin embargo, utilizan diferentes tipos de administración de los pulsos ultrasónicos. Por ejemplo, el sistema Bat tiene una unidad central que emite de manera secuencial y ordenada los pulsos de US. Por otro lado, el sistema Cricket posee diferentes unidades independientes que emiten los pulsos de ultrasonido de manera aleatoria. El único inconveniente con esta administración es que pueden existir colisiones de información de radiofrecuencia, las cuales son enviados antes de la emisión de cada pulso, con otras unidades de administración. Para superar este



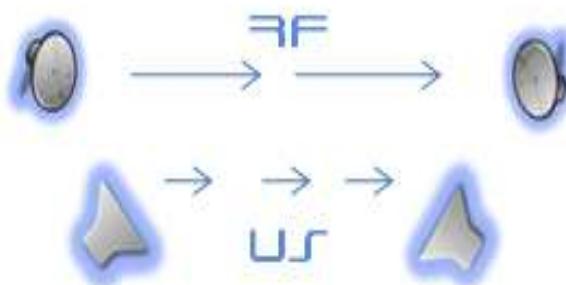


Figura 1: Funcionamiento de adquisición de sistemas de localización por ultrasonido.

problema, el sistema Cricket utiliza un tiempo de guarda, dentro del rango de los milisegundos, en el cual no se emite ninguna información de radiofrecuencia (RF) para evitar una eventual superposición y borrado de información [4].

El sistema de localización expuesto en este documento utiliza las mejores características de Cricket y Bat, dando como resultado un sistema de localización por ultrasonido de bajo costo y de buenas prestaciones para ambientes cerrados.

Metodología

Fundamentos y estrategia

El sistema GPS utiliza la diferencia de fase entre el código del transmisor y un código local de recepción para poder los pseudo-rangos; esto es la distancia entre el satélite y el usuario en línea de vista [2]. Dada la distancia entre la posición orbital de los satélites y el receptor en tierra, la estimación es posible con errores de hasta 5m. En forma análoga, si se utiliza una señal de ultrasonido como medio de medición de pseudo-rangos para interiores, el tiempo que tomaría en viajar a la onda hacia su destino podría contabilizarse sin ningún tipo de restricciones debido a que, la velocidad de propagación del sonido es de 343 ms/s a 20°C [5].

Para efectuar la medición de pseudo-rangos se requieren ciertas consideraciones que aseguren una operación óptima. Una de las consideraciones más importantes se refiere a la sincronización entre el transmisor y receptor. La sincronización establece el inicio del pulso y obliga al receptor a correr el temporizador, que contabiliza el tiempo que toma en llegar el pulso ultrasónico hacia el receptor, ver Figura 1. Cuando la temporización termina, la unidad de control y localización almacena dicho valor y prosigue con la adquisición de más datos provenientes de otros emisores de ultrasonido.

Una vez que la unidad de control y localización adquiere tres valores de pseudo-rangos; se inicia el proceso de estimación de la posición utilizando el algoritmo de trilateración expuesto en los posteriores apartados.

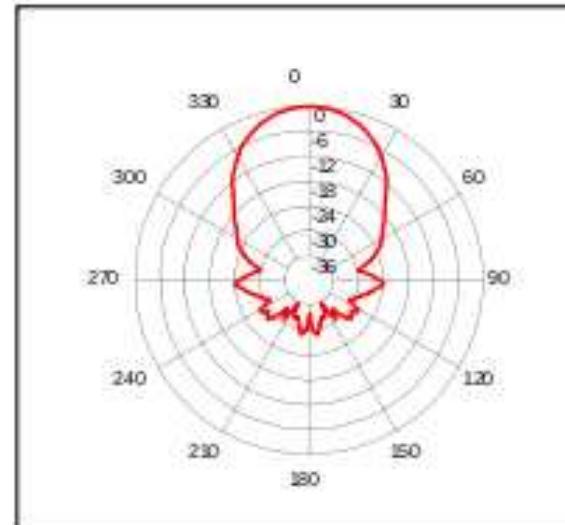


Figura 2: Lóbulo de radiación de los transductores de ultrasonido. La frecuencia de uso es de 40KHz.

Hardware e implementos

El sistema de localización en este proyecto busca ser lo más barato posible y que sus componentes se encuentren disponibles en el mercado. Por consiguiente, la mayor parte de los módulos diseñados son componentes analógicos y solo dos componentes son digitales, y que se usan para la transmisión y recepción de RF. Adicionalmente, se utilizaron dos módulos de radiofrecuencia de bajo costos en la banda no licenciada de 433 MHz para establecer los radio-enlaces entre los dispositivos. Para la parte de los módulos de transmisión de ultrasonido se utiliza un temporizador N555 en modo astable para conseguir una frecuencia nominal de 40KHz correspondiente al ultrasonido. Después de la etapa de oscilación, se tiene la etapa de amplificación de corriente con una configuración Darlington que se conecta a los transductores cerámicos de ultrasonido [6, 7]. Estos transductores son de uso común en aplicaciones de robótica, por lo que su lóbulo de radiación es de naturaleza directiva, como se observa en la Figura 2.

En el lado del receptor de ultrasonido tenemos tres etapas en su proceso. La primera etapa es la amplificación de la señal sonora con una ganancia total de 30dB seguida de un rectificador de medio puente el cual convierte la señal AC en DC para así; poder entrar a la etapa final de comparación. El comparador utiliza un voltaje ajustable que establece el umbral de recepción de la señal sonora.

Implementación

En la etapa de implementación deben tomarse en cuenta los protocolos de comunicación entre el transmisor y receptor para mantener la sincronía entre ambos; así como la activación de las estaciones de ultrasonido y la ejecución de un tiempo de espera.

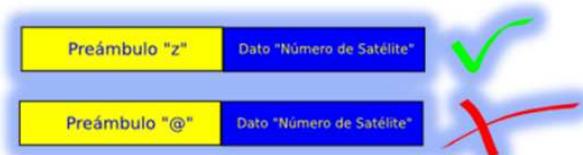


Figura 3: Trama de protocolo de comunicación de radiofrecuencia entre transmisor y receptor.

Protocolo de comunicación

La unidad de datos del protocolo está dividida en dos partes esenciales: el preámbulo y los datos, o información en sí. El preámbulo, dentro de la trama, cumple con la función de validar al receptor y asegurar que la información recibida sea verdadera y no producto del ruido u otros fenómenos. Ver Figura 3.

La información que contiene la trama ayuda a la identificación de cada emisor de ultrasonido. Por este motivo, podemos llamar a cada emisor “satélite” debido a que estos van a proporcionar los pseudo-rangos necesarios para estimar la posición.

Escritura de datos

Para la escritura de datos en el transmisor se utiliza un micro-controlador PIC16F84a, el cual envía los bits en un protocolo serial 8N1; es decir, 8 bits de información con un bit de parada para establecer la comunicación. La escritura de la comunicación serial viene dada por default en el lenguaje de programación de PICBASIC PRO y es enviada por un puerto del PIC hacia el dispositivo de RF, como última etapa. Como se mencionó, la trama esta formada por un preámbulo “Z” y la identificación del satélite, y es por este motivo que, el PIC envía encapsulado tanto el preámbulo como la información. Por otro lado, el receptor inicia la validación de la información de RF que le llega mediante la aceptación del preámbulo “Z” que se envía antes de los datos reales. Sin embargo, a nivel de hardware del PIC16F84a, los pines de entrada no gozan de una estructura independiente USART, por lo que la información que llega al pin se pierde si esta no esta en modo de lectura serial. Para mantener enlazado el receptor; es decir, para que no pierda información, se utilizó una sentencia nativa de PICBASIC PRO que es capaz de leer continuamente el puerto hasta encontrar el calificador “Z”. Ver Figura 4.

```
SEROUT2 TX, 16572, ["Z",DATO]
SERIN2 RX,16572,[ WAIT("Z"), NUMERO]
```

Figura 4: Comandos PICBASIC PRO para la escritura del protocolo de comunicación [8].

Activación de satélites

Los módulos transmisores de ultrasonido se encuentran inicialmente apagados. Esta condición inicial es de suma importancia ya que, si los satélites se encuentran en-

cendidos al mismo tiempo, las señales emitidas formarán un patrón de interferencias en el espacio de búsqueda creando zonas en donde existen interferencias destructivas. Por este motivo, los satélites se encienden de manera sincrónica, específicamente después de que los identificadores de los satélites sean enviados por radiofrecuencia. Los pulsos de activación de los satélites tiene una duración de 2 ms, el cual es suficiente para expandir la onda sonora hacia los alrededores; cubriendo así un área mayor. Cada pulso es enviado por diferentes puertos del PIC hacia la entrada de los módulos de ultrasonido.

Tiempo de espera

Cuando la onda sonora se propaga por el aire, esta toma cierta cantidad de tiempo en viajar hacia su objetivo. Sin embargo, en la práctica la onda de sonido enfrenta vario fenómenos según la naturaleza del medio; es decir, puede que la onda sea refractada, o reflejada; lo cual produce adquisiciones erróneas en el receptor [4]. Para reducir estos errores en adquisición, se utiliza un tiempo de guarda que queda definido por el número de bits y la tasa de baudios. En este caso, la tasa de baudios es de 4.8 Kbps y se envían 32 bytes de datos que dan como resultado 60 ms; tiempo suficiente para que la onda sonora se haya propagado completamente [4].

Interrupciones

Al finalizar la emisión de los datos de radiofrecuencia, el receptor habilita una interrupción global que sirve para determinar cuando el pulso de ultrasonido ha llegado al receptor. En el diseño, el puerto de entrada B4 sirve como fuente de interrupción y se activa mediante el bit 3 del registro INTCON del PIC [9]. Por ejemplo: INTCON = %10101000. De esta manera, el PIC mantiene encendida las interrupciones globales producidas por el cambio de estado de los pines 4 a 7 del puerto B [9].

Temporización

El PIC16F84a no tiene en su estructura un contador de 16 bits en hardware; solo tiene un contador de 8 bits para varios usos. Sin embargo, si se define en PICBASIC PRO una variable del tipo WORD, entonces el temporizador queda definido por la suma de los registros en tiempos discretos. Para lograrlo, se utilizó una máquina de estados controlado por una bandera de interrupción que nace de la llegada del pulso de ultrasonido. De esta manera, el temporizador comienza a contabilizar el tiempo en que toma en llegar la señal sonora. El valor del tiempo establecido para el muestreo del temporizador es de 11,5us; el cual se ajusta al formato 8 bits enteros y 8 bits decimal. Por ejemplo, la primera muestra marca a 11,5us que equivale a 3.9mm, suponiendo que la velocidad del sonido es de 334 m/s. De igual manera, con el formato Q8,8 el primer registro constaría con un valor real de 3.9mm. Por consiguiente, se tiene una representación acertada entre el tiempo y la distancia medida, y el valor real. Los valores consiguientes se

van acumulando en un registro similar al del vector de satélite. En PICBASIC PRO, no es posible la escritura de números de punto fijo Q8,8; sin embargo, la presentación de números enteros si lo es. Por lo tanto, para expresar un valor real de 1.5 metros a nivel de PIC; se debe multiplicar por un entero de 256 que representan los 8 bits menos significativos del formato Q8,8. Por ejemplo: 75cm a nivel de PIC es 192 ya que este valor es igual a la multiplicación entre 75cm y 256. De esta manera, se puede presentar todos los números reales entre 0 y 123,99 metros.

Localización

La trilateración es un algoritmo de localización basado en la adquisición de las distancias desde puntos referenciales, que son estáticos, distribuidos en el espacio hasta la posición a estimar del receptor, como variables experimentales. La Figura 5 muestra como deben estar alineados los satélites para poder trilaterar y la Ecuación 1 expone el resultado de este sistema de ecuaciones. Sin

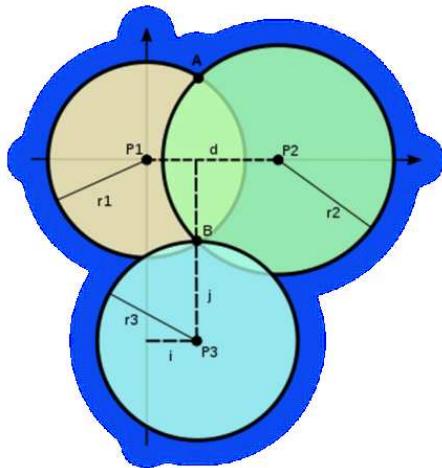


Figura 5: Esquema de algoritmo de trilateración. Este esquema está dibujado en el plano x-y, pero se interpolar hacia el eje Z en un plano tridimensional.

embargo, para llegar a la estimación de las ecuaciones 1, 2 y 3, los satélites deben estar todos a la misma altitud. De esta manera, el eje Z en el plano tridimensional queda establecido como una constante y se puede resolver el sistema de ecuaciones con simples cálculos.

$$x = \frac{r_1^2 - r_2^2 + d^2}{2d} \quad (1)$$

$$y = \frac{r_1^2 - r_3^2 + i^2 + j^2}{2j} - \frac{i}{j}x \quad (2)$$

$$z = \sqrt{r_1^2 - x^2 - y^2} \quad (3)$$

Las ecuaciones 1, 2 y 3 contienen sumas, multiplicación y división como operadores matemáticos, pero a nivel de PIC, estas operaciones pueden ser complejas al momento de ejecutarse cuando se tiene un formato de punto fijo. Sin embargo, gracias a las funciones nativas de PICBASIC PRO, tanto la suma como multiplicación

quedan definidas. Por ejemplo, la suma se realiza con el operador (+) mientras que la multiplicación se ejecuta con el operador (*) ya que solo escoge los 16 bits de la mitad del resultado de 32 bits para mantener el formato establecido Q8,8 [8].

Distribución de satélites

Los satélites, que componen el sistema, están distribuidos de manera que sea posible trilaterar según las ecuaciones 1, 2 y 3. Sin embargo, nuestro sistema no sólo cuenta con tres satélites, sino con cuatro satélites que segmentan el área de cobertura en dos zonas (Norte y Sur). Ver Figura 6.

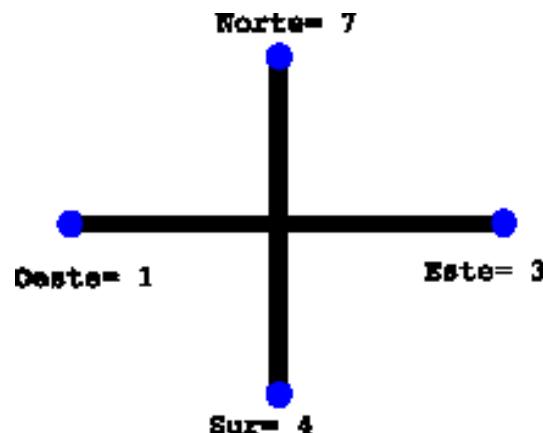


Figura 6: Distribución de satélites en un área de cobertura definida por intersección de las huellas producidas por los lóbulos de radiación de los transductores. Cada satélite tiene un identificador caracterizado por un entero.

La distancia máxima que existe de separación entre los satélites no excede el valor de 1.60 cm. Esta condición nace de la necesidad de conseguir una mayor cobertura empleando transductores con lóbulos de radiación directivos. Si la separación de los satélites no excede este valor, las ondas sonoras cubren el espacio suficiente para la adquisición; y la trilateración dependerá de la identificación de los satélites. La trilateración entra en funcionamiento cuando el vector de satélites y los registros de temporizador han alcanzado el valor óptimo de datos. Este valor óptimo es de tres ya que con estos valores de adquisición; la estimación de la posición queda resultado para un plano tridimensional. Sin embargo, el PIC está limitado en memoria y no se puede programar un sistema de ecuaciones para cada combinación de arriba de satélites. Por ejemplo, el método de resolución para el arriba de datos con identificadores (1,3,4,7) difiere totalmente de los identificadores (3,7,4,1). Para solucionar este inconveniente, cada recepción de identificador de satélites debe comenzar en "1". En caso, que no se cumpla esta condición, el receptor inicializa las variables hasta captar el identificador del primer satélite. En consecuencia, el orden de los registros captados por el receptor se mantiene fijo; provocando que las ecuaciones permanezcan estáticas [1].

	Oeste	Este
Promedio	2.1830	2.1745
Desviación Standard	0.0043	0.0033
Moda	2.1797	2.1758

Tabla 1: Distancias obtenidas de los satélites ubicados OE

	Sur	Norte
Promedio	2.1628	2.1696
Desviación Standard	0.0036	0.0020
Moda	2.1602	2.1680

Tabla 2: Distancias obtenidas de los satélites ubicados NS

	X	Y
Promedio	0.0097	0.0112
Desviación Standard	0.0060	0.0128

Tabla 3: Estimación final de la posición en base a los datos obtenidos en las Tablas 1 y 2.

Resultados

Para caracterizar el sistema se realizaron varios experimentos concernientes a la estimación de la posición. Debido a la facilidad en la obtención de los datos, se tomó como experimento base la localización en un punto fijo del plano. En este caso, el punto (0,0) fue sujeto a pruebas para poder caracterizar la simetría del sistema y observar que tan acertado es el proceso de estimación. En esta primera versión del sistema, la altura de cada satélite con respecto al piso no superó los 2,10 cm por lo cual se trata esencialmente de un problema de localización en dos dimensiones (2D).

La metodología de caracterización del presente proyecto consistió en la toma de datos por intervalos de tiempo. Por ejemplo, los cuatro satélites envían pulsos de ultrasonido en tiempos discretos en el cual, el receptor mide el tiempo de llegada de la señal. Estos datos son almacenados en un registro dentro del PIC para luego ser enviados por un puerto serial hacia un ordenador. El registro que es enviado contiene las medidas de distancia en el siguiente orden: oeste, este, sur y norte. (1,3,4,7). El tiempo total de cada envío no supera los 100 ms para los cuatro satélites, por lo que en total se tomo 3015 muestras en un intervalo aproximado de cinco minutos.

Como se observa en la Tabla 1(a), las distancias que mide el receptor desde el punto (0,0) hacia los satélites ubicados en el oeste y este no tienen una variación pronunciada. Es decir, que las muestras adquiridas tienen una fuerte tendencia a ser estableces en su medición. Así mismo, la Tabla 1(b) muestra que la variación estándar no alcanza a ser un valor significativo con respecto al valor medio. De hecho, el valor nominal de los datos recolectados tienden a ser cero, tanto para (x,y) . Finalmente, la Tabla 2 muestra la estimación final de la posición utilizando los datos de la Tabla 1.

Cabe recordar que la trilateración ocurre dentro del PIC. Por lo tanto, este proceso se realiza netamente por software y esta sujeto a errores de redondeos provocados por las multiplicaciones y divisiones que tienen las ecuaciones de trilateración. Los errores de redondeo pueden

desplazar la estimación de su valor óptimo produciendo aumento en la varianza; y por ende, existe un aumento del porcentaje de error en la estimación. Sin embargo, la Tabla 2 indica que la estimación de la posición es acertada y solo presenta errores que son imperceptibles a nivel macro, tomando en cuenta las dimensiones de una habitación.

Fuera del punto central (0,0), se tomó otras lecturas para poder tener una idea más clara con respecto a la localización. Los puntos que se incluyeron en la caracterización fueron los extremos de cada cuadrante del plano. Por ejemplo, los puntos fueron: (-20,-20), (20,20), (-20,20); y finalmente, (20,-20). Las Tablas 3a-3d muestran los resultados de manera correspondiente con respecto a la estimación para los puntos anteriormente mencionados.

Como se observa en los datos registrados en la Tabla 3a, 3b, 3c y 3d, la estimación conseguida es muy buena ya que existen variaciones menores a dos centímetros con respecto a los valores de prueba en todos los casos; esto significa errores inferiores al 10 % del rango de medición. Adicionalmente, si comparamos los resultados del punto central (0,0) con los resultados de las Tablas 3, se puede observar que la estimación del punto central es más acertada con respecto a los demás puntos estimados. Esto se debe a que, en (0,0) los rangos medidos no tienen variaciones pronunciadas como en el caso de los demás puntos. Sin embargo este valor muestra la presencia de un sesgo originado posiblemente en la posición espacial de los sensores respecto del plano de medición 2D. Estas variaciones son el resultado de pequeñas reflexiones con cualquier superficie que se encuentre a las cercanías del receptor. Como resultado de estas variaciones, se propagan tanto errores en la medición como en el redondeo en las operaciones aritméticas.



Figura 7: Montaje final del sistema de localización por ultrasonido.

Conclusiones

Cada proceso se ha completado de manera satisfactoria. Adicionalmente, el proceso de adquisición de datos reconoce las distancias con un alto grado de fiabilidad, lo

cual puede ser utilizado para más aplicaciones concorrentes a la medición de distancias. Finalmente, el proceso de triangulación confirma el buen funcionamiento del sistema de localización.

Los resultados de las posiciones tienen valores muy cercanos a los valores de posición teóricos, esto indica que la estimación es válida aunque existan pequeñas variaciones con respecto a su valor nominal ya que, estas pequeñas variaciones son producidas por efectos de la propagación de ondas sonoras y se amplifican al momento de realizar operaciones matemáticas por acarreo de error de redondeo. No obstante, el sistema de localización funciona de acuerdo a las expectativas establecidas

Agradecimientos

La idea original desarrollada en este artículo es parte de un proyecto de grado sugerido por el Profesor Carlos Loza quien asesoró su desarrollo. El Profesor René Játiva me ayudó en la revisión y edición de este artículo.

Referencias

- [1] Chávez, P. and De la Torre, D. 2012. "Prototipo de un Sistema de Tracking y Monitoreo de un Robot Transportador". *Tesis de Grado. Universidad San Francisco de Quito. 04 de mayo.*
- [2] Bao, J. and Tsui, Y. 2000. "*Fundamentals of Global Positioning System Recievers: A Software Approach*", Estados Unidos: John Wiley & Sons, Inc. Electrónico.
- [3] Ward, A. 2000. "The Bat Ultrasonic Location System". *AT&T Laboratories Cambridge. Extraído de <<http://www.cl.cam.ac.uk/research/dtg/attarchive/bat>>*.
- [4] Priyantha, N., Chakraborty, A., and Balakrishnan, H. 2000. "The Cricket Location-support System". *MIT Papers. Extraído de <<http://nms.lcs.mit.edu/papers/cricket.pdf>>*.
- [5] Moreno, E. 2000. "Propagación de Ondas Mecánicas y Aplicaciones de Ultrasonido". *Centro de Ultrasónica. Pp. 2–3. Extraído de <www.iai.csic.es/ritul/Cursos/Eduardo/Curnoreno.doc>*.
- [6] Datasheet. 2000. "Temporizador N555". Electrónico.
- [7] Unicrom, E. 2000. "Transistor Darlington". Electrónico. *Extraído de <http://www.unicrom.com/tut_darlington.asp>*.
- [8] MicroEngineering. 2000. "Manual PICBASIC PRO". *Inc Labs. pp. 78 – 87.*
- [9] MICROCHIP. 2000. "PIC16F84a". *Datasheet. Electrónico.*

Cota Inferior de Crámer-Rao en la Estimación del Tiempo de Llegada en un Canal Rice

René P. Játiva E.^{1*} Josep Vidal M.²

¹ Colegio de Ciencias e Ingeniería –El Politécnico–, Universidad San Francisco de Quito
Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito , Ecuador

²Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones Universidad Politécnica de Cataluña
E-mail: rjativa@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: D. Cárdenas, M.Sc.

Recibido/Received: 06/02/2012. Aceptado/Accepted: 06/20/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

This document introduce a Rice mobile channel model suitable for the study of parameters of interest that modifies the accuracy in the estimation of the Time Of Arrival (TOA) for the signal emitted from a mobile station, operating in a DS-SS. This work shows the receiver performance in terms of the available number of channel estimates, the number of sensors in the antenna array and the type of signal source when sampling rate is higher than the chip rate. Received signal is modeled from time-space stochastic distributions and the cases of partially coherent distributed sources as well as fully coherent distributed sources and fully incoherent distributed sources are considered.

Keywords. Cramer-Rao Bounds (CRB), Direct Sequence Spread Spectrum (DS-SS), Rice Channel, Temporal and Spatial Diversity.

Resumen

Este documento introduce un modelo para el estudio de un canal móvil de tipo Rice, utilizando para el estudio de los parámetros de interés que modifican la precisión en la estimación del instante de Tiempo de Arribo (TOA) de la señal emitida por un suscriptor móvil que opera en un sistema en acceso múltiple por división en código (CDMA) que hace uso de un correlador como parte de su operación. Este trabajo muestra el desempeño del receptor en función del número de estimaciones de canal disponibles, el número de sensores que conforman el arreglo de antenas y el tipo de fuente de señal cuando la tasa de muestreo es superior a la tasa de chip. La señal recibida se modela a partir de distribuciones estocásticas, y se consideran tanto los casos de fuentes distribuidas parcialmente coherentes, como los casos de fuentes completamente coherentes y completamente incoherentes.

Palabras Clave. Cramer-Rao Bounds (CRB), CDMA, Rice Channel, Diversidad Temporal y Espacial.

Introducción

Los servicios basados en localización (LBS) continúan creciendo a un ritmo vertiginoso. Nadie discute sus beneficios sino más bien el abuso del que podemos ser objeto si su uso es indiscriminado. En efecto, casi todos encontraremos útil en ciertas circunstancias, el poder pagar una lata de gaseosa sencillamente presionando una tecla de nuestro teléfono celular, si encontramos una máquina dispensadora a nuestro alcance, pero muchos objetaremos la molestia de cierta publicidad al entrar en el área de un centro comercial. En todo caso, sea cual sea la aplicación que puede darse a la información de posición, lo cierto es que la investigación en esta área continúa en la búsqueda de nuevos y mejores esquemas que permitan el estimar la posición con un mayor grado

de certidumbre. Así por ejemplo, atendiendo a la degradación de la posición inherente al uso de dispositivos móviles equipados con GPS en interiores, se ha procurado precisamente caracterizar mejor esta señal [1], además como buscar nuevas alternativas que complementen o faciliten este trabajo tales como sistemas basados en plataformas inerciales [2], Wi-Fi, RFID, Bluetooth, Infrarojos [3], ultrasonido [4], sensores dópler [5], etc.

El interés de este artículo es contribuir a entender mejor desde una perspectiva conceptual los beneficios y limitaciones que involucra el uso de sistemas de espectro disperso de secuencia directa (DS-SS del inglés Direct Sequence Spread Spectrum) en la estimación del instante de llegada (TOA del inglés Time Of Arrival) de la señal. Recordemos que el uso de DS-SS permite al



receptor identificar las componentes de señal originadas en propagación multirayecto, y posibilita su aprovechamiento en términos de diversidad. Esta información puede utilizarse como variable de mediación para el estudio del comportamiento de esquemas de posicionamiento basados en red, el cual ha sido objeto de interesantes investigaciones a lo largo del tiempo [6, 7].

Los resultados mostrados en este artículo complementan los presentados en [8, 9] y asumen que el proceso de estimación del primer retardo es el mejor posible. En este sentido es un modelo simplificado pues asume la presencia de un único clúster de señal originado por la propagación multirayecto. Sin embargo esta asunción es muy razonable en entornos con línea de vista (LOS del inglés Line Of Sight), es decir que el canal de propagación es de tipo Rice. Los lectores interesados en el modelamiento estadístico de canal basado en geometría (GBSC), sus propiedades y su aplicación a comunicaciones móviles de tercera y cuarta generación pueden referirse a [10, 11, 12].

A partir de la determinación de la Cota Inferior de Crámer-Rao (CRLB de sus siglas en inglés), se estudia el impacto sobre la precisión en la estimación del TOA para el primer retardo en función de parámetros tales como: el número de estimaciones de canal disponibles, el número de sensores que constituyen el arreglo de la antena, el grado de coherencia temporal en las estimaciones de canal que se utilizan para el proceso de estimación de TOA y el período de muestreo cuando éste se realiza a una velocidad mayor que la tasa de chips del sistema.

Consideraciones del Modelo

Este trabajo está estrechamente relacionado con otro en el que se estudió el impacto de varios de estos parámetros pero bajo el supuesto de que la señal LOS se encontraba muy atenuada por lo cual el canal de propagación podía modelarse como Rayleigh [10]. En el caso actual se asume que la componente LOS está presente y por ende el canal es Rice. Sin embargo, la señal dispersa está presente y se caracteriza estocásticamente como antes. El error en la estimación del instante de llegada (TOA) se calcula utilizando la Cota Inferior de Cramer-Rao (CRB) a partir del modelo de señal que describe el escenario móvil [8, 9].

El modelo toma en cuenta las siguientes consideraciones:

1. Se asume que el canal tiene un tiempo de coherencia para las amplitudes que siguen las expresiones de Jakes usuales, sin embargo el tiempo de coherencia de retardos y ángulos de llegada es mucho mayor, siendo posible obtener muchas estimaciones de canal a objeto de mejorar la precisión de las estimaciones de TOA.
2. El ruido presente en las estimaciones de canal es blanco y gaussiano.

3. El ruido es incoherente en retardo y ángulo, lo cual corresponde a una situación en la cual el suscriptor móvil se mueve y los diferentes rayos reflejados experimentan desvanecimiento rápido incorrelado.
4. Se asumen un modelo lineal de Markov de primer orden para la variación temporal en el canal.
5. Un espectro de potencia continua se utiliza para modelar la función de densidad marginal de retardo, y se asume que esta se ajusta a una exponencial según se propone en Pedersen [14], y se la estima a una fracción del tiempo de chip. Se asume también la misma distribución angular para todos los retardos. En este sentido se asume que la señal se agrupa en un único clúster lo cual tiene bastante sentido en condiciones LOS, como es en este caso.

Modelo De Canal

La señal observada en un conjunto de K estimaciones del vector de canal sobre N_s sensores. Cada estimación del vector de canal \mathbf{z} es de longitud $N(N-1)$ retardos), y se asume que se ha conseguido de la correlación de la señal recibida con una secuencia conocida.

La señal que se recibe en el sensor j se nota por $y^{(j)}(t)$, y se conforma de la superposición de las componentes multi-trayecto y del ruido $n^j(t)$. cada componente se ve afectada por el coeficiente de apuntamiento de la antena de potencia unitaria $b_{i,j}(t)$, del factor de atenuación $\gamma_i(t)$, de la frecuencia dópler f_i sobre intervalos de extensión KTs , y del retardo de llegada τ_i , donde “i” identifica a cada componente de entre las N_{paths} que alcanzan el receptor.

$$y^{(j)}(t) = \sum_{i=1}^{N_{paths}} b_{i,j}(t) \gamma_i(t) x(t - \tau_i) e^{j2\pi f_i t} + n^{(j)}(t) \quad (1)$$

La señal transmitida $x(t)$ corresponde a la convolución de la secuencia de pseudo-ruido $p(n)$ con el pulso de conformación $g_p(t)$ como se muestra en (2), donde T es el tiempo de símbolo.

$$x(t) = \sum_n g_p(t - nT) p(n) \quad (2)$$

Un correlador estima el canal a partir de la señal recibida en el sensor j y en el instante s , con la ayuda de la secuencia de pseudo-ruido $p(n)$ de longitud N_p .

$$z_s^{(j)}(t) = \frac{1}{N_p} \sum_n y^{(j)}(t + \tau_s + nT) p^*(n) \quad (3)$$

Si se incorporan las expresiones (1) y (2) en (3), es fácil darse cuenta que el coeficiente de canal, $z_s^{(j)}(k)$, para un sensor particular j y un lag s puede modelarse en términos del coeficiente de apuntamiento de cada sensor, del factor de atenuación del multi-trayecto y su dóppler, de la amplitud del pulso conformador, además de una

porción de ruido residual como se muestra en (4). De esta manera, en forma compacta el vector de canal se modela a partir de la firma espacial sobre el arreglo de sensores en la antena, \mathbf{b}_j , la potencia estimada para el trayecto recibido, P_i , su frecuencia Doppler normalizada f_i , y el vector correspondiente al pulso conformador $\mathbf{g}^{(i)}$; además de una componente de ruido $\mathbf{w}^{(j)}$, donde k_0 corresponde al instante de muestreo para el primer retardo, como se muestra en (5).

$$z_s^{(j)}(k) = \sum_{i=1}^{N_{paths}} b_{ij}(k) \gamma_i(k) e^{j2\pi f_i t} g(\tau_s - \tau_i) + w_i^{(j)}(k) \quad (4)$$

$$\mathbf{z}^{(j)}(k) = \sum_{i=k_0}^N b_j P_i e^{j2\pi f_i t} \mathbf{g}(\tau_s - \tau_i) + \mathbf{w}_i^{(j)}(k) \quad (5)$$

El vector $\mathbf{g}^{(i)}$ contiene las muestras del pulso conformador, siendo “i” la posición de su máximo, $g_p(0)$ y se muestra en (6).

$$\mathbf{g}^{(i)} = [g_p(-i+1) \dots g_p(0) \dots g_p(N-i)]^T \quad (6)$$

Tanto la porción correspondiente a la señal del vector de canal, $\mathbf{z}^{(j)}(k)$, como su correspondiente vector de ruido pueden describirse como procesos aleatorios Gaussianos caracterizados por sus correspondientes matrices de correlación. Adicionalmente, en el caso de disponer de una componente de visión directa (LOS), la media del vector de canal no será cero. Si se asume que el ruido es temporalmente incorrelado, independiente de la señal y de varianza σ_w^2 , y notando que la porción correspondiente a la componente NLOS dispersa en la sumatoria en (5) tiene media cero, y que además los mecanismos de dispersión y dóppler son independientes, el valor esperado del vector de canal estimado, μ_z puede calcularse como en (7), donde P_0 es la potencia estimada de la componente LOS, y f_0 su frecuencia dóppler:

$$\begin{aligned} E\{\mathbf{z}^{(j)}(k)\} &= E\{b_j P_0 e^{j2\pi f_0 k} \mathbf{g}^{(k_0)}\} \\ &= P_0 E\{b_j\} E\{e^{j2\pi f_0 k}\} \mathbf{g}^{(k_0)} \end{aligned} \quad (7)$$

La expresión (5) puede escribirse como en (8), donde el elemento i del vector $\mathbf{b}^{(j)}(k)$ contiene $b_{ij}(k) P_i e^{j2\pi f_i k T_s}$, y la matriz \mathbf{G} modela los retardos del pulso conformador. La longitud de estos vectores N , es el número de estimaciones en la ventana de observación.

$$\mathbf{z}^{(j)}(k) = \mathbf{G} \mathbf{b}^{(j)}(k) + \mathbf{w}^{(j)}(k) \quad (8)$$

Adicionalmente, si los vectores se arreglan linealmente como se muestra en (9), tanto las señales como el ruido pueden describirse como procesos aleatorios Gaussianos con ciertas medias y matrices de covarianza, como se muestra en (10).

$$\mathbf{w}^{(j)} = [\mathbf{w}^{(j)}(1)^T \dots \mathbf{w}^{(j)}(k)^T \dots \mathbf{w}^{(j)}(K)^T]^T \quad (9)$$

$$\mathbf{w} \sim CN(\mathbf{0}, \sigma_w^2 \mathbf{I}), \quad \mathbf{z} \sim CN(\boldsymbol{\mu}_z, \mathbf{R}_z) \quad (10)$$

En este caso el vector de estimaciones de canal toma la forma en (11) y el valor esperado del vector de canal estimado $\boldsymbol{\mu}_z$, se expresa en términos de la firma espacial de la componente LOS \mathbf{b}_ϕ , del vector dóppler esperado y del vector de conformación de pulsos correspondiente a la primera llegada, asociada con la componente LOS $\mathbf{g}_0^{(k)}$, como se muestra en (12):

$$\mathbf{z}^{(j)} = (\mathbf{G} \otimes \mathbf{I}_K) \mathbf{b}^{(j)} + \mathbf{w}^{(j)} \quad (11)$$

$$\boldsymbol{\mu}_z = E\{\mathbf{b}\} \otimes E\{e^{j2\pi f_0 k}\} \otimes P_0 \mathbf{g}^{(k_0)} \quad (12)$$

Así mismo, es fácil darse cuenta que la matriz de covarianza para las estimaciones del vector de canal, \mathbf{R}_z , se corresponde con la matriz de Correlación para el caso NLOS y canal Rayleigh [8], y puede expresarse en términos de sus componentes temporal y espacial, como se muestra en (13). En esta expresión, el factor de potencia de la señal P_s , se refiere a la varianza de la potencia recibida estimada para el primer retardo de la señal temporalmente dispersa en el caso de propagación Rayleigh; la matriz de conformación de pulso $\mathbf{G}_s(\beta)$, depende del factor de roll-off β , y modela la contribución del pulso conformador, mientras que Λ_τ es una matriz diagonal que modela la dispersión temporal de la señal y su distribución de potencia exponencial. Por otro lado, la matriz de correlación temporal, $\mathbf{T}(\alpha)$, toma en consideración la variación temporal del canal asociada al efecto dóppler, y se asume idéntica para todos los retardos; la matriz de correlación espacial, $\mathbf{R}_\phi(bf\rho)$, contiene los coeficientes de correlación para las firmas entre sensores, y \otimes denota el producto de Kronecker.

$$\mathbf{R}_z = \mathbf{R}_\phi(\rho) \otimes \mathbf{T}(\alpha) \otimes P_s \mathbf{G}_s(\beta) \Lambda_\tau(\lambda_n) \mathbf{G}_s^H(\beta) + \sigma_w^2 \mathbf{I} \quad (13)$$

Basta recordar que la variación temporal se modela como un proceso auto-regresivo de orden 1, que la correlación temporal entre dos slots consecutivos se nota por el coeficiente α , y que la matriz de correlación espacial contiene la correlación de las firmas espaciales entre los sensores del arreglo ρ_{ij} . En efecto, la matriz de correlación espacial $\mathbf{R}_\phi(\rho)$, es Toeplitz y para su caracterización basta conocer la primera columna ρ . Estas matrices toman la forma que se muestra en (14)-(16).

$$\mathbf{R}_\phi(\rho) = \begin{bmatrix} 1 & \rho_{12} & \cdots & \rho_{1N_s} \\ \rho_{12}^* & 1 & \cdots & \rho_{2N_s} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \rho_{1N_s}^* & \rho_{2N_s}^* & \cdots & 1 \end{bmatrix} \quad (14)$$

$$\mathbf{T}(\alpha) = \begin{bmatrix} 1 & \alpha & \cdots & \alpha^{K-1} \\ \alpha & 1 & \cdots & \alpha^{K-2} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \alpha^{K-1} & \alpha^{K-2} & \cdots & 1 \end{bmatrix} \quad (15)$$

$$\mathbf{G}_s(\beta) = \frac{1}{\sqrt{T_c(1-\beta/4)}} \begin{bmatrix} \mathbf{g}_{s_1} & \mathbf{g}_{s_2} & \cdots & \mathbf{g}_{s_N} \end{bmatrix} \quad (16)$$

Más detalles respecto de estas matrices pueden encontrarse en [8, 9].

Si definimos el vector de variación temporal $\alpha_t(\alpha)$ como en (17), la expresión (12) llega a ser la (18), donde $\mathbf{b}_\phi(\rho)$ corresponde precisamente al vector esperado de firmas espaciales.

$$\boldsymbol{\alpha}_t(\alpha) = [1 \quad \alpha \quad \alpha^2 \quad \dots \quad \alpha^{K-1}]^T \quad (17)$$

$$\boldsymbol{\mu}_z = \mathbf{b}_\phi(\rho) \otimes \boldsymbol{\alpha}_t(\alpha) \otimes P_0 \mathbf{g}^{(k_0)}(\beta) \quad (18)$$

Derivación de la Cota Inferior de Crámer-Rao para el canal Rice.

Para derivar las cotas de Crámer-Rao (CRB) para la condición LOS basta con ampliar el vector de parámetros ψ , de forma de incluir la variable P_0 , tal como se muestra en (19).

$$\boldsymbol{\Psi} = [k_0, \lambda_n, \beta, P_s, \sigma_w^2, \alpha, \boldsymbol{\rho}^T, P_0]^T \quad (19)$$

En este vector de parámetros, k_0 se refiere al instante de llegada de la componente LOS normalizado para el tiempo de chip, T_c ; λ_n es el inverso de la dispersión de retardos normalizado para el intervalo de chip, y los demás parámetros ya han sido definidos antes. El parámetro de interés es precisamente k_0 .

N_c cuenta el número de coeficientes de correlación espacial y se relaciona con el número de sensores [8].

Las CRB se calculan a partir de la Matriz de Información de Fisher (FIM) a partir de la expresión (20) [8, 13]:

$$[\mathbf{F}_{\Psi}^{LOS}] = \text{Tr} \left(\mathbf{R}_z^{-1} \frac{\partial \mathbf{R}_z}{\partial \Psi_p} \mathbf{R}_z^{-1} \frac{\partial \mathbf{R}_z}{\partial \Psi_q} \right) + 2\text{Re} \left(\frac{\partial \boldsymbol{\mu}_z^H}{\partial \Psi_p} \mathbf{R}_z^{-1} \frac{\partial \boldsymbol{\mu}_z^H}{\partial \Psi_q} \right) \quad (20)$$

Esta matriz fue calculada para la componente dispersa NLOS [8] a partir de las derivadas de su matriz de correlación respecto de los parámetros en el modelo, y debe actualizarse para el caso de disponer una componente LOS como se muestra en (21) y (22), donde \mathbf{J}_ψ se corresponde precisamente con la FIM para el caso de canal Rayleigh y el vector de parámetros algo más reducido. La matriz \mathbf{B}_ψ se encarga de introducir los términos faltantes, mientras que la matriz H^{LOS} de ampliar la dimensión de la FIM anterior para actualizarla al caso actual.

$$\mathbf{F}_{\Psi}^{LOS} = \mathbf{F}_\Psi + \mathbf{B}_\Psi \quad (21)$$

$$\begin{aligned} \mathbf{F}_\Psi = & \sum_{k=1}^{N_s} \sum_{k_1=1}^K H_{k,k_1}^{LOS} \mathbf{J}_\Psi H_{k,k_1}^{LOS T} + C_1 \mathbf{e}_{N_p}^{(6)} \mathbf{e}_{N_p}^{(6)T} \\ & + \sum_{q_1=1}^{2N_c} \sum_{q_2=1}^{2N_c} C_2^{(q_1, q_2)} \mathbf{e}_{N_p}^{(6+q_1)} \mathbf{e}_{N_p}^{(6+q_2)T} \end{aligned} \quad (22)$$

$$H_{k,k_1}^{LOS} = \begin{bmatrix} H_{k,k_1} \\ \mathbf{0} \end{bmatrix}_{(7+2N_c) \times 5} \quad (23)$$

Recordemos que el cálculo de las derivadas de la matriz de correlación de estimaciones del canal y su inversa se facilita de la descomposición en valores singulares de

las matrices de correlación espacial (24) y temporal (25) y que pueden calcularse como el producto de Kronecker de tres matrices conforme a la expresión (27) y a los valores mostrados en la Tabla 1 [8].

$$\begin{aligned} \mathbf{R}_\phi &= \mathbf{U}_\phi \boldsymbol{\Lambda}_\phi \mathbf{U}_\phi^H \\ \mathbf{U}_\phi &= [\mathbf{u}_\phi^{(1)}, \mathbf{u}_\phi^{(1)}, \dots, \mathbf{u}_\phi^{(N_s)}] \\ \boldsymbol{\Lambda}_\phi &= \text{diag} [\lambda_\phi^{(1)}, \lambda_\phi^{(2)}, \dots, \lambda_\phi^{(N_s)}] \end{aligned} \quad (24)$$

$$\begin{aligned} \mathbf{T} &= \mathbf{U}_t \boldsymbol{\Lambda}_t \mathbf{U}_t^H \\ \mathbf{U}_t &= [\mathbf{u}_t^{(1)}, \mathbf{u}_t^{(1)}, \dots, \mathbf{u}_t^{(K)}] \\ \boldsymbol{\Lambda}_t &= \text{diag} [\lambda_t^{(1)}, \lambda_t^{(2)}, \dots, \lambda_t^{(K)}] \end{aligned} \quad (25)$$

$$\begin{aligned} \mathbf{R}_z^{-1} &= \sum_{k=1}^{N_s} \mathbf{u}_\phi^{(k)} \mathbf{u}_\phi^{(k)H} \otimes \sum_{k=1}^{N_s} \mathbf{u}_t^{(k_1)} \mathbf{u}_t^{(k_1)H} \\ &\otimes \left(\lambda_\phi^{(k)} \lambda_t^{(k_1)} P_s \mathbf{G}_s \boldsymbol{\Lambda}_\tau \mathbf{G}_s^H + \sigma_w^2 \mathbf{I} \right)^{-1} \end{aligned} \quad (26)$$

$$\frac{\partial \mathbf{R}_z}{\partial \Psi_i} = \mathbf{A}_i \otimes \mathbf{B}_i \otimes \mathbf{C}_i \quad i = p, q \quad (27)$$

i=p,q	Ψ_i	\mathbf{A}_i	\mathbf{B}_i	\mathbf{C}_i
1	k_0	\mathbf{R}_ϕ	\mathbf{T}	$P_s \mathbf{G}_s \frac{\partial \boldsymbol{\Lambda}_\tau}{\partial k_0} \mathbf{G}_s^T$
2	λ_n	\mathbf{R}_ϕ	\mathbf{T}	$P_s \frac{\partial \boldsymbol{\Lambda}_\tau}{\partial \lambda_n}$
3	β	\mathbf{R}_ϕ	\mathbf{T}	$P_s \frac{\partial (\mathbf{G}_s \boldsymbol{\Lambda}_\tau \mathbf{G}_s^T)}{\partial \beta}$
4	P_s	\mathbf{R}_ϕ	\mathbf{T}	$\mathbf{G}_s \boldsymbol{\Lambda}_\tau \mathbf{G}_s^T$
5	σ_w^2	\mathbf{I}_{N_s}	\mathbf{I}_K	\mathbf{I}_K
6	α	\mathbf{R}_ϕ	$\frac{\partial \mathbf{T}}{\partial \alpha}$	$P_s \mathbf{G}_x \boldsymbol{\Lambda}_\tau \mathbf{G}_s^T$
7:6+N _c	$\rho_{i-6, Re}$	$\frac{\partial \mathbf{R}_\phi}{\partial \rho_{i-6, Re}}$	\mathbf{T}	$P_s \mathbf{G}_x \boldsymbol{\Lambda}_\tau \mathbf{G}_s^T$
7+N _c	$\rho_{i-6, Im}$	$\frac{\partial \mathbf{R}_\phi}{\partial \rho_{i-6, Im}}$	\mathbf{T}	$P_s \mathbf{G}_x \boldsymbol{\Lambda}_\tau \mathbf{G}_s^T$
				:6+2N _c

Tabla 1: Resultados de las derivadas de la Matriz de Correlación de Estimaciones de Canal \mathbf{R}_z en el caso NLOS requeridas en (26).

Las derivadas de los auto-vectores de la matriz de correlación temporal respecto al coeficiente de correlación temporal α , requeridas se calcularon numéricamente para obtener las CRB en este artículo. \mathbf{B}_ψ en (21) se calcula como en (28), donde los parámetros requeridos para evaluar esta matriz se muestran en las expresiones (29)-(31) y \odot denota el producto de Hadamard.

$$[\mathbf{B}_\Psi]_{pq} = 2\text{Re} \left\{ \sum_{k=1}^{N_s} D_{1,p,q}^{(k)} \sum_{k_1=1}^K D_{2,p,q}^{(k_1)} D_{3,p,q}^{(k_1)} \right\} \quad (28)$$

En particular $D_{1,p,q}$ en (29) corresponde claramente a la contribución de los diferentes sensores en el arreglo, $D_{2,p,q}$ en (30) revela la contribución de cada estimación temporal, y finalmente $D_{3,p,q}$ en (31) exhibe el impacto de la diversidad multi-trayecto y el pulso conformador sobre la FIM.

$$D_{1,p,q}^{(k)} = \mathbf{1}_{N_s}^T \left(\mathbf{u}_\phi^{(k)} \mathbf{u}_\phi^{(k)H} \odot A_p^{(1)} A_q^{(1)} \right) \mathbf{1}_{N_s} \quad (29)$$

i=p,q	Ψ_i	$\mathbf{A}_i^{(1)}$	$\mathbf{A}_i^{(2)}$	$\mathbf{A}_i^{(3)}$
1	k_0	$\mathbf{b}_\phi(\rho)$	$\mathbf{A}_0 \alpha$	$\frac{\partial \mathbf{g}(\mathbf{k}_0)}{\partial k_0}$
2	λ_n	0	0	0
3	β	$\mathbf{b}_\phi(\rho)$	$\mathbf{A}_0 \alpha$	$\frac{\partial \mathbf{g}(\mathbf{k}_0)}{\partial k_0}$
4	P_s	0	0	0
5	σ_w^2	0	0	0
6	α_t	$\mathbf{b}_\phi(\rho)$	$A_0 \frac{\partial \alpha}{\partial \alpha_t}$	$\mathbf{g}(k_0)$
7:6+N _c	$\rho_{i-6,Re}$	$\frac{\partial \mathbf{b}_\phi}{\partial \rho_{i-6,Re}}$	$\mathbf{A}_0 \alpha$	$\mathbf{g}(k_0)$
7+N _c :6+2N _c	$\rho_{i-6,Im}$	$\frac{\partial \mathbf{b}_\phi}{\partial \rho_{i-6,Im}}$	$\mathbf{A}_0 \alpha$	$\mathbf{g}(k_0)$
7+2N _c	\mathbf{A}_0	$\mathbf{b}_\phi(\rho)$	α	$\mathbf{g}(k_0)$

Tabla 2: Resultados de la derivación del vector esperado de estimaciones de canal μ_z a insertarse en (29)-(31).

$$D_{2,p,q}^{(k_1)} = \mathbf{1}_K^T \left(\mathbf{u}_T^{(k_1)} \mathbf{u}_T^{(k_1)H} \odot A_p^{(2)} A_q^{(2)} \right) \mathbf{1}_K \quad (30)$$

$$D_{3,p,q}^{(k,k_1)} = A_p^{(3)} R_{k,k_1}^{-1} A_q^{(3)} \quad (31)$$

Los términos $A_p^{(i)}$ y $A_q^{(j)}$ requeridos para el cálculo de los factores anteriores se relacionan con los resultados de las derivadas parciales de μ_z en (20) y deben extraerse de la Tabla 2.

Resultados y discusión

A continuación se presentan algunos resultados de interés que relacionan el error en la determinación del retraso de la componente LOS con algunos parámetros relevantes del modelo:

Resultado 1: Comportamiento de la Cota de Error en la estimación del instante de llegada de la señal (TOA) con la Relación Señal a Ruido de la Señal Dispersa, el nivel de potencia de la componente de visión directa (LOS) y la correlación entre los vectores de canal bajo propagación Rice.

La Figura 1 muestra la cota de error en la estimación del instante de llegada para el caso de propagación Rice como una función de la relación señal a ruido de la componente dispersa para dos valores diferentes de la potencia media de la componente LOS. Para la generación de los resultados el número de estimaciones del vector de canal se ha colocado en 50, la tasa de muestreo en dos veces la tasa de chip, el factor de roll-off en 0.5 y el número de sensores en el arreglo en 2. La dispersión temporal se ha colocado en $2T_c$ y la dispersión angular en 5° . La señal llega frontalmente. La gráfica en la parte superior corresponde al caso en que la componente LOS se encuentra 3 dB por debajo de la potencia de la señal dispersa y la gráfica en la parte inferior al caso en que la componente LOS se encuentra 3dB por encima de la potencia de la señal dispersa.

La primera observación de interés es que el error de estimación se reduce para entornos correlados temporalmente cuando una componente LOS está presente. Este

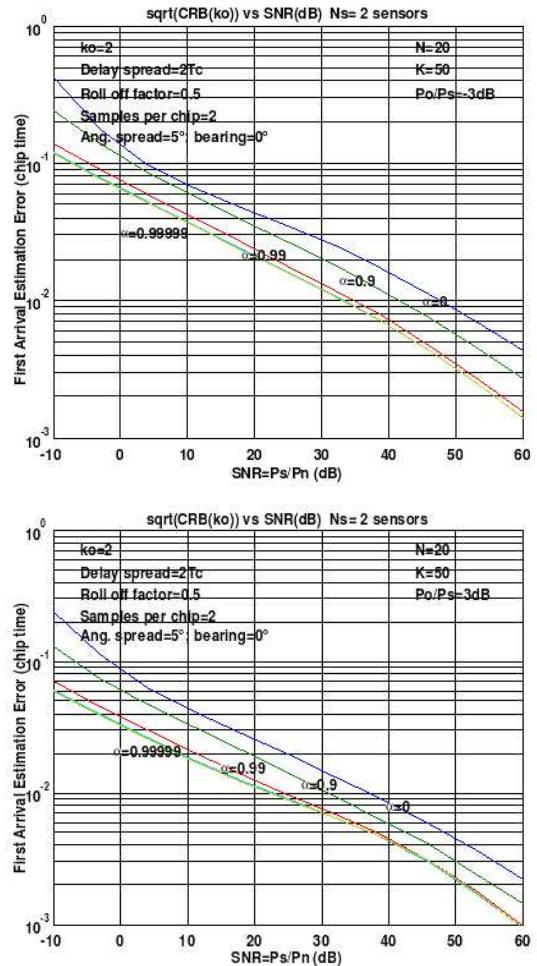


Figura 1: CRB del error en la estimación de la componente LOS en función de la relación señal a ruido de la componente dispersa y del factor de correlación temporal α .

comportamiento es precisamente el opuesto al esperado en el caso de propagación Rayleigh. En efecto, las cotas calculadas para el caso de propagación Rice son más bajas que las esperadas bajo la condición NLOS y decaen todavía más conforme la potencia de la componente LOS se incrementa. La mejoría es notoria al pasar de fuentes completamente incoherentes (ICD) hasta fuentes parcialmente coherentes (PCD) con factores de correlación menores a 0,99. Después de este valor la mejoría es despreciable. Por ejemplo observe en la Figura 1 como el error conseguido para una fuente ICD con SNR=20dB para la componente dispersa y potencia de componente LOS 3dB por debajo de la componente NLOS corresponde aproximadamente a $4,5 \times 10^{-2} T_c$ y decae a $2,5 \times 10^{-2} T_c$ en el caso de una fuente PCD con $\alpha = 0,9$, y a $2,0 \times 10^{-2} T_c$ en el caso de una fuente completamente coherente (FCD) con $\alpha = 0,99999$. Si comparamos estos valores con los resultados esperados para el caso de propagación Rice en el cual tenemos una cota de error de aproximadamente $0,7 T_c$ para el caso FCD y de $0,15 T_c$ para el caso ICD, tenemos una mejoría sustancial para el caso FCD de alrededor de 35 y de algo más de 3 para el caso ICD. Si asumimos op-

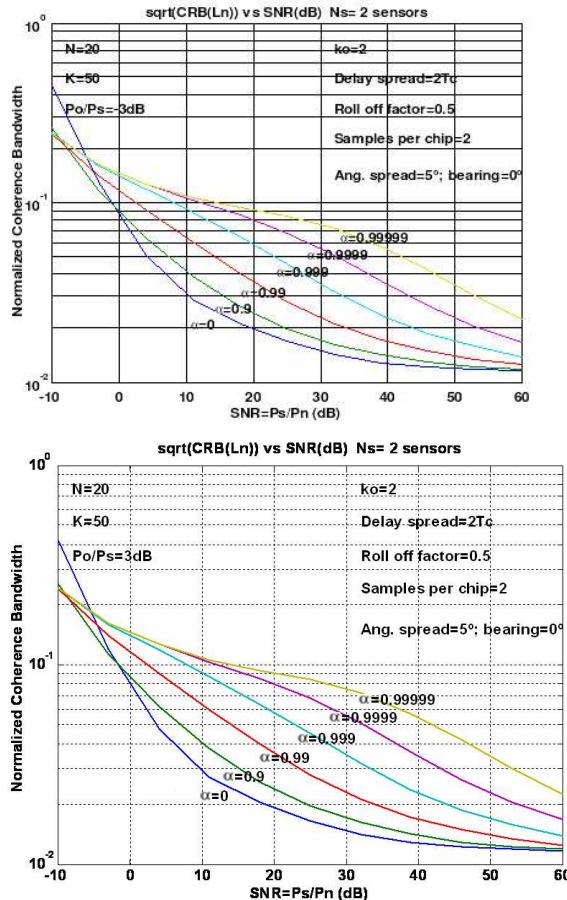


Figura 2: CRB del factor inverso normalizado de la dispersión angular λ_n en función de la relación señal a ruido de la componente dispersa (SNR) y del factor de correlación temporal, α . Número de estimaciones del vector de canal colocado en 50, tasa de muestreo igual a dos veces la tasa de chip, roll-off factor de 0.5 y dos sensores. Factor de dispersión temporal igual a $2T_c$, dispersión angular de 5° . La señal llega frontalmente hacia el arreglo. A) Superior: Potencia de la componente LOS 3dB por debajo de la Potencia de la señal dispersa. B) Inferior: Potencia de la componente LOS 3dB por encima de la señal dispersa.

timistamente una relación lineal entre la incertidumbre en la estimación de TOA y el posicionamiento del suscriptor móvil estamos hablando de alrededor de 55m en el caso FCD NLOS respecto de 1,7m en el caso FCD LOS. Cuando la potencia de la componente LOS crece en 6B respecto del valor anterior, la cota del error en la estimación del TOA reduce a la mitad para el caso FCD. Este resultado muestra la importancia que tiene el disponer de una componente LOS en la estimación de TOA y por ende en la determinación de la posición a partir de la observación de los instantes de llegada de la señal y la degradación que implica la pérdida de la LOS en entornos obstruidos y el esfuerzo que debe ponerse en la mitigación de los efectos adversos de la condición NLOS.

La segunda observación interesante es el hecho de que la incertidumbre en la estimación del error reduce sin cota conforme la SNR mejora en condiciones de LOS, lo cual significa que idealmente en este caso la incer-

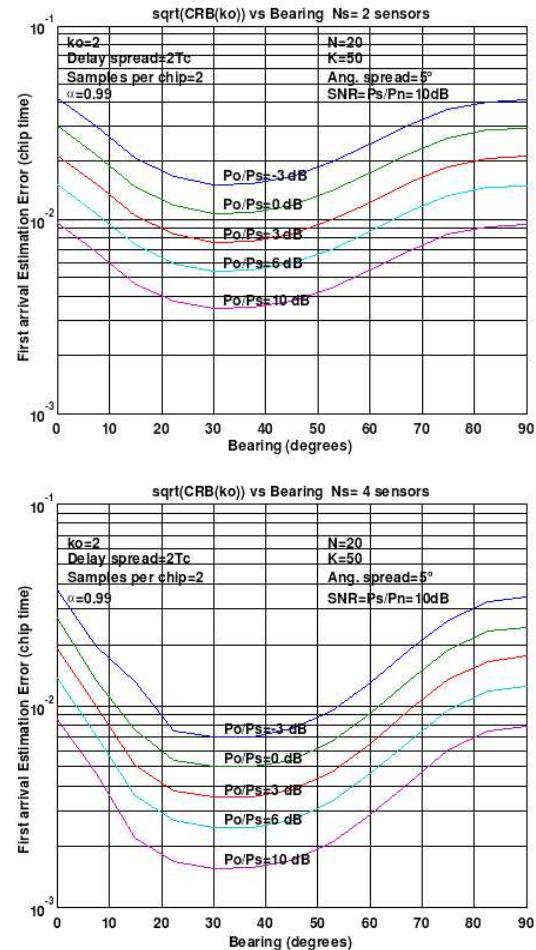


Figura 3: CRB del error en la estimación del TOA de la componente LOS en función de la dirección de llegada de la señal (DOA) y del nivel de potencia de la componente LOS. Número de estimaciones del vector de canal colocado en 50, tasa de muestreo igual a dos veces la tasa de chip y roll-off factor de 0,5. Factor de dispersión temporal igual a $2T_c$, dispersión angular de 5° y relación señal a ruido de la componente dispersa $SNR=10$ dB. Fuente altamente correlada temporalmente ($\alpha=0.99$). A) Superior: Dos sensores. B) Inferior: Cuatro sensores.

tidumbre estaría limitada únicamente por la relación SNR. Por ejemplo, cuando la $SNR=5$ dB para la componente dispersa y $\alpha = 0,99$, la cota de error pasa de $6 \times 10^{-2} T_c$ a $3 \times 10^{-2} T_c$ cuando la potencia de la componente LOS se incrementa en 6 dB. Esto significaría que se reduce la incertidumbre en el posicionamiento desde aproximadamente 5 m a aproximadamente la mitad.

Por otra parte, como se observa en la Figura 2, las cotas correspondiente al factor inverso normalizado de dispersión temporal λ_n , parecen no ser molestadas por el cambio en el nivel de la potencia de la componente LOS, y la tendencia respecto del coeficiente de correlación temporal se mantiene en forma muy aproximada a lo observado en el modelo NLOS. Por ejemplo, mire en la figura como la cota del error para una $SNR=20$ dB y una fuente PCD con $\alpha = 0,9$ y potencia de la componente LOS ± 3 dB respecto de la potencia de la señal dispersa cuando se usan dos sensores corresponde a 2.0×10^{-2} y crece

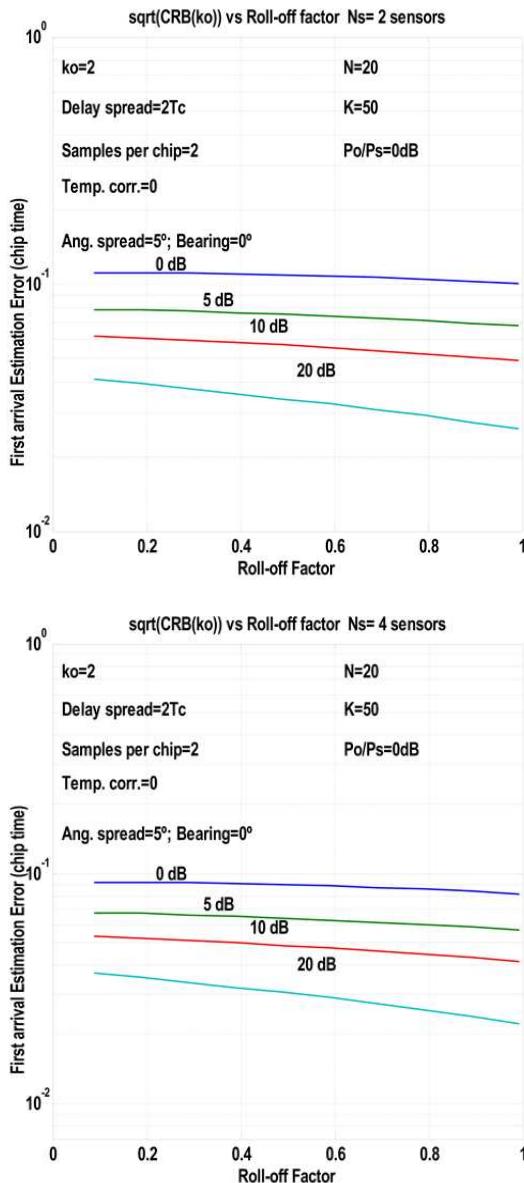


Figura 4: CRB del TOA en función del factor de roll-off y la relación señal a ruido de la componente dispersa (SNR) para el caso en que el nivel de potencia de la componente LOS es igual al nivel de potencia de la señal dispersa y una fuente ICD ($\alpha=0$). Número de estimaciones del vector de canal colocado en 50, tasa de muestreo igual a dos veces la tasa de chip, coeficiente de dispersión temporal igual a $2 T_c$, dispersión angular de 5° y señal llegando frontalmente. a) Superior: Dos sensores; b) Inferior: Cuatro sensores.

a 9.0×10^{-2} para una fuente FCD ($\alpha = 0, 99999$). Estos valores son algo mayores que los esperados para el caso NLOS, pero están bien acotados cuando se incrementa la SNR. En este caso el mínimo error está acotado por 1.2×10^{-2} .

Resultado 2: Comportamiento de la Cota de Error en la estimación del instante de llegada con la dirección de llegada de la emisión, los niveles de potencia de la componente LOS, el factor de correlación temporal entre las estimaciones del vector de canal y el número de sensores.

La Figura 3 muestra el comportamiento de las cotas de error en el instante de llegada de la componente LOS en relación con la dirección media de llegada de la señal recibida para diferentes valores de la potencia de la componente LOS cuando la relación señal a ruido de la componente dispersa es igual a 10 dB. Es interesante notar que el error en la estimación del TOA alcanza un mínimo para un valor cercano a 30° , y que esta mejoría es más importante para niveles mayores de la componente LOS. Por ejemplo, la cotas de error pasan de alrededor de $3.0 \times 10^{-2} T_c$ a $1.1 \times 10^{-2} T_c$ cuando la potencia de la componente LOS es igual a la potencia de la señal dispersa y la dirección de llegada cambia de 0° a 30° , mientras que el error se reduce de alrededor de $x10^{-2} T_c$ a $3.5 \times 10^{-3} T_c$ cuando la potencia de la componente LOS es 10dB mayor que la potencia de la componente dispersa, y la dirección de llegada cambia de 0° a 30° y se utilizan dos sensores. Por otro lado se observa que una mejoría importante es posible cuando se utilizan cuatro sensores en lugar de cuatro especialmente para una fuente altamente correlada temporalmente ($\alpha = 0, 99$). En efecto, para el caso de cuatro sensores y potencia LOS de 10dB sobre la dispersa, y DOA de 30° , la cota se reduce a aproximadamente $1.5 \times 10^{-3} T_c$, es decir aproximadamente la mitad de su análogo con dos sensores. Todos estos valores conducirán idealmente a incertidumbres en la estimación de la posición de un suscriptor móvil menores a 1 metro.

Resultado 3: Comportamiento de la Cota de Error en la estimación del instante de llegada con el factor de roll-off, la relación señal a ruido de la componente dispersa (SNR), y el número de sensores en el caso de Propagación Rice.

La Figura 4 muestra el comportamiento del error en la estimación del instante de llegada de la componente LOS como una función del factor de roll-off del pulso conformador cuando se utiliza un arreglo conformado por múltiples sensores.

La Figura 4 muestra como la cota de error en la estimación del instante de llegada de la componente LOS decrece para valores altos del factor de roll-off cuando la señal llega frontalmente al arreglo, especialmente para altos valores de la relación SNR. Por ejemplo, la cota de error reduce desde $3 \times 10^{-2} T_c$ para $\beta=0,5$ hasta alrededor de $2 \times 10^{-2} T_c$ para $\beta=1$, cuando se usan cuatro sensores y para una SNR de 20dB para la componente dispersa. Nuevamente puede observarse también que mejores resultados se obtienen cuando se utiliza un número mayor de sensores.

Conclusiones

Se ha desarrollado un análisis comparativo de los efectos sobre la incertidumbre en la estimación de la componente LOS de un sistema DS-SS para una señal afectada por propagación multirayecto y dispersa temporalmente y espacialmente. Los resultados se han calculando asumiendo dos muestras por chip y varios factores de

roll-off. Se trata de un modelo de canal Rice que complementa la información obtenida en condición NLOS y propagación Rayleigh [8].

El modelo muestra un potencial incremento en la certidumbre en la estimación del instante de llegada de la componente LOS conforme se incrementa la relación señal a ruido de la componente LOS respecto de la componente dispersa y de la potencia de la señal respecto del ruido. Es particularmente interesante notar que la certidumbre se incrementa en este caso cuando se trata de una fuente con una alta correlación temporal, lo cual es lo opuesto a lo que acontece en el caso de propagación Rayleigh. El modelo muestra también cierta ganancia en función de la dirección de apuntalamiento de la antena, posiblemente asociado al manejo de la diversidad espacial en el arreglo. Finalmente, se verifica una ligera ganancia en relación al roll-off utilizado; sin embargo su efecto es más notorio para relaciones de señal a ruido más elevadas y definitivamente no tiene un efecto definitorio en el grado de incertidumbre de la señal.

Referencias

- [1] El Natour Al Bitar H. et al. 2006. “Analysis of the GPS acquisition environments: indoors and outdoors”. *Information and Communication Technologies, ICTTA*.
- [2] Chao-Min Su et al. 2010. “Sensor-Aided Personal Navigation Systems for Handheld Devices”. *39th International Conference on Parallel Processing Workshops*.
- [3] Baniukevic, A. et al. 2011. “Improving Wi-Fi Based Indoor Positioning Using Bluetooth Add-Ons”. *39th International Conference on Parallel Processing Workshops*.
- [4] Filonenko, V., Cullen, C., and Carswell, J. 2010. “Investigating Ultrasonic Positioning on Mobile Phones”. *International Conference on Indoor Positioning and Indoor Navigation (IPIN)*.
- [5] Schelkshorn, S. and Detlefsen, J. 2008. “Position Finding based on Multiple Doppler Sensors”. *Proceedings of the 5th European Radar Conference*.
- [6] Urruela, A. and Sala, J. 2006 “Average Performance Analysis of Circular and Hyperbolic Geolocation”. *IEEE Transactions on Aerospace and Electronic Systems*. AES-20.
- [7] Torrieri, D. 1984 “Statistical theory of passive location systems”. *IEEE Transactions on Vehicular Technology*. 55, 1, 52–66.
- [8] Játiva, R. and Vidal, J. 2009. “Estimación del Tiempo de Llegada en un Canal Rayleigh desde una perspectiva de la Cota Inferior de Cramer-Rao”. *Revista AVANCES EN CIENCIAS E INGENIERÍAS*. 1, 5–10
- [9] Játiva, R. and Vidal, J. 2003. “La cota Inferior de Cramer-Rao en la Estimación del Instante de Llegada al usar Modelos de Fuente Distribuida”. *Revista CIENCIA*. 6, 185–196.
- [10] Arias, M., and Mandersson, B. 2007. “Time Domain Cluster PDF and its application in Geometry Based Statistical Channel Models”. *The 18th Annual IEEE International Symposium on Personal, Indoor and Mobile Radio Communications (PIMRC’07)*.
- [11] Oestges, C. et al 2005. “Impact of Fading Correlations on MIMO Communication Systems in Geometry-Based Statistical Channel Models”. *IEEE Transactions on Wireless Communications*. 4, 3, 1112–1120.
- [12] Qi Yao, Yi Yuan, et al 2012. “Comparison of the Statistical Properties of the LTE-A and IMT-A Channel Models”. *IEEE Wireless Communications and Networking Conference: PHY and Fundamentals*.
- [13] Raich, R., Goldberg, J. and Messer, H. 2000. “Bearing Estimation for a Distributed Source: Modeling, Inherent Accuracy Limitations and Algorithms”. *IEEE Transactions on Signal Processing*. 48, 2, 429–441 .
- [14] Pedersen, K. 2000. “Antenna Arrays in Mobile Communications – Channel Modeling and Receiver Design for DS-CDMA Systems”. *Tesis Doctoral de la Universidad de Aalborg*.

Storm-Source-Locating Algorithm Based on the Dispersive Nature of Ocean Swells.

Jesús Portilla^{1*}

¹Colegio de Ciencias e Ingenierías –El Politécnico– Universidad San Francisco de Quito
Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador
E-mail: jportilla@ymail.com

Editado por/Edited by: C. Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 05/10/2012. Aceptado/Accepted: 06/10/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

The dispersion relationship of ocean waves in deep water dictates that the wave velocity depends on frequency. Waves of smaller frequencies travel faster than waves of larger frequencies. Therefore, at any remote location, for a specific storm event, the wave frequency and the time of arrival are related in a linear fashion. In the present work, this property is exploited in order to derive information about the distance of the originating storms and also about the time in which those storms take place. For this analysis, wave spectral data from the ECMWF (European Centre for Medium-Range Weather Forecasts) are used. The output is verified against parameters from the meteorological model, namely atmospheric surface pressure and wind velocity. The results show that the algorithm provides space and time information in consistency with the meteorological data.

Keywords. swell, swell tracking, wind waves, ECMWF, WAM, spectral partitioning

Resumen

La relación de dispersión para olas de viento en aguas profundas indica que su velocidad depende de la frecuencia. Las olas de menor frecuencia viajan más rápido que las de mayor frecuencia. Por esta razón, en un lugar remoto y para un evento de tormenta específico, la frecuencia de las olas y su tiempo de llegada están relacionados linealmente. En el presente estudio, esta propiedad es utilizada para obtener información acerca de la distancia de la tormenta generatriz y además acerca del tiempo en el cual dicha tormenta tuvo lugar. Para este análisis se usan datos del Centro Europeo para la predicción del clima a mediano plazo (ECMWF, por sus siglas en inglés). Los resultados son verificados con parámetros del modelo meteorológico, como presión atmosférica superficial y velocidad del viento. Los resultados muestran que el algoritmo produce información de espacio y tiempo en consistencia con los datos meteorológicos.

Palabras Clave. oleaje libre, rastreo de oleaje libre, olas de viento, ECMWF, WAM, partición espectral.

Introduction

Waves generated by wind are distributed over a range of frequencies and directions. This distribution defines largely their evolution and characteristics and it is represented by the wave energy density spectrum. In conventional state-of-the-art wave modelling and analysis, wind waves are described as the superposition of a finite number of monochromatic waves (i.e., linear theory). From the solution of the linearized mass balance equation, an expression is readily obtained to relate some properties of the waves like frequency and wave number. This expression is referred to as the wave dispersion relationship because in deep-water conditions it dictates that the wave velocity is dependent on the wave fre-

quency (see Eq. 8). This means that the longer, low-frequency waves travel faster than the shorter, high frequency waves [1]. Therefore, from the generation location itself, waves disperse from each other as they travel over the ocean surface. Shorter waves are subject to large energy dissipation rates mainly due to breaking. Contrarily, longer waves would typically leave the generation zone and propagate freely from wind influence in the form of swells. Although swells might dissipate energy for instance due to viscous effects or by interacting with the atmosphere, currents or turbulence [2, 3, 4], their energy dissipation is in general small and therefore they can travel very long distances almost undisturbed. When swell waves arrive at a particular remote location far from their generation zone, they show a typical pat-



tern inherent to this dispersive nature, longer waves with lower frequencies are observed to arrive first, followed by shorter waves with higher frequencies (see fig. 2b).

Munk et al., (1963) [5] and Snodgrass et al. (1966) [6] used this property to track swell systems that travelled more than 10,000 km along a great circle from New Zealand to Alaska across the Pacific Ocean. They found a remarkably low dissipation of swell waves outside the generation zone. This indicated that resonant interactions were less important in narrow banded swell spectra and supported the validity of linear theory for the propagation of swells [7]. More recently, swell tracking algorithms have been used in other applications related to earth sciences. MacAyeal et al., 2006 [8], and Bromirski et al., 2010 [9], for instance use it to trace swells and infragravity waves respectively, originated as far as in the Alaska region. Their results suggest that iceberg calving from the Antarctic glaciers might be associated to the mechanical effects caused by ocean waves from the North Hemisphere. Collard et al. (2009) [10] used the dispersive characteristic of waves to back trace and propagate swells observed by the Synthetic Aperture Radar (SAR) mounted on board of several satellite missions. By this approach, Collard et al. (2009) [10] were able to produce more continuous swell fields than those provided by the SAR. In addition, they predicted the propagation of swells across the ocean using observed data (e.g., Fireworks products, GlobWave 2012 [11]). Delpay et al., (2010) [12], use it as a tool to characterize the time and space structures of swells in order to derive parameters for data assimilation. The main emphasis in the present application is the characterization of the wave conditions in the Equatorial Pacific Zone, and in particular, waves in Ecuadorian waters.

Different swell systems are identified using a spectral partitioning technique [13]. The analysis is therefore carried out looking at individual swell systems. This approach allows having clean signals of the relevant variables like peak wave period and direction. A pre – processing stage consists of clustering the different wave events. Initially this step was carried out using time series of significant wave height (H_{m0}), but soon it was clear that the use of that variable was not convenient because consecutive events with comparable energy are not discernible in the H_{m0} series. This step is reported here for the sake of completeness and illustration, but it is not part of the final algorithm in which the clustering is made on the time-series of peak period (T_p). The data points clustered represent swell events originated from the same storm. The peak frequency points (inverse of the peak period) are related to the time of arrival of the individual swells in a linear fashion, but they do not perfectly follow a straight line because the data contains some variability. That variability is attributed to two possible main sources. The first is the discretization of the model, both in the spectral and in the spatial space. The second is the fact that the storm source is not

static but it is moving. Moreover, its spatial length scale is relatively large. However, it is found that the variability of the time-series can actually be used as an extra piece of information since this variability, apart from the leaps of the discrete model, contains valuable information about the ranges in which the storm has been generating waves. In this regard, the confidence limits of the linear regression are computed and used in order to estimate the confidence limits for the originating distance and time. It should be noted also that the peak direction time-series also present variability, which is again associated to the displacement of the storm. This information is also used for assessing the possible location of the storm, giving different possible trajectories for the waves.

The output is verified using meteorological variables from the atmospheric model from the ECMWF [14], namely atmospheric surface pressure and wind speed and direction. The results show good skills of the algorithm for locating the storm sources. Moreover, it shows the benefits of having the output in the form of ranges rather than single point locations, because the storms themselves are very dynamic and have relatively large dimensions. This means that waves might be generated from different places within the same storm. In addition, storms are typically moving, and change intensity during their lifetime. It is also found that swell waves arriving to the Equatorial Zone come from remote places that can be located as far as from the Australian region.

Data Sources

The data used in this study consists of wave model results from the ECMWF, corresponding to the ERA – Interim archive (Simmons et al., 2006). ERA – interim is a hindcast program, run with analyzed wind fields, covering the period from 1979 to present. The data has global coverage with spatial resolution of 0.5 degree in latitude and longitude. The wave model used is WAM Cycle IV [15, 16, 17]. WAM is a state-of-the-art third generation spectral wave model that solves the wave energy balance equation defined in the spectral domain. Deep-water sink/source terms account for wind input, non-linear resonant interaction, and wave breaking dissipation. Therefore, the actual variable of the model is the wave spectrum. However, it is typical to provide users with output in the form of integral parameters like significant wave height (H_{m0}), mean wave period ($T_{m-1,0}$), and mean wave direction (θ_m). WAM is used operationally in several meteorological centers around the world, and it is routinely verified and tested [18, 19].

The wave spectrum is discretized into 24 directional and 30 frequency bins. The frequency ranges from 0.0345 to 0.5476 in geometric sequence (see ECMWF 2011 for details). The spectral data correspond to the model grid point 1 °S, 93°W, located near the Galapagos Islands, where the water depth is of about 3000m. The study period corresponds to the month of January 2008.

For verification purposes, global meteorological data from the ECMWF, corresponding also to the ERA – Interim archive are used. Particularly, surface pressure and wind vectors (speed and direction). The resolution of this data is of 1.5° in latitude and longitude.

Theoretical Background

In linear theory, the dispersion relationship (Eq. 1) relates the angular frequency (ω) with the wave number (k) and the water depth (d). In deep water the term kd approaches infinity, and its hyperbolic tangent, $\tanh(kd)$ converges to 1. Hence, the angular frequency in deep water is a function of the wave number only (Eq. 2)

$$\omega^2 = gk \tanh(kd) \quad (1)$$

$$\omega^2 = gk \quad (\text{deep water}) \quad (2)$$

By definition, the propagation speed of the surface wave profile is:

$$c = \frac{dx}{dt} = \frac{\omega}{k} = \frac{L}{T} \quad (3)$$

For a monochromatic wave, this corresponds to the phase speed (c_p), which can be readily obtained from the dispersion relationship (Eq.1).

$$c_p = \sqrt{\frac{g}{k} \tanh(kd)} \quad (4)$$

$$c_p = \sqrt{\frac{g}{k}} = \frac{g}{\omega} = \frac{g}{2\pi f} \quad (\text{deep water}) \quad (5)$$

If a superposition of waves occurs, with slightly different frequency and the same direction, the phase speed of the envelop wave, that is the group velocity, can be calculated as:

$$c_{group} = c_g = \frac{\partial \omega}{\partial k} = nc \quad (6)$$

with n given by:

$$n = \frac{1}{2} \left(1 + \frac{2kd}{\sinh(2kd)} \right) \quad (7)$$

For deep water, $2kd/\sinh(2kd)$ approaches 0, and therefore $n = 1/2$. The group velocity for deep water becomes:

$$c_g = \frac{g}{4\pi f} \quad (\text{deep water}) \quad (8)$$

The group velocity in deep water is thus an inverse function of wave frequency, longer, low-frequency waves travel faster, i.e., dispersive waves. For further details, the reader is referred to Holthuijsen 2007 [1].

Originating distance

With the expression for the wave speed, and knowing that waves travel on earth over great circles, the originating distance can be calculated. If wave spectral data is considered, the wave dispersion is registered by the time-series of the peak frequency. Considering two wave groups arriving to the observing location, the distance travelled by those two groups can be expressed as:

$$\begin{aligned} d_1 &= c_{g1}\Delta t_1 = c_{g1}(t_1 - t_0), \\ d_2 &= c_{g2}\Delta t_2 = c_{g2}(t_2 - t_0) \end{aligned} \quad (9)$$

Where c_g is the group velocity, t is the time of arrival at the observation location, and d is the distance travelled over the great circle. Sub-indices 1 and 2 refer to the different wave groups.

Since the base assumption is that waves are originated by the same storm at some distance d , and at the same time $t_0 = 0$. We have:

$$d_1 = d_2 = d; \quad \text{and} \quad t_0 = \frac{c_{g1}t_1 - c_{g2}t_2}{c_{g1} - c_{g2}} \quad (10)$$

Therefore, $d = d_1 = c_{g1}(t_1 - t_0) = c_{g1} \left[t_1 - \frac{c_{g1}t_1 - c_{g2}t_2}{c_{g1} - c_{g2}} \right]$ and after some algebraic manipulation:

$$d = \frac{c_{g1}c_{g2}}{c_{g1} - c_{g2}} (t_2 - t_1), \quad \text{with } c_g = \frac{g}{4\pi f}$$

$$d = \frac{g}{4\pi} \frac{(t_2 - t_1)}{(f_2 - f_1)} = \frac{g}{4\pi} \frac{\partial t}{\partial f} = \frac{g}{4\pi} \frac{1}{m} \quad (11)$$

where m is the slope of the straight line relating the peak frequency and the time of arrival. Note that if time units are seconds, the distance is obtained in meters.

Time of origin

In a similar way, the time of origin of the storm can be calculated. It can be seen from equation 10, that the time of origin is a function of the wave speed and the arrival time. Therefore, equation 10 can be expressed in terms of the peak period as:

$$t_0 = \frac{T_{p1}t_1 - T_{p2}t_2}{T_{p1} - T_{p2}} \quad (12)$$

Therefore, using the variable T_p^*t (peak period times time) we find the slope $\Delta(T_p^*t)/\Delta T_p$, which is associated to the time of origin.

Methodology

Spectral partitioning

The wave spectrum is the distribution of energy over a range of frequencies and all directions. In the wave spectrum, different wave systems can be identified. For instance wind-sea waves are characterized by a broad spectrum, both in frequency and direction. The frequency domain of wind-sea waves is located towards the higher frequencies, and its direction agrees well with the wind direction. Swell waves on the other hand present typically a narrower spectrum, the energy is located towards lower frequencies, and since they have been generated outside the observing area, they do not follow the wind direction. All these features can be appreciated visually in a plot of the wave spectrum (e.g., figure 1). The spectral partitioning technique [13], consists of automatically determining the different wave systems. In this technique, the spectrum is treated as an inverted catchment area [20] making an analogy with hydrological concepts. The objective is then to identify the different *basins* from that catchment area. For doing that, the algorithm group spectral points climbing to the same local peak.

Using the partitioning technique, wave systems from the grid point 1°S-93°W are identified. It is noticed in general, that wave conditions in the Equatorial Pacific Zone are characterized by four distinct wave systems: a South Westerly (SW), a North Westerly (NW), a South Easterly (SE), and a North Easterly (NE) [21]. Using these long-term characteristics, the systems can be extracted by defining frequency-direction ranges. An example of the wave spectrum and the partitioned wave systems is given in figure 1. For the present work in which the development of the methodology is the important aspect, only the South Westerly (SW) component is considered. In later works, statistics about this and the other wave systems will be covered.

Wave height clustering algorithm

The purpose of this (pre-processing) algorithm is to be able to automatically separate specific events from the time series. Figure 2 shows the time series of significant wave height (H_{m0}), panel (a), mean wave period ($T_{m-1,0}$) and peak period (T_p), panel (b), mean wave direction (θ_m) and peak direction (θ_p), panel (c). It can be seen from figure 2a, that the time series present eventual erratic variations (e.g., at days 8, 14, 22, ...). These can either be attributed to inaccuracies of the extracting procedure (frequency-direction ranges), or to the actual presence of different swell systems. In any case, there is little one can do about this behavior because it is not possible in general to set a very strict criterion to extract the SW and SE wave systems because they occur in a very close range of the frequency-direction domain.

In order to deal with the variations and to be able to distinguish separate events, the H_{m0} signal is smoothed

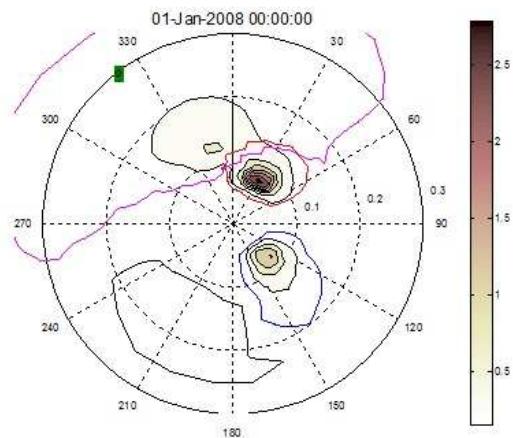


Figure 1: Example of wave systems detection results –Galapagos output point 1°S-93°W– The green dot indicates wind direction, green line indicates the wind-sea partition (not present here). Red line: South-Westerly component. Blue line: North-Westerly component. Magenta line: South-Easterly component. Black line: North-Easterly component.

using a sequence of a mean-median filter. The mean-median filter is used because it has the ability to remove single erratic deviations (like those present) while still keeping the main characteristics of the signal. The size chosen for the filter kernel is five. The resulting smooth time series are shown in figure 2a. From this signal, it is easier to identify specific events.

For the separation of each specific event, the gradient (first derivative) of the smooth H_{m0} signal is analyzed. A change of sign in the gradient (from positive to negative) indicates the presence of a valley, and therefore the limit of an event. A complementary condition is that clusters having few records (less than 3 negative points) are disregarded. This is introduced in order to overlook small local variations. The specific events identified are indicated with dashed vertical (magenta) lines in figure 2.

Analysis

The clustering algorithm works well in the H_{m0} time series, however, when looking at the wave period it is apparent that the analysis on H_{m0} is not sufficient to distinguish specific events. Particularly, events 2, 3, and 4, are composed each by two different events, although some are less important in terms of energy. It is interesting to see that in general, the mean wave period is lower than the peak wave period. This indicates a significant contribution of high frequency energy in each of the wave systems. Particularly interesting is the period between the 10th and 13th of January, where the mean period increases with time (wind sea behaviour), while the peak period decreases (swell behaviour). This is an indication that in that particular wave system two wave systems are merged into one. In order to visualize this, some of the spectra at those dates are provided in figure 3.

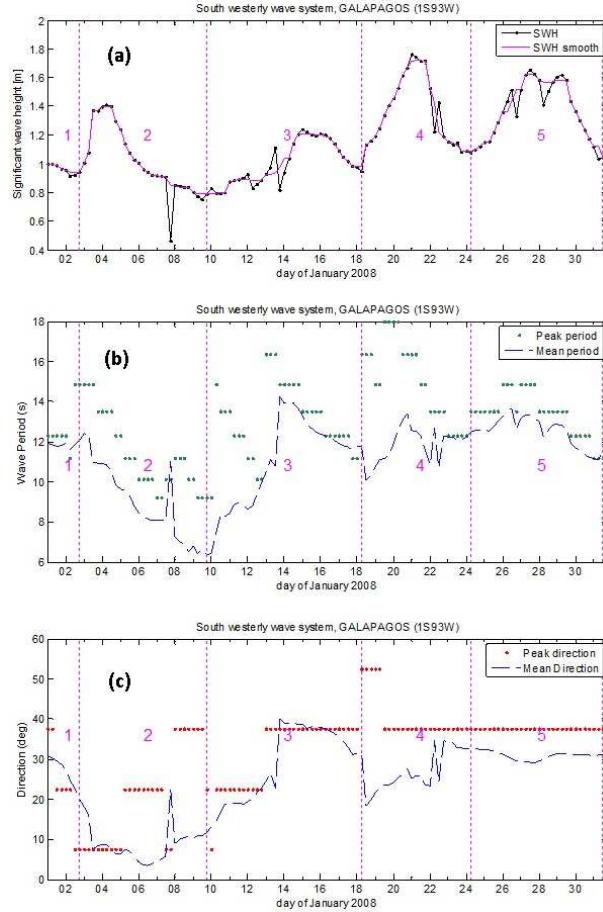


Figure 2: Time series of Significant wave height (a), mean and peak wave period (b), and mean and peak wave direction (c). Specific wave events clustered by H_{m0} are indicated.

It can be seen in figure 3 that the SW wave system (red) is actually composed of two wave systems, one with swell characteristics, narrow at low frequencies and the second one with wind-sea characteristics, wide and at high frequencies. This is related to the frequency – direction range defining the SW wave system and can be further refined. However, for the purpose of storm detection, those inaccuracies are less critical because in this particular case we are interested in the peak of the main system. This aspect however needs to be taken into account for obtaining statistics of the different wave systems or when analyzing the wind-sea component.

Wave direction provides also useful information because single wave systems may eventually change direction. For instance, in event 1 in figure 2c, direction changes from 37.5° over 22.5° to 7.5° . As mentioned before, this can be the effect of a moving storm. When constructing the algorithm, in order to determine the spatial range of the storm, both the maximum and the minimum azimuth directions are considered.

Peak frequency clustering algorithm

It is clear that from the time-series of H_{m0} , it is not possible to obtain an accurate identification of the specific

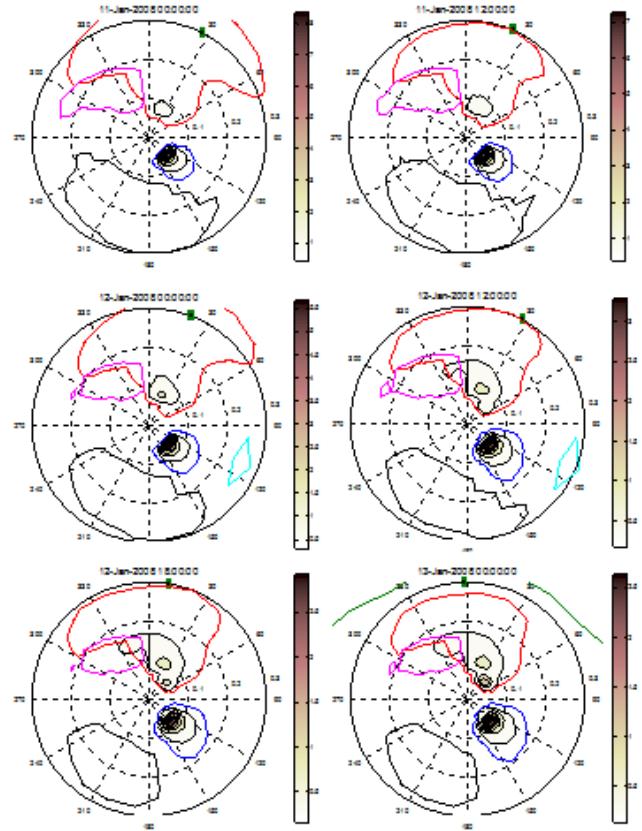


Figure 3: Wave spectra from 11-January to 13-January. South Westerly wave system marked in red.

wave events because consecutive wave systems with similar energy are not discernible. In order to identify those wave systems, it is necessary to analyze the time-series of the peak period. A similar smoothing procedure as for H_{m0} could be used. However, due to the discretization of the model frequency, the time-series of peak period are rather different from those of H_{m0} in the sense that peak period records repeat over time windows (figure 4a, green dots).

In order to obtain information about the gradient and its variations, records with the same frequency are grouped (figure 4a, red circles). This generates another time – series of frequency (or period), in which the frequency correspond to the frequency of the group itself and the date is found as the average date of the group. From the time-series of the grouped points (figure 4a, red circles), the gradient can readily be obtained. The change of sign in the gradient (from positive to negative) indicates the limit of a specific event.

The resulting wave events obtained from the T_p time-series are more consistent than those using H_{m0} . For instance each of the events 2 and 3 from H_{m0} (figure 4b), consist of two events according to T_p , namely 1 and 2, and 3 and 4, respectively. Therefore, the clusters obtained from the T_p time-series are used for further processing.

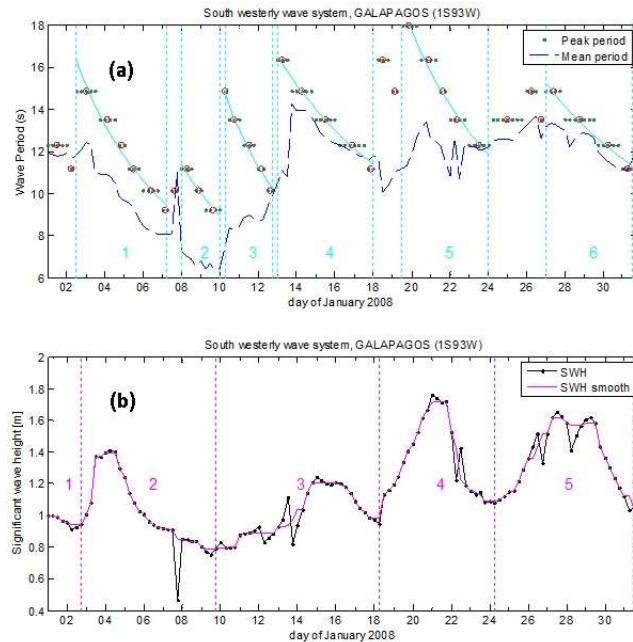


Figure 4: Time-series of peak and mean period (a), and H_{m0} (b). Specific wave events clustered by peak period (T_p) are indicated in (a) and by H_{m0} in (b), with dashed vertical lines, cyan and magenta respectively. The green dots are the actual T_p records. The red circles represent groups of records with equal T_p values. The cyan continuous lines correspond to the linear regression result for each cluster.

Linear regression

Now that the different wave events are identified, it is straightforward to compute the dispersion characteristics of the wave events. It has been seen that the peak frequency and the time of arrival are related linearly. Therefore, in order to compute the distance of origin using equation 11, we only need to compute the slope of this linear relation from the time-series of the peak frequency (figure 5). It should be noted however that although the linear trend is clear, there is some spreading in the data set, which is associated to uncertainties of the parameters of the linear regression. These uncertainties are inherent in the variable and can be attributed to either model discretization or to the displacement of the storm. If only the parameters of the straight line are computed, the output of the algorithm is a single point output (in time and space), in which the storm has to be located. However, this information is unrealistic or incomplete in the sense that storms in general have large dimensions and can be very dynamic events. Therefore, not only the parameters of the straight line are computed but also the 95% confidence intervals of the linear regression. The confidence interval provides the interval for the space and time in which the storm has developed.

Directional uncertainty

Apart from the uncertainties present in the time-series of the peak frequency, there are also uncertainties associated with direction. This can be observed for instance

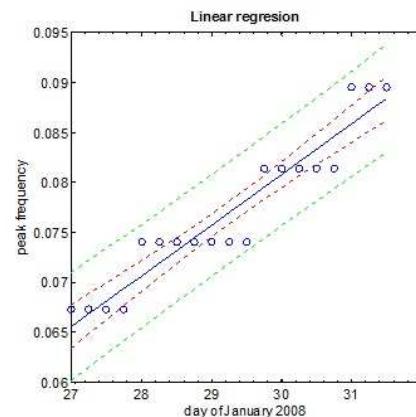


Figure 5: Linear regression fit on a peak frequency cluster. The confidence interval of slope is evaluated as it is the magnitude of interest to calculate the distance of the origin.

in figure 2c, where for a specific event, the incoming direction changes with time. In order to deal with this kind of uncertainty, the storm distance is calculated for two great circles, corresponding to the maximum and minimum azimuth directions of the specific event. With this information the location of the storm is given as a rather broad spatial domain, but given the sometimes large dimensions of the storms, results indicate that this output is consistent.

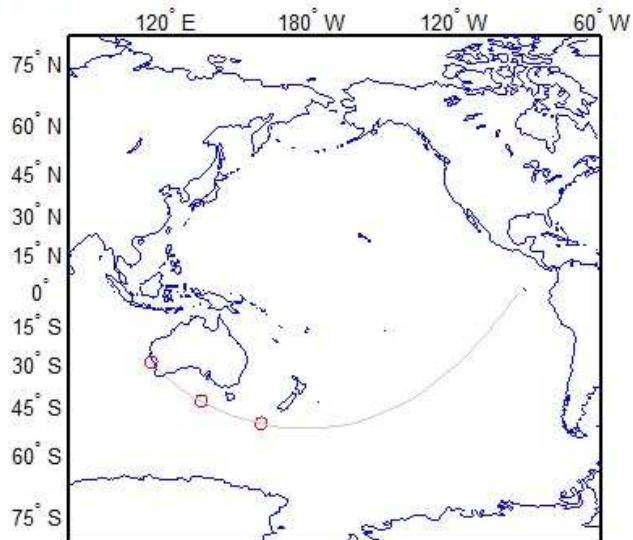
Results and Discussion

Following the procedure described above, the different events corresponding to the SW wave system at the location 1°S 93°W are analyzed for the period of January 2008. Two types of plots are provided, the first is the output of the algorithm itself, indicating the location of the storm, and the time of origin (header), and the second correspond to the atmospheric parameters, in which the location area is indicated with a red circle. The focus of this analysis is the wave event of the 29th January 2008, which is a relatively high event in terms of H_{m0} (about 1.6m). The results of other events in the month of analysis are included in the appendix for reference.

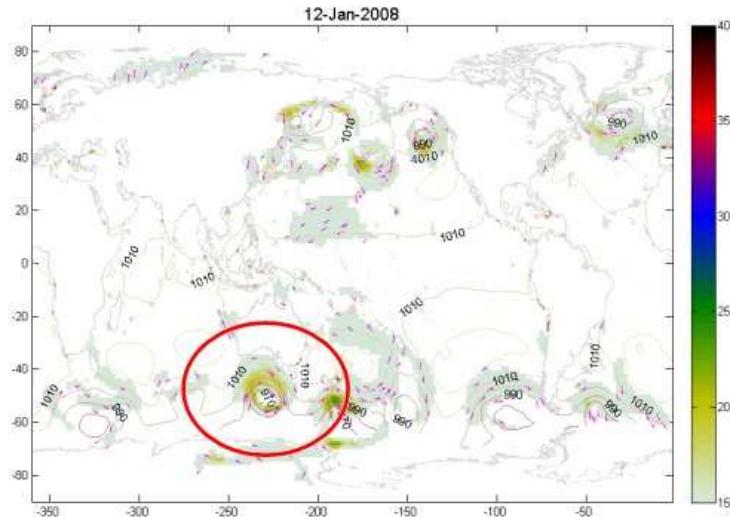
The output of the algorithm indicates that waves from this event correspond to a time window relatively large that goes from the 12th to the 17th of January (2008). The geographical location corresponds to the south of the Australian region. When looking at the atmospheric charts, we can see that indeed the storm had a long duration, starting on the 12th of January with a cyclone caused by a low-pressure front surrounded by a higher pressure environment. While evolving, this cyclone moves from west to east, and generates waves in the azimuth direction that reaches our observation location. The activity of the cyclone continues until about the 15th January, decreases intensity by the 16th January, and takes over again until the end of the 17th January. Its effects are also visible in the time series of H_{m0} , in which the activity is relatively long (~7days) and the magnitude of H_{m0} presents some variability. It should

Wave event of the 29th January 2008

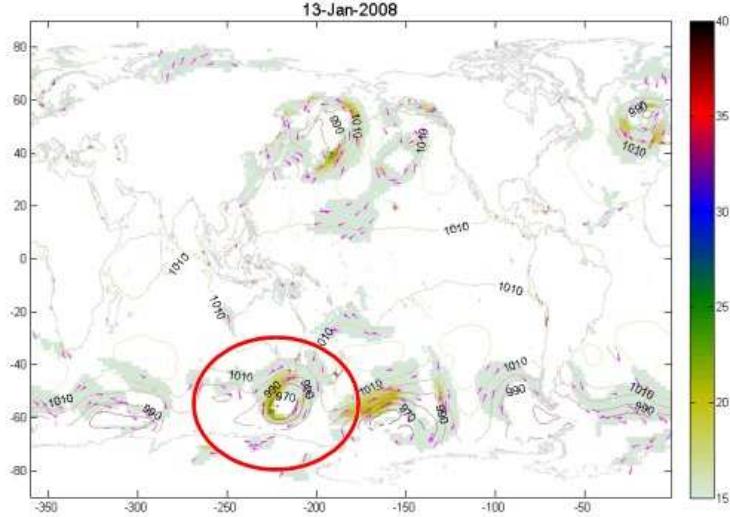
12-Jan-2008 21:38:37 - 15-Jan-2008 04:54:47 - 17-Jan-2008 12:10:58

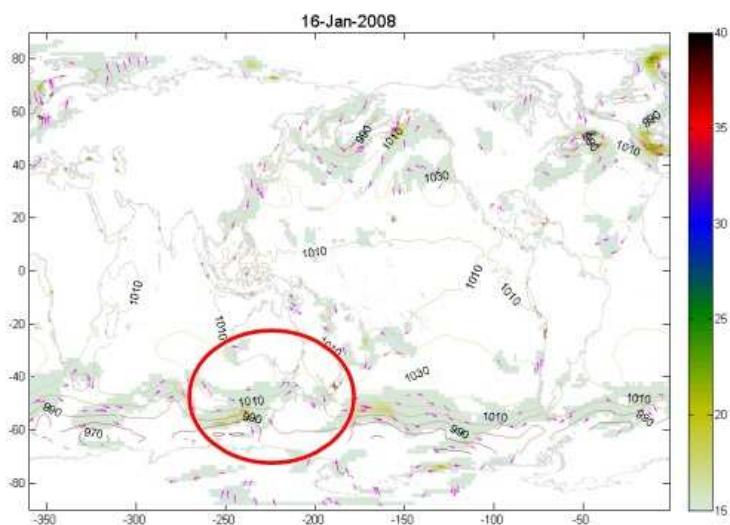
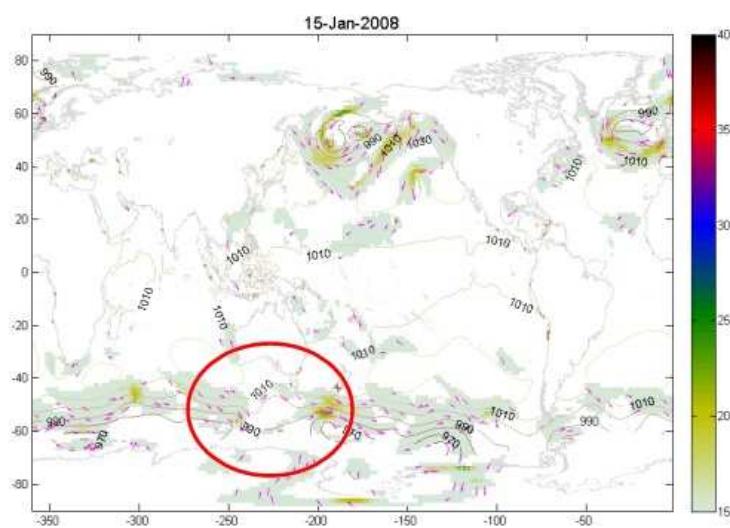
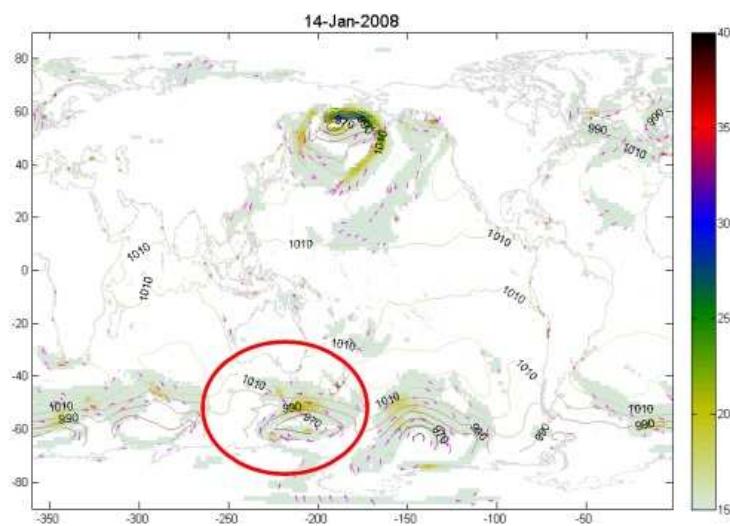


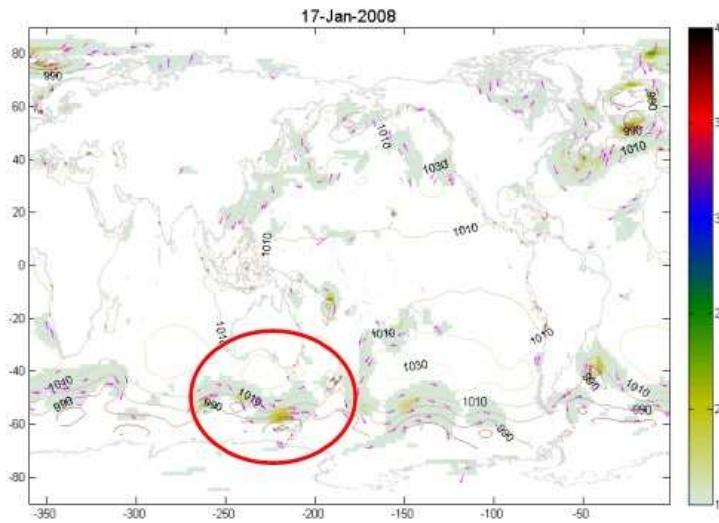
12-Jan-2008



13-Jan-2008







be noted also that this event does not show directional uncertainty. This is due to two main reasons. The first is that the storm itself is moving more or less well aligned with the great circle. The other is directional dispersion, enhanced by the relatively long distance.

Conclusions and Perspectives

A storm-source-locating algorithm has been developed in order to identify the zones in which waves arriving to the Equatorial Pacific Zone are generated. The output of the algorithm is consistent compared with information from the meteorological model.

The development of this algorithm is relevant since wave conditions in the Equatorial Pacific Zone are characterized mainly by swells originated in remote locations. Swell waves are more difficult to model than wind-sea waves because during the advection process they might be subject of interaction with other phenomena not represented by the model (e.g., currents, turbulence, atmosphere, Antarctic ice boundary, . . .). Therefore, a precise knowledge of this advection process is necessary.

Using the whole data set and also spectral data at other locations it is possible to perform statistics of the storm events in order to better characterize the wave conditions in the Equatorial Pacific Zone and its location of origin.

Acknowledgments

ECMWF ERA-Interim data used in this study have been kindly provided by the ECMWF. The contribution from Luigi Cavalieri (ISMAR) is much acknowledged. The collaboration of Jeison Sosa (USFQ) in complementary works has been very valuable. The author is grateful to Giuseppe Cardillo (MeriGen Research) for providing the linear regression algorithm via the MATLAB Central, File Exchange. This study has benefit from the

interaction with the CD-INOCAR-LOG031-11 project. Support from the USFQ in the form of a travel grant is greatly appreciated.

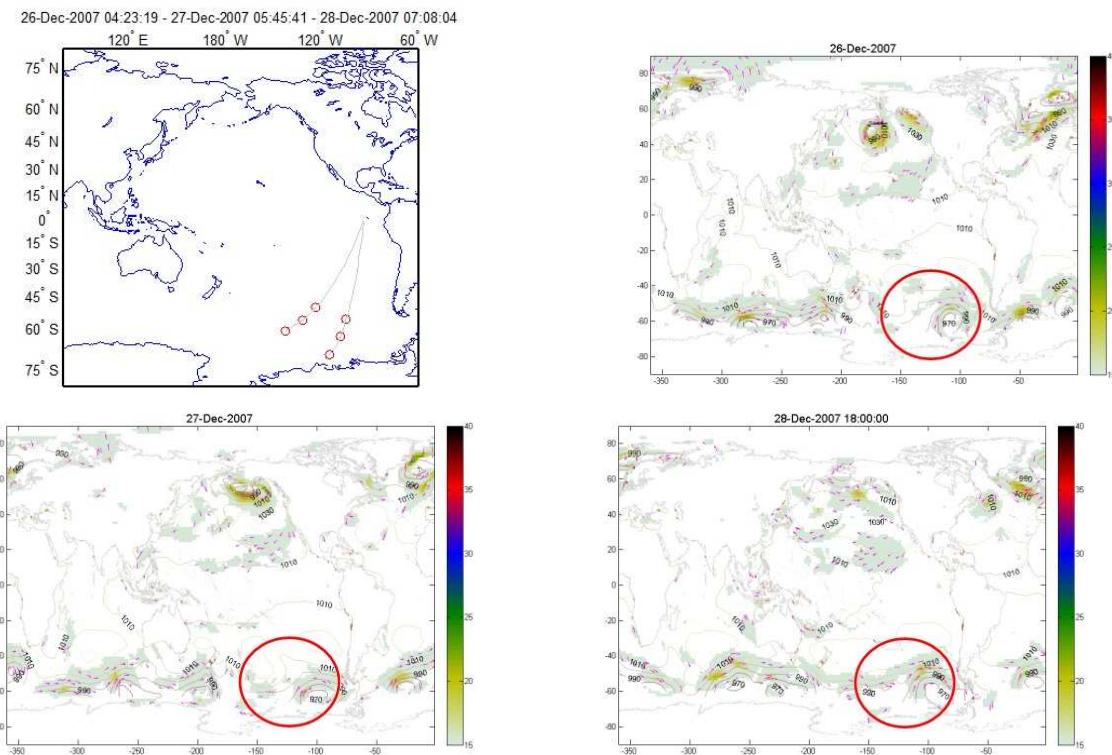
References

- [1] Holthuijsen, L. H. 2007. "Waves in Oceanic and Coastal Waters", Cambridge University Press.
- [2] Huang, C.J., Qiao, F., Song, Z., and Ezer, T. 2011. "Improving Simulations of the Upper Ocean by Inclusion of Surface Waves in the Mellor-Yamada Turbulence Scheme". *J. Geophys. Res.* 116. C01007
- [3] Arduin, F., Chapron, B., and Collard, F. 2009. "Observation of Swell Dissipation Across Oceans". *Geophys. Res. Lett.* 36. 6-14
- [4] Babanin, A.V. 2006. "On a Wave-Induced Turbulence and a Wave-Mixed Upper Ocean Layer". *Geophys. Res. Lett.* 33. L20605
- [5] Munk, W.H., Miller, G.R., Snodgrass, F.E., and Barber, N.F. 1963. "Directional Recording of Swell from Distant Storms". *Phil. Trans. Roy. Soc. London A.* 255, 505–584.
- [6] Snodgrass, F.E., Groves, G.W., Hasselmann, K., Miller, G.R., Munk, W.H., and Powers, W.H. 1966. "Propagation of Ocean Swell Across the Pacific". *Philosophical Transactions of the Royal Society London.* A259, 431–497.
- [7] Henderson D. and Harvey. S. 2010. "The Benjamin-Feir Instability and Propagation of Swell Across the Pacific, Mathematics and Computers in Simulation", Vol. In Press, Accepted Manuscript.
- [8] MacAyeal, D. R., Okal, E. A., Aster R. C. 2006. "Transoceanic Wave Propagation Links Iceberg Calving Margins of Antarctica with Storms in Tropics and Northern Hemisphere". *Geophysical Research Letters.* 33, L17502.
- [9] Bromirski, P.D., Sergienko, O.V., and MacAyeal, D.R. 2010. "Transoceanic Infragravity Waves Impacting Antarctic Ice Shelves". *Geophys. Res. Lett.* 37. L02502

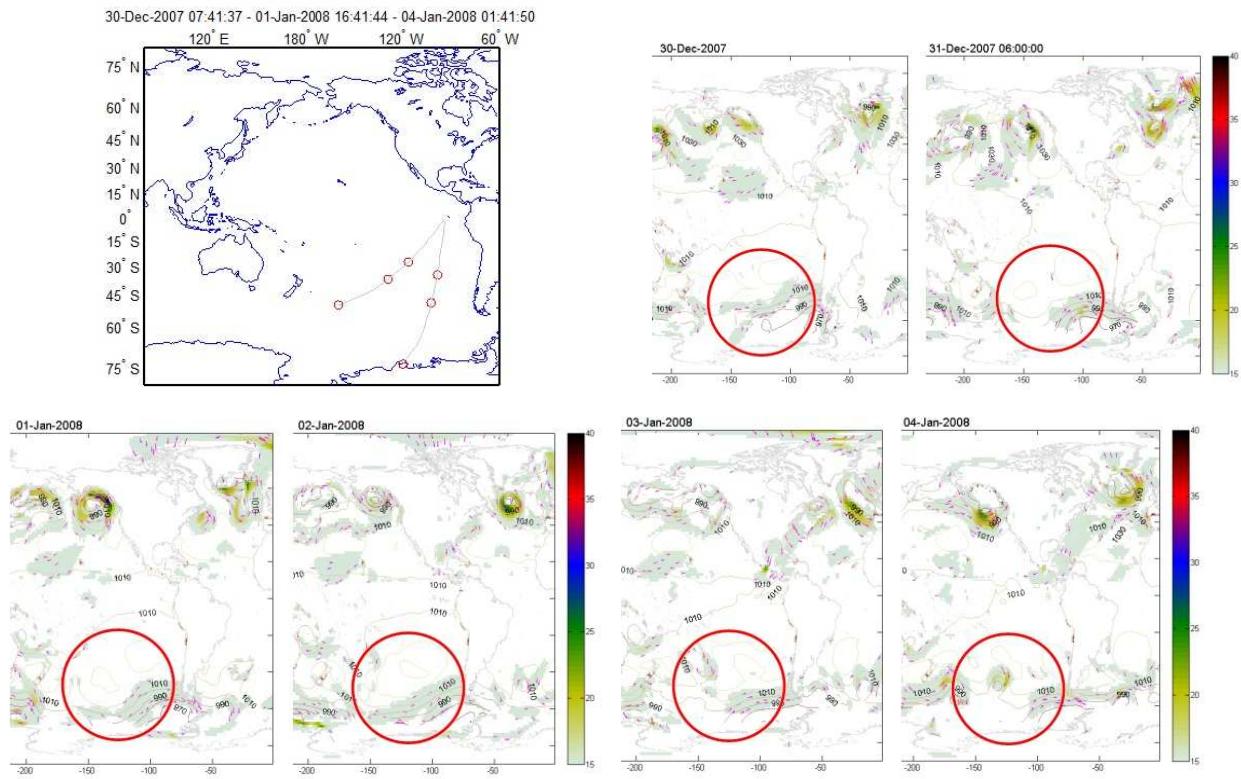
- [10] Collard, F., Ardhuin, F., and Chapron, B. 2009. "Routine Monitoring and Analysis of Ocean Swell Fields Using a Spaceborne SAR". *J. Geophys. Res.* 114.
- [11] GlobWave Project. 2012. "Demo Products, Fireworks". [http://www.globwave.org/Products/Demo-Products/Fireworks \(online\)](http://www.globwave.org/Products/Demo-Products/Fireworks)
- [12] Delpéy, M.T., Ardhuin, F., Collard, F., and Chapron, B. 2010. "Space-Time Structure of Long Ocean Swell Fields". *J. Geophys. Res.* 115.
- [13] Portilla, J., Ocampo-Torres, F.J., Monbaliu, J. 2009. "Spectral Partitioning and Identification of Wind-Sea and Swell". *J. Atmos. Oceanic Technol.* 26, 107–122.
- [14] ECMWF 2010. IFS Documentation – Cy36r1, Operational implementation 26 January 2010, PART VII: ECMWF WAVE MODEL. <http://www.ecmwf.int/research/ifsdocs/CY36r1/WAVES/IFSPart7.pdf>, 2011.
- [15] WAMDI group: Hasselmann, S., Hasselmann, K., Bauer, E., Janssen, P.A.E.M., Komen, G.J., Bertotti, L., Lionello, P., Guillaume, A., Cardone, V.C., Greenwood, J.A., Reistad, M., Zambresky L., Ewing J.A. 1988. "The WAM Model - a Third Generation Ocean Wave prediction Model". *J. Phys. Oceanogr.* 18, 1775–1810.
- [16] Komen, G. J., Cavaleri, L., Donelan, M. A., Hasselmann, K., Hasselmann S. and Janssen, P. A. E. M. 1994. "Dynamics and Modelling of Ocean Waves". Cambridge University Press, 554 pp.
- [17] WISE Group: Cavalieri, L., Alves, J.H.G.M., Ardhuin, F., Babanin, A.V., Banner, M.L., Belibassakis, K., Benoit, M., Donelan, M.A., Groeneweg, J., Herbers, T.H.C., Hwang, P.A., Janssen, P.A.E.M., Janssen, T., Lavrenov, I.V., Magne, R., Monbaliu, J., Onorato, M., Polnikov, V., Resio, D.T., Rogers, W.E., Sheremet, A., Kee Smith, J., Tolman, H.L., van Vledder, G., Wolf J. and Young, I. R. 2007. "Wave Modelling: The State of the Art". *Progress In Oceanography* 75, 603–674.
- [18] Janssen, P.A.E.M. 2008. "Progress in Ocean Wave Forecasting". *J. Comp. Phys.* 227, 3572–3594.
- [19] Bidlot, J.R. 2012. "Intercomparison of Operational Wave Forecasting Systems Against Buoys: Data from ECMWF, MetO_ ce, FNMOc, MSC, NCEP, MeteoFrance, DWD, BoM, JMA, KMA, Puerto del Estado, DMI". *Technical report*, November 2009 to January 2010, Joint WMO-IOC Technical Commission for Oceanography and Marine Meteorology.
- [20] Hasselmann, S., Brüning, C., Hasselmann, K., and Heimbach, P. 1996. "An Improved Algorithm for Retrieval of Ocean Wave Spectra from Synthetic Aperture Radar Image Spectra". *Journal of Geophysical Research.* 101, 16615–16629.
- [21] Portilla, J. 2011. "Evaluación del Recurso Energético en el Mar Territorial Ecuatoriano (in Spanish), Final Report". Technical report. CD-INOCAR-LOG031-11Guayaquil-Ecuador.

Appendix: Output results

Wave event of 04-Jan-2008: The atmospheric event that causes this wave event is pointed to the southern part of Chile. Actually this event starts around the 24-Dec-2007 and stays around until the 29-Dec-2007. It can be seen that the storm itself is moving and rotating in the domain indicated by the detection algorithm.

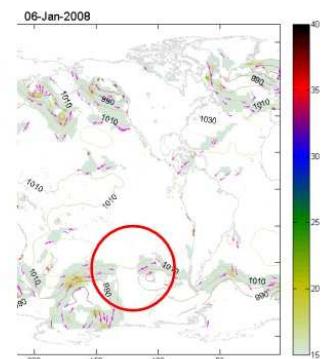
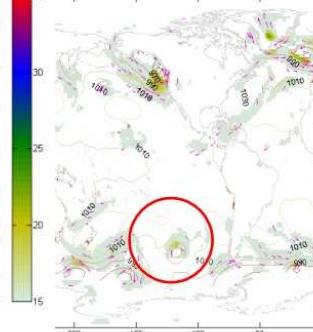
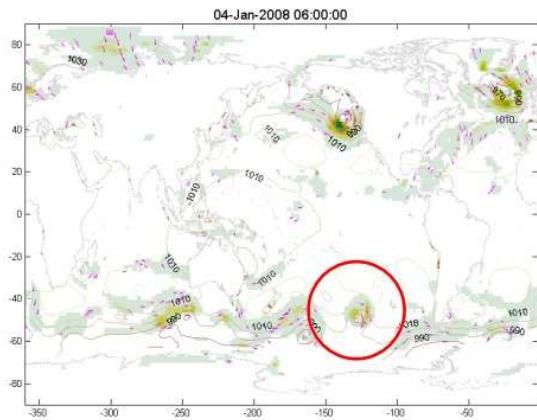
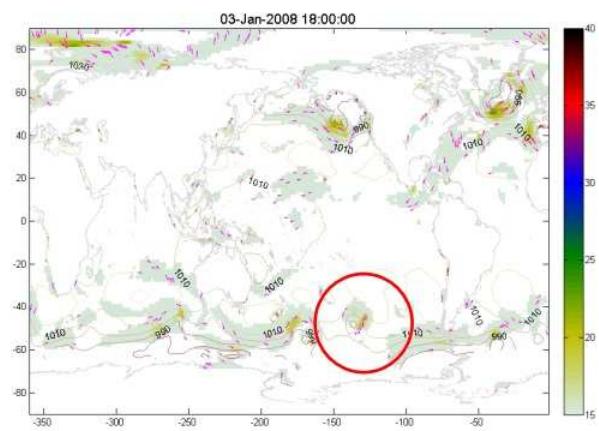
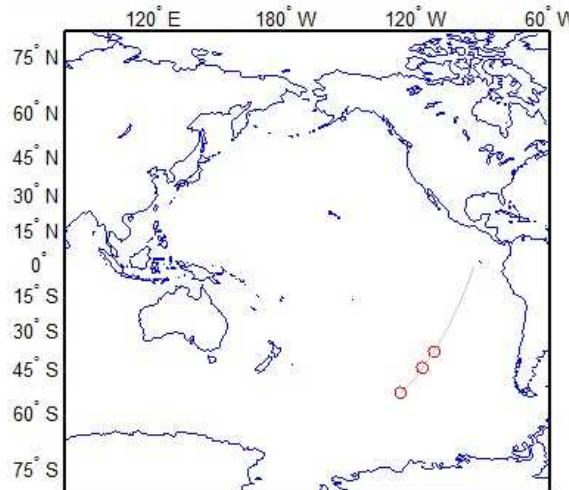


Wave event of 09-Jan-2008: The event of 09-Jan-2008 is of a relatively low magnitude (H_{m0} , 0.8m, figure 2). The ranges of directions and distances are wide, but correspond well with the domain in which the atmospheric event is taking place. In addition, the range of the originating time is consistent since this storm last some days within the calculated period.

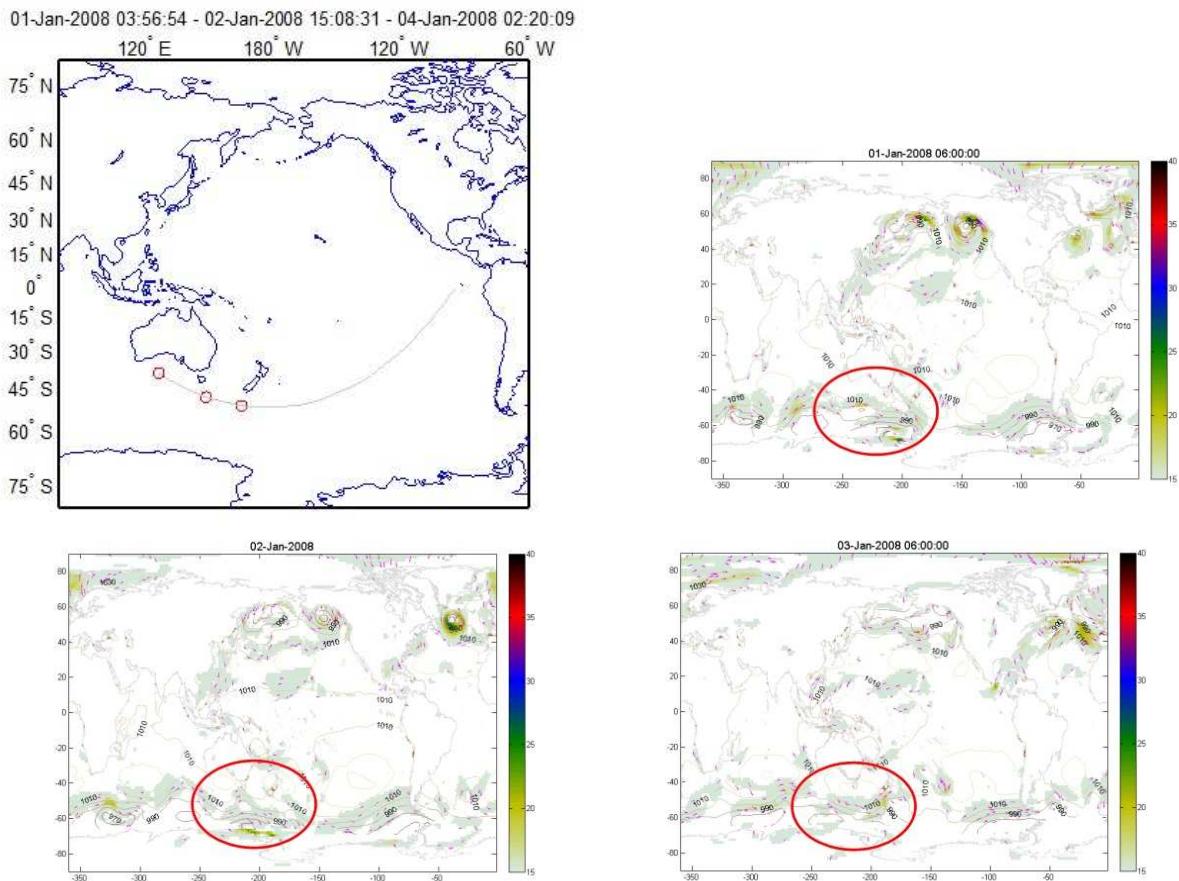


Wave event of 11-Jan-2008: This event is caused by a cyclonic storm of low magnitude in the south of Chile. The event itself in the Equatorial region is relatively low ($H_s \sim 0.8\text{m}$, figure 4). It can be seen from the figures, that in this case, the storm is relatively static at those coordinates. Therefore, at the arrival location, the direction of the waves is also constant, and the uncertainty in the distance is lower than that of the previous case.

03-Jan-2008 16:27:13 - 04-Jan-2008 22:01:31 - 06-Jan-2008 03:35:49

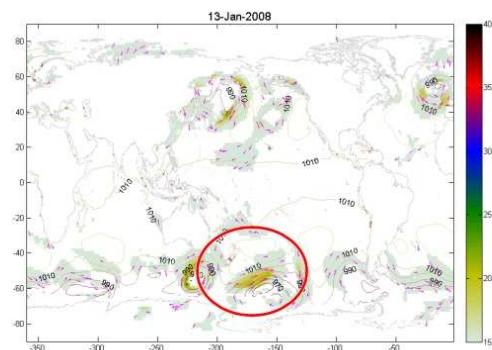
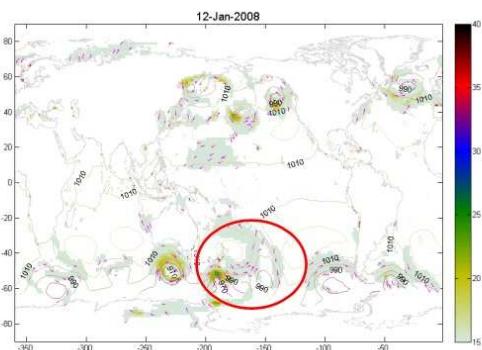
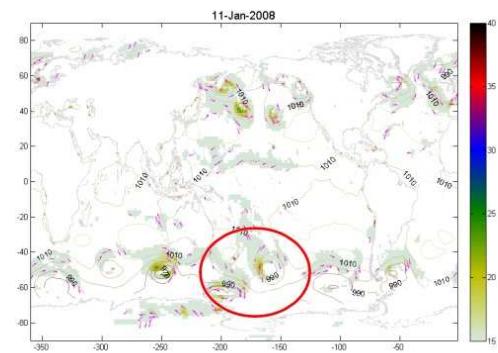
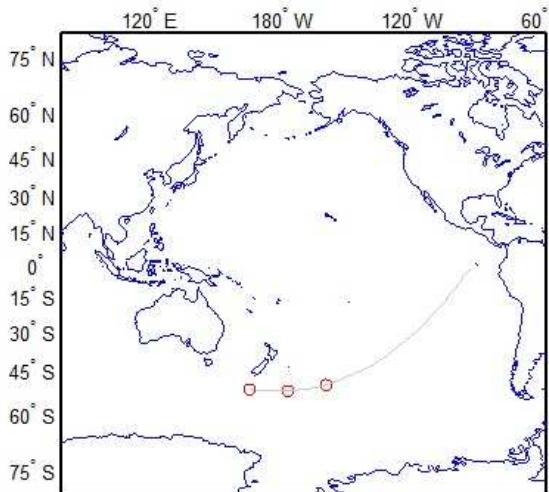


Wave event of 15-Jan-2008: This event is produced by a moderate storm in the southern part of Australia. The duration of that storm is relatively long, and extends even beyond the calculated time 4-Jan-2008, until the 8-Jan-2008. Those waves arrive also to the Equatorial Pacific (around the 9-Jan-2008) as a separate event. However this last event is not analyzed because it is composed only by 2 clusters of data points. The low uncertainty in the direction is due to two facts, one because the storm is relatively static, and second because it is produced quite far and therefore other wave directions have moved to their places due to dispersion.



Wave event of 21-Jan-2008: This event is the largest in the time series for that month ($H_s \sim 1.7\text{m}$, figure 4). It can be seen that actually two storm systems occur in the same period in the southeast part of Australia (and New Zealand). The waves produced in the more westerly storm arrive few days later and show up in the time series as a different event, although some waves of those events start arriving within the 24th and the 25th January.

11-Jan-2008 07:16:43 - 12-Jan-2008 08:59:24 - 13-Jan-2008 10:42:06



Detección y Agrupación de Logos

Luis Miguel Prócel^{1*} y Vicent Casellas²

¹Colegio de Ciencias e Ingenierías –El Politécnico–, Universidad San Francisco de Quito

Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador

²Departamento de Tecnologías de la Información y las Comunicaciones, Universitat Pompeu Fabra

Tànger 122-140, Edifici Tànger (Campus de la Comunicació-Poblenou), Barcelona-España

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: lprocel@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: R. Játiva, M.Sc.

Recibido/Received: 03/25/2012. Aceptado/Accepted: 05/19/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

In this paper we develop an algorithm for logo detection and grouping in images. For logo detection, the “Scale-Invariant Feature Transform” (SIFT) descriptor is used, which is one of the most studied and used in pattern recognition in the fields of image analysis and computer vision. We have developed a geometric algorithm for grouping and counting the detected logos. This algorithm is based on the so-called “Geometric Hashing” algorithm. Finally, we perform some tests in order to analyze the robustness of the algorithm.

Keywords. Logo detection and grouping, SIFT descriptor, Geometric Hashing algorithm

Resumen

En el presente trabajo se desarrolla un algoritmo para la detección y agrupación de logos en imágenes. Para la detección de logos se usa el descriptor “Scale-Invariant Feature Transform” (SIFT) que es uno de los más estudiado y usado en la detección de patrones en los campos de análisis de imágenes y visión por computadora (computer vision). Luego, se desarrolla un algoritmo geométrico para la agrupación y el conteo de los logos detectados. Este algoritmo se basa en el algoritmo llamado “Geometric Hashing”. Finalmente, se realizan pruebas para analizar la robustez del algoritmo.

Palabras Clave. Detección y agrupamiento de logos, descriptor SIFT, algoritmo Geometric Hashing.

Introducción

La detección de patrones es uno de los temas más estudiados en los campos de análisis de imágenes y visión por computadora. En particular, la detección de logos es una herramienta que puede ser usada por empresas audiovisuales y de publicidad. Por ejemplo, dichas empresas pueden facturar por el tiempo de aparición de un logo en un partido de fútbol o en una conferencia de prensa.

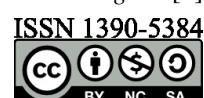
En general el proceso para la detección de patrones consiste en:

1. Detectar regiones de interés en una imagen de prueba (donde se quiere detectar los patrones). Se asocia a cada región un punto de interés o *keypoint*.
2. Asociar un descriptor a cada región detectada

3. Comparar y parear los descriptores de la imagen de prueba con descriptores de patrones que queremos detectar. En el presente trabajo los patrones que queremos detectar son logos comerciales.

La importancia de elegir un detector y un descriptor radica en la robustez de estos para detectar regiones que han sufrido transformaciones de similitud (rotación, traslación y escalamiento) y afines (se pierden los ángulos rectos pero se mantiene el paralelismo). Cuando solamente existen transformaciones de similitud en una imagen, un buen método para detección de logos es el uso de momentos segundo orden invariantes a este tipo de transformación como los de Hu [1] [2].

Para transformaciones afines, existen algunos tipos de detectores que son invariantes a este tipo transformación como son: *Harris-Affine* y *Hessian-Affine* [3], *Edge-Based Region* [3], *Intensity Extrema-based Region* [3], *Maximally Stable Extremal Region* [3], *Salient Region* [3]



y *Scale-Invariant Feature Transform Detector* (detector SIFT) [4]. Uno de los descriptores más robusto a este tipo de transformaciones es el *Scale-Invariant Feature Transform Descriptor* (descriptor SIFT) [4]. En el presente trabajo se usa algunos de los detectores arriba mencionados y sobre los *keypoints* de cada región de interés, se aplica el descriptor SIFT.

Finalmente, los *keypoints* de la imagen de prueba que fueron pareados con el logo, deben ser agrupados para concluir que efectivamente existe la presencia de dicho logo. Para la agrupación de los *keypoints* se desarrolla un algoritmo geométrico basado en el llamado *Geometric Hashing Algorithm* [5].

Metodología

El detector y descriptor SIFT

El detector SIFT

Para aplicar el detector SIFT se usa el llamado espacio de escalas en una imagen (*scale space*) el cual se define como la siguiente convolución:

$$L(x, y, \sigma) = G(x, y, \sigma) * I(x, y) \quad (1)$$

donde $I(x, y)$ la imagen y $G(x, y, \sigma)$ es una función Gaussiana bidimensional:

$$G(x, y, \sigma) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} \exp\left(-\frac{x^2 + y^2}{2\sigma^2}\right) \quad (2)$$

Para obtener *keypoints* estables en el espacio de escalas se usa la Diferencia de Gaussianas (*difference-of-Gaussian* o DOG):

$$\begin{aligned} D(x, y, \sigma) &= (G(x, y, k\sigma) - G(x, y, \sigma)) * I(x, y) \\ &= L(x, y, k\sigma) - L(x, y, \sigma) \end{aligned} \quad (3)$$

donde k es un valor constante.

Las imágenes convolucionadas son agrupadas en octavas. Cada octava está separada por escalas de 2σ . Para definir las imágenes en octavas superiores se muestrea la imagen tomando los pixeles pares e impares en cada fila y columna [4].

Con el set de imágenes definido en cada octava, se localiza puntos extremos. Para esto, cada punto se compara con sus 8 vecinos en la misma escala y con sus nueve vecinos en las escalas superior e inferior. Si los puntos son más grandes o pequeños que todos sus vecinos, se ha detectado un candidato a *keypoint*. Luego de una interpolación de la posición y evaluación del contraste de los candidatos, se obtienen los *keypoints* definitivos [4]. Finalmente se determina para cada pixel vecino de cada *keypoint* en su escala, el valor del gradiente y su orientación usando las siguientes expresiones:

$$m(x, y) = \sqrt{(L(x+1, y) - L(x-1, y))^2 + (L(x, y+1) - L(x, y-1))^2} \quad (4)$$

$$\theta(x, y) = \tan^{-1} \left(\frac{L(x, y+1) - L(x, y-1)}{L(x+1, y) - L(x-1, y)} \right) \quad (5)$$

La orientación de cada vecino es almacenada en un histograma ponderado con una gaussiana circular de σ igual

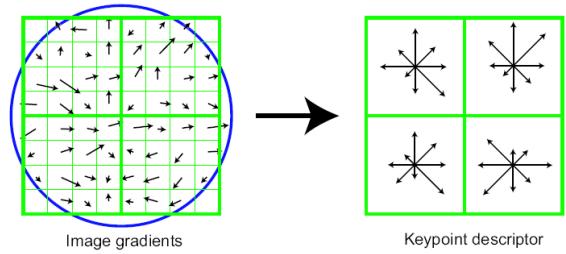


Figura 1: Ejemplo de cómo computar el descriptor SIFT. La magnitud y orientación del gradiente son ponderados por una ventana circular Gaussiana (círculo en azul) en la imagen de la izquierda. En este caso, la región es dividida en 4 subregiones. El histograma de la orientación del gradiente se muestra en la imagen derecha. El tamaño del descriptor es $4 \times 8 = 32$. Esta figura fue tomada de [4].

a 1.5 veces la escala del *keypoint*. El pico máximo es medido y asignado al *keypoint* como su orientación. Este tipo de computo hace que los *keypoints* sean invariantes a transformaciones afines [4].

El descriptor SIFT

Una vez determinada la posición, la escala y la orientación de cada *keypoint*, la magnitud y orientación del gradiente de cada pixel alrededor del *keypoint* es computado. Estas mediciones se realizan en la escala del *keypoint* [4]. Una función Gaussiana con σ igual a 0.5 veces la escala del *keypoint* es usada para ponderar estos valores. La ventana formada por esta Gaussiana es dividida en 16 subregiones [4]. En cada subregión, un histograma de las orientaciones ponderado por sus magnitudes es calculado. El tamaño de este histograma es 8 bins. Al final se obtiene un vector de $16 \times 8 = 128$ elementos conformado por estos histogramas [4]. La figura 1 muestra un ejemplo de este descriptor. Este descriptor puede ser usado con otros detectores afines aplicando un proceso de normalización sobre las regiones de interés [6].

El proceso de correspondencia con el descriptor SIFT

Para cada descriptor en la imagen de prueba, se calcula su distancia con respecto a todos los descriptores en la imagen del logo. Se selecciona la distancia más pequeña y la segunda más pequeña y se computa el radio entre ellas. Este radio es comparado con un valor umbral y se rechaza los pareamientos mayores este valor. El valor umbral sugerido por [4] es 0.8. Esto se puede representar como:

$$\begin{cases} \frac{\text{smallest}}{\text{next-smallest}} > 0,8 & \text{se rechaza el pareamiento} \\ \frac{\text{smallest}}{\text{next-smallest}} \leq 0,8 & \text{se acepta el pareamiento.} \end{cases} \quad (6)$$

El algoritmo de Geometric Hashing

El algoritmo de *Geometric Hashing* enfoca el reconocimiento de objetos como un problema de correspondencia [5]. Este algoritmo es del tipo hipótesis y prueba. Se necesita tres pasos para su aplicación:

- Generar una hipótesis acerca de la correspondencia entre las características de la imagen y una colección de características de objetos. Usualmente se realiza una hipótesis acerca de la proyección del objeto en la imagen de prueba.
- Usar esta hipótesis para formar el objeto que deseamos buscar. Este paso se llama proyección hacia atrás.
- Comparar el objeto formado con la hipótesis, con las proyecciones del objeto en la imagen de prueba para rechazar o aceptar la hipótesis.

Invariantes afines para puntos coplanares

Se asume que el modelo está compuesto por un set de puntos coplanares. Si se escogen tres de estos puntos \mathbf{P}_0 , \mathbf{P}_1 y \mathbf{P}_2 como un sistema de referencia, cualquier otro punto \mathbf{P}_i puede ser expresado en términos de este sistema usando la siguiente combinación lineal [5]:

$$\mathbf{P}_i = \mathbf{P}_0 + u_{i1}(\mathbf{P}_1 - \mathbf{P}_0) + u_{i2}(\mathbf{P}_2 - \mathbf{P}_0) \quad (7)$$

donde u_{ij} son las coordenadas en el nuevo sistema.

Los puntos de este modelo, \mathbf{P}_i , pueden proyectarse para obtener los puntos de la imagen \mathbf{p}_i . Si se define a la cámara como ζ , se tiene que la relación entre los puntos es: $\mathbf{p}_i = \zeta \mathbf{P}_i$. Entonces se puede aplicar para los puntos del objeto proyectado en la imagen [5]:

$$\mathbf{p}_i = \mathbf{p}_0 + u'_{i1}(\mathbf{p}_1 - \mathbf{p}_0) + u'_{i2}(\mathbf{p}_2 - \mathbf{p}_0) \quad (8)$$

Esto significa que este tipo de medidas son invariantes afines.

Algoritmo invariante afín

En este algoritmo, las entradas de datos son puntos paralelos entre la imagen del objeto (patrón) y la imagen de prueba. Un punto específico en la imagen del objeto, \mathbf{P}_i , puede tener más de una correspondencia en la imagen de prueba, \mathbf{p}_{ij} , como se puede ver en la figura 2.



Figura 2: Entrada de datos para el Algoritmo de Geometric Hashing. Izquierda: imagen del logo. Derecha: imagen de prueba

El algoritmo de Geometric Hashing es un algoritmo de votos que consiste en [5]:

- Para todas las combinaciones de tres puntos en la imagen del objeto, \mathbf{P}_i , \mathbf{P}_j y \mathbf{P}_k . Estos puntos serán los sistemas de referencia.

- Para todas las combinaciones de tres puntos, \mathbf{P}_{ir} , \mathbf{P}_{js} y \mathbf{P}_{kt} , en la imagen de prueba que corresponden a los tres puntos de la imagen del objeto, \mathbf{P}_i , \mathbf{P}_j y \mathbf{P}_k . Estos puntos serán los sistemas de referencia en la imagen de prueba.
- Los votos son reiniciados a cero para este sistema de referencia.
 - Se computa las coordenadas u_{i1} y u_{i2} .
 - Se computa las coordenadas u'_{ir1} y u'_{ir2} .
 - Si el valor u_{i1} y u'_{ir1} son similares y lo mismo sucede para u_{i2} y u'_{ir2} , se incrementa el número de votos.
- Se cuenta el número de votos para el sistema de referencia. Si hay suficientes votos, el sistema \mathbf{P}_{ir} , \mathbf{P}_{js} y \mathbf{P}_{kt} y todos los puntos que tienen coordenadas similares pertenecen al mismo objeto.

Modificaciones geométricas al algoritmo de Geometric Hashing

Para mejorar la detección y agrupamiento de objetos, algunas consideraciones geométricas se incluyen en el algoritmo de *Geometric Hashing*. Estas condiciones son: radios de áreas, factor de escalamiento entre longitudes y posición del baricentro.

Condición del radio entre áreas

Si dos regiones A' y B' son obtenidas por la aplicación de la misma transformación afín a dos regiones A y B se tiene:

$$\frac{\text{area}(A')}{\text{area}(B')} = \frac{\text{area}(A)}{\text{area}(B)} \quad (9)$$

En el algoritmo modificado, se escoge dos triángulos en la imagen del logo (estos triángulos pueden compartir el mismo lado o un vértice). El primer triángulo está formado por los puntos \mathbf{P}_i , \mathbf{P}_j y \mathbf{P}_k , mientras que el segundo por los puntos \mathbf{P}_l , \mathbf{P}_m y \mathbf{P}_n . En la imagen de prueba, el triángulo \mathbf{p}_{ir} , \mathbf{p}_{js} , \mathbf{p}_{kt} corresponde al primer triángulo y el triángulo \mathbf{p}_{lu} , \mathbf{p}_{mv} , \mathbf{p}_{nw} tiene correspondencia con el segundo. Se aceptan triángulos que cumplan con:

$$\text{abs}\left(\frac{\text{area}(\mathbf{P}_i, \mathbf{P}_j, \mathbf{P}_k)}{\text{area}(\mathbf{P}_l, \mathbf{P}_m, \mathbf{P}_n)} - \frac{\text{area}(\mathbf{p}_{ir}, \mathbf{p}_{js}, \mathbf{p}_{kt})}{\text{area}(\mathbf{p}_{lu}, \mathbf{p}_{mv}, \mathbf{p}_{nw})}\right) \leq \epsilon_1 \quad (10)$$

donde $\epsilon_1 = 0,1$ en este trabajo.

Condición de longitud

Para mejorar la correspondencia, se necesita definir un factor de escala entre las longitudes de los lados de los triángulos debido a que el tamaño del logo puede ser diferente en la imagen de prueba. El factor de escala está definido por:

$$F = \sqrt{\frac{1}{2} \frac{\text{area}(\mathbf{P}_i, \mathbf{P}_j, \mathbf{P}_k)}{\text{area}(\mathbf{P}_l, \mathbf{P}_m, \mathbf{P}_n)} + \frac{1}{2} \frac{\text{area}(\mathbf{p}_{ir}, \mathbf{p}_{js}, \mathbf{p}_{kt})}{\text{area}(\mathbf{p}_{lu}, \mathbf{p}_{mv}, \mathbf{p}_{nw})}} \quad (11)$$

Se aceptan triángulos que cumplan con la siguientes condiciones:

$$\begin{aligned} \text{abs} \left(\max(\overline{\mathbf{P}_i \mathbf{P}_j}, \overline{\mathbf{P}_i \mathbf{P}_k}, \overline{\mathbf{P}_j \mathbf{P}_k}) \right. \\ \left. - F \times \max(\overline{\mathbf{P}_{ir} \mathbf{P}_{js}}, \overline{\mathbf{P}_{ir} \mathbf{P}_{kt}}, \overline{\mathbf{P}_{js} \mathbf{P}_{kt}}) \right) \leq \epsilon_2 \end{aligned}$$

y

$$\begin{aligned} \text{abs} \left(\max(\overline{\mathbf{P}_l \mathbf{P}_m}, \overline{\mathbf{P}_l \mathbf{P}_n}, \overline{\mathbf{P}_m \mathbf{P}_n}) \right. \\ \left. - F \times \max(\overline{\mathbf{P}_{lu} \mathbf{P}_{mv}}, \overline{\mathbf{P}_{lu} \mathbf{P}_{nw}}, \overline{\mathbf{P}_{mv} \mathbf{P}_{nw}}) \right) \leq \epsilon_2 \quad (12) \end{aligned}$$

donde $\epsilon_2 = 5$ en el presente trabajo.

Condición del baricentro

Para asegurarse que el par de triángulos pertenece al mismo logo, se mide la distancia entre los baricentros de los pares de triángulos en el logo y en la imagen de prueba, y se aceptan pares que cumplan con:

$$\begin{aligned} \text{abs} \left(\text{dist} \left(\text{bar}(\mathbf{P}_i, \mathbf{P}_j, \mathbf{P}_k), \text{bar}(\mathbf{P}_l, \mathbf{P}_m, \mathbf{P}_n) \right) \right. \\ \left. - \text{dist} \left(\text{bar}(\mathbf{P}_{ir}, \mathbf{P}_{js}, \mathbf{P}_{kt}), \text{bar}(\mathbf{P}_{lu}, \mathbf{P}_{mv}, \mathbf{P}_{nw}) \right) \right) \leq \epsilon_2 \quad (13) \end{aligned}$$

donde la función $\text{dist}(\mathbf{P}_1, \mathbf{P}_2)$ entrega la distancia entre los puntos \mathbf{P}_1 y \mathbf{P}_2 , la función $\text{bar}(\mathbf{P}_i, \mathbf{P}_j, \mathbf{P}_k)$ entrega el baricentro del triángulo $\mathbf{P}_i, \mathbf{P}_j, \mathbf{P}_k$ y $\epsilon_2 = 5$ en este trabajo.

Resultados

Para el presente trabajo se usaron *keypoints* obtenidos por los detectores SIFT [4], Harris Affine [3], Hessian Affine [3] y Maximally Stable Extremal Region [3]. Sobre los *keypoints* calculados se aplica el descriptor SIFT. Luego se realiza el proceso de correspondencia entre los *keypoints* de la imagen de prueba y los *keypoints* de la imagen del logo. Finalmente, se aplica el algoritmo de *geometric Hashing* con las modificaciones geométricas ya explicadas. Para las pruebas de robustez del algoritmo de agrupamiento, a la imagen de prueba se le realiza los siguientes cambios:

- modificación de su histograma para obtener imágenes oscuras y brillantes,
- convolución con una Gaussina para obtener imágenes desenfocadas,
- adición de ruido Gaussiano, y
- transformación afín para cambiar la forma de la imagen.

A continuación se muestra los resultados:



Figura 3: Imagen de prueba original.



Figura 4: Resultado de la aplicación del algoritmo de agrupación en la imagen de prueba original (sin ninguna modificación).

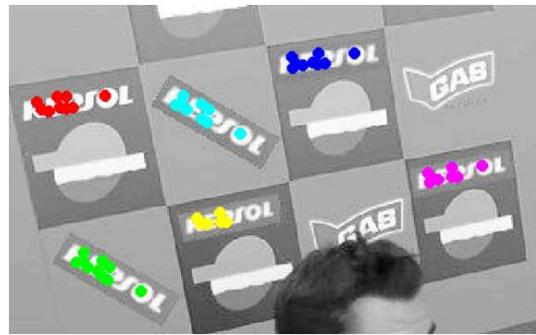


Figura 5: Aplicación del algoritmo sobre la imagen de prueba modificada su histograma.

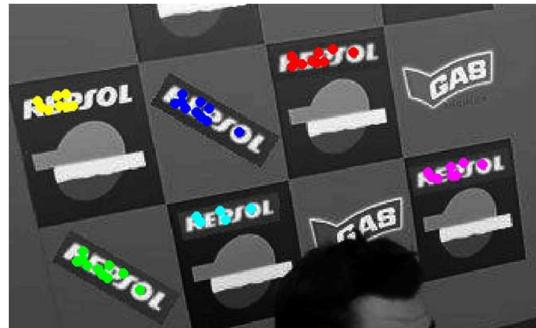


Figura 6: Aplicación del algoritmo sobre la imagen de prueba modificada su histograma.

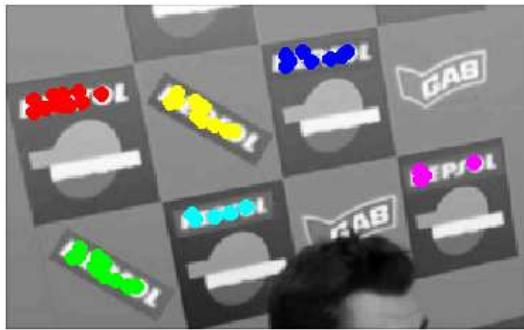


Figura 7: Aplicación del algoritmo sobre la imagen de prueba cambiada su escala. La escala es 0,85 veces el tamaño original.

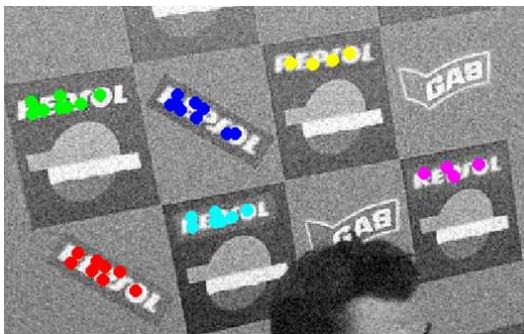


Figura 8: Aplicación del algoritmo sobre la imagen añadida ruido. Se añadió ruido Gaussiano de $\sigma = 15$.

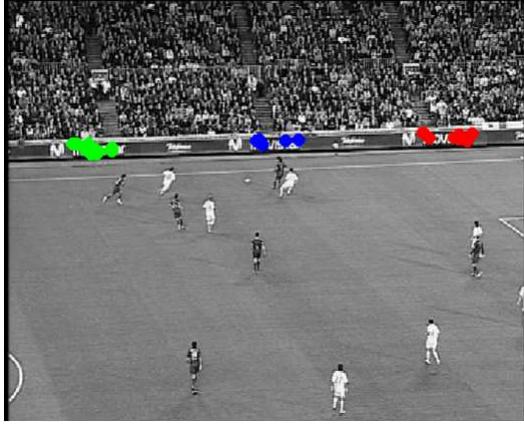


Figura 9: Aplicación del algoritmo sobre un frame de un partido de fútbol. Los 3 logos de "Movistar" fueron detectados.

Conclusiones

Debido a la naturaleza combinatoria del algoritmo, para aplicaciones en tiempo real se debe considerar programar en lenguajes no interpretativos. Este algoritmo es muy sensible a la cantidad de *keypoints* detectados. Para mejorar la eficacia del mismo, se debe usar no solamente los *keypoints* que son resultado del detector SIFT, sino de otros detectores afines y a todos ellos aplicarles el descriptor SIFT. La falta de *keypoints* es el motivo más importante para no detectar un logo con el algoritmo presentado. Este inconveniente se presentó cuando se aplicaron condiciones extremas a la imagen de prueba (mucho ruido, desenfoque alto, imagen muy oscura).

o brillante, etc.). Las pruebas para medir la robustez del algoritmo fueron satisfactorias en condiciones normales.

Referencias

- [1] Hu, M. 1962. "Visual Pattern Recognition by Moment Invariants". *IRE Trans. Information Theory*. 2(IT - 8), 179 – 187.
- [2] Pratt, W. 2007. "Digital Image Processing", Willey, 4th edition.
- [3] Mikolajczyk, K., Tuytelaars, T., Schmid, C., Zisserman, A., Matas, J., Schaffalitzky, F., Kadir, T., and Van Gool, L. 2005. "A Comparison of Affine Region". *International Journal of Computer Vision*. 65(1 - 2), 43 – 72.
- [4] Lowe, D. 2004. "Distinctive Image Features from Scale-invariant Keypoints". *International Journal on Computer Vision*. 60(2), 91 – 110.
- [5] Forsyth, D. and Ponce, J. 2002. "Computer Vision: A Modern Approach", Prentice Hall.
- [6] Mikolajczyk, K. and Schmid, C. 2003. "A Performance Evaluation of Local Descriptors". *Proceedings of IEEE Conference on Computer Vision and Pattern*.

AVANCES

EN CIENCIAS E INGENIERÍAS
ARTÍCULO/ARTICLE

SECCIÓN/SECTION C

Ultra Thin Depleted Silicon On Insulator MOSFET: a simulation based on COMSOL Multiphysics

José Bustamante^{1,*} y Lionel Trojman¹

¹Colegio de Ciencias e Ingenierías –El Politécnico–, Universidad San Francisco de Quito,
Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador.
^{*}Autor principal/Corresponding author, e-mail: bustamanteg@gmail.com

Editado por/Edited by: R. Játiva, M.Sc.

Recibido/Received: 06/01/2012. Aceptado/Accepted: 06/20/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

We use the MOS transistor model from COMSOL [1] as a template to develop our own UT-FD-SOI-MOSFET with an ultra thin geometry(Channel thickness = 10nm). SOI-MOSFETs are used to reduce short channel effect problems in actual MOSFET structures and to enable further miniaturization. Our model shows a linear dependence of the front Threshold Voltage with the Back Gate Voltage, which has been reported experimentally by [2] and theoretically by [3].

Keywords. UT-FD-SOI-MOSFET, Modeling, COMSOL Multiphysics, Threshold Voltage.

Resumen

Usamos el modelo de un transistor MOS de COMSOL [4] para desarrollar un nuevo modelo de un SOI-MOSFET completamente agotado y ultra delgado (profundidad de canal de 10nm). Los dispositivos MOSFET de Silicio en Aislante (Silicon On Insulator SOI-MOSFET) son utilizados para reducir los efectos de canal corto en estructuras MOSFET y lograr nuevos umbrales de miniaturización de los transistores. Nuestro modelo muestra una dependencia lineal del voltaje de umbral frontal con respecto al voltaje de compuerta posterior. Resultados similares se han reportado experimentalmente por [4] y teóricamente por [5].

Palabras Clave. SOI-MOSFET, Modelado Computacional, COMSOL Multiphysics, Voltaje de Umbral.

Introduction

MOSFET devices are the heart of modern microelectronics. The scaling of MOSFET transistor has followed Moore's law during the past 40 years [4], that is, the number of transistors per chip is increased at a rate of a factor of two every two years. However difficulties in transistor scaling caused the semiconductor community to slow down the miniaturization rate [5]. The main problem MOSFETs have when their size is very small is the presence of Short Channel Effects (SCE). We will consider two short channel phenomena: 1)Threshold Voltage is not constant with the channel length (Threshold Voltage Roll-Off) and 2)drain voltage causes a barrier lowering on the gate (Drain Induced Barrier Lowering or DIBL). To understand the Threshold Voltage Roll-Off we can imagine a long channel device and as the channel length is reduced, the potential in the channel is also reduced due to the diffusion of the junc-

tion, hence less voltage is needed to produce an inversion layer [6]. The second effect is DIBL, in small devices, the fields produced by the gate add up to the field produced by the drain: the drain voltage influences the charge on the oxide-silicon interface. The DIBL is a degradation of the channel potential due to the drain bias. As a result of these effects, the current grows and the transistor consumes too much power in the off-state. If the off-state current increases and approaches the on-state current, the two states are difficult to distinguish and control over the device is lost. It is desirable to have a mechanism that controls the threshold voltage. A possible solution to this problem is given by the Silicon On Insulator (SOI) technology. A back gate is introduced into the architecture of the device as can be seen in Figure 1, and the threshold voltage can be controlled by the Back Gate Voltage V_{GB} .

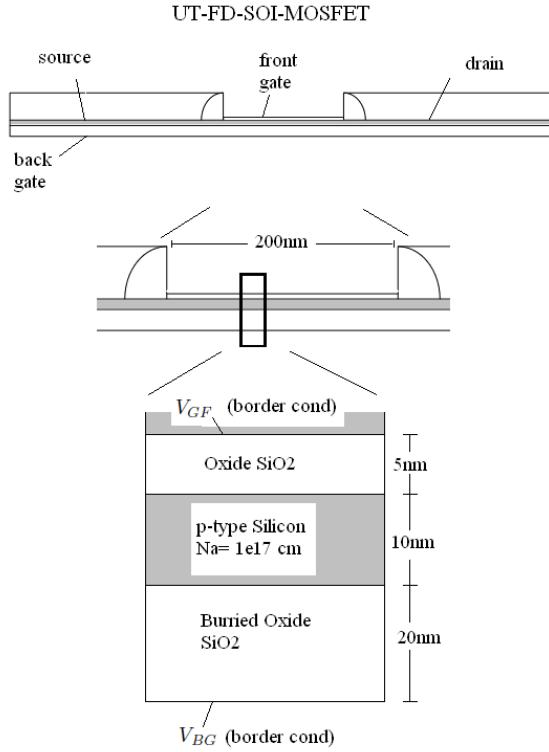


Figure 1: Device architecture. The broad picture of the geometry is described. In the gate there is a front oxide, a Silicon channel, and a back oxide. The front and back gate voltages are boundary conditions, and the polysilicon is not simulated.

We model the device using the equation of Poisson, coupled with the equations of diffusion and convection of electrons and holes. The model produces, in addition to qualitative phenomena as the creation of a channel, the intended Current-Voltage characteristics of a SOI-MOSFET and a linear dependence of V_{th} with V_{GB} . Throughout this work we will consider a n-channel device.

Methods

We define a system of differential equations which will be solved simultaneously. We solve Poisson's equation for the potential on the transistor ψ , the concentration of electrons n and the concentration of holes p . The initial guess of the simulation will be calculated from a Doping function which defines the doping on the n-type source and drain regions to $N_d = 1 \times 10^{19} \text{ cm}^{-3}$, the doping on the substrate to $N_a = 5 \times 10^{17} \text{ cm}^{-3}$. The transition between the regions is Gaussian. Then, the following equations are solved iteratively to find the ψ , n , p . Poisson's Equation,

$$\nabla \cdot (\epsilon \nabla \psi_p) = -q(p - n - N_a) \quad (1)$$

Drift and diffusion equations

$$J_p = -qp\mu_p \nabla \psi - qD_p \nabla p \quad (2)$$

$$J_n = -qn\mu_n \nabla \psi - qD_n \nabla n \quad (3)$$

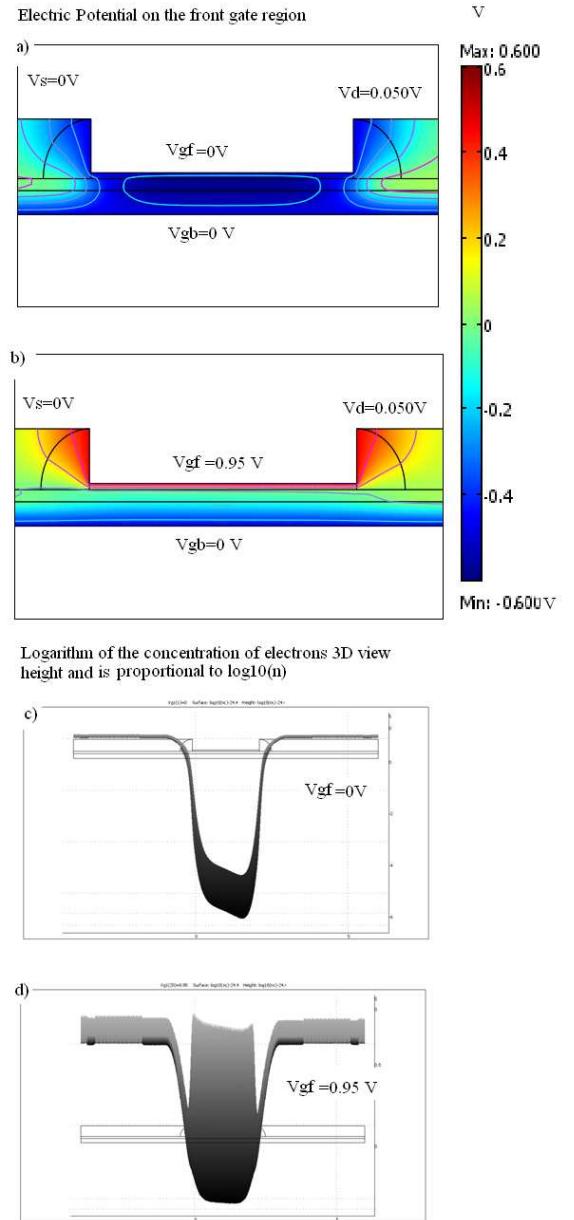


Figure 2: Potential on the front gate region of the device for two different V_{GF} . We set the reference point at $V_s = 0$. a) $V_{GF} = 0\text{V}$ b) $V_{GF} = 0.95\text{V}$. Figures c) and d) are the logarithm of the concentration of electrons for the gate voltages of a) and b). Notice that when $V_{GF} = 0\text{V}$ the concentration of electrons is several orders of magnitude less than when $V_{GF} = 0.95\text{V}$. c) and d) illustrate how a channel is formed.

The concentration of electrons and holes is not constant since there is a recombination rate, which is given by Shokley-Read-Hall coefficient R_{SRH} .

$$-\nabla J_p = qR_{SRH} \quad (4)$$

$$-\nabla J_n = -qR_{SRH} \quad (5)$$

$$R_{SRH} = \frac{\sigma_n \sigma_p v_{th} N_t (pn - n_i^2)}{\sigma_n (n + n_i) + \sigma_p (p + n_i)} \quad (6)$$

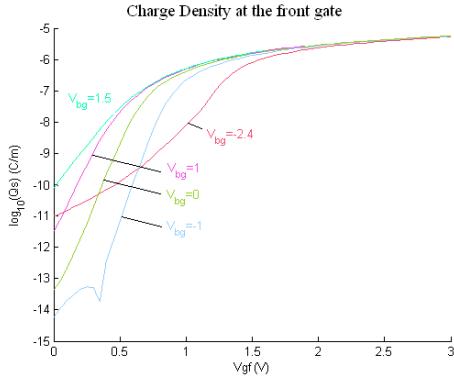


Figure 3: Charge Carrier density at the gate. The charge changes several orders of magnitude due to changes in the V_{GF} . The charge is also influenced by V_{BG}

The geometry used is described in Figure 1. The concentrations on the substrate is $N_a = 5 \times 10^{17} cm^{-3}$ and the concentration on the gate and the source is $N_d = 1 \times 10^{19} cm^{-3}$. The front oxide thickness is 5nm, the silicon channel thickness is 10nm, the back oxide thickness is 20nm. The gate length is 200nm. The actual potential takes into account the electronic affinities of the polysilicon of the gate and the silicon of the bulk, so the potential is not necessarily equal to the gate voltages at the gates. Given the concentrations and the dimensions used, the transistor is Fully Depleted for all the voltages used. This condition is important since the two gates do not interact if the transistor is not fully depleted. For the depletion and the weak inversion regimes, the depletion layer has a width described by equation 7.

$$W_D = -\frac{\epsilon_s}{C_i} + \sqrt{\frac{\epsilon_s^2}{C_i^2} + \frac{2\epsilon_s(V_g - \phi_{ms})}{qN_A}} \quad (7)$$

Using this equation and the data from the model, we obtain that the transistor is fully depleted from $V_{GF} = -0.42V$. For all positive voltages, the silicon region on the transistor does not have holes.

Results

The model provides the potential profile in all the device as can be seen in Figure 2. We can also see that the concentration of electrons increases drastically at the gate when a voltage in the front gate $V_{GF} > V_{th}$ is applied. We are interested on the charge at the gate, since conduction will only happen if an inversion layer is present. We define the charge of the carriers at the gate in Equation 8. We will integrate over the silicon oxide interface boundary, from the drain to the source.

$$Q_s \equiv \int_{gate} q(p - n - N_a) ds \quad (8)$$

where s is the arc length. We integrate at the interface of the oxide using various V_{GB} and we obtain Figure 3. It shows how charge accumulates at the gate and at V_{th} , charge goes up drastically forming a channel.

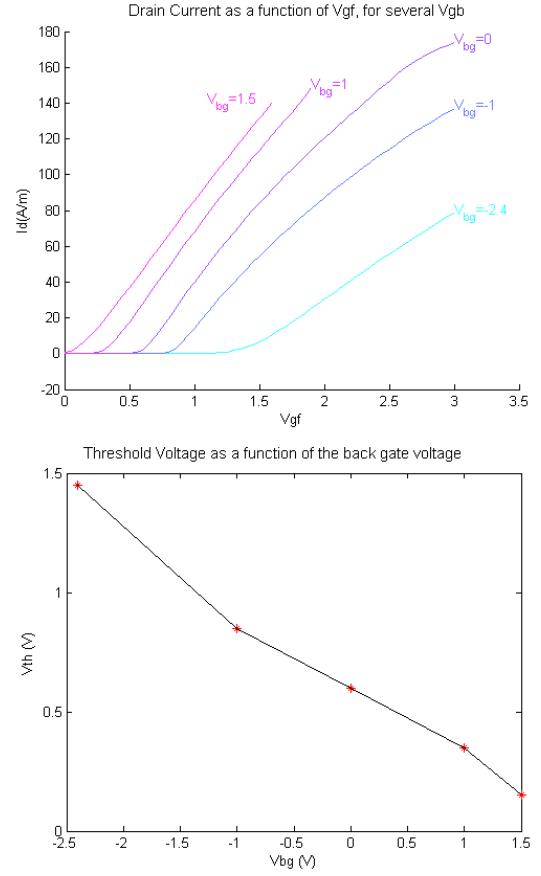


Figure 4: Drain Current as a function of V_{FG} . Notice that the voltage at which the device is turned on can be controlled by V_{BG} . b) Threshold Voltage as a function of the back gate voltage. Note the linear relationship.

The drain current is calculated as $I_d = \int_{drain} (J_n + J_p) ds$. The behavior of the current in a SOI-MOSFET is similar to a regular MOSFET but it has a shift on the voltage axis. As can be seen in the Figure 4, the device turns on at different V_{th} , depending on the V_{GB} applied. We extracted the Threshold Voltage using the Extrapolation in the linear region method [7] for each of the curves presented on Figure 4 to find the dependence of V_{th} on V_{GB} . As can be seen, the relationship is linear. This dependence has been reported experimentally by [2] and theoretically by [3]. Another parameter that we can use to validate the model is the transconductance. We find it using equation 9.

$$g_m = \frac{dI_d}{dV_{GF}} \quad (9)$$

The transconductance measures then the rate of change of the current with respect to the gate voltage. A model for the transconductance has been developed by [8] for regular MOSFETs. The curves obtained in the present work are similar when the channel is not fully depleted, however we can see that the transconductance depends on the back gate voltage when depletion is complete. Figure 5 b suggests that the transconductance peak can be maximized changing V_{BG} .

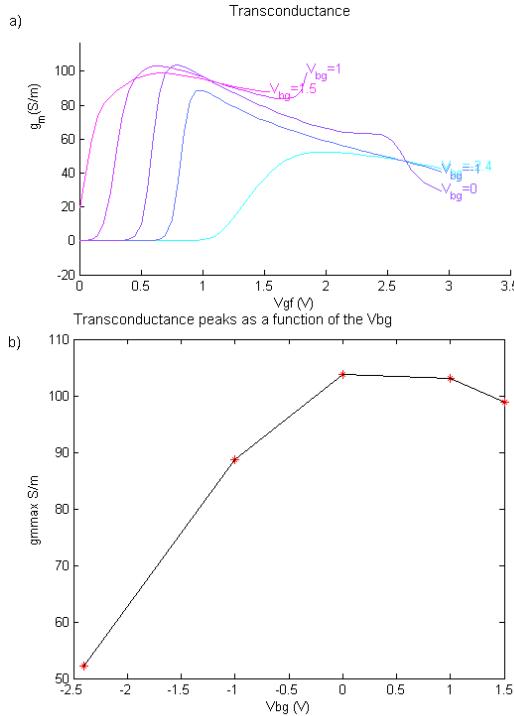


Figure 5: Transconductance of the device. Notice how the peak varies in Figure a) and that is summarized in Figure b)

Conclusions

We have presented a model that simulates an UT-FD-SOI-MOSFET using COMSOL Multiphysics. The model simulates the Electrostatic potential and the drift and diffusion currents on the device using Poisson equation and Drift and Diffusion equations for the charge carriers. We extracted the Threshold Voltage dependence on the back gate voltage and it agrees with experimental results. We have also presented the dependence of the transconductance on the back gate voltage and the basic form agrees with experimental results from a larger SOI-MOSFET. The variation of the transconductance due to the back gate voltage is shown and agrees with the results already reported in literature [9] for larger devices, however that study does not extend to ultra thin transistors. The found relationship between the back gate voltage and the transconductance suggest a dependence of g_m of V_{GB} and that g_m can be maximized using the V_{GB} . The results we have obtained validate the model for the conditions that we have considered.

References

- [1] Multiphysics 2006. "COMSOL Multiphysics Model Library". *TM COMSOL*.
- [2] Ohata, A., Cass, M., and Cristoloveanu, S. 2007. "Front -and back- channel mobility in ultrathin SOI-MOSFETs by front-gate split cv method". *Solid State Electronics*. 5484-5492
- [3] Hyung-Kyu, L. and Fossum, J. 1983. "Threshold voltage of thin-film silicon-on-insulator(sol) MOSFETs". *IEEE Transactions on Electron Devices*. 30. 1244-1251
- [4] Moore, G. 1965. "Cramming more components onto integrated circuits". *Electronics*. 38. 82-85.
- [5] Trojman, L. "Charge Carrier Mobility for Advanced High-metal Gate MOSFET in CMOS Technology" PhD thesis. Katholieke Universiteit Leuven, 2009.
- [6] Lujan, G. "Advanced gate concepts for sub 45nm devices" PhD thesis. IMEC vzw2005.
- [7] Liou, J., Cerdeira, A., Estrada, M., Yue, Y., Ortiz-Conde, A., and García, F. 2002. "A review of recent mosfet threshold voltage extraction methods". *Microelectronics Reliability*. 42, 583 – 596.
- [8] White, M., Sharma, U., and Booth, R. 1989. "Static and Dynamic Transconductance of MOSFET's". *IEEE Transactions on Electron Devices*. 36(5).
- [9] Colinge, J. 1985. "Transconductance of silicon-on-insulator (SOI) MOSFET's". *IEEE Electron Device Letters*.

AVANCES

EN CIENCIAS E INGENIERÍAS

ARTÍCULO/ARTICLE

SECCIÓN/SECTION C

Diseño del Sistema de Producción y Distribución de leche Pasteurizada para la Comunidad Agrícola de San Agustín de Callo en Ecuador

Gabriela Baldeón¹ Gabriela Moreno¹ Daniel Merchán^{1*}

¹Colegio de Ciencias e Ingenierías –El Politécnico– Universidad San Francisco de Quito

Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador.

Autor Principal/Corresponding Author, e-mail: dmerchan@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: X. Córdova, Ph.D.

Recibido/Received: 05/25/2012. Aceptado/Accepted: 06/21/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 06/30/2012. Impreso/Printed: 06/30/2012.

Abstract

This study was carried out in the milk producers association of the Community of San Agustín de Callo, named CEDECO, located in the province of Cotopaxi. CEDECO is currently engaged in the primary production and commercialization of milk to local pasteurization plants. However, it is seeking to become an integrated producer of pasteurized milk. Based on these premise, the project aims to implement technical tools to design the production process, pasteurization plant and distribution system for this community that is considered to be part of the bottom of the population pyramid. In order to achieve the objective, the project starts by giving a description of the social situation of Cotopaxi, a statistical analysis of the quantity of milk supplied by the community and the ideal capacity taking into consideration the maximum quantity of milk supplied. On this basis, a production system and pasteurization layout is proposed. Finally, a market analysis is done in Latacunga and Lasso to generate a distribution route with the use of the travelling salesman problem.

Keywords. Bottom of the Pyramid. Production System Design. Procurement Capacity Analysis. Distribution.

Resumen

En este artículo se analiza la situación de la Asociación de Lecheros de la Comunidad de San Agustín de Callo (CEDECO), ubicada en la provincia de Cotopaxi. CEDECO actualmente se dedica a la producción primaria de leche y venta de la misma a las pasteurizadoras locales. Sin embargo, está buscando volverse un productor integrado de leche pasteurizada. En base a estas necesidades, el objetivo del proyecto es aplicar herramientas técnicas para el diseño del proceso de producción, planta de pasteurización y distribución para esta comunidad que es considerada parte de la base de la pirámide poblacional. El estudio parte de una descripción de la situación social de la provincia de Cotopaxi, continúa con un análisis estadístico de la cantidad de leche suministrada por la comunidad y la capacidad ideal tomando en consideración el suministro máximo de leche. Con estas bases se propone un sistema de producción y configuración espacial de la planta de pasteurización. Finalmente, se hace un estudio de mercado a los minoristas de Latacunga y Lasso para generar una ruta de distribución con la utilización del modelo del agente viajero.

Palabras Clave. Base de la Pirámide, Diseño del Sistema de Producción. Análisis de Capacidad de Aprovisionamiento. Distribución.

Introducción

Se ha definido a la base de la pirámide poblacional (BOP) como aquella conformada por las clases sociales menos favorecidas y que constituyen las dos terceras partes de la población mundial, sobreviven con menos de cuatro dólares norteamericanos diarios por persona y en su mayor parte son poblaciones de los países en vías de desarrollo [1]. Estos grupos humanos, a más del apoyo que requieren para cubrir sus necesidades fundamenta-

les, tampoco han sido tomados en cuenta como clientes potenciales debido a su relativo bajo poder adquisitivo, situación que permite perpetuar el círculo de la pobreza al mantenerlos sin acceso a productos y servicios de primera necesidad y consecuentemente limitando su capacidad de alcanzar niveles adecuados de salud, educación y desarrollo. En la gran mayoría de casos, para atender a la población BOP, el sector privado ha diseñado, por consideraciones de rentabilidad, planes de asis-

ISSN 1390-5384



tencia y apoyo tecnológico, más no modelos de negocio que realmente logren satisfacer las necesidades críticas de aquellas personas [2].

Por otro lado, las cadenas productivas, quizás por desconocimiento, desconfianza, falta de competitividad u otros factores, tampoco han logrado articular adecuadamente a los productores pertenecientes a BOP a sus redes de valor, limitando así la posibilidad de generar esquemas de competitividad sostenible e inclusiva y perdiendo la oportunidad de reducir las brechas socioeconómicas.

No obstante, es importante anotar que existe cada vez más evidencia del desarrollo de propuestas innovadoras, inclusivas, técnicamente fundamentadas, que permiten, por un lado, fortalecer a pequeños productores para aumentar sus posibilidades de articularse adecuadamente en las redes de valor, y por otra parte diseñar productos y servicios adaptados a las necesidades de los consumidores BOP. Este estudio se enmarca en dicha lógica.

Contexto de la Provincia de Cotopaxi y la Comunidad San Agustín de Callo

En nuestro país la Provincia de Cotopaxi cuenta con 409,205 habitantes [3]. En esta provincia, se ha determinado que la pobreza medida por necesidades básicas insatisfechas (NBI) llega al 90.5 % en la población rural [4]. Según cifras oficiales, el Ministerio de Salud Pública invierte en promedio apenas USD \$ 36 dólares per cápita, por año, y se cuenta con una infraestructura de servicios básicos bastante precaria, igual que las vías de comunicación. La incidencia de la pobreza en Cotopaxi se encuentra muy por encima de la media nacional (58 %) y comparte los primeros lugares después de las provincias de Bolívar y Loja. Los principales afectados por la falta de infraestructura y servicios son las comunidades indígenas, especialmente aquellas ubicadas en zonas rurales [5]. Esto, pese a que la provincia es una de las mayores productoras de lácteos y productos nutritivos para la satisfacción de las necesidades de alimentación de los pobladores de todo el país.

Otros datos importantes que revelan la realidad de los pobladores de esta zona tienen relación con los índices de desnutrición. Se estima que en 1990, la desnutrición crónica de niños menores de 5 años llegaba al 64,4 %. Para el año 1995 la incidencia de desnutrición crónica en el campo fue de 64,5 % y en el 2004 cayó al 21 %. Actualmente, según estudios del Ministerio de Inclusión Económica y Social, en el periodo del 2006 al 2010, Cotopaxi fue la provincia con mayor índice de desnutrición en el país, mostrando un descenso casi nulo de este factor, especialmente en las zonas rurales en donde inclusive existe un 80 % de casos de anemia.

San Agustín de Callo es una comunidad rural ubicada en la Provincia de Cotopaxi. De acuerdo al último censo poblacional del año 2010, se encuentra habitada por 227 familias de las cuales 113 se dedican a la producción lechera como su fuente de ingreso principal. Un estudio

realizado en la comunidad reveló que existen aproximadamente 341 cabezas de ganado vacuno, de las cuales 178 son vacas, de estas, 146 están en plena producción es decir un 82 %. Adicionalmente el 60 % de las vacas tienen entre 4 y 5 años de edad, 26 % son de 5 años y 14 % tienen 6 o más años [6].

Se espera un crecimiento en la cantidad de ganado vacuno, por tanto es importante conocer que se recomienda entre 4 y 5 cabezas de ganado vacuno por hectárea. Actualmente cada familia cuenta con un área promedio de 1 hectárea, siendo esto una de las restricciones para el crecimiento vacuno. Un 25 % de las familias tienen un ordeño por día, mientras que el 75 % tienen dos ordeños diarios, llegando a una producción diaria de 2,033 litros.

Las familias en esta comunidad están organizadas dentro de una asociación, la cual desde hace aproximadamente un año, en un proyecto realizado conjuntamente con el Ministerio de Producción, constituyeron un centro de acopio (CEDECO) en el que se implementó un sistema de recepción, refrigeración y control de calidad de la leche, para facilitar las tareas de aprovisionamiento de toda la comunidad.

Actualmente CEDECO abastece un máximo de 1800 litros diarios a una sola pasteurizadora local. Los excedentes de leche no han podido ser vendidos a otra empresa pasteurizadora y están siendo utilizados para la elaboración de quesos artesanal para la comunidad. Por ello, dada la importancia de la producción y venta de leche como principal fuente de ingreso para la comunidad, en el presente estudio se propone un diseño productivo que permite aprovechar el potencial de aprovisionamiento de la comunidad, para generar leche pasteurizada a bajo costo, que permita incrementar los niveles de productividad e ingresos del centro de acopio y al mismo tiempo proveer a las comunidades alrededor, un producto de calidad a precios menores.

Es en este contexto, se propone un diseño del sistema de producción, configuración de la planta de pasteurización y esquema de distribución de leche para la comunidad de San Agustín de Callo, mediante el análisis estadístico de la capacidad de aprovisionamiento actual, algoritmos de construcción para obtención de un configuración espacial adecuada y un esquema de desplazamiento mínimo utilizando el modelo del agente viajero. Con ello, se busca ayudar a la comunidad a alcanzar una notable mejora en su capacidad productiva en el corto plazo, lo cual se reflejará también, a mediano y largo plazo, en mejoras en dimensiones sociales y económicas como el nivel de escolarización, los índices de nutrición y de salud, el crecimiento económico, entre otros.

Metodología

El estudio propuesto contempla un análisis estadístico del aprovisionamiento de leche, la generación de un layout para la planta de pasteurización y el modelamiento



Figura 1: Litros totales entregados por quincena

de un sistema de distribución. En cada etapa del estudio, se utilizaron diversas herramientas estadísticas y modelos matemáticos.

Para el análisis del aprovisionamiento de leche en San Agustín del Callo se utilizaron los registros diarios que mantenía el centro de acopio sobre la cantidad de leche que suministraba cada socio. A dichos datos se les aplicó un diseño de experimentos de un solo factor para probar si las quincenas afectan la cantidad de leche que se entrega. Por otra parte, se hizo uso de la estadística descriptiva e inferencial para representar el comportamiento de la variable cantidad de leche entregada y, mediante un modelo de regresión, determinar la cantidad de leche máxima que la comunidad está en capacidad de proveer a CEDECO.

En el caso del diseño del layout de la planta de pasteurización, se usó el modelo heurístico de construcción por bloque. Para el modelo se definieron áreas de la planta, principalmente caracterizadas por la función que ejercerían, y se creó una matriz de relación cualitativa. Finalmente, se buscó una configuración de áreas que maximice las relaciones necesarias.

Por último, la ruta de distribución se obtuvo mediante el empleo del modelo del agente viajero asimétrico. Este planteamiento matemático se aplica adecuadamente a la distribución de leche ya que se busca encontrar un recorrido de mínima distancia que salga del centro de acopio, pase una vez por los centro minoristas y regrese a la planta. Adicionalmente se trata de un modelo asimétrico porque dentro de la ruta de distribución intervienen vías de una sola dirección por lo que la distancia ida puede diferir a la de regreso.

Análisis y Resultados

Abastecimiento de leche

Hasta febrero del 2012, 122 familias lecheras de San Agustín se han asociado con el centro de acopio [6]. El número de miembros se ha ido incrementando considerablemente desde la apertura del mismo.

El centro de acopio ha llevado registro de la cantidad de leche entregada diariamente en los dos horarios de atención (7am-10am y 6pm-9pm) desde el mes de mayo del

2011, con excepción del mes de junio. Por ende, debido a la restringida disponibilidad de datos, para todas las pruebas estadísticas se hará uso de los registros desde mayo del 2011 hasta enero del 2012. La cantidad total de litros de leche para cada quincena se observa en la Figura 1, misma que muestra una tendencia de aumento de la cantidad de leche suministrada entre los meses de mayo y la primera quincena de septiembre. La segunda quincena de septiembre parece ser una cantidad atípica ya que el número de litros de leche entregada es similar a los primeros meses de registro. Mientras tanto, entre los meses de octubre y enero la cantidad de leche entregada llega a un punto máximo y parece estabilizarse.

Mediante un análisis de varianza se confirman dichos comportamientos. Primero se seleccionan las quincenas de mayo a septiembre.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

ANOVA unidireccional: Litros vs. Quincena					
Fuente	GL	SC	MC	F	P
Quincena	7	18615771	2659396	450,16	0,000
Error	115	679383		5908	
Total	122	19295155			

Tabla 1: Análisis de varianza para las quincenas de mayo a septiembre.

Utilizando un nivel de confianza del 95 % se rechaza la hipótesis nula. Esto se debe a que el valor P es menor al nivel de significancia y por ende se concluye que existe diferencia entre el promedio de litros de leche entregada diariamente entre los meses. Para conocer cuáles son las medias que difieren se procede a hacer una prueba de medias de Tukey. En la Tabla 2 se observan las quincenas con medias estadísticamente similares.

Posteriormente se realiza el mismo procedimiento para las quincenas de octubre a enero.

En la Tabla 3 se observan los resultados obtenidos:

Con un valor P cercano a 0, y un nivel de significancia de 0.05, se rechaza la hipótesis nula. Por ende se concluye que el promedio de litros diarios por quincena difieren. Se procede a hacer una prueba de medias para conocer la media distinta y los resultados se observan en la Tabla 4.

Medias Estadísticamente Similares
Segunda Quincena de Mayo - Primera Quincena de Julio
Segunda Quincena de Julio - Primera Quincena de Agosto
Segunda Quincena de Julio - Segunda Quincena de Agosto
Primera Quincena de Agosto - Segunda Quincena de Agosto

Tabla 2: Quincenas estadísticamente similares en la cantidad de leche promedio entregada diariamente entre julio y septiembre.

ANOVA unidireccional: Litros D vs. Quincenas					
Fuente	GL	SC	MC	F	P
Quincenas	7	1787631	255376	4,49	0,000
Error	115	6544351	56907		
Total	122	8331982			

Tabla 3: Análisis de varianza para las quincenas de octubre a enero.

Medias Estadísticamente Diferentes
Primera Quincena de Octubre- Primera Quincena de Enero
Segunda Quincena de Octubre - Primera Quincena de Enero
Segunda Quincena de Noviembre - Primera Quincena de Enero
Primera Quincena de Diciembre - Primera Quincena de Enero

Tabla 4: Quincenas estadísticamente diferentes en la cantidad de leche promedio entregada diariamente entre octubre y enero.

Al obtener, mediante la prueba Anova, que la cantidad de leche suministrada en varias de las quincenas tiene una tendencia creciente y no refleja estabilidad, sólo se toman en cuenta la cantidad de leche suministrada en quincenas con medias estadísticamente similares de octubre a enero. Se encuentra entonces que los miembros de CEDECO están suministrando actualmente en promedio 2,033.50 litros diarios con una desviación estándar de 184.80 litros. Esto significa, con un 95 % de confianza, que se entrega entre 1,998.30 litros y 2,068.80 litros diarios.

Análisis del abastecimiento máximo de litros de leche

Uno de los principales factores para establecer la capacidad de la planta de leche es la cantidad máxima de leche que los habitantes de San Agustín pueden suministrar a futuro.

Existen tres variables que afectan la cantidad de leche que se entrega al centro de acopio: la cantidad de socios totales de CEDECO, la cantidad de socios activos y el número de vacas existentes en la comunidad. Se hace una diferencia entre la cantidad de socios totales y de socios activos porque si bien un socio es miembro de CEDECO, éste puede no entregar leche en una determinada quincena. La variable socios totales hace referencia a todas las personas que son miembros de CEDECO y

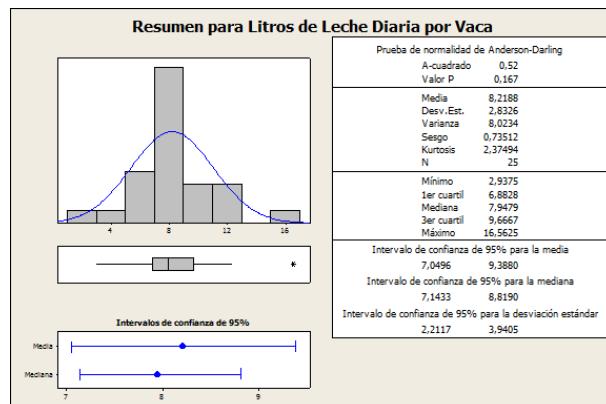


Figura 2: Análisis estadístico de las encuestas realizadas a los socios sobre el número de vacas que poseen.

socios activos exclusivamente a los que aportaron con al menos un litro de leche en una determinada quincena.

Para el análisis de capacidad máxima de aprovisionamiento, es necesario considerar también la capacidad del ecosistema. Partiendo del número de vacas existentes en la comunidad y tomando en consideración que puede existir un máximo de 500 vacas en la comunidad sin causar deterioro a largo plazo de los recursos naturales, se realiza una encuesta aleatoria entre los socios del centro de acopio para determinar la cantidad de vacas que estaban dando leche en la segunda quincena de enero del 2012. Con esta información y los registros diarios de leche aportada se puede llegar a conocer cuántos litros de leche en promedio entrega una vaca diariamente en San Agustín de Callo. Se encuentra que la media de litros entregados diariamente por una vaca es de 8.22 con una desviación estándar de 2.83 litros. Adicionalmente se concluye que con un 95 % de confianza una vaca entregará entre 7.05 y 9.39 litros, como se muestra en la Figura 2. Esto significa que si en San Agustín de Callo se alojan 301 vacas adicionales a las 178 ya existentes, habrá un suministro diario que oscila entre 2,122.05 y 2,826.39 litros con un promedio de 2,474.00 litros.

Diseño del layout de la planta de pasterización de CEDECO.

El diseño del layout de la planta se inicia al definir las zonas que existirán en la misma, el área requerida en cada una y las relaciones que existen entre ellas [7]. En el caso de CEDECO, se encuentran 8 zonas de trabajo que se obtuvieron en base al sistema de pasterización que se utilizará y se muestran en la Tabla 5.

Las zonas 1, 2 y 3 constituyen el centro de acopio actual y las zonas de la 4 a la 8 forman parte de la planta de pasterización que se busca diseñar. El área para cada zona debe incluir el espacio de la maquinaria, un rango de distancia para el movimiento del personal y el equipo o material que intervendrá. El espacio requerido para las 8 zonas de la planta se determinó a partir de las dimensiones de cada una de las máquinas, proporcionadas por el fabricante de las mismas y los desplazamientos hacia

Zonas	Áreas o Maquinaria	Descripción
Zona 1	Área de recepción.	Lugar donde se receptará la leche cruda de los socios.
Zona 2	Laboratorio de control de Calidad	Se realizarán pruebas de control de calidad para determinar que la leche cruda cumpla con los requisitos antes de ser procesada, al igual que pruebas de la leche una vez que ha sido pasteurizada.
Zona 3	Tanque frío de acopio	La leche que haya tenido una calidad adecuada será almacenada en el tanque frío de acopio hasta el momento de su procesamiento
Zona 4	Termo selladora y mesa de canastillas	En esta zona se llenaran las fundas con leche, se las realizará el proceso de termo sellado y finalmente se las colocará en la mesa de canastillas.
Zona 5	Pasteurizador	Las canastillas pasarán al pasteurizador
Zona 6	Enfriador	Una vez pasteurizadas las bolsas de leche pasarán al enfriado.
Zona 7	Almacenamiento	Se almacenaran las bolsas hasta el momento de su despacho
Zona 8	Despacho	Se realiza el despacho pertinente

Tabla 5: Zonas de la planta pasteurizador

la derecha e izquierda que el operador tendrá que realizar al momento de operarlas.

Las zonas de la planta pueden relacionarse entre sí por el flujo de información, materiales o importancia de cercanía que existe entre ellas. Para definir la proximidad de las zonas para CEDECO se realizó una investigación sobre el sistema de pasteurización propuesto. Finalmente se obtuvo la Figura 2 donde se expone la relación cualitativa.

Método de construcción de layout en bloque

Teniendo en cuenta los departamentos con mayor cantidad de relaciones de alto puntaje, es decir relaciones del tipo A, E e I, se establece un layout donde se busca maximizar el puntaje global. Se recalca que las áreas de recepción y de laboratorio de control de calidad ya están fijas dentro de la infraestructura del centro de acopio actual por lo que el puntaje final nunca llegará a ser del 100 %. El layout final obtenido se expone en la Figura 4.

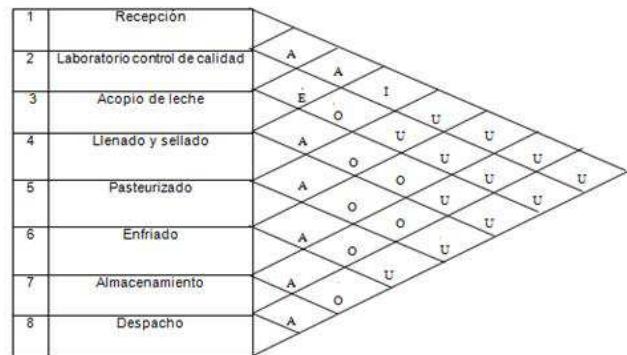


Figura 3: Relación cualitativa

El puntaje por cada relación de departamentos, si se los localiza conjuntamente, es de A= 64, E=16, I=4, O=1, U=0, X=-6. En base a la matriz de relaciones, el puntaje potencial es de 475 y el puntaje obtenido con layout propuesto es de 338. Esto significa que se tiene una eficiencia del 71.16 %.

El flujo que se logra durante la producción con la distribución propuesta es en forma de U, bastante deseable cuando se tiene una producción en un bajo volumen. Adicionalmente, se encuentra que las zonas con relaciones necesarias están juntas, por lo que se logra maximizar el flujo de materiales e información.

Diseño del sistema de distribución de leche pasteurizada para San Agustín del Callo

En base a la investigación de la situación social de la provincia de Cotopaxi, se considera que dicha región es un mercado ideal para la comercialización de leche pasteurizada a menor precio. Para generar un producto de calidad a bajo precio, no sólo es importante un análisis detallado de la capacidad de aprovisionamiento o un diseño eficiente de un sistema de producción de leche pasteurizada a bajo costo, sino también un esquema de distribución que garantice el mejor uso de los recursos disponibles.

Debido a que CEDECO tendrá un pequeño volumen de producción y que este tiene la capacidad de satisfacer las necesidades exclusivamente de pueblos aledaños a San Agustín, se ha propuesto realizar la venta de litros de leche en los minoristas de las ciudades de Lasso y Latacunga. Los canales de distribución para la leche de San Agustín serán las tiendas, bodegas y minimercados de las ciudades de Lasso y Latacunga ya que en el 2010 se contabilizó que el 84.18 % de las ventas de la leche pasteurizada se efectuaron en estos canales de comercialización [8].

Se encontraron 78 potenciales centros minoristas para la venta de leche de San Agustín. CEDECO debe encontrar una ruta eficiente que comience en la planta de pasteurización en San Agustín del Callo, pase por los centros minoristas en Lasso y Latacunga y regrese al centro de acopio. El modelo que mejor se adapta a las

circunstancias es el del agente viajero, en donde se supone encontrar la trayectoria mínima que inicia y finaliza en un nodo base pasando por todos los puntos de demanda una vez. Se realizó un modelo del agente viajero con restricciones relajadas para encontrar una solución inicial y posteriormente se utiliza la heurística de corrección para obtener un circuito Hamiltoniano.

La solución del problema con restricciones relajadas se obtuvo utilizando AIMMS® 3.12. Se forman 23 subcircuitos en la solución inicial. La distancia total recorrida es de 20.35 km, de los cuales 16.38km se debe al recorrido en Lasso y 3.97 km por la trayectoria en Latacunga. En la solución se observa que los circuitos se dividen en ciudades, es decir no hay minoristas de la ciudad de Lasso relacionados con minoristas en Latacunga. Esto se debe a que entre la ciudad de Lasso y Latacunga hay una distancia de aproximadamente 20 km. Por ello es de esperarse que la solución final tenga al menos 40km adicionales de distancia recorrida de la encontrada mediante el modelo matemático ya que se deberá hacer el viaje de ida y de vuelta de la ciudad de Latacunga.

Posteriormente se realiza la heurística de corrección para los minoristas en Latacunga y Lasso. Se obtiene una

solución final que conecta a todos los puntos de demanda y cuya distancia total es de 66.87 km. Esta solución supone una desviación del 25.23 % de la solución incial para la ciudad de Lasso y del 23.99 % de la solución óptima para Latacunga. Dado que ambos valores se encuentran entre el 1 % y 30 % de desviación de la distancia incial, se considera una solución aceptable [9].

Conclusiones

A pesar de que la agricultura y ganadería las principales actividades económicas de Cotopaxi, se trata de una de las provincias con mayores índices de pobreza y desnutrición a nivel nacional, especialmente en sus zonas rurales. Por tanto, a través del fortalecimiento productivo, en las etapas de aprovisionamiento, producción y distribución, del centro de acopio CEDECO, se identificó una oportunidad para aportar al desarrollo socioeconómico de comunidad rural San Agustín de Callo y paralelamente generar un producto que coadyuve a satisfacer, precios acequibles, las necesidades nutricionales de los sectores poblacionales aledaños, los mismos que por sus bajos ingresos económicos, no logran acceder a los productos alimenticios actualmente disponibles en los canales de comercio.

En lo concerniente a la cantidad de leche suministrada por los socios al centro de acopio, se observa un continuo aumento en la cantidad de litros entregados mensualmente. Se ha registrado un incremento desde 23,279 litros mensuales en mayo del 2011 a 59,918 litros mensuales en enero del 2012. Esto ha sido causado principalmente por el número de oriundos de San Agustín que se han ido asociando con CEDECO. Mediante un análisis de varianza se estimó que para Enero del 2012 la entrega promedio diaria era de 2,033.5 litros. Adicionalmente se realizó una encuesta a una fracción del total de socios registrados, para encontrar la cantidad de leche que provee cada vaca. Se calcula que aproximadamente una vaca entre la edad de 2 y 15 años brinda 8.22 litros diarios con una desviación estándar de 2.83 litros y la entrega promedio por socio es de 12.33 litros por cada turno.

En base a la capacidad de aprovisionamiento, se definió que la planta de pasteurización de San Agustín tendrá una distribución que permitirá el flujo en U y con un nivel de eficiencia del 71.16 %. Finalmente, la distribución se hará en los centros minoristas de las ciudades de Latacunga y Lasso. El recorrido se realizará diariamente incluyendo a los 78 potenciales centros de distribución y esto supone una distancia de recorrido de 66.87 km.

Referencias

- [1] Akula, V. 2009. "Business Basics at the Base of the Pyramid". *Harvard Business Review*. 53–56.
- [2] Castaño, M.P. and Rodríguez, M.V. 2010. "Mercados Bases de Piráde : una Revisión". *Econpapers*. 16–28.

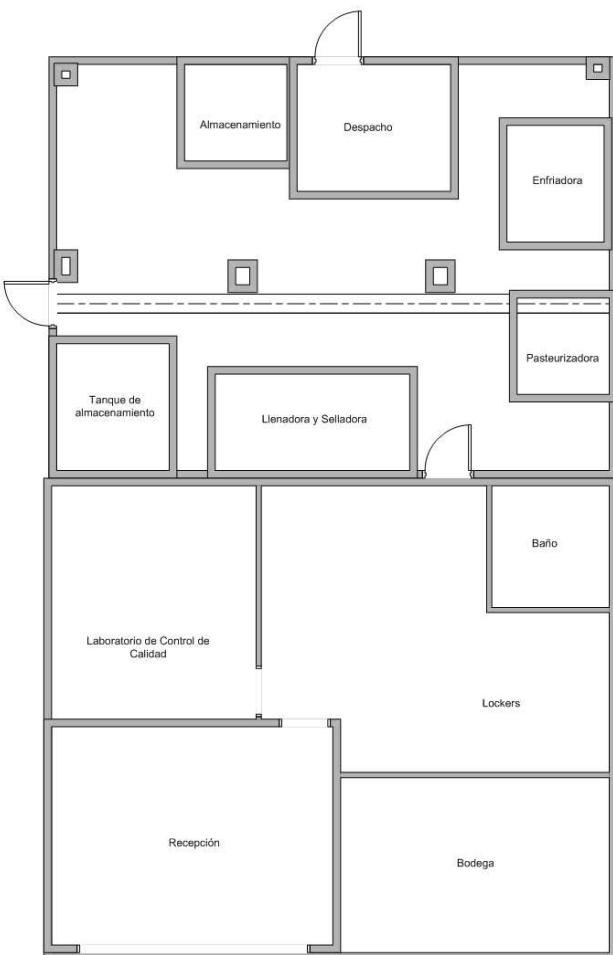


Figura 4: Plano propuesto de la planta de pasteurización de CEDECO.

- [3] IINEC 2010. “Resultados Censo de Población”. Retrieved from http://www.inec.gob.ec/cpv/?TB_iframe=true&height=450&width=800' %20rel=slbox.
- [4] SENPLADES 2010. “Agenda Zonal para el Buen Vivir”. Retrieved from Propuesta de desarrollo y lineamiento para el ordenamiento territorial: http://www.scribd.com/jorge_garrido_64/d/74036956/17-Poblacion-con-necesidades-basicas-insatisfechas-NBI.
- [5] Consejo Provincial de Cotopaxi. 2000. “Plan de Desarrollo Provincial de Cotopaxi”. Retrieved from Gobierno provincial de Cotopaxi: <http://www.franciscouloa.com/DOCPORTALUTC/PlanDesarrolloProvinciadadeCotopaxi.pdf>.
- [6] FORDES 2010. “Conformación del Centro de Desarrollo Comunitario ‘San Agustín del Callo’ ”. Latacunga.
- [7] Tompkins, J.A., White, J.A., Bozer, Y.A., and Tanchoco, J. 2010. “*Facilities Planning*”, Estados Unidos: John Wiley & sons, INC.
- [8] INEC 2010. “Gastos Corrientes Anuales por Sitio de Compra, Según Productos Alimenticios más Importantes”.
- [9] Ghiani, G., Laporte, G., and Musmanno, R. 2004. “*Introduction to Logistics Systems Planning and Control*”, San Francisco: John Wiley & Sons, Ltd.