

# ANALES

ISSN 2451-8182



**TOMO 61**

**BUENOS AIRES**

**2017**

**ANALES**  
DE LA  
**ACADEMIA NACIONAL DE CIENCIAS**  
**EXACTAS, FISICAS Y NATURALES**  
BUENOS AIRES

---

**TOMO 61**

---

BUENOS AIRES  
2017



Esta publicación es propiedad de la  
Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Director  
Comisión de Publicaciones de la  
Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales:  
Dr. Enrique J. Baran, Ing. Bruno V. Ferrari Bono, Dr. Víctor J. Yohai

Lugar y fecha de edición  
Buenos Aires, República Argentina, febrero de 2017

Toda la correspondencia referente a estos "Anales" debe dirigirse a:  
All enquires regarding this publication should be addressed to:

Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales  
Avda. Alvear 1711, 4° piso  
1014 Buenos Aires  
República Argentina

Tel.: (54-11) 4811-2998/(54-1) 4815-9451

Fax: (54-1) 4811-6951

E-mail Secretaría: [acad@ancefn.org.ar](mailto:acad@ancefn.org.ar)

E-mail Biblioteca: [biblio@ancefn.org.ar](mailto:biblio@ancefn.org.ar)

Sitio web: [www.ancefn.org.ar](http://www.ancefn.org.ar)

# SUMARIO

## I. HOMENAJES

- Alexander von Humboldt en Göttingen (Homenaje a Alexander von Humboldt en el 150° Aniversario de su fallecimiento), por E.J. Baran..... 7
- Darwinismo y Religión: Autonomía, Fusión o Conflicto? (Homenaje a Charles Darwin en el 200° Aniversario de su nacimiento y en el 150° Aniversario de la publicación de "El Origen de las Especies", por J.V. Crisci y L.Katinas ..... 13

## II. INCORPORACIONES DE ACADÉMICOS

- Presentación del Dr. Pedro J. Depetris como Académico Correspondiente en Córdoba, por C.W. Rapela..... 21
- Presentación del Ing. Luis A. de Vedia como Académico Titular, por E.N. Dvorkin ..... 23
- El paradigma estructura - propiedades en el diseño metalúrgico de uniones soldadas de acero de alta resistencia, por L.A. de Vedia ..... 25

## III. ENTREGA DE LOS PREMIOS "ACADEMIA NACIONAL DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES" - AÑO 2008

- Apertura del acto de entrega de premios, por *E.H. Charreau*..... 43
- Premios ANCEFEN-2009 ..... 47
- Linear variation of isochoric lines and determination of phase transitions in size asymmetric mixtures. Trabajo presentado por E.A. Brignole al recibir el Premio Consagración de la ANCEFEN-2009 por la Sección de Ingeniería ..... 49
- The nano-environment of a neurotransmitter receptor. Trabajo presentado por F.J. Barrantes al recibir el Premio Consagración de la ANCEFEN-2009 por la Sección de Ciencias Químicas, de la Tierra y Biológicas..... 55
- Eventos de señalización lipídica durante injurias oxidativas en el sistema nervioso. Trabajo presentado por G.A. Salvador con motivo de recibir el premio Andrés O.M Stoppani en Ciencias Biológicas..... 69
- Nuevos conceptos de protección sísmica en estructuras. Trabajo presentado por O. Curadelli con motivo de recibir el premio José Luis Delpini en Ingeniería Estructural..... 83
- Diseño y caracterización de superficies funcionales. Trabajo presentado por F.J. Williams con motivo de recibir el premio Eduardo G. Gros en Química 93
- Catalizadores a base de cobre y cerio para la reacción de oxidación preferencial de monóxido de carbono (COPROX). Trabajo presentado por F.J. Mariño con motivo de recibir el premio Roberto E. Cunningham en Energía ..... 105

#### IV. COMUNICACIONES DE ACADÉMICOS

- Sobre las fases M-1212 ( $MSr_2TRCu_2O_8$ : TR = tierra rara; M = Ru, Cr e Ir).  
Una gran familia de nuevos materiales, por A.J. Dos santos-García y M.A.  
Alario-Franco ..... 123

#### V. ENSAYOS DE BECARIOS

- Becarios “In Libris Carpe Rosam” (1999-2008)..... 131

**I**  
**HOMENAJES**





## ALEXANDER VON HUMBOLDT EN GÖTTINGEN

(HOMENAJE A ALEXANDER VON HUMBOLDT EN EL 150° ANIVERSARIO DE SU FALLECIMIENTO)

Enrique J. Baran

Académico Titular de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Alexander von Humboldt falleció al atardecer del 6 de mayo de 1859, después de una breve enfermedad, y con casi 90 años de edad, en su casa de Berlín siendo sepultado cinco días después en el parque de la residencia familiar, en el castillo de Tegel. Vale decir que este año conmemoramos el sesquicentenario de su fallecimiento, acontecimiento que la Academia desea rememorar y remarcar en forma muy especial, teniendo en cuenta ante todo el valor y la trascendencia universal y permanente de la obra científica del homenajeado, así como su muy particular relación con Latinoamérica.

Se ha dicho, y con razón, que Alexander von Humboldt fue probablemente el último de los grandes estudiosos que llegó a tener una visión universal, clara y completa de todas las ramas de la Ciencia de su época [1]. Y por otra parte, en muchas de ellas descolló como figura destacada, fijando nuevos rumbos y caminos y sobrepasando fronteras y límites en forma avasalladora. Realizó investigaciones y aportes no sólo a las ciencias exactas básicas como la física, la química y la astronomía, sino también a las ciencias naturales botánica, zoología y mineralogía y fue también uno de los fundadores de la moderna geografía física. Asimismo, durante casi toda su vida y aún a edad avanzada, fue un viajero y explorador incansable, siendo un observador atento, cuidadoso e inteligente lo que le permitió sacar el máximo provecho de todo lo que veía y recogía en sus viajes.

Su relación con América fue también notable y es bien conocida ya que su extenso viaje exploratorio (1799-1804), lo llevó a recorrer, junto al botánico francés Aimé Bonpland, una gran parte del norte de Sudamérica, incluyendo diversas regiones de las actuales repúblicas de Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú, así como Cuba y Méjico, llegando finalmente a los Estados

Unidos, donde fue durante tres semanas huésped del presidente Jefferson. Estas exploraciones incluyeron empresas tales como prolongadas y peligrosas travesías por la selva, una navegación por el río Orinoco en piragua, llegando hasta el río Negro y arriesgadas navegaciones por este último río y el Casiquiare, así como el escalamiento de los volcanes Pichincha y Chimborazo [2]. A su regreso a Europa, y entre 1805 y 1834, estuvo radicado fundamentalmente en París, ciudad en la que se dedicó a trabajar en el ordenamiento y publicación de los resultados de este memorable viaje que finalmente llevaron a la edición de 35 volúmenes con el título *Voyage aux régions équinoxiales du Nouveau Continent, fait en 1799, 1800, 1801, 1802, 1803 et 1804 par Alexandre de Humboldt et Aimé Bonpland* [2]. Esta obra monumental es considerada por muchos como el verdadero descubrimiento de América y así fue reconocido por ejemplo por el Libertador Simón Bolívar quien en una ocasión afirmara que “Alexander von Humboldt es el descubridor científico del Nuevo Mundo, cuyo estudio ha beneficiado más a América que todos sus conquistadores” [2].

Dado que existe una vasta y abundante bibliografía no sólo sobre los viajes, descubrimientos y contribuciones científicas de Alexander von Humboldt, sino también sobre su impacto y sus consecuencias, este sucinto ensayo está centrado sólo en un aspecto muy peculiar, y breve en el tiempo de la larga vida de nuestro homenajeado, como lo fue su paso por la Universidad de Göttingen y el innegable impacto que tuvo la misma para su formación personal y el desarrollo de todas sus futuras actividades.

Alexander von Humboldt había nacido en Berlín el 14 de setiembre de 1769, dos años después que su hermano Wilhelm, quien al igual que Alexander también llegó a convertirse en una figura central de la historia alemana y en

uno de los intelectuales que mayor y perdurable influencia han tenido en la cultura, la educación y la diplomacia de su país. Seguramente será muy difícil encontrar otros dos hermanos que en campos y actividades diferentes, hayan logrado enriquecer su época en forma tan notable y cuya obra ha logrado sobrevivir indemne el transcurso del tiempo.

El padre, Alexander Georg, falleció cuando los dos muchachos eran aún muy pequeños, pero su madre Maria Elizabeth von Hollwegen, una mujer culta y rígida encaró decididamente la formación y educación de sus hijos. Sin duda, Wilhelm y Alexander lograron tener la mejor educación posible, mediante una serie de tutores privados, como se estilaba en las familias de buena posición económica de la época. En esa primera época de su formación, los Humboldt también estuvieron muy ligados a la llamada *Ilustración Berlinesa*, un movimiento intelectual generado en la comunidad judía prusiana e inspirado por el filósofo Moses Mendelssohn (1729-1786), el abuelo del compositor Félix Mendelssohn Bartholdy (1809-1847). Los jóvenes estuvieron especialmente ligados al salón literario que se había generado en torno a Henriette Herz y a su esposo, el médico Marcus Herz, que había sido discípulo de Kant. Durante mucho tiempo los hermanos Humboldt mantuvieron una relación muy estrecha y continuada con Henriette, de quien los comentarios de la época afirmaban que era una mujer sumamente atractiva e inteligente. Probablemente fue su relación con esos círculos la que impregnó el espíritu del joven Alexander con los ideales de libertad y de igualdad entre los hombres, reforzada años después por su estrecha vinculación con la cultura parisina y por las ideas renovadoras que impulsaron a toda la sociedad europea luego de la Revolución Francesa. En ese ámbito intelectual, conoció también los trabajos científicos de Franklin y Galvani y comenzó a vislumbrar la importancia de la investigación, basada en el llamado método científico. Uno de los emprendimientos de esa época, relacionados directamente con esos vínculos, fue la instalación de un pararrayos que Humboldt concretó en la torre del castillo familiar de Tegel y que fue uno de los primeros artefactos de este tipo instalados en territorio alemán.

Dos años antes de que Paris fuese sacudido por los hechos que derivaron finalmente en la toma de la Bastilla, los Humboldt iniciaron su formación universitaria en la Universidad de Frankfurt an der Oder, la que abandonaron a los pocos meses, aparentemente decepcionados por el escaso nivel y calidad de la enseñanza que allí se impartía. Y, mientras Alexander volvió a Ber-

lín, Wilhelm comenzó sus estudios en Göttingen. Entusiasmado por aquél rico y variado ambiente intelectual, comenzó a presionar a su hermano para que se le uniera, lo que finalmente ocurrió, a partir de las Pascuas de 1789.

Hacia fines del siglo XVIII, la Georg-August-Universität de Göttingen, creada en 1737, se había transformado en la más moderna de Alemania y era uno de los centros científicos más renombrados de Europa, sobre todo en el campo de las ciencias naturales. Y si bien la permanencia de Alexander von Humboldt en Göttingen fue solamente cercana a un año, el impacto que la misma tuvo en su formación y en todo su desarrollo posterior fue realmente decisivo, fundamentalmente por la influencia que en su formación y en su carrera tuvieron varios de los profesores y científicos a los que conoció y frecuentó.

Entre ellos debemos remarcar los nombres de Blumenbach, Heyne, Lichtenberg, Kästner y, muy especialmente, Georg Forster [2,3]. Con todos ellos, Humboldt parece haber tenido un contacto regular y continuado y podemos analizar brevemente el perfil de cada uno de ellos para percibir más claramente la influencia que deben haber tenido sobre su formación científica y su personalidad.

*Johann Friedrich Blumenbach* (1752-1840) es considerado como uno de los iniciadores de la moderna investigación en las ciencias naturales, realizando contribuciones fundamentales en los campos de la anatomía comparada y la antropología. Estudió Medicina en Göttingen y a partir de 1776 y hasta su muerte, fue profesor de esa Universidad, y durante toda su vida estuvo muy ligado con Goethe. Fue también el iniciador de la Anatomía Comparada y defendió fuertemente la teoría de la unidad de la especie humana frente a la posición científica predominante de la época que postulaba la existencia de una variedad de especies animales según las características morfológicas típicas de las diferentes regiones del mundo. Si bien afirmaba la existencia de una especie única, admitía que la misma estaba conformada por cinco divisiones principales (caucásica, mongoloide, malaya, americana y negroide) y sus conclusiones más importantes en este campo quedaron expresadas en su obra tal vez más representativa, *Collectionis suae craniorum diversarum gentium illustratae decades*, editada en Göttingen en 1790. También fue famosa en toda Europa su colección de cráneos humanos y se ocupó personalmente de establecer y ampliar colecciones científicas de diverso tipo, creando un Museo Académico que constituyó la base para la posterior creación del Museo Etnográfico de la Universidad [4, 5]. Por otra parte, Blumenbach

reconoció muy tempranamente la importancia de los viajes científicos para el desarrollo de la botánica y la antropología. Entre otras cosas, estaba en contacto permanente con la recientemente creada (1788) African Association de Londres, lo que permitió a muchos de sus alumnos la participación en las expediciones científicas de esa Asociación [2].

Particularmente importante en el contexto que estamos analizando resulta el hecho de que en 1789, junto a un grupo de sus colaboradores y alumnos, entre los cuales se encontraba también Alexander von Humboldt, pusiera en marcha la llamada "Sociedad Física" (*Physikalische Gesellschaft*). El término Físico de esta Sociedad se refiere al "conjunto de las ciencias naturales" y no solamente a la Física como tal; sus miembros eran médicos, geógrafos y, ante todo, biólogos y muchos de sus primeros miembros se transformaron con el paso de los años en figuras relevantes de diversas disciplinas científicas en diferentes universidades alemanas [2]. Blumenbach fue también el autor de una importante cantidad de libros y escritos científicos que ayudaron a cimentar rápidamente su nombre y su fama y difundieron sus ideas más importantes a través del mundo.

Otro de los profesores de Göttingen con los que Humboldt se sintió muy identificado, fue uno de los cuñados de Blumenbach, el filólogo *Christian Gottlieb Heyne* (1729-1812). Estudió inicialmente Teología y Derecho y Leipzig y en 1761 fue llamado a integrarse a la Universidad de Göttingen, donde fue durante casi medio siglo profesor de filología clásica y director de la Biblioteca de la Universidad. Esta institución, conocida actualmente como *Niedersächsische Staats- und Universitätsbibliothek*, creció notablemente bajo su dirección transformándose en una de las bibliotecas académicas líderes en el mundo y aún durante los siglos XIX y XX seguía siendo reconocida internacionalmente por la calidad y cantidad de sus colecciones científicas. También fundó un Centro de Estudios Arqueológicos, una de las instituciones que hacia fines del siglo XVIII ayudó a cimentar el prestigio y la fama de la Universidad. Asimismo, sus ediciones de las obras de Virgilio, Píndaro y Homero fueron consideradas como logros ejemplares [4,5].

*Georg Christoph Lichtenberg* (1742-1799), que es considerado como uno de los iniciadores de la Física Experimental, fue otro de los profesores de Göttingen que causó profundo impacto en Humboldt. Sus clases, con demostraciones experimentales, entusiasaban enormemente a los auditorios. Tenía una amplia y excelente formación no sólo en física sino también en matemática y astronomía y descolló también como

escritor y filósofo. A partir de 1780 inició, conjuntamente con Georg Forster, la edición de una publicación destinada a difundir los avances de la ciencia y las novedades literarias ("*Göttingisches Magazin der Wissenschaften und Literatur*"). Ese mismo año instaló también un pararrayos en su casa de campo, que fue el primero de Göttingen, anticipándose en poco tiempo al que Humboldt instaló en Berlin.

Durante toda su vida mantuvo estrechas relaciones con Inglaterra, donde frecuentó entre otros a James Watt y Joseph Priestley y tuvo contactos continuados con varios de los científicos que habían participado del segundo viaje de James Cook alrededor del mundo. Fue el autor del primer gran texto sobre Física Experimental en idioma alemán y se hizo famoso por diversos descubrimientos en el campo de la electricidad, entre otros las llamadas *figuras de Lichtenberg*, descubrimiento que de alguna forma constituye el principio básico de las modernas técnicas xerográficas. Finalmente, se hizo también conocido y apreciado por sus aforismos, los que comenzaron a publicarse recién después de su muerte, pero de los cuales es considerado como el primer gran maestro alemán [6]. En ellos evidencia siempre un elegante humor, fina ironía y una cierta dosis de escepticismo [4-6].

Entre los matemáticos con los que Humboldt tuvo algún contacto debemos mencionar especialmente a *Abraham Gotthelf Kästner* (1719-1800) quien había estudiado leyes, filosofía, matemática y física en Leipzig y a partir de 1756 comenzó a trabajar en Göttingen. Fue el autor de numerosos libros de texto de matemática y por esta razón se lo llegó a llamar "Maestro alemán de la matemática". El recién mencionado Lichtenberg fue uno de sus alumnos y lo admiraba con mucho respecto. Otro de sus alumnos más destacados y conocidos, por su trayectoria posterior, fue Gauss. Hacia el fin de su vida escribió una "Historia de la Matemática", en cuatro tomos, que alcanzó una notable difusión [4,5].

Pero sin lugar a dudas, una de las figuras más importantes e interesantes con la que Humboldt pudo vincularse en Göttingen fue *Georg Forster* (1754-1794) quien era sin duda el más importante de los científicos-viajeros radicado en Alemania en ese momento. Junto a su padre, Johann R. Forster, había acompañado a James Cook en el segundo de sus viajes alrededor del Mundo (1772-75). Incluso, a su regreso, contribuyó con importantes y valiosos materiales, originarios de Tahití, Tonga, Hawái y Nueva Zelanda a las ya mencionadas colecciones del profesor Blumenbach, las que pueden admirarse en la actualidad como Colección Cook-Forster en el también menciona-

do Museo Etnográfico de Göttingen. Además, en 1777 publicó un extenso reporte de ese fascinante viaje con el título *A Voyage Round the World*, que poco después tradujo al alemán. Ambos trabajos lo hicieron rápidamente famoso a punto tal que con solo 23 años fue incorporado a la Royal Society. Este relato de viaje sigue siendo, aún en nuestros días, una de las fuentes más importantes acerca de las primitivas sociedades de los mares del sur, siendo interesante de mencionar que una edición reciente del mismo, incluyendo muchos de los dibujos originales de Forster [7], se transformó rápidamente en un *bestseller*.

Si bien en esa época Forster estaba radicado en Mainz, en 1784 había pasado a convertirse en yerno de Christian G. Heyne, al desposar a su hija Maria Theresa, razón por la cual seguía muy vinculado con Göttingen. Personalmente, Maria Theresa Heyne desarrolló posteriormente una interesante carrera como escritora, transformándose, incluso en una de las primeras mujeres alemanas dedicadas al periodismo [4].

En el mismo círculo científico es muy probable que Humboldt haya tenido también algunos otros contactos interesantes. Por ejemplo, con el historiador *Arnold Hermann Ludwig Heeren* (1760-1842), quien también había sido discípulo de Heyne [4]. Asimismo, *Caroline Michaelis* (1763-1809), hija del famoso orientalista Johann David Michaelis, y que llegó a ser una de las mujeres más brillantes y geniales del romanticismo temprano alemán [4], fue una de las mejores amigas de Forster y de su esposa, en la época en que Humboldt vivió en Göttingen, razón por la cual no hay duda que ambos deben haber llegado a conocerse.

Asimismo, existen algunas pruebas de que Humboldt también habría asistido a clases o conferencias del químico y mineralogo *Johann Friederich Gmelin* (1748-1804) y del ecónomo *Johann Beckmann* (1739-1811). El primero fue profesor de la Universidad a partir de 1775 y hasta su muerte y se hizo muy conocido por una *Historia de la Química*, en tres volúmenes, editada entre 1797 y 1799 [5]. Fue también padre de Leopold Gmelin (1788-1853), otro químico famoso nacido en Göttingen, ciudad en la que inició su educación aunque profesionalmente nunca llegó a vincularse con su Universidad, y que adquirió prestigio y reconocimiento por ser uno de los primeros en lograr una completa sistematización de toda la información química existente a comienzos del siglo XIX a través de su valioso *Handbuch der Theoretischen Chemie* (primera edición entre 1817 y 1819) [8]. En cuanto a Beckmann, fue de alguna manera el fundador de la tecnología científica, e incluso fue él quien introdujo el término

“tecnología” para la suma de conocimientos que se aplican al trabajo industrial [4].

La estadía en Göttingen también proporcionó a Humboldt la primera oportunidad de realizar una breve exploración científica, coordinada por Forster y de la que asimismo participó Jan van Geuns, un joven médico holandés que también estudiaba en la Universidad, y con quien Humboldt había trabado reciente amistad. El objetivo científico de este viaje era el de estudiar el origen y las características de los basaltos del Rin. Este tema estaba relacionado a una discusión central, muy en boga en ese momento del siglo XVIII y relacionado con el origen de la Tierra. Se hablaba entonces de Neptunismo y Vulcanismo y uno de los problemas que no encajaban bien en ninguno de esos dos modelos teórico-filosóficos era precisamente el origen de los basaltos.

Este viaje duró aproximadamente mes y medio e inicialmente los viajeros se dirigieron Rin abajo en dirección a Heidelberg, pasando luego a Bruchsal. De allí volvieron hacia Mannheim y Mainz, viajando luego en barco hacia Bonn en cuyos alrededores se dedicaron especialmente a los planeados estudios mineralógicos. De allí, pasaron algunos días en Pampelfort, un lugar cercano a Düsseldorf, donde visitaron a Friedrich Jacobi, un amigo de Goethe, con quien también se encontraron allí, para retornar luego a Göttingen [2].

El resultado más importante de este primer viaje humboldtiano fue la edición de su primer libro, *Mineralogische Beobachtungen über einige Basalte am Rhein* (Observaciones mineralógicas sobre algunos basaltos del Rin) que fue publicado ya a los pocos meses de finalizado el mismo. Es interesante de mencionar que la obra no se restringe a las observaciones y hallazgos mineralógicos, sino que agrega una amplia información botánica, incluyendo comparaciones con la flora de regiones vecinas. Esta forma de investigación, que podríamos llamar universal, y que trata de abarcar aspectos de diversas disciplinas, será característica de toda su obra posterior [2].

La fructífera estadía en la ciudad universitaria culminó para Humboldt con un segundo viaje de investigación, esta vez bastante más largo, y organizado otra vez por Forster y en el que también volvió a participar van Geuns. El viaje se inició hacia fines de marzo de 1790, llevándolos de Mainz a Düsseldorf y de inmediato recorrieron durante casi tres semanas los Países Bajos y Bélgica y de allí pasaron a Londres. En la capital inglesa estuvieron casi un mes y medio y desde allí visitaron Oxford y otras ciudades inglesas, retornando finalmente a Francia, donde visitaron brevemente Paris, retornando a Alemania en julio. Humboldt permaneció casi un mes como



huésped de Forster en Mainz, retornando luego a Göttingen para dirigirse casi de inmediato a Hamburgo, donde continuó sus estudios por un breve período. Sobre este viaje no nos ha quedado ningún informe escrito por Humboldt, ya que esta vez fue Forster quien realizó una pormenorizada publicación con los datos y observaciones más relevantes que pudieron recoger [2].

Este viaje encierra tres resultados importantes para toda la vida y actividad posterior de Alexander von Humboldt. En primer lugar, conoció, bajo la experimentada guía de Forster, los aspectos prácticos y organizativos de una expedición científica. Luego, visitó Londres una ciudad en la que en diferentes ámbitos se reunían muchos de los que ya tenían información actualizada y valiosa sobre el Nuevo Mundo así como los que planeaban y organizaban futuros viajes a esas regiones. Finalmente, en París, vivió y percibió en forma directa los resultados de la reciente Revolución, lo que dio una nueva dimensión y perspectiva a sus visiones políticas futuras.

En conclusión, la estadía en Göttingen si bien breve dejó huellas profundas y duraderas para toda su vida y evolución científico-académica posterior. Evidentemente, reconoció a través de Blumenbach la importancia de la observación directa y de los viajes de estudio, de Lichtenberg aprendió el valor de las mediciones experimentales y seguramente la de cuantificar sólidamente las observaciones. A Heyne le adeuda su afición por la arqueología y la importancia de los estudios sociológicos e históricos. Y, obviamente, su relación con Forster fue decisiva en el planeamiento y ejecución de sus grandes viajes posteriores. Además todo el espíritu universitario y creativo que impregnaba típicamente a toda la ciudad, con una gran cantidad de los mejores científicos de la época viviendo allí y desarrollando sus trabajos, dejaron sin duda una huella imborrable en un espíritu inquieto y ávido de saber, como el suyo. Y, como fue remarcado recientemente, Humboldt no sólo amplió y extendió ese espíritu göttingiano sino que siempre lo vivió personalmente con mucha intensidad [9].

Alexander von Humboldt tuvo casi cuarenta años después una nueva e importante relación con Göttingen, sin duda mucho más indirecta, pero de todas maneras de gran importancia científica. En 1826, cuando todavía residía en París, y en un viaje que realizó a Berlín, hizo una breve escala en Göttingen para conocer personalmente a Gauss, con quien ya estaba en contacto epistolar desde hacía bastante tiempo. Esta relación se intensificó dos años después, cuando Humboldt invitó a Gauss a Berlín a participar de una reunión científica, y lo alojó en su casa

[10,11]. Aparentemente, en esa oportunidad ambos científicos analizaron en profundidad diversos problemas relacionados con el geomagnetismo, un tema por el que sentían común atracción y al que Gauss ya había hecho importantes contribuciones en años anteriores, sobre todo de tipo matemático, mediante el llamado análisis de esféricas armónicas.

Una consecuencia importante del viaje de Gauss a Berlín fue que allí conoció al joven físico Wilhelm Weber a quien tres años más tarde logró incorporar como profesor a la Universidad de Göttingen [5] y quien se transformaría en uno de sus más valiosos colaboradores. Entre otras cosas, en 1833, construyeron el primer telégrafo electro-magnético y, asimismo, realizaron otras contribuciones notables e importantes en los campos de la física teórica y experimental. Asimismo, en el transcurso de estos trabajos conjuntos, Gauss desarrolló su método para la determinación de intensidades magnéticas absolutas. Por otra parte, Gauss y Weber intuyeron también la importancia y el valor de realizar mediciones magnéticas en toda la Tierra, así como estudiar sus variaciones locales y en el tiempo, y a esos efectos en 1834 crearon una Sociedad especializada (*Göttinger Magnetischer Verein*), a través de la cual empezaron a organizar mediciones en diversos lugares de Europa. Y otra vez, también en este campo, la visión y decisión de Humboldt resultó ser fundamental ya que inmediatamente percibió que era necesario convencer de este proyecto a las autoridades británicas, dado que ese país ocupaba una gran cantidad de territorios diseminados por todo el globo terrestre. En 1836 se comunicó con Augusto Federico, duque de Sussex, a quien probablemente también había conocido durante su estadía en Göttingen (Augusto Federico estudió allí entre 1786 y 1790, especialmente teología y lenguas hebraicas [4,5]) y que a la sazón era el presidente de la Royal Society [12]. Las sugerencias de Humboldt fueron muy bien recibidas y en poco tiempo se establecieron observatorios magnéticos permanentes en Canadá, Sud África, Ceilán, Santa Helena, Jamaica y Australia. Y la Royal Society avanzó aun más, ya que al organizar en 1839 la expedición antártica de Sir James Clark Ross, se incluyeron las mediciones magnéticas como uno de los objetivos principales [12]. Ya previamente, y al finalizar su expedición por Siberia (1829), Humboldt había sugerido al zar Nicolás I, la instalación de observatorios similares a lo largo del imperio ruso, instalaciones que paulatinamente se fueron creando e incluyeron, a partir de 1842, una estación en Sitka (Alaska) que en esa época era territorio ruso. También estas iniciativas y acciones de Alexander von Hum-



boldt tuvieron un fuerte y permanente impacto mundial, que aún se percibe en nuestros días, y ayudaron decisivamente al avance de los estudios geomagnéticos.

Por último, y de alguna manera vinculada con la importante relación científica establecida entre Gauss y Humboldt, resulta interesante mencionar que la reciente novela de Daniel Kehlmann *Die Vermessung der Welt* ("La Medición del Mundo"), publicada en 2005, y en la cual estos dos genios de la Ciencia y la Cultura universal son los personajes centrales, se transformó rápidamente en uno de los grandes *bestsellers* de nuestra época, alcanzando una rápida e increíble difusión mundial [13].

### Referencias

- [1] W. Heisenberg, en: "Alexander von Humboldt: Werk und Weltgeltung", H. Pfeiffer (Ed.), R. Piper & Co. Verlag, München, 1969, pp. 9-13.
- [2] A. Meyer-Abich, "Alexander on Humboldt", Rowohlt Verlag, Hamburg, 1967.
- [3] C. Hentschel, en: "Alexander von Humboldt: Werk und Weltgeltung", H. Pfeiffer (Ed.), R. Piper & Co. Verlag, München, 1969, pp. 31-91.
- [4] H. Motel, "Berühmte Persönlichkeiten und ihre Verbindung zu Göttingen", Verlag Göttinger Tageblatt, Göttingen, 1990.
- [5] W. Nissen "Göttinger Gedenktafeln", Vandenhoeck & Ruprecht, Göttingen, 1962.
- [6] F. Martini, "Deutsche Literaturgeschichte", 15ª. Edición, Kröner Verlag, Stuttgart, 1968.
- [7] G. Forster, "Reise um die Welt: Illustriert von eigener Hand", Eichborn Verlag, Frankfurt/M, 2007.
- [8] W. Lippert (Ed.): "Der 200. Geburtstag von Leopold Gmelin", Gmelin-Institut für Anorganische Chemie und Grenzgebiete der Max-Planck-Gesellschaft, Frankfurt/M, 1990.
- [9] W. Frühwald, Conferencia pronunciada el 6 de mayo de 2009 en Berlín, durante los actos en conmemoración del 150. Aniversario del fallecimiento de Alexander von Humboldt.
- [10] D. P. Stern, *Rev. Geophys.* **40**, 1 (2002).
- [11] C.W. Dunnington, "Carl Friedrich Gauss-Titan of Science", Mathematical Association of America, Washington DC, Cambridge University Press, Cambridge, 2004.
- [12] S.R.C. Malin & D.R. Barraclough, *Quart. J. Roy. Astronom. Soc.* **32**, 279 (1991).
- [13] D. Kehlmann, "Die Vermessung der Welt", Rowohlt Verlag, Reinbek bei Hamburg, 2005. Edición española: "La Medición del Mundo", Emecé Editores, Buenos Aires, 2007.

Manuscrito recibido y aceptado en mayo de 2009.

## DARWINISMO Y RELIGIÓN: ¿AUTONOMÍA, FUSIÓN O CONFLICTO?

(HOMENAJE A CHARLES DARWIN EN EL SEGUNDO CENTENARIO DE SU NACIMIENTO y EN EL 150° ANIVERSARIO DE LA PUBLICACIÓN DE *EL ORIGEN DE LAS ESPECIES*)

Jorge V. Crisci<sup>a,\*</sup> y Liliana Katinas<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Museo de La Plata, 1900-La Plata, Argentina, \*Académico Titular de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

*“Non ridere, non lugere, neque detestari, sed intelligere”.*

(No burlarse, no lamentarse, ni aborrecer, sino comprender)

Baruch Spinoza (1632-1677)

### 1. Introducción

En el año 2009 se cumplieron 150 años de la publicación del libro de Charles Darwin (1809-1882) *El Origen de las Especies*, y los 200 años del nacimiento de su autor. Esta celebración llevó a reflexionar sobre la teoría de la evolución biológica propuesta por Darwin, su estado actual, y su relación con distintas facetas de las actividades humanas. Entre estas actividades la religión, por su importancia en la vida de los pueblos, ocupó un lugar central en esas reflexiones. Por ello, parece justificado reflexionar, aunque más no sea brevemente, sobre la relación que se establece entre el darwinismo y la religión. Las visiones que esta relación ha generado han sido muchas y diversas, pero podemos reducirlas a tres: 1) conflicto; 2) fusión; y 3) autonomía.

Los objetivos de esta presentación son discutir brevemente: la relación entre darwinismo y religión; las tres variantes de esa relación, y la necesidad del diálogo entre ciencia y religión ante los graves problemas que amenazan a la humanidad.

Para lograr estos objetivos se hace necesario, en primer lugar, definir algunos términos y listar algunos hechos que han sido científicamente comprobados. Las definiciones son siempre controversiales, sin embargo en este caso son necesarias para crear una suerte de lenguaje común que le dé claridad a las argumentaciones que se presenten.

### Definición de términos

**Religión:** Conjunto de creencias o dogmas acerca de la divinidad, de sentimientos de veneración y temor hacia ella, de normas morales para la conducta individual y social y de prácticas rituales, principalmente la oración y el sacrificio para darle culto. Sus rudimentos se remontan, por lo menos, hasta los altares de huesos y ritos funerarios del hombre de Neanderthal. Desde esos tiempos, de acuerdo con el antropólogo Anthony F. C. Wallace (1923-), la humanidad ha producido alrededor de 100.000 religiones. Cuando se menciona la palabra “religión” en este trabajo, no se está refiriendo a una religión en particular, sino a lo definido anteriormente.

Dentro de la visión religiosa del mundo, existen variantes tales como:

**Teísmo:** Creencia en un dios personal y providente, creador y conservador del mundo.

**Deísmo:** Doctrina que reconoce un dios como autor de la naturaleza, pero sin admitir revelación ni culto externo. Dios prescindente de las acciones y destinos de los hombres.

**Fundamentalismo:** Posición que sostiene que los principios religiosos deben ser también modelo de vida política y fuente de las leyes del estado. Otra acepción del término es: Creencia religiosa basada en una interpretación literal de la Biblia, surgida en Norteamérica en coincidencia con la Primera Guerra Mundial. También se incluyen en este término interpretaciones literales

de libros sagrados de otras religiones, como por ejemplo el Corán de la religión islámica.

La visión "naturalista" (no religiosa) del mundo contiene las siguientes variantes:

**Agnosticismo:** Actitud filosófica que declara inaccesible al entendimiento humano todo conocimiento de lo divino y de lo que trasciende la experiencia.

**Ateo:** Que niega la existencia de Dios.

Respecto a lo científico, podemos definir:

**Ciencia:** Conjunto de conocimientos obtenidos mediante la observación y el razonamiento, sistemáticamente estructurados y de los que se deducen principios y leyes generales. En otras palabras la ciencia es el conocimiento obtenido mediante el método científico y que por lo tanto es: objetivo, racional, repetible, sistematizado, falible y sometido a la hipótesis de contrastabilidad.

A los fines de sustentar esta presentación, se dan como hechos científicos comprobados a los siguientes:

1. El universo ha evolucionado hasta su presente configuración por 11.000 a 15.000 millones de años. La Tierra se formó hace 4.500 millones de años.

2. Desde su formación la Tierra ha cambiado bajo el efecto de numerosas fuerzas físicas y químicas y continúa haciéndolo.

3. La vida apareció sobre la Tierra hace 3.500 millones de años atrás. La aparición de organismos fotosintéticos hace 2.000 millones de años transformó lentamente a la atmósfera a la condición actual con sustanciales cantidades de oxígeno. La fotosíntesis no sólo desprende oxígeno sino que es la fuente primaria de energía y alimento sobre la cual se asienta la vida humana en el planeta.

4. La Biología ha establecido que todos los organismos que poblaron y pueblan la Tierra han evolucionado de un antecesor común en los últimos 3.500 millones de años. A su vez, ha documentado numerosos eventos de esta historia evolutiva y ha desarrollado una sólida teoría de los mecanismos genéticos, del desarrollo, y ecológicos del cambio evolutivo.

## Conflicto

El conflicto ciencia y religión se remonta probablemente a la condena de Galileo Galilei (1564-1642) por parte de la Iglesia Católica por sostener la visión copernicana del sistema solar. Merece destacarse que en 1984 el Papa Juan Pablo II reivindicó a Galileo.

El mayor conflicto entre religión y ciencia se desata con la aparición del libro de Darwin sobre el origen de las especies y su contradicción con la lectura literal de las Sagradas Escrituras. Esta lectura literal, llamada creacionismo, sostiene que las especies han sido creadas, algo que habría tenido lugar en el mismo lugar donde cada una se encuentra. Ello explica la adaptación de las especies a su medio circundante, que constituye un simple acomodamiento al ambiente, sin una interrelación activa a lo largo del tiempo entre el ser vivo y su entorno. El creacionismo a su vez sostiene la estabilidad o permanencia en el tiempo de las especies, que son consideradas inmutables: siempre han sido como se las ve en el presente y así seguirán siendo.

La teoría de la evolución, al rechazar esta tesis creacionista, de alguna manera entró en conflicto con esta forma de entender la religión no necesariamente con la religión en sí misma. Nunca fue la intención de Darwin el generar un conflicto entre la ciencia y la religión ya que Darwin fue un creyente, en un principio teísta, y al final de su vida (según algunos autores) deísta.

Con el correr de los años, la teoría de la evolución de Darwin fue cambiando y mejorando científicamente. Después de Darwin, la biología de poblaciones, la biología molecular, los métodos de reconstrucción filogenética, la biogeografía moderna, y muy especialmente, la genética confirmaron la realidad de la evolución y a su vez mejoraron o contribuyeron grandemente con aportes originales a nuestra comprensión de los procesos que la generan.

Sin embargo, este progreso científico no aplacó el conflicto con las visiones creacionistas. Por el contrario, lo agravó. El ejemplo más claro del conflicto se da en los Estados Unidos de Norteamérica donde después de la I Guerra Mundial se observa la aparición de un movimiento creacionista muy fuerte al punto de prohibir en esos tiempos la enseñanza de la teoría de la evolución en las escuelas. Ello generó el famoso "juicio Scopes" tantas veces tratado en el teatro y en el cine (en la obra titulada "Herederás el viento"), donde un profesor John Scopes, fue condenado en un juicio en 1925 por haber enseñado la teoría de la evolución a sus alumnos. La condena consistió en el pago de una multa de 100 dólares, que nunca fue pagada por un tecnicismo ya que la ley establecía que por más de 50 dólares debía ser multado por un jurado y no por un juez, quien fue el que llevó a cabo el juicio.

Para muchos detrás de la dicotomía Evolucionismo *versus* Creacionismo se escondía un debate más profundo. Es el debate entre el confort de la nostalgia y la incertidumbre del futuro. Entre el miedo de abandonar el mundo imperfecto

pero familiar del pasado y adentrarse en la inexplorada e insondable promesa del futuro.

Este movimiento creacionista sigue hasta nuestros días, ahora bajo la denominación de "Diseño Inteligente". Esta nueva versión del creacionismo acepta en parte a la teoría de la evolución, pero rechaza la idea de que estructuras complejas, como por ejemplo el ojo humano, puedan haber sido producto de mecanismos evolutivos y que sólo se pueden explicar por la acción de un Creador. El Diseño Inteligente ha sido refutado desde la teoría de la evolución, demostrando que las estructuras complejas han surgido en la historia de la vida a partir de estructuras menos complejas que fueron adquiriendo a través del tiempo la complejidad que muestran actualmente.

Este rechazo a las ideas evolutivas no sólo se ha dado dentro del Cristianismo, sino también dentro de otras religiones como el Islamismo. Es importante señalar que la Iglesia Católica nunca se opuso a la teoría de la evolución. Por el contrario, el Papa Juan Pablo II la concibió como compatible con los dogmas de su Iglesia.

Desde la ciencia, no faltaron las voces que se opusieron científicamente a la religión. Escuchemos a algunas de esas voces:

"... cuando el individuo advierte que está predestinado a seguir siendo siempre un niño necesitado de protección contra los terribles poderes exteriores, presta a tal instancia protectora los rasgos de la figura paterna y crea sus dioses, a los que, a pesar de temerles, les encargará que lo protejan..."

Sigmund Freud (1856-1939)

"Nosotros nos creemos necesarios, inevitables, ordenados desde siempre. Todas las religiones [...] atestiguan el incansable, heroico esfuerzo de la humanidad negando desesperadamente su propia contingencia [...] El hombre sabe al fin que está solo en la inmensidad indiferente del universo de donde ha emergido por azar. Igual que su destino, su deber no está escrito en ninguna parte. Puede escoger entre una ética del conocimiento o las tinieblas del animismo".

Jacques Monod (1910-1976)

"El gran conflicto del siglo XXI puede que sea el Occidente contra el terrorismo. Pero el terrorismo es una táctica, no una creencia. La batalla subyacente será entre la civilización moderna y los fanáticos antimodernistas; entre aquellos que creen en la primacía del individuo y aquellos que creen que los seres humanos deben obediencia ciega a una autoridad superior; entre aquellos que le dan prioridad a la vida en este mundo y aquellos que creen que la vida humana

no es nada más que una preparación para una existencia en el más allá; entre aquellos que creen que la verdad se revela solamente a través de dogmas religiosos y aquellos que confían principalmente en la ciencia, la razón y la lógica. El terrorismo destruye vidas. Pero el terrorismo no es el único peligro que enfrentamos".

*Bush's God: The last word*  
Robert Reich (1946-)

Como se ve, el conflicto tiene partidarios tanto en la religión como en la ciencia y ha sido llevado a su extremo no sólo por el Diseño Inteligente, sino por el ateísmo militante de algunos científicos, como vemos en la siguiente frase:

"El universo que observamos tiene precisamente las propiedades que deberíamos esperar si en el fondo no hubiera un plan, un propósito, maldad, bondad, nada sino indiferencia sin sentido... En un universo de genes egoístas, fuerzas físicas ciegas y replicación genética, algunas personas van a salir heridas, otras van a tener suerte, y usted no encontrará ton ni son para ello... Sólo el científicamente iletrado acepta la pregunta `¿por qué?` en lo que concierne a las criaturas vivientes... No existe evidencia que sostenga a la religión."

Richard Dawkins (1941-)

## Fusión

Recientemente ha aparecido una tendencia a intentar unir ciencia con religión a través del llamado "Principio antrópico". El principio antrópico establece que el universo ha sido diseñado con la expresa finalidad de permitir el surgimiento de la vida. Según dicho principio, fueron necesarios alrededor de quince mil millones de años desde el origen del universo, en el *Big Bang*, para que las leyes físicas conocidas, por ejemplo las leyes de la mecánica cuántica y las constantes numéricas asociadas a dichas leyes como la masa del electrón y la velocidad de la luz en el vacío, hicieran posible el desarrollo de vida inteligente. Pero la singularidad de ese larguísimo proceso es la siguiente: si las leyes de la gravedad o del electromagnetismo y las constantes numéricas hubieran sido ligeramente diferentes, no habría tenido lugar la formación de átomos estables y, en consecuencia, estrellas y planetas, y se habría esfumado la posibilidad de aparición de seres inteligentes.

Para los que sostienen el principio antrópico, esa finísima calibración de las leyes matemáticas y de las constantes numéricas del universo es el resultado de la acción deliberada de un arquitecto o diseñador cósmico, un Dios

creador cuyo propósito fue hacer inevitable el surgimiento de la vida.

Quienes critican al principio antrópico, que no son pocos, no ven implicancias religiosas en el hecho de que las leyes físicas o matemáticas pudieran haber sido algo diferentes. El argumento de que la vida humana no hubiese existido si las leyes de la naturaleza fuesen levemente distintas, y que las leyes son entonces tal como son porque un Dios creador deseó nuestra presencia, no tiene sentido. Este argumento se transforma en un clásico ejemplo de razonamiento circular si se elimina la premisa de que los humanos aparecieron por razones buenas y necesarias. Si las leyes de la naturaleza hubiesen sido algo distintas y nosotros no estuviésemos aquí, alguna otra configuración de materia y energía hubiera existido, y el universo presentaría una construcción tan interesante con todas sus partes regidas por leyes de diferente naturaleza. Con la única excepción de que nosotros no estaríamos allí para hacer comentarios sobre ese universo alternativo.

### Autonomía

Esta posición sostiene que la ciencia (en este caso el darwinismo) y la religión son esferas separadas de la actividad humana y que de ninguna manera se contradicen.

Las contradicciones son afirmaciones mutuamente excluyentes que no pueden ser ambas verdad en el mismo contexto. Contexto es la palabra clave pues define la contradicción. Si las dos afirmaciones se hacen en un único, continuo y coherente contexto, luego ellas no pueden simultáneamente ser ambas verdad. Por ello, la contradicción requiere que las afirmaciones sean percibidas como aspectos interrelacionados de un contexto continuo y coherente. Si desaparece o se fragmenta el contexto, la contradicción desaparece. Frente a esta definición de contradicción, la relación ciencia-religión no puede ser tenida como de conflicto. Esta posición fue sostenida por un famoso teólogo católico alemán:

“Frente a todos los intentos de confundir la religión y la filosofía, la fe y el saber, debemos insistir con toda energía en que la religión *es una esfera del valor completamente autónoma*. No reposa en otra esfera del valor, sino que descansa íntegramente sobre propias bases [...] Si hay una esfera propia, religiosa, del valor, y consiguientemente un conocimiento religioso especial, se sigue que el cultivo de la religión sólo puede tener lugar por medios religiosos. No nos hacemos religiosos mediante una actitud intelectual, ni mediante las reflexiones filosóficas, ni mediante estudios y

lucubraciones teológicas, sino sólo desarrollando y desplegando el fondo religioso recibido de Dios, quizá menoscabado por una errónea educación y enseñanza religiosa; tratando de afinar y desarrollar, por decirlo así, el órgano religioso”.

Johannes Hessen (1889-1971)

La misma posición de Hessen ha sido sostenida en los últimos tiempos por famosos científicos evolucionistas como es el caso de Stephen Jay Gould (1941-2002) quien hace unos pocos años publicó un libro (*Rock of Ages, Science and Religion in the Fullness of Life*, 1999) con su tesis de magisterios separados para la ciencia y la religión. De alguna manera esta posición fue también sostenida por el Papa Juan Pablo II en numerosas ocasiones.

### Cooperación

La humanidad enfrenta una crisis multidimensional de proporciones inimaginables que incluye: La pérdida de biodiversidad, las enfermedades emergentes, la pobreza, el problema de la energía, la escasez de alimentos, el cambio climático, la escasez de agua, los problemas de la economía mundial.

Todas estas dimensiones se retroalimentan entre sí y generan incertidumbre hacia el futuro.

Es indudable que la ciencia y la religión tienen ambas el potencial para hacer el bien o el mal. La capacidad de mal que puede generarse desde la ciencia está claramente definida con la palabra “Hiroshima”. Y la capacidad de mal de la religión está claramente expresada en el 11 de septiembre de 2001.

Sin embargo, la capacidad de generar el bien de ambas esferas de la actividad humana es mucho mayor. Por ejemplo, el valor de la ciencia y en especial del darwinismo es enorme en la conservación de la biodiversidad, el mejoramiento de la agricultura, el hallazgo de productos naturales útiles para generar medicinas, la biotecnología, y la comprensión del origen del hombre.

Por otro lado, gran parte del arte ha sido generado por la influencia de la religión en los artistas. Sólo basta observar una de las obras de Miguel Ángel (1475-1564) como “La Piedad” o escuchar “La pasión según San Mateo” de Johann Sebastian Bach (1685-1750) para confirmarlo. Otra manera de entender el bien que la religión puede producir es escuchando las voces de importantes pensadores:

“Un mundo que se puede explicar hasta con malas razones es un mundo familiar. Pero, por el contrario, en un Universo privado repen-



tinamente de ilusiones y de luces, el hombre se siente extraño. Es un exilio sin remedio, pues está privado de los recuerdos de una patria perdida o de la esperanza de una tierra prometida”.

Albert Camus (1913-1960)

“La predisposición a la creencia religiosa es la fuerza más poderosa y compleja de la mente y con toda probabilidad una parte inseparable de la naturaleza humana”.

Edward Wilson (1929-)

“No puedo definir lo que es Dios, sólo puedo decir que mi obra ha probado empíricamente que la idea de Dios existe en todos los hombres, y que esta pauta tiene a su disposición las mayores energías para la transformación y la transfiguración de su ser natural. No sólo el sentido de la vida sino también su renovación y la de sus instituciones depende de esta relación consciente con esta pauta en su inconsciente colectivo”.

Carl G. Jung (1875-1961)

Por lo expuesto y basado en sus capacidades para hacer el bien, es imprescindible la cooperación entre la ciencia y la religión para enfrentar los graves problemas que aquejan a la humanidad, ya que los problemas son: trans-nacionales, transgeneracionales y transideológicos.

### **Conclusiones**

Ni el conflicto, ni la fusión son los caminos adecuados para establecer la relación entre el darwinismo (o si se quiere la ciencia) y la religión. La autonomía de las dos esferas de la actividad humana es posible y evita el fanatismo de creerse los dueños de la verdad. Aquí conviene escuchar la voz del gran pensador Albert Camus (1913-1960):

“Si la verdad absoluta existe en este mundo, seguramente no está en las manos de aquellos que dicen poseerla”.

Para concluir, recordemos que para la biología evolutiva somos primates catarrinos con la capacidad de razonar. La condición de primates nos hermana con el resto de los seres vivos. Por nuestra propia supervivencia, el razonar nos obliga (aunque no siempre obedecemos), a abrazar una serie de valores éticos que permitan la convivencia con el resto de los humanos. Por ejemplo, juzgar por la verdad, la belleza y la bondad y actuar por la libertad, la igualdad y la justicia. El razonar nos obliga, además, a vivir en armonía con la naturaleza y a ser custodios de nuestro hogar, la Tierra.

Por otro lado, la condición humana posee una poderosa fuerza espiritual o religiosidad innata, producto de una innegable y universal necesidad de trascendencia heroica. Esta fuerza espiritual, en la que se fundan todas las religiones, genera (o debería generar cuando está bien encauzada) una serie de valores éticos que fomentan el bien, la hermandad con el resto de los seres vivos y la veneración por la naturaleza.

Razón y espíritu, independientemente, nos confían un mismo y maravilloso mensaje de tolerancia que nos ayuda a comprender.

### **Agradecimientos**

Agradecemos a Alejandra Abello, Carla Baradello, Enrique Baran, Mariano Donato, Piero Marchionni, Mario Mariscotti, Edgardo Ortiz Jaureguizar, Paula Posadas y Horacio Reggini por el intercambio de ideas y valiosos consejos, sin que ello signifique compromiso alguno con lo aquí publicado. Agradecemos al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) el apoyo recibido.

*Manuscrito recibido y aceptado en mayo de 2010.*



**II**

**INCORPORACIONES DE  
ACADÉMICOS**



## **PRESENTACIÓN DEL DR. PEDRO JOSÉ DEPETRIS COMO ACADÉMICO CORRESPONDIENTE EN CÓRDOBA**

*Carlos W. Rapela*

Académico Titular de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Agradezco a la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales por el honor y el placer que es para mí hacer la presentación del Doctor Pedro José Depetris, como Académico Correspondiente, en Córdoba.

Conozco al Dr. Depetris desde hace casi 40 años. Nos reuní al comienzo de esta relación, la rareza de dedicarnos a una rama de las Ciencias de la Tierra, la geoquímica, que no tenía virtualmente cultores en Argentina. Debo decir que fuimos amigos desde el principio, a pesar de no cultivar disciplinas geoquímicas afines, ni haber redactado trabajos científicos en colaboración. Nos unió algo más fuerte que eso: una manera similar de practicar la ciencia, privilegiando la excelencia sobre cualquier otro factor. Distinguiéron al Dr. Depetris en toda su carrera la objetividad, la mesura, el cultivo de la excelencia y un comportamiento ético intachable. Como Académico Titular y actualmente Secretario de la Academia Nacional de Ciencias, en Córdoba, lleva a cabo una encomiable labor para mejorar el desenvolvimiento de la misma, e incrementar las acciones conjuntas con otras Academias Nacionales, actividad esta última, que se verá favorecida con su incorporación a esta Casa.

Refiriéndome ahora formalmente a sus antecedentes, Pedro José Depetris nació en la ciudad de Córdoba el 4 de Octubre de 1943. Se graduó con honores (Premio Universidad, Mención Especial y Diploma) como Geólogo (1965), en la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba, adonde luego se doctoró en Ciencias Geológicas (1970). Fue becario del Programa de la Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) y del Gobierno Argentino (Enero-Marzo 1965), de la Comisión Fulbright (EE.UU.) en la Universidad de

California, San Diego, EE.UU. (1966-67) y del CONICET en el Scripps Institution of Oceanography de La Jolla, California, EE.UU. (1967-68). Posteriormente, realizó estancias en los EE.UU. (BID/CONICET, en 1985); en la Universidad de Hamburgo en Alemania (DAAD, 1987 y 1988; Comunidades Europeas en 1990 y en el Institut für Biogeochemie und Meereschemie de Hamburgo (BMFT alemán, 1991).

En 1972 ingresó en la Carrera del Investigador Científico y Tecnológico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) como Investigador Adjunto, incorporándose al Instituto Nacional de Limnología (INALI) del CONICET, en Santo Tomé (Santa Fe). En el período 1976-86 se trasladó al Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC) de Santa Fe, adonde conformó un grupo de investigación y logró la categoría de Investigador Independiente del CONICET. Fue también Profesor Asociado (Universidad Nacional del Litoral, 1979-86). En 1986 llegó a la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba, como Profesor Titular ordinario (desde 1987), Profesor Titular Plenario (desde 2007). En el año 2000 alcanzó, asimismo, la categoría de Investigador Superior del CONICET. Luego de cumplir los 65 años de edad, la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales ha solicitado al H. Consejo Superior su designación como Profesor Emérito de la Universidad Nacional de Córdoba.

Ha dirigido ocho tesis doctorales y ha codirigido otras tres, todas concluidas en forma sobresaliente. La mitad de sus discípulos son actualmente miembros de la Carrera del Investigador Científico y Tecnológico del CONICET; otros son docentes universitarios en el país o en el exterior o se desempeñan en la actividad privada.

*Presentación realizada el 24 de abril de 2009.*



Ha sido jurado de tesis doctorales en una decena de oportunidades, tanto en la Argentina (Universidad Nacional de Córdoba; Universidad Nacional del Sur), como en el exterior (Université Louis Pasteur, Strasbourg, Francia, en dos oportunidades; Université Ibn Tofail, Kenitra, Marruecos). Como conferencista, además de varios centros académicos nacionales, ha visitado la Technische Universität Darmstadt (Alemania), el Centre de Geochimie de la Surface (CNRS) de Strasbourg (Francia), el Institut für Biogeochemie und Meereschemie, Universität Hamburg (Alemania); la University of Cincinnati, Ohio y Georgia Southern University, Statesboro, Georgia, en EE.UU., la Universidad de la República, Montevideo (R.O. del Uruguay) y la Universidad Nacional Autónoma de México, Mérida (México).

En la actualidad es Director del Centro de Investigaciones en Ciencias de la Tierra (CICTERRA), Unidad Ejecutora del CONICET-Universidad Nacional de Córdoba, de reciente creación. Asimismo, es Director del Centro de Investigaciones Geoquímicas y de Procesos de la Superficie (CIGeS), Centro de Vinculación que contribuyera a iniciar en 1999 en la Universidad Nacional de Córdoba (FCEFYN). Se ha desempeñado, por otra parte, como Director del Departamento de Química (Universidad Nacional de Córdoba, FCEFYN, 1990-92) y en la Carrera del Doctorado en Ciencias Geológicas de la Universidad Nacional de Córdoba (2001-04). En distintas capacidades ha formado parte de los cuerpos asesores o evaluadores argentinos (CONICET, FONCYT, SECYT, universidades nacionales, etc.), en países limítrofes (Universidad de la República, Montevideo, ROU) e internacionales (IRD, Institute de Recherche pour le Développement (ex ORSTOM) de Francia). En el terreno internacional, ha sido "Project co-leader" en el Proyecto 459 del *International Geological Correlation Programme* (IGCP de UNESCO), "*Carbon Cycle and Hydrology in the Paleo-terrestrial Environment*". Asimismo, ha sido "Associate Member" y "Full Member" en el SCOR (*Scientific Committee on Oceanic Research*)/LOICZ/IAPSO Working Group 122 sobre "*Mechanisms of Sediment Retention in Estuaries*". En la actualidad es también, Editor Asociado del *Journal of Hydrology*, de Elsevier. Es miembro de la *American Geophysical Union*, de la *International Association of Geochemistry*, de la *Asociación Geológica Argentina* y de la *Asociación Argentina de Sedimentología*. Ha sido designado *Chair-person* en el *International Scientific Advisory Board* del *18th International Sedimentological Congress* que tendrá lugar en Mendoza (Argentina) entre el 26.09 y el 1.10.2010.

Su interés científico se orientó hacia los procesos exógenos del planeta y, desde luego, hacia el cambio climático que se observa en la actualidad. Ha trabajado principalmente en la biogeoquímica del carbono, en la signatura química y en los procesos geoquímicos de las cuencas fluviales, y también en su dinámica hidrológica (fundamentalmente en el impacto del fenómeno El Niño-Oscilación del Sur). La sola enumeración de los temas principales que abordó en su carrera científica, nos revelan que Pedro se adelantó 25 años a muchos de los problemas actuales asociados al cambio climático. Ha publicado más de 60 trabajos científicos en publicaciones arbitradas, alrededor de 20 capítulos de libros y aproximadamente 60 trabajos en *proceedings* de congresos nacionales e internacionales. Esta actividad continúa en su máximo nivel hasta la actualidad, habiendo publicado entre 2007 y 2009 artículos en las revistas de mayor impacto de su especialidad: *Journal of Hydrology*, *Chemical Geology*, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, *Hydrological Processes*, *EOS*, *Transactions, American Geophysical Union*, *Global and Planetary Change* y *Geomorphology*.

Es co-autor del libro "*Mud and Mudstones. Introduction and Overview*", (Potter, P.E., Maynard, B.J., and Depetris, P.J., 2005. Springer, Heidelberg, 295 p., 2005) y co-compilador del libro "*Particle Flux in the Ocean*", (Ittekkot, V., Schäfer, P., Honjo, S., Depetris, P.J., Eds., SCOPE Series, J. Wiley & Sons, Chichester, 372 p., 1996).

En reconocimiento a la trayectoria científica, en el año 1996 fue designado Académico Titular de la Academia Nacional de Ciencias (Córdoba, Argentina). Ha integrado la Comisión Directiva de la corporación como Pro-Secretario (2000-04) y la integra como Secretario (2004-08 y 2008-2012). Ha sido distinguido con el premio de la SECyT de la Pcia. de Córdoba (1991) y, en dos ocasiones (1992 y 1994) con el Premio Universidad de la Universidad Nacional de Córdoba (Categoría 1). Recientemente, ha recibido el Premio INTERCIENCIA 2006 en el área del Ambiente, que otorga la Asociación Interciencia, la cual es una federación de las asociaciones americanas para el avance de la ciencia. Asimismo, en 2006, ha sido designado Miembro Honorario de la Asociación Argentina de Sedimentología, por lo aportes hechos para el impulso de la disciplina en nuestro país.

Pedro, bienvenido a la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, a la que prestigias con tu incorporación.

## PRESENTACIÓN DEL ING. LUIS A. DE VEDIA COMO ACADÉMICO TITULAR

*Eduardo N. Dvorkin*

Académico Titular de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Es para mí un honor y un gusto presentar al Ing. Luis De Vedia, quien hoy se incorpora a nuestra Academia.

*El curriculum del Ing. De Vedia verán ustedes que es el de un ingeniero que trabaja en temáticas de ciencia aplicada y en la realización de obras concretas.*

El Ing. Luis Alberto de Vedia se graduó como Ingeniero Electricista en la Universidad Nacional de La Plata en el año 1968. Realizó luego estudios de postgrado en el Curso Panamericano de Metalurgia desarrollado en la Comisión Nacional de Energía Atómica de la República Argentina bajo el auspicio de la Organización de Estados Americanos (OEA), recibiendo su certificado en Diciembre de 1969.

En 1972, luego de completar una misión en Alemania Federal como inspector de soldadura de componentes nucleares para el gobierno argentino, se le otorgó una beca del British Council y en 1974 obtuvo en el Cranfield Institute of Technology de Inglaterra, el grado académico de Master of Science en la especialidad Tecnología de la Soldadura. Ese mismo año recibió una beca de la OEA para realizar una estadía breve en los laboratorios de soldadura del Rensselaer Polytechnic Institute de los Estados Unidos. Desde Octubre de 1995 es "Chartered Physicist" del Institute of Physics de Inglaterra, título reconocido formalmente por la Comunidad Europea como calificación profesional en Física.

En Mayo de 1996, el Ing. de Vedia fue designado Profesor Extraordinario en la categoría de Profesor Honorario con la distinción de Académico Ilustre por la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Como integrante de la Comisión de Ener-

gía Atómica de Argentina, el Ing. de Vedia participó activamente en el equipo que produjo en el país el primer elemento combustible nuclear de potencia tipo MZFR con tecnología propia.

Hasta el año 1977 fue jefe del Dpto. Asistencia Técnica a la Industria (SATI) y de la Div. Soldadura y Ensayos No Destructivos de la Gerencia de Desarrollo de dicha Comisión. Después de dejar la Comisión de Energía Atómica fue socio fundador y director de una empresa de ingeniería destinada a la fabricación de componentes para la industria nuclear y comenzó a desempeñarse como consultor privado, entre otros proyectos, realizó la especificación de los procedimientos de soldadura y fue responsable del control de calidad y consultor durante la construcción y montaje de una grúa flotante de 2.000 Tn de capacidad, la de mayor capacidad construida en el país destinada a tareas de salvataje marítimo y estuvo a cargo del control de calidad de proyecto y ensayos especiales de un sobrepunte modular de 1000 Tn de capacidad destinado al transporte de los grandes componentes de la Central Nuclear Embalse, Córdoba.

Efectuó la especificación de procedimientos de reparación por soldadura, y la conducción de calificación de procedimientos y de soldados, para la construcción de cuatro bombas del circuito primario (moderador y refrigeración de emergencia), destinadas a la Central Nuclear Embalse, Córdoba. También fue responsable de la especificación de los procedimientos de soldadura, conducción de la calificación de procedimientos y de los soldados, y responsable de la inspección y control de calidad por cuenta del fabricante para la construcción de componentes (anillos predistribuidores) para grandes turbinas hidráulicas.

Desde mediados de 1980 hasta comienzos de 1986, fue Profesor Titular del Dpto. de Mecánica de la Universidad Nacional de Mar del

*Presentación realizada el 28 de agosto de 2009.*

Plata, desempeñándose al mismo tiempo como Director Sustituto del Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales de dicha Universidad.

Desde 1986 fue el primer Director Ejecutivo y luego Vice Presidente de la Fundación Latinoamericana de Soldadura, organización privada sin fines comerciales dedicada a la capacitación, ingeniería e investigación en soldadura

El Ing. de Vedia es desde 1980 miembro de la Carrera de Investigador de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Prov. de Buenos Aires siendo actualmente Investigador Principal de dicha Comisión y ha desarrollado simultáneamente con sus tareas profesionales una vasta actividad docente y académica.

Ha sido profesor invitado de universidades de Argentina, Brasil, Colombia, Chile, Ecuador, Méjico, Paraguay, Uruguay, Bolivia y Venezuela para dictar cursos sobre Mecánica de Fractura, Análisis de Fallas y Soldadura. Asimismo, continúa activo en la dirección de investigadores argentinos en temas de su especialidad, habiendo dirigido más de una decena de tesis doctorales, de maestría y de grado.

Ha publicado más de 60 trabajos en revistas y anales de congresos internacionales con arbitraje y efectuado más de 100 presentaciones en congresos nacionales y regionales. Es además autor de un libro de texto sobre Mecánica de Fractura y otro sobre Mecánica del Continuo.

El Ing. de Vedia ha actuado regularmente como experto de la Organización de Estados Americanos y de la Organización de las Naciones Unidas y en calidad de tal ha desarrollado tareas en América Latina, Canadá, Europa y Medio Oriente.

Durante 1991 recibió una beca de UNIDO para asistir al Primer Curso sobre Resear-

ch and Innovation Management (Gestión para la Innovación Tecnológica), desarrollado en las Universidades de Venecia y de Trieste bajo el auspicio del International Center for Science and High Technology de las Naciones Unidas. Durante su carrera profesional, el Ing. de Vedia ha sido responsable o co-responsable de varios proyectos nacionales e internacionales de I&D con transferencia de tecnología. Su actividad e interés lo han llevado a ocuparse también de temas de filosofía de la ciencia y la tecnología y problemas de frontera entre ciencia, tecnología y sociedad.

Actualmente es investigador, Profesor Titular Ordinario y hasta Marzo de 2008, Director de la carrera de Ingeniería en Materiales del Instituto de Tecnología Prof. Jorge A. Sábató, dependiente de la Universidad Nacional de Gral. San Martín y de la Comisión Nacional de Energía Atómica. Anteriormente fue Profesor Asociado regular y luego Profesor Titular interino del Dpto. de Ingeniería Mecánica de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Buenos Aires.

Es miembro Senior de Instituto Británico de Soldadura, hoy TWI, del Institute of Physics de Inglaterra, miembro honorario de la American Welding Society y fue el primer miembro correspondiente en la Argentina de la American Society for Mechanical Engineers (ASME). En abril de 2007 fue incorporado como miembro titular a la Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires. En agosto de 2008 fue designado Profesor Consulto Asociado por la Universidad Nacional de Buenos Aires.

En resumen, el Ing. De Vedia tiene el perfil científico-tecnológico de la ingeniería moderna en su continua transformación de ciencia aplicada en desarrollos tecnológicos.

## EL PARADIGMA ESTRUCTURA – PROPIEDADES EN EL DISEÑO METALURGICO DE UNIONES SOLDADAS DE ACERO DE ALTA RESISTENCIA

Luis A. de Vedia

Instituto Sabato (UNSAM-CNEA), CIC, FIUBA  
Centro Atómico Constituyentes, Av. Gral Paz 1499,  
1650 San Martín, Bs.As, Argentina  
ldevedia@cnea.gov.ar

### Resumen

A partir de la década del 50 comienza a producirse la unión entre la metalurgia tradicional y la física, dando lugar a lo que hoy se conoce como metalurgia física. Esta unión en la actualidad se proyecta y generaliza en la moderna ciencia de los materiales y una de las ideas centrales de esta ciencia se sustenta en el reconocimiento que muchas de las propiedades que exhiben los materiales son emergentes de la estructura de los mismos. El presente trabajo analiza la influencia que este paradigma ha tenido sobre el desarrollo de consumibles de soldadura para aceros de alta resistencia y sobre la identificación y control de las variables que determinan las propiedades mecánicas de sus uniones soldadas.

*Palabras clave:* Soldadura, Aceros de alta resistencia, Microestructura, Ferrita acicular.

### Abstract

**The Structure - Properties paradigm in the metallurgical design of high strength steels welded joints.** During the 50's begins to take place a marriage between traditional metallurgy and physics, giving rise to what today is known as physical metallurgy. This union gradually evolved into the modern materials science and one of its central ideas consists in that many of the properties exhibited by materials are emergent from their inner structure. The present work analyzes the influence that this paradigm has had on the development of welding consumables for high strength steels and on the identification and control of those variables that determine the mechanical properties of the welded joints.

*Keywords:* Welding, High strength steels, Microstructure, Acicular ferrite.

No hay como recurrir a un texto de ingeniería, para establecer de manera elocuente las complejidades de un problema tecnológico y las limitaciones de un enfoque puramente científico: “...un ala llena de combustible se puede calentar considerablemente mientras el avión es servido en la pista. Durante el ascenso, cuando el avión soporta muchas de las cargas de maniobra, el material se encuentra todavía tibio, hasta que al llegar a la estratósfera la estructura y el combustible se enfrían hasta  $-55^{\circ}$  C. Se producen cargas cíclicas, y si el vuelo es sobre el océano, el aire contiene alguna cantidad de sal. Al descender, la estructura fría se encuentra con aire tibio y húmedo, que también puede poseer algo de ácido sulfúrico. Es así que una eventual fisura en el tanque, estará expuesta por un lado al cambiante

*medio externo y por el otro al combustible.... Claramente, una situación como la descrita desafía cualquier intento de modelado teórico. Ni siquiera es concebible que un ensayo de laboratorio provea una solución al problema. Sólo queda como recurso el pragmatismo ingenieril”*

David Broek [1]

Basta dirigir nuestra atención a los innumerables artefactos que constituyen nuestro mundo material, desde circuitos electrónicos, pasando por aparatos de uso doméstico, hasta turbinas hidráulicas o medios de transporte, para darnos cuenta que en la inmensa mayoría de los mismos, se ha debido emplear una o más tecnologías de unión para los distintos materiales



que los componen, sean estos metales, plásticos, cerámicos o compuestos.

Dentro de estas tecnologías de unión, la soldadura, en sus múltiples variantes y procedimientos, constituye una de las más importantes, **Fig. 1**.

Las uniones soldadas deben exhibir propiedades consistentes con los materiales que unen, ya que de lo contrario, las soldaduras representarían un eslabón débil en la cadena de elementos que componen una estructura. Es por esta razón que el desarrollo de materiales progresivamente superiores en lo que se refiere a su desempeño en servicio, debe necesariamente estar acompañado del desarrollo paralelo de técnicas de soldadura que aseguren una unión con las propiedades mecánicas, físicas y químicas acordes con los materiales en los que estas técnicas son utilizadas.

Lamentablemente, esto no resulta siempre así y muchas fallas catastróficas de estructuras han sido atribuidas a la presencia de soldaduras defectuosas, **Fig. 2**.

Sin embargo, en las últimas décadas, se han producido avances importantes en la ciencia

y tecnología de la soldadura. Con el desarrollo de nuevas metodologías que se encuentran en la intersección entre las ciencias básicas y las aplicadas, la expectativa de avanzar hacia un diseño científico de la composición, estructura y propiedades de las uniones soldadas, parece realizable. Esto requiere la solución de distintos problemas concernientes a la estructura y propiedades de las soldaduras así como el control inteligente y una mayor automatización de los procesos.

En los últimos 40 años, el crecimiento de la moderna ciencia y tecnología de la soldadura ha sido notable. La soldadura a nivel mundial constituye una actividad que mueve miles de millones de dólares en la construcción de obras civiles, industria naval, aeronáutica y espacial, generación de energía y electrónica. Quizás por el hecho de ser una técnica de fabricación, es vista como una ciencia primitiva. Sin embargo, nada más alejado de la realidad que esta idea. En las últimas décadas, la soldadura ha evolucionado como una actividad multidisciplinaria requiriendo la síntesis del conocimiento de varias disciplinas y ha incorporado las herramientas más avanzadas de diversas ciencias básicas y aplicadas: física del plasma, termodinámica, ciencia de materiales, fenómenos de transporte, modelado computacional, robótica, ingeniería eléctrica y electrónica [2].

Desde una perspectiva histórica, puede afirmarse que la moderna tecnología de unión de metales comienza en la segunda mitad del siglo XIX. Sin embargo, esta tecnología reconoce antecedentes mucho más antiguos y podemos encontrar evidencia arqueológica que nos dice que en la ciudad de Ur, hoy en territorio de Irak, en la Mesopotamia, los Sumerios ya empleaban el procedimiento conocido hoy como "*brazing*", que es una forma de unión de metales en la que se emplea una aleación intermedia de bajo punto de fusión, para fijar las empuñaduras de espadas y producir objetos de orfebrería de oro de elaborado diseño [3].

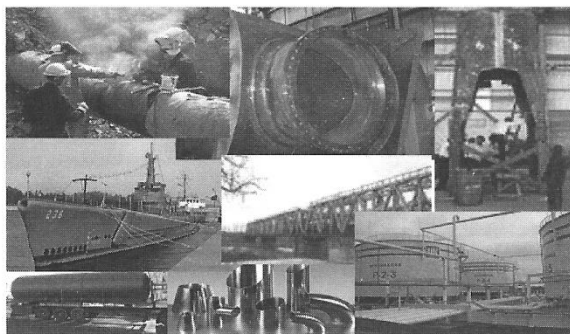


Fig. 1. Construcciones soldadas.

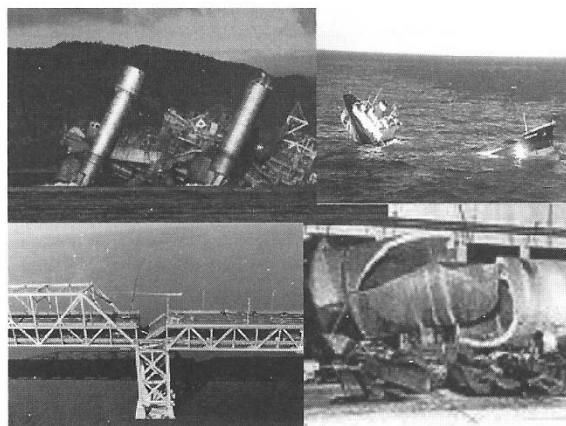


Fig. 2. Fallas de estructuras soldadas.

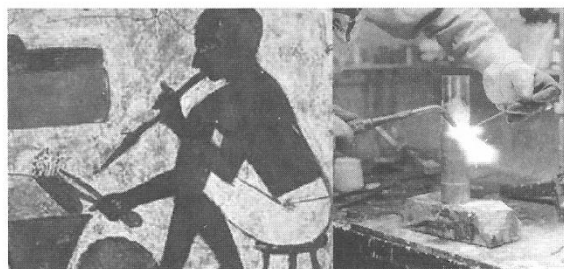


Fig. 3. Brazador Egipcio y brazador contemporáneo.

La Edad del Bronce nos muestra otros ejemplos consistentes en la producción de pequeñas cajas circulares de oro con juntas de solape soldadas por presión, estimándose que su fabricación se produjo hace más de 2000 años. En la Edad del Hierro, los egipcios y otros pueblos del este del Mediterráneo aprendieron como soldar piezas de este metal, como lo sugiere la **Fig. 3**, que muestra a un brazador egipcio ejecutando su tarea.

La misma figura muestra una notable similitud con la imagen de un operario moderno realizando la misma tarea.

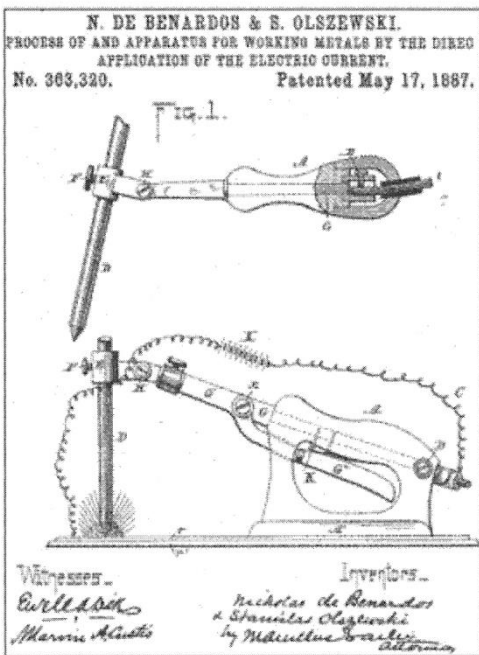


Fig. 4. Patente de Bernardos y Olzewski de 1887 en los EE.UU.

Durante la Edad Media, el arte de la herrería fue desarrollándose y comienza la producción de muchos artículos soldados por forja.

La producción de un arco eléctrico entre dos electrodos de carbón, utilizando una batería, es atribuida a Sir Humphry Davy en 1800 en Inglaterra. A mediados del siglo XIX se inventa el generador eléctrico y hacia fines del mismo siglo, gracias al descubrimiento del acetileno por Edmund Davy en Inglaterra en 1836, la soldadura y corte por oxi-gas, así como la soldadura empleando un electrodo de carbón o un electrodo metálico, comenzaron a desarrollarse.

La primera patente registrada de soldadura, fue la otorgada en Inglaterra en 1885 a los rusos Nikolai N. Benardos y Stanislaus Olszewski, quienes trabajando en un laboratorio de Francia registraron un dispositivo porta electrodo que empleaban con electrodos de carbón. Esta patente fue poco después seguida por otra similar registrada en los Estados Unidos en 1887, **Fig. 4**.

La primera patente por un electrodo metálico la obtiene en 1890 en Estados Unidos C.L. Coffin de Detroit, con lo que se introduce el concepto de electrodo consumible, y un desarrollo similar es logrado por N.G. Slavianoff en Rusia, pero aplicado sólo a depositar metal fundido en un molde.

Sin duda unos de los hitos más importantes en la soldadura por arco es la introducción del electrodo revestido como lo conocemos actualmente, **Fig. 5**, debido a Oscar Kjellberg, logrado entre 1907 y 1914, esencialmente sumergiendo las varillas de hierro desnudas en mezclas espesas de silicatos y carbonatos, y dejando luego secar el revestimiento resultante [4]. Kjellberg funda en este período a la compañía sueca ESAB, hoy una de las multinacionales más importantes del mundo en el campo de la soldadura.

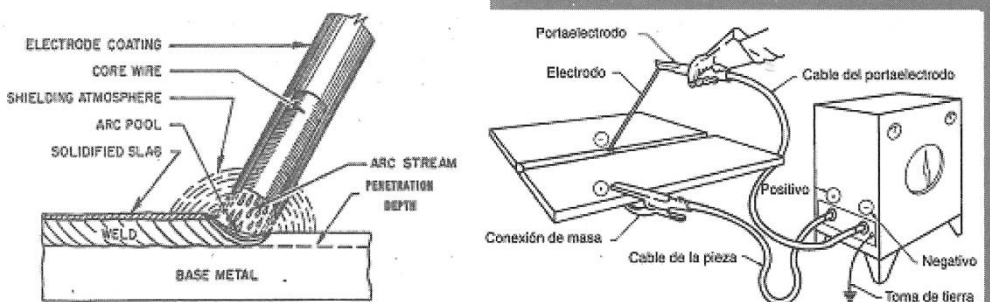


Fig. 5. Proceso de soldadura por arco con electrodo revestido.

Durante el siglo XX y en lo que va del XXI, se produjeron importantes innovaciones en la tecnología de la soldadura por arco, entre las que cabe destacar la introducción del electrodo continuo, que permitió incrementar notablemente la eficiencia del proceso, la soldadura bajo protección gaseosa, los electrodos tubulares, los sistemas de control sinérgico, la robótica y la tecnología de fuentes de poder “inverters”, para mencionar sólo las más significativas (Fig. 6).

No obstante el largo camino recorrido por la tecnología metalúrgica desde que el hombre comenzó a reducir minerales de cobre en hornos primitivos, y a pesar de los importantes logros alcanzados desde entonces, podemos decir que hasta los años '50, la metalurgia se había desarrollado en forma empírica, esencialmente por prueba y error, con poca o ninguna contribución del conocimiento científico, salvo quizás de la termodinámica y la físico-química a fines del siglo XIX y comienzos del XX, pero básicamente utilizada en el área extractiva y de reducción de minerales [5]. En particular, los conocimientos ya existentes en la época referentes a la estructura atómica, no habían aun hecho impacto en la tecnología de los metales. Fue recién a partir de los años '50 que empieza a producirse el matrimonio entre la física y la metalurgia tradicional dando origen a lo que hoy conocemos como Metalurgia Física, que comenzaba entonces a tomar carta de ciudadanía como una rama legítima de la física. Esta unión introdujo un nuevo paradigma que tiene vigencia hasta nuestros días. Este paradigma surge del reconocimiento que las propiedades de los metales y aleaciones, tanto mecánicas como

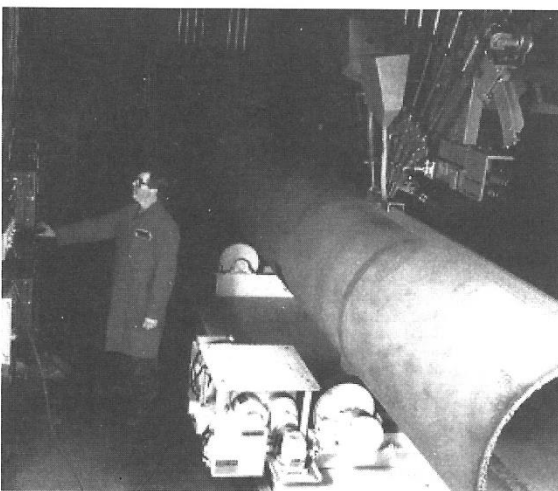


Fig. 6. Fabricación de tuberías mediante soldadura automática por arco sumergido que emplea cinco alambres simultáneamente.

magnéticas, eléctricas y nucleares, son cualidades emergentes no sólo de la composición química sino en gran medida de la estructura de los mismos [6]. El término estructura, aplicado a un metal o aleación, debe entenderse aquí algo así como la “arquitectura” en distintas escalas de descripción del material, es decir a nivel atómico, en el que quedan definidas las estructuras cristalinas y los defectos cristalinos, a nivel mesoscópico en el que se definen e identifican las fases y microfases presentes y su distribución, y a un nivel que podemos llamar macroscópico, en el que se caracteriza el tamaño de grano y su morfología o textura. Un celebrado ejemplo de la relación microestructura-propiedades, es la ley de Hall-Petch, Fig. 7, que dice que la resistencia al inicio de la deformación plástica de un metal o aleación, caracterizada por su tensión de fluencia, es inversamente proporcional a la raíz cuadrada del diámetro de grano promedio.

La ley de Hall-Petch está relacionada con uno de los logros más destacables que se produjeron como resultado de la simbiosis entre la Metalurgia y la Física en la década del '60. Este fue el desarrollo de los aceros de tratamiento termomecánico controlado, conocidos también como aceros microaleados. Estos aceros de media y alta resistencia deben su existencia al conocimiento de la física de los defectos cristalinos y de la teoría de transformaciones de fase, que permitió el control submicroscópico de precipitados a través de la introducción de muy pequeñas cantidades de elementos de aleación específicos, seguido de un tratamiento de laminación a temperaturas controladas.

El resultado fue una generación de aceros, esencialmente al C-Mn, que poseen elevada resistencia mecánica y excelente resistencia a la fractura frágil, mediante el recurso de utilizar en

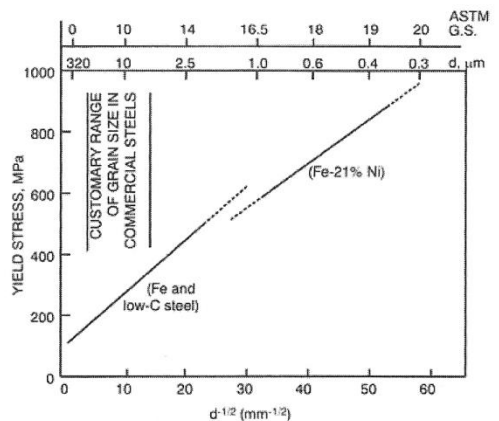


Fig. 7. Ley de Hall-Petch.

su producción, como un destacado metalurgista argentino dijo: “*más materia gris que elementos de aleación*” [7]. Actualmente, estos aceros son ampliamente utilizados en la industria de producción y transporte de gas y petróleo y no deja de ser significativo que los eventuales sucesores de estos aceros, al menos en algunas aplicaciones, sean las nuevas generaciones de aceros supermartensíticos, que también son el resultado de la comprensión lograda en fenómenos metalúrgicos fundamentales y en la teoría de aleaciones.

Este y otros desarrollos logrados en aceros estructurales requieren ser acompañados por un avance similar en lo que hace a las uniones soldadas que permitan la fabricación con tales materiales, manteniendo una consistencia entre las propiedades mecánicas del material base no afectado por el procedimiento de soldadura y la unión soldada. Con relación a esto, los últimos 25 años han permitido ampliar la comprensión de los fenómenos físico-químicos y metalúrgicos que determinan las propiedades de una junta soldada, lo que ha hecho posible la formulación de consumibles para soldadura basada en el conocimiento del rol que los componentes microestructurales tienen sobre las propiedades finales de la soldadura.

El incremento que tuvo lugar en los últimos años en la utilización de aceros de media y alta resistencia, generó la necesidad de disponer de consumibles de soldadura adecuados para tales aceros. Esto a su vez provocó un significativo avance en la formulación de electrodos a fin de obtener en los depósitos de soldadura altos valores de resistencia asociados con buena tenacidad [8].

La seguridad estructural y la tolerancia a la presencia de defectos en juntas soldadas se obtuvieron imponiendo requerimientos de tenacidad por medio del establecimiento de niveles mínimos de energía Charpy-V a una temperatura arbitraria y de valores mínimos de CTOD a la más baja temperatura de diseño [9], haciéndose la obtención de valores adecuados de CTOD más difícil a medida que la resistencia del metal de soldadura se incrementa.

Una forma de mejorar la tenacidad de una soldadura es a través del control microestructural. Si nos limitamos al metal de soldadura, los trabajos realizados por distintos investigadores en los años '70, condujeron a la observación que la ferrita acicular, es la microestructura óptima para el metal de soldadura, ya que conduce a una adecuada combinación de resistencia y tenacidad a la fractura a baja temperatura [10,11]. La ferrita acicular tiene un tamaño de grano muy fino y una alta concentración de dislocaciones móviles que son responsables de su tenacidad y ductilidad [12]. El aspecto que presenta la ferrita acicular en el microscopio óptico se muestra en la **Fig. 8** [13].

Puede observarse el conglomerado de pequeños granos, típicamente con longitudes de algunos micrones y una relación de aspecto de aproximadamente 0.1, con una gran desorientación cristalina entre ellos lo que contribuye, no sólo a mejorar su resistencia a la tracción sino también su resistencia a la propagación de una fisura por clivaje. Varios investigadores han encontrado que se puede obtener una temperatura de transición baja en el metal de soldadura si la proporción de ferrita acicular es alta y las de ferrita proeutectoide en borde de grano y ferrita con componentes alineados, principalmente carburos, como lo muestra la **Fig. 9** [13], son suficientemente bajas [6,8,11,14].

El efecto deletéreo de la ferrita proeutectoide nucleada sobre los bordes de grano de la austenita

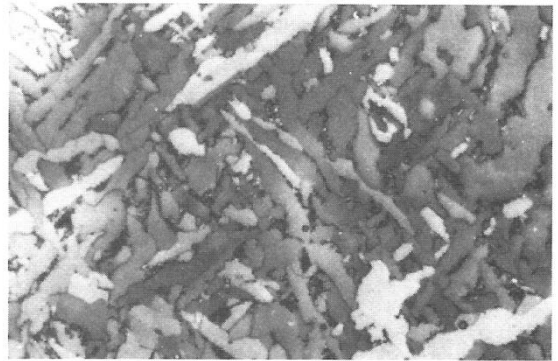


Fig. 8. Ferrita acicular en un depósito de soldadura por arco sumergido de un acero al C-Mn (1600 X).

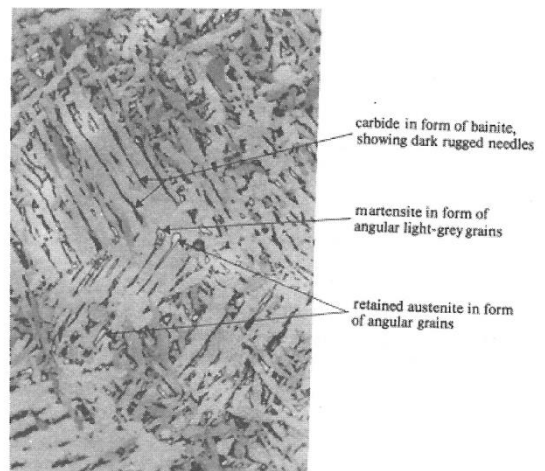


Fig. 9. Ferrita con carburos alineados, austenita y martensita retenidas en un depósito por arco sumergido de un acero al C-Mn (1000 X).



durante el enfriamiento del metal de soldadura, queda en evidencia en la Fig. 10, que muestra fisuras asistidas por hidrógeno que se han propagado por clivaje a lo largo de los caminos fáciles que las “venas” de ferrita en borde de grano les proveen.

De manera que la obtención de depósitos de soldadura ferríticos con una buena combinación de resistencia mecánica y tenacidad, puede lograrse aumentando la proporción de ferrita acicular en el metal depositado y reduciendo la de componentes microestructurables menos deseables como ferrita en borde de grano, ferrita en placas laterales y componentes alineados.

La cantidad de ferrita acicular en el depósito de soldadura será la resultante de una serie de fenómenos que comienzan con la formación de la estructura primaria de solidificación que se genera a partir del enfriamiento del metal de soldadura desde el estado líquido.

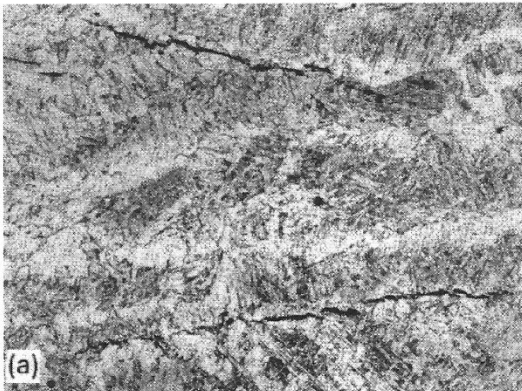


Fig. 10. Fisuras asistidas por hidrógeno propagadas por mecanismo de clivaje en la ferrita en borde de grano.

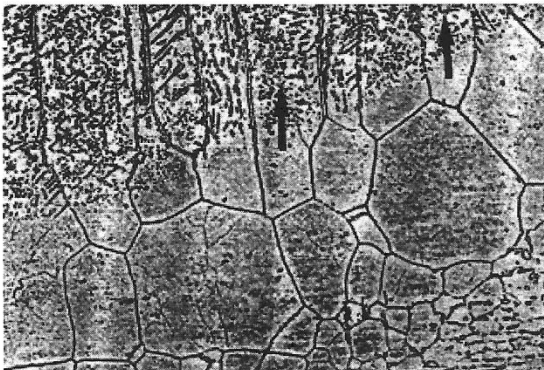


Fig. 11. Crecimiento epitaxial de granos columnares desde el metal base. Soldadura MIG de acero inoxidable.

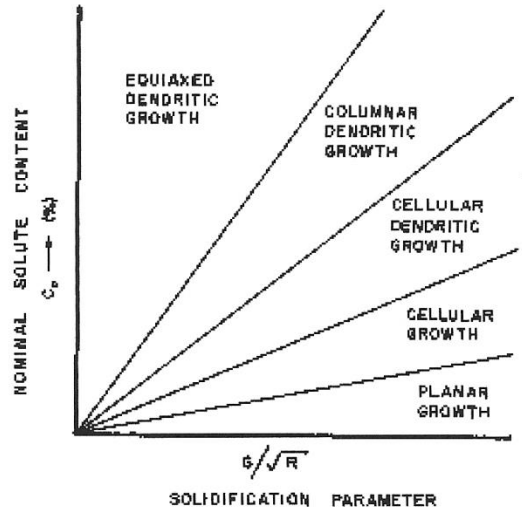


Fig. 12. Modos de solidificación.

A diferencia de lo que ocurre en un lingote, la solidificación del metal de soldadura se produce prácticamente sin nucleación de nuevos granos, por el mecanismo conocido como crecimiento epitaxial, por el cual los granos de la zona afectada por el calor del material base adyacente a la pileta de fusión, se extienden como granos columnares siguiendo la dirección de máxima extracción calórica, como puede verse en la Fig. 11 para el caso de una soldadura MIG de acero inoxidable [15].

La mecánica de solidificación nos enseña que el avance de la interfase sólido-líquido puede producirse acompañada de inestabilidades cuyas características dependen del grado de sobreenfriamiento constitucional que tenga el metal líquido adyacente a la interfase que progresa. De este modo, el frente de solidificación puede avanzar en forma planar, celular, celular dendrítico o columnar dendrítico, dependiendo del gradiente de temperatura, la velocidad local de avance del frente de solidificación, y de la composición nominal de la aleación, como se muestra esquemáticamente en la Fig. 12, donde  $G$  es el gradiente de temperatura en el líquido frente a la interfase,  $R$  la velocidad local de solidificación y  $C_0$  la composición nominal de la aleación.

Si bien todos estos modos de solidificación pueden estar presentes en una soldadura, los modos habitualmente dominantes en aceros al C y de baja aleación son el celular y celular dendrítico, que se muestran en la Fig. 13 [16].

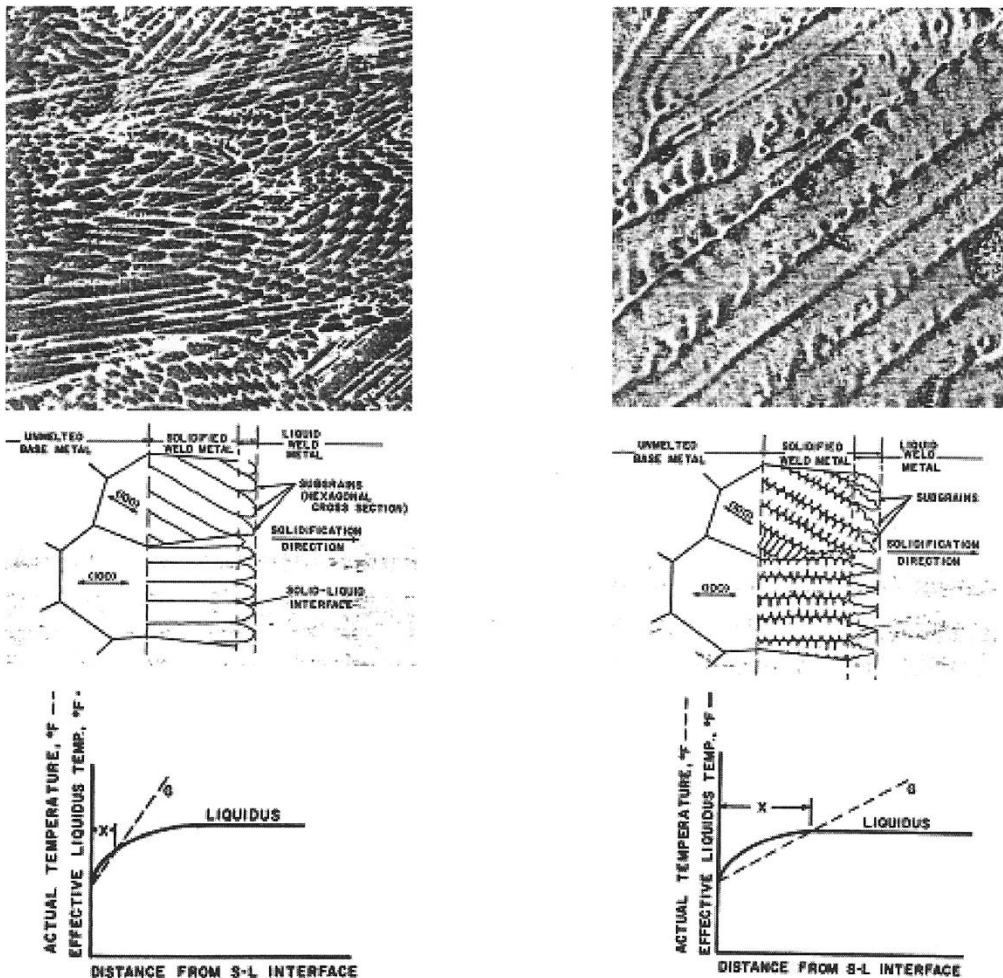


Fig. 13. Modos de solidificación celular y celular dendrítico en función de grado de sobreenfriamiento constitucional ilustrado en el gráfico inferior.

La Fig. 14 muestra en un corte longitudinal, la solidificación columnar de un depósito de soldadura de acero de baja aleación y alta resistencia realizado por el proceso GSFCAW (electrodo tubular con protección gaseosa). Los granos columnares son claramente visibles por encontrarse delineados por las venas de ferrita proeutectoide. Puede también observarse un evento de renucleación de un grano columnar, promovido por el cambio de orientación en la dirección de crecimiento [17]. La subestructura de segregación, no resuelta en la foto, es predominantemente del tipo celular o celular dendrítica.

En aceros al carbono y de baja aleación, la fase que solidificará primero es normalmente la ferrita  $\delta$ , como lo muestra la Fig. 15 [18] en la que pueden verse los granos columnares de ferrita  $\delta$  en cuyos bordes ha comenzado el crecimiento de la fase  $\gamma$ . La misma figura nos enseña que para velocidades de enfriamiento suficientemente elevadas, la solidificación puede ocurrir directamente en fase  $\gamma$  metaestable, lo cual es en general indeseable porque en este caso los estratos de segregación coincidirán con los bordes de grano austeníticos. En cambio, al producirse la solidificación en fase  $\delta$ , el posterior crecimiento de los granos austeníticos a partir de los bordes

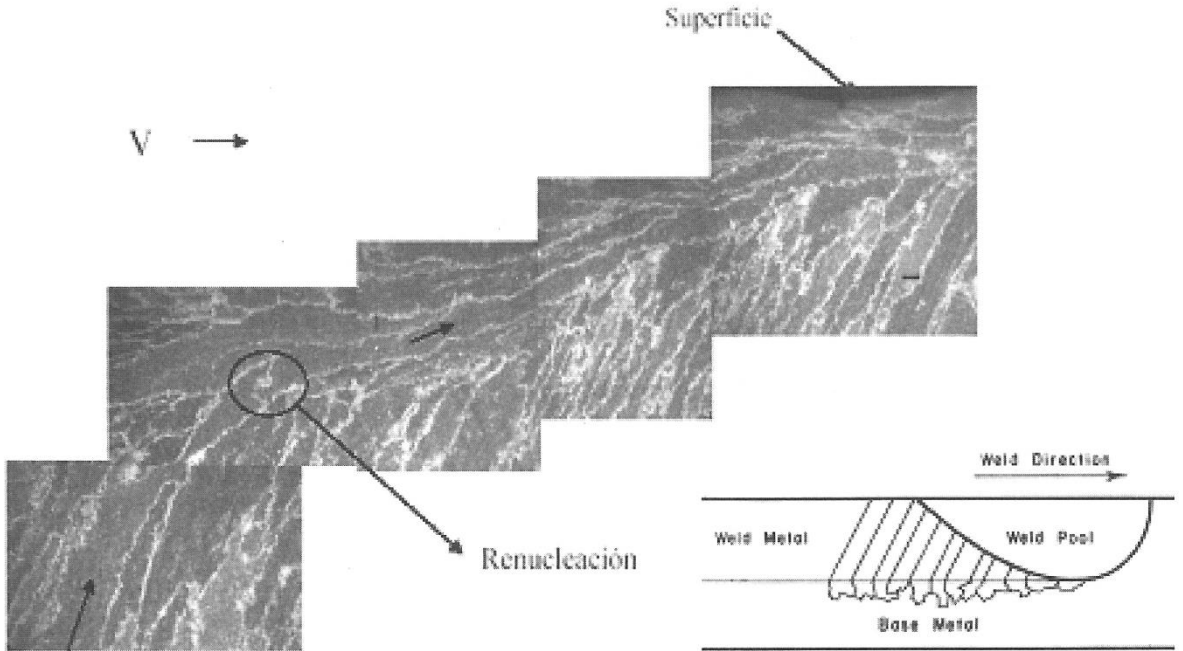


Fig. 14. Solidificación celular de un depósito de soldadura de acero de baja aleación realizado por el proceso GSFCAW.

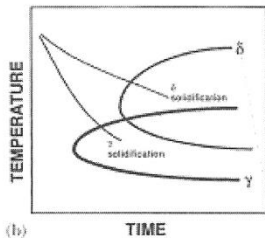


Fig. 15. Granos columnares de ferrita  $\delta$  con austenita alotriomórfica creciendo en los bordes de la fase  $\delta$ .

de grano ferríticos resultará en una reorientación de aquellos con relación a estos últimos debido al desplazamiento de la fuente de calor durante el proceso, lo que tendrá como consecuencia que

los estratos de segregación no se encontrarán en coincidencia con los bordes de grano de la austenita y por lo tanto tampoco en coincidencia con la ferrita proeutectoide o alotriomórfica que se formará sobre dichos bordes de grano. Una razón ulterior que hace indeseable la solidificación en fase  $\gamma$ , es que los coeficientes de difusión de los solutos sustitucionales son órdenes de magnitud mayores en la ferrita que en la austenita, lo que producirá estratos de segregación menos marcados cuando la solidificación se produzca en fase ferrítica.

El tipo y la proporción de constituyentes microestructurales finales de la soldadura, resultarán de las características de transformación del depósito que determinarán los productos de transformación de la austenita durante el enfriamiento. Estas características de transformación pueden controlarse a través de la composición química y mediante una adecuada selección de los parámetros de soldadura. Si bien las curvas que definen la características de transformación de la austenita bajo transformaciones isotérmicas (Curvas TTT) o bajo condiciones de enfriamiento continuo (Curvas CCT), son bien conocidas para una gran cantidad de aceros y constituyen la guía más importante para la realización de tratamientos térmicos, la situación es muy diferente para depósitos de soldadura. Existe aun escasa información

en la literatura sobre las características de transformación isotérmica o bajo enfriamiento continuo de depósitos de soldadura de aceros de media y alta resistencia. Esto se debe en buena medida a las dificultades para la obtención experimental de dichas curvas debido a las altas temperaturas de austenización requeridas y a las elevadas velocidades de enfriamiento necesarias para reproducir las experimentadas por el cordón de soldadura.

La Fig. 16 muestra esquemáticamente curvas de transformación de la austenita bajo enfriamiento continuo de un depósito de soldadura de acero al C-Mn [19].

Durante el enfriamiento, la transformación de la austenita comienza en los bordes de grano con la formación de ferrita proeutectoide (también llamada alotriomórfica), seguida por la transformación de la austenita en el interior del grano a placas laterales de ferrita, ferrita acicular o ambas.

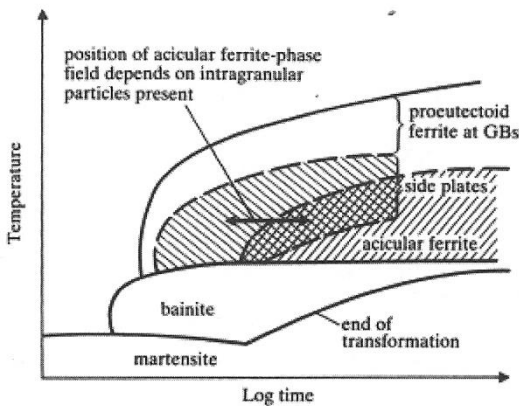


Fig. 16. Curva de transformación CCT de un depósito de soldadura de acero al C-Mn mostrando la dependencia de la formación de ferrita acicular de las partículas intragranulares presentes.

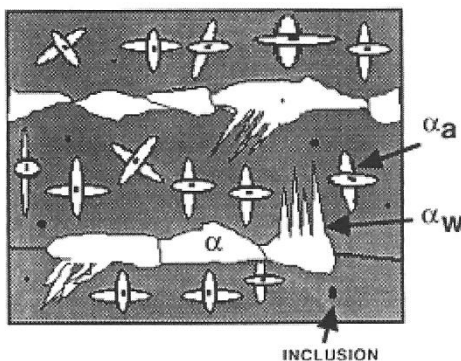


Fig. 17. Microconstituyentes principales de la descomposición de la austenita en soldadura.

La Fig. 17 ilustra esquemáticamente estos constituyentes microestructurales, donde  $\alpha$  denota la ferrita proeutectoide en borde de grano austenítico,  $\alpha_w$  las placas laterales o ferrita Widmanstätten, y  $\alpha_a$  la ferrita acicular. Puede observarse que las inclusiones juegan un rol importante en la nucleación de la ferrita acicular.

La Fig. 18<sup>(17)</sup> muestra microfotografías en las que puede verse ferrita en placas laterales o Widmanstätten. En la parte (a) de la figura, las placas han avanzado sobre todo el ancho de los granos de austenita. En cambio en la parte (b) de la foto se observa que el crecimiento de la ferrita en placas ha sido limitada por la formación de ferrita acicular, mejorando así las características microestructurales del depósito.

Entre los granos de ferrita pueden también aparecer carburos y otros componentes menores como martensita y austenita retenida. La proporción de ferrita acicular estará fuertemente influenciada por el tamaño de grano austenítico y por el tamaño y la distribución de partículas nucleantes presentes en la austenita. Se atribuye una proporción alta de ferrita acicular a un grano austenítico primario grande y a la presencia de un número elevado de inclusiones de diámetro mayor que  $0.2 \mu\text{m}$  [20]. La formación de inclusiones de mayor tamaño en el metal de soldadura se ve favorecida por contenidos bajos de oxígeno. La Fig. 19 muestra la formación de placas de ferrita acicular sobre una partícula de óxido, poniendo claramente de manifiesto el efecto nucleante de este tipo de inclusiones [17].

El efecto de la cantidad de oxígeno en el metal de soldadura sobre la tenacidad, se ilustra

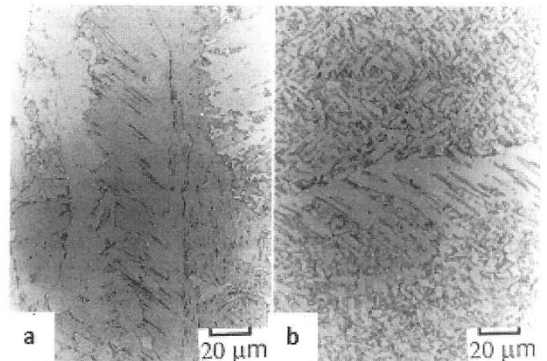


Fig. 18. Ferrita Widmanstätten en depósito de soldadura.



Fig. 19. Nucleación de placas de ferrita acicular sobre una inclusión no metálica.

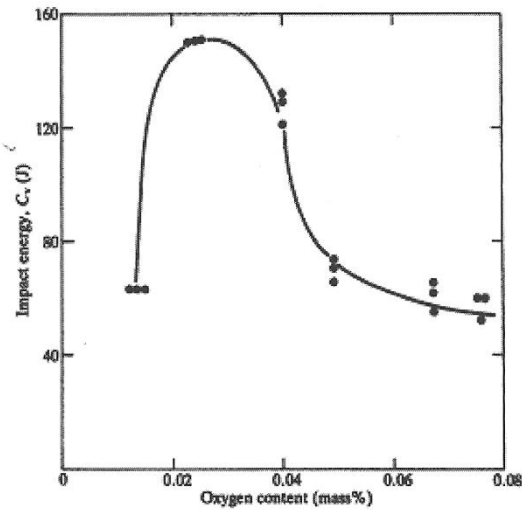


Fig. 20. Resistencia al impacto a  $-15^{\circ}\text{C}$  de un depósito de arco sumergido de 785 MPa de resistencia a la tracción, en función del contenido de oxígeno.

en la Fig. 20 [19]. Puede verse que el óptimo de tenacidad se obtiene para aproximadamente 0.02-0.03% de oxígeno (200-300 ppm). Esto se explica porque a mayores contenidos de oxígeno se favorece el clivaje por la presencia de mayor cantidad de oxígeno intersticial disuelto en la red cristalina de la ferrita y porque la distribución de inclusiones no es la óptima para la formación de ferrita acicular. Por otro lado, para valores de oxígeno inferiores al óptimo, la cantidad de inclusiones que promueven la nucleación de la ferrita acicular es insuficiente y se favorece la

formación de placas laterales en detrimento de la ferrita acicular.

Si bien se acepta que óxidos de Ti ó silicatos de Mn ó de Al-Mn son partículas eficaces para la nucleación de la ferrita acicular, existe en general discrepancia acerca de cuál es la composición óptima de tales partículas y cuál es el mecanismo responsable de fenómeno de nucleación de la ferrita acicular.

El efecto de los elementos de aleación es también muy importante en la determinación de los constituyentes microestructurales finales del depósito de soldadura. De la gran variedad de elementos utilizados como aleantes en los aceros, se pueden diferenciar dos grandes grupos. Por un lado los elementos estabilizadores de la fase  $\gamma$  o gamágenos tales como C, N, Mn, Ni, Cu y Zn mencionados en orden de efectividad decreciente. Por otro lado se tienen los elementos estabilizadores de la fase  $\alpha$  o alfégenos tales como Zr, Ti, P, V, Nb, W, Mo, Al, Si, y Cr. Se puede agregar un grupo adicional que corresponde a los elementos formadores de carburos dado que son de importancia en el desarrollo microestructural del metal de soldadura de aceros de alta resistencia, donde los más significativos son el Mo y el Cr, seguidos por Nb, V y W [22].

La Fig. 21 muestra el efecto del contenido de oxígeno y de elementos de aleación sobre las curvas de enfriamiento continuo de una depósito de soldadura de un acero de baja aleación para dos velocidades de enfriamiento [23]. Puede verse que para el aporte térmico más alto (Curva b), el

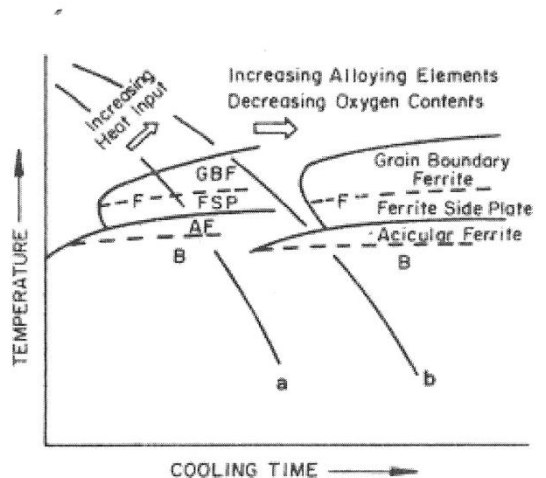


Fig. 21. Influencia del oxígeno y de los elementos de aleación sobre las curvas CCT de un depósito de soldadura de acero de baja aleación. Se muestran dos curvas de enfriamiento correspondientes a bajo (a) y alto (b) aporte térmico.



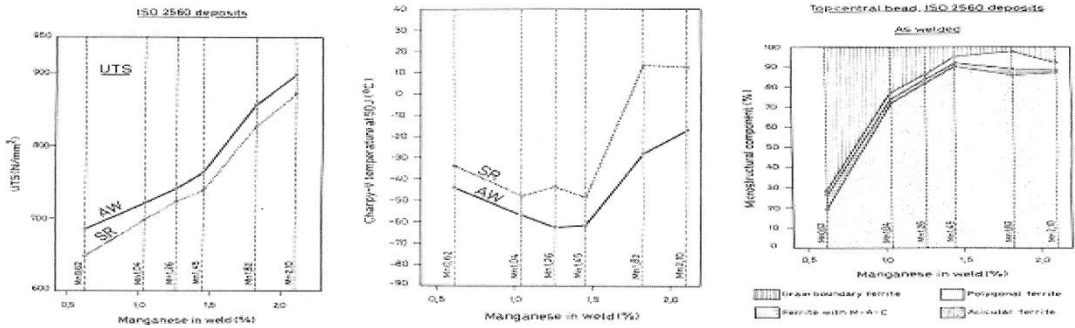


Fig. 22. Variación de la resistencia a la tracción, y de la temperatura de transición de 50 J, para un depósitos de soldadura del sistema C-Mn-Ni-Cr-Mo (AW: As Welded, SR: Stress Relieved) y su relación con la proporción de constituyentes microestructurales.

acero menos aleado y con más oxígeno presentará más ferrita proeutectoide y ferrita en placas laterales en detrimento de la proporción de ferrita acicular. En cambio, para la misma velocidad de enfriamiento, el acero más aleado y menos oxígeno presentará una microestructura consistente mayormente en ferrita acicular.

De los elementos mencionados, el C, N, Mn, Si, y Mo suelen encontrarse típicamente en los aceros soldados. Como resultado del potente efecto del carbono sobre la templabilidad de los aceros, el contenido de este elemento en los depósitos de soldadura se mantiene usualmente bajo y dentro de un rango ajustado (típicamente 0,04-0,10%) para mantener resistencia contra la fisuración asistida por hidrógeno y el consiguiente riesgo de iniciación de fractura frágil en la región soldada [24].

Después del carbono, el manganeso es el más importante de los elementos de aleación comúnmente utilizados para aumentar la resistencia y la templabilidad de un acero. Ya que el Mn disminuye la temperatura de transformación de austenita a ferrita, adiciones balanceadas de Mn son normalmente utilizadas para aumentar la tenacidad. El aumento del contenido de Mn produce un aumento de la fracción volumétrica de ferrita acicular en combinación con un refinado general de la microestructura y una disminución del contenido de ferrita en borde de grano y de la ferrita con segundas fases alineadas [25,26].

Para el caso de soldaduras multipasadas ejecutadas mediante el proceso SMAW de aceros al C-Mn, las mejores propiedades al impacto se obtuvieron para un contenido de Mn de alrededor de 1,4%, asociado a una microestructura más favorable y un mayor límite de fluencia con el aumento del contenido de Mn. Este contenido de

Mn promueve una estructura de ferrita acicular, mientras que para 0,8% Mn el constituyente predominante es ferrita Widmanstätten, y para 2,2% Mn la estructura está compuesta por bainita<sup>(24)</sup>. Estudios realizados sobre el efecto del Mn en depósitos de soldadura de acero del sistema C-Mn-Ni-Cr-Mo con resistencia a la tracción en el rango de 700-900 MPa, mostraron que el contenido de aproximadamente 1.4% Mn resulta en una óptima combinación de resistencia a la tracción y tenacidad, como lo indican los resultados de la Fig. 22 [27,28].

Esta combinación óptima de resistencia mecánica y tenacidad, está directamente vinculada al efecto del Mn sobre la microestructura, como lo muestra la misma figura, pudiendo observarse la coincidencia entre el tenor de Mn que brinda esta mejor combinación, con el que resulta en la máxima proporción de ferrita acicular.

Estudios conducidos por Evans [29] mostraron que a medida que aumenta el contenido de cromo y molibdeno en depósitos de soldadura conteniendo 1% Mn, la proporción de ferrita alotriomórfica disminuye. En cambio, la fracción en volumen de ferrita acicular pasa por un máximo como lo muestra la Fig. 23.

La proporción de ferrita con segundas fases alineadas aumenta a partir de este máximo en detrimento de la ferrita acicular. Según Bhadeshia y otros investigadores [30], la mayor parte de la ferrita con segundas fases estaría en realidad constituida por bainita (indicada como B en la figura) y en menor proporción por ferrita Widmanstätten (indicada como A en la misma).

Resultados de otros investigadores [31], Fig. 24, muestran que a partir de aproximadamente 1% Cr, la temperatura de transición de 50J aumenta rápidamente con el contenido

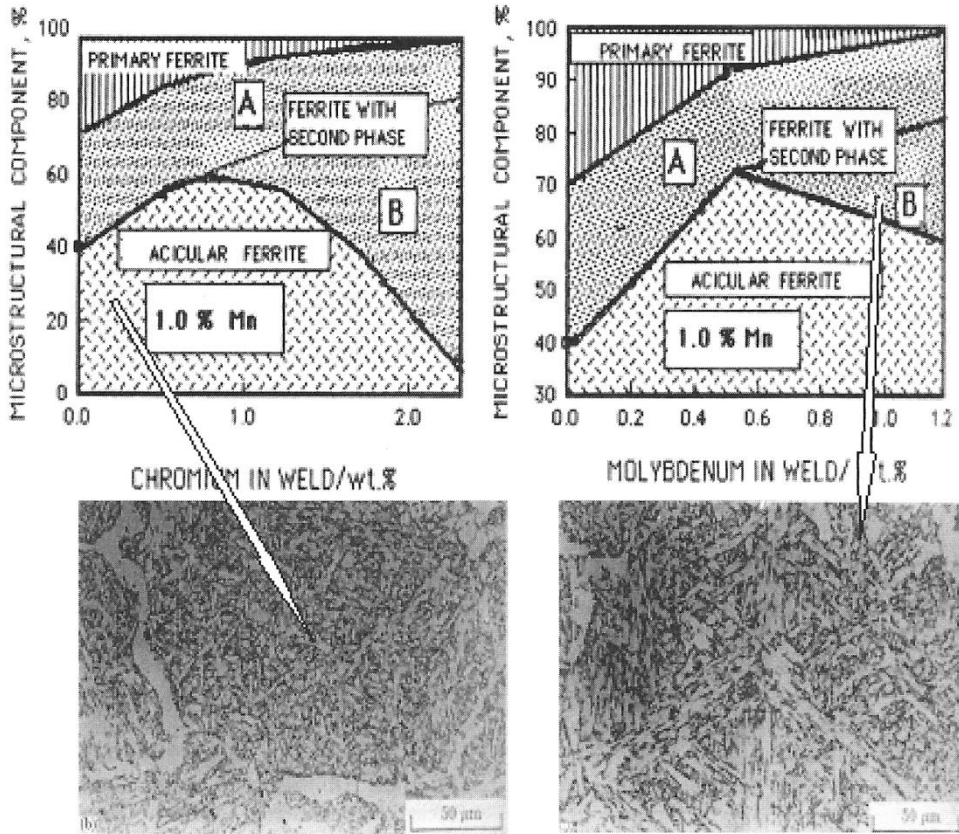


Fig. 23. Cambios en la microestructura de depósitos de soldadura de aceros en función del contenido de Cr y Mo.

de este elemento en depósitos de soldadura de aceros de baja aleación conteniendo 1% Mn en la condición “as welded” (denotada como AW en la figura), de modo que el contenido de Cr que maximiza la proporción ferrita acicular, coincide con la obtención de la mejor combinación de propiedades de tracción e impacto en dicha condición. A partir de este tenor de Cr, la ferrita acicular comienza a ser reemplazada por bainita, que si bien microestructuralmente es similar a la ferrita acicular, se diferencia de ésta por adoptar una morfología orientada que no es tan favorable para la tenacidad.

El reemplazo de la ferrita acicular por bainita a partir de un cierto contenido de Cr ó Mo se atribuye a un fenómeno más general que tiene su explicación en el aumento de la templabilidad producida por el aumento en el contenido de algunos elementos de aleación, como se muestra en la Fig. 25, que resulta en una reducción de la cantidad de ferrita alotriomórfica que se forma sobre los bordes de grano austeníticos. Esta reducción

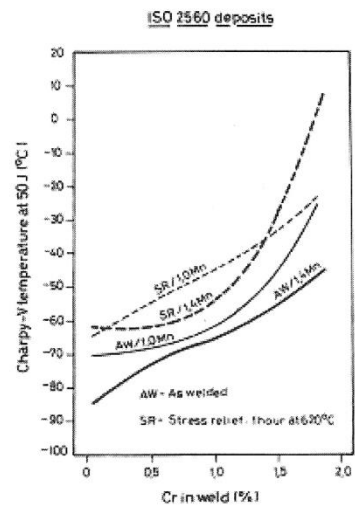


Fig. 24. Temperatura de transición de 50 J en depósitos de soldadura del sistema C-Mn-Ni-Cr-Mo en función del contenido de Cr para 1% y 1.4% Mn.

de ferrita alotriomórfica en los bordes de grano austeníticos favorecería la formación de placas bainíticas, como se muestra esquemáticamente en la misma figura [18].

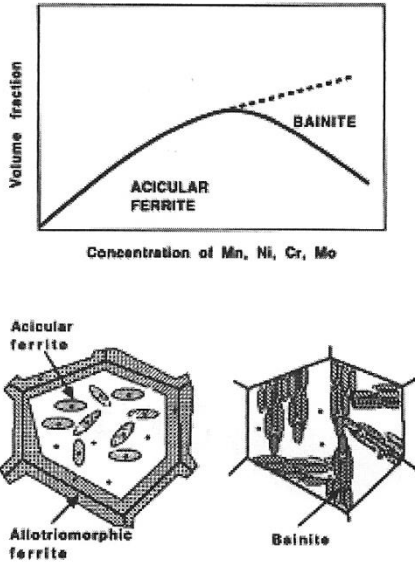


Fig. 25. Representación esquemática del mecanismo de transición de ferrita acicular a bainita.

Finalmente, la influencia del carbono sobre la microestructura y las propiedades mecánicas de los depósitos de soldadura de aceros, es muy marcada. La Fig. 26 [32] muestra que muy pequeñas variaciones en el contenido de C son suficientes para introducir modificaciones importantes en la resistencia a la tracción y en la resistencia al impacto en depósitos de soldadura de aceros de baja aleación y alta resistencia del sistema C-Mn-Ni-Cr-Mo. En particular, se observa que a partir de un contenido de C de aproximadamente 0.1%, el aumento de resistencia a la tracción se obtiene a costa de un rápido deterioro de la tenacidad.

Es importante destacar que, como se muestra en la Fig. 27, un aumento del tenor de C resulta en un aumento en la proporción de ferrita acicular<sup>(32)</sup>, lo que nos dice que tratándose de elementos de aleación intersticiales, la obtención de la mejor combinación de resistencia y tenacidad no pasa simplemente por la maximización de la fracción en volumen de la ferrita acicular.

Todo lo expuesto nos permite concluir que la optimización de propiedades mecánicas en un depósito de soldadura de acero de alta resistencia, requiere la consideración de una cantidad de variables relacionadas entre sí. Por la misma razón la predicción de las propiedades de un depósito de soldadura de tal tipo requiere el

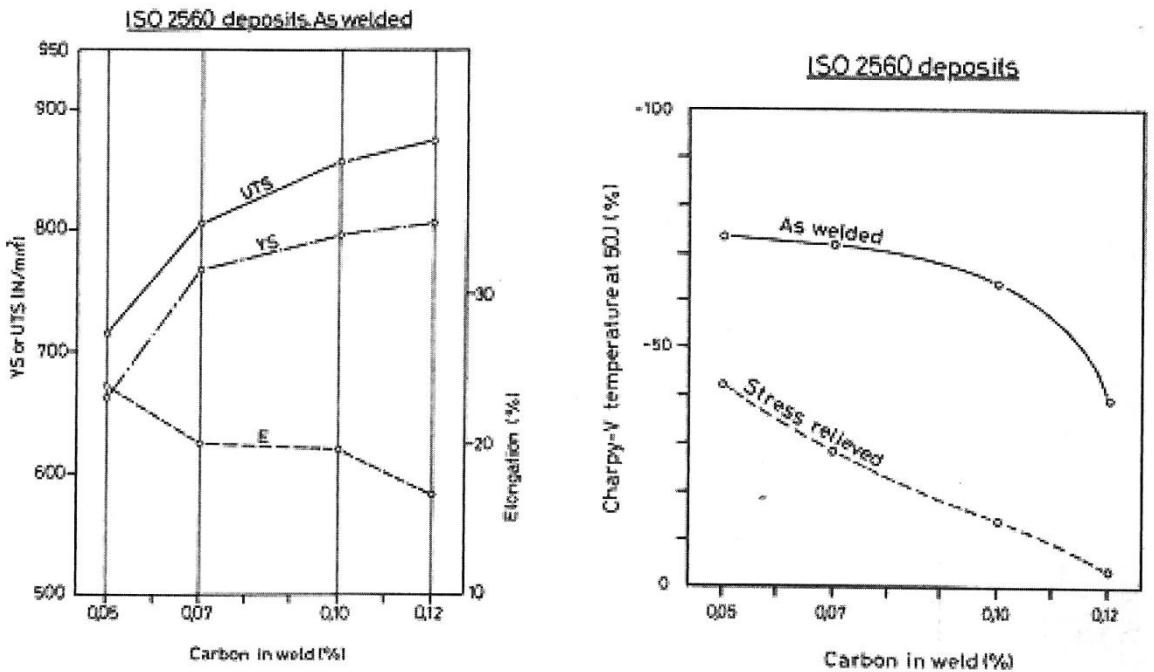


Fig. 26. Influencia del carbono sobre la resistencia a la tracción y sobre la temperatura de transición de 50 J en depósitos de soldadura de aceros del sistema C-Mn-Ni-Cr-Mo.



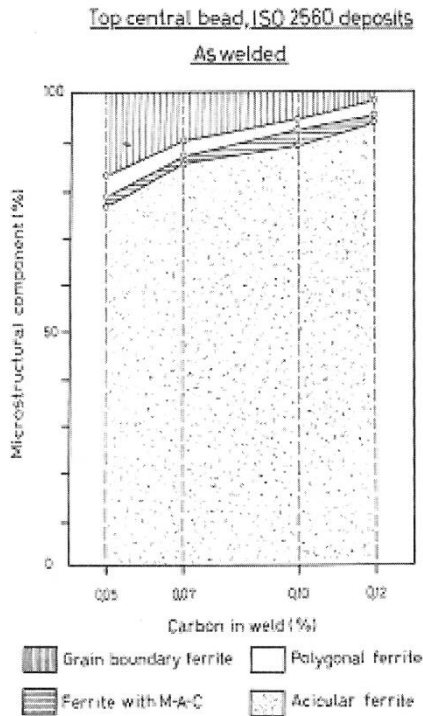


Fig. 27. Influencia del carbono sobre la microestructura de depósitos de soldadura de aceros del sistema C-Mn-Ni-Cr-Mo

desarrollo de modelos que tengan en cuenta todas esas variables. En forma muy esquemática, se puede esperar que un tal modelo posea una estructura del tipo:

$$\text{Propiedad}_{\text{Metal depositado}} = f(\text{Mn, Si, Ni, Cr, Mo, .....}) + f(\text{O, S}_{\text{inclusiones}}) + f(\text{I, V, polaridad}) + f(\text{V}_{\text{enfriam.}}) + f(\text{C}_0/k, \text{G/R})$$

Donde el primer término tiene en cuenta el contenido de elementos que determinan la templabilidad del depósito, el segundo término incluye los efectos de partición de soluto sobre la formación de inclusiones y las transformaciones de fase, el tercer término tiene en cuenta posibles efectos electroquímicos debidos la corriente, tensión y polaridad empleadas, el cuarto término contiene la velocidad de enfriamiento y el último término representa el efecto de los gradientes composicionales [33].

Como consideración final, digamos que siempre es difícil efectuar predicciones respecto de la evolución en una determinada área de la

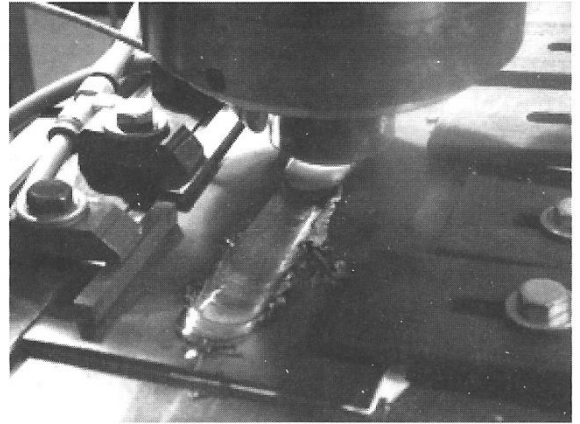


Fig. 28. Equipo de soldadura en fase sólida de aceros por Fricción - Agitación (Friction Stir Welding) desarrollado recientemente en la Argentina empleando una herramienta de cerámico avanzado.



Fig. 29. Estructura de un puente ferroviario soldado.

ciencia o la tecnología. En este sentido la tecnología de la soldadura, hoy fuertemente asentada sobre una diversidad de disciplinas científicas, nos sugiere un panorama futuro cambiante y con sorpresas. Para mencionar sólo uno de los desarrollos recientes en este campo que tiene la posibilidad de tener un impacto importante en la forma de unir los metales en el futuro, cabe mencionar el proceso de soldadura en fase sólida por Fricción-Agitación (Friction-Stir Welding), desarrollado hacia el año 1991 por TWI en Inglaterra. Este proceso, inicialmente aplicado a la unión de aleaciones no ferrosas, principalmente aluminio, fue expandiendo desde entonces su campo de aplicación y hoy se lo considera una alternativa para la unión de aceros y otras aleaciones.

La Fig. 28 muestra una soldadura de una chapa de acero en ejecución con un equipo experimental desarrollado y construido recientemente en la Argentina [34].

Al ser un proceso de soldadura en fase sólida, muchos de los problemas metalúrgicos asociados con la transformación de fase sólido líquido quedan eliminados, lo que permite la aplicación del proceso a sistemas metalúrgicos no aptos para la soldadura por fusión. La experiencia nos irá mostrando en qué medida este proceso puede ir compitiendo y eventualmente reemplazando a los procesos de soldadura más convencionales.

Finalizo esta presentación con la ilustración de una estructura que pone de manifiesto la libertad de diseño que hace posible la soldadura como tecnología de unión (**Fig. 29**). Sería impensable poder materializar obras que conjuguen tal belleza arquitectónica y funcionalidad, de no contarse con esta tecnología. En última instancia, nuestra calidad de vida está fuertemente determinada por la posibilidad de aunar lo útil con lo estético, y la soldadura tiene mucho para contribuir en este aspecto.

### Agradecimientos

A las instituciones y personas que fueron determinantes en mi trayectoria profesional y personal y a las que quiero expresar mi reconocimiento:

La Comisión Nacional de Energía Atómica, en particular a su ex-Dpto. de Metalurgia, hoy Dpto. de Materiales.

La Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

La Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

La empresa Conarco y la Fundación Latinoamericana de Soldadura.

El Dpto. de Mecánica de la Facultad de Ingeniería de la UBA.

El Instituto Sabato de la Universidad Nacional de San Martín y la CNEA.

Mis maestros y mis alumnos, hoy a su vez maestros.

Mis colegas pasados y presentes.

A Ana María, mi mujer y permanente compañera de ruta.

Finalmente, mi reconocimiento en particular a: Profesor Jorge Sabato, Dr. Robert L. Apps, Dr.-Ing. Herald Biloni, Ing. Hector Dall'O, Don José Timerman, Dr. José Galvele.

### Referencias

- [1] D. Broek, "The Practical Use of Fracture Mechanics" Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1989.
- [2] S.A.David & T. DebRoy, *Science*, **257**, 497 (1992).
- [3] D.R. Milner & R.L. Apps, "Introduction to Welding and Brazing" Pergamon Press, Oxford, 1968.
- [4] H.B. Cary, "Modern Welding Technology" Prentice-Hall, 4th Ed., London, 1998.
- [5] C. Martínez Vidal, "Sabato en CNEA", CNEA-UNSAM, Buenos Aires, 1996.
- [6] R. Philips, "Crystals, Defects and Microstructures: Modeling across scales" Cambridge University Press, Cambridge, 2001.
- [7] D. Vasallo, Comunicación interna, Dpto. de Metalurgia, CNEA, Buenos Aires, 1970.
- [8] M. George, J. Still, P. Ferry, *Metal Construction* **13**, 730 (1981).
- [9] T. Keeler, *Metal Construction* **13**, 667 (1981).
- [10] J.C. Garland & P.R. Kirkwood, *Metal Construction* **7**, 275 (1975).
- [11] G.M. Evans, IIW Doc. II-A-432-77.
- [12] F.B. Pickering, "Physical Metallurgy and the Design of Steels" Materials Science Series, Science Publishers, London, 1978.
- [13] G.S. Almquist, C.H. Polgary, L. Rosendhal & G. Valland, Some Basic Factor Controlling the Properties of Weld Metal. "Welding Research Relating to Power Plant", CEGB, London, pp. 204-231, (1972). Citado en J.F. Lancaster, *Metallurgy of Welding* 4th.Ed., Allen & Unwin, London, 1987.
- [14] N. Abe, T. Kitada & S. Miyata, *Transactions of the JWS*, **11**, 29 (1980).
- [15] J. Honeycombe & T.G. Gooch, Weldability of Stress Corrosion Resistant Stainless Steels: Interim Report, The Welding Institute, Report N° 13/1976 1M, (1976). Citado en K. Easterling, "Introduction to the Physical Metallurgy of Welding" Butterworths, London, 1983.
- [16] W.F. Savage, Comunicación Interna, Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, New York, 1974.
- [17] H. Svoboda, Tesis de Doctorado, FI-UBA, Buenos Aires, 2002.
- [18] H.K.D.H Bhadeshia & L.E. Svenson "Modelling the Evolution of Microstructure in Steel Weld Metal" en "Mathematical Modelling of Weld Phenomena", Eds. H.Cerjak; K.E. Easterling, The Institute of Materials, London, 1993.
- [19] R. Dolby, (1983). Citado en Lancaster, J.F. *Metallurgy of Welding* 4th. Ed., Allen & Unwin, London, 1980.
- [20] S. Liu & D.L. Olson, *Welding Journal* **65**, 139s (1986).
- [21] H. Terashima & J. Tsuboi, *Metal Construction* **14**, 648 (1982). Citado en J.F. Lancaster, "Metallurgy of Welding" 4th.Ed., Allen & Unwin, London, 1987.
- [22] K. Easterling, "Introduction to the Physical Metallurgy of Welding", Butterworths, London, 1983.
- [23] S. Kou, "Welding Metallurgy", John Wiley & Sons, New York, 1987.
- [24] O. Grong & D. K. Matlock, *International Metals Reviews* **31**, 175 (1986).
- [25] G. M. Evans, *Welding Journal* **59**, 67s (1980).
- [26] J.D. Abson & R.J. Pargeter, *International Metals Reviews* **31**, 141 (1986).
- [27] E. Surian, J. Trotti, A.N. Cassanelli & L.A. de Vedia, IIW Doc. II-A-724-87.
- [28] E.S. Surian & L.A. de Vedia, *Welding Journal*, **78**, 217s (1999).



**III**

**ENTREGA DE LOS PREMIOS  
"ACADEMIA NACIONAL DE CIENCIAS EXACTAS,  
FÍSICAS Y NATURALES"**

**- AÑO 2009 -**



## APERTURA DEL ACTO DE ENTREGA DE PREMIOS DEL AÑO 2009

*Eduardo H. Charreau*

Presidente de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

En primer lugar deseo agradecer la hospitalidad de la Academia Nacional de Medicina que desde hace 14 años nos brinda este magnífico auditorio para realizar uno de los actos más trascendentales de nuestra Academia cumpliendo con el mandato estatutario que establece dentro de las acciones para propender al desarrollo y difusión de las ciencias exactas, físicas y naturales y de sus tecnologías, otorgar premios, becas y otros medios de estímulo a la investigación científica y tecnológica.

La Academia comenzó a otorgar premios a científicos destacados en el año 1926. Desde 1992 al 2005, bajo un nuevo régimen se otorgaron hasta tres distinciones por cada una de sus secciones, (Ciencias Químicas de la Tierra y Biológicas, Ingeniería, Matemática, Física y Astronomía). En el año 2006 la Academia instituyó los Premios Estímulo en las distintas especialidades que conforman sus secciones otorgados a investigadores de hasta 40 años con méritos demostrados y que desarrollen sus trabajos en el país.

Este año nuevamente la Academia tiene el honor de entregar los premios Estímulo y Consagración "Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales".

Considero que en esta oportunidad la entrega de Premios se realiza dentro de un marco institucional que merece un comentario especial. La entrega de Premios tiene lugar en una Argentina que tiene por vez primera un Ministerio de Ciencia y Tecnología cuya creación es un hito positivo para la ciencia local.

Esta Academia aplaude la creación de un Ministerio de Ciencia y Tecnología como lo hizo cuando promovió el nacimiento del CONICET y apoyará sin restricciones, con la experiencia de

sus miembros, al conjunto de objetivos nacionales que inteligentemente diseñados integren un sistema que conduzca al crecimiento del sector científico tecnológico y por ende al progreso de la Nación.

Es de esperar que el esfuerzo gubernamental de apoyar el desarrollo científico tecnológico nacional observado en los últimos años se siga consolidando en estas nuevas circunstancias.

Entre las tareas del nuevo Ministerio estará la de llegar al ansiado 1% del PBI para el presupuesto destinado de Ciencia y Técnica como estímulo para propender al desarrollo.

El Gobierno deberá aumentar el presupuesto genuino del área con fondos provenientes mayoritariamente del presupuesto nacional. El actual, 0,5% del PBI destinado a Ciencia y Técnica no solo nos ubica a la zaga de algunos de nuestros vecinos latinoamericanos, pero quizás lo más importante es que nos ubica muy por debajo de nuestras capacidades reales y de la excelente preparación de nuestros jóvenes.

La Academia tiene la responsabilidad de contribuir a que estas condiciones cambien.

Como lo he mencionado en otras oportunidades:

Invertir en Ciencia y Tecnología constituye una verdadera inversión social, nunca un gasto suntuario, sino un imperativo de desarrollo.

Invertir en conocimiento implica levantar los ojos del piso de las coyunturas para fijar la mirada en el horizonte del desarrollo de nuestra Nación y en el bienestar de las próximas generaciones.

Es esta ocasión propicia para reconocer el papel de la Academia en el mejoramiento y la integración del aprendizaje de las ciencias.

Fundamenta sus Programas en el convencimiento que la enseñanza de las ciencias no

*Presentación realizada el 4 de diciembre de*

solo sirve para despertar inquietudes de futuros investigadores sino que es importante para la formación ciudadana, para la adquisición de una opinión pública informada y para fomentar el pensamiento crítico.

Así, vale mencionar la exitosa realización del I y II Taller Latinoamericano Para la Enseñanza de las Ciencias y los Programas Hacer Ciencia en la Escuela y Voy por Ciencia que utilizando metodología de enseñanza por indagación se desarrollan en la sede de la Academia y en diferentes provincias de nuestro país en colaboración con Ministerios de Educación tanto de la Nación como provinciales.

El Proyecto Global comprende una serie de acciones estrechamente relacionadas con los tres integrantes del sistema educativo: los padres, los educandos y los docentes.

El proyecto pretende instalar en la conciencia colectiva el valor del saber y del saber hacer. En los alumnos, la certeza de que el logro de estos valores depende mas del esfuerzo personal que del talento individual o de la condición social y en los docentes reforzar la convicción de que la ciencia es algo que se hace, no algo que ya esta hecho y escrito en los textos.

Se ha ido constituyendo en costumbre aprovechar esta ocasión tan especial para divulgar actividades y agradecer a nuestros benefactores. Por cuanto deseo agradecer la donación por parte de la Ingeniera Mastronardi de cuatro nuevas becas "In Libris Carpe Rosam", en homenaje a los hermanos Marcelo y Paulo Barroso Mastronardi, destinadas a estudiantes de la Universidad de Buenos Aires menores de 22 años que cursen las licenciaturas en Matemática y en Ciencias Biológicas y también nuevamente la beca *Eduardo Gros* para alumnos de Ciencias Químicas con fondos donados por la familia de este ex Presidente de la Academia.

Deseo también agradecer a la Fundación YPF por patrocinar este año los Premios Consagración y a la Fundación para el Desarrollo Tecnológico y al Instituto Argentino del Petróleo y del Gas, que conjuntamente con la Academia patrocinaron los Premios Estímulo.

Cabe mencionar que uno de los aspectos de mayor importancia para nuestra Academia es el reconocimiento a la excelencia.

Para lograrlo una de nuestras finalidades es estimular la plenitud de las vocaciones intelectuales, difundir el fruto de sus trabajos y enaltecer en el país y en el extranjero el prestigio de la Cultura Nacional.

La Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales entrega hoy distinciones

a un grupo selecto de científicos, acreedores del reconocimiento público por su dedicación a la creación intelectual, permitiendo de esta forma considerar el esfuerzo que no siempre se ha visto secundado con el reconocimiento adecuado.

Basta observar los nombres de las figuras distinguidas para asegurar que si hubo déficit material abundó sin embargo quienes contribuyeron con talento y acciones trascendentes. La valorización del recurso humano debiera ser prioritaria.

Es por eso que cuando Instituciones como la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, consustanciada con la historia misma de las Ciencias, con su evolución y progreso, otorga distinciones como las que hoy se entregan, premiando reconocimientos no buscados, la satisfacción y el halago que se puede sentir es rápidamente superado por el compromiso que ello impone para los beneficiarios. Enfatizo el término «distinciones no buscadas», porque la presentación no admite la auto postulación y el prestigio que esta distinción ha alcanzado proviene de la rigurosa selección de los candidatos por jurados prestigiosos, que analizan las presentaciones realizadas por mas de un centenar de Instituciones.

Es válido recordar aquí las palabras de Bernardo Houssay en referencia a los Premios: decía así *«La única recompensa del investigador está en su conciencia satisfecha. No hay satisfacción más justa que pensar: yo quise ver y encontré, fui capaz de hallar. El que halló una vez se tendrá mas fe para buscar otra vez.. No importa que no existan recompensas o se encuentren obstáculos, no hay que cejar por la indiferencia. Basta alcanzar la propia estima que es por otra parte, la mejor manera de conseguir la de los demás sin buscarla»*.

En esta ocasión, la Academia por primera vez otorga la medalla con su recientemente creado logotipo, grabado en su centro con alegorías varias que representan el estudio, la dedicación y el logro obtenido por los señores investigadores que reciban la distinción.

El globo terráqueo, un texto, el compás, un diploma y orlas de triunfo son a nuestro juicio, símbolos adecuados para el propósito encomendado pues hablan de la universalidad de la Ciencia como base intelectual del desarrollo, la imprescindible presencia del libro como factor de acompañamiento en el estudio y también las demás figuras que se refieren a la exactitud en los procesos y finalmente el éxito como consecuencia de la entrega en la tarea realizada.

Los Premios Estímulo conllevan año a año el nombre del algún académico, científico o



tecnólogo de reconocido prestigio entre antecesores ilustres que contribuyeron a la grandeza de la Academia y a quienes también de esa manera homenajeamos.

Los Patronos este año fueron Roberto E. Cunningham, José Luis Delpini, Dan J. Beninson, Eduardo G. Gros, Pedro Stipanovic, Andrés O. M. Stoppani, Mischa Cotlar, Guido Beck y Carlos Varsasky y los premiados correspondientes los doctores Fernando Javier Mariño, Raúl Oscar Curadelli, Diego Humberto Milone, Federico José Williams, Diego Pol, Gabriela Salvador, Julián Fernández Bonder, Pablo Mininni y Marcelo Millar Bertolami

Como surge de la denominación de estos premios la Academia espera que sirvan como estímulo para que continúen en la trayectoria brillante y talentosa que han sabido conquistar por su inteligencia y capacidad y sin duda también por su perseverancia, dedicación y sacrificio.

Regocijémonos en esta hora de triunfo que no es solo vuestra, personalmente vuestra. Es también la hora de triunfo de los hijos, es la hora del halago para los padres, para los maestros, para los que custodiaron con fe el esfuerzo de los que hoy son honrados.

Evocamos así a los seres cercanos y queridos por su compromiso y sacrificio, a los cola-

boradores por su ayuda y a los hijos y discípulos por la esperanza.

El Premio Consagración es el reconocimiento para aquellos que actuando como el tábano socrático su función fue ser maestros y consejeros de la vida y son merecedores del reconocimiento público también por sus contribuciones y personalidades gravitantes en el campo científico.

En esta oportunidad se otorgan en la Sección de Ingeniería al doctor Esteban A. Brignole, en la Sección de Ciencias Químicas, de la Tierra y Biológicas al doctor Francisco Barrantes y en la Sección de Matemática, Física y Astronomía al doctor Horacio Miguel Pastawski.

Todos han ejercido sin renunciamentos el recurso de pensar, de interpretar la ciencia como un quehacer de la realidad social, de interesarse por las cosas y la comunidad haciendo volar el pensamiento.

El lauro que hoy reciben va más allá del pergamino que lo atestigua. Su esencia es solo sentir personal e intransferible. Produce calor permanente en el corazón y asombro en la mente. Es el logro de una elección de vida. Es todo y sólo honra.

A todos los investigadores distinguidos mis sinceras felicitaciones y a los aquí presentes mi agradecimiento.



## PREMIOS

### “Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales” - Año 2009 -

PREMIOS CONSAGRACIÓN “Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales”

**Sección de Ingeniería:** Dr. Esteban A. Brignone

**Sección de Ciencias, Químicas, de la Tierra y Biológicas:** Dr. Francisco , J. Barrantes

**Sección de Matemática, Física y Astronomía:** Dr. Horacio M. Pastawski

PREMIOS ESTÍMULO “Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales”

**Sección de Ingeniería:**

**Premio Dr. Roberto E. Cunningham en Energía:** Dr. Fernando J. Mariño

**Premio Ing. José Luis Delpini en Ingeniería Estructural:** Dr. Ing. Raúl O. Curadelli

**Premio Dan J. Beninson en Ingeniería Médica:** Dr. Diego H. Milone

Sección de Ciencias, Químicas, de la Tierra y Biológicas:

**Premio Andrés O.M. Stoppani en Ciencias Biológicas:** Dra. Gabriela A. Salvador

**Premio Pedro N. Stipanovic en Ciencias de la Tierra:** Dr. Diego Pol

**Premio Eduardo G. Gros en Química:** Dr. Federico J. Williams

Sección de Matemática, Física y Astronomía:

**Premio Misha Cotlar en Matemática:** Dr. Julián Fernández Bonder

**Premio Guido Beck en Física:** Dr. Pablo Mininni

**Premio Carlos Varsasky en Astronomía:** Dr. Marcelo Millar Bertolami



## LINEAR VARIATION OF ISOCHORIC LINES AND DETERMINATION OF PHASE TRANSITIONS IN SIZE ASYMMETRIC MIXTURES

Alexis Velez, Susana Espinosa, Selva Pereda and Esteban A. Brignole

Planta Piloto de Ingeniería Química - PLAPIQUI  
Universidad Nacional del Sur - CONICET  
Camino La Carrindanga Km 7 - CC 717, Bahía Blanca, Argentina  
E-mail: ebrignole@plapiqui.edu.ar

### Abstract

The study of isochoric lines for the determination of densities of reactive mixtures provided strong evidence that the change in the slope of the pressure vs. temperature lines can be used to determine the phase boundaries of size asymmetric mixtures. It was found that isochoric pressure vs. temperature lines, in the gas-liquid region, are virtually linear. This method can be applied to binary or multicomponent mixtures. Based on this a methodology was developed to determine phase transition conditions when rather extreme values of pressure and temperature must be investigated. The observed experimental behavior is also supported by the computation of pressure vs. temperature variation of isochoric flashes for asymmetric mixtures, using different equations of state.

*Keywords:* phase transitions, asymmetric mixtures, supercritical reactors, isochoric experiments

### Resumen

**Variación lineal de líneas isocóricas y determinación de transiciones de fase en mezclas asimétricas.** El estudio de líneas isocóricas para la determinación de densidades en mezclas reactivas, muestra que el cambio de la pendiente de las líneas presión vs. temperatura puede ser usado para determinar los límites de transición de fases. Este fenómeno se ha observado en mezclas de compuestos con importante asimetría en tamaño. Dichas mezclas son de especial importancia en procesos sustentables que utilizan fluidos supercríticos como solventes no contaminantes. Se encontró que las líneas isocóricas presión vs. temperatura, en la región gas-líquido, son prácticamente rectas. Este método puede ser aplicado a mezclas binarias o multicomponentes y su principal ventaja es su aplicación a casos donde condiciones extrema de temperatura o presión dificulta el uso de metodologías clásicas. El comportamiento experimental observado es también confirmado por el cómputo de *flashes* sobre las líneas isocóricas presión vs. temperatura usando diferentes ecuaciones de estado.

*Palabras clave:* transiciones de fases, mezclas asimétricas, reactores supercríticos, experimentos isocóricos

### Introduction

An interesting behavior of the pressure vs. temperature lines was observed during the study of the volumetric (PVT) properties of a reacting system. This behavior was ascribed to phase transitions in the mixture under study. Therefore the technique was further refined in order to develop a procedure to find the boundar-

ies of phase transitions of complex mixtures. This method allows the study of mixtures under rather extreme conditions of pressure and temperature in an indirect way. The systems studied in a previous work of PVT measurements[1] of reacting mixtures were the trans esterification of different vegetable oils to fatty esters using supercritical alcohols like methanol or ethanol.

The problem of finding the conditions of pressure, temperature and composition that give rise to a homogeneous phase during the operation of a chemical reactor is of great interest from a theoretical and practical point of view. In the particular case of gas-liquid heterogeneous catalytic reactions, the operation under homogeneous conditions reduces the mass transfer and solubility limitations that many times hinder this kind of processes[2]. One approach to achieve a homogeneous operation is to use a supercritical co-solvents in reactions like hydrogenation, hydrogenolysis, hydroformylation, etc. van den Hark et al.[3] have shown that homogeneous hydrogenation of vegetable oils can be carried out with the use of propane as a supercritical co-solvent. Depending on the reactants and reaction conditions other solvents can be chosen to operate the system in a single fluid phase; a systematic procedure to find solvents to achieve homogeneous conditions has been developed by Pereda et al.[4],[5]. Several authors have stressed the need to know the phase condition for the interpretation of the kinetics and conversion of chemical processes. The knowledge of the phase behavior of a reaction process can help to understand the results of experimental studies and to plan and design experimental runs. This topic has been recently discussed by Grunwald et al.[6] and Novitsky et al.[7], who extensively reviewed the experimental techniques applied in monitoring the phase behavior. When the reactions are carried out under fairly extreme conditions of pressure and temperature the direct observation of the phase condition may result in technical difficulties and require the use of indirect methods like the one discussed in the present work.

### **Phenomenological behaviour**

As it was mentioned before, the experiments that motivated the present work were the reactions of supercritical methanol and ethanol with different vegetable oils (transesterification) to obtain fatty esters and glycerol[1]. The study of the volumetric properties of these mixtures was carried out at temperatures that ranged from 480 to 630 K and pressures between 50 and 250 bar. The density measurements were used to compute the actual residence time of reacting mixtures in a continuous transesterification reactor. The pressure and temperature conditions investigated in the density studies of transesterification mixtures were in a range of values for which no commercial densitometer was available. Therefore the measurement of the volumetric properties under homogeneous conditions was carried out in a constant volume cell. The cell was charged

with a known amount of the mixture and the variation of pressure with temperature in the desired range was recorded. The size asymmetric nature of the mixture charged into the cell - methanol+triglyceride or methanol+methyl oleate - should be pointed out. Previous studies on the triolein+methanol binary[8] indicate that there is liquid - liquid immiscibility up to a temperature close to the critical temperature of methanol. Van Konynenburg and Scott[9] have shown that the fluid phase behavior observed in binary mixtures can be classified in five main types. In type I phase behavior, complete liquid miscibility is observed at all temperatures. When there is partial miscibility at low temperatures the system is of type II. The behavior of the methanol+triolein system can be classified as type II. Liquid-liquid immiscibility is quite common in size asymmetric mixtures; for instance, mixtures of a heavy substrate like triglycerides with CO<sub>2</sub> exhibit strong liquid-liquid immiscibility up to the CO<sub>2</sub> critical point. In this type of mixtures the locus of their critical points starting from that of the heavy substrate diverges at higher pressures and liquid-liquid immiscibility can be observed up to very high pressures. These types of mixtures are classified as type III. When the main feature of the binary mixture is difference in size, but not in chemical nature, like with propane-heavy hydrocarbons, liquid-liquid immiscibility is observed near the critical point of the lighter component. In the case of propane, immiscibility is observed starting with paraffins of carbon number 35 and with ethane of carbon number 17. These binary mixtures are classified as types V or IV, depending whether liquid-liquid immiscibility is observed or not at low temperatures.

The selection of suitable operating conditions for supercritical gas-liquid reactions starts with the search of a co-solvent with a critical temperature above the recommended operation temperature for the reaction. In this way the gaseous reactants and the co-solvent are completely miscible. At this temperature the pressure at which the co-solvent and the heavy substrate are completely miscible should be obtained experimentally or by calculation. If we have two miscible pairs in a ternary mixture there will be a region of composition where the system will be homogeneous for any ratio of the reactants (see Figure 1). The investigation of complete miscibility in the supercritical region of these asymmetric binaries is of great interest and the experimental data available are, in general, scarce [10]. The experimental technique proposed in the present work can be useful to find the pressures that yield complete miscibility at various temperatures for these types of asymmetric mixtures.

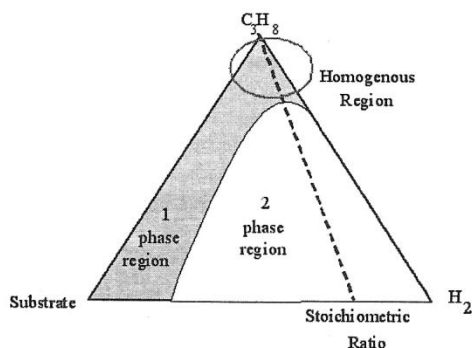


Fig.1. Conditions of homogeneous operation in a gas-liquid reaction using a supercritical cosolvent

#### Experimental procedure

The constant volume cell is a stainless steel 3/8 inch nominal diameter tube, 64 cm long, closed at both ends. The cell volume at room temperature was 26.1 cc. This cell was used in all the density related experiments. The pressure was measured with a Dynisco melt pressure gauge PG4 series, suitable for measurements at elevated temperatures with accuracy of 2%. Temperature was measured with a PT-100 platinum resistance thermometer with accuracy of 0.1°C. The cell was placed in an electric oven with temperature control and covered with aluminum foil to isolate the cell from the electric oven radiation. The cell temperature was increased at a slow rate up to a desired temperature level and then it was kept constant until no variation in the system pressure was observed. The accuracy of the pressure measurements was checked against the vapor pressure of methanol. The experimental measurements were contrasted against data from the NIST tables[11] (see Figure 2). This comparison covers the vapor-liquid and supercritical region of methanol. In the supercritical region the experiments with pure methanol give the isochoric pressure vs. temperature line at the chosen density. The intersection between the isochoric line and the vapor pressure curve corresponds in this case to the critical point because the cell was charged with the critical density of methanol. The experimental pressure-temperature relation in the supercritical region was in good agreement with the values from the NIST tables at the chosen density.

#### Isochoric experiments

Figure 3 depicts the typical evolution of pressure vs. temperature of an experimental run

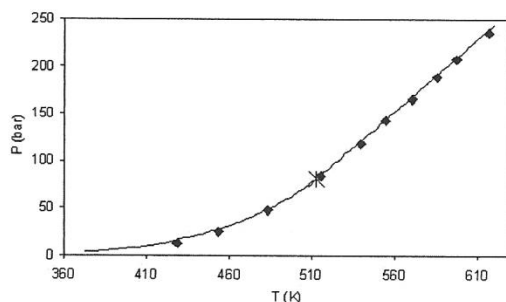


Fig. 2. Comparison of experimental values with NIST data for methanol in the liquid vapor region and in the supercritical isochoric region of density=0.28 g/cc. (◆): Experimental data, (-): NIST data for Methanol (density = 0.28 g/cc), (\*): Critical Point of Methanol.

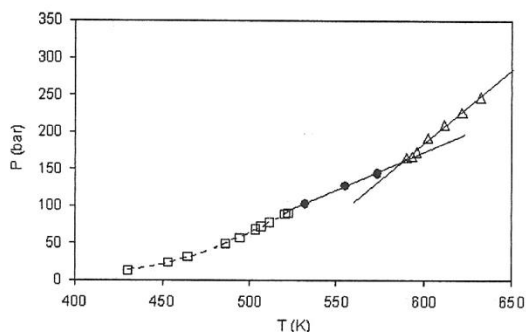


Fig.3. Pressure vs. Temperature for Methanol - Sunflower Oil (Molar Ratio : 40, density 0.44 g/cc). (□) and (●): LLV and LV Region, (△): Single Phase Region

for a binary mixture. In this case, the cell feed consists of sunflower oil+ methanol at a density of 0.44 gr/cc and with a molar ratio of methanol/oil of 40. The pressure vs. temperature line has three different sections. In the first section, at the lower temperature range (dashed line), the liquid phase of the methanol+oil system is heterogeneous and a liquid-liquid-vapor (LLV) equilibria is obtained. Under these conditions, given that the reaction start up above 500 K, there is only one degree of freedom in a binary system and the vapor pressure line will be unique at any system density or methanol/oil ratio. The complete miscibility in the liquid phase of the vegetable oil with methanol is achieved at conditions of pressure and temperature close to the critical values of methanol[8].



Above the critical temperature of methanol a linear relation of pressure vs. temperature, of lower slope than the vapor pressure line, is observed (solid line). In this region, depending on the mixture global density, either the liquid phase or the vapor phase increases up to a point in which the whole mixture becomes homogeneous. At this point a high conversion to fatty esters and glycerin of the sunflower oil starts to take place. This supercritical phase is of almost constant composition and displays a linear relationship typical of the isochoric variation of pressure with temperature of homogeneous systems. The point of intersection between the two high-temperature linear sections are considered to be the dew or bubble point values for the reaction product mixture. The linear relation of the third section (solid-dashed line) is observed up to the highest temperatures studied (around 630 K).

This type of experiments were carried out for several global densities and molar ratios for methanol/sunflower oil by Velez et al.[1] and the same behavior was observed in all cases. The variation of pressure vs temperature at constant volume conditions was also studied for a non reacting system: methanol + methyl oleate. Figure 4 shows that the same behavior of pressure vs. temperature relation is observed with an intermediate linear region above the critical temperature of methanol and a change in the isochoric slope at the transition point from heterogeneous to homogeneous system.

In the case of a homogeneous phase (gas or liquid) under isochoric conditions it is a common observation that a linear pressure vs. temperature relation is obtained. This behaviour can not be justified on thermodynamic grounds but it is related to the usual behavior of fluids and fol-

lows the predicted behavior of all commonly used equations of state[12]. The almost linear relation between P and T indicates that:

$$\left(\frac{\partial^2 P}{\partial T^2}\right) = 0$$

Using the classic van der Waals equation of state:

$$P = \frac{R.T}{V - b} - \frac{a}{V^2}$$

$$\left(\frac{\partial P}{\partial T}\right) = \frac{R}{V - b}$$

Therefore at constant volume the linear relation is justified if the attractive energy parameter “a” is considered independent of temperature. We can conclude that the slope of the isochore is a function of the repulsive term and the curvature deviation is due to the attractive term.

The intermediate region, at lower temperatures but above the critical point of the more volatile component, corresponds to a vapor-liquid phase equilibrium at different temperatures but at constant volume. This type of flash computation corresponds to a minimum in the Helmholtz function of the mixture at specified T and V. Even though in this case we are dealing with a heterogeneous vapor-liquid mixture at constant volume, an almost linear variation of pressure with temperature is again observed. In the experiments carry out in this work, that behavior covers the temperature range from the critical point of the lighter component to the condition of phase transition to a homogeneous phase. Again this result cannot be justified on a thermodynamic basis. The modeling with an equation of state, of a constant volume flash at various temperatures, can be useful to check the linear variation of pressure versus temperature.

The product of the transesterification reaction is a mixture of methyl oleate+methanol+glycerine. This mixture has been modeled with the GCA-EoS[13] equation of state. The computation of a series of flashes at constant volume for various temperatures is shown in Figure 5 for a global density of 0.19 g/cc. Again a linear relation of temperature vs. pressure is obtained. The evolution of the phase behavior from the heterogeneous condition at low temperature to conditions close to the phase saturation point is indicated by the variation of the mixture compressibility factors as shown in Figure 6. Above

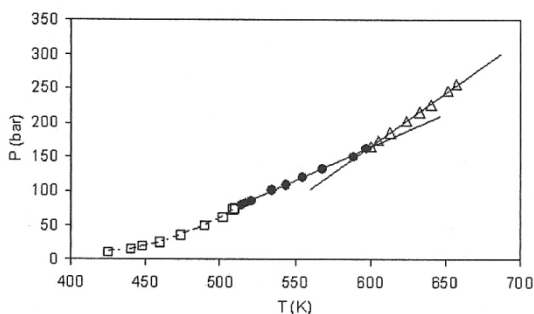


Fig. 4. Pressure vs. Temperature for Methanol – Methyl Oleate (Molar Ratio: 12.37), density = 0.37 g/cc. (□) and (●): LLV and LV Region, (△): Single Phase Region

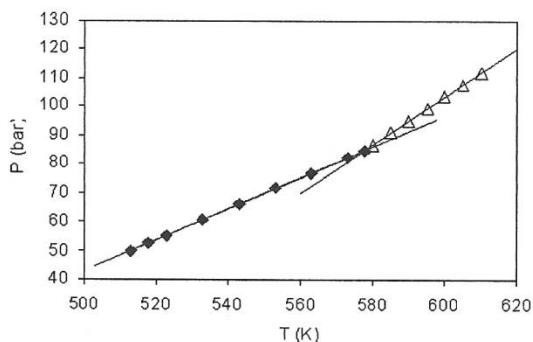


Fig. 5. Pressure vs temperature variation for a constant volume flash of a mixture of Methyl Oleate-Methanol-Glycerol (molar fraction = 0.073-0.904-0.022) at constant density of 0.19 g/cc. GCA-EOS model. (◆): LLV and LV Region, (△): Single Phase Region

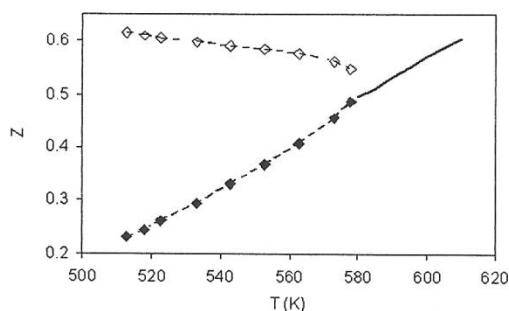


Fig. 6. Vapor and liquid compressibility factors as a function of temperature for the mixture of methanol – methyl oleate + glycerine at constant density of 0.19 g/cc. GCA-EoS model: ◇vapor phase compressibility factor, ◆liquid phase compressibility factor —single phase compressibility factor at the experiments constant volume

the phase saturation point the normal linear variation of pressure vs. temperature is observed. The compressibility factor plot indicates that the phase that disappears in the transition point (at a 0.19 g/cc global density) is the vapor phase.

The experimental and simulation results indicate that the conditions of phase transition for the compositions and global densities charged into the cell are obtained from the intersection of the two linear relations of pressure vs. temperature observed above the critical point of the lighter component.

The phenomenon that is taking place in these experiments can be illustrated using

a phase envelope diagram for the composition charged into the cell. If we consider a non-reactive and size-asymmetric binary system, for the composition of interest a phase envelope as shown in Figure 7 can be simulated with GCA-EoS. Also some lines of constant vapor fractions are indicated. Inside the phase envelope curve we can draw, starting from the bubble point line, the pressure–temperature trajectory obtained at a given density. This almost straight line will cross different vapor fraction values to reach again a phase boundary at the intersection of the pressure vs. temperature line with the phase envelope curve. Experiments at different global densities with the same composition will give conditions for the phase transitions that could correspond to bubble or dew point curves of the phase envelope. In Figure 7 two isochoric lines of different densities reach the saturation line at different conditions of pressure and temperature. In each case there is an isochoric line in the homogeneous region of different slope to the one corresponding to the heterogeneous region of the phase envelope [14].

## Conclusion

The variation of pressure with temperature in constant composition isochoric experiments can be used to determine the phase boundaries of multicomponent systems. Experimental evidence indicate that almost linear relations are observed in isochoric two phase flashes and the same result is obtained by simulation with different equations of state. The phase boundaries are identified by a sudden change in the slope of the pressure vs. temperature lines. The phase envelope region of a mixture of a given composition

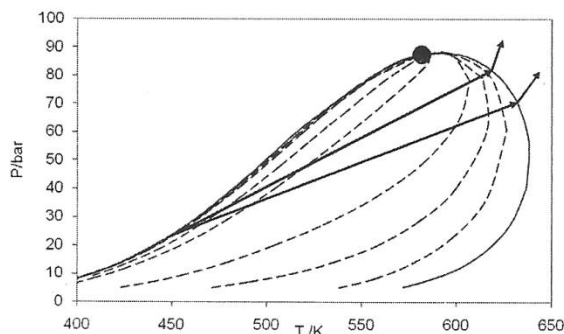


Fig. 7. Phase envelope and isochoric lines. Light solid line: phase envelope; dashed lines: mixtures of different vapor fractions. ●Critical point.

can be explored by the study of the pressure vs. temperature lines at different global densities.

### References

- [1] A. Vélez, S. Espinosa, P. Hegel & E.A. Brignole, Proceedings of VIII Iberoamerican Conference on Phase Equilibria and Fluid Properties for Process Design - EQUIFASE 2009, Portugal.
- [2] A. Baiker, *Chem. Rev.* **99**, 453 (1999).
- [3] S. van den Hark & M.Härrod, *Ind. Eng. Chem. Res.* **40**, 5052 (2001).
- [4] S. Pereda, S. B. Bottini & E. A. Brignole, *AIChE J.* **48**, 2635 (2002).
- [5] S. Pereda, S. B. Bottini & E.A.Brignole, *Applied Catalysis A General* **281**, 129 (2005).
- [6] J.D. Grunwaldt, R. Wandeler & A. Baiker, *Cat. Rev. Sci. Eng.* **45**, 1 (2003).
- [7] A. A. Novitskiy, E. Pérez, W. Wu, J. Ke & M. Poliakoff, *J. Chem. Eng. Data* **541**, 580 (2009).
- [8] Z. Tang, Z. Du, E. Mihn, L. Gao, T. Jiang & B. Han *Fluid Phase Equilib.* **239**, 8 (2006).
- [9] P. H. van Konynenburg & R. L. Scott, *Phil. Trans.* **298**, 495 (1980).
- [10] L. J. Rovetto, S.B.Bottini, E.A.Brignole & C.J.Peteres, *J. Supercrit.Fluids* **25**, 165 (2003)
- [11] National Institute of Standards and Technology, <http://webbook.nist.gov/chemistry/>
- [12] M.M. Abbot, *Chem. Eng.Prog.* **85**, 25(1989).
- [13] P. Hegel, A. E. Andreatta, S.Pereda, S.B.Botttini & E.A. Brignole, *Fluid Phase Equilibria* **266**, 31 (2008).
- [14] J.C. Holste, K.R. Hall, P.T. Eubank K.N. Marsh, *Fluid Phase Equilibria* **29**, 116 (1986).

Manuscrito recibido el 8 de marzo de 2010.

Aceptado el 16 de abril de 2010.

## THE NANO-ENVIRONMENT OF A NEUROTRANSMITTER RECEPTOR

Francisco J. Barrantes

UNESCO Chair of Biophysics & Molecular Neurobiology  
and Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Universidad Nacional del Sur-CONICET  
C.C. 857, B8000FWB Bahía Blanca, Argentina  
(Email: rtfjb@criba.edu.ar)

### Abstract

The nicotinic acetylcholine receptor (AChR) is the archetype rapid ligand-gated neurotransmitter receptor. It mediates fast intercellular communication in response to the endogenous neurotransmitter acetylcholine, a small organic molecule. The AChR is embedded in and surrounded by lipids, its native membrane milieu. Lipids influence structural and functional properties of the receptor, mainly through the so-called receptor-*vicinal* (“boundary” or “annular”) lipids. From the physicochemical point of view, this receptor-*vicinal* region constitutes a liquid-ordered phase, as opposed to the more disordered and “fluid” bulk membrane lipids. Changes in Förster’s energy transfer (FRET) efficiency induced by fatty acids, phospholipids and cholesterol have led to the identification of discrete sites for these lipids on the AChR protein. Electron-spin resonance spectroscopy has established the stoichiometry and selectivity of the lipid shell surrounding the AChR and disclosed the occurrence of lipid sites. Combined electrophysiological single-channel recordings and site-directed mutagenesis data fostered the identification of such lipid-sensitive residues in the transmembrane region, dissecting their contribution to ligand binding and channel gating, opening and closing. Thus, the interface between the protein moiety and the adjacent lipid shell constitutes the habitat of a variety of pharmacologically relevant processes, including the action of steroids and other lipids.

*Keywords:* membrane proteins; neurotransmitter receptors; biophysics; lipid-protein interactions.

### Resumen

**El “nano-ambiente” de un receptor de neurotransmisor.** El receptor de acetilcolina nicotínico (AChR) es el arquetípico receptor de un neurotransmisor gatillado por ligando. Media la comunicación intercelular rápida en respuesta a su neurotransmisor; la acetilcolina, una pequeña molécula endógena. El AChR está rodeado por lípidos, que constituyen su ambiente natural en la membrana. Dichos lípidos influyen sobre la estructura y la función del receptor, principalmente a través de los denominados lípidos vecinales (límites, anulares). Desde el punto de vista físico-químico, esta región constituye una fase líquido-ordenada, en contraposición al resto de los lípidos de la membrana, desordenados y más “fluidos”. Cambios en la eficiencia de la energía de transferencia de Förster’s (FRET) han conducido a la identificación de sitios discretos para ácidos grasos, fosfolípidos y colesterol sobre la superficie del AChR. Mediante espectroscopía de espín-electrónico se pudo establecer la estequiometría y selectividad de la capa de lípidos que rodea al AChR y se descubrieron sitios de unión de tales lípidos. La combinación de mediciones electrofisiológicas de canal unitario con mutagénesis dirigida ha llevado a la identificación de tales sitios en la región transmembrana del AChR, disecando sus relativas contribuciones a la unión del ligando y al gatillado, apertura y cierre del canal, respectivamente. La interfaz entre el AChR y los lípidos constituye el hábitat de una gran variedad de procesos farmacológicamente relevantes, incluyendo la acción de esteroides y otros lípidos.

*Palabras clave:* proteínas de membrana; receptores de neurotransmisores; biofísica; interacciones lípido-proteicas.

## Introduction

Neurotransmitter receptors and their associated signaling components in the synapse are crucial elements in the supracellular assemblies known as neural circuits in the brain. A synaptic complex, i.e. the neuromuscular junction (NMJ), made up of equivalent macromolecular building blocks, has similar signaling functions at the periphery. A key component of this complex machinery is the neurotransmitter receptor, acting as transducer of the chemical signal. Throughout evolution, the basic principle of rapid chemical neurotransmission has proved to be an efficient mechanism, as evidenced by its adoption by a large number of species. The ligand-gated ion channel (LGIC) superfamily comprises several families of evolutionarily related neurotransmitter receptor proteins coded by a few hundred genes so far identified. Of these, the nicotinic acetylcholine receptor (AChR) is one of the best-characterized.

Several genes coding for AChR subunits have been characterized in central and peripheral nervous systems. They exhibit amino acid sequence homology and presumably higher-order structural motifs [1-3]. Within the LGIC superfamily, the AChR and subtype 3 of the 5-hydroxytryptamine (serotonin, 5-HT<sub>3</sub>) receptor comprise two families of cation-selective channels, whereas glycine and gamma aminobutyric acid type A (GABA<sub>A</sub>) receptors are anion-selective channels. Members of this superfamily are also known as Cys-loop receptors because in their amino-terminal all their subunits contain extracellular halves of a pair of disulphide-bonded cysteines separated by only 13 residues. Glutamate and histidine receptors are also Cys-looped receptors, but their structure does not conform to the canonical LGIC superfamily. Until recently, the Cys-loop family was thought to comprise only ion channels produced by eukaryotic genes, but a prokaryotic proton-gated ion channel from the AChR family has recently been discovered [4].

The basic mechanism of signal transduction is common to all members of the LGIC and involves relatively fast and similarly simple steps: binding of the neurotransmitter followed by conformational transitions in the receptor proteins that lead to changes in the ionic permeability of the postsynaptic membrane. In the specific case of the AChR, upon binding, acetylcholine initiates a conformational change in this protein that triggers the transient opening of its intrinsic cation-specific channel across the postsynaptic membrane. At the molecular level, this is accomplished by the concerted action of four different but highly homologous AChR subunits

in the stoichiometry  $\alpha_2\beta\epsilon\delta$  [5-6] in adult skeletal muscle.

Each AChR subunit contains four hydrophobic segments 20-30 amino acids in length, the M1-M4 membrane-spanning segments. Of these, the M2 segment from each subunit contributes structurally to the formation of the ion channel proper. M4 is considered the most likely segment to be exposed to the bilayer lipid. M1 and M3 effectively incorporate membrane-partitioning photoactivatable probes, and are also likely to be exposed, at least partially, to the lipid phase. It is usually accepted that all four hydrophobic segments M1-M4, referred to as transmembrane (TM) domains, correspond to regions of the protein fully embedded in the membrane. We have proposed that in addition to these two main regions of the AChR, a third important domain is defined at the extensive interface between the protein and lipid moieties, comprising both the lipid-exposed TM portions of the AChR protein and the AChR-*vicinal* lipid [7-8]. The latter corresponds to the lipid belt ("shell", "annulus", "boundary", "AChR-*vicinal*") region, that is the lipid moiety in the immediate perimeter of the AChR protein, earlier discovered by Derek Marsh and myself using electron spin resonance (ESR) techniques [9] and further characterized in terms of lipid selectivity and stoichiometry [10-15]. In this review I discuss various experimental approaches that have led to a quite detailed description of the AChR lipid microenvironment and of the cross-talk between the receptor protein and its surrounding lipids. The reader is referred to other reviews covering wider aspects of AChR-lipid interactions [8] or more specific facets of this topic, e.g. the effects of cholesterol (Chol) on receptor supramolecular structure, stability and dynamics at the cell surface [16].

## The AChR is surrounded by lipids in the liquid-ordered phase

Model membranes are relatively well characterized in terms of their physical properties. At high Chol concentrations, phospholipid-Chol mixtures mimic many aspects of the phase state displayed by biological membranes rich in Chol. These mixtures lack a defined lipid phase transition and instead are characterized by a single phase state, the liquid-ordered phase (l<sub>o</sub>) [17], with properties between the gel and the fluid lipid phases. At low Chol concentrations, solid-ordered (s<sub>o</sub>) or liquid-disordered (l<sub>d</sub>) phases are observed, depending on whether the system is above or below its gel-fluid transition temperature (T<sub>m</sub>), respectively. When the binary lipid system is at intermediate Chol concentra-



tions, there is phase coexistence of so and lo (liquid-ordered, below), or of ld and lo (above), depending on the temperature relative to  $T_m$ . In the particular case of the AChR, early studies from the group of McNamee [18-19] showed that the phase state of the membrane was important: the capacity of reconstituted AChR to translocate ions *in vitro* was found to be sensitive to the bulk physical properties of the host membrane, such as its "fluidity". Early ESR studies by Marsh and Barrantes [9], Rousselet et al. [20] and Marsh et al. [15] made apparent the occurrence of two distinct signals in ESR experiments with native and reconstituted membranes containing AChR at relatively high or low concentrations: one signal corresponded to the bulk membrane lipid and the other was interpreted as stemming from the protein-immobilized lipid. These direct interactions between protein and lipid moieties were observed with fatty acids, phospholipids and sterols in the native membrane environment. Rousselet et al. [20] found immobilization with fatty acids but not with phospholipids. Ellena et al. [13] confirmed our findings using reconstituted AChR. This series of studies from different laboratories demonstrated that shell or annular protein-vicinal lipids are relatively immobile with respect to the rest of the membrane lipids and pointed to the existence of phase lateral heterogeneity in membrane lipids much earlier than the concept of "rafts" came into use.

Functional studies contributed to understanding the role of lipids in AChR ion permeability. The need to include sterols and certain phospholipids to preserve this property of the AChR in reconstituted systems was subsequently demonstrated [21]. The relative contributions of phospholipid and sterol was established in various studies *in vitro* [22-24] and the minimal number of lipid molecules ( $\sim 45$ ) per AChR was ascertained in early ESR experiments [13,25]. AChR-vicinal lipids appeared to be an inherently relevant environmental feature of the AChR native membrane, but the nature of the interaction between protein and lipid moieties was still obscure, as were the possible functional implications proposed in early work [9].

In order to define the physical state of the AChR membrane lipids, we subsequently resorted to fluorescence methods using the so-called Generalized Polarization ("GP") [26-27] of the fluorescent probe Laurdan (6-dodecanoyl-2-dimethylamino naphthalene). This approach was introduced to learn about the dynamics of the AChR and some physical properties of the protein-vicinal lipid [28-30]. We harnessed two hitherto unexploited properties of Laurdan: i) its

ability to act as a Förster-type resonance energy transfer (FRET) acceptor of tryptophan emission [30] and ii) the resulting differences in FRET efficiency upon displacement of Laurdan by exogenous lipids [28-29]. Laurdan is a particularly advantageous fluorescent probe; it localizes itself at the hydrophilic-hydrophobic interface of the lipid bilayer, with its lauric acid moiety at the phospholipid acyl chain region and its naphthalene moiety at the level of the phospholipid glycerol backbone. Its spectral properties are extremely sensitive to the polarity and molecular dynamics of dipoles in its environment. This is due to dipolar relaxation processes that are reflected as relatively large spectral shifts. Excitation of Laurdan under FRET conditions using the tryptophan (Trp) residues of the AChR-rich membrane as donors constituted a new tool for learning about the properties of the lipids in the immediate vicinity of the AChR and to compare them with those of the average, bulk lipid in the rest of the bilayer. The first application of this approach was the determination of distances between the AChR protein and adjacent lipid. From the spectral overlap integral for the AChR membrane-Laurdan pair we calculated  $R_0$ , the Förster critical distance, to be 29 Å [30]. We modeled the AChR as a cylinder of about 80 Å in diameter with donor Trp residues lying in a ring within the perimeter of its TM portion. From the electron microscope data available at that time [31] this region of the protein was assumed to have a radius of 32.5 Å. The height of the plane of AChR tryptophan residues was set with respect to the plane of acceptors by using the parameter  $H$ , the distance between donor-acceptor planes normal to the membrane surface, which was allowed to vary between 0 and 50 Å in view of the long-axis dimensions of the AChR molecule and the width of the lipid bilayer. Using the above model we found differences between the AChR-vicinal lipids within a 14 Å radius of the AChR surface on the one hand, and the bulk lipids on the other. When no relaxation occurred, GP values were high, indicating low water content in the hydrophilic/hydrophobic interface region of the membrane. GP observed under FRET conditions from the intrinsic protein fluorescence exhibited higher absolute values than those obtained by direct excitation of the probe, indicating the lower polarity of the lipid in the protein-vicinal lipid microenvironment of the AChR. The main dipoles sensed by Laurdan in the membrane were water molecules. Thus, this series of studies showed that AChR-vicinal lipids are more rigid and exhibit a lesser degree of water penetration than bulk lipids, and that a single thermotropic phase with

the characteristics of the so-called liquid-ordered phase defines the entire AChR-rich postsynaptic membrane [30].

### **AChR-lipid interactions as viewed from the protein moiety**

Electron microscopy experiments over twenty years ago already indicated that about half the mass of the AChR protein protrudes into the extracellular space, about 30% corresponds to TM domains, and the remainder is in the cytoplasmic compartment [32-35]. The agonist-recognition domains of the AChR were also shown to be located in the extracellular portion of the macromolecule [33] (and see review in [36]) at a distance of about 25 Å from the apex of the AChR [37] and about 30 Å from the membrane surface [31,38-39].

Site-directed mutagenesis of the AChR combined with patch-clamp electrophysiological and photoaffinity labeling experiments with non-competitive channel blockers support the notion that one of the TM AChR regions, the M2 domain, lines the walls of the pore. The data are also indicative of  $\alpha$ -helical periodicity in the residues exposed to the lumen of the AChR channel [40]. Nuclear magnetic resonance (NMR) studies of the M2 segment of the receptor's  $\alpha$  subunit [41] indicated that this domain is inserted in the bilayer at an angle of 12° relative to the membrane normal, in a totally  $\alpha$ -helical configuration. Analogously, a synthetic peptide corresponding to the Torpedo  $\alpha$ M2 segment in organic solvents also adopts a totally  $\alpha$ -helical configuration [42]. Cryoelectron microscope data confirmed that M2 forms the innermost ring of membrane-spanning segments, isolated from membrane lipids [43-44].

During the 90's, cryoelectron microscopy revealed the relatively featureless appearance of the other putative TM domains (M1, M3 and M4). A large portion of this AChR region was postulated to be arranged in the form of a  $\beta$ -barrel outside the central rim of M2 channel-forming rods [45]. This interpretation contrasted with photoaffinity labeling studies, in which the observed periodicity of the lipid-exposed residues in M4 and M3 was consistent with an  $\alpha$ -helical pattern [46-48], and with deuterium-exchange Fourier transform infrared spectroscopy studies indicating a predominantly  $\alpha$ -helical structure in the AChR TM region [49]. In addition, secondary structure analysis (CD and Fourier transform infrared spectroscopy) of isolated and lipid-reconstituted TM AChR peptides indicated an  $\alpha$ -helical structure for M2, M3, and M4 segments [50]. Furthermore, a synthetic peptide corresponding to the  $\alpha$ M3 segment of Torpedo AChR exhibited a totally  $\alpha$ -helical structure by 2-dimensional <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy [51];

NMR studies of a synthetic  $\gamma$ M4 peptide were also found to be compatible with an  $\alpha$ -helical secondary structure [52].

A considerable advance in defining the structure of the AChR at atomic resolution<sup>53</sup> was achieved by crystallographic studies of a water-soluble acetylcholine-binding protein from a snail. The structure of this protein, highly homologous to the water-soluble extracellular domain of the AChR protein proper [53], provided the first truly high-resolution data of the region of the AChR putatively involved in agonist recognition, the first step in the cascade leading to channel opening. More recent work has resulted in the crystallization of the actual water-soluble extracellular domain of the mouse AChR  $\alpha$ -subunit bound to  $\alpha$ -bungarotoxin. The crystal structure was solved at 1.94 Å resolution [54].

The cryo-electron microscopy data of Unwin and coworkers [43-45] at 4 Å resolution provided inspiring insights into the structure of the AChR, and particularly relevant to the subject of this review, the electron microscopy data revealed interesting features of the membrane-embedded domains of the AChR protein. I described the occurrence of three concentric rings in the AChR region [7]: a) an inner ring exclusively formed by five M2 segments, corresponding to the walls of the AChR ion pore, which have no contact with the membrane lipid; b) a middle ring, formed by ten helices corresponding to the M1 and M3 TM segments. This middle ring is separated from the inner five-member ring of M2s, and its outer face is exposed to lipids and also to c) the outermost ring, consisting of five M4 segments (Figs. 1-3). The proton-gated ion channel protein recently found in the cyanobacterium *Gloeobacter violaceus* [4], termed "GLvi" or "GLIC", shares only 20% amino acid identity with one of its homologues in *Homo sapiens*, the  $\alpha$ 7 neuronal AChR. However, some key regions contributing to the gating properties of AChRs are conserved, such as the Cys-loop, the proline in M1, the equatorial ring of hydrophobic residues in M2, and the four TM segments. The latter feature is reinforced by the recently available X-ray structure of an ortholog of the *Gloeobacter* channel, the pentameric protein "ELIC" from *Erwinia chrysanthemi* at 3.3 Å resolution, which exhibits only 16% sequence identity with the AChR and lacks the cytoplasmic region [55]. The crystal structures of GLIC and ELIC clearly show the three concentric rings in the TM region which I described for the AChR [7], and suggests that its equivalent segments M1, M2 and M3 in the two inner rings of AChRs are involved in interactions at subunit interfaces, whereas M4, located at the

peripheral, outer ring, only loosely interacts with M1 and M3 of the same bundle and is less likely to be involved in subunit-subunit interactions [55]. If one were to ascribe a functional role to M4, this TM region probably conveys the signal from the lipid microenvironment to the rest of the TM helix bundle.

### **Influence of the lipid environment on AChR secondary structure**

The lipid environment exerts a modulatory effect on AChR secondary structure. Early studies reported that Chol increased the  $\alpha$ -helix content of the AChR. The sterol was postulated to stabilize AChR structure by packing its rigid planar ring into grooves of TM helices [56]. CD spectroscopy [57], Raman spectroscopy [58] and  $1\text{H}/3\text{H}$  exchange studies [59] detected no large differences in structure or solvent accessibility between resting and desensitized AChR. One study reported no changes in secondary structure in the presence of Chol [60]. In contrast, evidence from cryoelectron microscopy [39] indicated differences between resting and desensitized and resting and activated AChR. Furthermore, the accessibility of AChR fluorophores to membrane probes between resting and desensitized forms of the AChR is different [61], as is the accessibility of residues near the ligand-recognition site [62] and the TM regions [63]. Castresana et al. [64] reported that the helical content of the AChR was not affected by addition of agonist, whereas the proportion of  $\beta$ -structure decreased to 24% concomitantly with an increase in disordered structure. Prolonged exposure to the agonist, leading to desensitization, resulted in significant rearrangement of the AChR structure. Lack of Chol in an asolectin reconstitution system produced an increase in disordered structure in *T. marmorata* AChR [65]. Addition of exogenous Chol resulted in restoration of the proportion of AChR ordered structure in asolectin liposomes but not in liposomes prepared from egg PCs, leading these authors to suggest that a component other than PC is needed for the restoration of AChR structure in the presence of Chol. Fernández-Ballester et al. [65] also suggested that the desensitization phenomenon does not depend on the presence of Chol or other lipids. Methot et al. [66] found 39%  $\alpha$ -helix, 35%  $\beta$ -sheet, 20% random coil and 6%  $\beta$ -turn in *T. californica* AChR reconstituted in DOPC:DOPA:Chol (3:1:1) by FTIR, in other words sufficient  $\alpha$ -helical content to form four-helical TM segments and a substantial portion of the extracellular region. It is interesting to note that much earlier, Finer-Moore and Stroud [67] had predicted a high helical content (44%) and 27%  $\beta$ -sheet in a

theoretical analysis using a Fourier transformation of the AChR primary structure. Methot et al. [66,68] found no significant agonist-induced changes in the secondary structure of the AChR upon exposure to the agonist carbamoylcholine or to the local anesthetic tetracaine, regardless of the presence or absence of Chol in the reconstitution system.

The canonical 4-helix TM models [69-70], increasingly validated by cryoelectron microscopy data [43-44] and more recently by X-ray diffraction studies [55], placed between 17% and 20% of the AChR mass inside the membrane bilayer. Earlier studies [71-72] had suggested that each of the membrane-spanning segments was independently stable in the lipid bilayer. Corbin et al. [50] reported that in a membrane environment the AChR TM segments have the intrinsic propensity to adopt an  $\alpha$ -helical secondary structure. The discussion about the secondary structure of the AChR TM region has further implications for current models of the other regions of the AChR molecule. Thus, compatibilizing the most recent experimental work with the theoretical models that assume four TM helices implies placing an important proportion of  $\beta$ -sheet structure in the extramembranous regions (extracellular and cytoplasmic-facing) of the AChR, a feature that appears to find validation at least in the case of the AChBP, the structural homologue of the AChR extracellular moiety [53]. The AChBP has extensive  $\beta$ -sheet structure. Görne-Tschelnokow et al. [73] concluded from their FTIR data that the TM region of the AChR contains 40%  $\beta$ -sheet plus turn structure. Using the same technique, Baezinger and Methot [49] produced experimental evidence supporting an all-helical model of the AChR TM region. Additional FTIR studies [49,68] indicate that  $1\text{H}/2\text{H}$  exchange kinetics is slower in the presence of DOPA or Chol, suggesting that the lipid environment modulates the conformational dynamics of the membrane-embedded peptide hydrogen atoms that exchange with deuterium.

### **Physical contact between lipids and the AChR surface: fluorescence studies**

The vicinity of AChR protein to lipids in the membrane bilayer was apparent in early fluorescence quenching studies (AChR intrinsic fluorescence) performed on native membranes [61] and in reconstituted systems [19]. The fluorescence emission of the AChR is typical of that of other integral membrane proteins. Fifty-one Trp and 80 Tyr residues are present in *T. californica* AChR [70], but the spectrum appears to be dominated by the Trp emission [61]. Fluorescence studies [74] and sequence topology [75] indicate



that only Trp453 in the  $\gamma$  subunit is present in the membrane-embedded region in *Torpedo californica*, with the addition of one more Trp residue in the  $\alpha$  subunit in the case of *Torpedo marmorata*. These intrinsic fluorophores of the AChR are accessible to quenching by lipid analogs from the bilayer region; the heterogeneous nature of the fluorophore population is reflected in the occurrence of various quenching constants. From the study of other systems such as the sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase [76] paramagnetic quenching of membrane-bound fluorophores is assumed to be predominantly static in nature. This is due to the fact that the measured phospholipid lateral diffusion in membranes,  $D$ , is about  $10\text{-}8\text{ cm}^2\text{ s}^{-1}$ , i.e. relatively slow with respect to the time window of these measurements and thus the distance between fluorophore and quencher does not change appreciably during the lifetime of the former. In the case of the quenching of AChR intrinsic fluorescence, the mechanism is more complex, probably mixed in nature, because of the dynamic components arising from rotational motions and peptide chain wobbling. Paramagnetic quenching requires a minimum distance between quencher and fluorophore of about  $5\text{ \AA}$ . The occurrence of effective paramagnetic quenching by spin-labeled lipids thus constitutes strong evidence that quenching occurs in the TM regions of the AChR, and that the latter contain discrete sets of intrinsic fluorophores accessible to the nitroxide probe. The  $KQ$ 's and the apparent fraction of available fluorophores ( $f_a$ ) can be obtained from the modified Stern-Volmer equation:

$$F_0/(F_0 - F) = 1/(f_a KQ [Q]) + 1/f_a \quad (\text{Eq. 1})$$

where  $F_0$  is the initial AChR intrinsic fluorescence intensity and  $F$  is the fluorescence intensity of AChR in the presence of a given concentration,  $[Q]$ , of nitroxide-labeled lipids. The value of  $1/KQ$ , the spin-labeled lipid concentration at which 50% of the initial intensity is quenched assuming that all fluorophores are fully accessible to quencher, provides a quantitative estimate of the efficiency of the spin-labeled probes as quenchers of the fluorescence of membrane-embedded Trp residues. In the case of *T. marmorata* AChR in its native membrane this follows the sequence [14]:

CSL > ASL > 16-SASL > 12-SASL > 5-SASL

The higher efficiency of the steroid analog spin-labeled cholestane (CSL) than spin-labeled androstane (ASL) in quenching AChR intrinsic fluorescence can be explained in terms of the different location of the paramagnetic ni-

troxide group relative to the membrane surface. CSL is located close to the lipid/water interface, which most probably enables this spin label to quench Trp residues either in the extramembranous domain of the AChR, or in shallow regions of the TM region.

### Stoichiometry and selectivity of the protein-vicinal lipid

ESR is an excellent biophysical method for studying the mobility, stoichiometry and selectivity of lipids at the intramembranous surface of integral membrane proteins, because its dynamic sensitivity is optimally matched to the time-scale of lipid rotational motions in biological membranes, in the order of nanoseconds. ESR spectra of spin-labeled lipids sense molecular motions corresponding to rotational frequencies of about  $10^8\text{-}10^5\text{ s}^{-1}$  [77]. Thus, spectra of lipids motionally restricted by interactions with the surface of, or bound to, integral membrane proteins are suitably resolved from those corresponding to the fluid bilayer regions of the membrane. We have reported that lipid mobility at the lipid shell surrounding the AChR protein (the AChR-vicinal lipid) is reduced relative to that of the bulk membrane lipid, giving rise to a two-component ESR spectrum from which the number and selectivity of the lipids at the lipid-protein interface may be quantitated (see e.g. [15]). In this way we were first able to demonstrate protein-induced restrictions on the mobility of spin-labeled fatty acids and ASL [9] and of spin-labeled phospholipids [15] in AChR-rich membranes from *T. marmorata*. Subsequent work demonstrated the preferential association of AChR with spin-labeled steroids, phosphatidic acid (PA), and fatty acids, rather than with other kinds of lipid [13,20]. The possible functional implications of this topographical relationship between lipid and AChR protein became apparent in studies showing that Chol and negatively charged phospholipids were required to support the ion-gating activity of the AChR [22-23,78] whereas fatty acids blocked the ion-flux response [79]. The latter was interpreted as the perturbation of the functionally significant interaction between AChR and Chol or negatively charged phospholipids.

FRET studies using the SM fluorescent derivative also yielded information on the relative affinity of the SM derivative for the AChR protein. Thus, Py-SM exhibited a moderate-to-low selectivity for the protein-vicinal lipid domain, with a calculated relative affinity  $K_r \approx 0.55$  [ref. 80]. This figure should be added to the list of known selectivities of other lipids for the AChR calculated from early ESR experiments: PS (0.7),

PC (1.0), PE (1.1), PA (2.7) and stearic acid (4.1) by Ellena et al. [13], and to those determined by us more recently, also using ESR techniques [81], allowing a classification of lipids according to their selectivity for the AChR protein. The study by Mantipragada et al. [81] provided the first detailed description of the dynamic composition of “first-shell” lipids in the belt region surrounding a receptor protein. AChR-vicinal lipids fall into three categories: a) a high specificity group made up of fatty acids like stearic acid, cardiolipin and phosphatidylinositols [81-82], androstanol [15,82], and phosphatidic acid [13]; b) an intermediate group, made up of SM [80]; PS and PG [81], and c) a moderate-to-low specificity group, where we find PC, PE, and the gangliosides GD1b, GM1, GM2 and GM3 [81].

It is interesting to note that owing to the high packing density of AChR molecules in the postsynaptic membrane, only three to four phospholipid layers of “bulk” lipid separate the protein-vicinal first layer from the nearest-neighbor first-layer lipid surrounding an adjacent AChR protein [8]. In Torpedo receptor-rich native membranes prepared from electrocytes, all lipids in the membrane are in the liquid-ordered (lo) phase, with decreasing polarity towards the AChR protein molecules [30]. This is because the protein-vicinal lipid-belt region is more rigid and ordered than the bulk bilayer lipid, as determined by Laurdan GP measurements using FRET [29-30]. However, the receptor-vicinal and the bulk lipid regions form a single, liquid-ordered phase from the physico-chemical point of view.

The protein-vicinal lipid is relatively immobilized with respect to motions both around and perpendicular to the long molecular axes of the lipid molecules, i.e. with rotational correlation times ~50-100 times longer than is typically found with fluid bilayer lipid [9]. The protein-vicinal lipid also exhibits a lower degree of penetration of water molecules, thus rendering it less polar than the bulk bilayer lipid [29-30]. Another dynamic aspect that characterizes the two lipid regions is the relatively high exchange between the two moieties: although the AChR-vicinal lipid is expected to have a lateral diffusion coefficient 50-100 times slower than that of the fluid bilayer lipid, i.e. ~105 s<sup>-1</sup> [ref. 9], the lipid exchange process between the AChR-vicinal lipid and the bulk lipid exhibits rates in the order of 1-5 x 108 s<sup>-1</sup>. Lipid species displaying selectivity for the AChR protein spend on average a longer period in the immediate vicinity of the protein; they are concentrated relative to those lipids exhibiting little or no selectivity. In systems where the selectivity of the lipid for the protein is changed

by varying the pH or the ionic strength, it has been shown that the on-rate remains constant, whereas the off-rates reflect the specificity of a given lipid, which is independent of the lipid/protein ratio [83].

We have also found that some local anesthetics, noncompetitive antagonists of the AChR, exert their action at the AChR-lipid interface [11,14,81]. The effect of local anesthetics contrasts with that of general anesthetics: both reduce the motionally restricted boundary or shell-lipid, but the latter also fluidize the bulk lipid, an effect that we have not observed with local anesthetics at the concentrations used [81]. It is also interesting to note that local anesthetics compete more effectively with the phospholipid PI than with the fatty acid analogue, although both lipids display similar relative association constants for the AChR. Unwin and colleagues suggested the possibility that alcohols and local anesthetics bind to the AChR in water-filled cavities in between the M2 channel-lining ring and the middle M1-M3 TM ring [43].

#### **Changes in the physical state of the native AChR membrane induced by exogenous lipids**

When Laurdan GP was measured in Torpedo native AChR membrane (either by direct excitation or under FRET conditions) in the presence of exogenous lipids, GP and by inference the “fluidity” and order of the membrane were found to diminish upon addition of oleic acid and DOPC, and not to vary significantly upon addition of Chol hemisuccinate, indicating an increase in the polarity of the single, ordered-liquid lipid phase in the two former cases [28].

Complementary information about the bulk lipid order was obtained from measurements of fluorescence anisotropy of DPH and two of its derivatives. The membrane order diminished in the presence of oleic acid and DOPC. The location of Laurdan was determined using the parallax method of Chattopadhyay and London [84], based on the relative position of a fluorescence probe embedded in the membrane and its quenching by probes having nitroxide spin labels at different positions along their acyl chains. The parallax determination is accomplished by pairwise comparison of quenching parameters with different pairwise combinations of the PC analogs with spin labels in carbons 7, 10 and 12.

When the temperature dependence of Laurdan fluorescence was studied in the native AChR-rich membrane, dipolar relaxation was found to gradually increase with increasing temperature [30], probably reflecting an increment in

water content and disorder in the shallow membrane region sensed by the probe, both in AChR-vicinal and bulk lipid regions. Similar conclusions were reached from a study of fluorescence anisotropy of DPH and derivatives, which sense the thermally-induced disorder in other regions of the membrane [28].

### **Energetics of channel gating in living cells measured by Laurdan fluorescence**

The characterization of Laurdan thermotropic behavior was subsequently extended to living mammalian cells expressing endogenous or heterologous AChR. Interestingly, the differences in physical properties of cell membranes measured by Laurdan GP in a variety of cells, reflecting the molecular dynamics of water molecules, could be correlated with the energetic changes in the AChR ion channel occurring as a function of temperature, as measured in single-channel recordings [85]. Laurdan expends energy in solvent (water) reorientation, as evidenced in the red shift of its emission spectrum. The decrease in Laurdan GP upon increasing the temperature reflects an increase in water diffusion into the membrane. Water penetration into the membrane is facilitated by the increased thermal-induced disorder in the bilayer lipid. The higher AChR channel conductance upon increasing the temperature is a manifestation of the augmented ion and water permeability in the AChR channel or "pore" region as we observed in single-channel recordings with the patch-clamp technique. Our study [85] further indicated that AChR channel kinetics depends not only on intrinsic properties of the AChR protein but also on the physical state of the membrane in which the receptor is embedded.

### **Topology and lipid selectivity of individual AChR membrane-embedded domains**

The topography of the pyrene-labeled cysteine residues in TM regions of the AChR with respect to the membrane was experimentally determined by differential fluorescence quenching with spin-labeled derivatives of fatty acids, PC, and the steroids cholestane and androstane [82]. TM peptides were obtained by controlled enzymatic digestion from purified *Torpedo californica* AChR, derivatized with N-(1-pyrenyl)maleimide (PM), purified, and reconstituted into asolectin liposomes. For the intact AChR, PM fluorescence mapped to proteolytic fragments consistent with labeling of cysteine residues in  $\alpha$ M1,  $\alpha$ M4,  $\gamma$ M1 and  $\gamma$ M4. Stern-Volmer plots of whole AChR quenching by spin-labeled lipid analogs showed

no deviation from linearity. Stearic acid and androstane spin label derivatives were the most effective quenchers of the pyrene fluorescence of whole AChR and derived TM peptides. In the case of spin-labeled stearic acid derivatives, the 5-SASL isomer quenched more effectively than the 7-SASL and the 12-SASL analogs, indicating a shallow location of the pyrene-labelled Cys residues [86]. In fact, the quenching studies indicated that all labeled Cys residues are located in shallow positions with respect to the membrane bilayer in the AChR and derived TM peptides. In the case of  $\gamma$ M4, and by inference in other M4 segments of the AChR, this is compatible with a linear  $\alpha$ -helical structure ( $\alpha$ Cys<sup>412</sup> and  $\gamma$ Cys<sup>451</sup> are located near the N-terminus of the TM segment). In the case of  $\alpha$ M1, "classical" models locate  $\alpha$ Cys<sup>222</sup> and Cys<sup>230</sup> at the center of the hydrophobic segment in an extended  $\alpha$ -helical structure and therefore alternative structures/topologies for the M1 domain must be considered. One possibility is that the M1 segment contains non-helical structure, and/or kinks. In a mixed  $\alpha$ -helix/ $\beta$ -sheet model of the AChR [87],  $\alpha$ M1 was constructed as a three-strand  $\beta$ -sheet interrupted by short loops generated by searching in the database of known structures for an appropriate backbone conformation. The proline residues themselves could not lie within a  $\beta$ -strand, so they were positioned in the loops. The same model can be extended to  $\gamma$ M1, having a proline residue (Pro229) immediately adjacent to Cys<sup>230</sup> and two other (Pro222 and Pro244) at the end of the TM region. Thus, the conserved proline residues in the M1 segments of the AChR might introduce "curls" or kinks in a manner analogous to that reported for one of the TM segments of a K<sup>+</sup> channel [88-90]. The occurrence of proline residues -potential helix-disrupting residues- is a striking feature of M1 in the AChR and all members of the rapid LGIC superfamily [91]. Another possibility is that a portion of the N-terminus of the M1 TM  $\alpha$ -helix extends beyond the lipid bilayer, therefore placing Cys<sup>222</sup>/Cys<sup>230</sup> near the lipid/water interface. This interpretation now appears more likely on the basis of electron microscopy data [43-44].

We studied the  $\gamma$ M4 AChR domain incorporated in liposomes made of 60% POPC-40% Chol by means of fluorescence spectroscopy [92]. In a pure phospholipid (POPC) system in the ld phase, the lipid-peptide interactions predominated over interactions between helices, and  $\gamma$ M4 occurred as an isolated peptide, matching the hydrophobic region of the bilayer. In contrast, in a mixed 60% POPC-40% Chol system in the lo phase, peptide-peptide interactions prevailed, and peptide aggregation occurred. These Chol-

dependent properties of a representative membrane-embedded segment of the AChR may bear relevance to the organization of the  $\gamma$ -subunit  $\alpha$ -helical bundle motif and the AChR membrane-spanning region at large. The tendency of the hydrophobic  $\gamma$ M4 peptide to maximize peptide-peptide interactions in the presence but not in the absence of Chol may be related to the ability of this sterol to stabilize the  $\alpha$ -helix content of the native AChR [78-93]. Diffusion coefficients of  $D = 14 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  (for 7% peptide) and  $D = 12 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  (for 3% peptide) were obtained for the  $\gamma$ M4 peptide. These values have the same order of magnitude or are slightly higher than those typically found for diffusion in an ld phase ( $D = 1.1 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ) [ref. 94],  $D = 1.3 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  for transmembrane proteins and  $D = 9.14 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  for a fluorescent lipid derivative [95] and the fluorescent lipid analogue NBD-phosphatidylethanolamine ( $D = 8 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ) [ref. 96]. The lateral diffusion of the AChR reconstituted in pure DMPC bilayers was studied with fluorescence recovery after photobleaching techniques.  $D$  values in the range of  $10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  were observed for both the AChR monomer and dimer in the lo phase [96]. Additional multiple-component recoveries with  $D$  values of less than  $5 \times 10^{-11} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  were found below the lipid phase transition. Thus the translational diffusion of the  $\gamma$ M4 peptide is not significantly different from that of the 9S AChR monomer or the 13S dimer in the low concentration limit; neither the peptide nor the whole AChR encounter hindrance to lateral diffusion on the part of the lipid bilayer itself, whereas in native membranes, the densely packed AChR molecules are rather immobile (see review [91]).

### **Functional effects of the lipid environment on the AChR**

Several channels and receptors, the AChR protein included, are embedded in the postsynaptic membrane. Given the extensive contacts between membrane lipids and the AChR, the physicochemical properties of the constituent lipids are likely to influence the physicochemical and functional properties of the protein moiety and likewise, the latter is bound to modify the corresponding properties of the membrane lipids. This prediction is experimentally validated by the fact that various types of lipid have been found to affect the function of channels and receptors, as analyzed in this section. One functionally relevant example is the phospholipid regulation exerted on the ATP-sensitive potassium channel (KATP channel), the channel that i) controls the movement of K ions in and out of the pancreatic  $\beta$  cells,

thus linking blood glucose concentration with insulin secretion, ii) modulates the tone of smooth muscle in blood vessels and iii) regulates the length of the action potential in cardiac muscle. KATP channel has been shown to be modulated by phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP2) [97-98]. Exogenous, synthetic steroidal substances of therapeutic use, as well as endogenous steroids, have been shown to bind to and affect muscle and neuronal-type AChR [99-100].

### **Lipids and agonist-induced state transitions: Cholesterol and negatively charged phospholipids**

When AChRs were reconstituted into lipid vesicles made up of only PC they were found not to be functional [22-24,101]. The presence of Chol and anionic lipids such as PA or PS restored the capacity to undergo agonist-induced state transitions [102]. However, contradictory interpretations still remain. Thus Rankin et al. [103] concluded that AChR reconstituted in PA/PC mixtures was unable to undergo agonist-induced state transitions, whereas Baezinger et al. [102] used AChR preparations reconstituted in Chol and found that they are able to undergo agonist-induced structural transitions, though anionic lipids were needed for full activity. Recent studies stress the importance of acidic phospholipids like PA (e.g. POPC liposomes containing POPA) in the reconstitution mixture to preserve almost complete functionality of the AChR. Addition of Chol (POPC/POPA/Chol, 3:1:1) had a positive synergistic effect [104]. These results further suggest that this lipid composition stabilizes the receptor in the resting state and allows agonist-induced state transitions, as previously observed with FTIR spectroscopy and radioactive ion-flux experiments [105].

### **Lipid effects on AChR agonist-induced conformational states**

The requisite lipid composition for maintenance of agonist-induced affinity transitions between conformational states is not necessarily optimal for adequate receptor-controlled ion translocation [22-23]. The latter property has been reported to depend on the presence of neutral and anionic phospholipids [24]. In one of our studies, unsaturated PE in combination with approximately 30% of a cholesteryl ester proved the best lipid mixture for the reconstitution of the AChR-mediated ion-permeation in artificial membranes [23]. The less saturated the acyl chains of PE, the higher the observed response.

Other lipids and hydrophobic molecules are also known to modulate AChR activity [8,106-



107]. Fatty acids and sterols are of particular significance. Their selectivity for the AChR microenvironment was demonstrated in early experiments [9,106]. The major lipid components of biological membranes in general are phosphoglycerides, Chol, and sphingolipids. In the case of the AChR-rich membranes prepared from the electric organ of Torpedinidae species, the major phospholipid constituents are choline- (40%), ethanolamine- (35%), and serine- (13%) glycerophospholipids. The effect of phosphoglyceride composition on AChR function has been the focus of several studies [22-24]. Chol and steroids have also been shown to play a major role in AChR function [82,106,108]. Sphingomyelins (N-acyl-sphingosine-1-phosphorylcholine or ceramide-1-phosphorylcholine, "SM"), the simplest class of the sphingolipids, amount to about 10% of cellular lipids in mammalian cell membranes. They are more abundant in the plasmalemma than in intracellular membranes and like the other choline-containing phospholipid, PC, are enriched in the outer, exoplasmic leaflet of the bilayer [109-110]. Sphingolipids are important lipid constituents, essential for cell growth [111]. Aminophospholipids such as PS or PE, on the other hand, are enriched in the inner, cytoplasmic leaflet of the membrane [112]. SM has also been implied to play a key role in the so-called "SM cycle", in which SM-derived ceramide acts as a lipid second messenger [113]. In the case of the AChR-rich membrane from Torpedinidae, SM accounts for about 5% of the total phospholipid content [114-115]. We have established its topography in the Torpedo AChR-rich membrane and its moderate-to-low affinity for the receptor protein [80]. More recently, we found that inhibition of sphingolipid biosynthesis resulted in the accumulation of unassembled AChR oligomers in the endoplasmic reticulum, leading us to suggest a "chaperone-like" effect of sphingolipids on the AChR biosynthetic pathway, affecting both the efficiency of the assembly process and subsequent receptor trafficking to the cell surface [116].

A correlation between the structural characteristics of some lipids and AChR conformation could be established in fluorescence spectroscopy studies using the fluorescent probe crystal violet. Interestingly, the probe also exerts pharmacological action on the AChR: it is an open channel blocker, exhibiting a higher affinity for the desensitized state than for the resting state of the receptor. Fatty acids were found to decrease, albeit to different extents, the KD of crystal violet in the absence of agonist. Only cis-fatty acids, which increase membrane fluidity, caused an increase in KD in the presence of agonist. Steroids produced a concentra-

tion-dependent diminution of the KD of the resting AChR state, which approached that of the KD of the desensitized state. However, the presence of steroids did not alter the desensitized state of the AChR, a result that concurs with the fact that the steroids tested did not change the polarity of the membrane sensed by Laurdan GP [117].

### **Lipid sites on the AChR molecule**

The presence of binding sites for hydrophobic molecules distinct from the annular ones, on the surface of the (Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>)-ATPase, has been deduced from FRET studies between Trp residues and dansyl-undecanoic acid, and quenching of the intrinsic protein fluorescence by brominated lipids [118-119]. The simple addition of Chol had no effect on the intrinsic fluorescence of the enzyme ATPase reconstituted in dioleoyl-phosphatidylcholine (DOPC) liposomes containing brominated PC. However, reconstitution of the ATPase with mixtures of DOPC and dibromo-Chol resulted in fluorescence quenching. From these data a model was proposed in which Chol is excluded from the lipid-protein interface, i.e. from the annular binding sites, but is still able to bind at a second set of sites from which phospholipids are excluded, namely non-annular binding sites. The same explanation was furnished in the case of the AChR by McNamee's group [25] and non-annular binding sites for fatty acids, Chol and its analog cholesteryl hemisuccinate were postulated to occur on the surface of the receptor, but distant from the protein-lipid interface or "annular" lipids. In an early modeling study, we "docked" Chol molecules on the lipid-facing surface of the AChR TM region in crevices between M1, M3 and M4 from adjacent subunits [120]. The crevices were apparent even in low-resolution electron microscope images of the AChR protein [39]. Five such sites were located in each leaflet of the membrane, making a total of ten steroid sites, in general agreement with the discrete number of sites postulated by McNamee's group [19, 25]. A second outcome of this early model was the finding that only a few lipid molecules can gain simultaneous access to more than two TM segments. This concept was further elaborated in a subsequent model based on Unwin's suggestion [38] of similarities between the tertiary structure of the B5 pentamer of E. coli enterotoxin and the AChR. In their description of the Chol sites on the AChR protein, Jones and McNamee [19] postulated that these sites were at interstitial regions of the AChR. Miller and coworkers [121] further elaborated on the topology of the Chol sites, which they located at a distance of about 0.6 nm from the first shell or annular lipids.

Early work on AChR-rich membranes demonstrated the natural abundance of Chol [114,122] and the protein-induced restriction in mobility of spin-labeled androstanol [9]. The latter biophysical work suggested the occurrence of sites for steroid-like molecules in the AChR microenvironment. The search for such sites involved the use of other spin-labeled sterols [13] and photoaffinity labeling techniques [123] which demonstrated the close proximity of a Chol analog and the AChR. The radioactive photoaffinity label [3H]cholesteryl diazoacetate, a carbene-generating probe, was incorporated into all AChR subunits. Spin-labeled cholestane was also shown to be incorporated into AChR-rich regions of the membrane [11]. González-Ros and coworkers [124] showed that a photoactivatable analog of Chol can be displaced from the AChR by unlabeled Chol and that the labeling is sensitive to the desensitization phenomenon.

Jones and McNamee [19] used brominated sterol to define annular (about 45 per AChR monomer) and non-annular (about 5-10 per AChR) sites, the latter with ~20-fold higher affinity for Chol. Ellena et al. [13] showed that another sterol, androstanol, exhibited a higher selectivity relative to PC, occupying about 38 sites on the AChR. Subsequent ESR work showed preference of the AChR for a PS analogue (~60% perturbation by the membrane protein) over other lipids (~30%) [12]. After proteolytic removal of the extramembrane portions of the membrane-bound receptor, binding sites for the spin-labeled androstane and stearic acid disappeared, but those for phospholipids and sphingomyelin analogues did not. The occurrence of androstane sites in extracellular AChR domains has been challenged by subsequent work [121]. Photoaffinity labeling studies with azido-Chol also do not support the occurrence of extracellular sites for the sterol [125] as found with the GABAA receptor.

Fernández-Ballester et al. [65] studied the effect of Chol on the secondary structure and cation permeability of reconstituted Torpedo AChR. They found that the presence of phospholipids was necessary in the reconstitution mixture to support the modulatory effect exerted by Chol on AChR ion permeability in vitro. Blanton et al. [126] used the steroid promegestone to photolabel *T. californica* AChR. The probe was incorporated into each of the AChR subunits in approximately equal amounts both in the presence and in the absence of Carb. While no evidence of [3H]promegestone incorporation was detected in the inner ring M2 segment, residues reacting with the steroid in the outer ring M4 domains

were identified and found to be identical to those previously shown with other ligands reported to be in contact with the lipid bilayer. The outer ring of M4 TM segments occupies the outermost, peripheral region of the receptor macromolecule, in direct contact with membrane lipids –essentially embedded in the bilayer. The steroid promegestone was further found to be a noncompetitive antagonist of the AChR, allosterically affecting the receptor by interacting with residues situated at the lipid-protein interface [126]. Corbin et al. [125] used the photoactivatable Chol analog 3 $\alpha$ -(4-azido-3-[125I]iodosalicylic)-cholest-5-ene (azido-Chol) to label the TM regions of *T. californica* AChR. In  $\alpha$ M4, residues Cys412, Val413, Phe414 and Met415 were labeled. This stretch corresponds to outer ring residues embedded in the cytoplasmic-facing hemilayer of the membrane.

Another strategy for determining the occurrence of lipid sites in the AChR exploited the decrease in FRET efficiency (E) between the intrinsic fluorescence of AChR-rich membranes and Laurdan, induced by different lipids. E between AChR (donor) and Laurdan (acceptor) was calculated using equations 7 and 8 below. E is given by:

$$E = Ro6/(Ro6 + r6) \quad (\text{Eq. 7})$$

where r is the intermolecular distance and Ro is a constant parameter for each donor-acceptor pair, defined as the distance at which E is 50%. E can also be calculated as:

$$E = 1 - (f/fD) \approx 1 - (I/ID) \quad (\text{Eq.8})$$

where  $\phi$  and  $\phi D$  are the fluorescence quantum yields of donor in the presence and absence of the acceptor, respectively, and I and ID are the corresponding emission intensities. FRET efficiency was found to decrease upon addition of exogenous lipids, which displace Laurdan molecules from the AChR-microenvironment. The maximal decrease in E resulting from the addition of a fatty acid (18:1) amounted to about 60%, whereas Chol or phospholipid reduced E by 35% and 25%, respectively. The sum of the decreases caused by DOPC and cholesteryl hemisuccinate equaled that obtained in the presence of 18:1 alone. From this series of experiments we reached the conclusions that i) there are independent sites for phospholipid and sterol, both accessible to fatty acid, in the vicinity of the AChR [28], in agreement with previous ESR work [12,19] and ii) fatty acids of different chain length and saturation share a common site(s) but produce different effects on the physical properties of AChR-associated lipid belt region and bulk lipids, respectively [62].

## References

- [1] F.J. Barrantes, ed., *The nicotinic acetylcholine receptor: Current views and future trends*, 1<sup>st</sup> Edit., Springer Verlag/Heidelberg and Landes Publishing Co., Berlin/Georgetown, 1998.
- [2] P.J. Corringer, N. Le Novère & J.P. Changeux, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **40**, 431 (2000).
- [3] A. Karlin, *Nat. Rev. Neurosci.* **3**, 102 (2002).
- [4] N. Bocquet, L. Prado de Carvalho, J. Cartaud, J. Neyton, C. Le Poupon, A. Taly, T. Grutter, J.P. Changeux & P.J. Corringer, *Nature* **445**, 116 (2007).
- [5] J. Lindstrom, J. Merlie & G. Yogeewaran, *Biochemistry* **18**, 4465 (1979).
- [6] J.A. Reynolds & A. Karlin, *Biochemistry* **17**, 2035 (1978).
- [7] F.J. Barrantes, *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* **6**, 620 (2003).
- [8] F.J. Barrantes, *Brain Res. Rev. Brain Res. Rev.* **47**, 71 (2004).
- [9] D. Marsh & F.J. Barrantes, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **75**, 4329 (1978).
- [10] V.C. Abadji, D.E. Reines, L.A. Dalton & K.M. Miller, *Biochim. Biophys. Acta* **1194**, 25 (1993).
- [11] H.R. Arias, M.B. Sankaram, D. Marsh & F.J. Barrantes, *Biochim. Biophys. Acta*, **1027**, 287 (1990).
- [12] M. Dreger, M. Krauss, A. Herrmann & F. Hucho, *Biochemistry* **36**, 839 (1997).
- [13] J.F. Ellena, M.A. Blazing & M.G. McNamee, *Biochemistry* **22**, 5523 (1983).
- [14] L.I. Horváth, H.R. Arias, H.O. Hankovszky, K. Hideg, K., F.J. Barrantes & D. Marsh, *Biochemistry* **29**, 8707 (1990).
- [15] D. Marsh, A. Watts & F.J. Barrantes, *Biochim. Biophys. Acta*, **645**, 97 (1981).
- [16] F.J. Barrantes, *J. Neurochem.* **103**, Suppl. 1, 72 (2007).
- [17] J.H. Ipsen, G. Karlström, O.C. Mouritsen & M.J. Zuckermann, *Biochim. Biophys. Acta*, **905**, 162 (2003).
- [18] A. Bhushan & M.G. McNamee, *Biophys. J.* **64**, 716 (1993).
- [19] O.T. Jones & M.G. McNamee, *Biochemistry* **27**, 2364 (1988).
- [20] A. Rousselet, P.F. Devaux & K.W. Wirtz, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **90**, 871 (1979).
- [21] M. Epstein & E. Racker, *J. Biol. Chem.* **253**, 6660 (1978).
- [22] M. Criado, H. Eibl & F.J. Barrantes, *Biochemistry* **21**, 3622 (1982).
- [23] M. Criado, H. Eibl & F.J. Barrantes, *J. Biol. Chem.* **259**, 9188 (1984).
- [24] E.L. Ochoa, A.W. Dalziel & M.G. McNamee, *Biochim. Biophys. Acta* **727**, 151 (1983).
- [25] O.T. Jones, J.H. Eubanks, J.P. Earnest & M.G. McNamee, *Biochemistry* **27**, 3733 (1988).
- [26] T. Parasassi, G. De Stasio, A. d'Ubaldo & E. Gratton, *Biophys. J.* **57**, 1179 (1990).
- [27] T. Parasassi, G. Stasio, G. Ravagnan, R.M. Rusch & E. Gratton, *Biophys. J.* **60**, 179 (1991).
- [28] S.S. Antollini & F.J. Barrantes, *Biochemistry* **37**, 16653 (1998).
- [29] S.S. Antollini & F.J. Barrantes, *J. Biol. Chem.* **277**, 1249 (2002).
- [30] S.S. Antollini, M.A. Soto, I.C. Bonini de Romanelli, C. Gutierrez-Merino, P. Sotomayor & F.J. Barrantes, *Biophys. J.* **70**, 1275 (1996).
- [31] N. Unwin, *J. Mol. Biol.* **229**, 1101 (1993).
- [32] H.P. Zingsheim, F.J. Barrantes, J. Frank, W. Haenicke & D.C. Neugebauer, *Nature* **299**, 81 (1982a).
- [33] H.P. Zingsheim, D.C. Neugebauer, J. Frank, W. Hanicke & F.J. Barrantes, *EMBO J.* **1**, 541 (1982b).
- [34] A.K. Mitra, M.P. McCarthy & R.M. Stroud, *J. Cell Biol.* **109**, 755 (1989).
- [35] C. Toyoshima & N. Unwin, *J. Cell Biol.* **111**, 2623 (1990).
- [36] R.J. Prince & S.M. Sine, en *The nicotinic acetylcholine receptor: current views and future trends*, Cap. 6, F.J. Barrantes (Editor), Landes Bioscience, Austin, Texas, 1998.
- [37] C.F. Valenzuela, P. Weign, J. Yguerabide & D.A. Johnson, *Biophys. J.* **66**, 674 (1994).
- [38] N. Unwin, *Cell* **72**, 31 (1993).
- [39] N. Unwin, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **355**, 1813 (2000).
- [40] J.P. Changeux & S.J. Edelstein, *Neuron* **21**, 959 (1998).
- [41] S.J. Opella, F.M. Marassi, J.J. Gesell, A.P. Valente, Y. Kim, M. Oblatt-Montal & M. Montal, *Nat. Struct. Biol.* **6**, 374 (1999).
- [42] V.S. Pashkov, I.V. Maslennikov, L.D. Tchikin, R.G. Efremov, V.T. Ivanov & A.S. Arseniev, *FEBS Lett.* **457**, 117 (1999).
- [43] A. Miyazawa, Y. Fujiyoshi, N. Unwin, *Nature* **423**, 949 (2003).
- [44] N. Unwin, *J. Mol. Biol.* **346**, 967 (2005).
- [45] N. Unwin, *Nature* **373**, 37 (1995).
- [46] M.P. Blanton & J.B. Cohen, *Biochemistry* **31**, 3738 (1992).
- [47] M.P. Blanton & J.B. Cohen, *Biochemistry* **33**, 2859 (1994).
- [48] M.P. Blanton, E.A. McCardy, A. Huggins & D. Parikh, *Biochemistry* **37**, 14545 (1998).
- [49] J.E. Baezinger & J. Methot, *J. Biol. Chem.* **270**, 29129 (1996).
- [50] J. Corbin, N. Methot, H.H. Wang, J.E. Baenziger & M.P. Blanton, *J. Biol. Chem.* **273**, 771 (1998).
- [51] A.A. Lugovskoy, I.V. Maslennikov, Y.N. Utkin, V.I. Tsetlin, J.B. Cohen & A.S. Arseniev, *Eur. J. Biochem.* **255**, 455 (1998).
- [52] P.T.F. Williamson, G. Zandomenighi, F.J. Barrantes, A. Watts & B.H. Meier, *Mol. Membr. Biol.* **22**, 485 (2005).
- [53] K. Brejc, W.J. van Dijk, R.V. Klaassen, M. Schuurmans, O.J. van Der, A.B. Smit & T.K. Sixma, *Nature* **411**, 269 (2001).
- [54] C.D. Dellisanti, Y. Yao, J.C. Stroud, Z.-Z. Wang & L. Chen, *Nature Neurosci.* **10**, 953 (2007).
- [55] R.J. Hilf & R. Dutzler, *Nature* **452**, 375 (2008).
- [56] E.R. Brown & P.V. Subbiah, *Lipids* **29**, 825 (1994).



- [57] D.L. Mielke & B.A. Wallace, *J. Biol. Chem.* **263**, 3177 (1988).
- [58] D. Aslanian, P. Grof, J.L. Galzi & J.P. Changeux, *Biochim. Biophys. Acta* **1148**, 291 (1993).
- [59] M.P. McCarthy & R.M. Stroud, *Biochemistry* **28**, 40 (1989).
- [60] N. Methot, C.N. Demers & J.E. Baenziger, *Biochemistry* **34**, 15142 (1995).
- [61] F.J. Barrantes, *J. Mol. Biol.* **124**, 1 (1978).
- [62] J.L. Galzi, F. Revah, F. Bouet, A. Ménez, M. Goeldner, C. Hirth & J.P. Changeux, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **88**, 5051 (1991).
- [63] B.H. White & J.B. Cohen, *Biochemistry* **27**, 8741 (1988).
- [64] J. Castresana, G. Fernández-Ballester, A.M. Fernández, J.L. Laynez, J.L.F. Arrondo, J.A. Ferragut & J.M. González-Ros, *FEBS Lett.* **314**, 171 (1992).
- [65] G. Fernández-Ballester, J. Castresana, A.M. Fernández, J.-L.R. Arrondo, J.A. Ferragut & J.M. Biochemistry **33**, 4065 (1994).
- [66] N. Methot, M.P. McCarthy & J.E. Baenziger, *Biochemistry* **33**, 7709 (1994).
- [67] J. Finer-Moore & R.M. Stroud, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **81**, 155 (1984).
- [68] N. Methot, B.D. Ritchie, M.P. Blanton & J.E. Baenziger, *J. Biol. Chem.* **276**, 23726 (2001).
- [69] B.M. Conti-Fine, M.P. Protti, M. Bellone & J.F. Howard, *Myasthenia Gravis: The immunology of an autoimmune disease*, Chapman & Hall, 1997.
- [70] N. Noda, Y. Furutani, H. Takahashi, M. Toyosato, T. Tanabe, S., Shimizu, S. Kikyotani, T. Kayano, T. Hirose, S. Inamaya & S. Numa, *Nature* **305**, 818 (1983).
- [71] R.A. Chavez & Z.W. Hall, *J. Cell Biol.* **116**, 385 (1992).
- [72] T. Tobimatsu, Y. Fujita, K., Fukuda, K. Tanaka, Y. Mori, T. Konno, M. Mishina & S. Numa, *FEBS Lett.* **222**, 56 (1987).
- [73] U. Görne-Tschelnokow, A. Strecker, C. Kaduk, D. Naumann & F. Hucho, *EMBO J.* **13**, 338 (1994).
- [74] A. Chattopadhyay & M.G. McNamee, *Biochemistry* **30**, 7159 (1991).
- [75] M.O. Ortells, G.E. Barrantes & F.J. Barrantes, en *The nicotinic acetylcholine receptor: Current views and future trends* (ed. Barrantes, F.J.), Cap. 5, F.J. Barrantes (Editor), Landes Bioscience, Austin, Texas, 1998.
- [76] E. London & G.W. Feigenson, *Biochemistry* **20**, 1939 (1981).
- [77] D. Marsh, en *Progress in Protein-lipid Interactions*, A. Watts & J.H.H.M. De Pont (Editores), Vol. 1, Elsevier Science Publ. B.V., Amsterdam, pp. 143-172, 1985.
- [78] T.M. Fong & M.G. McNamee, *Biochemistry* **26**, 3871 (1987).
- [79] T.J. Andreasen & M.G. McNamee, *Biochemistry* **19**, 4719 (1980).
- [80] I.C. Bonini, S.S. Antollini, C. Gutierrez-Merino & F.J. Barrantes, *Eur. Biophys. J.* **31**, 417 (2002).
- [81] S.B. Mantipragada, L.I. Horvath, H.R. Arias, G. Schwarzmann, K. Sandhoff, F.J. Barrantes & D. Marsh, *Biochemistry* **42**, 9167 (2003).
- [82] F.J. Barrantes, S.S. Antollini, M.P. Blanton & M. Prieto, *J. Biol. Chem.* **275**, 37333 (2000).
- [83] D. Marsh & L.I. Horváth, *Biochim Biophys Acta* **1376**, 267 (1998).
- [84] A. Chattopadhyay & E. London, *Biochemistry* **26**, 39 (1987).
- [85] L.P.Zanello, E. Aztiria, S.S. Antollini & F.J. Barrantes, *Biophys. J.* **70**, 2155 (1996).
- [86] F.J. Barrantes, S.S. Antollini, C.B. Bouzat, I. Garbus & R.H. Massol, *Kidney Int.* **57**, 1382- (2000).
- [87] M. Ortells & G.G. Lunt, *Protein Eng.* **9**, 51 (1996).
- [88] D. del Camino, M. Holmgren, Y. Liu & G. Yellen, *Nature* **403**, 321 (2000).
- [89] M.A. Grant, L.N. Gentile, Q.L. Shi, M. Pellegrini & E. Hawrot, *Biochemistry* **38**, 10730 (1999).
- [90] J. Kim & M.G. McNamee, *Biochemistry* **37**, 4680 (1998).
- [91] F.J. Barrantes, *J. Fluorescen.* **11**, 273 (2001).
- [92] R.F. De Almeida, L.M. Loura, M. Prieto, A. Watts, A. Fedorov & Barrantes, F. J., *Biophys. J.* **86**, 2261 (2004).
- [93] D.H. Butler & M.G. McNamee, *Biochim. Biophys. Acta Bio-Membr.* **1150**, 17 (1993).
- [94] C. Dietrich, L.A. Bagatolli, Z.N. Volovyk, N.L. Thompson, M. Levi, K. Jacobson & E. Gratton, *Biophys. J.* **80**, 1417 (2001).
- [95] W.L. Vaz, M. Criado, V.M.C. Madeira, G. Schoellmann & T.M. Jovin, *Biochemistry* **21**, 5608 (1982).
- [96] M. Criado, W.L. Vaz, F.J. Barrantes & T.M. Jovin, *Biochemistry* **21**, 5750 (1982).
- [97] T. Baukrowitz, U. Schulte, D. Oliver, S. Herlitze, T. Krauter, S.J. Tucker, J. P. Ruppersberg & B. Fakler, *Science* **282**, 1141 (1998).
- [98] S.L. Shyng & C.G. Nichols, *Science* **282**, 1138 (1998).
- [99] C. Bouzat & F.J. Barrantes, *Mol. Neuropharmacol.* **3**, 109 (1993a).
- [100] C. Bouzat & F.J. Barrantes, *NeuroReport* **4**, 143 (1993b).
- [101] A.W. Dalziel, E.S. Rollins & M.G. McNamee, *FEBS Lett.* **122**, 193 (1980).
- [102] J.E. Baezinger, M.L. Morris, T.E. Darsaut & S.E. Ryan, *J. Biol. Chem.* **275**, 777 (2000).
- [103] S.E. Rankin, G.H. Addona, M.A. Kloczewiak, B. Bugge & K.W. Miller, *Biophys. J.* **73**, 2446 (1997).
- [104] C.J. daCosta, A.A. Ogrel, E.A. McCurdy, M.P. Blanton & J.E. Baenziger, *J. Biol. Chem.* **277**, 201 (2002).
- [105] S. Sunshine & M.G. McNamee, *Biochim. Biophys. Acta Bio-Membr.* **1191**, 59 (1994).
- [106] F.J. Barrantes, *FASEB J.* **7**, 1460 (1993a).
- [107] F.J. Barrantes, en *New Comprehensive Biochemistry*, Vol. 25, Cap. 10, A. Watts (Editor), Elsevier, Amsterdam, 1993b.
- [108] F.J. Barrantes, Recent developments in the structure and function of the acetylcholine receptor. *Int. Rev. Neurobiol.* **24**, 259 (1983).

- [109] S. Hakomori, *Ann. Rev. Biochem.* **50**, 733 (1981).
- [110] M. Koval & R.E. Pagano, *Biochim. Biophys. Acta* **1082**, 113 (1991).
- [111] K. Hanada, M. Nishijima & Y. Akamatsu, *J. Biol. Chem.* **265**, 22137 (1990).
- [112] P.F. Devaux, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **21**, 417 (1992).
- [113] Y.A. Hannun, *Science* **274**, 1805 (1996).
- [114] J.M. González-Ros, M. Llanillo, A. Paraschos & M. Martínez-Carrion, *Biochemistry* **21**, 3467 (1982).
- [115] I.C. Bonini de Romanelli, A.M. Roccamo de Fernandez & F.J. Barrantes, *Biochem. J.* **245**, 111 (1987).
- [116] C.J. Baier & F.J. Barrantes, *J. Neurochem.* **101**, 1072 (2007).
- [117] G.A. Fernandez Nievas, F.J. Barrantes & S.S. Antollini, *J. Biol. Chem.* **283**, 21478 (2008).
- [118] R.J. Froud, J.M. East, E.K. Rooney & A.G. Lee, *Biochemistry* **25**, 7535 (1986).
- [119] A.C. Simmonds, J.M. East, O.T. Jones, E.K. Rooney, J. McWhirter & A.G. Lee, *Biochim. Biophys. Acta* **693**, 398 (1982).
- [120] M.O. Ortells, V.B. Cockcroft, G.G. Lunt, D. Marsh & F.J. Barrantes, in *Membrane Proteins: Structures, Interactions and Models*, Vol. 125, A. Pullman, J. Jortner & B. Pullman (Eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London, 1992.
- [121] G.H. Addona, H. Sandermann, Jr., M.A. Kloczewiak, S.S. Husian & K.W. Miller, *Biochim. Biophys. Acta* **1370**, 299 (1998).
- [122] W. Schiebler & F. Hucho, *Eur. J. Biochem.* **85**, 55 (1978).
- [123] D.S. Middlemas & M.A. Raftery, *Biochemistry* **26**, 1219 (1987).
- [124] A.M. Fernandez, G. Fernandez-Ballester, J.A. Ferragut & J.M. Gonzalez-Ros, *Biochim. Biophys. Acta* **1149**, 135 (1993).
- [125] J. Corbin, H.H. Wang & M.P. Blanton, *Biochim. Biophys. Acta* **1414**, 65 (1998).
- [126] M.P. Blanton, Y. Xie, L.J. Dangott & J.B. Cohen, *Mol. Pharmacol.* **55**, 269 (1999).

Manuscrito recibido el 12 de agosto de 2010.  
Aceptado el 27 de agosto de 2010.

## EVENTOS DE SEÑALIZACIÓN LIPÍDICA DURANTE INJURIAS OXIDATIVAS EN EL SISTEMA NERVIOSO

Gabriela A. Salvador\*, Melina V. Mateos#, Romina M. Uranga#,  
Guadalupe Rodríguez Díez y Norma M. Giusto

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca, Universidad Nacional del Sur, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Camino La Carrindanga Km7 B8000FWB, Bahía Blanca, Argentina.  
E-mail: salvador@criba.edu.ar

### Resumen

Diversas patologías del sistema nervioso central tienen su origen en un desbalance de los mecanismos normales de oxidación-reducción celular. En este aspecto, se le ha asignado al estrés oxidativo inducido por la acumulación de hierro un rol significativo en el desarrollo de enfermedades tales como la enfermedad de Parkinson (EP) y la enfermedad de Alzheimer (EA). La acumulación de hierro, sin el concomitante incremento en ferritina ocurre en el cerebro tanto en el proceso de envejecimiento neuronal como en los procesos neurodegenerativos. En este sentido la metaloneurobiología ha estado y se encuentra estudiando el rol de distintos metales de transición en los procesos de injuria neuronal y su relación con la aparición de los primeros signos de neurodegeneración. Las neuronas han desarrollado diversos mecanismos de protección contra el estrés oxidativo, entre ellos se encuentra la activación de diversas vías de señalización. La respuesta final dependerá de la identidad, la intensidad y la persistencia del insulto oxidativo. La caracterización de los mecanismos que median los efectos de los procesos de injuria oxidativa mediados por la acumulación de hierro en la disfunción y en la muerte neuronal son centrales para el entendimiento de los mecanismos patológicos que intervienen en diversos procesos neurodegenerativos. Actualmente existen importantes evidencias acerca de la relación entre una anormal o desregulada señalización lipídica y los eventos de injuria oxidativa en el desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas. En este artículo describiremos el rol de diferentes vías de señalización lipídica tales como la fosfatidilinositol 3-quinasa/Akt, la fosfolipasa C específica para fosfatidilcolina, la fosfolipasa D y la fosfolipasa A<sub>2</sub> en los eventos de señalización disparados por la neurotoxicidad inducida por la acumulación de hierro.

*Palabras clave:* hierro, neurodegeneración, señalización lipídica

### Abstract

**Lipid signaling events during oxidative injury in nervous system.** The importance of oxidative damage to the pathogenesis of many neurodegenerative processes has become increasingly apparent over the past few years. Furthermore, it has been suggested that iron-induced oxidative stress can play a key role in the pathogenesis of several neurodegenerative diseases. Iron progressively accumulates in the brain both during normal aging and neurodegenerative processes. However, iron accumulation occurs without the concomitant increase in tissue ferritin, which could increase the risk of oxidative stress. Moreover, high iron concentrations in the brain have been consistently observed in Alzheimer's (AD) and Parkinson's (PD) diseases. In this connection, metalloneurobiology has become extremely important in establishing the role of iron in the onset and progression of neurodegenerative diseases. Neurons have developed several protective mechanisms against oxidative stress, among them the activation of cellular signaling pathways. The final response will depend on the identity, intensity and persistence of the oxidative insult. The characterization of the mechanisms mediating the effects of iron-mediated increase in cell oxidants on neuronal dysfunction and death is central to understanding the pathology of a number of neurodegenerative disorders. Accumulating evidence points toward a potentially important link between abnormal or deregulated lipid signaling and oxidative stress in the development of neurodegenerative diseases. In this article, we will review the role of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt, phosphatidylcholine-specific phospholipase C, phospholipase D and phospholipase A<sub>2</sub> pathways in signaling events triggered by iron neurotoxicity.

*Key words:* free iron, neurodegeneration, lipid signaling

#Ambos autores contribuyeron en partes iguales a la realización de este trabajo.

## Introducción

Las reacciones de oxido-reducción participan en múltiples procesos biológicos del metabolismo celular. Estas reacciones implican la transferencia de electrones y pueden generar productos conocidos como radicales libres (RL) o especies reactivas de oxígeno (ROS). En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre los factores que promueven la oxidación y los factores protectores que regulan la formación de RL. Un desbalance entre la generación de RL y los procesos de defensa antioxidante genera estrés oxidativo. La injuria oxidativa induce en la célula efectos tóxicos por oxidación de lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos, hecho que produce la acumulación de agregados intracelulares, disfunción mitocondrial, excitotoxicidad y apoptosis.

El cerebro es un órgano particularmente sensible a la injuria oxidativa debido a la elevada tasa de consumo de oxígeno, su alto contenido de sustancias fácilmente oxidables como los ácidos grasos poliinsaturados y las catecolaminas, además de su escasa defensa antioxidante [1-3]. La peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares inicia un deterioro acumulativo de las funciones de membrana y provoca disminución en su fluidez, reducción en el potencial electroquímico y aumento de la permeabilidad de la misma. La formación de lípidos modificados por oxidación puede causar disfunción celular, y en células posmitóticas como las neuronas, la muerte [1-4]. Otro tejido particularmente susceptible al daño oxidativo es la retina debido a su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados y a su constante exposición a la luz [5,6]. A su vez, el estrés foto-oxidativo puede estar exacerbado por un desbalance en la homeostasis de los metales de transición. Diversas investigaciones sugieren que el hierro es importante en los procesos neurodegenerativos retinianos y que los niveles de este metal se encuentran aumentados en la degeneración macular relacionada con la edad [7].

El hierro, metal importante para muchos procesos celulares normales, puede actuar como generador de radicales libres en diversas patologías [1,8,9] provocando peroxidación lipídica, deterioro en los transportes de glutamato y glucosa, y disfunción mitocondrial. El efecto de este metal de transición sobre las membranas biológicas es comparable al producido por el péptido beta-amiloide ( $\beta$ A), dado que la peroxidación lipídica parece ser uno de los eventos primarios inducidos por el péptido y que estaría causalmente ligado a la disrupción de la homeostasis iónica, al aumento en la concentración intracelular de calcio, y al daño y muerte celular [10-12]. La acumulación de

hierro, sin el aumento concomitante de ferritina, es una observación constante tanto en la enfermedad de Alzheimer, como en la enfermedad de Parkinson [13].

El cobre es otro metal de transición que se comporta como inductor de estrés oxidativo y por ende también ha sido relacionado con enfermedades neurodegenerativas [14]. Investigaciones recientes han indicado que los niveles de Cu libre están incrementados en los pacientes con EA y que este metal podría estar involucrado en la patogénesis de la enfermedad. Diversos estudios demuestran que una ingesta elevada de Cu, como la que se produce a raíz de diversos suplementos dietarios, junto con una dieta alta en grasas incide en una mayor declinación de las propiedades cognitivas [15].

A su vez ha sido demostrada una estrecha correlación entre los metales de transición y la agregación de péptidos amiloidogénicos tales como el  $\beta$ A y la  $\alpha$ -sinucleína (presente en los cuerpos de Lewis de la EP) [16]. Ambos péptidos poseen la habilidad de unir metales de transición y, como consecuencia, se los postula como mediadores de las reacciones redox [17]. De hecho, el péptido  $\beta$ A (1-42) posee sitios de unión para Zn(II), Cu(II) y Fe(II) en su extremo hidrofílico N-terminal [18]. Como se mencionó anteriormente, la homeostasis del Fe y del Cu se encuentra alterada en la EA y la concentración de estos metales alcanza valores de 3 a 5 veces superiores a las fisiológicas [19]. Asimismo, existen evidencias concluyentes acerca del rol del hierro y del cobre en el proceso de agregación y formación de fibrillas tanto del  $\beta$ A como de la  $\alpha$ -sinucleína. Todos estos datos permiten establecer una estrecha correlación entre distintas entidades patológicas como la acumulación de metales de transición, la agregación proteica y el daño oxidativo en neuronas [18,20].

Las neuronas han desarrollado diversos mecanismos de neuroprotección contra el estrés oxidativo, entre los cuales se encuentra la activación de diferentes mecanismos de señalización celular. Tanto la actividad como el estado metabólico de las terminales nerviosas son capaces de regular la expresión génica en neuronas, proceso esencial para la supervivencia, la diferenciación y plasticidad neuronales [21]. La capacidad del sistema nervioso central de comunicar un estímulo transitorio desde la sinapsis al núcleo celular, para regular la expresión génica, requiere la relocalización de factores de transcripción, los cuales después de su activación pueden migrar desde el citoplasma axonal al núcleo o viceversa [22]. Particularmente en las enfermedades neurodegenerativas como la EA se ve afectada la actividad sináptica. Está reportado que las pri-

meras manifestaciones de la EA ocurren a nivel de las sinapsis, y tanto el estudio de las mismas como la exposición de las terminales a insultos oxidativos constituyen un modelo adecuado para el estudio de los mecanismos moleculares de esta patología [21,23,24].

Ante la injuria oxidativa, la decisión celular entre vivir o morir queda sujeta a la estricta regulación e integración de múltiples vías de señalización. En líneas generales, la activación de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) se correlaciona con la supervivencia celular. Las PI3Ks han sido clasificadas en tres grandes subfamilias de acuerdo a su estructura y a su especificidad de sustrato. La clase IA es un heterodímero formado por una subunidad reguladora p85 (p85 $\alpha$ , p85 $\beta$  y p55 $\gamma$ ) y una subunidad catalítica p110 (p110 $\alpha$ , p110 $\beta$  y p110 $\delta$ ). La clase I de las PI3Ks tiene como efector principal a la serina/treonina quinasa Akt (PKB). Una vez activa, Akt incrementa la síntesis de glucógeno y el metabolismo celular a través de la inactivación de los factores de transcripción de la familia FOXO y de la glucógeno sintetasa quinasa 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) [25-30]. Asimismo, la vía PI3K/Akt promueve la supervivencia celular mediante la fosforilación e inhibición de diferentes proteínas inductoras de muerte tales como: GSK3 $\beta$ , la proteína de muerte asociada a Bcl-2/BclxL (BAD), la caspasa 9, y los factores de transcripción de la familia FOXO [31-34]. Recientemente, ha sido reportado que Akt también fosforila e inactiva a diferentes miembros de la familia de las JNK [35]. Por otro lado, la fosfatasa PTEN (fosfatasa y homólogo de la tensina) juega un rol clave en los procesos de supervivencia y apoptosis mediante la inhibición de fosfoproteínas activadas por la vía PI3K/Akt. PTEN es entonces el mayor regulador negativo de la vía PI3K/Akt, ya que cataliza la degradación de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP<sub>3</sub>) a fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP<sub>2</sub>). Diversos estudios sugieren que la inhibición de PTEN tendría roles neuroprotectivos en desórdenes de tipo neurodegenerativo [36-38].

La familia de las quinasas ERK, se encuentra activada en un amplio rango de procesos celulares. En neuronas específicamente, ERK puede funcionar promoviendo tanto la supervivencia como la muerte celular. Por otro lado, existen evidencias de que la PI3K actúa como activador de ERK en procesos de injuria oxidativa. Diversos factores de transcripción han sido identificados como sustratos de Akt activada, los cuales podrían mediar la expresión de enzimas antioxidantes. Como se mencionó anteriormente, Akt fosforila diversos factores de transcripción de la familia FOXO y también participa en la activación del factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) [36]. En este as-

pecto, ha sido demostrado que la activación de la vía PI3K/Akt aumenta la expresión de la enzima superóxido dismutasa a través de la activación de NF- $\kappa$ B [39]. A pesar de los datos existentes, aún quedan numerosos interrogantes acerca del rol de la vía PI3K/Akt en los procesos de injuria oxidativa neuronal.

Otra importante vía de señalización lipídica es la generación de mediadores a partir de la fosfatidilcolina (PC). Este fosfolípido es el más abundante de las membranas celulares, tanto en eucariotas así como también en algunas células procariontas, constituyendo entre el 40 y el 50% de los fosfolípidos (PL) totales. La PC se considera una fuente de mediadores lipídicos ya que a partir de su hidrólisis se generan mensajeros intracelulares tales como el diacilglicerol (DAG), el ácido fosfatídico (PA), el ácido araquidónico (AA) y la lisofosfatidilcolina (LPC) [40-42]. La generación de estos segundos mensajeros se debe a la acción de fosfolipasas, enzimas cuya activación puede ser disparada por diversos estímulos como factores de crecimiento, citoquinas, neurotransmisores, hormonas y otras señales extracelulares [43-45].

Al ser hidrolizada por una fosfolipasa D (PLD), la PC genera PA mientras que la acción subsiguiente de una fosfatasa de PA genera DAG. Por otro lado una fosfolipasa C específica para PC (PC-PLC) puede hidrolizar directamente la PC a DAG y fosfocolina [40-42]. Estudios más recientes concluyeron que la actividad enzimática correspondiente a la hidrolasa de PA es ejercida por una familia de isoenzimas con especificidad por varios lípidos fosfatos como el PA, el LPA, la esfingosina-1-fosfato y la ceramida-1-fosfato entre otros. Estas enzimas son ahora conocidas como lípido fosfato fosfatasa (LPPs), proteínas integrales de membrana de las cuales se han descrito 3 isoformas en mamíferos: LPP1 (PAP2a), LPP2 (PAP2c) y LPP3 (PAP2b) con una mayor eficiencia catalítica para LPA, PA y esfingosina-1-fosfato respectivamente [46-49].

Se ha especulado que la activación de estas vías generadoras de DAG a partir de la PC, que no conducen a un aumento del Ca<sup>2+</sup> intracelular, participarían en la activación de isoformas de proteínas quinasas C (PKCs) independientes de Ca<sup>2+</sup> [50]. Si bien las PKCs fueron las primeras proteínas en las cuales se describió la capacidad reguladora del DAG, desde este descubrimiento hasta la fecha se han descrito otras cinco familias de proteínas capaces de ser moduladas por el DAG: las proteínas quinasas D (PKD), las quimerinas, las proteínas liberadoras de nucleótidos de guanina de Ras (RasGRPs), las Munc13s y las DAG quinasas (DAGKs). Todas



estas proteínas se caracterizan por la presencia en su secuencia de al menos un dominio conservado 1 (C1), con diferentes especificidades y afinidades por el DAG [51].

El DAG además juega importantes roles en la estructura y en la dinámica de las membranas biológicas. Cuando este lípido bioactivo se concentra en pequeñas regiones de la membrana, su curvatura negativa y su falta de carga inducen regiones inestables y asimétricas en la bicapa lipídica participando en los procesos de fusión y fisión de membranas [47].

En mamíferos se han reportado dos genes (ambos con variantes de "splicing") que codifican para dos isoformas de la PLD: PLD1 y PLD2 [52-54]. El sitio activo de estas enzimas está compuesto por dos dominios catalíticos HKD, los cuales se encuentran particularmente bien conservados tanto en las PLDs de eucariotas como en las bacterianas. Además, estas proteínas poseen un dominio PH (implicado en la unión a fosfatidilinositol bi y trifosfato) y un dominio PX (de homología a phox). Ambas isoformas presentan un requerimiento prácticamente absoluto de  $PIP_2$  [55].

Aunque existe una homología considerable entre los genes, los subtipos PLD1 y 2 presentan diferencias significativas en cuanto a su distribución subcelular y regulación. La PLD1 es una proteína de 120 kDa, localizada en la región perinuclear y en el Golgi, que prácticamente no posee actividad basal y que es regulada por la  $PKC\alpha$  y por proteínas G pequeñas tales como ARF y Rho. En cambio, la PLD2 tiene un peso molecular de 100 kDa, se localiza principalmente en la membrana plasmática y presenta una alta actividad basal en comparación con la isoforma PLD1 [44, 50, 55, 56]. Las isoformas de la PLD están presentes tanto en las neuronas (independientemente de su neurotransmisor) como en los astrocitos y en los oligodendrocitos. En ratas adultas, la PLD1 se expresa en áreas del cerebro ricas en neuronas colinérgicas y en células gliales como los oligodendrocitos, mientras que la PLD2 se expresa altamente en los astrocitos [50].

Un rol fundamental de la PLD en el sistema nervioso central es su participación en los procesos de exo y endocitosis, dado que el PA promueve la distorsión de la bicapa lipídica estimulando la fusión de membranas [57, 58]. Además, las interacciones ARF-PLD1 controlan pasos específicos en el tráfico vesicular y en la fusión de membranas [56, 59]. Algunos estudios también han postulado a la PLD como un regulador de los niveles de colina y de la síntesis de acetilcolina en las neuronas colinérgicas [50,60]. Tanto la sobreexpresión de la PLD1 como de la PLD2 aumentó

la síntesis de acetilcolina en células colinérgicas murinas SN56 [61]. El PA producido por ambas isoformas de la PLD es reconocido como un lípido de señalización y participa como efector de múltiples procesos celulares tales como proliferación, diferenciación y respuesta inmune [44, 55, 62]. Diversos estudios han demostrado que la PLD puede ser activada por estrés oxidativo inducido por peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en células endoteliales, en astrocitos y en músculo liso. Entre los mecanismos de activación de la vía de la PLD por injuria oxidativa se encuentran varios factores tales como ciertas tirosina-quinatas, PKC y MAPK. A su vez, se ha relacionado la activación de la PLD inducida por  $H_2O_2$  como una condición indispensable para la activación de la PI3K.

La vía de generación de DAG menos explorada hasta el momento es la vía de la PC-PLC. Si bien el rol y la estructura de esta enzima han sido bien estudiados en células procariontes en mamíferos la PC-PLC no ha sido aún clonada, aunque sí se ha demostrado la generación de DAG y fosfocolina a partir de PC en diversos tejidos de rata, en sinaptosomas de cerebro de ratón y en el plasma seminal de toro [63-67].

Sin duda, el rol de la PC-PLC en mamíferos ha sido mayoritariamente estudiado en células del sistema inmune, tales como células B provenientes de linfomas murinos en donde se demostró que la actividad de la PC-PLC es necesaria para la activación de STAT6 luego de la estimulación con la interleuquina 4 (IL-4) [68]. En monocitos la activación del receptor de IL-4 origina un aumento en los niveles de DAG y de fosfocolina, producto de la actividad de la PC-PLC [69]. También en células "natural killers" (NK) se demostró la colocalización de la PC-PLC con los gránulos de perforinas y su rol fundamental en la citotoxicidad mediada por estas células [70-72]. Nuevos roles de la PC-PLC han sido descritos recientemente en macrófagos, como la participación de esta enzima en la secreción de la citoquina CCL2 y la regulación de la producción del factor de necrosis tumoral alfa ( $TNF\alpha$ ) y de la IL-1 $\beta$  en la respuesta inflamatoria inducida por la sílica en macrófagos alveolares [73, 74]. A pesar de estos antecedentes reportados en las células del sistema inmune, muy pocos son los estudios que se han realizado para dilucidar el rol de la PC-PLC en el sistema nervioso.

De lo expuesto anteriormente se deduce que la caracterización de los eventos de señalización celular que involucran mediadores lipídicos es un campo prácticamente inexplorado, el cual podría contribuir al menos en parte, al esclarecimiento de las bases moleculares de la neurodegeneración.

### Modelo de estrés oxidativo inducido por $\text{Fe}^{2+}$ en terminales sinápticas de ratas adultas y seniles

Dado que la pérdida de las terminales sinápticas parece ser un evento temprano en el daño celular que ocurre en la EA y que constituye el parámetro mejor relacionado con el grado de avance de la enfermedad, el uso de sinaptosomas es ampliamente aceptado para el estudio de las bases moleculares que actúan en los procesos neurodegenerativos. En este estudio se estableció un modelo *in vitro* de estrés oxidativo inducido sobre terminales sinápticas obtenidas a partir de corteza cerebral de ratas de la cepa Wistar adultas (4 meses) y seniles (28 meses). En el establecimiento de este modelo se incubaron las terminales sinápticas purificadas con distintas concentraciones de  $\text{Fe}^{2+}$  (sulfato ferroso) y de  $\text{Cu}^{2+}$  (sulfato de cobre). Los ensayos de inducción de daño oxidativo se llevaron a cabo en función del tiempo (5-60 min) y para evaluar el grado de injuria sináptica se determinaron diversos parámetros tales como la capacidad reductora de la mitocondria, la integridad de la membrana plasmática, la funcionalidad del transportador de glutamato y el grado de peroxidación lipídica.

El transporte de glutamato ha sido reportado como uno de los parámetros comprometidos, junto con la función mitocondrial, en los desórdenes neurodegenerativos que involucran estrés oxidativo. La incorporación de [ $^3\text{H}$ ]-glutamato en sinaptosomas (Syn) expuestos a  $\text{Fe}^{2+}$  50  $\mu\text{M}$  ha demostrado no presentar alteraciones a cortos tiempos de exposición. Sin embargo, los tiempos crecientes de exposición al metal resultaron en una disminución dependiente del tiempo en la incorporación de este aminoácido. Contrariamente, la actividad mitocondrial y la integridad de la membrana plasmática mostraron ser los parámetros mas tempranamente afectados. Los estudios de viabilidad sinaptosomal han demostrado que el  $\text{Fe}^{2+}$  en diferentes concentraciones (10, 50, y 200  $\mu\text{M}$ ) es capaz de disminuir la capacidad reductora normal de las mitocondrias sinápticas significativamente en todos los tiempos de incubación ensayados (5, 30 y 60 minutos). Esto demuestra que aun los tiempos cortos de exposición (5 minutos) son suficientes para la aparición de los primeros signos de injuria oxidativa. De manera similar, los estudios de liberación de lactato deshidrogenasa (LDH) demostraron que, efectivamente, la integridad de la membrana sinaptosomal también se ve significativamente deteriorada luego de 5 minutos de exposición al  $\text{Fe}^{2+}$ , y que dicho deterioro es dependiente tanto de la concentración del metal como del tiempo de exposición al mismo [75].

El 4-hidroxinonenal (HNE) es considerado el más abundante y tóxico producto de la peroxidación lipídica [76] y ha demostrado ser el responsable del deterioro del transporte de glutamato y de la funcionalidad mitocondrial por su capacidad de unirse covalentemente a las proteínas y modificar su función. Por otra parte, se estima que sería un mediador importante de la disfunción y la degeneración sinaptosomales inducidas por insultos oxidativos. En efecto, se ha comprobado la generación de HNE como consecuencia de la incubación de los sinaptosomas con  $\text{Fe}^{2+}$ , resultado consistente con los reportes de Keller *et al.* [10,11]. Una incubación breve (5 minutos) en presencia  $\text{Fe}^{2+}$  ha demostrado ser suficiente para aumentar la generación de HNE en la terminal sináptica aislada [77].

Debido al conocido enriquecimiento en hierro y cobre que presentan las placas amilodeas encontradas en la enfermedad de Alzheimer [19], también estudiamos el efecto del  $\text{Cu}^{2+}$  sobre las terminales sinápticas de rata purificadas. En este caso, la concentración utilizada se eligió de acuerdo a lo reportado por la literatura como concentraciones halladas en el espacio sináptico durante el proceso de transmisión (10-15  $\mu\text{M}$ ) [78]. En este caso, se ha observado que el  $\text{Cu}^{2+}$  produce un daño mitocondrial leve pero significativo luego de una breve incubación, el cual aumenta ligeramente tras 30 minutos, pero no induce un daño superior a mayor tiempo de exposición.

### Actividad y regulación de la vía PI3K/Akt en terminales sinápticas expuestos a injuria oxidativa por metales de transición

Los efectos del estrés oxidativo sobre la vía de señalización PI3K/Akt fueron abordados a través de diferentes estrategias experimentales: a) estudios de marcación de los fosfoinosítidos endógenos (presentes en las membranas sinaptosomales) empleando [ $\gamma$   $^{32}\text{P}$ ]ATP y un conocido inhibidor de la PI3K, LY294002; b) estudio de la actividad de la PI3K en inmunoprecipitados de sinaptosomas expuestos al metal; c) estudio de la fosforilación de Akt mediante la técnica de Western blot en sinaptosomas incubados con el metal. A partir de cualquiera de las tres aproximaciones experimentales se ha observado que la vía PI3K/Akt es activada solo luego de breves exposiciones al metal en cuestión, es decir, en condiciones de injuria oxidativa leve. Adicionalmente, se estudió el estado de fosforilación (y consiguiente inactivación) de la enzima GSK3 $\beta$ , importante efectora de la vía que se encuentra corriente abajo de Akt. También en este caso se ha comprobado que la fosforilación de la enzima GSK3 $\beta$  aumenta notablemente tras 5 minutos de exposición al  $\text{Fe}^{2+}$



(coincidiendo temporalmente con la activación de las enzimas PI3K y Akt) aunque también se ha advertido un aumento menor a los 30 minutos en presencia del metal.

De acuerdo a investigaciones realizadas por Luo *et al.* [79], el  $\beta$ A activa a la PI3K, tanto en neuronas corticales como en células PC12, por un mecanismo mediado por quinasas de tirosinas. Dado que han sido descritas las similitudes en los mecanismos generadores de daño por parte del  $\beta$ A y del  $\text{Fe}^{2+}$  (ambos generan HNE por peroxidación lipídica, el cual sería responsable de los efectos deletéreos), se procedió a indagar los efectos del  $\text{Fe}^{2+}$  50  $\mu\text{M}$  sobre los niveles de fosforilación en tirosinas de las proteínas presentes en la terminal sináptica. En concordancia con esos resultados, se ha observado que la exposición de los sinaptosomas al metal provoca un marcado incremento en la fosforilación de los residuos tirosinas de varias proteínas sinaptosomales. Además, los ensayos enzimáticos han demostrado que la fosforilación en tirosinas es un proceso íntimamente involucrado en la activación de la PI3K por  $\text{Fe}^{2+}$ . Diversos estudios han demostrado la participación de la quinasa Src en el proceso de activación de Akt por fosforilación de sus residuos Tyr315 y Tyr326; se considera que ambas fosforilaciones preceden a las descritas para los residuos Ser473 y Thr308 [80]. Se atribuye a la quinasa Src la capacidad de fosforilar ambos residuos tirosinas [80]. El mecanismo propuesto indica que Akt translocaría a la membrana plasmática como consecuencia de la activación de la PI3K, y allí quedaría disponible para la fosforilación por parte de Src en primera instancia, y por PDK1 y PDK2, luego. En nuestro sistema experimental se ha demostrado la asociación (por coimmunoprecipitación) entre Akt y Src, y no se han hallado diferencias en los niveles de asociación de ambas quinasas entre los sinaptosomas sometidos al insulto oxidativo y los controles. Sin embargo, se ha comprobado que la fracción de Akt fosforilada en Ser473 asociada a Src es notablemente mayor en la condición expuesta al estrés oxidativo. Este hallazgo podría denotar que frente a la injuria oxidativa el mecanismo de transducción de la señal corriente abajo de la PI3K involucra a la quinasa Src, la cual podría asociarse a Akt y catalizar la fosforilación en tirosinas de la misma en forma previa a la fosforilación en Ser473, o coincidentemente con ella.

Las especies reactivas de oxígeno son consideradas un factor clave en el proceso de envejecimiento del sistema nervioso. En relación al cerebro y el envejecimiento, han sido reportados varios cambios que contribuirían al deterioro de las funciones sinápticas, por ejemplo: cambios en

la fluidez de la membrana plasmática neuronal, en la homeostasis del calcio y en la señalización intracelular [81,82]. Varios estudios han sugerido que el deterioro en el funcionamiento mitocondrial como consecuencia del estrés oxidativo es el principal contribuyente a las alteraciones cerebrales asociadas con la edad [83,84]. En este sentido, las mitocondrias cerebrales de individuos seniles son particularmente vulnerables a la peroxidación lipídica, debido al alto consumo de oxígeno que presentan, asociado a su elevado contenido de ácidos grasos poliinsaturados; a esto se suma una deficiente defensa antioxidante y un alto contenido de metales de transición cerebrales. Por todo esto, se ha investigado el efecto del estrés oxidativo inducido por  $\text{Fe}^{2+}$  en terminales sinápticas de corteza cerebral de ratas seniles y se ha comparado con el observado en los sinaptosomas de animales adultos. En este caso, se ha encontrado que tanto la capacidad reductora normal de las mitocondrias como la integridad de la membrana sinaptosomal se ven deterioradas (al igual que lo hallado en los adultos) significativamente luego de incubar los sinaptosomas en presencia de  $\text{Fe}^{2+}$  durante los tres tiempos estudiados. Por lo tanto, también para las terminales sinápticas seniles los tiempos cortos de exposición (5 minutos) son suficientes para la aparición de los primeros signos de injuria oxidativa. Lo interesante de estos resultados es que frente a las exposiciones intermedia y prolongada, las terminales sinápticas seniles han demostrado ser mucho más vulnerables a los efectos del  $\text{Fe}^{2+}$  que las adultas, tanto en términos de viabilidad mitocondrial como en lo atinente a la integridad de la membrana plasmática sinaptosomal. Este hecho podría explicar parcialmente el signo patognomónico de varios desórdenes neurodegenerativos asociados al envejecimiento que cursan con estrés oxidativo: la pérdida masiva de las terminales sinápticas.

De manera similar a lo observado en animales adultos, la fosforilación de Akt en Ser473 se ve aumentada luego de 5 minutos de exposición al insulto oxidativo, pero a diferencia de los resultados obtenidos en animales adultos, esta activación persiste hasta los 30 minutos. Del mismo modo, la inactivación de GSK3 $\beta$  no solamente coincide temporalmente con la estimulación de la PI3K sino que además es dependiente de la misma [77].

Al investigar la participación de la quinasa Src en el proceso de fosforilación de Akt, se ha encontrado que el mecanismo de activación de esta difiere del hallado en los adultos: Akt no aumenta su asociación a la quinasa Src para lograr su activación en condiciones de estrés oxidativo, sino que tanto los niveles de Akt como aquellos de p Akt asociados a Src son equivalentes en ambas

condiciones: sinaptosomas controles y sinaptosomas expuestos al metal. Estas observaciones sugieren que el proceso de activación de Akt en respuesta al insulto oxidativo en las terminales sinápticas de animales seniles podría ser diferente (a nivel del mecanismo operante) al que ocurre en las terminales sinápticas de animales adultos.

La activación de Akt frente al  $\text{Cu}^{2+}$  ha sido observada a tiempos de exposición más prolongados que la observada frente al  $\text{Fe}^{2+}$ . De estos datos puede concluirse que pequeñas variaciones en la exposición de las terminales sinápticas a diferentes metales de transición (tal es el caso de las enfermedades neurodegenerativas que cursan con una desregulación de la homeostasis de este tipo de metales) pueden conducir a la activación de distintas vías de señalización responsables de llevar adelante las funciones necesarias para contrarrestar los efectos sufridos.

#### **Generación de lípidos bioactivos a partir de la fosfatidilcolina en terminales sinápticas expuestos a injuria oxidativa por metales de transición**

Resultados de nuestro laboratorio demostraron por primera vez la presencia de la PC-PLC en las terminales sinápticas de la corteza cerebral de la rata. Mediante la utilización de etanol como marcador de la actividad de la PLD se demostró que en los sinaptosomas tanto la vía PLD/LPP como la PC-PLC contribuyen a la generación de DAG a partir de la PC [85]. En presencia de alcoholes primarios la PLD cataliza una reacción de transfosfatidilación formando, en nuestro caso, fosfatidiletanol (PEth). La propiedad de catalizar esta reacción de transfosfatidilación, única de la PLD, hace del etanol (y de otros alcoholes primarios) una herramienta sumamente confiable y específica para discriminar el origen del DAG producto de la hidrólisis de la PC. Dado que el PEth no puede ser hidrolizado por las LPPs, la utilización etanol permite evaluar la generación de DAG proveniente de la vía PC-PLC [85-90].

En las terminales sinápticas de la corteza cerebral de la rata se estudió también el efecto del D609. Esta sal de xantato que posee propiedades antivirales y antitumorales, ha sido aceptado y utilizado como inhibidor de la PC-PLC en diversos sistemas tales como células de astrocitoma, macrófagos y "Natural Killers" entre otros [70, 74, 91, 92]. En nuestro modelo experimental el D609 inhibió la generación de DAG en la misma magnitud que la observada en presencia de etanol, corroborando el aporte de la vía PC-PLC [85].

Aunque la estructura de la PC-PLC en células eucariotas no se conoce todavía, Clark y colaboradores demostraron que los anticuerpos

dirigidos contra la enzima de *Bacillus cereus* también reaccionaba específicamente con una proteína con actividad PC-PLC presente en monocitos humanos [93]. Utilizando un suero policlonal anti-PC-PLC dirigido contra la enzima de *Bacillus cereus* pudimos observar en los sinaptosomas la presencia de dos bandas muy próximas de un peso molecular cercano a 66 kDa, tanto en las terminales sinápticas de ratas adultas como de ratas seniles [85,88]. Resultados similares fueron obtenidos en fibroblastos NIH 3T3 y en subpoblaciones de linfocitos B periféricos. En estas células se observó una banda de 66 kDa utilizando también un Ac policlonal anti-PC-PLC de *B. cereus* [72, 94, 95].

Por otra parte, la actividad PC-PLC se localizó en la fracción de la membrana plasmática sinaptosomal, siendo prácticamente indetectable en la fracción soluble [85]. Recientemente demostramos una localización diferencial de las isoformas de la PLD y de la PC-PLC en dominios de la membrana sinaptosomal resistentes a detergentes, DRMs [88]. Estos dominios DRMs presentaron características de "rafts" de membrana o balsas lipídicas, tales como el enriquecimiento en esfingomiélin y colesterol y en proteínas marcadoras de "rafts" como caveolina, c-Src y flotilina. Además, las DRMs presentaron especies moleculares de fosfolípidos con una marcada disminución en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados, con respecto a la composición de los sinaptosomas enteros [88].

Los microdominios tipo "rafts" y las caveolas son capaces de compartimentalizar diversos procesos celulares, tales como la adhesión celular, el tráfico intracelular y los eventos de transducción de señales, ya que facilitan la formación de complejos proteicos y la activación de vías de señalización específicas [96-98]. En nuestro modelo experimental observamos una distribución diferencial de las enzimas capaces de hidrolizar la PC: mientras que las DRMs (provenientes tanto de sinaptosomas de animales adultos como seniles) se encontraron enriquecidas en PC-PLC y en la isoforma PLD1, la PLD2 fue excluida de estos microdominios. Sin embargo, la generación de DAG a partir de la PC en las DRMs provino exclusivamente de la vía PC-PLC, sin evidenciarse la reacción de transfosfatidilación de la PLD, a pesar de encontrarse estos dominios enriquecidos en la isoforma PLD1 [88]. Esto sugiere que la localización de la PLD1 en las DRMs podría constituir un mecanismo de regulación de la actividad de esta isoforma.

Resultados nuestros demostraron por primera vez que el daño oxidativo inducido por  $\text{FeSO}_4$  estimula fuertemente la generación de

DAG a partir de la PC, tanto en las terminales sinápticas de la corteza cerebral de ratas adultas como en los sinaptosomas de ratas seniles. Mediante la utilización del etanol y la medición de PEth, demostramos que tanto la vía de la PC-PLC como la vía de la PLD/LPP participan en la generación del DAG inducida bajo condiciones de estrés oxidativo [87]. Ambas vías generadoras de DAG a partir de la PC fueron estimuladas por el  $Fe^{2+}$  luego de tiempos cortos de incubación y permanecieron activadas al menos por 60 min, cuando el efecto dañino del hierro se evidenciaba ya a nivel mitocondrial y por la pérdida de la integridad de la membrana.

Con anterioridad a nuestros hallazgos prácticamente no existían reportes acerca de la activación de la PC-PLC en condiciones de injuria oxidativa en el sistema nervioso central y son muy escasos los antecedentes publicados en otros sistemas. En la línea celular de hipocampo de ratón (HT22) se reportó la participación de la actividad PC-PLC en la muerte celular inducida por glutamato. En esta forma de muerte celular conocida como "toxicidad oxidativa del glutamato" las concentraciones elevadas de glutamato interfieren con la captación de cisteína a través del antiportador de cisteína/glutamato lo que lleva a la depleción intracelular de glutatión [99].

Zhao y colaboradores relacionaron la formación de DAG por la vía de la PC-PLC y la generación de especies reactivas de oxígeno en la diferenciación de células del blastodisco de pollo a células endoteliales vasculares [100]. En macrófagos alveolares se demostró que la sílica induce la producción de  $H_2O_2$  con la subsiguiente activación de la PC-PLC [74]. Por otra parte, se ha reportado que el inhibidor de la enzima y antioxidante, D609, es capaz de proteger a las neuronas en cultivo y a los sinaptosomas del daño oxidativo producido por el  $A\beta$  [101, 102].

A diferencia de la PC-PLC, la activación de la PLD ha sido ampliamente estudiada en situaciones de estrés oxidativo y se encontró una actividad aumentada de esta enzima en los cerebros *post mortem* de pacientes con la enfermedad de Alzheimer [103]. En células de neuroblastoma humano se reportó que el péptido  $A\beta$  (25-35) induce la activación de la PLD, esta activación fue independiente del  $Ca^{2+}$  pero dependiente de la fosforilación en tirosinas y de la actividad de la PKC [104]. También en neuronas de hipocampo de rata el péptido  $A\beta$  (1-40) indujo la activación de la PLD, la cual fue acompañada de un aumento en la liberación de LDH [105] mientras que en células PC12 la actividad de la PLD se estimuló por el tratamiento con  $H_2O_2$  [106, 107]. Sin embargo, no se conoce aun con certeza si la activación de la

PLD es parte de la cascada patológica del Alzheimer o si constituye una vía de rescate celular.

Asimismo, se demostró que el  $H_2O_2$  estimula a la PLD en astrocitos de cerebro de rata [108] y se observó un aumento de esta enzima en los astrocitos tras el daño de la espina dorsal de rata producido por compresión [109]. Luego de la isquemia cerebral también se reportó un aumento masivo en la expresión de la PLD1 en astrocitos reactivos de hipocampo, este aumento en la actividad de la PLD aparentemente acompaña la astrogliosis y la remodelación del tejido luego de la injuria lo que sugiere un posible rol neuroprotectivo de la enzima [50,110].

La participación de la PLD en situaciones de injuria oxidativa también se describió en cardiomiocitos [111, 112], así como también en células de músculo liso vascular y en células endoteliales de aorta [109, 113]. Sin embargo, nuestros resultados constituyen la primera evidencia de la activación de la PLD en respuesta al estrés oxidativo en la terminal sináptica de la corteza cerebral de rata [87].

Por otra parte, la activación de las fosfolipasas A2 ( $PLA_2$ ) por el estrés oxidativo también es considerada una de las principales causas subyacentes en patologías como la enfermedad de Alzheimer, la isquemia cerebral y la esclerosis múltiple [114-117]. Estas enzimas clivan el ácido graso esterificado en la posición sn-2 de los glicerofosfolípidos para generar ácidos grasos libres y lisofosfolípidos. Esta reacción es de particular importancia cuando el ácido graso liberado es el araquidónico, dado que éste puede ser metabolizado por las ciclooxigenasas y las lipooxigenasas generando eicosanoides bioactivos como las prostaglandinas, los leucotrienos y los tromboxanos.

La peroxidación lipídica en membranas y lipoproteínas es un fenómeno común que se presenta luego de un evento de estrés oxidativo. La peroxidación de lípidos bajo condiciones normales ocurre y se halla controlada por diversas maquinarias que posee la célula, pero puede verse incrementada cuando la producción de radicales libres y otros prooxidantes supera la capacidad antioxidante que posee la célula. Cualquier modificación oxidativa de los PL, ya sea enzimática o no, es deletérea para la célula. El mejor modo de subsanar este hecho es clivar el PL peroxidado y reemplazarlo por uno nuevo. Los PL de membrana poseen AG poliinsaturados fundamentalmente en la posición sn-2, y estos son los más susceptibles de sufrir lipoxidación o peroxidación lipídica, por lo que la  $PLA_2$  es la enzima mejor diseñada para reparar el error.

Apoyando esta hipótesis está el ejemplo de la glutatión peroxidasa, la cual puede detoxi-

ficar efectivamente de los AG peroxidados, pero solo luego de que los mismos han sido liberados por la PLA<sub>2</sub> [118]. La iPLA<sub>2</sub> se cree que protege a la membrana del retículo endoplásmico (RE) de la peroxidación lipídica inducida por estrés oxidativo [118]. A su vez, la RE-iPLA<sub>2</sub> es inactivada por los agentes oxidantes mediante un mecanismo que involucra la oxidación en grupos sulfhidrilo, dando origen a un círculo vicioso que aumenta cada vez más el nivel de daño [119].

Cerca de veinte isoformas de la PLA<sub>2</sub> han sido identificadas en varios tejidos de mamíferos [120]. Estas enzimas, ubicuas en neuronas y en células gliales, han sido clasificadas en tres familias según su requerimiento de Ca<sup>2+</sup>: las independientes de Ca<sup>2+</sup> (iPLA<sub>2</sub>) y entre las PLA<sub>2</sub> dependientes de Ca<sup>2+</sup> se encuentran las citosólicas (cPLA<sub>2</sub>) y las extracelulares o secretadas (sPLA<sub>2</sub>) [115]. Las cPLA<sub>2</sub> requieren Ca<sup>2+</sup> para su translocación a la membrana y poseen preferencia por fosfolípidos que contiene AA mientras que las iPLA<sub>2</sub> no presentan especificidad por ninguna especie molecular de los diferentes fosfolípidos [121].

Se demostró que las PLA<sub>2</sub> citosólicas pueden ser activadas por compuestos oxidantes como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> o la menadiona [122,123]. También se reportó la activación de la PLA<sub>2</sub> en células piramidales de hipocampo sometidas a situaciones de privación de glucosa y de oxígeno. Mediante la utilización de inhibidores para las diferentes PLA<sub>2</sub>, se demostró que la isoforma responsable de este aumento de actividad en las células de hipocampo era una cPLA<sub>2</sub> [124]. En modelos de isquemia cerebral global se reportó que tanto la actividad como la expresión de las cPLA<sub>2</sub> aumentan significativamente luego de 20 min, así como también aumenta su actividad en neuronas corticales expuestas al fragmento 1-42 del péptido A $\alpha$  [125,126].

Sin embargo, en nuestro modelo experimental la liberación de ácidos grasos libres se vio significativamente inhibida en los sinaptosomas expuestos al Fe<sup>2+</sup> [87]. Nuestro resultado difiere del reportado en otros sistemas y esto podría deberse a la inhibición de una fosfolipasa A independiente de calcio en las condiciones de estrés oxidativo. Otro factor determinante podría ser la naturaleza saturada del sustrato utilizado para los ensayos enzimáticos, la dipalmitoil PC (DPPC). Este tipo de sustrato solo nos permite evaluar la actividad de las isoformas de PLA con afinidad por fosfolípidos de composición saturada.

Entre los eventos de aparición temprana en los procesos que involucran estrés oxidativo se encuentra la fosforilación en tirosinas de diversas proteínas. Sin embargo, la generación de DAG a

partir de la PC en nuestro modelo experimental no fue modificada por la coincubación con inhibidores de tirosinas quinasas (genisteína y herbimicina A) ni por el inhibidor de la enzima PI3K (LY294002). Estos resultados indican que la activación de las vías de la PC-PLC y de la PLD en nuestras condiciones experimentales se produce por un mecanismo diferente e independiente, tanto de la activación de tirosinas quinasas como de la enzima PI3K y su efector corriente abajo, Akt [87].

Las diferencias en los mecanismos que llevan a la activación de la PLD en condiciones de estrés oxidativo (como la dependencia o no de la fosforilación en tirosinas así como también el requerimiento o no de calcio), demuestran que las vías de señalización involucradas en la activación de esta fosfolipasa pueden variar dependiendo del tipo celular y del inductor de la injuria oxidativa en estudio.

Cuando evaluamos la hidrólisis de la PC en los sinaptosomas de animales seniles sometidos a injuria oxidativa se obtuvieron los mismos resultados que los observados en individuos adultos, la formación de DAG se vio estimulada por el Fe<sup>2+</sup> en la misma proporción que en los sinaptosomas de las ratas adultas y la generación de AGL se inhibió también a los mismos niveles observados en animales adultos. Sin embargo, la inhibición de la PIP<sub>2</sub>-PLC en individuos adultos disminuyó significativamente la formación de DAG luego de 5 y de 60 min de incubación con el Fe<sup>2+</sup>, mientras que en individuos seniles el tratamiento con el U73122 solo disminuyó los niveles de DAG luego de 5 min de incubación con el hierro. Estos resultados indican que, si bien el efecto final de la injuria oxidativa en la hidrólisis de la PC es equivalente en los sinaptosomas de las ratas adultas y seniles, existen diferencias en la regulación de estas vías enzimáticas generadoras de DAG a partir de la PC por parte de la vía de la PIP<sub>2</sub>-PLC [87].

Experimentos recientemente realizados indicaron que en los sinaptosomas sometidos a estrés oxidativo inducido por el Fe<sup>2+</sup> la fracción DRM es altamente resistente a la peroxidación lipídica, evaluada como la generación de malondialdehído (MDA) (Datos nuestros aún no publicados). Esto es consistente con la composición en ácidos grasos más saturados de dichos microdominios con respecto a la composición de los sinaptosomas. Además, en la fracción DRM obtenida a partir de terminales sinápticas sometidas a injuria oxidativa, no se observó un incremento en la generación de DAG en comparación a las DRMs de la situación control. Los mismos resultados se observaron en las DRMs obtenidas de animales seniles (Datos nuestros aún no publicados).



Estos nuevos datos sugieren que el pool de la PC-PLC localizado en la fracción DRM sería insensible al estrés oxidativo, ya sea por la existencia de una relación directa entre la

peroxidación lipídica y la activación de la enzima o por la ausencia en dichos microdominios de otras proteínas de señalización involucradas en la activación de la PC-PLC en condiciones de estrés

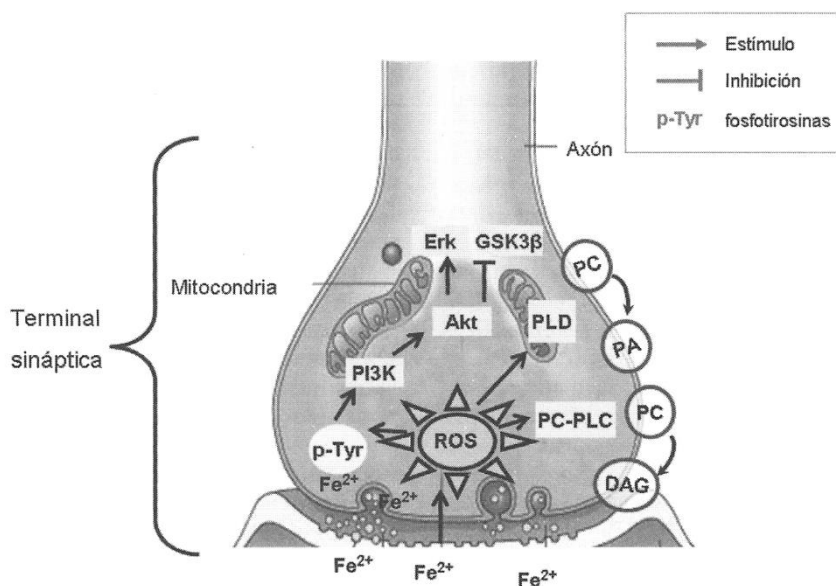


Fig. 1. Activación de vías de señalización por estrés oxidativo en la terminal sináptica. Esquema representativo de la activación, por injuria oxidativa inducida por  $Fe^{2+}$ , de vías de señalización que involucran segundos mensajeros lipídicos en la terminal sináptica de la corteza cerebral de la rata.

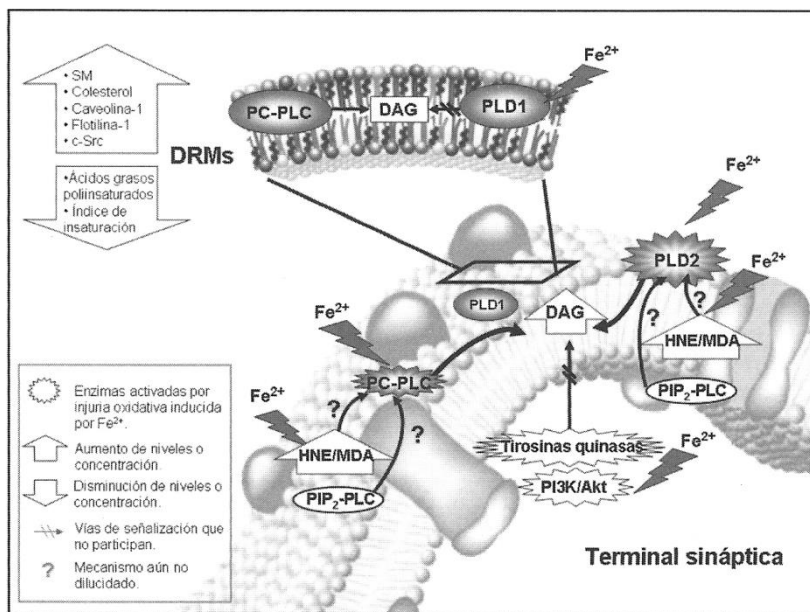


Fig. 2. Localización y activación diferencial por estrés oxidativo de las enzimas de hidrólisis de la PC. Esquema representativo de la localización diferencial de las enzimas de hidrólisis de la PC en la membrana sináptica y en microdominios de la misma resistentes a detergentes.

oxidativo. Asimismo los resultados sugieren que, en nuestras condiciones experimentales, la activación por injuria oxidativa en los sinaptosomas de la vía PLD/LPP involucraría la isoforma PLD2, la cual es excluida de la fracción DRM (Datos nuestros aún no publicados).

### Conclusiones Finales

Nuestros resultados demuestran la susceptibilidad de las terminales sinápticas al estrés oxidativo disparado por un exceso de metales de transición. Asimismo, demostramos que durante el proceso de insulto oxidativo se activan diversas vías de señalización sináptica que involucran la generación de lípidos bioactivos (Figura 1). La activación de dichas vías de señalización es dependiente tanto del grado de injuria oxidativa como de la localización de las enzimas participantes en microdominios especializados de membrana (Figura 2). Estos hallazgos constituyen un potencial punto de partida para la búsqueda de nuevas herramientas terapéuticas en los procesos neurodegenerativos originados por injuria oxidativa.

### Referencias

- [1] D. Berg, M.B. Youdim, *Top. Magn Reson. Imaging* **17**, 5 (2006).
- [2] D.A. Butterfield, S.M. Yatin, S. Varadarajan & T. Koppal, *Methods Enzymol.* **309**, 746 (1999).
- [3] Y. Christen, *Am. J. Clin. Nutr.* **71**, 621S (2000).
- [4] A. Saito, C.M. Maier, P. Narasimhan, T. Nishi, Y.S. Song, F. Yu, J. Liu, Y.S. Lee, C. Nito, H. Kamada, R.L. Dodd, L.B. Hsieh, B. Hassid, E.E. Kim, M. Gonzalez & P.H. Chan, *Mol. Neurobiol.* **31**, 105 (2005).
- [5] M.A. De La Paz, R.E. Anderson, *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* **33**, 2091 (1992).
- [6] C.M. Ethen, C. Reilly, X. Feng, T.W. Olsen & D.A. Ferrington, *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* **48**, 3469 (2007).
- [7] J.L. Dunaief, *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* **47**, 4660 (2006).
- [8] D. Berg, M. Gerlach, M.B. Youdim, K.L. Double, L. Zecca, P. Riederer & G. Becker, *J. Neurochem.* **79**, 225 (2001).
- [9] Y. Ke, Z.M. Qian, *Prog. Neurobiol.* **83**, 149 (2007).
- [10] J.N. Keller, R.J. Mark, A.J. Bruce, E. Blanc, J.D. Rothstein, K. Uchida, G. Waeg & M.P. Mattson, *Neuroscience* **80**, 685 (1997).
- [11] J.N. Keller, Z. Pang, J.W. Geddes, J.G. Begley, A. Germeyer, G. Waeg & M.P. Mattson, *J. Neurochem.* **69**, 273 (1997).
- [12] R.J. Mark, K. Hensley, D.A. Butterfield & M.P. Mattson, *J. Neurosci.* **15**, 6239 (1995).
- [13] C. Quintana, S. Bellefqih, J.Y. Laval, J.L. Guerin-Kern, T.D. Wu, J. Avila, I. Ferrer, R. Arranz & C. Patino, *J. Struct. Biol.* **153**, 42 (2006).
- [14] R.J. Castellani, K. Honda, X. Zhu, A.D. Cash, A. Nunomura, G. Perry & M.A. Smith, *Ageing Res. Rev.* **3**, 319 (2004).
- [15] G.J. Brewer, *J. Am. Coll. Nutr.* **28**, 238 (2009).
- [16] S. Mandel, G. Maor & M.B. Youdim, *J. Mol. Neurosci.* **24**, 401 (2004).
- [17] D.A. Butterfield, J. Kanski, *Mech. Ageing Dev.* **122**, 945 (2001).
- [18] A. Gaeta, R.C. Hider, *Br. J. Pharmacol.* **146**, 1041 (2005).
- [19] M.A. Lovell, J.D. Robertson, W.J. Teesdale, J.L. Campbell & W.R. Markesbery, *J. Neurol. Sci.* **158**, 47 (1998).
- [20] W.Y. Ong, A.A. Farooqui, *J. Alzheimers. Dis.* **8**, 183 (2005).
- [21] M.P. Mattson, J.N. Keller & J.G. Begley, *Exp. Neurol.* **153**, 35 (1998).
- [22] M.K. Meffert, J.M. Chang, B.J. Wiltgen, M.S. Fanselow & D. Baltimore, *Nat. Neurosci.* **6**, 1072 (2003).
- [23] Z.H. Guo, M.P. Mattson, *Cereb. Cortex* **10**, 50 (2000).
- [24] M.P. Mattson, *Methods Enzymol.* **309**, 733 (1999).
- [25] K.E. Cosker, B.J. Eickholt, *Biochem. Soc. Trans.* **35**, 207 (2007).
- [26] M. gado-Esteban, D. Martin-Zanca, L. ndres-Martin, A. Almeida & J.P. Bolanos, *J. Neurochem.* **102**, 194 (2007).
- [27] S.H. Koh, S.H. Kim, H. Kwon, J.G. Kim, J.H. Kim, K.H. Yang, J. Kim, S.U. Kim, H.J. Yu, B.R. Do, K.S. Kim & H.K. Jung, *Neurotoxicology* **25**, 793 (2004).
- [28] G.M. Leininger, C. Backus, M.D. Uhler, S.I. Lentz & E.L. Feldman, *FASEB J.* **18**, 1544 (2004).
- [29] A.I. Rojo, M.R. Sagarra & A. Cuadrado, *J. Neurochem.* **105**, 192 (2008).
- [30] Y. Wang, A. Cheng & M.P. Mattson, *Neuromolecular Med.* **8**, 329 (2006).
- [31] A. Brunet, A. Bonni, M.J. Zigmond, M.Z. Lin, P. Juo, L.S. Hu, M.J. Anderson, K.C. Arden, J. Blenis & M.E. Greenberg, *Cell* **96**, 857 (1999).
- [32] M.H. Cardone, N. Roy, H.R. Stennicke, G.S. Salvesen, T.F. Franke, E. Stanbridge, S. Frisch & J.C. Reed, *Science* **282**, 1318 (1998).
- [33] J.R. Woodgett, P.S. Ohashi, *Nat. Immunol.* **6**, 751 (2005).
- [34] T. Yamamoto, F. Kambe, X. Cao, X. Lu, N. Ishiguro & H. Seo, *Bone* **40**, 354 (2007).
- [35] Y. Zhang, J. Zhang & G.P. Studzinski, *Cell Cycle* **5**, 447 (2006).
- [36] C. Barthelemy, C.E. Henderson & B. Pettmann, *BMC. Neurosci.* **5**, 48 (2004).
- [37] H. Cui, F. Cai & D.D. Belsham, *FASEB J.* **20**, 2654 (2006).
- [38] K. Hirai, T. Hayashi, P.H. Chan, J. Zeng, G.Y. Yang, V.J. Basus, T.L. James & L. Litt, *Brain Res. Mol. Brain Res.* **124**, 51 (2004).
- [39] K.M. Dhandapani, F.M. Wade, C. Wakade, V.B. Mahesh & D.W. Brann, *J. Neurochem.* **95**, 9 (2005).
- [40] M.M. Billah, J.C. Anthes, *Biochem. J.* **269**, 281 (1990).
- [41] Z. Cui, M. Houweling, *Biochim. Biophys. Acta* **1585**, 87 (2002).



- [42] J.H. Exton, *Biochim. Biophys. Acta* **1212**, 26 (1994).
- [43] R.M. Adibhatla, J.F. Hatcher, *Neurochem. Res.* **30**, 15 (2005).
- [44] D.A. Foster, L. Xu, *Mol. Cancer Res.* **1**, 789 (2003).
- [45] M.J. Wakelam, C.P. Briscoe, A. Stewart, T.R. Pettitt, M.J. Cross, A. Paul, J.M. Yule, S.D. Gardner & M. Hodgkin, *Biochem. Soc. Trans.* **21**, 874 (1993).
- [46] D.N. Brindley, *J. Cell Biochem.* **92**, 900 (2004).
- [47] S. Carrasco, I. Merida, *Trends Biochem. Sci.* **32**, 27 (2007).
- [48] S. Pyne, K.C. Kong & P.I. Darroch, *Semin. Cell Dev. Biol.* **15**, 491 (2004).
- [49] S. Pyne, J.S. Long, N.T. Ktistakis & N.J. Pyne, *Biochem. Soc. Trans.* **33**, 1370 (2005).
- [50] J. Klein, *J. Neurochem.* **94**, 1473 (2005).
- [51] Q.J. Wang, *Trends Pharmacol. Sci.* **27**, 317 (2006).
- [52] W.C. Colley, T.C. Sung, R. Roll, J. Jenco, S.M. Hammond, Y. Altschuller, D. Bar-Sagi, A.J. Morris & M.A. Frohman, *Curr. Biol.* **7**, 191 (1997).
- [53] S.M. Hammond, J.M. Jenco, S. Nakashima, K. Cadwallader, Q. Gu, S. Cook, Y. Nozawa, G.D. Prestwich, M.A. Frohman & A.J. Morris, *J. Biol. Chem.* **272**, 3860 (1997).
- [54] P.M. Steed, K.L. Clark, W.C. Boyar & D.J. Lasala, *FASEB J.* **12**, 1309 (1998).
- [55] J.H. Exton, *FEBS Lett.* **531**, 58 (2002).
- [56] M. Liscovitch, M. Czarny, G. Fiucci & X. Tang, *Biochem. J.* **345 Pt 3**, 401 (2000).
- [57] S.J. Scales, R.H. Scheller, *Nature* **401**, 123 (1999).
- [58] M. Zeniou-Meyer, Y. Liu, A. Begle, M. Olanish, A. Hanauer, U. Becherer, J. Rettig, M.F. Bader & N. Vitale, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **105**, 8434 (2008).
- [59] Z. Freyberg, A. Siddhanta & D. Shields, *Trends Cell Biol.* **13**, 540 (2003).
- [60] J. Klein, V. Chalifa, M. Liscovitch & K. Loffelholz, *J. Neurochem.* **65**, 1445 (1995).
- [61] D. Zhao, M.A. Frohman & J.K. Blusztajn, *BMC Neurosci.* **2**, 16 (2001).
- [62] K.M. Eyster, *Adv. Physiol. Educ.* **31**, 5 (2007).
- [63] K.Y. Hostetler, L.B. Hall, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **96**, 388 (1980).
- [64] Y. Matsuzawa, K.Y. Hostetler, *J. Biol. Chem.* **255**, 646 (1980).
- [65] E. Randell, H. Mulye, S. Mookerjee & A. Nagpurkar, *Biochim. Biophys. Acta* **1124**, 273 (1992).
- [66] R.G. Sheikhnjad, P.N. Srivastava, *J. Biol. Chem.* **261**, 7544 (1986).
- [67] E. Yavin, Y. Tanaka & S. Ando, *J. Neurosci. Res.* **24**, 241 (1989).
- [68] J. Zamorano, M.D. Rivas, A. Garcia-Trinidad, C.K. Qu & A.D. Keegan, *J. Immunol.* **171**, 4203 (2003).
- [69] J.L. Ho, B. Zhu, S. He, B. Du & R. Rothman, *J. Exp. Med.* **180**, 1457 (1994).
- [70] S. Cecchetti, F. Spadaro, L. Lugini, F. Podo & C. Ramoni, *Eur. J. Immunol.* **37**, 2912 (2007).
- [71] C. Ramoni, F. Spadaro, M. Menegon & F. Podo, *J. Immunol.* **167**, 2642 (2001).
- [72] F. Spadaro, S. Cecchetti, M. Sanchez, C.M. Ausiello, F. Podo & C. Ramoni, *Eur. J. Immunol.* **36**, 3277 (2006).
- [73] L. Fantuzzi, F. Spadaro, C. Purificato, S. Cecchetti, F. Podo, F. Belardelli, S. Gessani & C. Ramoni, *Blood* **111**, 3355 (2008).
- [74] H. Liu, H. Zhang & H.J. Forman, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **36**, 594 (2007).
- [75] R.M. Uranga, M.V. Mateos, N.M. Giusto & G.A. Salvador, *J. Neurosci. Res.* **85**, 2924 (2007).
- [76] H. Esterbauer, R.J. Schaur & H. Zollner, *Free Radic. Biol. Med.* **11**, 81 (1991).
- [77] R.M. Uranga, N.M. Giusto & G.A. Salvador, *Toxicol. Sci.* **111**, 331 (2009).
- [78] A. Barnea, G. Cho, *Endocrinology* **115**, 936 (1984).
- [79] Y. Luo, T. Sunderland & B. Wolozin, *J. Neurochem.* **67**, 978 (1996).
- [80] T. Jiang, Y. Qiu, *J. Biol. Chem.* **278**, 15789 (2003).
- [81] G. Calderini, A.C. Bonetti, A. Battistella, F.T. Crews & G. Toffano, *Neurochem. Res.* **8**, 483 (1983).
- [82] T.C. Foster, A. Kumar, *Neuroscientist.* **8**, 297 (2002).
- [83] R.A. Floyd, K. Hensley, *Neurobiol. Aging* **23**, 795 (2002).
- [84] A. Navarro, A. Boveris, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **287**, R1244 (2004).
- [85] M.V. Mateos, R.M. Uranga, G.A. Salvador & N.M. Giusto, *Lipids* **41**, 273 (2006).
- [86] M. Kobayashi, J.N. Kanfer, *J. Neurochem.* **48**, 1597 (1987).
- [87] M.V. Mateos, R.M. Uranga, G.A. Salvador & N.M. Giusto, *Neurochem. Int.* **53**, 199 (2008).
- [88] M.V. Mateos, G.A. Salvador & N.M. Giusto, *Biochim. Biophys. Acta* **1798**, 624 (2010).
- [89] Y. Nozawa, *Biochim. Biophys. Acta* **1585**, 77 (2002).
- [90] G.A. Salvador, M.G. Ilincheta de Boscherro, S.J. Pasquare & N.M. Giusto, *J. Neurosci. Res.* **81**, 244 (2005).
- [91] J. Cuschieri, J. Billgren & R.V. Maier, *J. Leukoc. Biol.* **80**, 407 (2006).
- [92] H. Kobayashi, S. Honma, N. Nakahata & Y. Ohizumi, *J. Neurochem.* **74**, 2167 (2000).
- [93] M.A. Clark, R.G. Shorr & J.S. Bomalaski, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **140**, 114 (1986).
- [94] F. Podo, A. Ferretti, A. Knijn, P. Zhang, C. Ramoni, B. Barletta, C. Pini, S. Baccarini & S. Pulciani, *Anticancer Res.* **16**, 1399 (1996).
- [95] C. Ramoni, F. Spadaro, B. Barletta, M.L. Dupuis & F. Podo, *Exp. Cell Res.* **299**, 370 (2004).
- [96] J.B. Helms, C. Zurzolo, *Traffic.* **5**, 247 (2004).
- [97] L.J. Pike, *J. Lipid Res.* **47**, 1597 (2006).
- [98] K. Simons, D. Toomre, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **1**, 31 (2000).
- [99] Y. Li, P. Maher & D. Schubert, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **95**, 7748 (1998).
- [100] J. Zhao, B. Zhao, W. Wang, B. Huang, S. Zhang & J. Miao, *J. Cell Biochem.* **102**, 421 (2007).
- [101] M. Perluigi, G. Joshi, R. Sultana, V. Calabrese, M.C. De, R. Coccia & D.A. Butterfield, *Neuroscience* **138**, 1161 (2006).

- [102] R. Sultana, S. Newman, H. Mohmmad-Abdul, J.N. Keller & D.A. Butterfield, *Free Radic. Res.* **38**, 449 (2004).
- [103] J.N. Kanfer, I.N. Singh, J.W. Pettegrew, D.G. McCartney & G. Sorrentino, *J. Lipid Mediat. Cell Signal.* **14**, 361 (1996).
- [104] I.N. Singh, G. Sorrentino & J.N. Kanfer, *Neurochem. Res.* **23**, 1225 (1998).
- [105] D.A. Cox, M.L. Cohen, *Neurosci. Lett.* **229**, 37 (1997).
- [106] Y. Ito, S. Nakashima & Y. Nozawa, *J. Neurochem.* **69**, 729 (1997).
- [107] S.O. Oh, J.H. Hong, Y.R. Kim, H.S. Yoo, S.H. Lee, K. Lim, B.D. Hwang, J.H. Exton & S.K. Park, *J. Neurochem.* **75**, 2445 (2000).
- [108] J.M. Servitja, R. Masgrau, R. Pardo, E. Sarri & F. Picatoste, *J. Neurochem.* **75**, 788 (2000).
- [109] J. Kim, G. Min, Y.S. Bae & D.S. Min, *Exp. Mol. Med.* **36**, 103 (2004).
- [110] M.Y. Lee, S.Y. Kim, D.S. Min, Y.S. Choi, S.L. Shin, M.H. Chun, S.B. Lee, M.S. Kim & Y.H. Jo, *Glia* **30**, 311 (2000).
- [111] Y. Banno, K. Ohguchi, N. Matsumoto, M. Koda, M. Ueda, A. Hara, I. Dikic & Y. Nozawa, *J. Biol. Chem.* **280**, 16319 (2005).
- [112] P.S. Tappia, M.R. Dent & N.S. Dhalla, *Free Radic. Biol. Med.* **41**, 349 (2006).
- [113] C.M. Corl, Y.Z. Cao, Z.S. Cohen & L.M. Sordillo, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **302**, 610 (2003).
- [114] T.J. Cunningham, L. Yao, M. Oetinger, L. Cort, E.P. Blankenhorn & J.I. Greenstein, *J. Neuroinflammation.* **3**, 26 (2006).
- [115] A.R. Muralikrishna, J.F. Hatcher, *Free Radic. Biol. Med.* **40**, 376 (2006).
- [116] G.Y. Sun, J. Xu, M.D. Jensen & A. Simonyi, *J. Lipid Res.* **45**, 205 (2004).
- [117] G.Y. Sun, L.A. Horrocks & A.A. Farooqui, *J. Neurochem.* **103**, 1 (2007).
- [118] G.R. Kinsey, B.S. Cummings, C.S. Beckett, G. Saavedra, W. Zhang, J. McHowat & R.G. Schnellmann, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **327**, 287 (2005).
- [119] B.S. Cummings, A.K. Gelasco, G.R. Kinsey, J. McHowat & R.G. Schnellmann, *J. Am. Soc. Nephrol.* **15**, 1441 (2004).
- [120] A. Yamashita, K. Tanaka, R. Kamata, T. Kumazawa, N. Suzuki, H. Koga, K. Waku & T. Sugiura, *Biochim. Biophys. Acta* **1791**, 1011 (2009).
- [121] A.A. Caro, A.I. Cederbaum, *J. Biol. Chem.* **278**, 33866 (2003).
- [122] S. Samanta, M.S. Perkinton, M. Morgan & R.J. Williams, *J. Neurochem.* **70**, 2082 (1998).
- [123] J. Xu, S. Yu, A.Y. Sun & G.Y. Sun, *Free Radic. Biol. Med.* **34**, 1531 (2003).
- [124] K. Arai, Y. Ikegaya, Y. Nakatani, I. Kudo, N. Nishiyama & N. Matsuki, *Eur. J. Neurosci.* **13**, 2319 (2001).
- [125] I. Saluja, D. Song, M.H. O'Regan & J.W. Phillis, *Neurosci. Lett.* **233**, 97 (1997).
- [126] P.B. Shelat, M. Chalimoniuk, J.H. Wang, J.B. Strosznajder, J.C. Lee, A.Y. Sun, A. Simonyi & G.Y. Sun, *J. Neurochem.* **106**, 45 (2008).

Manuscrito recibido el 29 de marzo de 2010.  
 Aceptado el 30 de abril de 2010.



## NUEVOS CONCEPTOS DE PROTECCIÓN SÍSMICA EN ESTRUCTURAS

Oscar Curadelli

Área de Dinámica Experimental, IMERIS, Fac. de Ingeniería, U.N. de Cuyo.  
Centro Universitario - Parque Gral. San Martín - Mendoza.  
ocuradelli@fing.uncu.edu.ar

### Resumen

La protección de construcciones e instalaciones ubicadas en zonas de alta sismicidad que cumplen funciones esenciales dentro de la sociedad, tales como hospitales, centros de comunicaciones, centrales de generación de energía y centros militares, policiales y de bomberos requieren un diseño estructural con exigentes especificaciones. En todos estos casos, la aislación sísmica y la disipación de energía constituyen una tecnología alternativa apropiada para proveer protección adicional con una estrategia de diseño totalmente distinta a la de los métodos utilizados tradicionalmente. En construcciones proyectadas convencionalmente bajo cargas sísmicas, la rigidez, la resistencia estructural y la capacidad de disipación de energía constituyen las principales propiedades a tener en cuenta a fin de asegurar un adecuado comportamiento de manera de lograr que la Capacidad Estructural sea mayor que la Demanda Externa. Esta filosofía intentó satisfacer la desigualdad a través del aumento de la capacidad de los elementos estructurales (aumento de la resistencia rigidez y ductilidad) logrando así un margen de seguridad con el consecuente aumento del costo. Sin embargo, durante terremotos de mediana y alta intensidad, el daño en elementos estructurales y no estructurales es una consecuencia casi inevitable. Por otro lado, el nuevo concepto de protección sísmica consiste en satisfacer la desigualdad anterior pero en este caso modificando la demanda. Con la técnica de disipación de energía, se incorporan dispositivos proyectados específicamente para ese fin, sin sufrir degradación ni daño. Al disipar energía de una forma segura, las deformaciones en la estructura se reducen significativamente y consecuentemente la demanda de ductilidad. En el caso de aislación sísmica, también se reduce la demanda pero de forma diferente. Al desacoplar la estructura de las componentes horizontales del sismo a través de la incorporación entre la estructura y la fundación de elementos con baja rigidez horizontal y alta rigidez vertical se reduce significativamente la energía que "entra" en ella y por lo tanto la demanda que percibe.

En el presente trabajo se evalúa la eficiencia de este tipo de tecnologías aplicadas a diferentes tipologías estructurales. A partir del estudio comparativo entre las respuestas, en términos de desplazamientos, de una estructura diseñada convencionalmente y la misma provista de un sistema de protección sísmica, se demuestra la eficiencia de este último.

*Palabras clave:* disipación de energía, aislación sísmica, contenedores esféricos de líquidos.

### Abstract

**New concepts in seismic protection of structures.** Building protection in important structures, such as hospitals, communication centers, fire stations, etc., placed in high seismicity areas, require stringent specifications in the structural design. For these cases a new design strategy named, seismic isolations and energy dissipation are alternative technologies that provide additional protection. In conventionally designed structures under seismic load, the stiffness, structural strength and the energy dissipation capacity are the principal properties to be considered to assure structural capacity larger than external demand. This philosophy tries to satisfy the inequality increasing the structural elements capacity (strength, stiffness and ductility) to have more security level, which leads to higher costs. However, during moderate and high intensity earthquakes, damage in structural and non-structural elements is an unavoidable consequence.

On the other hand, the new concept in seismic protection is to satisfy the inequality modifying

the demand. In the energy dissipation technique, structures are provided by specific devices that do not suffer damage or degradation. When energy dissipation occurs, structure deformation is significantly reduced, and therefore, the ductility demand. In seismic isolation, the demand is also reduced, but in a different way. When the structure is decoupled from the horizontal components of the earthquake by mean of elements with low horizontal stiffness and high vertical stiffness located between the structure and foundation, the input energy and therefore, the demand is significantly reduced.

In the present work, the effectiveness of these technologies applied to different types of structures is evaluated. From a comparative study based on the displacement response of the original and up-dated structure, the effectiveness of the seismic protection system is proved.

*Key words:* energy dissipation, seismic isolation, spherical container

## Introducción

En general, en el diseño sísmico tradicional, se busca que la estructura permanezca en rango elástico para el caso de una excitación de baja intensidad, mientras que para niveles moderados y altos se permiten deformaciones inelásticas las cuales implican, en general, daño en elementos estructurales y no estructurales pero sin llegar al colapso de la estructura. Por otro lado, el daño de instalaciones secundarias, equipamientos y otros bienes contenidos en la estructura es casi inevitable y puede, en algunos casos, tener un mayor impacto económico que el daño estructural. Sólo en casos excepcionales esta última consideración es tomada en cuenta en el diseño. Además, esta filosofía adoptada en códigos y recomendaciones de diseño presenta algunas deficiencias, la disipación de energía se logra a través del daño estructural el cual es claramente indeseable. En algunos casos la tarea de recuperar a su estado original una estructura dañada por un terremoto es compleja y onerosa. Gran cantidad de investigaciones se han desarrollado en la búsqueda de alternativas y en las dos últimas décadas han recibido notable atención dos importantes tecnologías, la *aislación sísmica* y la *disipación de energía externa*. El primer sistema de protección es aplicado principalmente a estructuras nuevas y consiste en desacoplar la estructura de las componentes horizontales del sismo, separando las frecuencias dominantes de la estructura de las del movimiento sísmico a través de la incorporación en la base de elementos con baja rigidez horizontal y alta rigidez vertical. De esta manera se reduce significativamente la energía que “entra” en la estructura y por lo tanto la demanda que percibe. El segundo sistema es ampliamente utilizado tanto en estructuras nuevas como ya construidas. En este caso se incorporan dispositivos proyectados específicamente para disipar energía sin que acusen degradación ni daño. Al disipar una porción de la energía cinética inducida por el sismo de una forma segura, las deformaciones en la estructura se reducen signi-

ficativamente y consecuentemente la posibilidad de daño. El notable desarrollo que ha tenido el diseño sísmico sugiere que en un futuro cercano, la mayoría de las estructuras construidas en zonas de riesgo sísmico serán provistas de estos sistemas de protección. Un tratado completo sobre estado del arte de *sistemas pasivos de disipación de energía* fue reproducido por Soong y Dargush [1], mientras que Kelly [2] lo hizo sobre sistemas de *aislación sísmica*.

Este trabajo discute sobre las mejoras que se pueden lograr en el desempeño sísmico mediante la aplicación de ambas técnicas sobre una estructura tipo pórtico de tres vanos y diez pisos construida en acero y sobre un contenedor esférico de líquido presurizado utilizado en la industria petroquímica. Los análisis dinámicos se realizaron sobre modelos numéricos de Elementos Finitos tomando en consideración el comportamiento no lineal de los elementos estructurales y la interacción del fluido con la estructura para el caso del contenedor esférico. En el estudio se adoptó como excitación el acelerograma de Kobe, JMA, NS, Japón de 1995, uno de los sismos más destructivos que se han registrado en los últimos veinte años.

Existe una extensa variedad de dispositivos pasivos para disipar energía. Una de las formas más eficientes es la deformación inelástica de elementos metálicos y su uso se inició con el trabajo de Kelly *et al.* [3] y continuado luego por Skinner *et al.* [4,5]. Los dispositivos incluían vigas sometidas a flexión y torsión y láminas de acero en forma de “U”. Modelos de amortiguadores metálicos con forma triangular y en “X” basados en las leyes de la mecánica fueron propuestos por Bergman y Goel [6], Wittaker *et al.* [7,8], Dargush y Soong [9], y Tsai *et al.* [10]. El trabajo de Robinson y Greenbank [11] propone el uso de la extrusión del plomo para disipar energía. Como continuación de este tipo de dispositivos, Monti y Robinson [12] y Curadelli y Riera [13] desarrollaron sendos amortiguadores comerciales de plomo que trabajan por deformaciones cortantes.

Curadelli y Riera [14] y Curadelli [15] muestran aplicaciones de este tipo de disipadores para aumentar la confiabilidad de estructuras sometidas a acciones sísmicas. Un tipo de dispositivo, que utiliza la fricción para disipar energía, fue desarrollado por Sumitomo Metal Industries Ltd e implementado en dos edificios en Japón (Aiken y Kelly [16], Aiken [17]). Levy *et al.* [18] presentan un método de diseño de sistemas pasivos para disipar energía basados en la fricción de uniones atornilladas sobre pórticos metálicos. Mualla y Belev [19] estudian la respuesta dinámica de un pórtico de acero que incorpora un dispositivo de fricción. Wu, *et al.* [20] presentan una mejora al amortiguador de fricción desarrollado por Pall Dynamics Ltd. Un trabajo que muestra un algoritmo para simular el comportamiento de estructuras que incorporan estos dispositivos fue recientemente presentado por De la Cruz *et al.* [21]. En relación con amortiguadores viscoelásticos es importante destacar los trabajos de Min *et al.* [22] que realizaron una serie de ensayos sobre un pórtico de cinco pisos de acero y muestran una metodología de proyecto. Wang *et al.* [23] tratan sobre el diseño óptimo de este tipo de disipadores para atenuar vibraciones en estructuras. Hwang *et al.* [24] presentan resultados de una evaluación experimental para determinar la eficiencia de sistemas de control de vibraciones mediante amortiguadores viscosos a estructuras de hormigón armado. Marko *et al.* [25] publicaron un trabajo que investiga la respuesta de una estructura de varios pisos, bajo cargas sísmicas, que incorpora la combinación de dispositivos de fricción y viscoelásticos ubicados dentro de muros de corte. Específicamente, en estructuras especiales como lo son las esferas contenedoras de líquidos sometidas a cargas sísmicas se puede mencionar el trabajo reciente de Castellano *et al.* [26] que describe diferentes esquemas de diseño que aumentan la capacidad y mejoran el comportamiento estructural mediante el uso de disipadores de fluidos viscosos y metálicos de pandeo restringido.

Posiblemente la primera implementación del concepto de aislación sísmica sobre una capa de suelo flexible se realizó en el Imperial Hotel de Tokio el cual fue uno de los pocos edificios en sobrevivir al devastador terremoto de Tokio en 1923. Durante los últimos 20 años han sido desarrollados una gran variedad de dispositivos entre los que se destacan los contruidos con placas de acero y goma dispuestas en capas alternadas; otro modelo consta de placas de acero concéntricas entre las cuales se ubican capas de teflón que friccionan entre sí junto a un núcleo central de goma y el tercer tipo es un innovador aislador

denominado péndulo de fricción que consta de una superficie cóncava, generalmente construida de acero inoxidable, donde desliza un patín cuya superficie de contacto es de teflón (Skinner *et al.* [27], Kelly [28], Naeim y Kelly [29]). Jangid y Datta [30] publicaron un trabajo que muestra el estado del arte de estos sistemas de protección. Uno de los pocos trabajos publicados sobre el comportamiento de estructuras reales aisladas, se debe a Celebi [31]. Estudios referidos a la determinación de la respuesta dinámica de estructuras aisladas han recibido mucha atención (Crandall *et al.* [32], Mostaghel y Khodaverdian [33], Su *et al.* [34], Constantinou y Papageorgiou [35], Lin *et al.* [36], Jangid y Kelly [37], Jangid [38]). Wu y Samali [39] y Tsai *et al.* [40] reportaron ensayos experimentales de modelos estructurales provistos de aisladores en la base. Spyarakos *et al.* [41,42], investigaron los efectos de la interacción del suelo con la estructura en edificios con aislación en la base. Kilar y Koren [43] muestran el los efectos torsionales de estructuras asimétricas aisladas.

### Descripción y modelación de las estructuras

#### *Estructura 1: Edificio de acero*

En este ejemplo se estudia el comportamiento dinámico de un pórtico, con tres vanos y diez pisos de una estructura de acero, reportada por Bertero *et al.* [44]. Dicha estructura fue diseñada para una aceleración máxima del suelo de 0.5g según el código UBC (Uniform Building Code [45]) para la ciudad de California, EE.UU. La masa total por piso es de 47t, con un amortiguamiento crítico de 2% y, período fundamental, para vibraciones de pequeña amplitud, de  $T_1 = 1.67s$ . La tensión de fluencia del acero fue considerada igual a  $f_y = 2.48 \times 10^8$  Pa, con módulo de Young de  $E = 2 \times 10^{11}$  Pa. La Figura 1 muestra las características geométricas de la estructura.

Se construyó un modelo numérico de la estructura a fin de simular su comportamiento dinámico bajo excitación sísmica. Las vigas y columnas se modelaron con elementos de viga con 6 (seis) grados de libertad por nodo.

Una de las estrategias para mejorar el comportamiento dinámico del sistema se basa en la incorporación de un sistema de disipación de energía constituido por amortiguadores dispuestos en diagonales sobre el vano central como se muestra en la Figura 1. Los amortiguadores son representados en el modelo mediante elementos de viga con propiedades elasto-plásticas cuyos parámetros fueron calibrados de manera tal que, todos entran en fluencia simultáneamente cuando



la estructura, al deformarse de acuerdo al primer modo de vibración, alcanza una distorsión horizontal de piso de 0.1% y una fuerza lateral total igual al 30% del peso de la estructura. En la relación constitutiva de cada amortiguador se adoptó un endurecimiento de 1.25%. La distribución en altura de la capacidad de los amortiguadores se indica en la Tabla I.

Como segunda estrategia de protección fue estudiado el comportamiento estructural instalando un sistema compuesto por aisladores tipo LRB (lead-rubber bearings) cuyo comportamiento se ajusta a una ecuación constitutiva bilineal representados mediante elementos de viga con comportamiento elasto-plástico. La rigidez de cada aislador se definió mediante un análisis paramétrico de manera tal que, el modo fundamental de vibración de la estructura posea un periodo calculado a partir de un criterio óptimo propuesto. El criterio consistió en elegir el periodo fundamental de la estructura para el cual se produce el menor desplazamiento relativo máximo entre el décimo piso (techo) y el nivel inferior para un desplazamiento máximo del sistema de aislación admitido durante el evento sísmico. La Figura 2 muestra el desplazamiento relativo máximo mencionado y el desplazamiento máximo del sistema de aislación para el rango de periodos fundamentales estudiado. De los resultados obtenidos se adoptó un periodo fundamental ("elástico") de la estructura aislada,  $T_a = 1.9s$ .

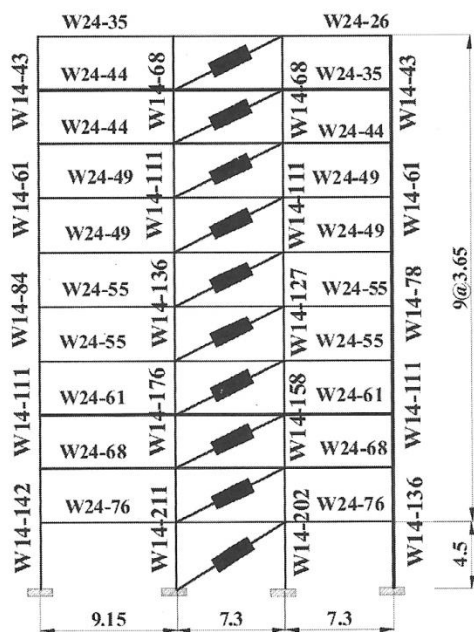


Figura 1. a) Geometría de la Estructura de acero y ubicación de amortiguadores.

Capacidad de amortiguadores	
Piso	Capacidad [kN]
1	200
2	190
3	185
4	175
5	162
6	144
7	123
8	97
9	67.4
10	35
Total:	13.80

\*corresponde al 30% del peso de la estructura.

Tabla I. Distribución de la capacidad de amortiguadores en altura.

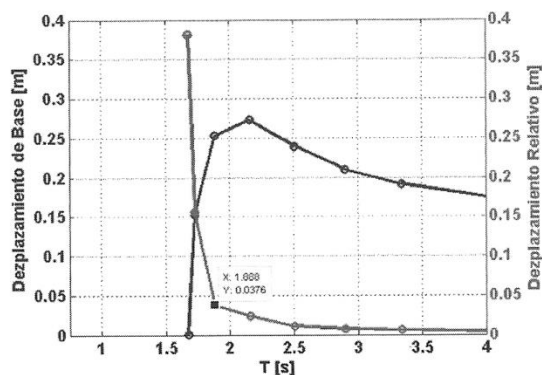


Figura 2. Desplazamiento máximo relativo entre el techo y el nivel inferior.

— Desplazamiento máximo del sistema de aislación sísmica.

— Ambos en función del periodo fundamental de la estructura.

**Estructura 2: Contenedor esférico de líquido.**

Como segundo ejemplo, se presenta el estudio de un contenedor esférico cuyo contenido de líquido es de 70% de su volumen (Figura 3). El mismo está compuesto básicamente por una esfera de 12,4m de diámetro, formada por chapas de acero soldadas de 25.4mm de espesor. El volumen interior total es de aproximadamente 1000m<sup>3</sup> (masa total en la prueba hidráulica 1000t) y almacena propileno de densidad 0,5t/m<sup>3</sup> por lo que, cuando se encuentra totalmente llena tiene una masa de líquido de 500t. Dicha esfera está recubierta de material aislante y es soportada por 6 patas cilíndricas de acero igualmente espaciadas sobre una circunferencia de diámetro 12.096m; el diámetro exterior de cada pata es de 0.786m

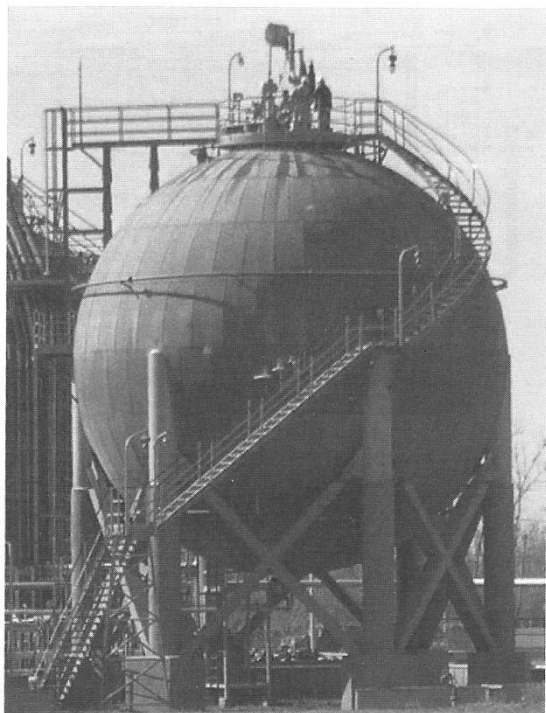


Figura 3. Contenedor esférico analizado.

y 12,0mm de espesor. Las mismas se encuentran empotradas en la fundación y unidas a la esfera en su parte superior y entre sí mediante una viga PNI 450. La rigidez lateral es provista principalmente por pares de riostras en forma de "X" que vinculan patas adyacentes y están construidas por placas de acero de 300x25.4mm. Cabe mencionar que la estructura soporte se encuentra recubierta por hormigón ignífugo.

Con el objetivo de llevar a cabo el análisis dinámico, se construyó un modelo de Elementos Finitos de la estructura tomando en cuenta la interacción del fluido con la estructura. Las vigas se modelaron con elementos de viga con 6 (seis) grados de libertad por nodo. Para considerar el comportamiento no lineal con rigidez nula a compresión debido al pandeo a pequeña carga y elasto-plasticidad a tracción, las riostras se representaron mediante dos elementos de barra en serie con propiedades adecuadas. La esfera se modeló con elementos de cáscara con 6 (seis) grados de libertad por nodo que incluyen efectos membranales, flexionales y de corte. Las columnas se modelaron con elementos tipo "pipe" con 6 (seis) grados de libertad por nodo y se consideraron empotradas en la base. El líquido, admitido sin viscosidad e irrotacional, fue representado con elementos hexaédricos de 3 grados de libertad por

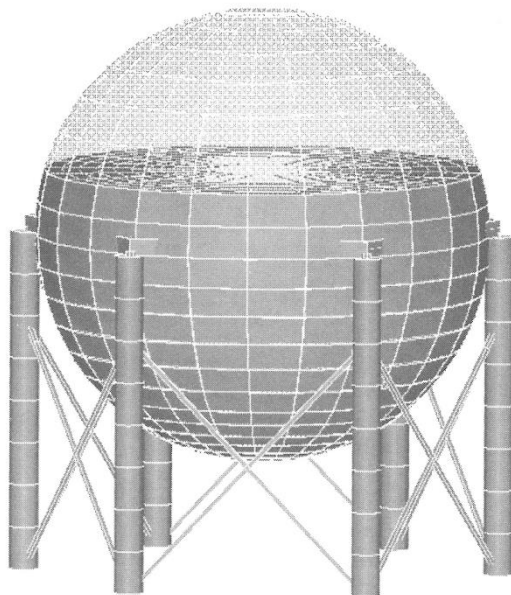


Figura 4. Modelo de EF. Contenido de líquido 70%.

nodo, los cuales permiten representar efectos de aceleración como "sloshing". Para satisfacer las condiciones de continuidad en la interfase entre el líquido y la cáscara, los nodos "coincidentes" son acoplados en la dirección normal a la interfase, permitiendo el desplazamiento tangencial. La Figura 4 muestra el modelo utilizado en el análisis.

El sistema de disipación de energía consistió en reemplazar las riostras convencionales que soportan esfuerzos exclusivamente de tracción por amortiguadores que disipan energía a través de ciclos estables en tracción y compresión. En el modelo numérico, los amortiguadores fueron representados mediante elementos de viga con propiedades elasto-plásticas cuya capacidad fue definida bajo la premisa de mantener la rigidez lateral del sistema convencional admitiendo un desplazamiento de fluencia de 2mm. El endurecimiento adoptado en la ecuación constitutiva fue de 1.25% como se recomienda en Catellano *et al.* [26].

El sistema de aislación sísmica fue compuesto por elementos tipo LRB (lead-rubber bearings) con ecuación constitutiva bilineal representados mediante elementos de viga con comportamiento elasto-plástico. Similarmente al ejemplo anterior, la rigidez de cada aislador se definió mediante un análisis paramétrico de manera tal que, el modo fundamental de vibración

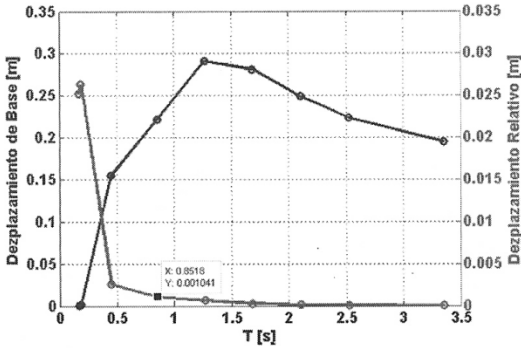


Figura 5. — Desplazamiento máximo relativo entre el centro de masa y el pie de columna.  
 — Desplazamiento máximo del sistema de aislación sísmica.

de la estructura posea un periodo determinado a partir de un criterio propuesto. El criterio adoptado consistió en elegir el periodo fundamental de la estructura para el cual se produce el menor desplazamiento relativo máximo entre el extremo superior y el pie de columna para un desplazamiento máximo del sistema de aislación admitido durante el evento sísmico. La Figura 5 muestra el desplazamiento relativo máximo mencionado y el desplazamiento máximo del sistema de aislación para el rango de periodos fundamentales estudiado. Para llevar a cabo el análisis dinámico se adoptó un periodo fundamental (“elástico”) de la estructura aislada,  $T_a = 0.85s$ .

**Excitación sísmica**

En el estudio se adoptó como excitación, el sismo de Kobe, JMA, NS, Japón de 1995, escalado a una aceleración pico de  $5m/s^2$  para la estructura 1 y de  $5.4m/s^2$  para la estructura 2. El acelerograma y su espectro de pseudo-aceleración para un amortiguamiento del 5% se muestra en la Figura 6a y 6b, respectivamente.

**Resultados del estudio numérico**

Inicialmente, a fin de obtener los modos y frecuencias naturales de los sistemas estructurales estudiados, se resolvió el problema de valores y vectores característicos correspondientes a cada estructura.

Con el objetivo de investigar la eficiencia de los sistemas de protección sísmica, la respuesta dinámica de la estructura provista con el sistema de disipación de energía en un caso y aislada en otro, es comparada con la obtenida en condiciones originales (sistema convencional). La respuesta estructural en términos de desplazamiento fue ob-

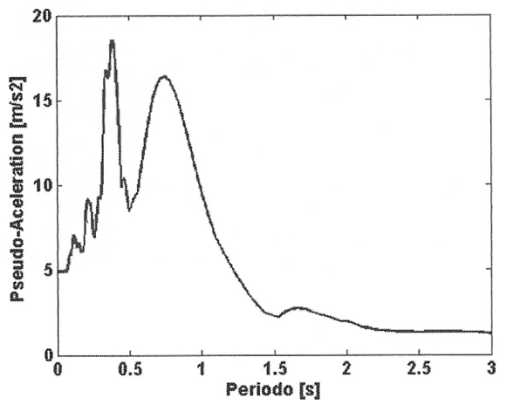
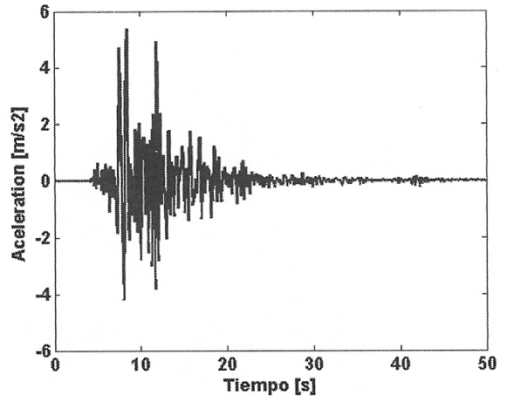


Figura 6. a) Acelerograma de Kobe, JMA, NS, Japón de 1995. b) Espectro de respuesta.

tenida, mediante integración numérica directa en el dominio del tiempo, para cada caso analizado.

*Estructura 1*

Los modos de vibración y los periodos fundamentales para cada condición estudiada considerando la rigidez pre-fluencia son listados en la Tabla II. Los resultados corresponden a condiciones de empotramiento en la base, La Figura 7a muestra el modo fundamental de vibración de la estructura en su estado original. El modo fundamental de la estructura provista del sistema de disipación de energía es similar al anterior ya que

Estructura 1: Pórtico de acero		
Períodos fundamentales [s] (sistema elástico)		
Condiciones Originales	Con sistema de disipación	Con sistema de aislación
1.67	1.04	1.9

Tabla II. Periodo del modo fundamental de vibración. Estructura 1.

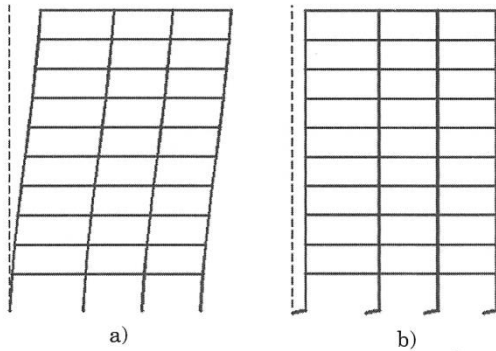


Figura 7. Modo de vibración fundamental.  
a) Estado original y con disipación de energía,  
b) con aislación sísmica.

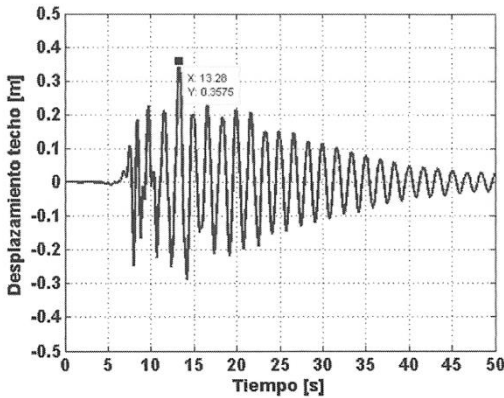


Figura 8. Desplazamiento horizontal del techo de la estructura en condiciones originales.

como se mencionó, la rigidez de los amortiguadores se eligieron de manera tal de conservar la forma modal fundamental. En la Figura 7b se presenta el modo fundamental de la estructura sustentada por el sistema de aislación sísmica. En ella se observa que las deformaciones se concentran en el sistema de aislación sísmica.

Al incorporar el sistema de disipación de energía se observa que el desplazamiento horizontal máximo del techo se reduce de 0.3575 m para el caso convencional (Figura 8) a 0.1953 m (Figura 9). El ciclo de histéresis del disipador ubicado en el primer piso de muestra en la Figura 10.

Similarmente, en la Figura 11 se muestra que el desplazamiento relativo máximo entre el techo y el nivel inferior es de 0.04m cuando se instala el sistema de aislación sísmica. El desplazamiento máximo del sistema de aislación alcanza 0.25m.

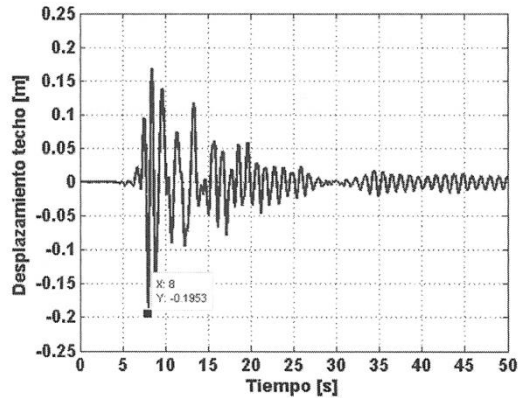


Figura 9. Desplazamiento horizontal del techo de la estructura provista del sistema de disipación de energía.

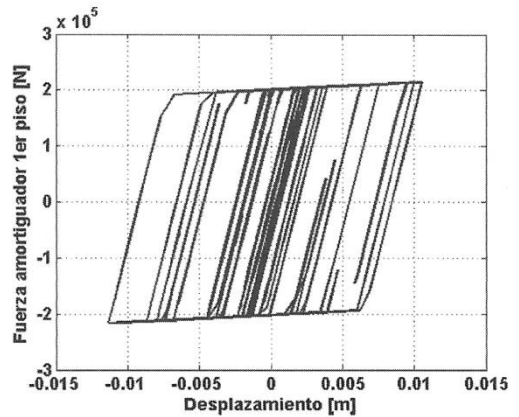


Figura 10. Ciclo histéresis del disipador del primer piso durante el evento sísmico.

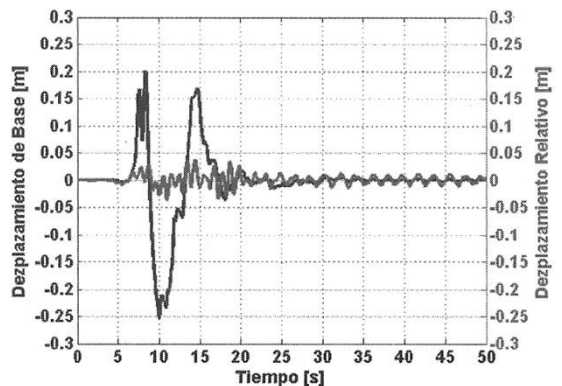


Figura 11. Desplazamiento horizontal del techo de la estructura sustentada por el sistema de aislación sísmica.

Estructura 2: Contenedor esférico		
Períodos fundamentales [s] (sistema elástico)		
Condiciones Originales	Con sistema de disipación	Con sistema de aislación
0.163 (0.2123*)	0.165	0.85

\*considera la rigidez equivalente debido al pandeo de las riostras en compresión.

Tabla II. Período del modo fundamental de vibración. Estructura 2.

**Estructura 2**

De la misma manera que para la estructura 1, los periodos de los modos de vibración fundamentales son listados en la Tabla III. Se admitieron para la estructura, condiciones de empotramiento en la base. En el análisis dinámico de este caso, las riostras diagonales se admitieron sin rigidez a compresión debido a que el pandeo ocurre para una carga relativamente pequeña. En la Tabla III se presentan ambos resultados: a) caso de pequeños desplazamientos (sin considerar pandeo de las riostras) teniendo en cuenta la rigidez completa en tracción y compresión de las riostras y b) considerando solo la mitad de la rigidez lateral (rigidez equivalente) a fin de obtener una estimación de las frecuencias naturales del sistema admitiendo el pandeo de las riostras comprimidas.

En la Figura 12a se muestra el modo fundamental de vibración de la estructura en su estado original (sin considerar pandeo de las riostras). El modo fundamental de la estructura provista del sistema de disipación de energía es similar al anterior ya que como se mencionó, la rigidez pre-fluencia de los amortiguadores se eligió de manera tal de conservar la misma rigidez lateral del sistema original. En la Figura 12b se

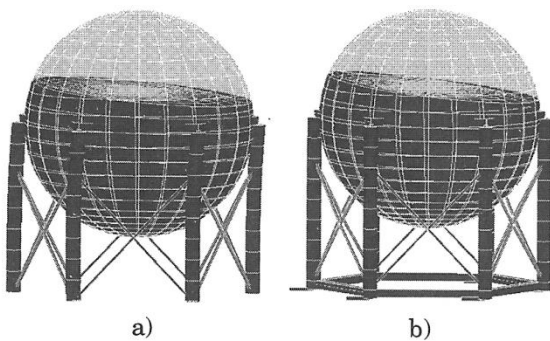


Figura 12. Modo de vibración fundamental. a) Estado original y con disipación de energía, b) con aislación sísmica.

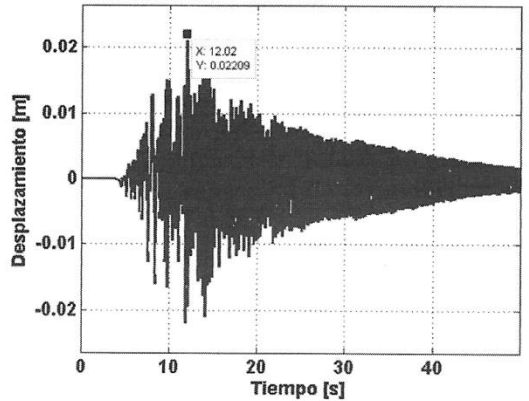


Figura 13. Desplazamiento horizontal del extremo superior de las columnas de la esfera en condiciones originales.

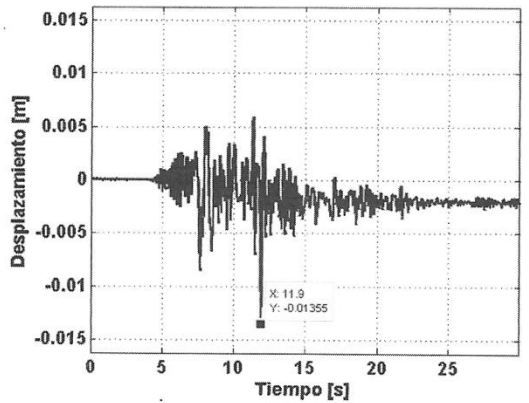


Figura 14. Desplazamiento horizontal del extremo superior de las columnas de la esfera provista del sistema de disipación de energía.

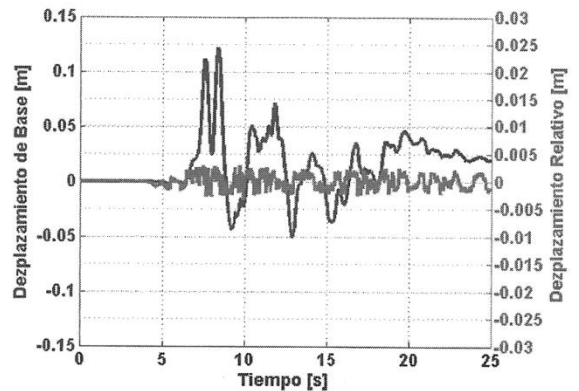


Figura 15. Ciclo histórico de uno de los disipadores ubicado en un plano paralelo a la dirección de la excitación.



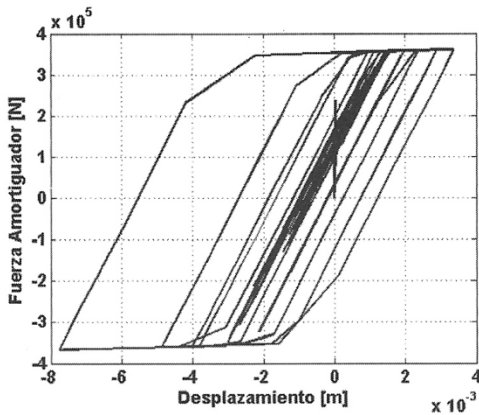


Figura 16. Desplazamiento horizontal del extremo superior de las columnas de la esfera provista del sistema de aislación sísmica.

presenta el modo fundamental de la estructura sustentada por el sistema de aislación sísmica.

Con el objetivo de investigar la eficiencia de los sistemas de protección sísmica, la respuesta dinámica de la estructura provista con el sistema de disipación de energía en un caso y con aislación sísmica en otro, es comparada con la obtenida en el estado original.

En la Figura 13 se presenta la variación en el tiempo del desplazamiento horizontal del extremo superior de una columna de la esfera durante la acción sísmica para el estado original de la estructura estudiada. La Figura 14 muestra el desplazamiento horizontal máximo del extremo superior de una columna de la estructura provista del sistema de disipación de energía. Se puede observar que el desplazamiento máximo se reduce aproximadamente 40% respecto del caso original. El ciclo de histéresis de uno de los disipadores, ubicado en un punto paralelo a la dirección de excitación se muestra en la Figura 15. Similarmente, en la Figura 16 se observa que cuando se instala el sistema de aislación sísmica, el desplazamiento relativo horizontal máximo entre ambos extremos de la columna se reduce al 15% del obtenido originalmente.

## Conclusiones

Con el objeto de mejorar el comportamiento sísmico de dos estructuras con tipologías diferentes y diseñadas convencionalmente, se implementaron dos nuevas tecnologías de protección sísmica, un sistema de disipación de energía externa y un sistema de aislación sísmica. Se determinaron las respuestas dinámicas para una estructura tipo pórtico de acero con tres vanos y diez pisos y para un contenedor esférico de líquido con y sin sistemas de protección.

Entre los dos sistemas innovadores de protección sísmica estudiados se confirmó, por simulación numérica, que la aislación sísmica es el más eficiente en términos de reducción de desplazamientos en ambas estructuras estudiadas, alcanzando valores de reducción del orden de 6 veces. Sin embargo, aunque la aislación sísmica es relativamente fácil de instalar en estructuras nuevas, su implementación en estructuras existentes es mucho más difícil y onerosa que el sistema de disipación de energía. Con este último sistema se alcanzaron reducciones en desplazamientos del orden del 40%.

Si bien en este trabajo se utilizó solo un registro sísmico, para diseñar sistemas de protección, es recomendable realizar un estudio más amplio que incluya varios registros que representen las condiciones particulares de la zona de emplazamiento de la estructura.

## Agradecimientos

El autor agradece el soporte financiero de CONICET y Universidad Nacional de Cuyo.

## Referencias

- [1] T.T. Soong & G.F. Dargush. *Passive Energy Dissipation Systems in Structural Engineering*. John Wiley & Sons, 1997.
- [2] J.M. Kelly, *Soil Dynam. Earthquake Engrg.* **5**, 202 (1986).
- [3] J.M. Kelly, R.I. Skinner & A.J. Heine, *Bull. N.Z. Soc. Earthquake Engrg.*, **5**, 63 (1972).
- [4] R.J. Skinner, J.M. Kelly & A.J. Heine, *Earthquake Engrg. and Structural Dynamics*, **3**, 287 (1975).
- [5] R.J. Skinner, R.G. Tyler, A.J. Heine & W.H. Robinson, *Bull. N.Z. Soc. Earthquake Engrg.*, **13**, 22 (1980).
- [6] D.M. Bergman & S.C. Goel, Report No UMCE 87-10, The Univ. of Michigan, Ann Arbor, MI (1987).
- [7] A. Wittaker, V. Bertero, J. Alonso, & C. Thompson, Report No UCB/EERC-89/02, Earthquake Engineering Reserch Center, University of California at Berkeley, CA. (1989).
- [8] A.S. Wittaker, V.V. Bertero, C.L. Thompson, & L.J. Alonso, *Earthquake Spectra*, **7**, 563 (1991).
- [9] G.F. Dargush & T.T. Soong, *Earthquake Spectra*, **11**, 545 (1995).
- [10] C.S. Tsai & K.C. Tsai, *J. Engrg. Mech.*, ASCE, **121**, 1075 (1995).
- [11] W.H. Robinson & Greenbank, *Earthquake Engrg. Struct. Dynamic*, **4**, 251 (1976).
- [12] M.D. Monti & W.H. Robinson, *Proc. of the Eleventh WCEE*, Acapulco, Mexico (1996).
- [13] O. Curadelli & J.D. Riera, *Mech. Engrg. Sci.* **221**, 159 (2007).
- [14] O. Curadelli & J.D. Riera, *Eng. Struct.* **26**, 1931 (2004).



- [15] O. Curadelli, *Eng. Struct.* (en revisión) (2010).
- [16] I.D. Aiken & J.M. Kelly, Report no. UCB/EERC'90/03, EERC, Univ. of California at Berkeley (1990).
- [17] I.D. Aiken, *et al.*, *Earthquake Spectra*, **9**, 335 (1993).
- [18] R. Levy, E. Marianchik, A. Rutenberg & F. Segal, *Engrg. Struct.* **23**, 250 (2001).
- [19] I.H. Mualla & B. Belev, *Eng. Struct.* **24**, 365 (2002).
- [20] B. Wu, J. Zhang, M.S. Williams & J. Ou, *Eng. Struct.* **27**, 1258 (2005).
- [21] S.T. De la Cruz, F. Lopez-Almansa & S. Oller, *Comput. Struct.* **85**, 30 (2007).
- [22] K.W. Min, J. Kimb & S.H. Lee, *Eng. Struct.* **26**, 83 (2004).
- [23] X.Y. Wang, Y.Q. Nib, J.M. Kob & Z.Q. Chen, *Eng. Struct.* **27**, 792 (2005).
- [24] Hwang Jenn-Shin, Tsai Chun-Hsiang, Wang Shiang-Jung & Huang Yin-Nan, *Eng. Struct.* **28**, 1816 (2006).
- [25] J. Mark, D. Thambiratnam & N. Perera, *Eng. Struct.* **26**, 1939 (2004).
- [26] M.G. Castellano, A. Poggianti & P. Summers, *First European Conference on Earthquake Engineering and Seismology*. Geneva, Switzerland, 3-8 September Paper Number: 1001 (2006).
- [27] R.I. Skinner, W.H. Robinson & G.H. McVerry, *An Introduction to Seismic Isolation*. John Wiley & Sons, Chichester (1993).
- [28] J.M. Kelly, *Earthquake-Resistant Design With Rubber*. Springer, New York (1993).
- [29] F. Naeim & J.M. Nelly, *Design of Seismic Isolated Structures*. John Wiley & Sons, Chichester (1999).
- [30] R.S. Jangid & T.K. Datta, *Struct. Buildings*, **110**, 186 (1995).
- [31] Celebi/Mehmet, *The Structural Design of Tall Buildings*, **5**, 95 (1996).
- [32] T.K. Crandall, S. Lee & J.H. Williams, *ASME J. Appl. Mech.* **41**, 1094 (1974).
- [33] N. Mostaghel & M. Khodaverdian, *Earthquake Engrg. Struct. Dynam.* **15**, 379 (1987).
- [34] L. Su, G. Ahmadi & I.G. Tadjbakhsh, *Probab. Engrg. Mechan.* **5**, 35 (1990).
- [35] M.C. Constantinou & A.S. Papageorgiou, *Probab. Engrg. Mechan.* **5**, 27 (1990).
- [36] B.C. Lin, I.G. Tadjbakhsh, A.S. Papageorgiou & G. Ahmadi, *ASCE J. Engrg. Mech.* **116**, 446 (1990).
- [37] R.S. Jangid & J.M. Kelly, *Earthquake Engrg. Struct. Dynam.* **30**, 691 (2001).
- [38] R.S. Jangid, *Eng. Struct.* **29**, 2503 (2007).
- [39] Y.M. Wu & B. Samali, *Eng. Struct.* **24** 1203 (2002).
- [40] C.S. Tsai, Po-Ching Lu, Wen-Shin Chen, Tsu-Cheng Chiang, Chen-Tsung Yang & Yung-Chang Lin, *Eng. Struct.* **30**, 2321 (2008).
- [41] C.C. Spyarakos, I.A. Koutromanos & C.A. Maniatakis, *Soil Dynam. Earthquake Engrg.* **29**, 658 (2009).
- [42] C.C. Spyarakos, C.A. Maniatakis & I.A. Koutromanos, *Eng. Struct.* **31**, 729 (2009).
- [43] V. Kilar & D. Koren, *Eng. Struct.* **31**, 910 (2009).
- [44] V. Bertero, S. Mahin & R. Herrera, *Earthquake Engrg. Struct. Dynam.* **6**, 31 (1978).
- [45] U.B.C. Uniform Building Code. vol. 1-3, 1997.

*Manuscrito recibido el 15 de abril de 2010.  
Aceptado el 15 de julio de 2010.*

## DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE SUPERFICIES FUNCIONALES

Federico J. Williams

Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.  
Instituto de Química Física de los Materiales, Medio Ambiente y Energía (INQUIMAE), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. E-mail: fwilliams@qi.fcen.uba.ar

### Resumen

La funcionalización de superficies tiene un papel central en la generación de nuevas tecnologías. Además es un tema que posee una gran importancia académica. En este trabajo de revisión repasamos las líneas de investigación en la que hemos incursionado en los últimos cuatro años en el fascinante campo de la funcionalización de superficies. En el mismo mostramos como se pueden diseñar las superficies de micro y nanopartículas para la deposición de películas superhidrofóbicas sobre acero. También mostramos como la funcionalización química de la superficie de nanoporos en materiales mesoporosos genera membranas permeoselectivas. Utilizamos autoensamblados capa por capa para generar superficies que fijan el potencial de corrosión del acero en el rango de pasivación impidiendo un crecimiento mayor de la capa del óxido. Finalmente diseñamos un método para la funcionalización de superficies de geometrías complejas con nanopartículas metálicas generando nuevos nanocatalizadores de mejor performance.

*Palabras clave:* química de superficies, superficies funcionales, membranas permeoselectivas, superficies superhidrofóbicas, nanocatalizadores.

### Abstract

**Functional surfaces synthesis and characterization.** The addition of specific chemical functions to surfaces plays a central role in the generation of new technologies. Furthermore, it is a subject of great academic importance. In this review we described the major research lines carried out over the past four years in this fascinating field. We describe the rational design of micro and nanoparticles used in the creation of steel superhydrophobic surfaces. We also show how to create permeoselective membranes via the nanopores surface chemical modification in mesoporous materials. We used layer-by-layer self-assembled monolayers to create thin films that fix the corrosion potential in the steel passivity range, therefore impeding any further oxidation of the underlying oxide. Finally we design a new electrochemical method to deposit metallic nanoparticles uniformly in substrates of complex geometries creating new nanocatalysts of improved performance.

*Key words:* surface chemistry, functional surfaces, permeoselective membranes, superhydrophobic surfaces, nanocatalysis.

### Introducción

La química de superficies tiene un rol central en áreas de gran interés académico e importancia industrial. El estudio de fenómenos superficiales es altamente relevante para la resolución de problemas como la corrosión y lubricación hasta la generación de tecnologías con alto valor agregado como la bio y la nanotecnología o el desarrollo de nuevos y más eficientes cataliza-

dores heterogéneos. También es importante para comprender el comportamiento de dispositivos electrónicos y la reducción de la capa de ozono en la estratosfera. Siendo además crucial en los campos de la electroquímica, los coloides, la óptica y en el uso de membranas y biosensores.

Las superficies de metales y semiconductores son frecuentemente modificadas químicamente para generar nuevas propiedades y

funciones que tienen un impacto muy grande en la generación de recubrimientos inteligentes, biosensores, catalizadores, dispositivos ópticos, nuevos métodos de diagnósticos y terapéuticos. Para lograr este objetivo se han desarrollado muchas estrategias que incluyen el uso de autoensamblados moleculares, los autoensamblados capa por capa de polielectrolitos, los cepillos moleculares, etc. En este trabajo mostramos como se pueden utilizar estas estrategias para diseñar superficies con nuevas propiedades.

## Resultados y Discusión

### Superficies Superhidrofóbicas.

Las superficies autolimpiantes que aparecen elegantemente en la Naturaleza, como la hoja de la flor del Loto [1], se deben a una combinación entre especies de baja energía superficial y una topografía peculiar basada en una rugosidad de dos tamaños: la escala más grande consiste en una estructura rugosa de 10-20  $\mu\text{m}$ , mientras que la escala más fina se encuentra sobre la escala más grande en el rango de los 100 nm [2]. Esta estructura de tamaño dual es vital para generar la superhidrofobicidad de la hoja de la flor del loto. Existen muchos intentos de replicar estas estructuras para preparar superficies superhidrofóbicas imitando a la hoja de la flor del loto [3-8]. La mayoría de las preparaciones involucra condiciones estrictas, materiales caros y condiciones de procesamiento que incluyen el ataque con plasma, la deposición química de vapor, electrodeposición, calcinación y el uso de moldes. Muchas de las películas poliméricas superhidrofóbicas están compuestas de polímeros no entrecruzados termoplásticos que son vulnerables al ataque del medio ambiente (e.g. solvente, calor). Por lo tanto los usos de películas superhidrofóbicas son más bien limitados.

En esta sección mostramos como se pueden generar películas superhidrofóbicas sobre superficies industrialmente importantes como las superficies de acero utilizando métodos sencillos. A su vez el recubrimiento superhidrofóbico está diseñado para unirse fuertemente a la superficie del metal generando un sistema robusto y estable. Para lograr esto se diseñaron y sintetizaron micro y nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  que poseen grupos funcionales capaces de generar múltiples uniones covalentes con la superficie de acero (grupos diazonio). Al unir partículas con tamaños en la micro escala seguido de partículas con tamaños en la nanoescala se logra una película con una rugosidad dual y por lo tanto una película superhidrofóbica estable y robusta sobre la superficie de acero.

La Figura 1A muestra la ruta de reacción empleada para sintetizar micro y nanopartículas funcionalizadas con grupos diazonio a partir de partículas de  $\text{SiO}_2$  np1. El paso 1 involucra la funcionalización de las nps con grupos amino por reacción con APS. En el paso 2 los grupos amino reaccionan con anhídrido succínico para generar funcionan carboxilato. Las mismas son luego amidadas con una fenildiamina (paso 3) para obtener una anilina. Este compuesto es finalmente convertido a tetrafluoroborato diazonio en el paso 4. Los detalles precisos de la síntesis se encuentran en la literatura [9].

La Figura 1B muestra los espectros de los productos np1 a np5. Todos los espectros muestran picos en 3430 y 952  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes al estiramiento de Si-OH, y picos en 1106 y 792  $\text{cm}^{-1}$  asignados a vibraciones de los grupos Si-O-Si y Si-O respectivamente [10]. Los estiramientos C-H de grupos alquilos se observa en todas las mediciones en 2930  $\text{cm}^{-1}$ . La presencia de estiramientos C-H en el caso de  $\text{SiO}_2$  no funcionalizado indica una hidrólisis incompleta de TEOS durante la síntesis de np1. El pico en 1620  $\text{cm}^{-1}$  se puede deber a agua adsorbida [10] y también se encuentra presente en todos los casos. Los espectros correspondientes a np2 deberían mostrar señales de estiramiento N-H en 3200-3500  $\text{cm}^{-1}$ . Las mismas son apenas distinguibles debido al solapamiento con la señal del Si-OH. Además observamos un pico en 1568  $\text{cm}^{-1}$  que se puede asignar al catión amonio. Los espectros de las partículas np3 muestran los picos de estiramiento de los grupos carbonilos. El pico en 1715  $\text{cm}^{-1}$  confirma la presencia de grupos carboxilato mientras que el pico en 1642  $\text{cm}^{-1}$  confirma la formación de la unión amida. Los espectros de las nanopartículas modificadas con anilinas (np4) muestran un pico fuerte en 1642  $\text{cm}^{-1}$  y una reducción del pico de 1715  $\text{cm}^{-1}$  sugiriendo la amidación de los grupos carboxilato. Este espectro también sugiere la presencia de la anilina debido a bandas en 1520 y 1570  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a las vibraciones C-C de los carbonos aromáticos. Además se observa un pico en 826  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a vibraciones C-H en grupos aromáticos para y di sustituidos. El espectro correspondiente a np5 muestra un pico en 2230  $\text{cm}^{-1}$  que no está presente en ningún otro espectro y que se debe a la vibración por estiramiento del grupo diazonio  $\text{N}_2^+$ . Esto demuestra que la reacción de diazotación ocurrió adecuadamente. Los datos de DRIFTS mostrados en conjunto con datos de XPS y NMR [9] demuestran que las reacciones mostradas en el esquema de la Figura 1A suceden de acuerdo a lo planteado generando en los distintos pasos nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  funcionalizadas con: (i)

amina, (ii) ácido carboxílicos, (iii) anilinas, (iv) diazonio.

Los tamaños de las partículas de  $\text{SiO}_2$  funcionalizadas con grupos diazonio (np5) fueron evaluados por SEM y TEM. Análisis por SEM muestra un tamaño medio de nanopartícula con un diámetro de  $134 \pm 12$  nm. Mediciones TEM

(ver Figura 1C) muestran un diámetro medio de  $133 \pm 10$  nm.

Depositamos las nanopartículas funcionalizadas con grupos diazonio sobre superficies de Fe ya que se sabe que se establece un enlace covalente entre el radical generado luego de la liberación de  $\text{N}_2$  y la superficie [11].

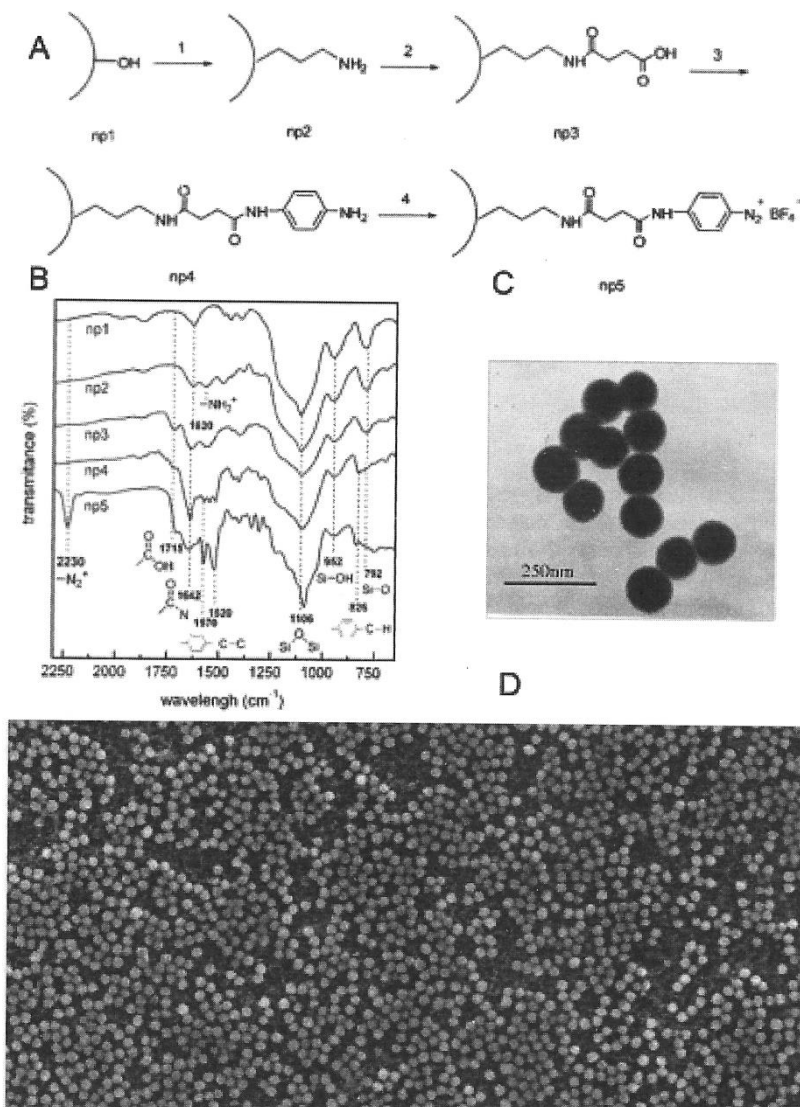


Fig. 1. (a) ruta de reacción empleada para la funcionalización de las micro y nanopartículas de  $\text{SiO}_2$ , (b) espectros DRIFT de las nanopartículas en función de los pasos de reacción: np1  $\text{SiO}_2$ , np2 terminada en amino, np3 terminada en ácido carboxílico, np4 terminada en fenil amino y np5 terminada en diazonio, (c) imagen TEM de nanopartículas funcionalizadas con grupos diazonio np5 y (d) imagen SEM de la deposición espontánea de np5 sobre superficies de Fe.

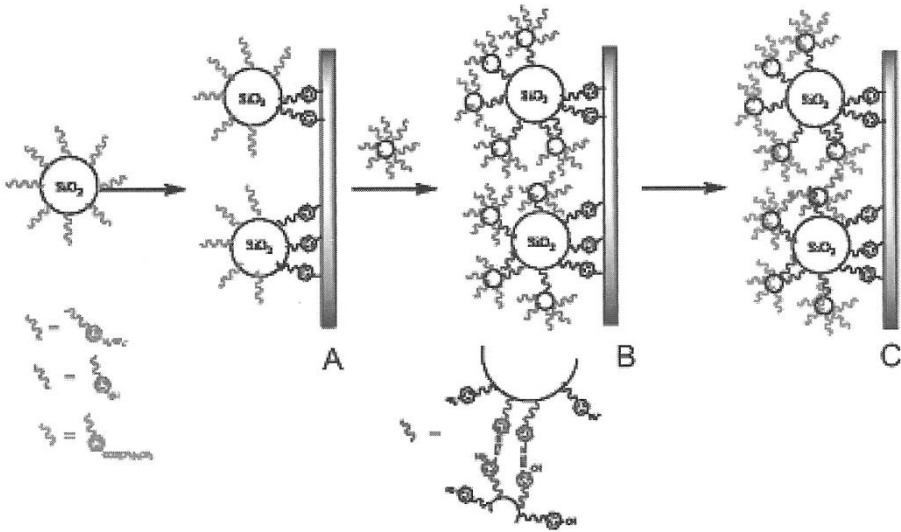


Fig.2. La deposición de micropartículas funcionalizadas con grupos diazonio (A) seguida por la deposición de nanopartículas funcionalizadas con grupos fenol (B) crea una superficie con una rugosidad en la micro y nanoescala. La posterior reacción con una molécula fluorada crea una superficie superhidrofóbica (C).

La Figura 1D muestra una imagen SEM representativa para la deposición de nanopartículas de diazo-SiO<sub>2</sub>. El mismo procedimiento se repitió con micropartículas de diazo-SiO<sub>2</sub> de 1.4 μm. En ambos casos se observa una deposición de partículas de SiO<sub>2</sub> uniforme sobre la superficie de Fe. De acuerdo a estudios previos esperamos la formación de múltiples enlaces covalentes entre las partículas de SiO<sub>2</sub> y la superficie de Fe [12]. Las superficies de Fe modificadas con micro y nanopartículas fueron sometidas a enjuagues exhaustivos con acetona, alcohol isopropílico, cloroformo y etanol. También fueron sonicadas en acetona y en solución de NaCl 5% durante una noche. En todos los casos no se observaron cambios en las imágenes SEM y por lo tanto proponemos la formación de múltiples enlaces covalentes entre las micro y nanopartículas de SiO<sub>2</sub> y las superficies de acero.

A partir de estos resultados planteamos la deposición de una película con dos rugosidades (macro rugosidad en la microescala y rugosidad fina en la nanoescala) sobre superficies de acero siguiendo el esquema mostrado en la Figura 2. Para esto utilizamos micropartículas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas con grupos diazonio que depositamos sobre superficies de acero. Luego depositamos nanopartículas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas con grupos fenol (en lugar de diazotar np4 reaccionamos la

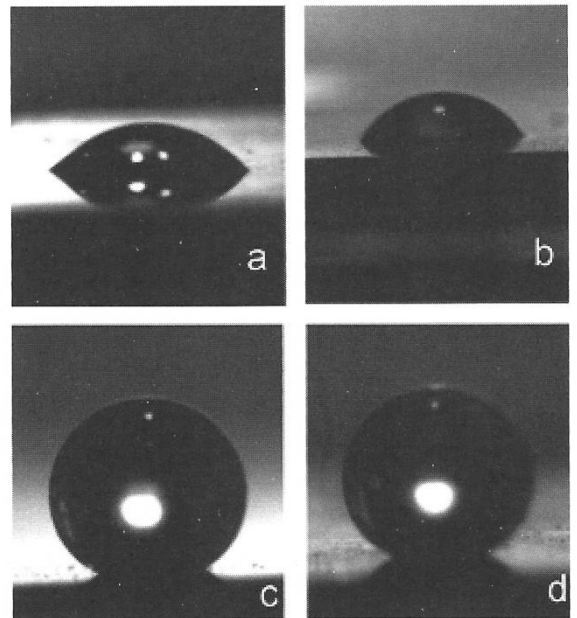


Fig. 3. Ángulo de contacto  $\theta$  de una gota de agua sobre (a) superficie de Fe  $\theta = 22^\circ$ , (b) superficie de Fe funcionalizada con micropartículas (esquema A en Figura 2)  $\theta = 70^\circ$ , (c) superficie de Fe funcionalizada con micro y nanopartículas (esquema C en Figura 2)  $\theta = 155^\circ$  y (d) ídem (c)  $\theta = 163^\circ$ .

anilina para formar un grupo fenol) que reaccionan con las uniones diazonio remanentes de las micropartículas. Esto genera una película con la rugosidad dual requerida. Finalmente se baja la energía superficial depositando una molécula fluorada. El comportamiento de la película superhidrofóbica se muestra en la Figura 3 donde se mide el ángulo de contacto  $\theta$  de una gota de  $H_2O$  con las distintas superficies. La Figura 3a muestra que para la superficie de acero  $\theta = 22^\circ$  consistente con la naturaleza hidrofílica de la misma. A su vez cuando la superficie de acero es funcionalizada con micropartículas de diazo-SiO<sub>2</sub>  $\theta = 22^\circ$  (Figura 3b). Finalmente el ángulo de contacto correspondiente al recubrimiento obtenido luego de unir fuertemente micro y nanopartículas a la superficie de acero es de  $163^\circ$  (Figuras 3c y 3d). Es decir se observa un comportamiento de superhidrofobicidad similar al de la hoja de la flor del loto.

En esta sección mostramos como la funcionalización de las superficies de nanopartículas puede generar recubrimientos superhidrofóbicos estables y robustos sobre materiales industrialmente relevantes como el acero.

### Superficies Permelectivas

La generación de superficies que discriminan el transporte de cationes y aniones, i.e. permelectividad, es un mecanismo intrínseco de la naturaleza y se puede observar por ejemplo en la piel [13] o en la cornea [14] del hombre. Cuando tratamos con materiales sintéticos, se han utilizado diferentes estrategias para lograr este objetivo. La funcionalización de las superficies de sustratos nanoporosos como sílice [15] o de películas mesoporosas [16] ha demostrado ser una alternativa viable para la construcción de plataformas tipo membranas con propiedades fisicoquímicas destacables. Las películas mesoporosas ordenadas son particularmente atractivas debido a que el procedimiento sol-gel genera capas robustas de espesor controlado con alta porosidad y con tamaño de poro regulable sobre casi cualquier sustrato [17].

Hasta ahora, la manipulación de las propiedades permelectivas de películas mesoporosas dependía exclusivamente del uso de ensamblados moleculares e involucraba un número limitado de funciones químicas. La polaridad y magnitud de las cargas superficiales en el interior del nanoporo tiene un impacto muy grande en las propiedades de transporte [18]. De acuerdo a esto, el desarrollo de nuevas estrategias para manipular las funciones químicas dentro de los poros de las películas mesoporosas es de especial importancia. En esta sección describimos el uso de cepillos de polielectrolitos para

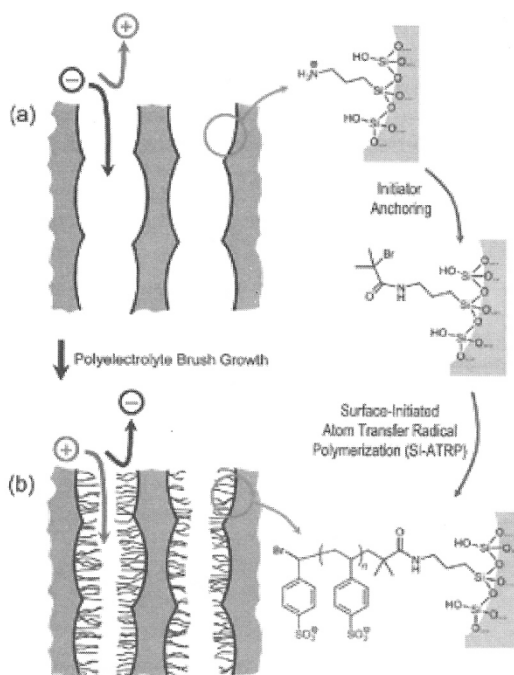


Fig. 4. Descripción esquemática del interior de los poros de la película mesoporosa de SiO<sub>2</sub> funcionalizada con grupos amino (a) antes y (b) después de la formación de cepillos de poliestirensulfonato mediante la polimerización radicalaria de transferencia atómica inicializada por la superficie.

la manipulación de las propiedades permelectivas de películas mesoporosas. Esto se muestra en la Figura 4 que describe esquemáticamente el interior de los poros de la película mesoporosa de SiO<sub>2</sub> funcionalizada con grupos amino (a) antes y (b) después de la formación de cepillos de poliestirensulfonato mediante la polimerización radicalaria de transferencia atómica inicializada por la superficie. La funcionalización de los poros de las películas mesoporosas fue corroborada con XPS. La Figura 5 muestra espectros XPS de las películas de SiO<sub>2</sub> mesoporoso funcionalizadas con grupos amino (amino-SiO<sub>2</sub>) y con poliestirensulfonato (PSS-SiO<sub>2</sub>). La Figura 5a muestra los espectros de N 1s. La señal correspondiente a amino-SiO<sub>2</sub> tiene dos contribuciones correspondientes a grupos -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> en 401.7 eV y a grupos -NH<sub>2</sub> en 400.1 eV. Por otro lado la señal correspondiente a PSS-SiO<sub>2</sub> confirma que los grupos amino superficiales reaccionaron para generar enlaces amida en el proceso de funcionalización de los poros con cepillos de PSS. A su vez la presencia de los grupos sulfonato en los poros de PSS-SiO<sub>2</sub> se muestra en el espectro XPS de S 2p (168.2 eV) en la Figura 5b.



El transporte de especies iónicas a través de las películas mesoporosas fue estudiado electroquímicamente utilizando especies cargadas electroactivas que difunden a través de la película mesoporosa depositada sobre sustratos conducto-

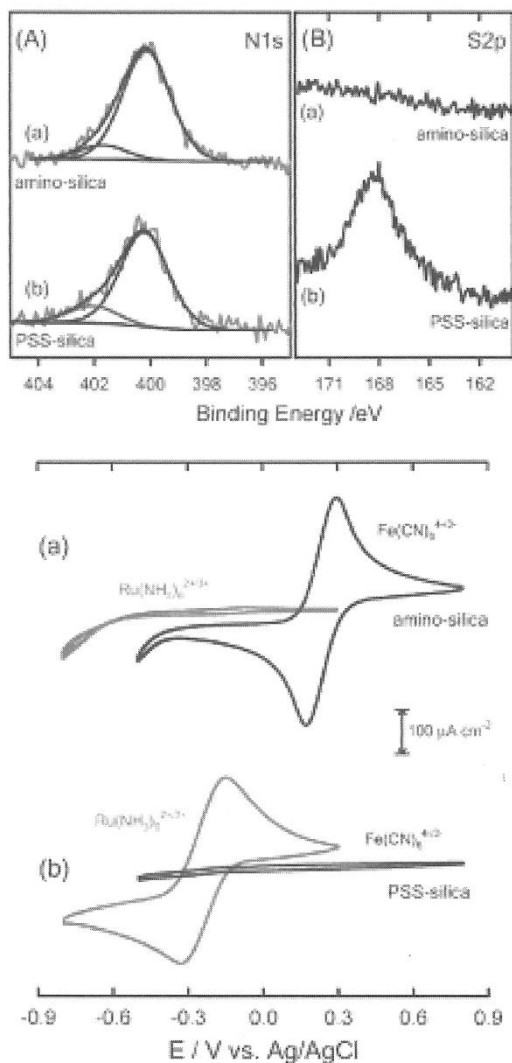


Fig. 5. (Arriba) Espectros XPS de (A) N 1s y (B) S 2p correspondientes a (a) película mesoporosa de silica funcionalizada con grupos amino, (b) película mesoporosa de silica modificada con cepillos de PPS. La curva azul indica la señal correspondiente a los enlaces amida (BE = 402.1 eV). (Abajo) Voltamogramas correspondientes a (a) película mesoporosa de silica funcionalizada con grupos amino, (b) película mesoporosa de silica modificada con cepillos de PPS en presencia de 1 mM de  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  (curvas rojas) y  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  (curvas azules).

res. La figura 5c muestra los voltamogramas de amino-SiO<sub>2</sub> y PSS-SiO<sub>2</sub> obtenidos en presencia de 1mM  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  y 1 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ . En el caso de amino-SiO<sub>2</sub> (poros cargados positivamente con grupos amonio) se observa la respuesta electroquímica de los iones  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  mientras que la respuesta de los iones  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  no se detecta. Esto implica que la película mesoporosa de amino-SiO<sub>2</sub> está actuando como una membrana permselectiva eficiente impidiendo el transporte de especies catiónicas debido a la carga positiva de las paredes de los nanoporos con grupos  $-\text{NH}_3^+$ . Por otro lado, en el caso de PSS-SiO<sub>2</sub> (poros cargados negativamente con grupos sulfonato) se invierte el comportamiento observándose una clara respuesta electroquímica debido al transporte de los iones  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  y no se detecta la respuesta a los iones  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ . La carga negativa de los nanoporos funcionalizados con grupos sulfonato en la película mesoporosa permite el transporte catiónico e impide el transporte aniónico.

En esta sección mostramos como la funcionalización de las superficies de nanoporos pueden controlar las propiedades permselectivas de materiales mesoporosos.

### Superficies modificadas con autoensamblados capa por capa

Películas ultra delgadas de polielectrolitos pueden ser depositadas sobre diferentes superficies utilizando la técnica de autoensamblado capa por capa (LbL SA). Los pasos de adsorción se autorregulan y por lo tanto se logra un dominio preciso de las estructuras de las multicapas en la nanoescala con un muy buen control de la composición y el espesor. Además se pueden autoensamblar películas de polielectrolitos que contienen sitios redox activos.

A pesar del gran potencial tecnológico de las películas autoensambladas capa por capa, existen pocos ejemplos de su uso sobre superficies cubiertas con óxidos. Bruening y otros autoensamblaron multicapas de polialilamina (PAH) y ácido poliacrílico (PAA) que luego entrecruzaron formando uniones amida entre las distintas capas sobre aluminio con una capa natural de óxido delgada [19]. Schlenoff y otros mostraron que multicapas autoensambladas de polidialildimetilamonio (PDDA) y poliestireno sulfonato (PSS) depositadas sobre acero inoxidable suprimen la corrosión en soluciones con cloruros [20]. Wang y otros autoensamblaron clusters de molibdeno sobre electrodos de óxido de estaño e indio y estudiaron sus propiedades electroquímicas [21].

En el trabajo descrito en esta sección se demuestra la posibilidad de modificar superficies de acero pasivo con autoensamblados capa por

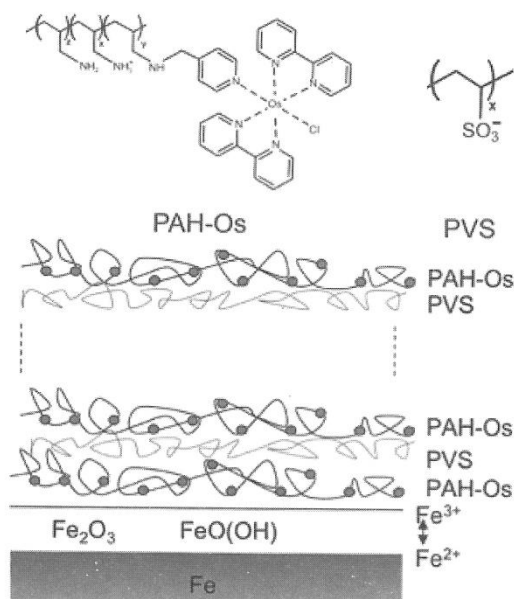


Fig. 6. (Arriba) Estructura molecular del poliacrilato de osmio (PAH-Os) y del polianión (PVS). (Abajo) Esquema que muestra el autoensamblado capa por capa de PAH-Os / PVS sobre Fe pasivo.

capa de multicapas de polielectrolitos. Para esto se utilizó un complejo de Os electroquímicamente activo que se encuentra unido al esqueleto del polielectrolito polialilamina (PAH-Os) y se investigó el proceso de transferencia de electrones entre el metal y el polímero de Os adsorbido a través de la capa de óxido pasivo con un espesor mayor a la distancia de tunelaje directo. Esto se indica en la Figura 6 que muestra la estructura molecular del polianión ácido polivinilsulfonato (PVS) y del poliacrilato de osmio Os-(bby)2ClPyCH2NH-polialilamina (PAH-Os) que se autoensamblaron capa por capa sobre acero pasivo para formar películas de polielectrolitos PAH-Os / PVS.

El espesor de la capa pasiva se calculó mediante mediciones elipsométricas in situ en función del tiempo mientras que la capa pasiva se hacía crecer electroquímicamente. La Figura 7A muestra el espesor de la capa pasiva en función del tiempo. La misma crece rápidamente durante los primeros segundos para alcanzar una valor constante que después de 30 minutos de pasivación electroquímica es de  $\sim 5.5$  nm.

La Figura 7B muestra el espesor de la película de autoensamblada de polielectrolitos sobre acero pasivado en función del número de capas depositadas (números impares (pares) corresponden a capas terminadas con PAH-Os

(PVS)). Los círculos abiertos muestran el valor del espesor calculado a partir de la atenuación de la señal de Fe 2p XPS y los círculos llenos muestran el valor elipsométrico. Solo las primeras capas superficiales pueden ser muestreadas con XPS y por lo tanto solo se puede usar para calcular el espesor de películas relativamente delgadas. Debe hacerse notar el acuerdo excelente entre los datos de espesor calculados por XPS y los elipsométricos. La Figura 7B muestra que la velocidad de crecimiento del espesor crece con el número de capas depositadas: para películas delgadas (hasta 10-13 capas, aprox. 30 nm) la velocidad de crecimiento del espesor es menor que para capas más gruesas (más de 13 capas). El mismo comportamiento se observó durante el autoensamblado de PAH-Os / PVS sobre sustratos de Au [22] y se puede atribuir a la influencia del sustrato en el crecimiento de las películas delgadas de polielectrolitos.

La Figura 7Ca muestra voltamogramas de electrodos de acero pasivo sin funcionalizar (línea punteada), con (PAH/PVS)4/PAH (línea entrecortada) y con (PAH-Os/PVS)4/PAH-Os (línea llena). Tanto el electrodo de acero pasivo sin funcionalizar como el electrodo funcionalizado con el autoensamblado sin el complejo de Os dan una línea base sin picos de oxidación/reducción en el rango de potencial muestreados ( $-0.1$  a  $0.8$  V). Por otro lado, los electrodos de acero pasivo funcionalizados con (PAH-Os/PVS)4/PAH-Os muestran un pico de oxidación en  $0.5$  V debido a la oxidación de Os $^{2+}$  a Os $^{3+}$  y el correspondiente pico de reducción a  $0.12$  V. La Figura 7Ca muestra que (i) la película de polielectrolitos se autoensambla sobre la superficie pasiva y (ii) la señal electroquímica se origina exclusivamente en el complejo de Os. La Figura 7Cb muestra voltamogramas de películas de (PAH-Os/PVS)4/PAH-Os ensambladas sobre electrodos de Au (línea punteada) y sobre electrodos de acero pasivo (línea llena). Cuando la película de polielectrolito se autoensambla sobre superficies de Au no hay diferencia entre las posiciones de los picos de oxidación y reducción, indicando que en este caso el proceso de oxidoreducción es reversible. De otro modo, cuando la película de polielectrolito se autoensambla sobre acero pasivo hay una separación importante entre los picos de oxidación y reducción que es consistente con una voltametría irreversible debido a un flujo de electrones limitado en la superficie de óxido de hierro. La densidad de carga típica del Os es del orden de  $2.3 \times 10^{-4}$  C cm $^{-2}$  en ambos casos lo que indica que el mismo número de iones Os son los que se reducen y oxidan sobre Au y acero. Se debe remarcar que la separación entre los picos de re-

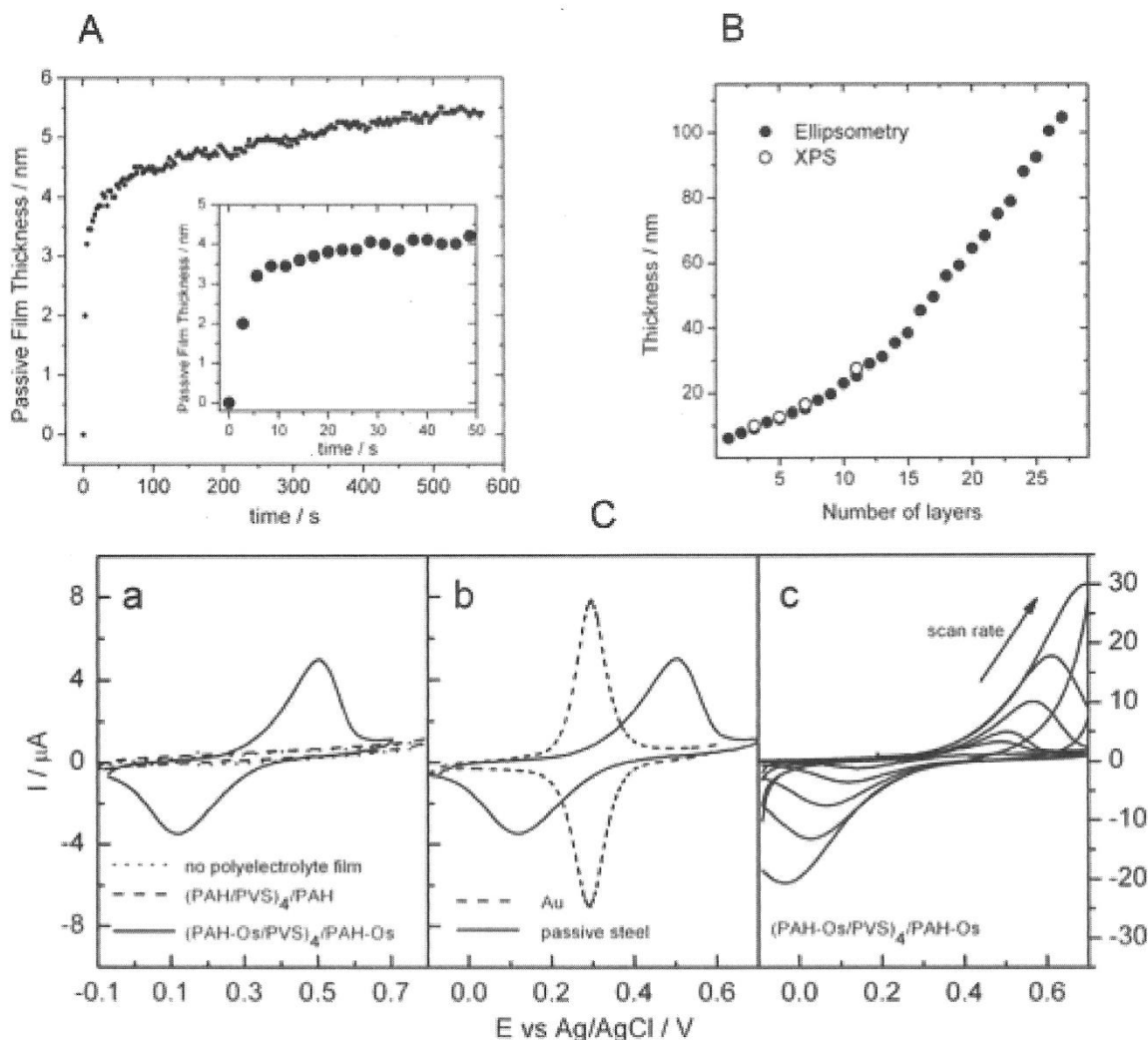


Fig. 7. (A) Espesor de la película pasiva de acero en función del tiempo medida con elipsometría in situ. (B) Espesor de la película autoensamblada sobre acero pasivado en función del número de capas depositadas calculado con XPS y con elipsometría. (C) Voltamogramas de (a) electrodos de acero pasivado sin funcionalizar (línea punteada), funcionalizado con (PAH/PVS)<sub>4</sub>/PAH (línea entrecortada) y funcionalizado con (PAH-Os/PVS)<sub>4</sub>/PAH-Os (línea llena); (b) autoensamblados de (PAH-Os/PVS)<sub>4</sub>/PAH-Os sobre electrodos de Au (línea punteada) y electrodos de acero pasivado (línea llena) y (c) autoensamblados de (PAH-Os/PVS)<sub>4</sub>/PAH-Os sobre acero pasivado en función de velocidades de barrido crecientes (de 5 mV/s a 100 mV/s).

ducción y oxidación (0.1 – 0.5 V) en la película de polielectrolito depositada sobre acero pasivo cae en el rango de potenciales de pasivación del acero (0 – 0.8 V) y que la velocidad de transferencia de electrones del metal subyacente a los sitios de Os se inhibe significativamente comparado con el mismo caso sobre superficies de Au. Como se acaba de mencionar los potenciales de oxidoreducción de la cupla presente en la capa de polielectrolito cae en el rango de potenciales de pasivación de la

película pasivada de óxido de hierro. Esto fijaría el potencial en este rango previniendo una mayor oxidación del hierro.

La Figura 7C muestra voltamogramas de películas de (PAH-Os/PVS)<sub>4</sub>/PAH-Os autoensambladas sobre acero pasivo en función de la velocidad de barrido. Claramente, la separación entre los picos de oxidación y reducción aumenta al aumentar la velocidad de barrido. Graficando los potenciales correspondientes a los picos anó-

dicos y catódicos  $E_p$  versus  $\ln r$  ( $r$ : velocidad de barrido) obtenemos una constante de velocidad de transferencia de electrones  $k = 3.1 \times 10^{-3}$  s<sup>-1</sup> mucho menor que la constante medida sobre electrodos de Au 8 s<sup>-1</sup> y 1870 s<sup>-1</sup> dependiendo del alcanotiol empleado [23]. Esto es consistente con una reacción de oxidoreducción lenta debido a la presencia de una película de óxido de hierro con un espesor mayor al de la distancia de tuneleo de 2 nm.

En esta sección mostramos que la funcionalización de superficies de acero con autoensamblados capa por capa de polielectrolitos que incorporan una dupla redox podría tener implicancias para la protección del acero contra la corrosión, dado que impediría una mayor oxidación del hierro subyacente.

### Superficies Funcionalizadas con Nanocatalizadores.

La deposición electroquímica es una ruta atractiva para la modificación de sustratos conductores con nanoestructuras metálicas funcionales [24-29]. La electrodeposición de nanopartículas pequeñas y monodispersas requiere limitar la difusión hacia el electrodo de los iones del metal para controlar la nucleación y crecimiento de los cristales. Se propusieron varias estrategias para lograr este objetivo, como utilizar moldes [27], pulsos de electrodeposición muy cortos [24-26, 29] o disminuir la difusión iónica aumentando la viscosidad de la solución [25]. Los nanocatalizadores de Pd son importantes debido a sus usos tecnológicos en celdas de combustible, electrosíntesis y sensores electroquímicos. Debajo describimos un nuevo método para electrodepositar nanopartículas de Pd desde iones de metales confinados en una película de multicapas de polielectrolitos (PEM) autoensamblados electro-estáticamente sobre electrodos de fibra de carbono. El electrocatalizador generado posee una eficiencia catalítica por mol de catalizador y una selectividad hacia el producto deseado más altas que electrodos modificados por electroreducción directa de iones Pd, como los usados rutinariamente en hidrogenaciones catalíticas [30-32].

Rubner, Chen y sus colaboradores fueron los primeros en describir un método que utiliza a PEMs como nanoreactores para crecer nanocristales a partir de iones de metales coordinados [33-35]. Multicapas autoensambladas electro-estáticamente fueron sumergidas en una solución de los cationes  $Ag^+$ ,  $Pb^{2+}$  o  $[Pd(NH_3)_4]^{2+}$  que se pueden unir a los grupos carboxilos del ácido poliácrico (PAA). Los cationes intercambiados que se incorporan en la película fueron subsecuentemente convertidos en nanopartículas

a través de una reacción química (i.e. reducción o sulfidación). Bruening et al desarrollaron un método alternativo donde los iones de Pd fueron codepositados durante la formación de las multicapas [36,37]. Utilizando coloide de alumina modificado de esta manera alcanzaron altas selectividades de hidrogenación de alcoholes insaturados [37].

En esta última sección informamos sobre el intercambio de  $PdCl_4^{2-}$  en una multicapa compuesta por autoensamblados de polialilamina (PAH) y ácido poliácrico (PAA) generando nanocatalizadores con alta selectividad. A diferencia del trabajo previo, en nuestro trabajo las nanopartículas fueron producidas sobre superficies de carbono mediante la reducción electroquímica en lugar de la reducción química. Esto presenta la gran ventaja de poder depositar nanopartículas metálicas sobre sustratos de geometrías complejas, además de evitar el uso de agentes reductores fuertemente solubles que elimina el problema de eliminación de residuos o la manipulación de hidrógeno gaseoso [33].

La figura 8A muestra una imagen SEM de fibras de carbono modificadas con (PAH/PAA)PAH PEM con dos ciclos de intercambio/reducción. Denotados (PAH/PAA)PAH + 2Pd siguiendo la nomenclatura de Rubner [34]. Esta figura muestra que no hay partículas de Pd con tamaño micrométrico sobre las fibras de carbono. Una imagen magnificada de las fibras de carbono (Figura 8B) revela la presencia de nanopartículas de Pd de  $6 \text{ nm} \pm 1 \text{ nm}$  de diámetro homogéneamente distribuidas. Un experimento de control muestra que las nanopartículas de Pd están ausentes en un electrodo de carbono desnudo expuesto a los ciclos de intercambio iónico seguido de reducción. La Figura 8C muestra cristales micrométricos preparados por electroreducción directa de soluciones de  $PdCl_4^{2-}$  por comparación. Películas de bajo espesor (Figura 8B) exhiben una distribución homogénea de nanopartículas de Pd, mientras que películas de mayor espesor (PAH4/PAA4)PAH + 4 Pd (Figure 8D) muestran una distribución no homogénea. En este último caso se observan dos regiones: películas continuas sin nanopartículas en la superficie y regiones delaminadas (probablemente debido al estrés mecánico causado por la evolución de hidrógeno) con una distribución de partículas homogénea. Por lo tanto las nanopartículas son preferentemente localizadas en la interfase electrodo/película. La reducción obtenida a partir de la transferencia de electrones desde el electrodo subyacente hacia los iones atrapados en la película está limitada a la distancia de tuneleo ( $d < 10 \text{ \AA}$ ) y por lo tanto los iones coordinados de

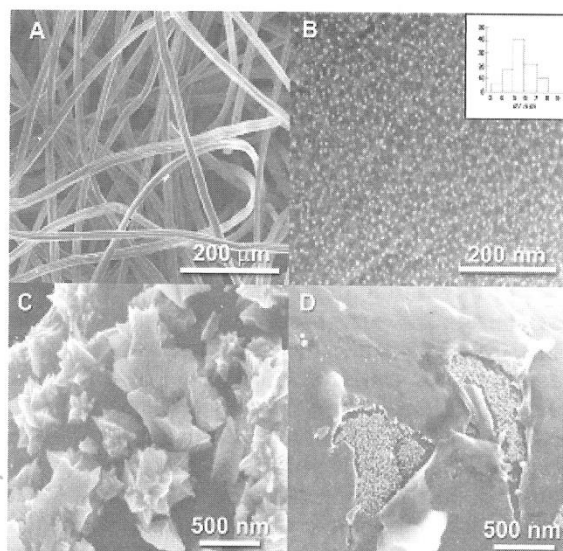


Fig. 8. Microscopía de barrido electrónico de electrodos de carbono modificados con: A. (PAH/PAA)PAH + 2 Pd (baja magnificación) B. (PAH/PAA)PAH + 2 Pd (alta magnificación) C. Electrodos modificados por electroreducción directa de PdCl<sub>4</sub><sup>2-</sup> a 300 mV por 180 s. D. (PAH<sub>4</sub>/PAA<sub>4</sub>)PAH + 4 Pd. En la muestra D, las nanopartículas de Pd se ven solo en las zonas delaminadas. Inclusión en B: Histograma de los diámetros de las nanopartículas de Pd.

Pd(II) deben acercarse al electrodo para poder ser reducidos. Esta es una marcada diferencia en relación al uso de agentes químicos reductores que pueden acceder homogéneamente la película entera [34, 35, 37].

La hidrogenación electrocatalítica es una alternativa interesante para la hidrogenación catalítica que permite la reducción de especies orgánicas insaturadas sin los riesgos de utilizar hidrógeno gaseoso. Las propiedades electrocatalíticas de las nanopartículas ((PAH<sub>2</sub>/PAA<sub>2</sub>)PAH + 2 Pd) y de las micropartículas fueron estudiadas con la reacción modelo de hidrogenación de acetofenona [31, 32]. El proceso se lleva adelante en un reactor batch de dos compartimientos monitoreando la banda de absorción n → π\* a 245 nm de la acetofenona, ausente en los productos de la reacción. La Figura 9 muestra como la concentración de acetofenona decae con los dos electrodos de un modo similar, esto es consistente con el hecho que ambos catalizadores tienen áreas electroquímicamente activas comparables. Como el contenido de Pd de los nanocatalizadores es la décima parte del que contienen el de las

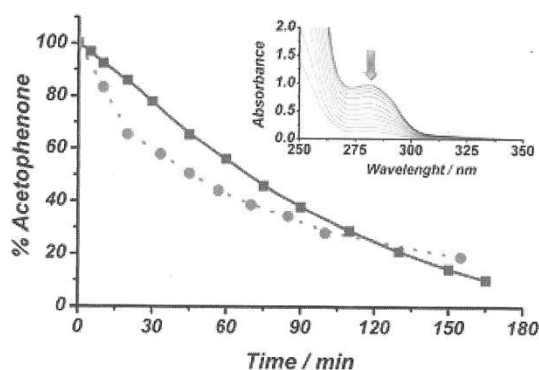


Fig. 9. Concentración de acetofenona determinada por espectroscopía UV en función del tiempo de electroreducción para el proceso batch a -500 mV usando un electrodo modificado con nanopartículas (PAH<sub>2</sub>/PAA<sub>2</sub>)PAH + 2 Pd (línea azul) o un microelectrodo generado por reducción directa de una solución acuosa de PdCl<sub>4</sub><sup>2-</sup> (línea punteada roja). Las áreas electroquímicamente activas son 28 cm<sup>2</sup> y 33 cm<sup>2</sup> respectivamente. Inclusión: Evolución temporal de la banda de acetofenona a 245 nm para el electrodo modificado con nanopartículas.

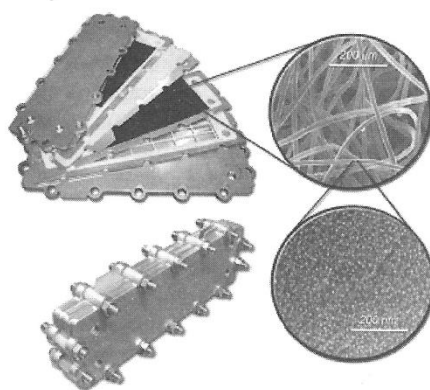


Fig. 10. Prototipo industrial de la celda electroquímica con electrodos modificados con nanopartículas de Pd.

micropartículas, la eficiencia por gramo de metal noble en el catalizador es mucho más alta en el nanocatalizador. En otras palabras, la mejora en eficiencia electrocatalítica es una consecuencia de la mayor relación de área: volumen que poseen las nanopartículas. Además, el análisis de HPLC de los productos de reacción muestra que el electrodo modificado con nanopartículas exhibe



un 100% de selectividad hacia la formación de feniletanol a 90% de conversión. Este resultado es destacable dado que el microcatalizador posee una selectividad del 84 % (16 % de etilbenceno como producto secundario) para una conversión similar. Este resultado está de acuerdo con los reportes de la literatura [31] que muestran que etilbenceno se obtiene en una proporción del 15 al 50%. Se ha sugerido en la literatura que etilbenceno y feniletanol son formados en canales paralelos sobre diferentes sitios activos, y por lo tanto la relación final dependerá de la proporción de cada sitio, que a su vez depende del tamaño de los cristales del catalizador. Debemos remarcar que en ambos catalizadores tanto la actividad catalítica como el área electroquímica superficial permanecen sin modificaciones después de 120 minutos de operación continua.

La Figura 10 muestra un prototipo industrial de la celda electroquímica que se ha desarrollado considerando la electroreducción de especies orgánicas, proceso de interés en la industria farmacéutica. Los electrodos en el prototipo son modificados con nanopartículas de Pd depositados siguiendo el procedimiento descrito arriba.

En esta sección mostramos un nuevo método para la funcionalización de superficies de sustratos con geometrías complejas con nanopartículas metálicas. Nuestros resultados demuestran que se puede electrodepositar homogéneamente nanopartículas metálicas dentro de multicapas de un polielectrolito en electrodos conductores de geometrías complejas. A su vez, los nanocatalizadores generados poseen una mejor performance electrocatalítica que los electrodos que contienen micropartículas.

## Conclusiones

En este trabajo hemos resumido los principales logros de nuestro grupo de investigación en el campo de la funcionalización de superficies. Mostramos como se pueden diseñar materiales con determinadas propiedades a partir del control sistemático de las funciones químicas presentes en sus superficies. De esta manera se han presentado ejemplos sobre la creación de superficies superhidrofóbicas y películas pasivantes sobre acero creando nuevos sistemas que podrían tener un impacto tecnológico en el campo de la protección contra la corrosión. También hemos descrito como generar membranas permselectivas a través del control de las funciones químicas unidas a los nanoporos de materiales mesoporosos. Finalmente presentamos un nuevo método para la deposición uniforme de nanopartículas metálicas sobre sustratos de geometría compleja, creando nuevos nanocatalizadores.

## Agradecimientos

Le agradezco a la Academia Nacional de Ciencias Físicas, Exactas y Naturales por el premio estímulo en Química 2009 que dedico a Carlos Guillermo Jorge Williams desaparecido el 17 de diciembre de 1976.

Los trabajos presentados en esta publicación se realizaron en conjunto con los siguientes investigadores: Dr. Galo Soler-Illia, Dr. Omar Azzaroni, Lic. Alejandra Calvo (Membranas Permselectivas), Dra María Joselevich (Superficies Superhidrofóbicas), Dr. Ernesto Calvo, Lic. Edgar Völker (Superficies Nanoestructuradas) y Dr. Mario Tagliazucchi (Nanocatalizadores). A todos ellos, mi mas profundo agradecimiento.

## Referencias

- [1] W. Barthlott & C. Neinhuis, *Planta* **1**, 202 (1997).
- [2] R. Blossey, *Nat. Mater.* **2**, 301 (2003).
- [3] R. Furstner, W. Barthlott, C. Neinhuis & P. Walzel, *Langmuir* **21**, 956 (2005).
- [4] S. Minko, M. Muller, M. Motornov, M. Nitschke, K. Grundke & M. Stamm, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 3896 (2003).
- [5] Q. Xie, J. Xu, L. Feng, L. Jiang, W. Tang, X. Luo & C. C. Han, *Adv. Mater.* **16**, 302 (2004).
- [6] Q. Xie, G. Fan, N. Zhao, J. Xu, J. Dong, L. Zhang, Y. Zhang & C. C. Han, *Adv. Mater.* **16**, 1830 (2004).
- [7] N. J. Shirtcliffe, G. McHale, M. I. Newton, G. Chabrol, & C. C. Perry, *Adv. Mater.* **16**, 1929 (2004).
- [8] X. T. Zhang, O. Sato, M. Taguchi, Y. Einaga, T. Murakami & A. Fujishima, *Chem. Mater.* **17**, 696 (2005).
- [9] M. Joselevich & F. J. Williams, *Langmuir* **24**, 11711 (2008).
- [10] H. El Rassy & A. C. Pierre, *J. Non-Cryst. Solids* **351**, 1603 (2005).
- [11] C. Combellas, M. Delamar, F. Kanoufi, J. Pinson & F. I. Podvorica, *Chem. Mater.* **17**, 3968 (2005).
- [12] J. Pinson, F. I. Podvorica, *Chem. Soc. Rev.* **34**, 429 (2005).
- [13] V. Aguilera, K. Kontturi, L. Murtomaki & P. Ramirez, *J. Controlled Release* **32**, 249 (1994).
- [14] Y. Rojamasakul & J.R. Robinson, *Int. J. Pharm.* **55**, 237 (1989).
- [15] J.J. Smith & I. Zharov, *Langmuir* **24**, 2650 (2008).
- [16] E.H. Otal, P.C. Angelomé, S.A. Bilmes & G.J.A.A. Soler-Illia, *Adv. Mater.* **18**, 934 (2006).
- [17] G.J.A.A. Soler-Illia, C. Sanchez, B. Lebeau & J. Patarin, *Chem. Rev.* **102**, 4093 (2002).
- [18] T.-C. Kuo, L.A. Sloan, J.V. Sweedler & P.W. Bohn, *Langmuir* **17**, 6298 (2001).
- [19] J. Dai, D. M. Sullivan & M. L. Bruening, *Ind. Eng. Chem. Res.* **39**, 3528 (2000).
- [20] T. R. Farhat & J. B. Schlenoff, *Electrochem. Solid-State Lett.* **5**, B13 (2002).
- [21] L. Wang, D. Xiao, E. Wang & L. Xu, *J. Colloid Interface Sci.* **285** (2005).
- [22] M. Tagliazucchi, F. J. Williams & E. J. Calvo, *J. Phys. Chem. B* **111**, 8105 (2007).
- [23] A. Ricci, C. Rolli, S. Rothacher, L. Baraldo, C.



- Bonazzola, E. J. Calvo, N. Tognalli, A. Fainstein, *J. Solid State Electrochem.* **11**, 1511 (2007).
- [24] J.-C. Bradley, S. Babu, A. Mittal, P. Ndungu, B. Carroll & B. Samuel, *J. Electrochem. Soc.* **148**, C647 (2001).
- [25] X. Chen, N. Li, K. Eckhard, L. Stoica, W. Xia, J. Assmann, M. Muhler & W. Schuhmann, *Electrochem. Commun.* **9**, 1348 (2007).
- [26] M. O. Finot, G. D. Braybrook & M. T. McDermott, *J. Electroanal. Chem.* **466**, 234 (1999).
- [27] K. Nielsch, F. Müller, A.-P. Li & U. Gösele, *Adv. Mater.* **12**, 582 (2000).
- [28] R. M. Penner, *J. Phys. Chem. B* **106**, 3339 (2002).
- [29] J. V. Zoval, J. Lee, S. Gorer & R. M. Penner, *J. Phys. Chem. B* **102**, 1166 (1998).
- [30] M. Vago, F. J. Williams & E. J. Calvo, *Electrochemistry Communications* **9**, 2725 (2007).
- [31] A. M. Polcaro, S. Palmas & S. Dernini, *Ind. Eng. Chem. Res.* **32**, 1315 (1993).
- [32] A. M. Polcaro, S. Palmas & S. Dernini, *Electrochim. Acta* **38**, 199 (1993).
- [33] S. Joly, R. Kane, L. Radzilowski, T. Wang, A. Wu, R. E. Cohen, E. L. Thomas & M. F. Rubner, *Langmuir* **16**, 1354 (2000).
- [34] T. C. Wang, M. F. Rubner & R. E. Cohen, *Langmuir* **18**, 3370 (2002).
- [35] T. C. Wang, M. F. Rubner & R. E. Cohen, *Chem. Mater.* **15**, 299 (2003).
- [36] J. Dai & M. L. Bruening, *Nano Letters*, **2**, 497 (2002).
- [37] S. Kidambi, J. Dai, J. Li & M. L. Bruening, *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 2658 (2004).

Manuscrito recibido el 6 de abril de 2010.

Aceptado el 11 de mayo de 2010.



## CATALIZADORES A BASE DE COBRE Y CERIO PARA LA REACCIÓN DE OXIDACIÓN PREFERENCIAL DE MONÓXIDO DE CARBONO (COPROX)

Fernando Mariño, Máximo Moreno, Betina Schönbrod, Graciela Baronetti  
y Miguel Laborde

Laboratorio de Procesos Catalíticos / Depto. de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires. Pabellón de Industrias, Ciudad Universitaria, (1428) Buenos Aires, Argentina.  
e-mail: fernando@di.fcen.uba.ar

### Resumen

Los precursores de los catalizadores CuO-CeO<sub>2</sub> fueron sintetizados mediante el método de alcalinización homogénea por descomposición térmica de la urea. Los catalizadores conteniendo diferentes relaciones Cu/Ce se obtuvieron por calcinación de los precursores a 450°C y fueron caracterizados por XRD, SEM-EDX y TPR. Los ensayos catalíticos se llevaron a cabo en el rango 100-300°C con el objetivo de evaluar la actividad, selectividad y estabilidad de las muestras. La actividad de los catalizadores, tanto para la oxidación de CO como para la oxidación de H<sub>2</sub> (reacción no deseada), aumenta con el contenido de cobre de la muestra. La competencia de la reacción de oxidación de H<sub>2</sub> se vuelve más importante cuando el oxígeno disponible en fase gaseosa es escaso. Se realizó un estudio cinético para ajustar la velocidad de la reacción de oxidación de CO mediante una expresión del tipo "ley de la potencia" y una expresión de Mars-van Krevelen (MvK). En el primer caso, la expresión matemática ajusta en forma correcta los datos experimentales para rangos de presiones parciales acotados. Por otro lado, la expresión MvK describe en forma precisa la velocidad de oxidación de CO solamente en el caso de que el H<sub>2</sub> no estuviera presente en la alimentación.

*Palabras clave:* PEMFC, oxidación preferencial de CO, catalizadores, cobre, cerio

### Abstract

**Copper-ceria catalysts for the preferential CO oxidation reaction (COPROX).** CuO-CeO<sub>2</sub> catalyst precursors were synthesized by the homogeneous thermal decomposition of urea. Catalysts containing different Cu/Ce ratios were obtained by calcinating the precursors at 450°C and characterized by XRD, SEM-EDX and TPR. Catalytic tests were performed in the temperature range 100-300°C to evaluate the activity, selectivity and stability of these samples for the COPROX reaction. The catalytic activity of the samples for both CO and H<sub>2</sub> oxidation reactions increases as the copper loading increases and H<sub>2</sub> oxidation competition becomes more important when the available oxygen in the gas phase is scarce. A kinetic study was carried out in order to fit a classical power-law expression and a Mars-van Krevelen (MvK) expression for CO oxidation rate. In the first case, the mathematical expression gave a good fit in limited concentration ranges. On the other hand, the MvK expression accurately describes CO oxidation rate only in the case that hydrogen is not present in the feed stream.

*Key words:* PEMFC, CO preferential oxidation, catalysts, copper, cerium

### 1. Introducción

Si bien el control catalítico de las emisiones vehiculares ha sido motivo de significativo estudio durante los últimos años, las condiciones cada vez más restrictivas que imponen las legislaciones hacen necesaria la aparición de nuevas tecnologías en el transporte vehicular [1]. Una de las más prometedoras es la utilización de las llamadas pilas combustibles, dispositivos capaces de convertir la energía química directamente en

energía eléctrica. En efecto, las pilas combustibles no se ven afectadas por las limitaciones que impone el ciclo de Carnot a las máquinas térmicas. Por este motivo, la pila combustible es aproximadamente el doble de eficiente que un motor de combustión interna y, además, la emisión de gases contaminantes es mínima [2].

Existen diversos tipos de pilas combustibles según cuál sea el electrolito que permite el paso de iones de un electrodo al otro. Las pilas

combustibles apropiadas para la aplicación al transporte vehicular son aquellas en las cuales el electrolito es un polímero sólido conocido como Nafion®. Estas pilas llamadas PEM o de membrana polimérica tienen la ventaja de proveer gran densidad de potencia trabajando a bajas temperaturas (80-120°C). Sin embargo, a las bajas temperaturas de operación de estas pilas, la disociación de hidrógeno que debe producirse en el ánodo sólo es posible utilizando un electrocatalizador que contenga platino o una combinación de platino con otros metales nobles [3].

Por otro lado, si bien el hidrógeno es el combustible ideal para alimentar a las pilas PEM, su transporte y el almacenamiento presentan aún dificultades tecnológicas que deben ser superadas. Por este motivo, una alternativa lógica es la obtención "in situ" del hidrógeno necesario para alimentar la pila y generar energía necesaria para que funcione el motor eléctrico del vehículo [4]. En consecuencia, la pila combustible debería estar precedida por un reactor capaz de producir H<sub>2</sub> a partir de algunos de los combustibles comúnmente utilizados.

La conversión de hidrocarburos o alcoholes en hidrógeno se produce habitualmente por reformado (endotérmico), oxidación parcial (exotérmica) o por una combinación de ambos en un proceso conocido como autotérmico. En cualquiera de los casos, junto al hidrógeno se produce monóxido de carbono. El platino que forma parte del ánodo de la pila tiene gran afinidad por el CO, que, al adsorberse fuertemente sobre los sitios activos, envenena al electrocatalizador. Esto implica que la corriente de hidrógeno producida debe ser purificada (para reducir la concentración de CO a menos de 20 ppm) antes de ser introducida en la pila combustible. La purificación se lleva a cabo

en primer término mediante la reacción Water-gas Shift (WGSR) que convierte el CO en CO<sub>2</sub> y produce H<sub>2</sub> adicional. Sin embargo, el equilibrio termodinámico limita el avance de esta reacción y una purificación adicional, a través de la reacción de oxidación preferencial de CO (COPROX), se vuelve indispensable [5, 6]. Un esquema del proceso global de producción y purificación de H<sub>2</sub>, a partir del reformado de etanol, puede verse en la Figura 1.

La reacción COPROX ha sido extensamente estudiada sobre catalizadores a base de metales nobles, principalmente Ru, Rh, Pt y Au [7-12]. Entre ellos, los catalizadores de Pt soportado sobre Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> han sido los primeros y más ampliamente usados en la COPROX; en la década del 60, ya existían al menos dos patentes que informaban del empleo de catalizadores de Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> para oxidar al CO [13-14]. Sin embargo, el alto costo de los metales preciosos ha impulsado más recientemente la búsqueda de catalizadores alternativos. En particular, se ha encontrado que el sistema catalítico CuO-CeO<sub>2</sub>, debido a la participación de ambos cationes en el mecanismo redox de la reacción, es un buen candidato como catalizador para la reacción COPROX [15-21]. Además, este sistema binario se ha estudiado para otros procesos como reducción de SO<sub>2</sub> [22] o NO<sub>x</sub> [23].

En el Laboratorio de Procesos Catalíticos, desde el año 2006, se han desarrollado dos estrategias típicas para la obtención de catalizadores de CuO-CeO<sub>2</sub>. Una de ellas es la deposición de Cu<sup>2+</sup> por impregnación en partículas preformadas de CeO<sub>2</sub> y la otra es la coprecipitación de sales de Ce<sup>3+</sup> y Cu<sup>2+</sup> en condiciones básicas. En este trabajo, se efectúa una revisión de los resultados obtenidos con los catalizadores preparados por coprecipitación de cobre y cerio [24-28], desde la

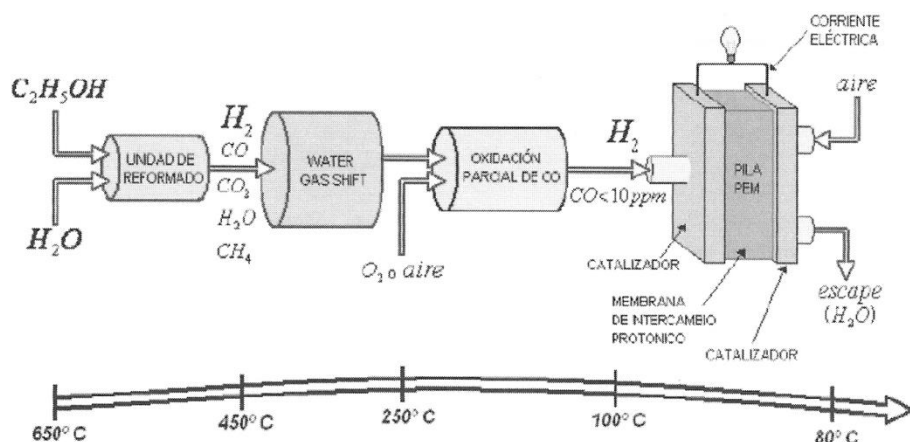


Figura 1. Esquema del proceso de producción y purificación de H<sub>2</sub>, a partir del reformado de etanol

síntesis de los sólidos hasta la obtención de una expresión cinética que describa matemáticamente la velocidad de la reacción de oxidación de CO en presencia de H<sub>2</sub>.

## 2. Experimental

### 2.1. Síntesis de catalizadores

Se prepararon soluciones madre de nitrato de Ce<sup>3+</sup> y de Cu<sup>2+</sup> (1M, cada una) disolviendo Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O y Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O en agua destilada, respectivamente. Los precursores de catalizadores se obtuvieron envejeciendo soluciones mixtas conteniendo urea-Cu<sup>2+</sup>-Ce<sup>3+</sup> a 90°C durante 5 horas. En todos los casos, las concentraciones totales de urea y metal total (i.e., [Ce<sup>3+</sup>]<sub>0</sub> + [Cu<sup>2+</sup>]<sub>0</sub>) se mantuvieron constantes en 0,5M y 0,05M, respectivamente, y el pH inicial se fijó en 5,0 por adición de NH<sub>3</sub>. La relación Cu<sup>2+</sup> a metal total, X = [Cu<sup>2+</sup>]<sub>0</sub>/([Ce<sup>3+</sup>]<sub>0</sub> + [Cu<sup>2+</sup>]<sub>0</sub>)\*100, se varió entre 0 y 60. Las muestras se denominan CeCuX, donde X es el porcentaje atómico nominal de Cu<sup>2+</sup>. En particular, debe notarse que el precursor CeCu0 resulta, luego del tratamiento térmico, en la muestra de CeO<sub>2</sub> utilizada como soporte de los catalizadores preparados por impregnación que se detallan en otros trabajos de nuestro grupo [29].

Típicamente, los ensayos de precipitación se realizaron del siguiente modo: las soluciones de partida se prepararon mezclando las cantidades adecuadas de soluciones madre, urea sólida y agua para obtener las concentraciones deseadas de los reactantes. Las soluciones se colocaron en frascos de polipropileno de volumen igual a 150 ml en un baño termostatzado operando a la temperatura de trabajo. Luego de 5 horas, los frascos se colocaron en baño de hielo para detener la reacción. Los sólidos precipitados se filtraron, lavaron tres veces con agua fría y se secaron a temperatura ambiente.

Finalmente, el tratamiento térmico consistió en una calcinación del precursor en flujo de aire (caudal: 60 ml/min) durante 5 horas. En este trabajo, se reportan los resultados obtenidos con las muestras calcinadas a 450°C.

### 2.2. Caracterización de las muestras

Los sólidos sintetizados se caracterizaron por difracción de rayos X en un equipo Siemens D5000, utilizando una radiación CuKα (λ=1,5406Å). A partir de los difractogramas obtenidos, el tamaño promedio de los cristales de CeO<sub>2</sub> fue estimado mediante la ecuación de Scherrer. Las micrografías de las muestras fueron obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM-EDX) empleando un microscopio Philips SEM 505 equipado con una microsonda EDX Philips 505.

Finalmente, los ensayos de reducción a temperatura programada (TPR) fueron realizados en un sistema de flujo convencional construido en el laboratorio. El sólido se colocó en un reactor de cuarzo en forma de U, dispuesto dentro de un horno eléctrico, al que se alimentaron 100 ml/min de una mezcla H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> (2% H<sub>2</sub>) mientras se aumentó progresivamente la temperatura del sistema con una rampa de 5°C/min. A la salida del reactor se ubicó una trampa de tamiz molecular para retener el agua producto de la reacción. La concentración de hidrógeno en el gas efluente fue medida por medio de un detector de conductividad térmica. Previamente a cada ensayo, las muestras son tratadas in situ con una corriente de aire de 100 ml/min para limpiar la superficie del sólido. La temperatura fue aumentada desde la ambiente hasta 450°C con una rampa de 10°C/min y luego mantenida por una hora.

### 2.3. Ensayos de actividad catalítica

Los experimentos catalíticos se llevaron a cabo en un reactor de lecho fijo isotérmico calefaccionado con un horno eléctrico. En los experimentos, el catalizador se mezcla con un material inerte (cerámica) para evitar picos de temperatura a causa de la exotermicidad de las reacciones involucradas. En una experiencia típica, la alimentación gaseosa consta de H<sub>2</sub> (en gran exceso), CO, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> como balance; la relación O<sub>2</sub>/CO en la alimentación es evaluada en términos del exceso estequiométrico de oxígeno (λ) definido como:

$$\lambda = \frac{2F_{O_2}^{in}}{F_{CO}^{in}}$$

donde F<sub>O<sub>2</sub></sub><sup>in</sup> y F<sub>CO</sub><sup>in</sup> son los caudales molares de entrada de oxígeno y monóxido de carbono, respectivamente. Todos los gases utilizados, de alta pureza, fueron provistos por Air Liquide y los caudales de cada uno de ellos fueron establecidos con la ayuda de controladores máxicos. El análisis de la mezcla gaseosa de entrada y de salida se hizo con un cromatógrafo gaseoso GC-14B de Shimadzu equipado con una columna concéntrica CTR I de Altech y detectores TCD y FID, con helio como gas carrier. La conversión de monóxido de carbono (x<sub>CO</sub>) y de oxígeno (x<sub>O<sub>2</sub></sub>) se calculó en base al consumo de dichos reactivos según:

$$x_i = \frac{F_i^{in} - F_i^{out}}{F_i^{in}}$$

siendo F<sup>in</sup> y F<sup>out</sup> los caudales de entrada y salida respectivamente, y el subíndice i = CO, O<sub>2</sub>.

Las experiencias destinadas a obtener parámetros cinéticos fueron realizadas en condiciones de reactor diferencial (conversión menor al 15%) y verificando la ausencia de resistencias a las transferencias de masa y calor, tanto externas o interfaciales como internas o intraparticulares [28].

### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. Síntesis de los catalizadores

En primer lugar, se estudió el efecto del tiempo de envejecimiento sobre el proceso de síntesis de los precursores Cu-Ce a través del método de alcalinización homogénea por descomposición térmica de la urea. A fin de encontrar el máximo rendimiento de la precipitación a 90°C, se registraron los cambios de pH, así como la fracción remanente de cada catión metálico en solución para el sistema mixto CeCu10. En la Figura 2a, se compara la evolución del pH con el tiempo de envejecimiento para el sistema mixto CeCu10 con el simple CeCu0. En ambos casos, durante las primeras dos horas de envejecimiento, el proceso de precipitación consume la base debida a la descomposición de la urea, fijando el pH en un valor cercano a 5,5. Luego de 5 horas de hidrólisis de urea, finaliza la precipitación masiva y el pH alcanza una condición básica hasta el límite superior de 9,18 impuesto por el buffer  $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ .

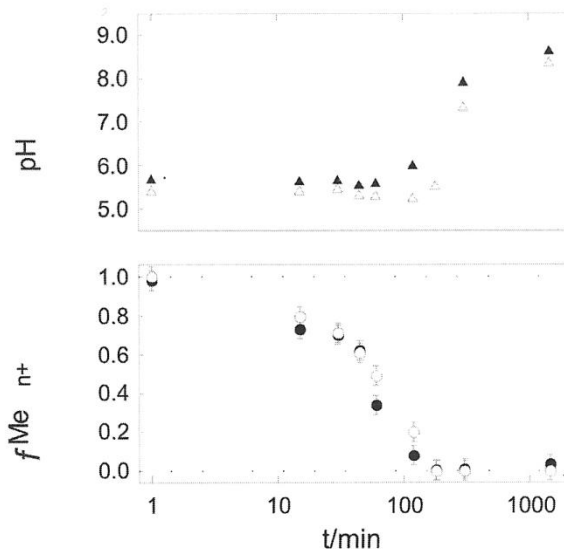


Figura 2. (a) Evolución del pH con el tiempo de envejecimiento para la muestra CeCu0 (triángulos vacíos) y para la muestra CeCu10 (triángulos llenos). (b) Fracciones de metal remanentes en solución vs. tiempo de envejecimiento para la muestra CeCu10 Ce(III) (círculos vacíos) y Cu(II) (círculos llenos).

La Figura 2b muestra las fracciones de  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Ce}^{3+}$  remanentes en solución durante el envejecimiento para el sistema CeCu10 demostrando que, siendo la precipitación de ambos cationes eventos simultáneos, el método de la urea es una alternativa viable para la síntesis de precursores mixtos Cu-Ce.

#### 3.2. Caracterización de los catalizadores

Las Figuras 3 y 4 muestran los patrones de difracción de rayos X para las muestras CeCu10 y CeCu60 respectivamente. En ambos casos, las muestras fueron analizadas antes de ser usadas en la reacción COPROX, y luego de 24 horas de operación. En todos los casos, se conserva la estructura tipo fluorita del óxido de cerio (ICDD file 34-0394). Por otro lado, el tamaño promedio de los cristales de  $\text{CeO}_2$  ( $d\text{CeO}_2$ ) fue estimado con la ayuda de la ecuación de Scherrer. La Tabla I muestra que ni el contenido de cobre ni la atmósfera reductora durante la reacción COPROX provocan cambios en el tamaño promedio de las partículas. Además, la Tabla I muestra que los valores de  $d\text{CeO}_2$  encontrados están en el rango 5-7 nm.

Como puede observarse en la Figura 4, una fase de CuO segregado (indicado como "T", tenorita, ICDD file 41-0254) puede detectarse en el catalizador CeCu60. Dicha observación concuerda, por lo tanto, con el resultado reportado en un trabajo previo [24] que establece un límite de 40 at.% para la segregación del cobre en los precursores sintetizados por el método de la urea.

Por otro lado, los patrones de difracción de rayos X del catalizador CeCu60, luego de 24 horas de operación, revelan la reducción (al menos, parcial) de la fase CuO segregada observada en la muestra fresca. En efecto, las reflexiones correspondientes a la tenorita disminuyen su intensidad y aparece, en cambio, la señal del cobre metálico (ICDD file 4-0836), indicado como "0" en la Figura 4.

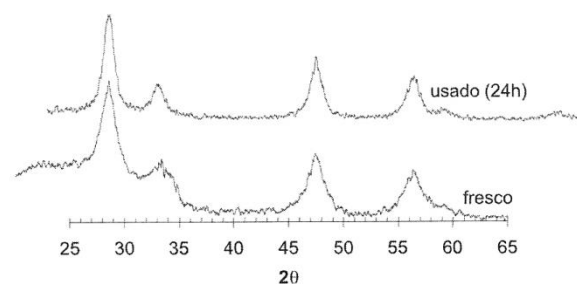


Figura 3. Patrones de difracción de rayos X para el catalizador CeCu10 antes ("fresco") y después de 24 horas de operación en el reactor COPROX ("usado 24h").



Tabla I. Diámetro promedio de las partículas de  $\text{CeO}_2$  estimado a partir de la ecuación de Scherrer.

Catalizador	$d_{\text{CeO}_2}$ (nm)
CeCu10, fresco	5,8
CeCu10, usado 24h	7,1
CeCu60, fresco	5,7
CeCu60, usado 24 h	4,9

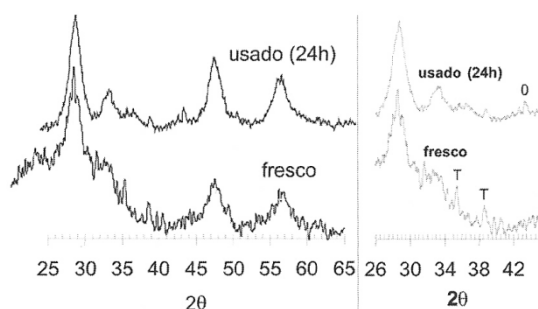


Figura 4. Patrones de difracción de rayos X para el catalizador CeCu60 antes (“fresco”) y después de 24 horas de operación en el reactor COPROX (“usado 24h”).

Las observaciones por SEM-EDX del catalizador CeCu10 (Figura 5a) indican que dicha muestra consiste de partículas esféricas polidispersas de cobre y cerio. La relación entre ambos cationes permanece invariante respecto al tamaño de las esferas, en forma análoga a lo observado en el precursor de este catalizador [24]. Para las muestras de catalizador CeCu10 usadas en la COPROX (Figura 5b y 5c), la morfología de las partículas es idéntica a la del catalizador sin usar; nuevamente, la relación entre ambos cationes es independiente del diámetro de las partículas esféricas.

Las micrografías del CeCu60, en cambio, muestran que las partículas esféricas conteniendo ambos cationes coexisten con partículas prismáticas cuyo análisis por EDX revelan que son ricas en cobre (Figura 5d). Luego de someter la muestra CeCu60 a 24 horas de operación en la COPROX (sin agua en la Figura 5e y con agua en la Figura 5f), se observa una aglomeración de las partículas ricas en cobre. No obstante, la relación entre ambos cationes en las partículas esféricas permanece inalterada.

La Figura 6 muestra los perfiles de reducción a temperatura programada de los catali-

zadores CeCuX. En primer lugar, puede notarse que el perfil correspondiente al óxido de cerio presenta un comportamiento completamente diferente al del resto de las muestras. De hecho, los eventos de reducción a baja temperatura (100-300°C) están ausentes en esta muestra y, por el contrario, dos picos de reducción son visibles a mayores temperaturas. El primero de ellos, centrado aproximadamente a 500°C, ha sido usualmente asignado al consumo de  $\text{H}_2$  asociado a un proceso de reducción superficial de la muestra [30-31]; el pico localizado a mayor temperatura está relacionado, según los mismos autores, con la reducción bulk del óxido de cerio. En un trabajo reciente de nuestro grupo [32] se ha verificado el carácter superficial del primer pico a través de un cálculo estequiométrico del número de monocapas de las muestra de  $\text{CeO}_2$  puestas en juego en ese evento de reducción.

Coherentemente, la Figura 6 muestra que el pico de alta temperatura no es afectado por el contenido de cobre de la muestra. Sin embargo, la señal asignada a la reducción superficial en el óxido de cerio no está presente en ninguna de las muestras que contienen cobre. En estas muestras, en cambio, se observa un gran consumo de  $\text{H}_2$  en la zona de baja temperatura. Independientemente del hecho de que esta señal incluye diferentes eventos de reducción que serán analizados más adelante (Figura 7), el consumo global de  $\text{H}_2$  puede estimarse a partir de la integración de los picos superpuestos que tienen lugar en ese rango de temperaturas.

Nuestros resultados muestran que la cantidad total de  $\text{H}_2$  consumida en estos eventos de reducción es claramente mayor que los moles estequiométricamente requeridos para reducir todo el cobre presente en las muestras desde  $\text{CuO}$  hasta  $\text{Cu}^0$ . Por lo tanto, y de acuerdo a lo observado por otros autores, la presencia de cobre favorece la reducibilidad del óxido cerio que, así, es capaz de alcanzar cierto grado de reducción superficial a temperaturas mucho menores respecto a los perfiles encontrados en ausencia de cobre [33-34].

La Figura 7 presenta los perfiles de reducción del  $\text{CuO}$  puro y de varios de los catalizadores  $\text{CuO-CeO}_2$  preparados en este trabajo, en el rango de temperaturas donde se produce la reducción de las especies de cobre (100-300°C). En las condiciones operativas empleadas en este trabajo, el  $\text{CuO}$  exhibe un pico simple de reducción centrado a 242°C, temperatura marcadamente superior a la de todos los picos presentes en los catalizadores que contienen cerio. En otras palabras, la presencia de cerio promueve la reducción del cobre en las muestras de catalizadores mixtos  $\text{CuO-CeO}_2$ . Este efecto ha sido asignado a la fuerte

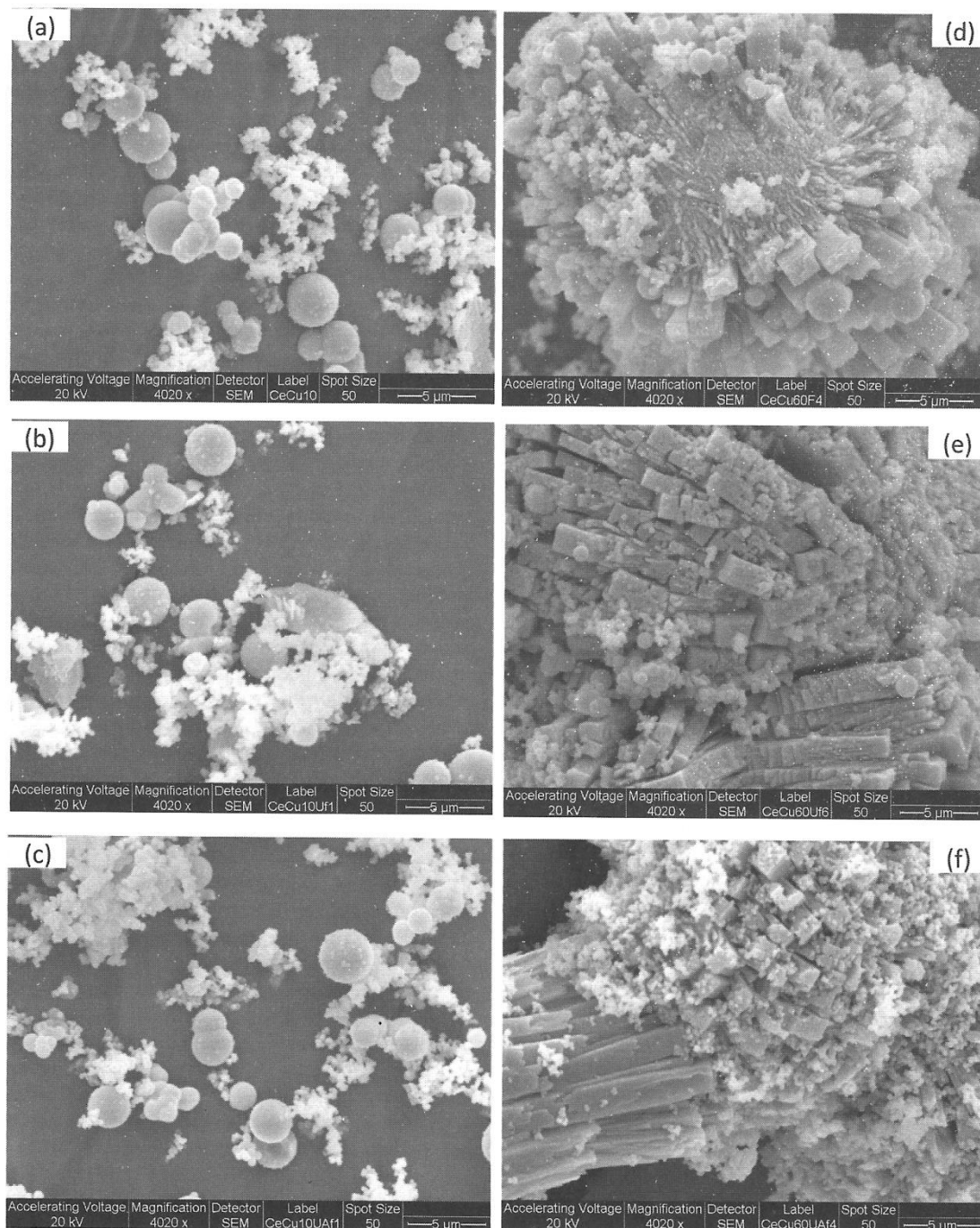


Figura 5. Micrografías SEM de los catalizadores CeCu10 y CeCu60: muestras sin usar (“a” y “d”, respectivamente); muestras usadas durante 24 horas en la reacción COPROX (“b” y “e”, respectivamente); muestras usadas durante 24 horas en la reacción COPROX con agua en la alimentación (“c” y “f”, respectivamente). Magnificación: 4020x.

interacción entre el óxido de cobre y las vacancias de oxígeno superficiales del óxido de cerio [35].

La Figura 7 muestra también que la reducción de los catalizadores CuO-CeO<sub>2</sub> se produce en varias etapas. Otros autores han reportado resultados similares, aunque los diferentes picos han sido asignados a diversos eventos de reducción. Rao y col. [36] encontraron dos picos de consumo de H<sub>2</sub> (centrados a 145 y 170°C) que

fueron relacionados con la reducción de CuO altamente disperso y con la de aglomeraciones ("clusters") de CuO sobre la superficie del CeO<sub>2</sub>, respectivamente. Por el contrario, Zimmer y col. [34] y Shangong y col. [37] también reportaron la existencia de dos picos pero, en estos casos, dichos eventos fueron atribuidos a una reducción en etapas del CuO: el pico de baja temperatura al paso de Cu<sup>2+</sup> a Cu<sup>+</sup>, y el de alta temperatura a la reducción del Cu<sup>+</sup> a Cu<sup>0</sup>. Además, se describen en la literatura perfiles de reducción de catalizadores cobre-cerio con tres picos de reducción (identificados generalmente como α, β y λ en orden creciente de temperatura). En estos casos, existe un consenso general en cuanto a que, para las diferentes especies caracterizadas por esos picos, el tamaño de las partículas de cobre crece y la interacción con el soporte decrece a medida que aumenta la temperatura de reducción [16, 38].

En la Figura 7 se pueden observar los tres picos de reducción encontrados en el rango 100-300°C para los catalizadores CeCuX analizados en este trabajo. Basándonos en lo mencionado en los párrafos anteriores, dichos picos pueden ser asignados a las especies que se enumeran a continuación. El primer pico (α, 148°C-153°C), cuya intensidad relativa es razonablemente inde-

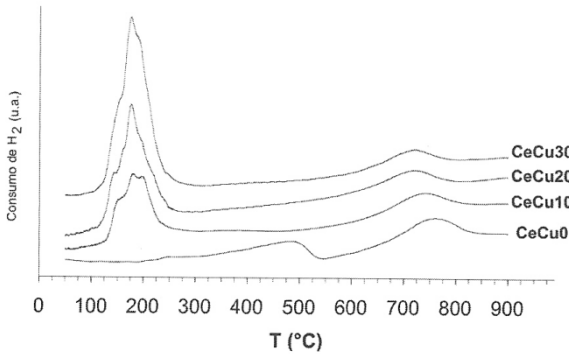


Figure 6. Perfiles de reducción a temperatura programada de los catalizadores CeCuX.

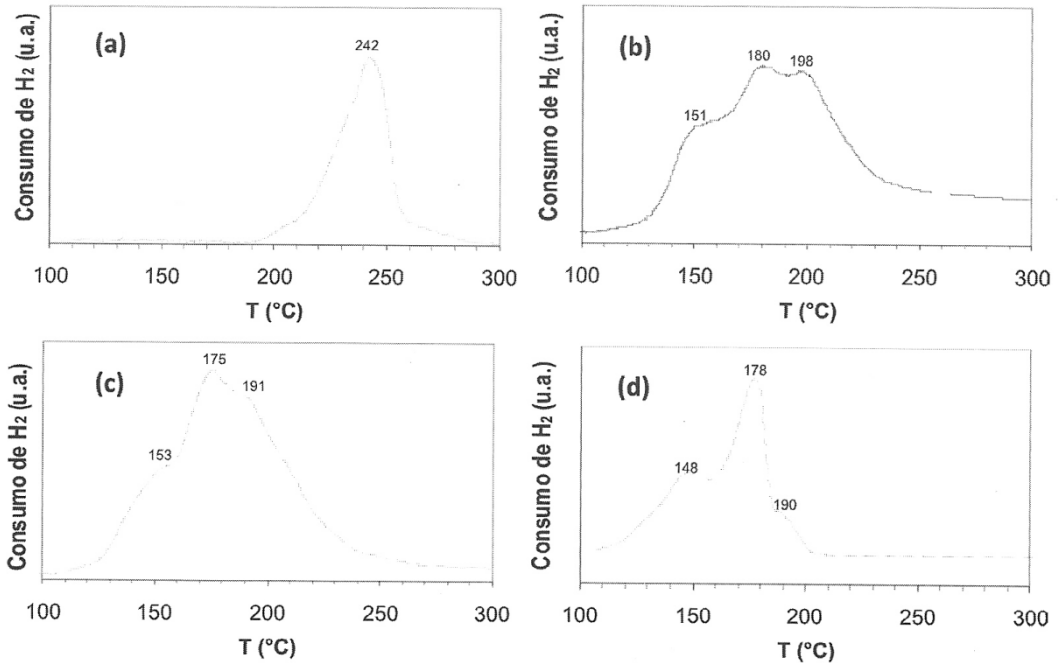


Figura 7. Perfiles de reducción a temperatura programada, en el rango 100-300°C, de: (a) CuO; (b) CeCu10; (c) CeCu30; (d) CeCu60.

pendiente del contenido de cobre, correspondería a la reducción de pequeñas entidades de cobre de fuerte interacción con el soporte. El segundo pico ( $\beta$ , 175°C-180°C), cuya intensidad aumenta en las muestras más ricas en cobre, estaría asociado a la reducción de partículas de CuO, de mayor tamaño y menor interacción con el CeO<sub>2</sub>. Y el pico  $\lambda$  (190°C-198°C) incluiría el consumo de H<sub>2</sub> necesario para reducir el CuO bulk (poco ligado o no ligado al soporte) y, también, para reducir parte del óxido de cerio superficial [38-39].

3.3. Actividad Catalítica

3.3.1. Oxidación de CO en ausencia de H<sub>2</sub>.

En primer término, los catalizadores fueron evaluados en la oxidación de CO en ausencia de H<sub>2</sub> en la corriente de alimentación. En la Figura 8 puede observarse la forma típica de la curva de conversión de CO en función de la temperatura del lecho para un catalizador mixto (CeCu60) y para el óxido de cerio (CeCu0).

Si bien la Figura 8 muestra solamente la evolución de la conversión de CO, al no existir reacciones laterales, la curva de conversión de O<sub>2</sub> en función de la temperatura de reacción presenta la misma forma.

Con el objetivo de simplificar la comparación del comportamiento de las distintas muestras preparadas, la Tabla II hace uso del valor T<sub>50</sub>, definido como la temperatura necesaria para alcanzar el 50% de conversión de CO.

Los resultados muestran que la oxidación de CO procede más fácilmente cuanto mayor es el contenido de cobre de las muestras. Sin embargo, el aumento de 30% a 60% en la fracción atómica de cobre produce sólo una ínfima disminución en T<sub>50</sub>. Finalmente, puede observarse tanto en la Figura 8 como en la Tabla II que la muestra de CeO<sub>2</sub> es prácticamente inactiva para oxidar al CO en el rango de temperatura de interés.

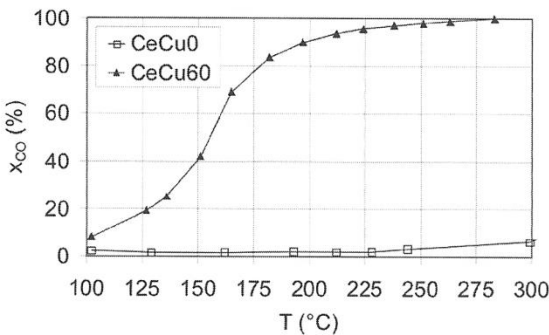


Figura 8. Conversión de CO en función de la temperatura de reacción. mCAT = 200 mg; Fv = 200 ml/min; Alimentación: 2.8% CO, 4.9% O<sub>2</sub> ( $\lambda$  = 3.5) y N<sub>2</sub> como balance.

Tabla II. Temperatura necesaria para alcanzar el 50% de conversión de CO con distintos catalizadores CeCuX.

Catalizador	CeCu0	CeCu10	CeCu20	CeCu30	CeCu60
T <sub>50</sub> (°C)	433	209	193	158	155

3.3.2. Oxidación preferencial de CO (COPROX).

En esta sección se analizará el comportamiento de los catalizadores cuando el reactor es alimentado con una mezcla consistente en CO/O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, con un gran exceso de este último.

La Figura 9 muestra el comportamiento de las diferentes muestras CeCuX. A los efectos de comparar los catalizadores sintetizados en el presente trabajo con catalizadores tradicionales a base de metales nobles, se ha incluido en la misma figura el comportamiento de un catalizador comercial 0.5%Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (F258 Degussa AG).

Puede observarse que todos los catalizadores exhiben un comportamiento similar en función de la temperatura de reacción. A medida que dicha temperatura aumenta, la conversión de CO también aumenta hasta alcanzar un máximo (que se produce a una temperatura que denominaremos T\*) y luego disminuye. La disminución de la conversión de CO con el aumento de T es atribuido a un incremento más importante de la velocidad de oxidación de H<sub>2</sub> respecto a la velocidad de oxidación de CO.

Tal como había sido mostrado en la Figura 8 para la oxidación de CO en ausencia de H<sub>2</sub>, el aumento de la conversión de CO con T (para T < T\*) es más marcado cuanto mayor es la carga de cobre del catalizador. Sin embargo, la mayor proporción de cobre hace que las muestras sean también más activas para la oxidación no deseada de H<sub>2</sub> y, por ende, el máximo de xCO se desplaza hacia menores temperaturas a medida que aumenta la carga de cobre. La Figura 9 muestra también que la conversión de O<sub>2</sub> aumenta en forma monótona con la temperatura de reacción, hasta alcanzar la conversión completa. De este modo, se observa que dicha conversión total de O<sub>2</sub> se produce a menores temperaturas a medida que el contenido de cobre de las muestras aumenta.

La comparación de los catalizadores CeCuX con el catalizador comercial de platino muestra que los primeros son más activos para la oxidación de CO que este último. Por ejemplo, el catalizador CeCu20 presenta una conversión máxima de CO (xCO\*) del 82% a T\* = 208°C. En las mismas condiciones operativas,

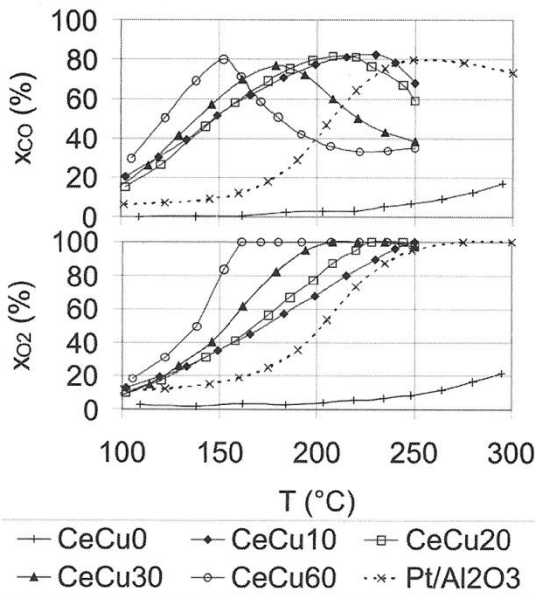


Figura 9. Conversión de CO y de O<sub>2</sub> en función de la temperatura de reacción para los catalizadores CeCuX y el catalizador comercial de Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. mCAT = 200 mg; Fv = 200 ml/min; Alimentación: 87% H<sub>2</sub>, 2.25% CO, 2.25% O<sub>2</sub> ( $\lambda = 2$ ) y N<sub>2</sub> como balance.

el catalizador de Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sólo alcanzó una  $x_{CO}^* = 80\%$  a una temperatura sensiblemente mayor ( $T^* = 249^\circ\text{C}$ ). Más aún, la comparación de las curvas de  $x_{CO}$  y de  $x_{O_2}$  versus T para ambas muestras permite notar que el catalizador CeCu20 oxida al CO con una menor pérdida de H<sub>2</sub> (es decir, con mayor selectividad hacia CO<sub>2</sub>) en todo el rango de temperaturas estudiado.

Por último en la Figura 9, puede notarse que las conversiones de CO y de O<sub>2</sub> obtenidas con la muestra que no contiene cobre (CeCu0) son prácticamente nulas. Esto significa que la muestra de CeO<sub>2</sub> (CeCu0) es inactiva no sólo para la oxidación de CO (como se había observado en la Figura 8) sino también para la oxidación de H<sub>2</sub>.

### 3.3.3. Efecto de la composición de la alimentación

La variación de la presión parcial de oxígeno ha sido analizada en términos de la variación del parámetro llamado "relación estequiométrica de exceso de O<sub>2</sub>" ( $\lambda = 2F_{O_2}^{in}/FCO^{in}$ ). Como se deduce de la definición, a una alimentación estequiométrica le corresponde un valor de  $\lambda$  igual a 1. Cualquier valor mayor a 1 corresponderá a un exceso de O<sub>2</sub> disponible; en particular, se ha trabajado con relaciones  $\lambda$  igual a 1, 1.5, 2 y 4.

En la Figura 10 se presenta la evolución de las conversiones de CO y de O<sub>2</sub> en función de la temperatura de reacción para varias relaciones O<sub>2</sub>/CO alimentadas.

Como puede verse en la Figura 10, la oxidación no deseada de H<sub>2</sub> comienza a cobrar importancia cuando la cantidad de oxígeno disponible en la fase gaseosa comienza a agotarse, es decir, cuando la conversión de oxígeno se aproxima al valor del 100%. En la misma figura se observa que, a medida que la presión parcial de O<sub>2</sub> alimentado aumenta (aumento de  $\lambda$ ), la conversión total de O<sub>2</sub> se produce a mayores temperaturas.

De la Figura 10 también puede observarse que:

(i) La máxima conversión de CO se desplaza hacia mayores temperatura a medida que aumenta la relación  $\lambda$  alimentada.

(ii) Dicha conversión máxima de CO también aumenta con la relación  $\lambda$ .

A la luz de lo expuesto en los párrafos anteriores, ambas observaciones guardan relación con el hecho que la "rama positiva" de la curva  $x_{CO}$  vs. T se mantiene mientras la presión parcial de O<sub>2</sub> no caiga por debajo de un determinado valor, a partir del cual la reacción lateral (oxidación de H<sub>2</sub>) se acelera.

En la Figura 10 es también remarcable la forma de las curvas de  $x_{CO}$  vs. T para diferentes valores de  $\lambda$  en la rama positiva de las mismas.

De hecho, se observa un efecto prácticamente desestimable de  $\lambda$  sobre la conversión de CO obtenida a cada temperatura analizada. Esto significa que la dependencia de la velocidad de oxidación de CO con respecto a la presión parcial de O<sub>2</sub> es despreciable; en otras palabras, si la velocidad de oxidación de CO quisiera ajustarse por una cinética del tipo "ley de la potencia", el suborden parcial respecto al O<sub>2</sub> debería ser cercano a 0.

### 3.3.4. Reacciones laterales

En las experiencias presentadas en las secciones anteriores, el reactor es alimentado con una mezcla CO/H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>, además de inertes (N<sub>2</sub>). En el caso de una corriente proveniente de un reformado real, la mezcla de entrada al reactor de COPROX estaría compuesta por CO, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, agua, CO<sub>2</sub>, y, dependiendo del combustible utilizado en el reformado u oxidación parcial, CH<sub>4</sub>, etano, etileno, etc.

Aún en el esquema simplificado utilizado en este trabajo (alimentación consistente en CO/O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>), la oxidación deseada de CO (reacción 1) debe competir con una serie de reacciones laterales que pueden ocurrir en el lecho catalítico:



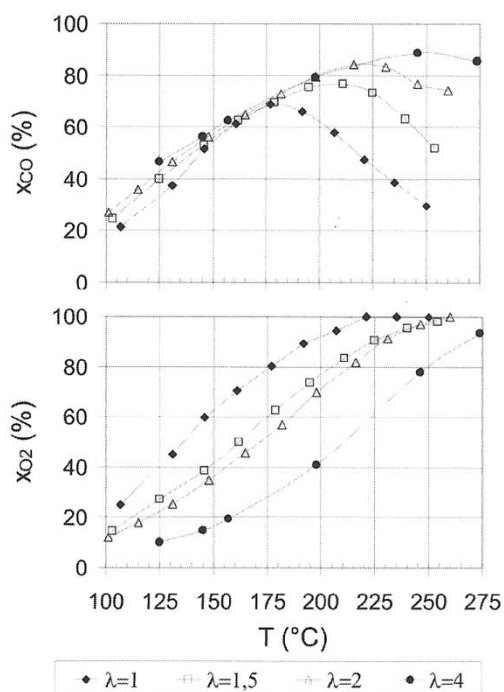


Figura 10. Conversión de CO y de O<sub>2</sub> en función de la temperatura de reacción y de la relación de exceso estequiométrico de O<sub>2</sub> ( $\lambda$ ) para el catalizador CeCu10. mCAT = 200 mg; Fv = 200 ml/min; Alimentación: 87% H<sub>2</sub>, 2.25% CO, O<sub>2</sub> variable ( $\lambda$  = 1-4) y N<sub>2</sub> como balance.



La principal de estas reacciones es la oxidación de H<sub>2</sub> (reacción 2), sobre todo si se tiene en cuenta que la cantidad de H<sub>2</sub> disponible para reaccionar con el O<sub>2</sub> es casi dos órdenes de magnitud superior a la cantidad de CO disponible.

Al margen de la oxidación no deseada del hidrógeno, otras reacciones laterales que consumen parte del hidrógeno alimentado pueden tener lugar en el reactor de COPROX, atentando contra la eficiencia global del proceso de producción y purificación de hidrógeno. Tal es el caso de las reacciones de metanación, tanto de CO (reacción

3) como de CO<sub>2</sub> (reacción 4), que consumen 3 y 4 moles de H<sub>2</sub> por mol de CH<sub>4</sub> producido respectivamente. Sin embargo, los resultados obtenidos con esta serie de catalizadores permiten descartar la ocurrencia de ambas metanaciones. En ninguna de las experiencias llevadas a cabo se detectó CH<sub>4</sub> a la salida del reactor (con un límite de detección en el análisis cromatográfico de 200 ppm de metano).

Otra serie de reacciones que pueden afectar la actividad de los catalizadores son aquellas que implican la formación de coque. Como ejemplo de este tipo de reacciones se ha incluido la reacción 5.

Los resultados de nuestras experiencias han demostrado que, dentro del error experimental del análisis cromatográfico, existe coincidencia entre los moles de CO consumidos por la reacción química y los moles de CO<sub>2</sub> producidos. Este resultado descarta la posibilidad de formación de coque. Además, ensayos de estabilidad de la muestra CeCu20 (Figura 11) demostraron que, tanto la fracción molar de CO a la salida del lecho catalítico como la pérdida de carga en el mismo permanecen razonablemente constante luego de 170 horas de operación.

La reacción Water-Gas Shift (reacción 6) puede también producirse dentro del reactor de COPROX en virtud de la presencia de CO y H<sub>2</sub>O en el medio reaccionante. En efecto, un aumento de la remoción de CO debido a la ocurrencia de la reacción WGS ha sido reportada para catalizadores a base de metales nobles, por encima de los 200°C y, especialmente, para experiencias donde la cantidad de agua dentro del reactor es importante [7].

Sin embargo, como se ha destacado en el párrafo anterior, la reacción WGS consume moles de CO y produce moles de H<sub>2</sub> adicionales; por ende, dicha reacción tiene un efecto positivo sobre el objetivo global del sistema de producción y purificación de H<sub>2</sub>. Evidentemente, si la reacción inversa (6'), conocida como RWGS o "Reverse Water-Gas Shift", tiene lugar en reactor de COPROX, la misma será perjudicial para el rendimiento en H<sub>2</sub>.

Con el objeto de evaluar qué actividad presentaban los catalizadores preparados para la reacción RWGS, se llevaron a cabo experiencias consistentes en alimentar al reactor una mezcla compuesta por H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (85/15). El catalizador ensayado (CeCu10) mostró ser poco activo para la RWGS ya que, en las condiciones mencionadas, se observó una débil evolución de CO a la salida del reactor. En efecto, la conversión de CO<sub>2</sub> en CO alcanzada a la mayor de las temperaturas analizadas (300°C) fue apenas superior al 5% [25]. Es necesario mencionar, además, que en esta experiencia se empleó una



concentración de CO<sub>2</sub> mucho mayor a la que puede encontrarse en el reactor de COPROX cuando se utilizan las condiciones de las Figuras 9 y 10.

### 3.4. Estudio cinético.

En esta sección se pretende analizar en forma sistemática la influencia de la temperatura y de las concentraciones de los reactivos sobre la velocidad de oxidación de CO. En las experiencias analizadas en el presente trabajo se utilizó el catalizador CeCu20.

El objetivo del estudio cinético será, entonces, encontrar una expresión cinética que describa matemáticamente la dependencia de la velocidad de reacción con las variables antes mencionadas (T, y<sub>O<sub>2</sub></sub>, y<sub>CO</sub>).

#### 3.4.1. Ley de la potencia.

En primera instancia, y en coincidencia con otros trabajos presentados en la literatura [29, 40-41], se consideró una expresión del tipo "ley de la potencia" debido a su simplicidad:

$$r = k \cdot y_{CO}^a y_{O_2}^b$$

o bien,

$$\ln r = \ln k + a \ln y_{CO} + b \ln y_{O_2}$$

donde y<sub>CO</sub>, y<sub>O<sub>2</sub></sub> representan las fracciones molares de CO y O<sub>2</sub> en la mezcla gaseosa.

La Figura 12 presenta los gráficos de ln (r) vs. ln (y<sub>i</sub>), donde i = CO, O<sub>2</sub>. Se observa que los órdenes de reacción encontrados dependen de los rangos de fracciones molares considerados.

En el caso del CO, los órdenes de reacción encontrados son siempre mayores a cero y menores a la unidad. La tendencia muestra que al disminuir la fracción molar de este reactivo en la corriente gaseosa, el orden de reacción aumenta tendiendo en todos los casos a 1. Matemáticamente,

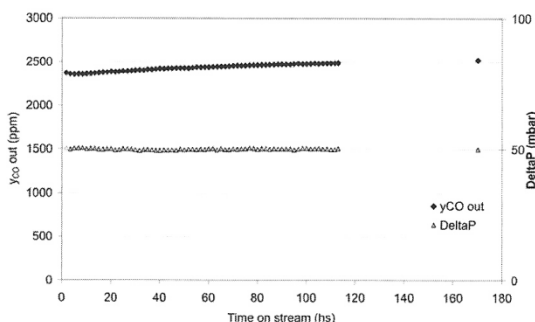


Figura 11. Curva de estabilidad para el catalizador CeCu20. mcat = 200mg; FV = 3000 ml/min; T = 164°C; yCO<sub>e</sub> = 3000 ppm; yO<sub>2e</sub> = 1500 ppm (λ = 1).

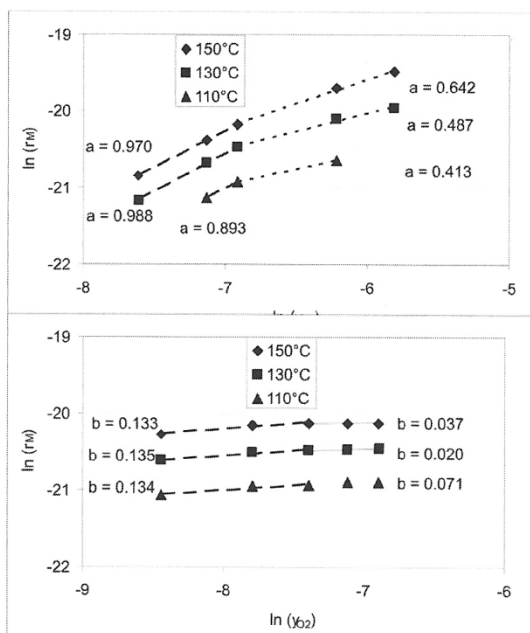


Figura 12. Determinación de los órdenes de reacción del CO (a) y del O<sub>2</sub> (b) para una expresión tipo "ley de la potencia". mcat = 200 mg; FV = 5000 ml/min; T = 110-150 °C; yCO<sub>e</sub> = 500-3000 ppm; yO<sub>2e</sub> = 200-1000 ppm

te, esto indica que para lograr un ajuste válido en todo el rango, se debe considerar una expresión cinética que incluya la fracción molar del CO en el denominador.

Para el O<sub>2</sub> puede verse que, al aumentar su fracción molar, el orden de reacción correspondiente disminuye tendiendo a cero, coincidiendo con lo visto anteriormente: la velocidad de reacción no depende de su concentración al encontrarse este reactivo en exceso. Sin embargo, si se intenta encontrar una expresión cinética válida en todo el rango de concentraciones de oxígeno presentes durante la operación, no se puede considerar que la velocidad de reacción sea independiente de la fracción molar de este reactivo.

Resultados similares fueron encontrados por Liu y Flytzani-Stephanopoulos [42] sobre un catalizador de cobre y cerio conteniendo lantano: el orden de reacción del CO parece disminuir de 1 a 0 cuando pCO aumenta, mientras que el orden de reacción para el O<sub>2</sub> es cercano a 0.

En consecuencia, si se quiere encontrar parámetros cinéticos válidos en todo el rango de operación, la expresión del tipo ley de la potencia no parece ser adecuada.

3.4.2.- Modelo Mars – van Krevelen (MvK)

Para el caso de óxidos de metales de transición, Mars y van Krevelen [43] han postulado que la oxidación de hidrocarburos procede a través de un mecanismo redox que involucra la participación activa del catalizador proveyendo átomos de oxígeno en el sitio activo. Más recientemente, Sedmak y col. [44-45] han propuesto el empleo de la expresión de Mars y van Krevelen para la oxidación de CO sobre un sistema catalítico CuO-CeO<sub>2</sub>:

$$r = \frac{k_{CO} \cdot k_{O_2} \cdot y_{CO} \cdot y_{O_2}''}{0,5 \cdot k_{CO} \cdot y_{CO} + k_{O_2} \cdot y_{O_2}''}$$

Considerando casos límite de esta ecuación, se puede ver en qué rango se mueven los órdenes de reacción de cada componente.

En condiciones de exceso de O<sub>2</sub> la expresión matemática se puede simplificar considerando que k<sub>O<sub>2</sub></sub>yO<sub>2</sub><sup>n</sup> >> k<sub>CO</sub>yCO. Se obtiene como resultado que:

$$r \approx k_{CO}y_{CO}$$

Esto significa que, al ajustar una expresión tipo ley de la potencia en estas condiciones, el orden de reacción estaría en torno de 1 para el CO y de 0 para el O<sub>2</sub>. En este caso, el paso limitante de la reacción sería la adsorción de CO sobre los sitios activos del catalizador.

En cambio, cuando el O<sub>2</sub> se encuentra en defecto k<sub>O<sub>2</sub></sub>yO<sub>2</sub><sup>n</sup> << k<sub>CO</sub>yCO, y se tiene que:

$$r \approx k_{CO}y_{CO}$$

En esta condición, el orden de reacción respecto al O<sub>2</sub> tiende al parámetro n (es decir, al orden de la etapa de reoxidación del catalizador).

Este análisis muestra por qué el ajuste de una cinética “ley de la potencia” depende de los rangos de presiones parciales considerados. Linealizando la expresión de MvK se obtiene:

$$\frac{1}{r} = \frac{0,5 \cdot k_{CO} \cdot y_{CO} + k_{O_2} \cdot y_{O_2}''}{k_{CO} \cdot k_{O_2} \cdot y_{CO} \cdot y_{O_2}''} = \frac{0,5}{k_{O_2} \cdot y_{O_2}''} + \frac{1}{k_{CO} \cdot y_{CO}}$$

Se analizarán por separado los casos COOX y COPROX.

3.4.2.i. Caso COOX

Para estudiar la dependencia de la velocidad de reacción con la concentración de CO, se toman los datos experimentales obtenidos con λ ≥ 1, ya que en estas condiciones la velocidad de reacción depende solamente de este reactivo. Para analizar la dependencia con el O<sub>2</sub>, se consideran los valores de lambda menores a la unidad. Se han probado diversos valores de n, siendo el valor n = 1 el que da el mejor ajuste lineal.

	FV (ml/min)	yCO (%)	yO <sub>2</sub> (%)	λ	T (%)
min	2500	0,05	0,04	0,4	100
max	5000	0,30	0,12	4,1	170

Tabla III. Condiciones de operación para los experimentos cinéticos

En la Figura 13 se grafica 1/r en función de 1/y<sub>CO</sub> y de 1/y<sub>O<sub>2</sub></sub> a tres temperaturas distintas. El ajuste óptimo de los datos experimentales se obtiene utilizando un parámetro n = 1 en la expresión de Mars y van Krevelen.

La Figura 13 muestra que la expresión MvK predice en forma precisa los datos experimentales a todas las temperaturas ensayadas. Para obtener los parámetros cinéticos, un total de 144 experiencias, llevadas a cabo en las condiciones descritas en la Tabla III, fue considerado.

Para cada experiencia se determinó la velocidad de reacción (rmedida) y se la comparó con la velocidad calculada (rcalculada) a partir de los parámetros hallados. Se realizó, entonces, un ajuste de los parámetros cinéticos minimizando la suma de los cuadrados de los errores entre rmedida y rcalculada. En la Figura 14 se muestra el gráfico de paridad correspondiente

Como se observa en la Figura 14, todos los puntos se encuentran dentro del rango de error menor al 20%. La ecuación y los parámetros así obtenidos son:

$$r = \frac{k_{CO} \cdot k_{O_2} \cdot y_{CO} \cdot y_{O_2}}{0,5 \cdot k_{CO} \cdot y_{CO} + k_{O_2} \cdot y_{O_2}}$$

$$k_{CO} = 0,002833 \cdot \exp \left[ -\frac{25,68kJ \cdot mol^{-1}}{RT} \right]$$

$$k_{O_2} = 0,01174 \cdot \exp \left[ -\frac{26,60kJ \cdot mol^{-1}}{RT} \right]$$

donde r está expresada en mol/(mg.s) y las yCO, yO<sub>2</sub> representan los porcentajes molares de CO y O<sub>2</sub> en la mezcla gaseosa.

Los valores de las energías de activación coinciden con valores encontrados en la literatura por Liu y Flytzani-Stephanopoulos [42, 46]. Otros autores que han obtenido una expresión cinética

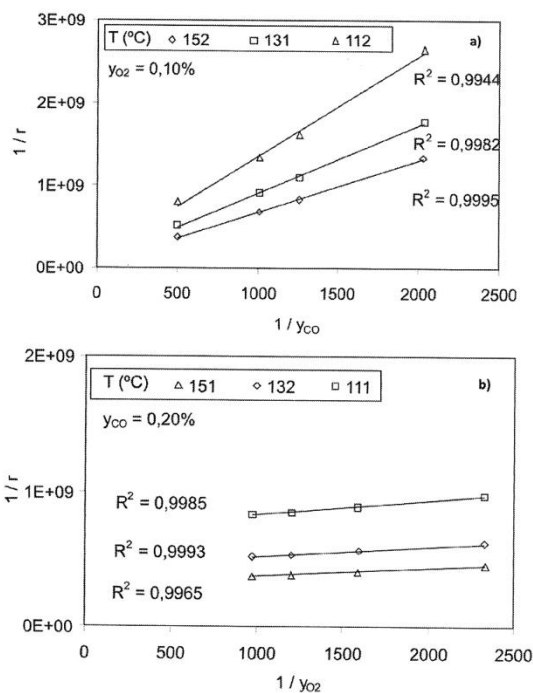


Figura 13. Influencia de la fracción molar del CO (a) y del O<sub>2</sub> (b) en la velocidad de la reacción de oxidación de CO considerando la expresión de MvK, caso COOX. mcat = 200mg; FV = 2500 ml/min; a)  $y_{eCO} = 0,05-0,20\%$ ;  $y_{eO_2} = 0,10\%$ ; N<sub>2</sub> balance; b)  $y_{eCO} = 0,20\%$ ;  $y_{eO_2} = 0,04-0,10\%$ ; N<sub>2</sub> balance.

del tipo MvK para el sistema cobre-cerio en condiciones COPROX [44], encontraron un valor de n de 0,2. Los resultados del presente trabajo no coinciden con este único antecedente.

Vannice [47] ha realizado una fuerte crítica al postulado de Mars y van Krevelen, mostrando la invalidez de la expresión matemática si se la deduce a partir de las reacciones elementales propuestas. Considerando diferentes mecanismos de reacción, este autor mostró que una expresión del tipo MvK puede ser válida solamente con valores de n iguales a 0,5 ó 1, dependiendo de cuál sea el paso limitante de la reacción o el tipo de adsorción de oxígeno (molecular o disociativo) considerado. En particular, para obtener una expresión como la encontrada en el presente trabajo, es decir con  $n = 1$ , Vannice tomó en cuenta el hecho de que las reacciones de oxidación son irreversibles por naturaleza. Adicionalmente, supuso que el oxígeno adsorbido es molecular, siendo el O<sub>2</sub>-S el intermediario de reacción más abundante

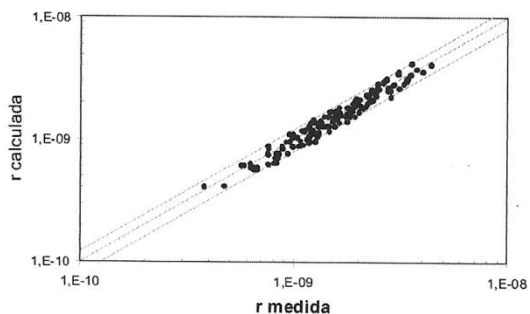


Figura 14. Gráfico de paridad doble logarítmico: comparación de la velocidad calculada considerando la expresión de MvK (caso COOX) con la velocidad medida experimentalmente. La región delimitada es la correspondiente a un error menor al  $\pm 20\%$ .

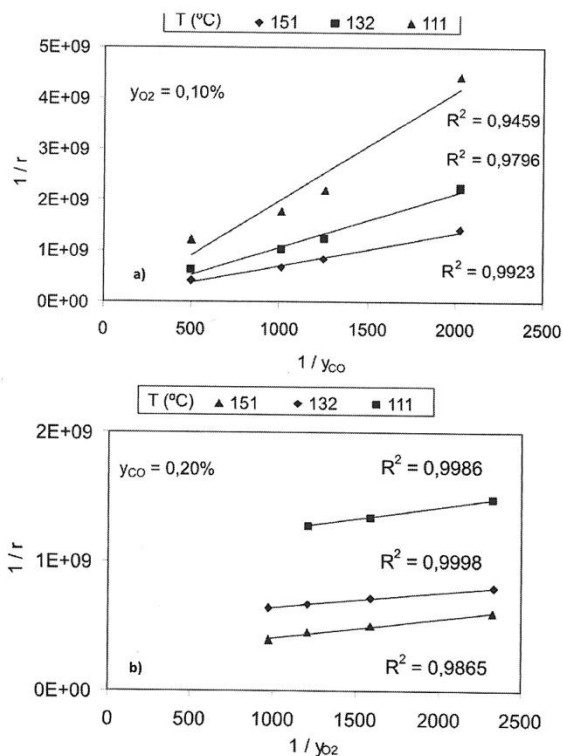


Figura 15. Influencia de la fracción molar del CO (a) y del O<sub>2</sub> (b) en la velocidad de la reacción de oxidación de CO considerando la expresión de MvK, caso COPROX. mcat = 200mg; FV = 2500 ml/min; a)  $y_{eCO} = 0,05-0,20\%$ ;  $y_{eO_2} = 0,10\%$ ;  $y_{eH_2} = 50\%$ ; N<sub>2</sub> balance; b)  $y_{eCO} = 0,20\%$ ;  $y_{eO_2} = 0,04-0,10\%$ ;  $y_{eH_2} = 50\%$ ; N<sub>2</sub> balance.

(mari por sus siglas en inglés). Con estas consideraciones se obtiene la expresión

$$r = \frac{2 \cdot k_{CO}^+ \cdot k_{O_2} \cdot y_{CO} \cdot y_{O_2}}{k_{CO}^+ \cdot y_{CO} + k_{O_2} \cdot y_{O_2}}$$

que coincide con la encontrada en este trabajo, tomando

$$k_{CO}^+ = 0,5k_{CO}$$

### 3.4.2.ii.- Caso COPROX

En este caso, se intentó llevar a cabo un análisis similar al de la reacción COOX. Nuevamente, la dependencia de la velocidad de reacción con  $y_{O_2}$  fue analizada para distintos valores de  $n$ , al igual que en el caso COOX, se encontró que el mejor ajuste tiene lugar con  $n = 1$ .

Sin embargo, en la Figura 15 se observa que no es posible realizar un ajuste lineal de  $1/r$  en función de  $1/y_{CO}$ . La dependencia de  $r$  con la presión parcial de  $O_2$  muestra que, si bien el ajuste de cada serie es bueno, los valores de las constantes cinéticas  $k_{O_2}$  que se obtienen de la pendiente del gráfico  $1/r$  vs.  $1/y_{O_2}$  no respetan la funcionalidad respecto a la temperatura de la ley de Arrhenius. Por ende, se concluye que una expresión del tipo MvK no predice en forma correcta los valores experimentales en el caso COPROX.

La expresión deducida por Mars y van Krevelen [43] respondía a la oxidación de un hidrocarburo en ausencia de otro competidor. Evidentemente, la presencia de hidrógeno trae aparejadas etapas de adsorción/desorción y/o reacción química en superficie que no son tenidas en cuenta en el mecanismo propuesto originalmente por estos autores.

### Conclusiones

En este trabajo se ha mostrado que es posible obtener precursores mixtos de  $Cu^{2+}$ - $Ce^{3+}$  por el método de la urea. La precipitación cuantitativa de ambos cationes se logra en el término de 5 horas, a  $90^\circ C$ . Los catalizadores  $CuO$ - $CeO_2$ , obtenidos por tratamiento térmico de esos precursores a  $450^\circ C$ , han mostrado ser más activos y selectivos en la COPROX que los catalizadores  $Pt/Al_2O_3$  comercialmente utilizados. Un efecto sinérgico entre el cobre y el cerio sería el responsable de la actividad de estos catalizadores, como lo manifiestan los ensayos de TPR. En efecto, se ha demostrado que la presencia de cobre aumenta la reducibilidad del cerio y, también, que la reducción del cobre se produce a menor temperatura en los catalizadores respecto al  $CuO$  puro.

La actividad de los catalizadores para la oxidación de  $CO$  aumenta con la carga de cobre

de la muestra, pero la oxidación de  $H_2$  se produce también más fácilmente cuanto mayor es el contenido de cobre del catalizador. En el reactor de COPROX, a excepción de la oxidación no deseada del  $H_2$ , prácticamente no se producen reacciones laterales que afecten la eficiencia del proceso.

La actividad de los catalizadores de bajo contenido de cobre ( $CeCu10$ ,  $CeCu20$ ) se mantiene constante durante 170 horas de operación. Las condiciones reductoras durante la reacción COPROX no afectan la estructura de estas muestras. En cambio, en la muestra de mayor contenido de cobre ( $CeCu60$ ) se ha verificado la reducción del  $CuO$  segregado y la aglomeración de estos cristales tras 24 horas de operación.

La influencia de la concentración de  $O_2$  sobre la velocidad de reacción es desestimable cuando este reactivo se encuentra en exceso estequiométrico ( $\lambda > 1$ ). Se llevó a cabo un estudio cinético para intentar ajustar una expresión del tipo ley de la potencia que describa la velocidad de la oxidación de  $CO$  sobre el catalizador  $CeCu20$ , pero no fue posible encontrar órdenes de reacción únicos para todo el rango de presiones parciales. El orden de reacción para el  $CO$  varía entre 0 y 1, y disminuye cuando aumenta la fracción molar de este compuesto. Para el  $O_2$  se encontró que el orden de parcial de reacción tiende a cero para  $\lambda > 1$ . Finalmente, para el caso COOX (ausencia de  $H_2$  en la alimentación), se ha encontrado una expresión del tipo Mars - van Krevelen que ajusta correctamente los datos experimentales.

### Agradecimientos

A la Universidad de Buenos Aires, el CONICET y la ANPCYT por el soporte económico a este trabajo. Al Dr. Matías Jobbágy y al Ing. Eduardo Poggio por su colaboración en la obtención y el análisis de algunos de los resultados presentados.

### Referencias

- [1] D. Trimm, *Appl. Catal. A* **296**, 1 (2005).
- [2] D. Megede, *J. Power Sources* **106**, 35 (2002).
- [3] U.S. Department of Energy, Fuel Cell Handbook, 5th Edition, National Energy Technology Laboratory, Morgantown, U.S.A., 2000.
- [4] J. Zalc & D. Loffler, *J. Power Sources* **111**, 58 (2002).
- [5] C. Kwak, T. Park & D. Suh, *Appl. Catal. A* **276**, 181 (2005).
- [6] D. Suh, C. Kwak, J. Kim, S. Kwon & T. Park, *J. Power Sources* **142**, 70 (2005).
- [7] F. Mariño, C. Descorme & D. Duprez, *Appl. Catal. B* **54**, 59 (2004).
- [8] M. Haruta, *Catal. Today* **36**, 153 (1997).
- [9] M. Echigo, N. Shinke, S. Takami, S. Higashiguchi, K. Hirai & T. Tabata, *Catal. Today* **84**, 209 (2003).
- [10] S. Oh & R.J. Sinkevitch, *J. Catal.* **142**, 254 (1993).

- [11] H. Tanaka, S. Ito, S. Kameoka, K. Tomishige & K. Kunimori, *Catal. Comm.* **4**, 1 (2003).
- [12] S. Lee & A. Gavriilidis A., *Catal. Comm.* **3**, 425 (2002).
- [13] M. Brown & A. Green, U.S. Patent 3 088 919 (1963).
- [14] A. Cohn, U.S. Patent 3 216 783 (1965).
- [15] G. Avgouropoulos & T. Ioannides, *Appl. Catal.* **244**, 155 (2003).
- [16] G. Avgouropoulos, T. Ioannides & H. Matralis, *Appl. Catal.* **B 56**, 87 (2005).
- [17] A. Martínez-Arias, A. Hungría, G. Munuera & D. Gamarra, *Appl. Catal. B* **65**, 207 (2006).
- [18] S. Kandoi, A. Gokhale, L. Grabow, J. Dumesic & M. Mavrikakis, *Catal. Lett.* **93**, 93 (2004).
- [19] W. Liu & M. Flytzani-Stephanopoulos, *J. Catal.* **153**, 304 (1995).
- [20] F. Mariño, C. Descorme & D. Duprez, *Appl. Catal.* **B 58**, 175 (2005).
- [21] J. Xiaoyuan, L. Guanglie, Z. Renxian, M. Jianxin, C. Yu & Z. Xiaoming, *Appl. Surf. Sci.* **173**, 208 (2001).
- [22] W. Liu, C. Wadia & M. Flytzani-Stephanopoulos, *Catal. Today* **28**, 391 (1996).
- [23] P. Bera, S. Aruna, K. Patil & M. Hegde, *J. Catal.* **186**, 36 (1999).
- [24] M. Jobbágy, F. Mariño, B. Schönbrod, G. Baronetti & M. Laborde, *Chem. Mater.* **18**, 1945 (2006).
- [25] F. Mariño, B. Schönbrod, M. Moreno, M. Jobbágy, G. Baronetti & M. Laborde, *Catal. Today* **133-135**, 735 (2008).
- [26] N. Bion, F. Epron, M. Moreno, F. Mariño & D. Duprez, *Top. Catal.* **51**, 76 (2008).
- [27] F. Mariño, G. Baronetti, M. Laborde, A. Le Valant, N. Bion, F. Epron & D. Duprez, *Int. J. Hyd. Energy* **33**, 1345 (2008).
- [28] B. Schönbrod, F. Mariño, G. Baronetti & M. Laborde, *Int. J. Hyd. Energy* **34**, 4021 (2009).
- [29] M. Moreno, F. Mariño, G. Baronetti & M. Laborde, *Int. J. Hyd. Energy* **33**, 3538 (2008).
- [30] C. de Leitenburg, A. Trovarelli & J. Kaspar, *J. Catal.* **166**, 98 (1997).
- [31] F. Giordano, A. Trovarelli, C. de Leitenburg & M. Giona, *J. Catal.* **193**, 273 (2000).
- [32] F. Mariño, E. Poggio, M. Moreno, B. Schönbrod, G. Baronetti & M. Laborde, 15° Congresso Brasileiro de Catalise / 5° Congresso de Catalise do Mercosul, Búzios-RJ, Brasil, 13 al 17 de septiembre de 2009.
- [33] Lj. Kundakovic & M. Flytzani-Stephanopoulos, *Appl. Catal.* **A 171**, 13 (1998).
- [34] P. Zimmer, A. Tschöpe & R. Birringer, *J. Catal.* **205**, 339 (2002).
- [35] X. Tang, B. Zhang, Y. Li, Y. Xu, Q. Xin & W. Shen, *Catal. Today* **93-95**, 191 (2004).
- [36] G. Rao, H. Sahu & B. Mishra, *Colloids Surf. A* **220**, 261 (2003).
- [37] Z. Shanghong, B. Xue, W. Xiaoyan, Y. Wenguo & L. Yuan, *J. Rare Earths* **24**, 177 (2006).
- [38] X. Zheng, X. Zhang, X. Wang, S. Wang & S. Wu, *Appl. Catal.* **A 295**, 142 (2005).
- [39] M. Manzoli, R. di Monte, F. Boccuzzi, S. Coluccia & J. Kaspar, *Appl. Catal.* **B 61**, 192 (2005).
- [40] H.C. Lee & D.H. Kim, *Catal. Today* **132**, 109 (2008).
- [41] M. Li, D.H. Wang, X.C. Shi, Z.T. Zhang & T.X. Dong, *Sep. Purif. Tech.* **57**, 147 (2007).
- [42] W. Liu & M. Flytzani-Stephanopoulos, *J. Catal.* **153**, 317 (1995).
- [43] P. Mars & D.W. van Krevelen, *Chem Eng. Sci. Spec. Suppl.* **8**, 41 (1954).
- [44] G. Sedmak, S. Hocevar & J. Levec, *J. Catal.* **213**, 135 (2003).
- [45] G. Sedmak, S. Hocevar & J. Levec, *J. Catal.* **222**, 87 (2004).
- [46] W. Liu & M. Flytzani-Stephanopoulos, *Chem. Eng. Journal* **64**, 283 (1996).
- [47] A. Vannice, *Catal. Today* **123**, 18 (2007).

Manuscrito recibido el 5 de abril de 2010.

Aceptado el 14 de mayo de 2010.





**IV**

**COMUNICACIONES DE ACADÉMICOS**



## SOBRE LAS FASES M-1212 ( $\text{MSr}_2\text{TRCu}_2\text{O}_8$ ; TR = TIERRA RARA; M = RU, CR E IR). UNA GRAN FAMILIA DE NUEVOS MATERIALES

Antonio J. Dos santos-García<sup>a,b</sup> y Miguel Á. Alario-Franco<sup>a,\*</sup>

Dpto. Química Inorgánica I. Laboratorio Complutense de Altas Presiones. Facultad de Ciencias Químicas.  
Universidad Complutense de Madrid, Madrid. España.  
Parque Científico y Tecnológico de Albacete. Instituto de Investigación en Energías Renovables.  
UCLM. Albacete. España.

### Resumen

Desde el descubrimiento de los materiales cerámicos-superconductores de alta temperatura como, por ejemplo los célebres *Balacuo* e *Ybacuo*, gran parte de los esfuerzos científicos en el campo de la Físicoquímica del Estado Sólido han girado en torno a la síntesis de nuevos materiales relacionados con sus estructuras cristalinas. De ahí, surgen los materiales tipo 1212 que, a menudo, además de ser superconductores, presentan también magnetismo coexistiendo en el mismo compuesto. A pesar de la relativa dificultad que presenta la síntesis de estos compuestos, por la necesidad de recurrir a altas presiones y altas temperaturas, esto no ha representado, en absoluto, barrera infranqueable para la continuidad de su estudio. En este trabajo, presentamos de forma condensa y a modo de revisión, el conjunto de propiedades y características más notables que presenta esta amplia familia de nuevos materiales.

*Palabras clave:* Superconductores; fases M-1212; síntesis; propiedades magnéticas

### Abstract

**On the M-1212 phases ( $\text{MSr}_2\text{TRCu}_2\text{O}_8$ ; TR = rare earth; M = Ru, Cr and Ir). A large family of new materials.** Since the discovery of the new high temperature superconducting ceramic materials, for example the renowned *Balacuo* and *Ybacuo*, a great part of the scientific efforts in the field of Solid State Physical Chemistry have turned around the synthesis of new materials related to their crystalline structures. This is the origin of the 1212 type materials which, often, besides to presenting superconductivity show also magnetism, coexisting in the same compound. Despite the relative difficulties which the syntheses of these compounds present, due to the necessity of the use of high pressures and temperatures, this has not affected the continuity of their study. In this paper we present a brief revision on the properties and relevant characteristics of this large family of materials.

*Key words:* Superconductors; M-1212 phases; synthesis; magnetic properties

### Introducción

En 1911, Kamerlingh Onnes observó que la resistencia eléctrica del mercurio caía repentinamente hasta hacerse nula a temperaturas inferiores a los 4.2 K. A este efecto, que puede considerarse como uno de los más fascinantes de la ciencia del siglo XX y que podría ser capaz de cambiar la manera de vivir de la humanidad, lo bautizó como superconductividad y la temperatura a la que esto ocurre se conoce como temperatura crítica superconductor [1]. Antaño, la superconductividad fue un tema puntero en la Química/Física del Estado Sólido y en Ciencia

de Materiales [2-5]; hogaño, son aún numerosos los trabajos de investigación que se publican en prestigiosas revistas científicas en busca del “Santo Grial” de la superconductividad, es decir, el material superconductor a temperatura ambiente [6,7].

Ello ha dado lugar, además, al descubrimiento de productos químicos inexistentes en la naturaleza, que normalmente poseen interesantes propiedades físico-químicas. Uno de estos ejemplos, aconteció con el descubrimiento de la coexistencia de superconductividad y magnetismo en los ruteno-cupratos de fórmula general

\*) Académico Correspondiente en Madrid, España (EMail: maaf@quim.ucm.es)

$\text{RuSr}_2\text{TRCu}_2\text{O}_8$  (TR= tierra rara e ytrio) [8]. A presión ambiente, Sm, Eu y Gd son los únicos lantánidos que aceptan entrar en la estructura tipo-1212 (Figura 1a) [9], estructura derivada de la del célebre *Ybaco* superconductor (Figura 1b). Esta restricción, que a priori puede relacionarse con el impedimento estérico o tamaño del lantánido, tiene su explicación si se analizan las condiciones de síntesis necesarias para estabilizar el resto de compuestos. La aplicación simultánea de alta presión y alta temperatura resulta ser condición imprescindible para obtener la mayoría de los compuestos de esta familia [10]. Es importante señalar que esta condición no sólo es exclusiva de los ruteno-cupratos. La presión de síntesis en otros metalo-cupratos, i. e.  $\text{MSr}_2\text{TRCu}_2\text{O}_8$  donde M es un metal de transición, mantienen la misma tendencia con el tamaño de la tierra rara que en sus homólogos ruteno-cupratos [11]. Se requieren presiones más elevadas para estabilizar los lantánidos de radio iónico más pequeño, pero también para estabilizar a los más grandes! La presión de síntesis alcanza así un mínimo para los elementos centrales de la serie: Sm, Eu y Gd.

Se han obtenido familias de metalo-cupratos M-1212 con elementos de la primera serie de transición, i. e. M=Cr [12], segunda serie de transición M=Nb [13], Mo [14] y Ru [8,9] y, más recientemente, con metales de la tercera serie de transición, M=Ta [15] e Ir [16]. Fenómenos como superconductividad, ferromagnetismo, ferrimagnetismo, metamagnetismo y transiciones a estados de vidrio de espín, entre otros, se encuentran entre las propiedades de esta interesante familia de compuestos. En lo que sigue vamos a describir brevemente las características esenciales de

los nuevos materiales de este tipo que han sido preparados en nuestro laboratorio. El detalle de las mismas se han recogido ya, en parte, en las referencias [9-12], [16] y [19-21].

## Resultados y discusión

Los primeros compuestos con estructura tipo 1212 surgen al sustituir Ta por Cu en el conocido *Balacuo* superconductor de alta temperatura [15]. Esta sustitución química provoca una expansión de la red cristalina del *Balacuo*, destruyendo la superconductividad y generando propiedades semiconductoras en el nuevo compuesto. Tan solo un año más tarde, Greaves y Slater reemplazan el cobre en configuración plano-cuadrada del *Balacuo* por Ta y Nb en coordinación octaédrica [13] que, constituye tal como se denomina hoy en día a esta capa como la “reserva de carga”. A pesar de los intentos por incrementar la temperatura crítica superconductora del *Balacuo*, los nuevos compuestos preparados son semiconductores. Greaves y Slater achacan la supresión de la superconductividad al contenido en oxígeno de las muestras que, como ahora bien se conoce, juega un importante papel en el delicado balance de cargas  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{3+}$ . Efectivamente, se ha observado experimentalmente que todos los compuestos superconductores que contienen Cu, presentan una mezcla de estados de oxidación  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{3+}$  situándose la valencia del cobre comprendida entre 2.05-2.25. Hay que recalcar, no obstante, que esta es condición necesaria, pero no suficiente, a la hora de garantizar la presencia de superconductividad en un compuesto [17].

Sin embargo, en 1995 Bauernfeind y colaboradores obtienen, entre otros, los compuestos de fórmula general  $\text{RuSr}_2\text{TRCu}_2\text{O}_8$  con TR = Sm, Eu y Gd, que a priori presentaban un comportamiento propio de un semiconductor [8]. Fue entonces cuando, tal como predecían Greaves y Slater, sucesivos tratamientos térmicos en atmósferas oxidantes, conseguían inducir el estado superconductor. La síntesis del resto de la familia de compuestos no se completa hasta el año 2002, debido principalmente a la necesidad de utilizar técnicas combinadas de alta presión y alta temperatura para su estabilización [9]. Todos nuestros compuestos fueron sintetizados en el Laboratorio Complutense de Altas Presiones [18] y de ellos cabe mencionar, en particular,  $\text{RuSr}_2\text{YCu}_2\text{O}_8$  que presenta la temperatura crítica superconductora más alta de la familia: 51 K.

La coexistencia de superconductividad y magnetismo en los ruteno-cupratos dio un fuerte impulso a la síntesis de nuevos materiales que cristalizan en la estructura tipo 1212. En este sentido, Felner y Galstyan [14] sintetizan a presión

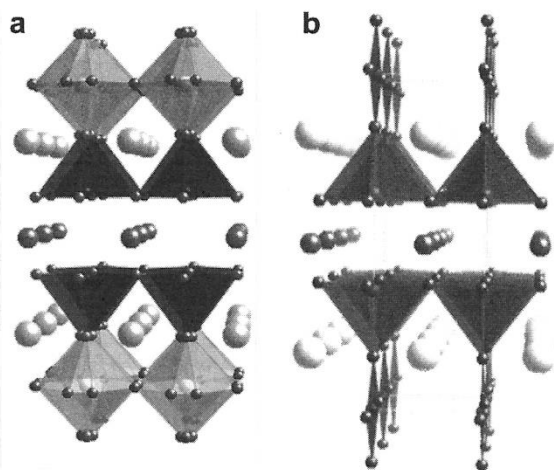


Fig. 1. Esquema de las estructuras cristalinas de a)  $\text{MSr}_2\text{RECu}_2\text{O}_8$  y b) *YBaCuO*.

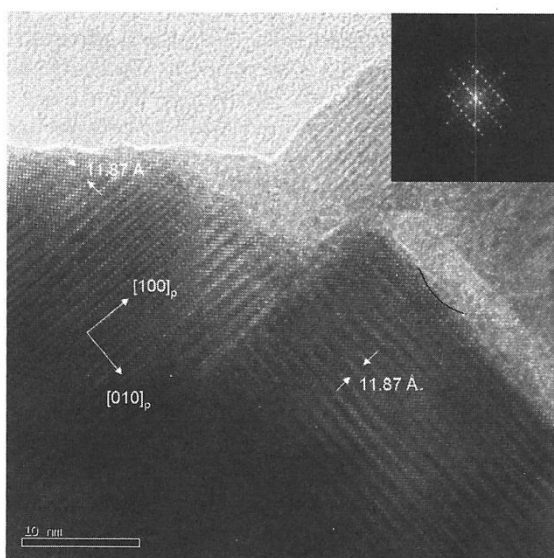


Fig. 2. Microestructura del  $\text{IrSr}_2\text{TbCu}_2\text{O}_8$ : Diagrama de difracción de electrones de alta resolución. Recuadro: transformada de Fourier de la imagen.

ambiente toda la serie de compuestos de fórmula general  $\text{MoSr}_2\text{TRCu}_2\text{O}_8$ . Es interesante señalar que, la proporción de impurezas aumenta en la síntesis de los compuestos 1212 con las tierras raras más grandes y más pequeñas, i. e. La y Lu respectivamente. Por otro lado, en lo que respecta a las propiedades magnéticas de estos sólidos, los compuestos que contienen las tierras raras más grandes (La-Nd) son paramagnéticas, los que contienen los lantánidos centrales (Sm-Dy) son antiferromagnéticos y finalmente, el comportamiento de los compuestos que contienen las tierras raras más pequeñas (Y, Ho-Tm) presentan simultáneamente superconductividad y antiferromagnetismo y tan solo,  $\text{MoSr}_2\text{YbCu}_2\text{O}_8$  presenta exclusivamente superconductividad. Es interesante observar el amplio espectro de propiedades magnéticas y eléctricas presentes dentro de la misma familia de compuestos. Esta rica variedad de comportamientos parece estar relacionada con la anisotropía de la tierra rara.

La familia  $\text{CrSr}_2\text{TRCu}_2\text{O}_8$  ha sido preparada con éxito a altas presiones y altas temperaturas [12]. Ninguno de los miembros de la familia presenta superconductividad y el magnetismo presente en estas fases se limita a un ordenamiento antiferromagnético en los compuestos sintetizados con las tierras raras no magnéticas. Parece así que el magnetismo del resto de las fases sintetizadas, se encuentra enmascarado por el propio magnetismo de la tierra rara.

Finalmente, hemos sintetizado varios compuestos de fórmula general  $\text{IrSr}_2\text{TRCu}_2\text{O}_8$  con  $\text{TR} = \text{Sm-Tb, Y, Ho y Yb}$ . Las presiones necesarias para la formación de estas fases, como fases mayoritarias, son las más elevadas de la familia de metalo-cupratos M-1212; por ejemplo, para sintetizar la fase  $\text{IrSr}_2\text{YbCu}_2\text{O}_8$  son necesarias presiones cercanas a los 20 GPa, imás elevadas aún que las presiones que se alcanzan en el manto terrestre! [19].

Cabe señalar por otra parte la muy interesante microestructura que presentan estos compuestos; la Figura 2 recoge la imagen de alta resolución correspondiente al compuesto  $\text{IrSr}_2\text{TbCu}_2\text{O}_8$ . Puede observarse la existencia de dominios tridimensionales en los que la orientación de la celda unidad ( $\sim\sqrt{2} \text{ ap} \times \sqrt{2} \text{ ap} \times 3\text{ap}$ , donde  $\text{ap} \approx 3.9 \text{ \AA}$  es el parámetro básico de la estructura perovskita cúbica) alterna en una de las tres direcciones del espacio en cada dominio. El recuadro incluido en la parte superior derecha de la misma figura muestra la correspondiente transformada de Fourier de la imagen que, obviamente, se corresponde con el diagrama de difracción de electrones de dicha orientación. Los citados dominios, se muestran esquemáticamente en la Figura 3.

De nuevo, la anisotropía de la tierra rara se pone de manifiesto y, aunque hasta el momento no se ha encontrado ninguna fase superconductor, la muestra de Gd presenta un acoplamiento ferromagnético entre las subredes magnéticas de Ir y Gd [20]. Este es el primer ejemplo de ferrimagnetismo en la familia de metalo-cupratos M-1212. La fase de Tb, que *a priori* presenta un acoplamiento antiferromagnético convencional de los momentos magnéticos del Tb, presenta, sin embargo,

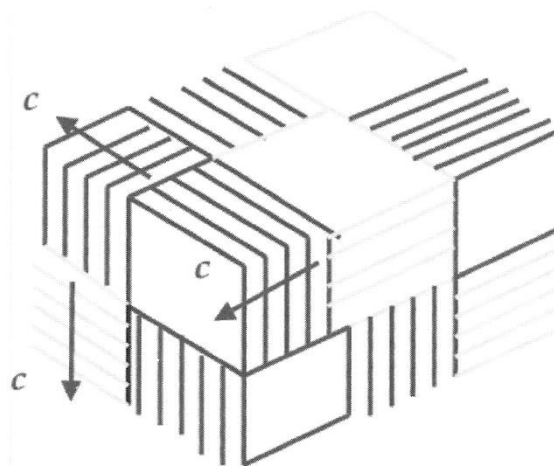
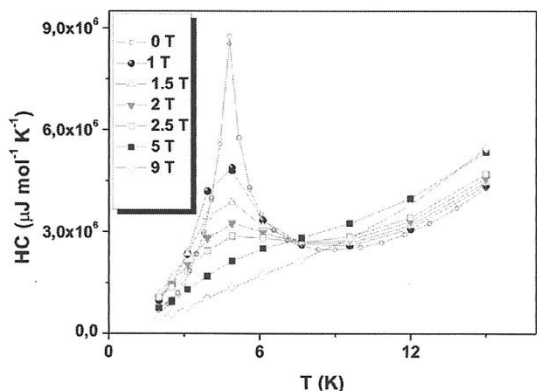


Fig. 3. Representación esquemática de la orientación de dominios tridimensionales.



sición antiferromagnética del  $\text{IrSr}_2\text{TbCu}_2\text{O}_8$  a distintos campos magnéticos aplicados.

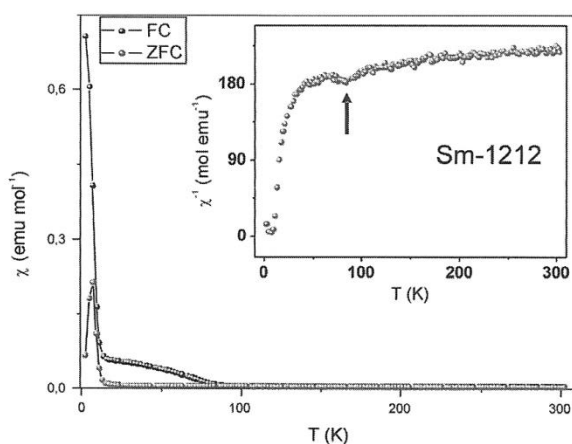


Fig. 5. Susceptibilidad magnética en función de la temperatura para la muestra  $\text{IrSr}_2\text{SmCu}_2\text{O}_8$ . En el recuadro, la transición magnética es claramente visible en la representación de la inversa de la susceptibilidad.

metamagnetismo cuando se le aplica un campo magnético externo [21]. El calor específico de la transición antiferromagnética disminuye a medida que aumenta la intensidad del campo magnético aplicado, hasta desaparecer por completo a campos superiores a las 9 Teslas (Figura 4).

¡Este también representa el primer ejemplo de metamagnetismo entre los compuestos M-1212!

Los compuestos con Sm y Eu, requieren presiones más moderadas para su formación, 6 y 3GPa respectivamente. La caracterización magnética de estos compuestos revela un comportamiento realmente novedoso en lo que concierne a los compuestos M-1212 (Figura 5). Si bien se han observado transiciones de vidrio de espin en alguna fase de los ruteno-cupratos, las fases  $\text{IrSr}_2\text{TRCu}_2\text{O}_8$  con TR = Sm y Eu presentan un

fenómeno denominado vidrio de espin reentrante. A diferencia de lo que ocurre en un vidrio de espin convencional, donde los espines individuales se “congelan” uno a uno, en estos irido-cupratos lo hacen en forma de clusters o cúmulos. Es importante señalar que existen varias teorías que aseguran que este estado es un estado precursor a la superconductividad de alta temperatura [22]; y es que, al igual que ocurre con los pares de Cooper, estos clusters están unidos de dos en dos. En lo referente a los irido-cupratos con Y, Ho e Yb, al tratarse de fases recientemente preparadas, su caracterización magnética está aún incompleta. Atendiendo a la posible anisotropía de la tierra rara, tal y como ocurría en la familia de molibdatos donde se observa magnetismo y superconductividad para los lantánidos más pequeños, es probable que estos nuevos irido-cupratos presenten interesantes propiedades magnéticas e incluso superconductividad.

### Conclusiones

A lo largo de la historia de los metalocupratos con estructura tipo 1212, ha quedado de manifiesto que el comportamiento magnético y eléctrico de estos materiales es y sigue siendo digno de estudio. A pesar de la dificultad de sintetizar nuevos miembros de esta familia de compuestos, esta no ha representado una barrera para la continuidad de su estudio. Los avances tecnológicos en el campo de las altas presiones y el fácil acceso a grandes instalaciones científicas han generado un nuevo impulso en la síntesis de materiales a altas presiones y altas temperaturas. De los 27 metales de transición, tan solo siete de ellos: Cr de la primera serie de transición (y por supuesto Cu), Nb, Mo y Ru de la segunda y Ta e Ir de la tercera, han podido ser aprovechados en estas síntesis: Obviamente ¡aún queda mucha química por hacer!

### Agradecimientos

Los autores agradecen a sus colegas y colaboradores y en particular a los Profesores Emilio Morán y Regino Sáez-Puche (UCM) así como a los Doctores Rocío Ruiz-Bustos y José Manuel Gallardo-Amores, su importante colaboración en diferentes aspectos de los trabajos que aquí se comentan.

### Referencias

- [1] M.A. Alario-Franco & J.L. Vicent, *Superconductividad*, Eudema Universidad, Madrid, 1991.
- [2] S.N. Putilin, E.V. Antipov & M. Marezio, *Physica C* **212**, 226 (1993).
- [3] A. Schilling, M. Cantón, J.D. Guo & H.R. Ott, *Nature* **363**, 56 (1993).
- [4] J. Nuñez-Regueiro, L. Tholence, E.V. Antipov, J.J. Caponi & M. Marezio, *Science* **262**, 97 (1993).



- [5] W. Chu, L. Gao, F. Chen, Z.J. Huan, R.L. Meng & Y.Y. Xue, *Nature* **365**, 323 (1993).
- [6] T. Watanabe, H. Yanagi, T. Kamiya, Y. Kamihara, H. Hiramatsu, M. Hirano & H. Hosono, *Inorg. Chem.* **46**, 7719 (2007).
- [7] Y. Kamihara, T. Watanabe, M. Hirano & H. Hosono, *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 3296 (2008).
- [8] L. Bauernfeind, W. Widder & H.D. Braun, *Physica C* **254**, 151 (1995).
- [9] R. Ruiz-Bustos, J.M. Gallardo, R. Sáez-Puche, E. Morán & M.A. Alario-Franco, *Physica C* **382**, 395 (2002).
- [10] R. Ruiz-Bustos, A.J. Dos santos-García & M.A. Alario-Franco, *Z.Anorg. Allg. Chem.* **633**, 1919 (2007).
- [11] M.A. Alario-Franco, R. Ruiz-Bustos & A.J. Dos santos-García, *Inorg. Chem.* **47**, 6475 (2008).
- [12] R. Ruiz-Bustos, M.H. Aguirre & M.A. Alario-Franco, *Inorg. Chem.* **44**, 3063 (2005).
- [13] C. Greaves & P.R. Slater, *Physica C* **161**, 245 (1989).
- [14] I. Felner & E. Galstyan, *Phys Rev.* **B 69**, 024512 (2004).
- [15] N. Murayama, E. Sudo, K. Kani, A. Tsuzuki, S.Kawakami, M. Awano & Y. Torii, *J. Appl. Phys.* **27**, L1623 (1988).
- [16] A.J. Dos santos-García, J. van Duijn & M.A. Alario-Franco, *J. Solid State Chem.* **181**, 3317 (2008).
- [17] E.V. Antipov, A.M. Abakumov & S.N. Putilin, *Superconod. Sci. Technol.* **15**, R31 (2002).
- [18] <http://www.ucm.es/info/labcoap/index.htm>
- [19] A.J. Dos santos-García, R. Ruiz-Bustos & M.A. Alario-Franco, *High Press. Res.* **28**, 525 (2008).
- [20] A.J. Dos santos-García, M.H. Aguirre, E. Morán, R. Sáez-Puche & M.A. Alario-Franco, *J. Solid State Chem.* **179**, 1296 (2006).
- [21] A.J. Dos santos-García, J. van Duijn, R. Sáez-Puche, G. Heymann, H. Huppertz & M.A. Alario-Franco, *J. Solid State Chem.* **181**, 1167 (2008).
- [22] J.K. Srivastava & S.M. Rao, *Models and Methods of High Tc Superconductivity: Some Frontal Aspects*, Vol. 1, Nova Science Publishers, Hauppauge, NY, 2003.

*Manuscrito recibido el 10 de junio de 2009.  
Aceptado el 30 de julio de 2009.*



V

ENSAYO DE BECARIOS



## ENSAYOS DE BECARIOS

Por donación de Marcelo G. y Paulo D. Barroso Mastronardi desde 1999 esta Academia ofrece las becas "*In Libris Carpe Rosam*" en Matemática y Ciencias Biológicas, respectivamente. Estas becas están destinadas a estudiantes de la Universidad de Buenos Aires, menores de 22 años de edad, y con dedicación exclusiva a las dos áreas mencionadas.

Los beneficiarios de estas becas deben informar a la Academia acerca del avance de sus estudios y al finalizar la misma deben presentar un breve ensayo que refleje sus ideas y opiniones acerca de un acontecimiento nacional o internacional ocurrido en el lapso de la beca, que implique el cercenamiento de derechos humanos, discriminación de cualquier tipo, o que ponga trabas al progreso del conocimiento.

Estos ensayos pueden leerse en la página web de la Academia ([www.ancefn.org.ar](http://www.ancefn.org.ar)), entrando en el apartado de Becas y luego en la sección Becas "*In Libris Carpe Rosam*".

A continuación se detallan los ensayos que han sido presentados entre 1999 y 2008, y que se encuentran disponibles en la página mencionada:

### 1999

Fernando López-García: "El aprendiz de brujo"

### 2001

Maximina H. Yun: "La Ciencia en el reino del miedo"

Juan I. Fuxman Bass: "Clonación y otros males"

Matías L. del Hoyo: "Cuestiones globales, decisiones no tanto"

Jonathan A. Barmak: "La ignorancia es la fuerza"

### 2003

Maria Belén Almejun: "Sojización de la Argentina"

### 2004

Sergio A. Yuhjtman: "Bicicletas"

### 2006

Matías Camporino: "Deforestación y consecuencias"

Emanuel D. Rodríguez Cirone: "25 Años de democracia"

Florencia Campetella Mayoral: "¿La respuesta está en las plantas?"

### 2008

Eugenia Grotz: "Sobre libertad de expresión y desalojo de espacios culturales"

Tomás Ibarlucía: "Vicisitudes de la secularización en un país desigual"

Magalí Giaroli: "Injusticia Educativa"







**ACADEMIA NACIONAL DE CIENCIAS  
EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES**

Autoridades

Académicos Titulares

Académicos Honorarios

Académicos Eméritos

Académicos Correspondientes en el Exterior

Académicos Correspondientes Nacionales

Secciones

Comisiones

Administración



**AUTORIDADES**  
**Ejercicio 2008 - 2010**

**Presidente**

Dr. EDUARDO H. CHARREAU

**Vicepresidente**

Dr. ROBERTO E. CUNNINGHAM\*

**Secretario General**

Dr. ENRIQUE J. BARAN

**Secretario de Actas**

Ing. ALBERTO PIGNOTTI

**Tesorero**

Dr. ROBERTO L. O. CIGNOLI

**Protesorero**

Dr. VÍCTOR J. YOHAI

**Suplentes**

Dr. JORGE V. CRISCI  
Ing. HORACIO REGGINI

*\*Falleció el 15 de octubre de 2008*



## ACADÉMICOS TITULARES

	Fecha de nombramiento
1. Ingeniero ARTURO J. BIGNOLI	19-06-1965
2. Doctor ALEJANDRO J. ARVIA	19-05-1973
3. Doctor HORACIO H. CAMACHO	19-05-1973
4. Doctor MARIO A.J. MARISCOTTI	25-04-1986
5. Ingeniero HORACIO C. REGGINI	28-08-1987
6. Doctor ALBERTO PIGNOTTI	27-05-1988
7. Doctor RODOLFO R. BRENNER	24-06-1988
8. Doctor HUNER FANCHIOTTI	28-06-1991
9. Doctor NORBERTO A. FAVA	29-11-1991
10. Ingeniero FÉLIX J. LILLI*	28-07-1995
11. Doctor Ingeniero RAÚL A. LOPARDO	24-11-1995
12. Doctora MARIANA D. WEISSMANN	31-05-1996
13. Doctor ENRIQUE J. BARAN	31-05-1996
14. Doctor EDUARDO H. CHARREAU	31-05-1996
15. Doctor Ingeniero EDUARDO N. DVORKIN	31-05-1996
16. Doctor ROBERTO L.O. CIGNOLI	24-04-1998
17. Ingeniero EDUARDO NÚÑEZ	28-08-1998
18. Doctor VÍCTOR J. YOHAI	29-10-1999
19. Doctor JOSÉ R. GALVELE	29-06-2001
20. Doctor JORGE V. CRISCI	27-07-2001
21. Doctor ROBERTO P.J. PERAZZO	25-04-2003
22. Doctor ARMANDO J. PARODI	25-07-2003
23. Doctora NORMA E. SBARBATI de NUDELMAN	25-06-2004
24. Ingeniero BRUNO V. FERRARI BONO	29-10-2004
25. Doctor JORGE E. SOLOMIN	24-06-2005
26. Doctor GUSTAVO CORACH	29-07-2005
27. Doctor ALFREDO CALVELO	01-06-2007
28. Ingeniero HUMBERTO CIANCAGLINI	01-06-2007
29. Doctor CARLOS WASHINGTON RAPELA	01-06-2007
30. Doctor RICARDO GUILLERMO DURAN	31-08-2007
31. Doctor HÉCTOR VUCETICH	26-10-2007
32. Doctora MARTA ROSEN	25-04-2008
33. Doctor ROBERTO J. FERNÁNDEZ PRINI	27-06-2008
34. Doctor FRANCISCO DE LA CRUZ	24-10-2008
35. Doctor ROBERTO J.J. WILLIAMS	27-03-2009
36. Ingeniero CARLOS A. PRATO	27-03-2009
37. Ingeniero Luis DE VEDIA	29-05-2009

\*Designado el 18 de diciembre de 2009 Académico Emérito





## ACADÉMICOS

### ACADÉMICOS HONORARIOS

Doctor **Daniel R. Bes** (La Lucila, Buenos Aires), Ingeniero **Arnoldo J. L. Bolognesi\*** (Ciudad Autónoma de Buenos Aires), Doctor **James W. Cronin** (Chicago, Illinois, Estados Unidos), Doctor **Richard Ernst** (Winterthur, Suiza), Doctor **Leon M. Lederman** (Batavia, Estados Unidos), Doctor **Pierre Louis Lions**, (París, Francia) Doctor **Chintamani N. R. Rao** (Bangalore, India), Doctor **Frederick Sanger** (Cambridge, Inglaterra).

*\*Falleció el 14 de agosto de 2008*

### ACADÉMICOS EMÉRITOS

Doctor **Rosendo Pascual** (La Plata, Buenos Aires), Ingeniero **Luis F. Rocha** (Ciudad Autónoma de Buenos Aires), Ingeniero **Roque Scarfiello\*** (Ciudad Autónoma de Buenos Aires), Doctor **Pedro N. Stipanivic\*\*** (Ciudad Autónoma de Buenos Aires)

*\*Falleció el 12 de febrero de 2008*

*\*\*Falleció el 5 de diciembre de 2008*

### ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES EN EL EXTERIOR

Doctor Miguel Angel **Alario y Franco** (Madrid, España) Doctor **Petar Alaupovic** (Oklahoma City, Oklahoma, Estados Unidos), Doctor **Jorge E. Allende** (Santiago, Chile), Doctor **Eduardo J. Ansaldo** (Saskatoon, Saskatchewan, Canadá), Doctor **Agustín Arévalo Medina** (La Laguna, España), Doctor **Francisco E. Baralle** (Trieste, Italia), Doctor **Allen J. Bard** (Austin, Texas, Estados Unidos), Doctor **Klaus-Jürgen Bathe** (Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos), Doctor **José Bernabéu Alberola** (Burjassot, Valencia, España), Ingeniero **Vitelmo V. Bertero** (Berkeley, California, Estados Unidos), Doctor **David I. Blockley** (Bristol, Inglaterra), Profesor **Vinicio Boffi** (Roma, Italia), Doctor **Luis A. Caffarelli** (Princeton, New Jersey, Estados Unidos), Doctor **César A. Carranza Saravia** (Lima, Perú), Doctor **Eduardo E. Castellano** (San Carlos, San Pablo, Brasil), Doctor **Michael Clegg** (Irvine, California, Estados Unidos), Doctor **Juan Alberto Costamagna** (Santiago, Chile), Doctor **John C. Crowell** (Santa Barbara, California, Estados Unidos), Doctor **Héctor R. Croxatto** (Santiago, Chile), Doctor **Britton Chance** (Philadelphia, Pennsylvania, Estados Unidos), Doctor **John W. Daly** (Bethesda, Maryland, Estados Unidos), Doctor **Ubiratán D'Ambrosio** (Campinas, Brasil), Doctora **Angela F. Danil de Namor** (Guildford, Surrey, Inglaterra), Doctor **Walter F. Davidson** (Ottawa, Ontario, Canadá), Ingeniero **Don U. Deere** (Gainesville, Florida, Estados Unidos), Profesor **Patrick J. Dowling** (Guildford, Surrey, Inglaterra), Doctor **Horacio A. Farach** (Columbia, South Carolina, Estados Unidos), Doctor **Rodolfo Gambini** (Montevideo, Uruguay), Doctor **Francisco Giral** (México, México), Doctor **Eduardo D. Glandt** (Philadelphia, Pennsylvania, Estados Unidos), Doctor-Ingeniero **Rafael A. Guarga Ferro** (Montevideo, Uruguay), Doctor **Cristián E. Gutiérrez** (Philadelphia, Estados Unidos), Doctor **Bernard L. Horecker** (Fort Myers, Florida, Estados Unidos), Doctor **Derek Horton** (Washington D.C., Estados Unidos), Doctor-Ingeniero **Gerhard H. Jirka** (Karlsruhe, Alemania), Doctor **Shyam**

**L. Kalla** (Maracaibo, Venezuela), Doctora **Eugenia Kalnay** (College Park, Maryland, Estados Unidos), Doctor **Marcus Karel** (Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos), Doctor **Ephraim Katzir** (Tel-Aviv, Israel), Doctor **Michio Kuriyagawa**, (Kyoto, Japón), Doctor **Dieter M. Kolb** (Ulm, Alemania), Doctor **Bernt Krebs** (Münster, Alemania), Doctor **José Leite Lopes** (Río de Janeiro, Brasil), Profesor **Pierre Léna** (París, Francia), Doctor **Enrique P. Lessa** (Montevideo, Uruguay), Doctor **Jorge Lewowicz** (Montevideo, Uruguay), Doctor **Eduardo A. Lissi Gervaso** (Santiago, Chile), Ingeniero **Giovanni Lombardi** (Locarno, Suiza), Doctor **Emilio Lluís Riera** (México, México), Ingeniero **Mauricio Matos Peixoto** (Río de Janeiro, Brasil), Doctor **James R. Mattoon** (Colorado Springs, Colorado, Estados Unidos), Ingeniero **Victor F.B. de Mello** (San Pablo, Brasil), Profesor **Marvin Minsky** (Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos), Profesor **Marcos Moshinsky** (México, México), Doctor **Achim Müller** (Bielefeld, Alemania), Doctor **Daniele Mundici** (Firenze, Italia), Doctor **Eduardo L. Ortiz** (London, Inglaterra), Doctor **Norberto J. Palleroni** (Norths Caldwell, New Jersey, Estados Unidos), Doctor **Rafael Radi** (Montevideo, Uruguay), Doctor **Peter H. Raven** (St. Louis, Missouri, Estados Unidos), Doctor **Lázaro Recht** (Caracas, Venezuela), Doctor-Ingeniero **Jorge Riera** (Porto Alegre, Brasil), Doctor **Sixto Ríos García** (Madrid, España), Doctor **Juan G. Roederer** (Fairbanks, Alaska, Estados Unidos), Doctor **Herbert W. Roesky** (Göttingen, Alemania), Doctor **Edmundo Rofman** (París, Francia), Doctor **Igor Saavedra** (Santiago, Chile), Doctor-Ingeniero Agrónomo **Juan Carlos Santamarina** (Atlanta, Georgia, Estados Unidos), Doctor **Alberto Sirlin** (New York, Estados Unidos), Doctor **Edward C. Slater** (Southampton, Inglaterra), Doctor **Peter Thieberger** (Upton, New York, Estados Unidos), Doctor **Antonio F. R. de Toledo Piza** (San Pablo, Brasil), Doctor **José Luis Torrea Hernández** (Madrid, España), Doctor **Sergio Trasatti** (Milán, Italia), Ingeniero **Milton Vargas** (San Pablo, Brasil), Doctor **Luis Vargas Fernández** (Santiago, Chile), Doctor **Miguel Ángel Virasoro** (Roma, Italia), Doctor **Gerd E.G. Westermann** (Hamilton, Canadá), Profesor **Robin C. Whatley** (Aberystwyth, Gales), Ingeniero **Walter Wittke** (Aachen, Alemania).

## ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES NACIONALES

Profesor **Enrique Balech** (Necochea), Doctor **Néstor O. Bianchi** (La Plata), Doctor **Antonio Blanco** (Córdoba), Doctor **Mario H. Burgos** (Mendoza), Doctor **Mario A.G. Castagnino** (Rosario), Doctor **Enrique Castellano** (La Plata), Ingeniero **Roberto O. Cudmani** (S.M. de Tucumán), Doctor-Ingeniero **Rodolfo F. Danesi** (S.M. de Tucumán), Doctor **Francisco de la Cruz** (S.C. de Bariloche), Doctor **Diego de Mendoza** (Rosario, Santa Fe), Ingeniero **Luis D. Decanini** (Córdoba), Doctor **Pedro Depetris** (Córdoba) Doctor **Ricardo N. Farías** (S.M. de Tucumán), Ingeniero **Alberto S.C. Fava** (La Plata), Ingeniero **Pedro Carlos O. Fernández** (Mendoza), Doctor **Roberto J. Fernández Prini** (Ciudad Autónoma de Buenos Aires)\*, Doctor **Telasco García Castellanos** (Córdoba), Doctor **Félix E. Herrera** (Ciudad Autónoma de Buenos Aires), Ingeniero **Luis J. Lima** (La Plata), Doctor **Arturo López Dávalos** (S.C. de Bariloche), Ingeniero **César J. Luisoni** (La Plata), Doctor **Hugo J.F. Maccioni** (Córdoba), Doctor **Roberto A. Macías** (Santa Fe), Doctor **Ezio Marchi** (San Luis), Doctor **Rafael Panzone** (Bahía Blanca), Doctor **Rubén D. Piacentini** (Rosario), Ingeniero **Carlos A. Prato** (Córdoba)\*\*, Ingeniero **Juan Carlos Reimundín** (S.M. de Tucumán), Ingeniero **Jean Riubrugent** (La Plata), Doctor **Edmundo A. Rúveda** (Rosario), Doctor **Juan A. Tirao** (Córdoba), Ingeniero **Jorge R. Tosticarelli** (Rosario), Ingeniero **Silvano J. Trevisán** (La Plata), Doctor **Walter E. Triaca** (La Plata), Doctor **Rubén H. Vallejos** (Rosario), Doctora **Noemí Walsøe de Reca** (Ciudad de Buenos Aires), Doctor **Roberto J.J. Williams** (Mar del Plata)\*\*, Doctor **Eduardo H. Zarantonello** (Mendoza).

\*Designado Académico Titular en la Sesión del 27 de Junio de 2008

\*\*Designado Académico Titular en la Sesión del 27 de marzo de 2009

## SECCIONES

### SECCIÓN DE MATEMÁTICA, FÍSICA Y ASTRONOMÍA

**Presidente:** Dr. Norberto F. Fava

**Secretario:** Dr. Roberto P. J. Perazzo

**Vocales:** Dr. Roberto L.O. Cignoli, Dr. Gustavo Corach, Dr. Huner Fanchiotti, Mario A.J. Mariscotti, Dr. Alberto Pignotti, Dr. Jorge E. Solomin, Dr. Héctor Vucetich, Dra. Mariana D. Weissmann, Dr. Víctor J. Yohai.

### SECCIÓN DE INGENIERÍA

**Presidente:** Dra. Marta Rosen

**Secretario:** Dr. Ing. Eduardo N. Dvorkin

**Vocales:** Ing. Arturo J. Bignoli, Dr. Alberto Calvelo, Ing. Humberto Ciancaglini, Ing. Bruno V. Ferrari Bono, Ing. Félix J. Lilli, Dr. Ing. Raúl A. Lopardo, Ing. Eduardo Núñez, Ing. Horacio C. Reggini.

### SECCIÓN DE CIENCIAS QUÍMICAS, DE LA TIERRA Y BIOLÓGICAS

**Presidente:** Dr. Enrique J. Baran.

**Secretario:** Dr. Rodolfo R. Brenner.

**Vocales:** Dr. Alejandro J. Arvia, Dr. Horacio H. Camacho, Dr. Eduardo H. Charreau, Dr. Jorge V. Crisci, Dr. Roberto J. Fernández Prini, Dr. José R. Galvele, Dr. Armando J. Parodi, Dr. Carlos W. Rapela, Dra. Norma E. Sbarbati de Nudelman

## COMISIONES

### COMISIÓN DE BECAS Y PREMIOS

**Miembros:** Dres. Eduardo H. Charreau, Dr. Ing. Eduardo N. Dvorkin, Dr. Alberto Pignotti

### COMISIÓN DE BIBLIOTECA

**Miembros:** Dr. Enrique J. Baran, Ing. Bruno V. Ferrari Bono, Dr. Víctor J. Yohai

### COMISIÓN DE INTERPRETACIÓN Y REGLAMENTO

**Miembros:** Ing. Félix Lilli, Dr. Norberto A. Fava



**COMISIÓN DE  
PUBLICACIONES**

**Miembros:** Dr. Enrique J. Baran, Ing. Bruno V. Ferrari Bono, Dr. Víctor J. Yohai

**COMISIÓN DE  
SUPERVISIÓN DEL INSTITUTO DE BOTÁNICA DARWINION**

**Miembros:** Dr. Jorge V. Cirschi, Dr. Armando J. Parodi

**COMISIÓN ESPECIAL PARA  
EL MEJORAMIENTO DE LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS**

**Miembros:** Dr. Gustavo Corach, Dr. Edgardo A. Disalvo (Asesor Ad-Hoc), Dr. Huner Fanchiotti, Dr. Roberto Fernández Prini, Dra. Norma E. Sbarbati de Nudelman

**COMISIÓN ESPECIAL DE  
ENERGÍA**

**Miembros:** Ing. Ernesto Badaraco (Asesor Ad-Hoc), Dr. Gabriel Barceló (Asesor Ad-Hoc), Dr. Ing. Raúl Lopardo, Dr. Roberto P.J. Perazzo, Ing. Horacio C. Reggini, Dr. Walter E. Triaca (Académico Correspondiente)

**COMISIÓN ESPECIAL DE ÉTICA EN  
CIENCIA Y TECNOLOGÍA**

**Coordinador:** Dr. Daniel R. Bes (Académico Honorario).

**Miembros:** Dr. Mario A.J. Mariscotti, Dr. Armando J. Parodi, Ing. Arturo Bignoli

**COMISIÓN ESPECIAL DE  
CIENCIAS DEL AGUA**

**Coordinador:** Dr. Ing. Raúl A. Lopardo.

**Miembros:** Dra. Inés Camillioni (Asesora Ad-Hoc), Ing. Bruno V. Ferrari Bono, Dr. Jorge Adolfo Massa (Asesor Ad-Hoc), Ing. Armando Sánchez Guzmán (Asesor Ad-Hoc), Ing. Rafael Seoane (Asesor Ad-Hoc).