

Revista de Ciencias de la  
Universidad Pablo de Olavide

M 50  
L E

Q  
L A



ISSN 2173-0903

## **Portada**

Martina Medici Torres

## **Plantilla de la revista**

Norberto Díaz Díaz

## **Editores de las secciones**

<b>MoleQla Ambiental</b>	- Ana Martín Calvo
<b>MoleQla Energía</b>	- Juan Antonio Anta Montalvo y Gerko Oskam
<b>MoleQla Nutricional</b>	- Gladys Margot Cahuana Macedo
<b>MoleQla Patrimonio</b>	- Mónica Moreno Falcón
<b>MoleQla Farmacéutica</b>	- Matilde Revuelta González
<b>MoleQla Nanotecnológica</b>	- Ana Paula Zaderenko
<b>MoleQla Biotecnológica</b>	- Cristina Guillén Mendoza
<b>MoleQla Celular</b>	- Guillermo López Lluch
<b>MoleQla Relatos</b>	- Jose Manuel Vicent
<b>MoleQla Informática</b>	- Norberto Díaz Díaz
<b>MoleQla Tierra</b>	- Manuel Díaz Azpiroz
<b>MoleQla Médica</b>	- Juan Antonio del Castillo Polo
<b>MoleQla Procesos</b>	- Sara González García
<b>MoleQla Deporte</b>	- Alberto Grao Cruces
<b>MoleQla Forense</b>	- Antonio Aguilar García
<b>MoleQla Instituto</b>	- Almudena García Sánchez
<b>MoleQla Educativa</b>	- Macarena Esteban Ibáñez
<b>MoleQla Química</b>	- Patrick Merkling

## **Responsable de Maquetación**

Francisco Araque Frías

Información sobre todas las secciones de MoleQla en <http://www.upo.es/MoleQla>

## **Editores**

Juan José Gutiérrez Sevillano

Ana Martín Calvo



ISSN 2173-0903

Editado el 18 de marzo de 2024

Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

# ÍNDICE

## **1. Moleq̃la Ambiental**

- 1.1. Problemas de contaminación del aire en China
- 1.2. Recuperación del litio de las baterías de ion litio

## **2. Moleq̃la Biotecnología**

- 2.1. El cangrejo herradura y sus aplicaciones biotecnológicas

## **3. Moleq̃la Forense**

- 3.1. Relevancia de la bioacumulación y el metilmercurio en Química Forense

## **4. Moleq̃la Nanotecnología**

- 4.1. Aplicación de nanocatalizadores de  $\text{WO}_3$  y  $\text{TiO}_2$  en Química Verde
- 4.2. Nanopartículas como vehículos para la entrega de CRISPR/Cas9 a las células tumorales
- 4.3. Why so spicy...
- 4.4. Modelos *in silico* y nanotecnología: la clave contra el cáncer

## **5. Moleq̃la Patrimonio**

- 5.1. Posibilidades y usos de la reflectografía infrarroja en el patrimonio cultural
- 5.2. Avances científicos en el pasmado de obras pictóricas

## **6. Moleq̃la Química**

- 6.1. La revolución química en la cocina
- 6.2. Bioquímica en el Infierno: El origen de los precursores biológicos durante el Eón Hádico
- 6.3. El alcohol y su papel protagonista en procesos industriales

Hola a tod@s

Decía un viejo conocido mío que la ciencia es como una sinfonía de conocimiento y pasión. Y no pude menos que acordarme de él cuando revisé los artículos que os traemos en este número de *MoleQla*, donde nos embarcamos en un viaje que, como una sinfonía de Mahler, combina múltiples movimientos en una melodía infinita de conocimiento y curiosidad.

Desde los graves problemas de contaminación del aire en China, que podrían rivalizar con la densidad de una niebla escocesa en el valle del Spey, hasta las innovadoras técnicas para recuperar litio de las baterías usadas, la sección de *MoleQla Ambiental* nos recuerda que la ciencia no solo debe diagnosticar problemas, sino también ofrecer soluciones sostenibles. Estos temas no solo son relevantes para los expertos, sino para todos aquellos que, como yo, disfrutan de un buen whisky de malta mientras reflexionan sobre cómo nuestras acciones impactan el planeta.

En *MoleQla Biotecnología* y *MoleQla Forense*, exploramos las fronteras de la vida y la justicia con la precisión de un experimento bien diseñado. El cangrejo herradura, un fósil viviente, nos revela aplicaciones biotecnológicas tan sorprendentes como encontrar un acorde perfecto en una fuga de Bach. Por su parte, el estudio de la bioacumulación y el metilmercurio nos muestra cómo la química forense puede desentrañar crímenes con la misma meticulosidad con la que se analiza una partitura compleja. Estos artículos son un testimonio de cómo la ciencia puede ser tanto un instrumento de descubrimiento como una herramienta para la justicia y el bienestar humano.

Finalmente, en las secciones de *MoleQla Nanotecnología*, *MoleQla Patrimonio* y *MoleQla Química*, celebramos la creatividad y el ingenio humano con el entusiasmo de un partido de pádel entre amigos. Desde los nanocatalizadores que impulsan la química verde hasta las nanopartículas que transportan CRISPR/Cas9 para combatir el cáncer, la nanotecnología se erige como una fuerza transformadora. Al mismo tiempo, la reflectografía infrarroja y los avances en la restauración de obras pictóricas nos recuerdan que la ciencia también es un guardián del patrimonio cultural, tan valioso como una botella añeja de Yamazaki. Y, por supuesto, no podíamos olvidar la revolución química en la cocina o el papel del alcohol en los procesos industriales, que nos conectan con la ciencia en nuestra vida cotidiana.

En *MoleQla*, creemos que cada descubrimiento, por pequeño que parezca, es una pieza clave en el rompecabezas del conocimiento. Te invitamos a explorar estas páginas y a maravillarte con las infinitas posibilidades que la ciencia nos ofrece, mientras brindamos por la curiosidad humana.



Juan Antonio Anta

Equipo editorial de MoleQla

# Problemas de contaminación del aire en China

Pilar López Asensio

**Resumen**— China ha experimentado un crecimiento económico significativo impulsado por el uso de combustibles fósiles, lo cual ha llevado a una grave contaminación atmosférica y problemas de salud. Desde 2010, el país ha implementado medidas de control de emisiones de  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_x$  y  $\text{PM}_{2.5}$ , logrando reducciones notables en la contaminación. Además, se están explorando energías renovables, como la solar fotovoltaica, y nuevas tecnologías de reciclaje para mejorar la calidad del aire y reducir la dependencia de los combustibles fósiles.

**Palabras Claves**— China, Contaminación,  $\text{NO}_x$ ,  $\text{PM}_{2.5}$ , Perovskita,  $\text{SO}_2$ .

## 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos 30 años, China ha experimentado un crecimiento económico espectacular, reflejado en el gran aumento de su producto interior bruto, pese a que la población del país se mantiene constante.

La base de este progreso han sido los combustibles fósiles, principalmente el carbón, como motor de la industria y centrales energéticas del país. El carbón y otros combustibles son la fuente principal de emisión de una gran cantidad de contaminantes atmosféricos, como el  $\text{SO}_2$ , gases asociados al nitrógeno ( $\text{NO}_x$ , óxido nítrico y dióxido de nitrógeno), micropartículas ( $\text{PM}_{2.5}$ ), compuestos volátiles y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) [1].

Esto, tuvo como consecuencia el deterioro masivo de la calidad del aire, con un pico en la contaminación del aire en 2010. Asimismo, el nivel de enfermedades pulmonares aumentó en gran medida [2].

## 2. INICIO DE LA CONTAMINACIÓN EN CHINA

### 2.1. La lluvia ácida

La lluvia ácida surgió en China a finales de 1970 como un importante problema ambiental. El uso del carbón y otros combustibles fósiles provocó las emisiones de dióxido de azufre y óxidos de nitrógeno, que se oxidaban y transformaban en la atmósfera dando lugar a ácido sulfúrico y ácido nítrico. Estos, podían transportarse a lo largo de cientos de kilómetros, creando deposiciones ácidas a nivel regional [3].

A partir de ese momento, ha existido una correlación entre las emisiones de  $\text{SO}_2$  y el pH promedio de las precipitaciones en China (Figura 1). El punto más bajo de pH de las precipitaciones y las máximas emisiones de  $\text{SO}_2$  se alcanzaron en 2006, dos años antes de los Juegos Olímpicos de Pekín.

### 2.2. El problema de las $\text{PM}_{2.5}$

Las  $\text{PM}_{2.5}$  son partículas finas que se encuentran en el aire, con un diámetro menor a  $2,5 \mu\text{m}$ , generadas princi-

palmente por la quema de combustibles fósiles, fábricas, quema de madera y otras actividades similares [4].

Hasta 2012, China no se acogió al nivel provisional 1 de la OMS de estas partículas ( $35 \mu\text{m}^3$ ). En 2013, el 96 % de las ciudades más importantes de China no habían cumplido este objetivo. Se estimó que, en 2013 las muertes prematuras debidas a la contaminación del aire fueron un 10% mayor en China que en Europa [5].

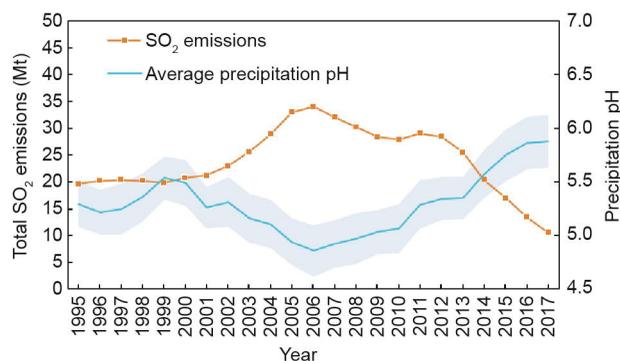


Fig. 1. Gráfico de la correlación entre las emisiones de  $\text{SO}_2$  y el pH de las precipitaciones en China a lo largo de los años [1].

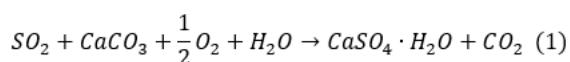
## 3. DEL CONTROL DE LAS EMISIONES A LA GESTIÓN DE LA CALIDAD DEL AIRE

### 3.1. El control de las emisiones de $\text{SO}_2$

Una de las primeras medidas efectivas adoptadas en China, tuvo lugar en 2010 cuando se fijó el objetivo de limitar las emisiones de  $\text{SO}_2$ . Para ello, se comenzó por limitar la producción y el uso de carbón con alto contenido en azufre, instalando a su vez unidades de desulfuración en las centrales eléctricas de carbón [1].

La absorción de dióxido de azufre en unidades de desulfuración húmedas se realiza en torres de absorción, en las que se utiliza piedra caliza como absorbente debido principalmente a la alta eficiencia (superior al 90%). Además, el uso de piedra caliza de coste muy bajo da como producto secundario yeso (1), que posteriormente

puede ser utilizado en construcción.



El proceso de desulfuración húmeda consiste en hacer pasar un gas por el absorbedor (cal) (Figura 2). El dióxido de azufre del gas reacciona con el absorbedor (1). Simultáneamente con la absorción, el gas de combustión se satura de vapor de agua que se descarga normalmente a través de una chimenea húmeda o una torre de refrigeración. El flujo drenado contiene yeso que después se reciclará como material de construcción [6].

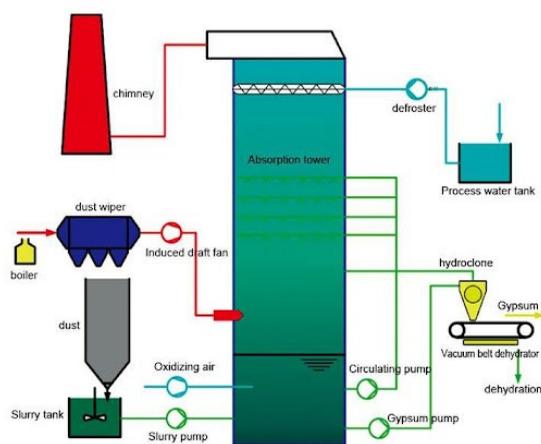


Fig. 2. Esquema de funcionamiento de una unidad de desulfuración húmeda [6].

### 3.2. El control de las emisiones de NO<sub>x</sub>

Siguiendo el éxito de las unidades de desulfuración, el gobierno de China estableció el objetivo de reducir en, al menos, un 10% las emisiones de NO<sub>x</sub>. La medida se centró principalmente en las centrales térmicas, responsables del 30% de dichas emisiones [7].

Se adoptaron diversas tecnologías para llevar a cabo esta reducción, entre las que destacaba la reducción catalítica selectiva, un proceso para convertir óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>) en nitrógeno diatómico (N<sub>2</sub>) y agua (H<sub>2</sub>O), con la ayuda de un catalizador y usando un agente reductor, típicamente amoníaco (NH<sub>3</sub>) [8].

### 3.3. El control de las PM<sub>2,5</sub>

Para controlar el nivel de PM<sub>2,5</sub>, las cuales causan graves problemas de salud, se han adoptado técnicas avanzadas de monitoreo en carretera, concretamente sensores remotos y sistemas portátiles de medición de emisiones, promoviendo sistemas de transporte sostenibles a través de diversos incentivos y la gestión del tráfico [9].

Gracias al plan de acción 2013-2017, las concentraciones de PM<sub>2,5</sub> disminuyeron un 23% de media en todas las ciudades de China. Este progreso motivó a algunos go-

biernos locales a fijar activamente límites más estrictos para este contaminante. Un ejemplo de ello es la adopción del objetivo provisional 2 de la OMS de 25 µg/m<sup>3</sup> [10].

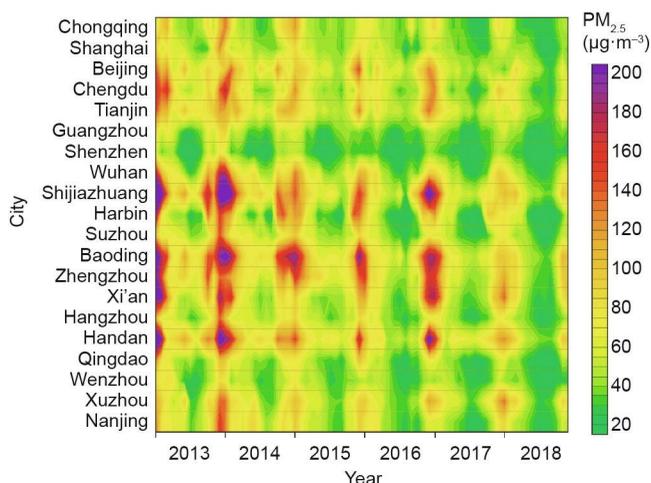


Fig. 3. Tendencia de las concentraciones promedio anuales de PM<sub>2,5</sub> para las 20 ciudades más pobladas de China de 2013 a 2018 [1].

## 4. PERSPECTIVAS DE FUTURO

### 4.1. Estrategias de reciclaje solar fotovoltaico

La energía solar fotovoltaica es una de las fuentes de energía renovables más utilizadas y maduras en el mundo. China se ha sumado a los países que están explotando esta energía, motivados por la mejora de la calidad del aire y el ahorro energético [11].

Sin embargo, el problema de esta energía viene con los residuos generados por los materiales que componen las placas solares. Por tanto, diversos países están innovando y buscando soluciones en diversos materiales y sistemas de reciclaje, entre ellos China. Existen varios tipos de placas solares en la actualidad, como los paneles solares cristalinos, de película delgada, las placas solares orgánicas, de arseniuro de galio (GaAs), perovskita y las placas solares sensibilizadas por colorantes [12].

### 4.2. Perovskita

Las perovskitas son materiales cristalinos que generalmente tienen una fórmula química de XYZ<sub>3</sub> donde los primeros (X e Y) son cationes y Z es un anión enlazante. La investigación sobre este material ha mostrado grandes avances, lo que las convierte potencialmente en el futuro de las placas solares de tercera generación. China es una de las potencias que ha comenzado a probar este material [13].

Pese a que son muy rentables económicamente, su problema de contaminación viene de la producción de desechos tóxicos como el plomo. Por tanto, la investigación se centra en el desarrollo de tecnologías de reciclaje y gestión de residuos, donde destaca el reciclaje y recristalización en circuito cerrado utilizando butilamina, con una eficiencia de recuperación del 98,9% [14]. Por tanto, se plantea como una solución prometedora para la ener-

gía fotovoltaica y la reducción del uso de los combustibles fósiles, sobre todo para países con problemas como el de China.

## 5. CONCLUSIONES

El análisis de la evolución de la contaminación en China y las medidas adoptadas para su mitigación resalta la importancia de una gestión ambiental efectiva para el bienestar público. La implementación de controles estrictos sobre las emisiones de  $\text{SO}_2$  y  $\text{NO}_x$ , así como la regulación de las partículas  $\text{PM}_{2.5}$ , ha mostrado resultados positivos en la mejora de la calidad del aire. Sin embargo, el desafío persiste, especialmente con el manejo de residuos derivados de nuevas tecnologías energéticas como la solar fotovoltaica. La inversión en investigación y desarrollo de materiales más sostenibles y métodos de reciclaje eficientes, como los utilizados en la tecnología de perovskita, es crucial. Estos esfuerzos no solo apuntan a la reducción de la contaminación, sino también a una transición hacia fuentes de energía más limpias y sostenibles. La experiencia de China puede servir de modelo para otros países en vías de desarrollo que enfrentan problemas similares.

## REFERENCIAS

- [1] Lu, X., Zhang, S., Xing, J., Wang, Y., Chen, W., Ding, D., ... & Hao, J. (2020). Progress of air pollution control in China and its challenges and opportunities in the ecological civilization era. *Engineering*, 6(12), 1423-1431.
- [2] Ding, D., Xing, J., Wang, S., Liu, K., & Hao, J. (2019). Estimated contributions of emissions controls, meteorological factors, population growth, and changes in baseline mortality to reductions in ambient PM 2.5 and PM 2.5-related mortality in China, 2013–2017. *Environmental health perspectives*, 127(6), 067009.
- [3] Larssen, T., Lydersen, E., Tang, D., He, Y., Gao, J., Liu, H., ... & Luo, J. (2006). Acid rain in China.
- [4] Van Donkelaar, A., Martin, R. V., Brauer, M., Kahn, R., Levy, R., Verduzco, C., & Villeneuve, P. J. (2010). Global estimates of ambient fine particulate matter concentrations from satellite-based aerosol optical depth: development and application. *Environmental health perspectives*, 118(6), 847-855.
- [5] Sander, K., Mira-Salama, D., & Feuerbacher, A. (2015). The Cost of Air Pollution. R. Nicole, "The Last Word on Decision Theory," *J. Computer Vision*, submitted for publication.
- [6] Kallinikos, L. E., Farsari, E. I., Spartinos, D. N., & Papayannakos, N. G. (2010). Simulation of the operation of an industrial wet flue gas desulfurization system. *Fuel Processing Technology*, 91(12), 1794-1802.
- [7] Zhao, B., Wang, S. X., Liu, H., Xu, J. Y., Fu, K., Klimont, Z., ... & Amann, M. J. A. C. (2013). NO<sub>x</sub> emissions in China: historical trends and future perspectives. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 13(19), 9869-9897. J. Williams, "Narrow-Band Analyzer," PhD dissertation, Dept. of Electrical Eng., Harvard Univ., Cambridge, Mass., 1993. (Tesis doctoral)
- [8] Guan, Y., Liu, Y., Lv, Q., Wang, B., & Che, D. (2021). Review on the selective catalytic reduction of NO<sub>x</sub> with H<sub>2</sub> by using novel catalysts. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(6), 106770.
- [9] He, K., Zhang, Q., Ming, D., Wu, Y., Witherspoon, C., Foltescu, V., ... & Qu, Y. (2019). A review of 20 years' air pollution control in Beijing.
- [10] China, S. E. P. A. (2022). Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China. *Soil Environmental Quality, Risk Control Standard for Soil Contamination of Agricultural Land (GB15618-2018)*.
- [11] Chowdhury, M. S., Rahman, K. S., Chowdhury, T., Nuthammachot, N., Techato, K., Akhtaruzzaman, M., ... & Amin, N. (2020). An overview of solar photovoltaic panels' end-of-life material recycling. *Energy Strategy Reviews*, 27, 100431.
- [12] Ndaloka, Z. N., Nair, H. V., Alpert, S., & Schmid, C. (2024). Solar photovoltaic recycling strategies. *Solar Energy*, 270, 112379.
- [13] Liu, F. W., Biesold, G., Zhang, M., Lawless, R., Correa-Baena, J. P., Chueh, Y. L., & Lin, Z. (2021). Recycling and recovery of perovskite solar cells. *Materials Today*, 43, 185-197.
- [14] Feng, X., Guo, Q., Xiu, J., Ying, Z., Ng, K. W., Huang, L., ... & He, Z. (2021). Close-loop recycling of perovskite solar cells through dissolution-recrystallization of perovskite by butylamine. *Cell Reports Physical Science*, 2(2).



**Pilar López Asensio** Graduada en Bioquímica por la Universidad de Sevilla y la Universidad de Málaga en 2023. Actualmente cursando la mención Industrial en el Máster de Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria por la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

# Recuperación del litio de las baterías de ion litio

Álvaro Marcelo Porcel Padilla

**Resumen**—Como una opción para fortalecer la lucha contra el cambio climático y reducir la dependencia a los combustibles fósiles, se desarrollan las baterías de ion litio (LIB) que, por sus características y eficiencia, dominan el mercado de almacenadores de energía en los últimos años. Entre los metales que conforman el cátodo de las LIB, se destaca el litio que recientemente fue considerado como elemento crítico para la UE. Pese a que las LIB son consideradas una tecnología verde, se tienen problemas para valorizar el litio debido a su distribución heterogénea en el planeta, inestabilidad política de los países que posee el mineral y los problemas socioambientales que ocasionan su explotación y disposición final. Por tanto, es necesario estudiar maneras para valorizar el metal de una manera eficiente para recircularlo en el mercado.

Dentro del ciclo de vida de las LIB, el reciclaje es fundamental para valorizar los residuos y extraer metales de alto valor, entre ellos el litio. El primer paso está orientado a la eliminación de energía residual y cribado, posteriormente se procede a la lixiviación del cátodo. Entre los diferentes métodos de recuperación, se tiene los procesos de intercambio iónico y adsorción, realizados con zeolitas. Pese al avance de tratamientos con opciones más sostenibles, la visión final del proceso debe fortalecerse con el ecoetiquetado y segundo uso, la mejora del sistema de recolección, simulaciones moleculares, además de articular la legislación asociada al reciclaje de los elementos críticos.

**Palabras Claves**— elementos críticos, litio, lixiviación



## 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, debido a la paulatina preocupación de la sociedad por el planeta, el fortalecimiento de la legislación y la necesidad de cumplir las obligaciones establecidas en el Acuerdo de París se han promovido la movilidad sostenible (Mathieux *et al.*, 2017; Silvetri *et al.*, 2021), producción y uso de vehículos eléctricos (Logan *et al.*, 2020;). Este desarrollo ha traído consigo el aumento del agotamiento de los recursos naturales utilizados para la producción de las baterías de ion litio (LIB – lithium ion battery) y la generación de residuos al final de su vida útil (Tembo *et al.*, 2024; Kader *et al.*, 2021a).

La UE en su Plan de acción estratégico para las baterías, considera a las LIB como una tecnología clave para alcanzar el Acuerdo de París por su rol fundamental para estabilizar la red eléctrica, movilidad limpia (CE, 2019), trabajos verdes, aumento del acceso a la energía e impulsar una cadena de valor responsable y justa (Global Battery Alliance, 2019). Aun siendo una solución contra: GEI, dependencia del petróleo e intermitencia de las energías renovables (Mossali *et al.*, 2020), es necesario considerar

(WEF, 2017): ciclo de vida y huella de carbono (Liang *et al.*, 2017), impacto ambiental durante la extracción de Co y Li (Frankel y Whoriskey, 2016), valorización de la materia prima y conflictos sociales asociados a la minería (Jerez *et al.*, 2021; Murdock *et al.*, 2021).

Se prevé que la demanda actual de litio (13x10<sup>3</sup> kt) (Matos *et al.*, 2020) aumentará 60 veces más en 2050, siendo imperiosa una solución para evitar problemas de suministro. Entre estas soluciones se destaca el reciclaje de las materias primas utilizadas en las LIB gastadas, para fomentar una transición hacia una sociedad más sostenible y justa, se establecen los objetivos de desarrollo sostenible, entre ellos el objetivo 12: Producción y consumo responsable promueve el reciclaje aplicado al caso del Li dominan los procesos pirometalúrgicos e hidrometalúrgicos, siendo estos últimos los más ambientalmente viables (Cui y Zhang, 2008, Rocchetti *et al.*, 2013) donde el metal queda disponible en fase líquida. Actualmente, la recuperación se concentra en otros metales de interés, siendo el Li desaprovechado (Luo *et al.*, 2015, Kim *et al.*, 2018). Impulsado por la Directiva 2006/66/CE, es importante eliminar y reciclar Li del lixiviado producido durante el

reciclado de LIB. Entre los procesos utilizados para la recuperación de metales se tienen el uso de zeolitas (Lemaire *et al.*, 2014). Por tanto, el presente estudio tiene como objetivo realizar un análisis de la recuperación del litio de las LIB como medida de valorización, revisando las bases teóricas sobre su reciclaje para la captura del litio como metal de interés, utilizando zeolitas.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Baterías de ion litio (LIBs)

Las baterías son dispositivos electroquímicos portátiles capaces de convertir la energía química en energía eléctrica, sin emisiones gaseosas. Su flujo en el mercado ha pasado de 12x10<sup>9</sup> USD en 2011 a 50 x10<sup>9</sup> USD en 2020, con una previsión de 77 x10<sup>9</sup> USD en 2024 (Kader *et al.*, 2021b). Su composición típica consiste en un cátodo a base de litio debido a su rendimiento, coste y estabilidad, un electrolito (sales mixtas de litio), un ánodo carbonáceo (grafeno, grafito) y un separador a base de polietileno para prevenir el contacto de electrodos (Zheng *et al.*, 2018). Su magnificación se debe a sus ventajas: baja tasa de autodescarga, ciclos de vida y estabilidad térmica, presentando también riesgo de explosión (Wang *et al.*, 2015), uso de elementos críticos (Co, Li), ausencia de gestión de baterías e impactos asociados a la explotación minera.

### 2.2. Problemas para la circularidad del litio

Los problemas asociados al litio son la disponibilidad, el suministro y problemas socioambientales asociados a su explotación mineral. La fuente más abundante y rentable son las salmueras continentales (Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) de Argentina, Bolivia y Chile conformando el Triángulo del Litio, donde se encuentra el 50% de las reservas mundiales de Li. Aunque Chile es el mayor productor, la mayor reserva mundial está en Bolivia con el 25% (Kavanagh *et al.*, 2018). No obstante, las operaciones mineras bolivianas son insignificantes y aun sin proyectos de industrialización por conflictos internos (Aguirre, 2021).

En el medioambiente, las LIB son fuentes potenciales de contaminación por la presencia de metales en su composición (Kang *et al.*, 2013). Cuando son dispuestas como residuos, su inadecuada gestión

compromete la calidad del suelo y aguas, afectando a organismos (bioacumulación) llegando a niveles superiores de las cadenas tróficas (biomagnificación) (Ali *et al.*, 2019). La exposición al Li puede provocar daños en el sistema nervioso, los riñones, el hígado, el cerebro y los sistemas cardiovascular y endocrino (Luo *et al.*, 2015) (Tabla 1). Por último, su extracción se encuentra asociada a la violación de derechos indígenas, condiciones de trabajo inseguras (Anlauf, 2016; Takemura, 2018; Abelvik-Lawson, 2019; Jerez *et al.*, 2021;), discriminación de género y trabajo infantil (Enriquez, 2021; Murdock *et al.*, 2021).

Tabla 1 Efectos en la salud por exposición a Li y Co

Metales	Fuente de exposición natural	Fuente de exposición antrópica	Ruta de exposición	Efectos en la salud
Litio	- Agua (cloruros y sulfatos) - suelo (rocas de silicatos, micas y fosfatos), salmueras naturales y alimentos (plantas)	- Explotaciones mineras - Laboratorios - Tratamiento de aguas: todos - Tratamiento de residuos: Relleno sanitario, compost de residuos sólidos urbanos, RAEE (residuos de aparatos eléctricos y electrónicos), principalmente baterías de litio	- Ingesta, inhalación y contacto dérmico	- Inhalación: Irritación de vía orales. Tos. Respiración dificultosa, falta de aire, dolor de garganta. - Ingesta: vómito, diarrea, dolor de estomago - Contacto: enrojecimiento de la piel, quemaduras en la piel, dolor, ampollas, enrojecimiento de los ojos. - Afecta a riñones, glándula tiroides y glándulas paratiroides
Cobalto	-agua (carbonatos y sulfuros) -suelos (Cobaltita, esmalita, esferocobalita, heterogenita	- Explotaciones mineras - Industria cementera - Laboratorios - Tratamiento de aguas: todos - Tratamiento de residuos: Relleno sanitario, compost de residuos sólidos urbanos, RAEE (residuos de aparatos eléctricos y electrónicos), principalmente baterías de litio	Ingesta, inhalación y contacto dérmico	- Asma y neumonía. Vómitos y náuseas, problemas de visión, problemas cardíacos, daños en la tiroides, pérdida de cabello. - Afecta a riñones e hígado

## 3. PROPUESTA PARA LA CIRCULARIDAD DEL LITIO

### 3.1. Diseño de LIBs

El diseño de LIB debería facilitar el segundo uso y su disposición final mediante un etiquetado, incluyendo oportunidades de reciclaje e inclusión de la materia prima a la cadena productiva, de una manera segura y sostenible (Figura 1) (Zanoletti *et al.*, 2024).

Una opción es la etiqueta ecológica europea, donde se especifica la composición del producto, información sobre el ensamblaje, además de informar sobre los riesgos que presenta durante su manipulación y transporte.



Figura 1 Economía circular de las LIBs

### 3.2. Extracción de materias primas

En los países en vías de desarrollo se presentan los impactos ambientales por la minería. Es esencial reciclar y valorizar elementos de las baterías usadas (Sonoc y Jeswiet, 2014).

### 3.3. Producción y uso

Se debe optar por mejoras en el desarrollo de LIB, con nuevos materiales para la optimización electroquímica y su rendimiento (Scrosati y Sun, 2011), se destaca el uso de grafeno, aglutinante sin flúor y líquido iónico como electrolito, para facilitar su reciclaje. Al mismo tiempo, se debe fomentar las buenas prácticas de uso de LIB para alargar su vida útil, como un sistema de gestión de baterías (hardware/software) para monitorizar su estado de carga, capacidad, potencia disponible, estado de salud y su vida útil restante (Waag *et al.*, 2014).

### 3.4. Recogida posterior al uso

Solo el 29,5% de LIB son dispuestas como residuos, frente al 59,6% que se almacena y al 15,9% que se disponen con el resto de residuos (Wang *et al.*, 2014). Para superar este problema, la Directiva Europea de Baterías 2006/66/EC promueve una tasa mínima de recolección de LIB del 45% para 2016 y obliga a los productores a ser responsables de la recolección y tratamiento, además del Plan de Responsabilidad Extendida del Productor (ERP) de 2017.

### 3.5. Reutilización

Considerando la capacidad residual de las LIB de vehículos eléctricos (~80%, 6700 ciclos), estas pueden ser reutilizadas (segunda vida) en sistemas donde se requieran menores rendimientos (almacenamiento de energía renovables, generadores de emergencia) y maquinaria (de limpieza, agrícolas, de construcción, bicicletas eléctricas).

### 3.6. Reciclaje

Las LIB gastadas incluyen gran cantidad de metales valiosos como Co, Li, Ni, Mn, Fe, Cu (Xiao y Li, 2019). Estos pueden servir en la fabricación de nuevas LIB y ser una solución a los elementos críticos (Agusdinata *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2019). Sin embargo, la tasa de reciclaje de Li es < 1%, el escenario de

aumento de producción de LIB y suministro de Li y su bajo coste (Tabla 2), suponen un problema para la industria (Weimer *et al.*, 2019).

Tabla 2 Evolución del valor del litio, en toneladas por USD

Componente (cátodo)	Valor (\$ US/ t)		
	2001	2017	2019
Li	7,5	9	10,0
Co	38,0	55	35,0
Ni	8,6	10	13,2

### 3.7. Tratamientos de reciclaje de litio

Considerando la vida útil de las LIB (3 a 8 años), se estima que > 25x10<sup>9</sup> unidades de (500.000 t) se convirtieron en residuo en 2020 (Mossali *et al.*, 2020) (Fig. 2). Un reciclaje óptimo debería incluir:

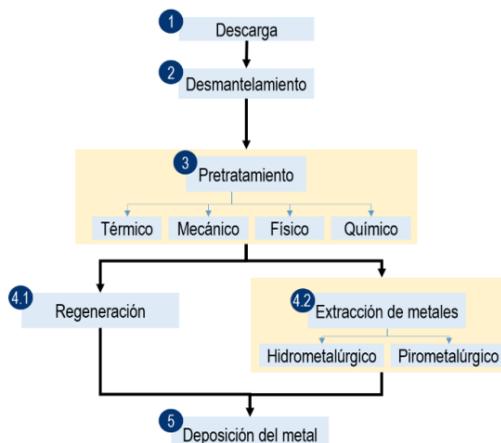


Figura 2 Tratamiento (reciclaje) de LIB

**Fase 1:** la desactivación de la batería se realiza para reducir los riesgos asociados al manejo y manipulación de las LIB, debido a la presencia de energía residual almacenada, reduciendo riesgo de explosiones.

**Fase 2:** el desmantelamiento tiene como objetivo disminuir el volumen del producto a tratar, especialmente en el caso de las LIB de vehículos eléctricos.

**Fase 3:** los pretratamientos debido a la alta selectividad de los agentes de lixiviación e impurezas. El pretratamiento mecánico es reducir y clasificar por tamaño (cribado). El pretratamiento químico promueve una lixiviación con NaOH para eliminar Al, durante este proceso no se eliminan Co y Li porque no forman especies solubles en medio cáustico, y permanecen en el residuo mientras se producen las reacciones (EC.1; EC.2) (Choubey *et al.*, 2017).



EC3

EC4

EC5

EC6

EC7

### 3.7.1. Pirometalurgia de litio

A nivel mundial existen esfuerzos en el reciclaje, concentrados en la pirometalurgia; un método tradicional de alto consumo energético. (Yang *et al.*, 2020) (Fig. 3). El aglutinante y carbono de las LIB, con altas temperaturas, se transforman en COV generando problemas a posteriori (Gaines *et al* 2018; Asadi *et al.*, 2020).



Figura 3 Pirometalurgia (■) e hidrometalurgia (■).

### 3.7.2. Hidrometalurgia de litio

El cátodo reducido (polvo catódico) se lixivia para separar y purificar los metales de las LIB, con disolventes a base de ácidos inorgánicos u orgánicos porque los óxidos metálicos son insolubles y deben reducirse para formar iones y para poder recuperarlos fácilmente (Fig.4). Al disminuir su valencia, el enlace se debilita y la disolución del metal se produce rápidamente. Los ácidos inorgánicos fuertes (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) disuelven los metales (EC.3 – EC.7), pero también generan emisión de gases SO<sub>3</sub>, Cl<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub> y aguas residuales (Choubey *et al.*, 2017; Asadi *et al.*, 2020) (Tabla 3).

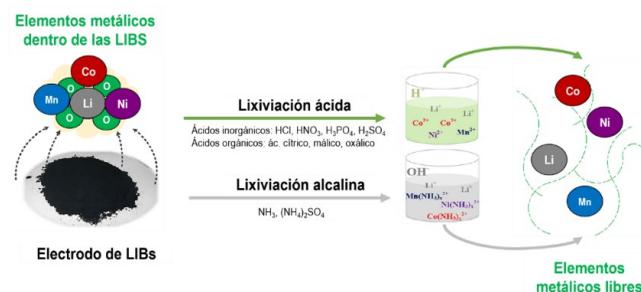
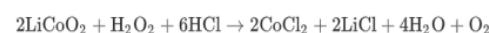
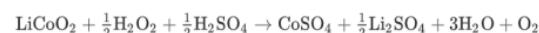


Figura 4 Esquema de la lixiviación de metales de LIB

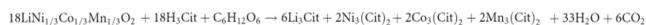
Tabla 3 Eficiencia de remoción de Li<sup>+</sup> de LIB, durante la lixiviación

Lixiviación	Electrodo	Medio ácido	Agente reductor	Eficiencia de lixiviación de Litio	Referencias
Con ácidos inorgánicos	LiCoO <sub>2</sub>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	99,00%	Pina <i>et al.</i> (2017)
	LiCoO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	> 99,00%	Chen <i>et al.</i> (2017)
	LiNi <sub>1/3</sub> Co <sub>1/3</sub> Mn <sub>1/3</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	NaHSO <sub>3</sub>	96,70%	Meshram <i>et al.</i> (2015).
	LiCoO <sub>2</sub>	HNO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	> 95,00%	Lee y Rhee (2002)
	LiCoO <sub>2</sub>	HNO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	~100,00%	Li <i>et al.</i> (2011)
con ácidos orgánicos	LiNi <sub>1/3</sub> Co <sub>1/3</sub> Mn <sub>1/3</sub> O <sub>2</sub>	ácido tricloroacético	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	99,70%	Zhang <i>et al.</i> (2015)
	LiNi <sub>1/3</sub> Co <sub>1/3</sub> Mn <sub>1/3</sub> O <sub>2</sub>	ácido cítrico	D-glucosa	99,00%	Chen <i>et al.</i> (2016)
	LiCoO <sub>2</sub>	DL-ácido málico	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	94,00%	Li <i>et al.</i> (2010a)
	LiCoO <sub>2</sub>	ácido cítrico	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	~100,00%	Li <i>et al.</i> (2010b)
	LiCoO <sub>2</sub>	ácido iminodiacético	ácido ascórbico	99,00%	Nayaka <i>et al.</i> (2016)
	LiNi <sub>x</sub> Co <sub>x</sub> Mn <sub>1-x-y</sub> O <sub>2</sub>	ácido tartárico	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	99,07%	He <i>et al.</i> (2017)
LiCoO <sub>2</sub>	ácido succínico	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	96,00%	Li <i>et al.</i> (2015)	
lixiviación alcalina	LiNi <sub>x</sub> Co <sub>x</sub> Mn <sub>1-x-y</sub> O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub> ; (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	95,30%	Zheng <i>et al.</i> (2017)
	LiNi <sub>x</sub> Co <sub>x</sub> Mn <sub>1-x-y</sub> O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub> ; (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	98,00%	Chen <i>et al.</i> (2018)

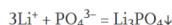
### 3.8 Recuperación de litio por separación de metales del lixiviado

Con la eliminación de especies químicas no deseadas (Al, Cu), la solución acuosa (lixiviado) contiene Li<sup>+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup> para que sean recuperados es

necesario utilizar técnicas de separación (precipitación, intercambio iónico) para obtener el litio (Fig. 5). Con la precipitación (EC.8-9) el metal cambia a fase sólida formando una sal, para esto se necesita una precipitación en serie, priorizando el metal más valioso (Co, Ni).



EC8



EC9

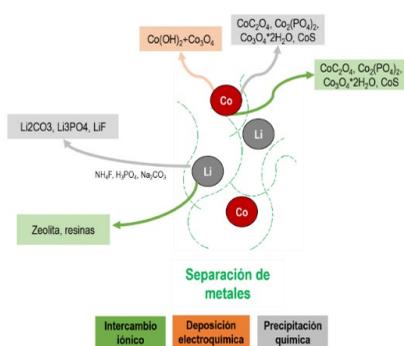


Figura 5 Recuperación de litio

Aunque este método es sencillo y de bajo coste, se produce coprecipitación, reduciendo la pureza del producto. Por lo tanto, es muy importante elegir un agente precipitante adecuado. Con el  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  se recupera Li (Yang *et al.*, 2021), en último lugar debido a la gran constante de producto de solubilidad del  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  ( $K_{\text{sp}} = 1,7 \times 10^{-3}$  a  $25^\circ\text{C}$ ) (Li *et al.*, 2019), impidiendo que los iones de  $\text{Li}^+$  puedan precipitar completamente.

Por otra parte, la adsorción e intercambio iónico son fenómenos que difícilmente se puede dissociar en la naturaleza, en la literatura ambos son tratados como adsorción en zeolitas o resinas. A diferencia de las resinas, las zeolitas presentan: mayor selectividad, vida útil y menores problemas de regeneración y su uso para recuperar el  $\text{Li}^+$  puede ser rentable y respetuoso con el medio ambiente.

El problema de la selección de la mejor zeolita puede resolverse evitando la síntesis de zeolitas; estudios de ACV revelan que compromete la calidad del aire y aguas (Grimaldi *et al.*, 2021), utilizando zeolitas naturales como la Clinoptilolita-Na (Fig. 6), una zeolita que posee sodio en su estructura, elevada área superficial y mesoporos.

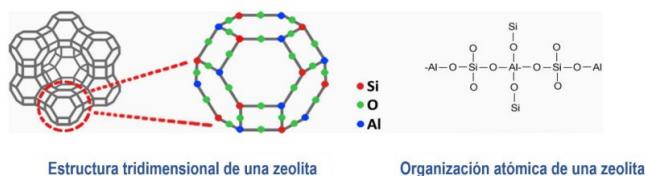


Figura 6 Estructura de una zeolita

El mecanismo por el cual el  $\text{Li}^+$  llega a los sitios activos de la Clinoptilolita y reemplaza los átomos de sodio (EC.10) (Fig.7) es afectado por condiciones de reacción (concentración, temperatura, tiempo y agitación) y tipo propiedades del adsorbente (porosidad, selectividad), dado que se tienen un número considerable de variables, para optimizar el proceso se debería usar: a) simulación molecular para estudiar la energía y su viabilidad de adsorción del  $\text{Li}^+$  en el sólido y b) planeamiento de la reacción y optimizarla para obtener mayor rendimiento de recuperación del litio con zeolita.



EC10

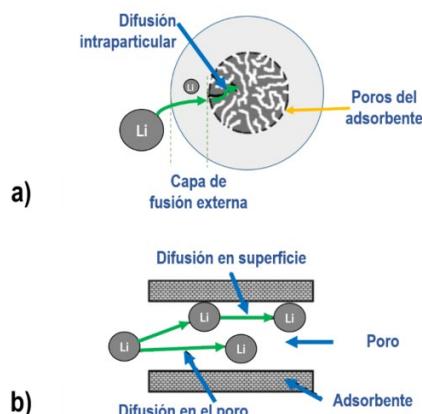


Figura 7 Adsorción de litio en un adsorbente (zeolita): a) fenómenos de transporte en el exterior y b) fenómenos de transporte en el interior de la zeolita

## 4. CONCLUSIONES

El reciclaje de LIB para recuperación de LIB se justifica tanto por la criticidad del elemento como por la importancia económica, en la salud humana y el medio ambiente que representa para un futuro con movilidad sostenible y baja dependencia a los combustibles fósiles. Sin embargo, la viabilidad de la recuperación del Li de las LIB se ve afectado por su bajo precio en el mercado en comparación a otros elementos críticos (Co, Ni), la inclusión reciente como elemento crítico y escaso desarrollo de tecnologías, y la dificultad técnica que conlleva su recuperación.

Industrialmente se recicla LIB mediante pirometalurgia, suponiendo un gasto energético, formación de escoria y una transferencia de la contaminación con la generación de COV. Siendo una medida más eficiente la hidrometalurgia, la cual puede llegar a ser más verde con el uso de ácidos orgánicos, el desafío reside en la recuperación del Li. Con la precipitación selectiva, se tiene baja eficiencia siendo necesarias medidas más sostenibles como el uso de zeolitas naturales con Na en su estructura, debido a su similitud de radios iónicos con el Li, este puede llegar a incorporarlo a la estructura. Con esto se demuestra que efectivamente, la recuperación de litio puede llegar a ser más sostenible dentro de una perspectiva de final de proceso, que debe fortalecerse con el ecoetiquetado, la mejorar el sistema de recolección, simulaciones moleculares y articular la legislación asociada al reciclaje de los elementos críticos.

## REFERENCIAS

- [1] ABELVIK-LAWSON, H. (2019). Indigenous Environmental Rights, Participation and Lithium Mining in Argentina and Bolivia: A Socio Legal Analysis (Doctoral dissertation, University of Essex).
- [2] AGUIRRE B, F. (2021). The lithium triangle—the importance of Bolivia. *Journal of Energy & Natural Resources Law*, 1-20.
- [3] AGUSDINATA, D. B., Liu, W., EAKIN, H., & ROMERO, H. Socio-environmental impacts of lithium mineral extraction: towards a research agenda. *Environmental Research Letters*, 2018, vol. 13, no 12, p. 123001.
- [4] ALI, Hazrat; KHAN, Ezzat; ILAHI, Ikram. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *Journal of chemistry*, 2019, vol. 2019.
- [5] ANLAUF, A. (2016). Greening the imperial mode of living? Socio-ecological (in) justice, electromobility, and lithium mining in Argentina. In *Fairness and justice in natural resource politics* (pp. 176-192). Routledge.
- [6] ASADI DALINI, E., KARIMI, G., ZANDEVAKILI, S., & GOODARZI, M. A review on environmental, economic and hydrometallurgical processes of recycling spent lithium-ion batteries. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 2020, p. 1-22.
- [7] CE (COMISIÓN EUROPEA). (2017). Study on the review of the list of critical raw materials. European Commission: Brussels, Belgium.
- [8] CHOUBEY, P. K., CHUNG, K. S., KIM, M. S., LEE, J. C., & SRIVASTAVA, R. R. Advance review on the exploitation of the prominent energy-storage element Lithium. Part II: From sea water and spent lithium ion batteries (LIB). *Minerals Engineering*, 2017, vol. 110, p. 104-121.
- [9] CUI, Jirang; ZHANG, Lifeng. Metallurgical recovery of metals from electronic waste: A review. *Journal of hazardous materials*, 2008, vol. 158, no 2-3, p. 228-256.
- [10] EGBUE, O., & Long, S. (2012). Critical issues in the supply chain of lithium for electric vehicle batteries. *Engineering Management Journal*, 24(3), 52-62.
- [11] ENRIQUEZ, I. (2021). "We don't eat batteries. Without water there is no life": A queer-ecology approach to lithium extractivism in the context of the energy transition: the case of South America. Doctoral dissertation, Ghent University. 2021.
- [12] FRANKEL, Todd; WHORISKEY, Peter. Tossed aside in the 'white gold'rush. *Washington Post*, 2016.
- [13] GAINES, Linda; RICHA, Kirti; SPANGENBERGER, Jeffrey. Key issues for Li-ion battery recycling. *MRS Energy & Sustainability*, 2018, vol. 5.
- [14] GIGLIO, E. (2021). Extractivism and its socio-environmental impact in South America. Overview of the "lithium triangle". *América Crítica*, 5(1), 47-53.
- [15] GLOBAL BATTERY ALLIANCE. A Vision for a Sustainable Battery Value Chain in 2030: Unlocking the Full Potential to Power Sustainable Development and Climate Change Mitigation. En Geneva, Switzerland: World Economic Forum. 2019.
- [16] GOLMOHAMMADZADEH, Rabeeh; FARAJI, Fariborz; RASHCHI, Fereshteh. Recovery of lithium and cobalt from spent lithium ion batteries (LIB) using organic acids as leaching reagents: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 2018, vol. 136, p. 418-435
- [17] GRIMALDI, F., RAMIREZ, H., LUTZ, C., & LETTIERI, P. (2021). Intensified production of zeolite A: Life cycle assessment of a continuous flow pilot plant and comparison with a conventional batch plant. *Journal of Industrial Ecology*.
- [18] HEREDIA, F., MARTINEZ, A. L., & SURRACO URTUBEY, V. (2020). The importance of lithium for achieving a low-carbon future: overview of the lithium extraction in the 'Lithium Triangle'. *Journal of Energy & Natural Resources Law*, 38(3), 213-236.
- [19] JEREZ, B., GARCÉS, I., & TORRES, R. (2021). Lithium extractivism and water injustices in the Salar de Atacama, Chile: The colonial shadow of green electromobility. *Political Geography*, 87, 102382.

- [20] KADER, Z.A.; MARSHALL, A.; KENNEDY, J. A review on sustainable recycling technologies for lithium-ion batteries. *Emergent Materials*, 2021, p. 1-11.
- [21] KADER, Zain A.; MARSHALL, Aaron; KENNEDY, John. A review on sustainable recycling technologies for lithium-ion batteries. *Emergent Materials*, 2021, p. 1-11.
- [22] KANG, Daniel Hsing Po; CHEN, Mengjun; OGUNSEITAN, Oladele A. Potential environmental and human health impacts of rechargeable lithium batteries in electronic waste. *Environmental science & technology*, 2013, vol. 47, no 10, p. 5495-5503.
- [23] KAVANAGH, L., KEOHANE, J., GARCIA CABELLOS, G., LLOYD, A., & CLEARY, J. Global lithium sources—industrial use and future in the electric vehicle industry: a review. *Resources*, 2018, vol. 7, no 3, p. 57.
- [24] KIM, S., KIM, J., KIM, S., LEE, J., & YOON, J. Electrochemical lithium recovery and organic pollutant removal from industrial wastewater of a battery recycling plant. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 2018, vol. 4, no 2, p. 175-182.
- [25] LEMAIRE, J., SVECOVA, L., LAGALLARDE, F., LAUCOURNET, R., & THIVEL, P. X. Lithium recovery from aqueous solution by sorption/desorption. *Hydrometallurgy*, 2014, vol. 143, p. 1-11.
- [26] LI, L.; CHEN, R.; SUN, F.; WU, F.; LIU, J. Preparation of LiCoO<sub>2</sub> films from spent lithium-ion batteries by a combined recycling process. *Hydrometallurgy* 2011, 108 (3-4), 220-225.
- [27] LI, Q., FUNG, K. Y., XU, L., WIBOWO, C., & NG, K. M. (2019). Process synthesis: Selective recovery of lithium from lithium-ion battery cathode materials. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 58(8), 3118-3130.
- [28] LIANG, Y., SU, J., XI, B., YU, Y., JI, D., SUN, Y., ... & ZHU, J. (2017). Life cycle assessment of lithium-ion batteries for greenhouse gas emissions. *Resources, conservation and recycling*, 117, 285-293.
- [29] LOGAN, K. G., NELSON, J. D., LU, X., & HASTINGS, A. (2020). UK and China: Will electric vehicle integration meet Paris agreement targets?. *Transportation Research Interdisciplinary Perspectives*, 8, 100245. 8 of 15
- [30] LUO, X., GUO, B., LUO, J., DENG, F., ZHANG, S., LUO, S., & Crittenden, J. Recovery of lithium from wastewater using development of Li ion-imprinted polymers. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2015, vol. 3, no 3, p. 460-467.
- [31] LUO, X., GUO, B., LUO, J., DENG, F., ZHANG, S., LUO, S., & CRITTENDEN, J. Recovery of lithium from wastewater using development of Li ion-imprinted polymers. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2015, vol. 3, no 3, p. 460-467.
- [32] MATHIEUX, F., ARDENTE, F., BOBBA, S., NUSS, P., BLENGINI, G. A., DIAS, P. A., ... & SOLAR, S. (2017). Critical raw materials and the circular economy. Publications Office of the European Union: Bruxelles, Belgium.
- [33] MATOS, C. T., CIACCI, L., GODOY LEÓN, M. F., LUNDHAUG, M., DEWULF, J., MUELLER, D. B., ... & MATHIEUX, F. (2020). Material System Analysis of five battery-related raw materials: Cobalt, Lithium, Manganese, Natural Graphite, Nickel.
- [34] MOSSALI, E., PICONE, N., GENTILINI, L., RODRÍGUEZ, O., PÉREZ, J. M., & COLLEDANI, M. Lithium-ion batteries towards circular economy: A literature review of opportunities and issues of recycling treatments. *Journal of environmental management*, 2020, vol. 264, p. 110500.
- [35] MOSSALI, E., PICONE, N., GENTILINI, L., RODRÍGUEZ, O., PÉREZ, J. M., & COLLEDANI, M. Lithium-ion batteries towards circular economy: A literature review of opportunities and issues of recycling treatments. *Journal of environmental management*, 2020, vol. 264, p. 110500.
- [36] MURDOCK, B. E., TOGHILL, K. E., & TAPIA-RUIZ, N. (2021). A Perspective on the Sustainability of Cathode Materials used in Lithium-Ion Batteries. *Advanced Energy Materials*, 11(39), 2102028.
- [37] ROCCHETTI, L., Vegliò, F., Kopacek, B., & Beolchini, F. Environmental impact assessment of hydrometallurgical processes for metal recovery from WEEE residues using a portable prototype plant. *Environmental science & technology*, 2013, vol. 47, no 3, p. 1581-1588.
- [38] SILVESTRI, L., FORCINA, A., SILVESTRI, C., & TRAVERSO, M. (2021). Circularity potential of rare earths for sustainable mobility: Recent developments, challenges and future prospects. *Journal of Cleaner Production*, 126089.
- [39] SOMMERVILLE, R., ZHU, P., RAJAEIFAR, M. A., HEIDRICH, O., GOODSHIP, V., & KENDRICK, E. (2021). A qualitative assessment of lithium ion battery recycling processes. *Resources, Conservation and Recycling*, 2021, vol. 165, p. 105219.
- [40] SONOC, Alexandru; JESWIET, Jack. A review of lithium supply and demand and a preliminary investigation of a room temperature method to recycle lithium ion batteries to recover lithium and other materials. *Procedia Cirp*, 2014, vol. 15, p. 289-293.
- [41] TAKEMURA, N. Lithium Extraction at the Salar de Uyuni in Bolivia. Toin University of Yokohama, Special Theme I : Application of Information Technology and Law, Research Bulletin, No.38, June 2018.
- [42] TEMBO, P. M., DYER, C., & SUBRAMANIAN, V. (2024). Lithium-ion battery recycling—a review of the material supply and policy infrastructure. *NPG Asia Materials*, 16(1), 43.
- [43] WAAG, W., FLEISCHER, C., & SAUER, D. U. (2014). Critical review of the methods for monitoring of lithium-ion batteries in electric and hybrid vehicles. *Journal of Power Sources*, 258, 321-339.
- [44] WANG, Q., PING, P., ZHAO, X., CHU, G., SUN, J., & CHEN, C. (2012). Thermal runaway caused fire and explosion of lithium ion battery. *Journal of power sources*, 208, 210-224.
- [45] WANG, X., GAUSTAD, G., BABBITT, C. W., & RICHA, K. (2014). Economies of scale for future lithium-ion battery recycling infrastructure. *Resources, Conservation and Recycling*, 83, 53-62.
- [46] WEF (World Economic Forum). (2017). Batteries can be part of the fight against climate change - if we do these five things. Consultado el 30 de marzo de 2021, disponible en: <https://www.weforum.org/agenda/2017/11/battery-batteries-electric-cars-carbon-sustainable-power-energy/>
- [47] WEIMER, L., BRAUN, T., & vom HEMDT, A. (2019). Design of a systematic value chain for lithium-ion batteries from the raw material perspective. *Resources Policy*, 64, 101473.
- [48] YANG, X., ZHANG, Y., MENG, Q., DONG, P., NING, P., & Li, Q. (2021). Recovery of valuable metals from mixed spent lithiumion batteries by multi-step directional precipitation. *RSC Advances*, 11(1), 268-277.

- [49] ZANOLETTI, A., CARENA, E., FERRARA, C., & BONTEMPI, E. (2024). A Review of Lithium-Ion Battery Recycling: Technologies, Sustainability, and Open Issues. *Batteries*, 10(1), 38.
- [50] ZHENG, X., ZHU, Z., LIN, X., ZHANG, Y., HE, Y., CAO, H., & SUN, Z. A mini-review on metal recycling from spent lithium ion batteries. *Engineering*, 2018, vol. 4, no 3, p. 361-370.
- [51] ZHENG, X.; GAO, W.; ZHANG, X.; HE, M.; LIN, X.; CAO, H.; ZHANG, Y.; SUN, Z. Spent lithium-ion battery recycling – Reductive ammonia leaching of metals from cathode scrap by sodium sulphite. *Waste Manage.* 2017, 60, 680–688.



**Álvaro Marcelo Porcel Padilla** recibió el título de ambientólogo en 2022 por la Universidad de Pablo de Olavide. Actualmente se encuentra cursando el máster en ingeniería ambiental en la Universidad de Sevilla.

# El cangrejo herradura y sus aplicaciones biotecnológicas

Lucía Reche Gabaldón

**Resumen**—El cangrejo herradura ha cobrado una gran importancia en el campo de la biotecnología en los últimos años. El descubrimiento de su sistema de coagulación, conocido como lisado de amebocitos de *Limulus* (LAL), ha probado ser de gran utilidad para la detección de endotoxina bacteriana. En este artículo revisaremos en qué consiste el mecanismo de acción de LAL, así como sus diversas aplicaciones. También daremos unas pinceladas sobre la quitina y la polifemusina III, compuestos de gran interés también presentes en el cangrejo herradura.

**Palabras Claves**—Cangrejo herradura, Biotecnología, LAL, Endotoxinas, Polifemusinas.

## 1. INTRODUCCIÓN

*Limulus polyphemus*, comúnmente conocido como cangrejo herradura, es una especie perteneciente al género *Limulus* que habita en las costas atlánticas de Estados Unidos. A pesar de que esta especie es la más común y en la que nos centraremos en este artículo, también existen otras especies distribuidas por el continente asiático que forman parte de los cangrejos herradura. Contrariamente a lo que su nombre común nos indica, estos animales acuáticos no son cangrejos [1]. En realidad, dentro de los artrópodos, pertenecen al mismo subfilo de los quelicerados (junto con las arañas), y no al de los crustáceos [1] [2].

La característica más especial de estos animales es su sangre. Aparte de ser azul, esta hemolinfa tiene un gran valor, el cual radica en unas células llamadas *amebocitos*. Estas células funcionan como el sistema inmunológico del animal, ya que combaten las endotoxinas producidas por bacterias patógenas. Las toxinas febriles, también llamadas pirógenos bacterianos o endotoxinas [3], son muy abundantes en las membranas de las bacterias Gram negativas, que son la mayor parte de las que viven en el medio marino [1].

La sangre de este cangrejo ha supuesto una gran revolución en el mundo de la medicina. Se utiliza para comprobar la calidad de las vacunas, los medicamentos inyectables, las soluciones intravenosas, los implantes médicos... De hecho, la FDA (Food and Drug Administration) la utiliza para aprobar medicamentos [1].

En este artículo revisaremos de entre las publicaciones relacionadas con este artrópodo, su mecanismo de defensa y sus principales aplicaciones biotecnológicas, así como otros compuestos interesantes que pueden obtenerse del cangrejo herradura.

## 2. FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

La información utilizada para esta revisión ha sido obtenida de publicaciones recientes (sin restricción temporal) de las bases de datos Google académico, Scopus y ScienceDirect.

En el gráfico de la figura 1 observamos el número de resultados obtenidos tras la búsqueda del cangrejo herradura (horseshoe crab en inglés) y *Limulus polyphemus* en los campos de aplicaciones, industria o biotecnología (OR applications OR industry OR biotechnology) en la base de datos de Scopus, en cada uno de los años desde 1995 hasta 2023. Se ha elegido este intervalo temporal y esta base de datos por simplicidad; sin embargo, las búsquedas realizadas para este artículo no se han limitado a estas restricciones.

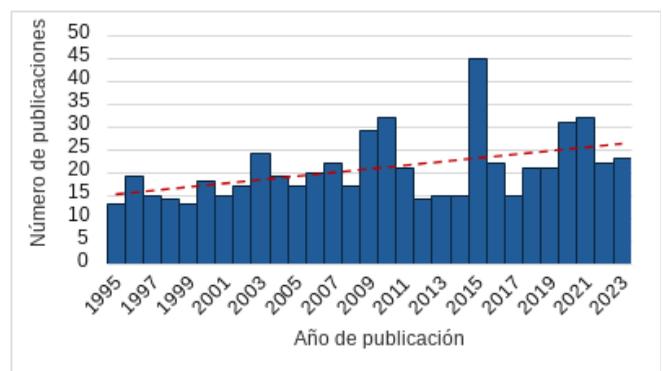


Fig. 1. Número de publicaciones relacionadas con el cangrejo herradura en Scopus desde 1995 hasta 2023. Fuente: elaboración propia.

## 3. LISADO DE AMEBOCITOS DE LIMULUS (LAL)

El mecanismo de defensa de los cangrejos herradura se conoce bajo el nombre de *lisado de amebocitos de Limulus* (LAL). Su eficacia es tal que puede detectar la contaminación con endotoxinas de bacterias Gram negativas en concentraciones ínfimas [1].

Cuando los amebocitos se exponen a agentes infecciosos, como las bacterias, estos se lisan y los compuestos activos contenidos en ellos se liberan [4]. La exocitosis de estas moléculas comienza cuando los amebocitos reaccionan con el lipopolisacárido (LPS) de la bacteria Gram negativa u otros componentes bacterianos. Entre los compuestos liberados por los amebocitos se encuentran proteínas antibacterianas, como las defensinas, el factor anti-LPS y zimógenos de las serina proteasas que participan en la coagulación. [5] Finalmente, se forma un coágulo alrededor de la lesión y las bacterias, que protege al animal. De esta forma, la bacteria queda atrapada e incapaz de seguir avanzando por el organismo huésped [1].

El mecanismo de defensa de LAL se basa principalmente en la cascada de coagulación de las serina proteasas (Fig. 2). Primero, el factor C es activado por LPS, que activa a su vez el factor B. El factor B activa la enzima procoagulante, convirtiéndola en coagulante. Finalmente, la enzima coagulante corta al coagulógeno para producir coagulina, la cual forma el coágulo [4].

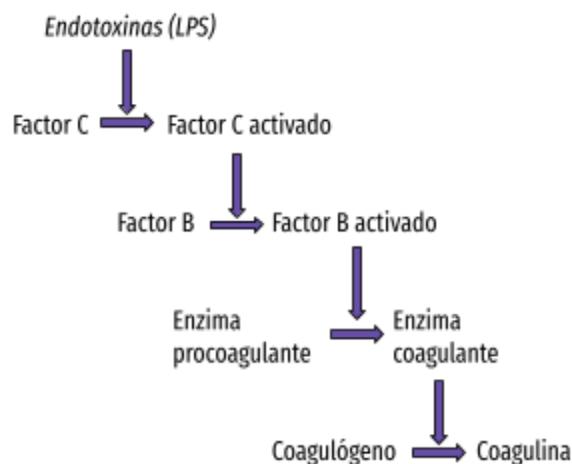


Fig. 2. Representación de la reacción en cascada desencadenada en el mecanismo LAL frente a las endotoxinas. Fuente: adaptado de [5].

La formación del coágulo es la base para el ensayo de detección de endotoxina de LAL. La detección de concentraciones tan bajas de endotoxina es posible debido a que esta cascada de activación amplifica muy bien la señal de LPS [4].

## 4. APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DE LAL

### 4.1. LAL para la detección de contaminación en aparatos médicos

Todos los dispositivos médicos diseñados para ser implantados en humanos (herramientas quirúrgicas, agujas hipodérmicas, implantes...) deben estar libres de toda contaminación bacteriana. Incluso restos de bacterias

mueras o componentes bacterianos dispersos pueden provocar una respuesta inflamatoria. Para medir los niveles de contaminación, se utilizan tests pirogénicos, entre ellos LAL [6].

LAL detecta LPS, el pirógeno más común y más potente, con una alta sensibilidad. El principal inconveniente de esta prueba es que LAL no detecta otros pirógenos que puedan provenir de las bacterias [6].

### 4.2. LAL para la cuantificación de endotoxemia metabólica

La endotoxemia metabólica se define como la presencia excesiva de endotoxinas en el torrente sanguíneo. Esta condición es un factor determinante en el desarrollo de enfermedades crónicas en animales y humanos [7].

El epitelio intestinal es una barrera protectora frente a la absorción de LPS, presente en nuestra microbiota o en bacterias ingeridas del exterior. Sin embargo, cambios drásticos en nuestra dieta pueden producir alteraciones estructurales en nuestro intestino, permitiendo al LPS entrar en nuestro sistema circulatorio. LPS promueve la inflamación, lo que puede dar lugar a una inflamación crónica. Otras afecciones como la obesidad o la diabetes también pueden aumentar la permeabilidad de nuestro intestino a LPS [7].

En este contexto, los tests LAL pueden servir como una prueba de cuantificación de los niveles de LPS en la sangre. Para ello, habría que tener en cuenta varios factores, como evitar la contaminación durante la recogida de la muestra, extraer la sangre en la fase no lipídica (para evitar la activación de LAL por lípidos plasmáticos), o el hecho de que esta prueba no es específica para endotoxina, ya que también se activa en respuesta a otros componentes presentes en organismos patógenos [7].

La solución para superar estas limitaciones sería utilizar LAL junto con otras pruebas, como la unión de la proteína LPS o LBP por sus siglas en inglés (LPS-binding protein) y el ensayo de endotoxina o EAA por sus siglas en inglés (endotoxin activity assay). [7]

### 4.3. LAL para la determinación del contenido de endotoxinas en vacunas

Como hemos mencionado previamente, la ingestión de endotoxinas pueden causar enfermedades tanto agudas como crónicas. Los síntomas pueden ser desde escalofríos y fiebres hasta insuficiencias orgánicas o la muerte. Por ello, la mayoría de medicamentos y aparatos biológicos están sometidos a una regulación estricta en cuanto a la cantidad de endotoxinas que pueden contener [8].

En 1976, un lote de vacunas de la gripe porcina

desencadenó reacciones severas en los pacientes. Gracias a LAL se determinó que este lote contenía concentraciones inusualmente altas de endotoxina, las cuales eran responsables de estos efectos. Este suceso fue determinante para que se impusiera una regulación de los niveles de endotoxina de las vacunas [9].

Un ejemplo de ello es la vacuna del virus de la Influenza. El método utilizado para obtener estas vacunas consiste en inocular virus a grandes cantidades de embriones de pollos, y extraer el fluido alantoideo de ellos. El problema es que es imposible descartar todos los huevos que puedan contener bacterias, por lo que el fluido siempre contiene algo de endotoxina. Para producir las vacunas hay que purificar este fluido. LAL es utilizado por los fabricantes de estas vacunas para medir el contenido de endotoxina [10].

#### 4.4. LAL para la purificación de proteínas recombinantes

El uso de proteínas recombinantes como agentes terapéuticos se ha convertido en una parte importante de la industria farmacéutica. Para producirlas, se utilizan líneas celulares de mamíferos, bacterias, hongos... que pueden ser fuentes potenciales de estos agentes pirógenos. Por ello, el proceso de purificación es complejo y costoso [11].

Uno de los procesos de purificación más utilizados es la ultrafiltración. Liryaei et al. [11] evaluaron la eficacia de este método purificando eritropoyetina recombinante. La eritropoyetina es una hormona que estimula la médula ósea para producir más glóbulos rojos. Su principal uso médico es el tratamiento de la anemia en pacientes con un número reducido de glóbulos rojos [12]. A la hora de purificar esta proteína, utilizaron una combinación de varios tests, entre ellos LAL, para cuantificar los niveles de endotoxina [11].

### 5. OTROS COMPUESTOS RELEVANTES DEL CANGREJO HERRADURA

A pesar de que LAL es la aplicación más extendida del cangrejo herradura, varios investigadores han descubierto otros compuestos presentes en su organismo con potencial en la industria.

#### 5.1. Potencial anticancerígeno del péptido polifemusina III del cangrejo herradura

Las polifemusinas son péptidos que forman parte de la hemolinfa de *Limulus polyphemus*. Se caracterizaron como péptidos antimicrobianos porque tienen una función defensiva, ya que combaten la acción de LPS [5]. Concretamente, las polifemusinas pueden desestabilizar la estructura de ambas membranas de las bacterias Gram negativas debido a su carga positiva [13].

Marggraf et al. [13] consiguieron aislar una polifemusina de *Limulus Polyphemus* desconocida hasta la fecha, la polifemusina III. Hasta entonces, se tenía constancia de la existencia de las polifemusinas (PM) I y II, y también de otros péptidos antimicrobianos homólogos de este cangrejo llamados tachiplesinas. Ya se había estudiado la actividad antimicrobiana de estas moléculas, así como su actividad cancerígena, que es también característica de algunos péptidos antimicrobianos. Así que en este estudio se compararon las actividades tanto antimicrobianas como anticancerígenas de estos péptidos con las de la polifemusina III (PM III).

En las tablas 1 y 2 se muestran los resultados de ambos experimentos.

En la tabla 1, los valores numéricos representan las concentraciones mínimas inhibitorias o MICs (por sus siglas en inglés, minimal inhibitory concentrations) de cada péptido contra varias especies bacterianas. Como podemos observar, PM III presenta unos valores mayores, por lo que concluimos que su actividad antimicrobiana es menor que las de los demás péptidos.

En la tabla 2 se muestran las concentraciones inhibitorias medias o IC<sub>50</sub> (por sus siglas en inglés, inhibitory concentrations) de las mismas moléculas al actuar contra varias líneas de células cancerígenas humanas. Esta vez, sin embargo, PM III presentó los valores más bajos en comparación con los demás péptidos. Estos datos revelaron que PM III tiene una potente actividad citotóxica frente a células humanas. Este descubrimiento alberga un gran interés para futuros estudios sobre terapias contra el cáncer.

TABLA 1  
ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE POLIFEMUSINAS Y TACHIPLESINAS [13]

Cepa	Gram	MICs, $\mu$ M					
		PM I	PM II	PM III	TP I	TP II	TP III
<i>E. coli</i> ML-35p	-	0.062	0.031	0.25	0.062	0.062	0.062
<i>K. pneumoniae</i> (CI 287)	-	0.5	0.5	2	0.5	1	0.5
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	-	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	+	4	4	16	8	8	16
<i>S. aureus</i> 209P	+	0.5	0.5	2	0.5	0.5	0.5
<i>B. subtilis</i> B-886	+	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	1
<i>M. luteus</i> B-1314	+	0.5	1	0.5	1	1	2

TABLA 2

VALORES IC<sub>50</sub> MEDIDOS PARA POLIFEMUSINAS Y TACHIPLESINAS EN LÍNEAS CELULARES HUMANAS (ADAPTADO DE [13])

Línea celular	IC <sub>50</sub> μM					
	PM I	PM II	PM III	TP I	TP II	TP III
HL-60	7.2	7.2	2.5	4.8	5.6	5
HeLa	12.5	16.4	6	24.2	24.4	13.7
SK-BR-3	16	17.3	9.9	30.1	34	27.5
A549	8.8	10.8	7.3	26.5	28.1	15.3
HEK 293T	9.4	11.3	7.3	23.5	24.6	19.7
HEF	8.3	9.7	7	13	17.7	14.1
NHA	14.5	18.3	7.5	24.7	29.4	21.3

Los valores de IC<sub>50</sub> están representados como las medias de, al menos, tres experimentos independientes.

## 5.2. Extracción de la quitina del exoesqueleto del cangrejo herradura

El exoesqueleto de los artrópodos marinos tiene un alto contenido en quitina, un polisacárido de gran importancia y muy abundante en la naturaleza. El uso de esta macromolécula está ampliamente extendido en las industrias alimentaria, textil y agrícola, entre otras. De hecho, se está llevando a cabo una gran explotación de crustáceos como fuente natural de quitina [14].

Diversos estudios se han centrado en cuantificar la presencia de quitina en distintas estructuras del cuerpo de *Limulus polyphemus*. Sandoval-Gío et al. [14] llevaron a cabo una caracterización físico-química de las dos regiones en las que se divide el cuerpo de los artrópodos, llamadas tagmas. En el caso de los quelicerados, los tagmas reciben el nombre de prosoma, correspondiente al cefalotórax, y opistosoma, que hace referencia al abdomen [15]. Tras este estudio no encontraron diferencias significativas con respecto al contenido de quitina entre el prosoma y el opistosoma.

Por otro lado, Mendez-Alpuche et al. [16] analizaron el exoesqueleto (en su totalidad) y la exuvia, que es el exoesqueleto abandonado por los artrópodos tras la muda. Este estudio determinó que la exuvia es más rica en quitina que el exoesqueleto, lo que la hace preferible como fuente natural de este polisacárido. A día de hoy, la exuvia genera un exceso de desechos porque es desprendida del cuerpo de estos animales en grandes cantidades y no es explotada como recurso. Por lo tanto, este hallazgo tiene un gran potencial medioambiental, ya que abre la puerta a la explotación de la quitina [16].

## 6. CONCLUSIONES

Los cangrejos herradura tienen un potencial inmenso en la industria biomédica. Su eficaz sistema de coagulación ha probado ser un método altamente preciso

a la hora de detectar endotoxinas, las cuales están presentes en todo nuestro alrededor. Además, la continua y creciente investigación del cáncer hace a la recién descubierta polifemusina III de *Limulus polyphemus* una proteína ejemplar en este reto. Por no hablar de su exuvia, rica en quitina, cuyas aplicaciones van desde el campo textil hasta las industrias alimentaria y agrícola.

Los métodos de obtención de todos estos compuestos del cangrejo implican extracciones de un tercio del volumen de su sangre. Aunque esto no debería acabar con la vida de los animales, la realidad es que el 15% o más de los cangrejos mueren durante el proceso. En el campo de la ecología, esto representa un gran problema, ya que estamos propiciando la decadencia de estas especies [1].

Debido a la gran problemática que presenta la recolección y el comercio de estos cangrejos, el mundo científico está explorando otras alternativas al uso de su sangre. Las investigaciones actuales se centran en el factor recombinante C (rFC). Esta proteína es la primera que participa en la cascada de coagulación de LAL (Fig. 2) y se ha conseguido desarrollar de manera sintética por ingeniería genética. Diversos estudios comparativos con LAL se han llevado a cabo para probar la validez de rFC como detector de endotoxina y han resultado prometedores [17].

Todas las aplicaciones mencionadas anteriormente hacen al cangrejo herradura, y especialmente a *Limulus polyphemus*, un animal verdaderamente interesante y merecedor de estudios adicionales. Por ello se debería priorizar su conservación en la naturaleza y propiciar el uso de alternativas sintéticas sobre su propia sangre.

## AGRADECIMIENTOS

La autora desea agradecer a María José Reyes Martínez, profesora de la asignatura de Recursos Animales, por su asesoría.

## REFERENCIAS

- [1] Web Kataka (<https://www.xataka.com/investigacion>)
- [2] Kenny, N. J., Chan, K. W., Nong, W., Qu, Z., Maeso, I., Yip, H. Y., ... & Hui, J. H. (2016). Ancestral whole-genome duplication in the marine chelicerate horseshoe crabs. *Heredity*, 116(2), 190-199.
- [3] Web CertoClav (<https://certoclav.com/es>)
- [4] Ketchum, P. A., & Novitsky, T. J. (2000). Assay of endotoxin in limulus amoebocyte lysate. *Septic Shock Methods and Protocols*, 3-12.
- [5] Perdomo-Morales, Rolando. (2004). Ensayo del lisado de amebocitos del Limulus (LAL). *Revista Cubana de Farmacia*. 38. 1.
- [6] Mazzotti, F., Beuttler, J., Zeller, R., Fink, U., Schindler, S., Wendel, A., ... & Von Aulock, S. (2007). In vitro pyrogen test—A new test method for solid medical devices. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 80(2), 276-282.
- [7] Mohammad, S., & Thiemermann, C. (2021). Role of metabolic endotoxemia in systemic inflammation and potential interventions. *Frontiers in immunology*, 11, 594150.
- [8] Trivedi, B., Valerio, C., & Slater, J. E. (2003). Endotoxin content of standardized allergen vaccines. *Journal of allergy and clinical immunology*, 111(4), 777-783.

- [9] Ashrafuzzaman, M., Razu, M. H., Showva, N. N., Bondhon, T. A., Moniruzzaman, M., Rahman, S. A. R., ... & Khan, M. (2022). Biomolecules of the Horseshoe Crab's Hemolymph: Components of an Ancient Defensive Mechanism and Its Impact on the Pharmaceutical and Biomedical Industry. *Cellular Microbiology*, 2022.
- [10] Rastogi, S. C., Hochstein, H. D., & Seligmann Jr, E. B. (1977). Statistical determination of endotoxin content in influenza virus vaccine by the limulus amoebocyte lysate test. *Journal of Clinical Microbiology*, 6(2), 144-148.
- [11] Liryaei, H., Kaghazian, H., & Eidgahi, M. R. A. (2020). Optimization of ultrafiltration process for human recombinant erythropoietin purification. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research | Jan-Mar*, 10(S1).
- [12] Web Cochrane (<https://www.cochrane.org>)
- [13] Marggraf, M. B., Panteleev, P. V., Emelianova, A. A., Sorokin, M. I., Bolosov, I. A., Buzdin, A. A., ... & Ovchinnikova, T. V. (2018). Cytotoxic potential of the novel horseshoe crab peptide polyphemusin III. *Marine Drugs*, 16(12), 466.
- [14] Sandoval-Gío, J. J., Cervantes-Uc, J. M., Rivera-Muñoz, G., & Alvarado-López, C. J. (2023). Comparative physicochemical analysis of chitin quality of the two tagmata in the exoskeleton of the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 246, 125563.
- [15] Web Proyecto Biosfera (<https://servicios.educarm.es/>)
- [16] Mendez-Alpuche, A. A., Ríos-Soberanis, C. R., Rodríguez-Laviada, J., Pérez-Pacheco, E., & Zaldivar-Rae, J. A. (2020). Physicochemical comparison of chitin extracted from horseshoe crab (*Limulus polyphemus*) exoskeleton and exuviae. *ChemistrySelect*, 5(38), 11745-11752.
- [17] Kang, D. H., Yun, S. Y., Eum, S., Yoon, K. E., Ryu, S. R., Lee, C., ... & Lee, K. M. (2024). A Study on the Application of Recombinant Factor C (rFC) Assay Using Biopharmaceuticals. *Microorganisms*, 12(3), 516.



**Lucía Reche Gabaldón**

Estudiante del tercer curso del Doble Grado Internacional en Biotecnología (Universidad Pablo de Olavide) y Licence Mention Science de la Vie (Universidad de Rennes 1).

# Relevancia de la bioacumulación y el metilmercurio en Química Forense

Antonio Jesús Palacios Martínez

**Resumen**—La bioacumulación y el metilmercurio son cruciales en química forense, ya que permiten detectar la acumulación de tóxicos en organismos, lo que es clave para investigar envenenamientos o intoxicaciones. Su estudio ayuda a comprender los efectos a largo plazo de la contaminación ambiental en la salud humana.

**Palabras Claves**— Bioacumulación, Contaminación, Cromatografía, Espectrometría, Metilmercurio

## 1. INTRODUCCIÓN

El mercurio es un metal pesado de fuentes tanto naturales como antropogénicas, que está ampliamente distribuido y es persistente en el medio ambiente [1]. El mercurio presente en el agua puede convertirse fácilmente en metilmercurio (MeHg), mucho más tóxico y con capacidad de bioacumularse (proceso de incremento en la concentración de los metales pesados en un organismo vivo a través del tiempo) y biomagnificarse, que es la capacidad de los metales pesados de presentarse en bajas concentraciones en organismos al principio de la cadena trófica y en mayor proporción a medida que se asciende [2].

Las principales fuentes de exposición al mercurio en la población general son el consumo de pescado y otros productos marinos, las amalgamas dentales y algunas vacunas. El mercurio y sus compuestos son altamente tóxicos para el sistema nervioso, los riñones y el sistema cardiovascular. Además, pueden afectar otros sistemas, como el respiratorio, gastrointestinal, hematológico y reproductivo. En la sangre, el mercurio proveniente de las sales de mercurio inorgánico se distribuye de manera uniforme entre las proteínas plasmáticas y los hematíes, mientras que el mercurio derivado de los compuestos organomercuriales se acumula principalmente en los hematíes, especialmente en los grupos SH de la hemoglobina. Por lo tanto, la sangre es un marcador biológico eficaz para evaluar la exposición al metilmercurio, que proviene principalmente del consumo de pescado contaminado [3].

## 2. APLICACIONES FORENSES DEL METILMERCURIO

### 2.1. Identificación de contaminación ambiental y delitos ecológicos

La bioacumulación del metilmercurio es clave en delitos ambientales, como la contaminación industrial de ríos y mares. Unos de los ejemplos más claros son los vertidos realizados por la minería ilegal, puesto que los lugares donde habitan estas especies, a través de procesos de sedimentación, bioacumulación y biomagnificación están afectando a la calidad del agua recibiendo estas cargas de contaminantes, principalmente de mercurio y acumulándose así en las especies locales, especialmente en peces grandes como el atún y el cazón. Además, también puede ser asimilado por las plantas al crecer en suelos contaminados o con el agua de riego contaminada [6].

El factor de bioacumulación de Hg total se puede calcular mediante la razón entre la concentración del elemento en el organismo y la existente en el agua de fondo, ambiente con el cual interactúan continuamente los individuos [7]. La química forense puede rastrear la fuente del mercurio utilizando técnicas de análisis isotópico y espectrometría de masas.

### 2.2. Investigación de intoxicaciones y envenenamientos

Se han registrado casos de intoxicaciones masivas por metilmercurio, como el desastre de Minamata (Japón, 1956), donde miles de personas fueron afectadas por el consumo de pescado contaminado. Esto hizo que se crease la Convención de Minamata para proteger la salud humana y el medio ambiente de las emisiones y liberaciones antropogénicas de mercurio y compuestos derivados.

En esta se expone que la presencia de MeHg durante la etapa prenatal, incluso a niveles muy bajos, es perjudicial durante el desarrollo neurológico, lo cual puede derivar en

discapacidades intelectuales. Esta exposición se debe principalmente al consumo de pescado y otros organismos de la cadena alimentaria [4].

Los síntomas principales de las personas afectadas por la enfermedad de Minamata eran principalmente neurológicos, como ataxia, pérdida de los sentidos, cambios en el estado de ánimo y la personalidad. También presentaban daños renales, hemorragias y una larga lista de otros problemas, que en los casos más graves conducían a parálisis general y, finalmente, a la muerte [5].

### 2.3. Autopsias y determinación de causa de muerte

En autopsias forenses, la presencia de niveles elevados de metilmercurio se encuentra sobre todo en órganos como el cerebro e hígado, que puede indicar una exposición crónica o aguda a este tóxico.

En casos de envenenamiento intencional, la química forense puede analizar cabello mediante espectrometría de absorción atómica, que muestra una historia de la exposición a este compuesto. También se podrá detectar en sangre y tejidos con la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente.

## 3. MÉTODOS ANALÍTICOS EN QUÍMICA FORENSE

Para detectar y cuantificar metilmercurio en muestras biológicas y ambientales, se utilizan técnicas como:

### 3.1. Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)

La introducción del ICP-MS ha permitido realizar análisis simultáneos con bajos límites de detección y la capacidad de estudiar isótopos. Sin embargo, presenta limitaciones para el análisis de muestras clínicas debido a interferencias espectrales causadas por iones poliatómicos y efectos de matriz debido a los componentes orgánicos e inorgánicos. Además, la matriz puede bloquear partes del equipo, como el nebulizador. Para reducir estos problemas, se usan nebulizadores especiales y pequeñas cantidades de muestra. Las interferencias espectrales son especialmente problemáticas en ICP-MS cuadrupolares, pero se minimizan en los equipos de alta resolución (HRICP-MS), aunque su alto costo y complejidad limitan su uso [8].

La introducción de celdas de reacción dinámica/colisión ha mejorado el control de interferencias, lo que ha permitido que el ICP-MS se utilice con mayor eficacia en laboratorios clínicos, especialmente en la medición de mercurio en sangre. Esto ha aumentado la participación de los laboratorios en Programas de Garantía Externa de la Calidad.

Davis y Long desarrollaron un material de referencia certificado para elementos tóxicos y para metilmercurio, etilmercurio y mercurio inorgánico en sangre total. [8]

### 3.2. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

Adriana Lea describe este proceso para medida de relaciones isotópicas de la siguiente manera: [9]

Se usa helio como gas portador, que transporta la muestra a través del sistema. Su flujo se mantiene constante en 2,25 mL por minuto, asegurando una separación eficiente de los compuestos.

Se inyectan 2 microlitros (2  $\mu$ L) de la muestra líquida en el sistema. La temperatura del inyector es de 250°C, lo que permite que la muestra se evapore rápidamente. Se usa el modo "splitless", lo que significa que toda la muestra entra en la columna sin ser dividida, para detectar incluso cantidades muy pequeñas de compuestos. Después de 1 minuto, se activa una purga para eliminar residuos no deseados.

La muestra, ahora en fase gaseosa, viaja por la columna cromatográfica, donde los compuestos se separan en función de sus características químicas.

Después del análisis, se usa un método llamado "back-flush", que invierte la dirección del flujo de gas a 300°C durante 4 minutos y con una presión de 50 psi. Esto ayuda a limpiar la columna y evitar que los compuestos pesados la contaminen, lo que mejora su vida útil. Para hacer esto, la columna se conecta a una válvula especial y a un tubo capilar de sílice desactivada, que dirige los compuestos directamente al espectrómetro de masas.

Una vez que los compuestos llegan al espectrómetro, se ionizan para ser analizados. La línea de transferencia (que conecta la columna con el MS) se mantiene a 280°C. La fuente de ionización (donde los compuestos se fragmentan en iones) está a 230°C. [9]

### 3.3. Espectrometría de absorción atómica con descomposición térmica y amalgamación

Es un procedimiento para separar y medir el mercurio de una muestra, utilizando altas temperaturas y filtros específicos, donde después se puede cuantificar mediante una recta de calibrado: [10]

Primero, la muestra se calienta a 400°C para evaporar toda el agua que pudiera estar presente.

Luego, se sube la temperatura a 650°C en un horno que tiene oxígeno. Esto sirve para descomponer los compuestos de la muestra, liberando todos los productos, incluidos los gases como el mercurio.

Los productos de esa descomposición (como halógenos o compuestos de nitrógeno y azufre) pasan por una sección

en el horno donde un catalizador atrapa los compuestos no deseados a 600°C.

El vapor que queda, que incluye el mercurio, pasa a una célula llamada de "amalgamación". Esta célula está diseñada para atrapar solo el mercurio.

Finalmente, la célula de amalgamación se calienta a 600°C, liberando el mercurio atrapado en forma de vapor. Ese vapor de mercurio se transporta a celda de absorción donde se mide la cantidad de mercurio presente.

### 3.4. Dispositivos móviles para la detección de mercurio

Un estudio realizó un procedimiento sencillo para evaluar la capacidad de AgNPs@BS y LMG como sensores colorimétricos rápidos para detectar iones de  $Hg^+$  en solución acuosa. Se monitoreó en proceso de detección mediante imágenes tomadas con la cámara de un móvil y se analizó la intensidad usando el software ImageJ, así como con un espectrofotómetro UV-Vis para verificar la disminución de absorbancia en 410nm para mercurio. En este caso se observó que el color amarillo de AgNPs@BS desaparecía rápidamente al añadir la solución de mercurio, lo que indica que es un buen sensor para detectar iones de  $Hg^+$ . [11]

Además en el análisis espectrofotométrico UV-Vis de las muestras que contenían AgNPs no se observaron alteraciones en el pico de resonancia de plasmón de superficie (SPR) de las nanopartículas de plata, lo que indica que las propiedades ópticas de las AgNPs no fueron modificadas durante el experimento. Este comportamiento sugiere que el cambio en el color de la muestra es exclusivamente debido a la interacción con los iones  $Hg^{+2}$ , sin que otros compuestos o iones interfirieran en la respuesta óptica. Por lo tanto, se presenta como un sensor altamente específico para la detección de estos iones. [12]

## 4. CONCLUSIONES

El metilmercurio, aunque invisible y a menudo indetectable a simple vista, representa un desafío persistente y creciente para nuestra salud y el medio ambiente. Su capacidad para acumularse en los ecosistemas y en los organismos vivos, especialmente en aquellos de la cadena alimentaria, plantea una seria amenaza para generaciones presentes y futuras. Reflexionar sobre este peligro implica reconocer cómo nuestras acciones, desde el consumo irresponsable hasta la contaminación industrial, siguen teniendo repercusiones profundas y duraderas. Además, la ciencia forense, al utilizar tecnologías de vanguardia, nos recuerda que, aunque muchas veces no podamos ver las consecuen-

cias inmediatas de estos contaminantes, los métodos analíticos avanzados permiten descubrir huellas invisibles, otorgando a los investigadores herramientas poderosas para identificar, comprender y mitigar los efectos de la exposición al metilmercurio.

Sin embargo, este conocimiento también debe servir como un llamado a la acción. Es fundamental que nuestra relación con el medio ambiente evolucione hacia una mayor responsabilidad, tomando conciencia de cómo los contaminantes, como el mercurio, son más que simples sustancias químicas: son testigos de un desajuste entre nuestra actividad humana y el equilibrio natural. La vigilancia constante, la educación ambiental y la implementación de políticas públicas más estrictas son esenciales para prevenir futuras crisis. Así, al entender la magnitud de este problema, podemos comenzar a actuar con mayor urgencia, porque proteger nuestro entorno y nuestra salud no es solo una cuestión de ciencia, sino de ética y responsabilidad colectiva.

## REFERENCIAS

- [1] Freire, C., Ramos, R., López-Espinosa, M.-J., Díez, S., Vioque, J., Ballester, F., & Fernández, M.-F. (2010). Hair mercury levels, fish consumption, and cognitive development in preschool children from Granada, Spain. *Environmental Research*, 110(1), 96-104.
- [2] Cuello Núñez, S. (2017). *Bioacumulación, toxicidad e interacción de metilmercurio y especies de selenio* (Tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica.
- [3] Palazón Bru, I., González-Estecha, M., & Arroyo Fernández, M. (2015). Procedimiento de validación de un método para cuantificar mercurio en sangre por espectroscopía de absorción atómica con descomposición térmica y amalgamación. *Revista del Laboratorio Clínico*, 8(2), 92-96.
- [4] Boischio A. Developmental neurotoxicity: methylmercury and prenatal exposure protection in the context of the Minamata Convention. *Rev Panam Salud Publica*. 2015;38(3):243-7.
- [5] Valera Cerdá, M. Á. (2013). Intoxicación por metilmercurio: La enfermedad de Minamata. *MoleQla: Revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide*, 9, 122-124.
- [6] Carrillo Franco, J. D. (2019). *Investigación de los impactos ambientales generados por la minería ilegal, a través de una metodología de marco ordenador común* (Trabajo de grado, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá D.C.). Facultad del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Ingeniería Ambiental.
- [7] Díaz, O., Encina, F., Chuecas, L., Becerra, J., Cabello, J., Figueroa, Á., & Muñoz, F. (2001). Influencia de variables estacionales, espaciales, biológicas y ambientales en la bioacumulación de mercurio total y metilmercurio en *Tagelus dombeii*. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 36(1), 15-29.
- [8] González-Estecha, M. (Coord.), Bodas-Pinedo, A., & Martínez-García, M. J. (2015). Metilmercurio: Recomendaciones existentes; métodos de análisis e interpretación de resultados; evaluación económica. *Nutr Hosp*, 31(1), 1-15.

[9] Sánchez, A.L. (2015). *Deeterminación de especies de mercurio en materiales biológicos mediante análisis por dilución isotópica con trazadores múltiples*. Universidad de Oviedo.

[10] Palazón Bru, I., González-Estecha, M., & Arroyo Fernández, M. (2015). Procedimiento de validación de un método para cuantificar mercurio en sangre por espectroscopía de absorción atómica con descomposición térmica y amalgamación. *Revista Lab Clin*, 8(2), 92-96.

[11] Al-aqbi, Zaidon T. & Abdulsahib, Hassan & Aldoghachi, Faris (2024). *A portable Microfluid Devide-Based Colorimetric Naked-Eye Sensorsfor Determination of Mercury and Arsenic Ions in River Water Samples*. *Plasmonics*. 10.1007/s11468-024-02237-0.

[12] P. Dhanyasree, K.V. Neenu, Deepthi Anna David, P.M. Sabura Begum, Karuvath Yoosaf. (2024). *An ecofriendly Polymer-Silver nanocomposite film for simultaneous and removal of mercury from water*. *Microchemical Journal*, Volume 207, 112188. ISSN 0026-265X



**Antonio Jesús Palacios Martínez.** Estudiante de 4º de Criminología en la Universidad Pablo de Olavide. Técnico de Enseñanza y Animación Sociodeportiva.

# Aplicación de nanocatalizadores de $\text{WO}_3$ y $\text{TiO}_2$ en Química Verde

Nuria Cañizares-González, Diego Sánchez-Pulido

**Resumen**— El cambio climático y la crisis energética son algunos de los mayores problemas a los que nos enfrentamos en la actualidad. Por ello, desarrollar una alternativa energética que sea respetuosa con el medio ambiente, limpia, segura y sostenible, es uno de los retos más urgentes a los que se enfrentan los investigadores. Diversos estudios buscan esa alternativa energética partiendo de fuentes de energía renovables, como son la energía solar y la biomasa. El procedimiento puede implicar reacciones variadas; no obstante, en este trabajo nos centramos en una estrategia basada en métodos catalíticos, incluyendo catálisis ácida y fotocatalisis. En estas reacciones se usan comúnmente nanocatalizadores de  $\text{TiO}_2$  como fotocatalizador estándar. Asimismo, nanofotocatalizadores de  $\text{WO}_3$  surgen como una alternativa a estos, al poder emplearse, además, para catálisis ácida gracias a sus propiedades ácidas. Sus características permiten el uso en aplicaciones relacionadas con la Química Verde, como son la producción sostenible de energía, la eliminación de contaminantes y la obtención de productos revalorizados a partir de subproductos. Esto los convierte en una opción muy prometedora para abordar la situación de manera sostenible y eficiente.

**Palabras Claves**— Biomasa, Fotocatálisis, Nanocatalizador, Química verde.

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, nos estamos viendo envueltos en un profundo cambio climático y una crisis energética en los que no se vislumbra un final claro. Por este motivo, nos hemos visto obligados a realizar una serie de cambios en nuestro proceder como sociedad, dentro de los cuales se encuentran el empleo de fuentes de energía renovables. La energía renovable es aquella que procede de fuentes naturales e inagotables, como son la energía solar, la eólica o la geotérmica, entre otras. De entre todas ellas, la biomasa suscita gran interés, ya que, adicionalmente, sirve como materia prima de partida para la obtención de productos químicos a partir de los combustibles fósiles. Con el fin de llevar a cabo esta tarea, surge recientemente el concepto de Química Verde dentro del amplio campo de la Química. Este nuevo concepto de química se puede definir como el diseño de nuevas tecnologías, productos químicos y procesos que permitan evitar el uso o generación de sustancias o metodologías dañinas para el medio ambiente [1].

Con el fin de mantener una producción química más sostenible, la biomasa surge como una alternativa. El diferente origen de la biomasa hace que su estructura y composición, así como los productos químicos que pueden llegar a obtenerse de ellos, sean muy variados. Aun así, gran parte de esta biomasa sigue empleándose para la producción de biocombustibles [2]. Uno de los biocombustibles que más importancia han adquirido en las últimas décadas es el biodiésel. No obstante, uno de los principales inconvenientes en la producción de este combustible es la generación de glicerol (propano-1,2,3-triol) como subproducto, el cual ocupa aproximadamente un 10% del peso total de los productos generados [3].

Para solucionar este problema existen diferentes alter-

nativas. Una de ellas es el empleo del glicerol como molécula plataforma para obtener productos revalorizados. Las moléculas plataforma constituyen un grupo de moléculas derivadas de la biomasa que, debido a su disponibilidad y propiedades químicas, se pueden emplear como bases para la construcción de nuevas moléculas que les aporten un valor añadido. Estas moléculas permiten, por tanto, sustituir los productos químicos empleados en la química tradicional por unos compuestos bioderivados que puedan convertir a la industria química en una industria más sostenible [4]. De esta forma, el glicerol cobra una importancia industrial, al ser un compuesto químico que puede emplearse en la producción de fármacos, fragancias o aditivos alimenticios a partir de una gran diversidad de reacciones.

En muchas de estas reacciones es indispensable el empleo de lo que se conocen como métodos catalíticos. La catálisis consiste en el empleo de una sustancia, denominada catalizador, que acelera una reacción química sin consumirse en el proceso [5], [6]. De esta forma, el catalizador actúa como un mediador de la reacción facilitando que tenga lugar.

Entre las estrategias catalíticas encontramos la catálisis ácida y la fotocatalisis. La catálisis ácida constituye un método a partir del cual, mediante el empleo de ácidos como catalizadores, se produce la activación de los reactivos mediante una transferencia protónica, acelerando la reacción [7]. Por su parte, la fotocatalisis es un proceso en el cual los catalizadores empleados (que deben ser materiales semiconductores), en este caso conocidos como fotocatalizadores; requieren de luz como fuente energética para poder actuar [8]. Los fotocatalizadores pueden funcionar con radiación ultravioleta o visible, siendo esto último lo deseable dado que se conseguiría un mejor aprovechamiento de la energía solar al ser mayoritariamente visible. El fotocatalizador más utilizado es el de

TiO<sub>2</sub>, aunque en los últimos años se ha visto reemplazado por otros como el WO<sub>3</sub> debido a ciertas ventajas que presenta. La fotocatalisis supone una de las tecnologías futuras más prometedoras a la hora de una producción "limpia" de energía renovable, ya que permite el uso directo de la energía solar, lo que la sitúa por delante de la catálisis ácida.

En este trabajo se propone el empleo de los fotocatalizadores de escala nanométrica (nanofotocatalizadores) WO<sub>3</sub> y TiO<sub>2</sub> en Química Verde. El objetivo es obtener productos revalorizados a partir de un subproducto como es el glicerol, además de otras aplicaciones como remediación ambiental, eliminación de contaminantes y producción de energía.

## 2. NANOFOTOCATALIZADORES DE WO<sub>3</sub> Y TiO<sub>2</sub>

Los semiconductores empleados en reacciones fotocatalíticas actúan siguiendo un modelo de transferencia electrónica tras excitación (Figura 1). El primer paso en su actividad consiste en la absorción de un fotón por parte del fotocatalizador. Esto provoca la excitación de los electrones presentes en banda de valencia (VB), estado de menor excitación, que alcanzarán la banda de conducción (CB), estado de excitación más elevado. Esto provoca la aparición de huecos cargados positivamente en la primera banda, formando así un par "electrón-hueco" entre el electrón desplazado y el hueco generado [9]. Una vez se ha producido esta primera transferencia, los electrones promocionados pueden experimentar varios procesos. Por un lado, se puede producir una pérdida energética de los electrones excitados, ya sea mediante la pérdida de los fotones absorbidos (emisión de fluorescencia); o mediante la relajación vibracional (VR) de los electrones, que provocará la pérdida energética de estos mediante una liberación de calor (lo cual no es deseado). Por otro lado, los electrones excitados pueden dirigirse a la superficie del fotocatalizador. Dicho electrón será transferido a un aceptor final, resultando en una reacción de reducción de este último. Asimismo, el hueco de la VB podrá atraer electrones, ocasionando la oxidación de un compuesto que actuará como aceptor.

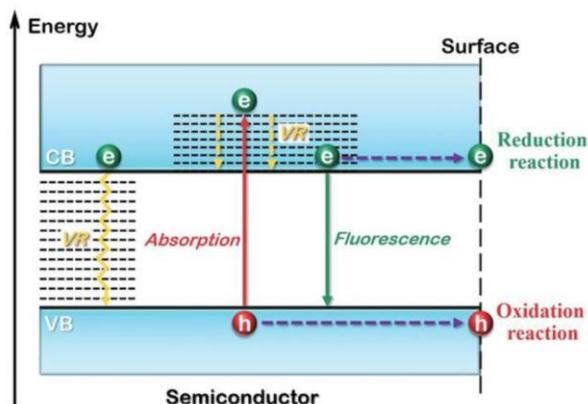


Fig. 1. Transferencia electrónica tras la excitación lumínica de un fotocatalizador [10].

Por lo tanto, cada catalizador presentará sus propias CB y VB, lo cual determinará su actividad fotocatalítica y lo diferenciará del resto de fotocatalizadores. Entre ellos, el TiO<sub>2</sub> es uno de los semiconductores más empleados. Estas nanopartículas inorgánicas cerámicas de entre 5 y 50 nm han sido ampliamente estudiadas para su uso a nivel energético. A nivel de fotocatalisis, este presenta una serie de propiedades ventajosas, tales como su fotoactividad, la movilidad de sus cargas, su estabilidad química y bajo coste [9], [11]. No obstante, este nanocatalizador presenta una gran desventaja en su capacidad de absorción, pues solo es capaz de emplear aproximadamente un 5% del total de la luz solar [11], [12]. Esto se debe a que presenta una separación entre VB y CB ("bandgap") demasiado amplia (3,2 eV), lo cual hace que solo pueda absorber luz ultravioleta.

Mientras tanto, los nanocatalizadores basados en WO<sub>3</sub> han sido menos estudiados. Una de las principales ventajas que muestran frente a los basados en TiO<sub>2</sub> es que, hasta cierto punto, son capaces de emplear la luz visible, además de la radiación UV [13]. Se trata de nanopartículas inorgánicas cuyo tamaño oscila entre los 50 y los 100 nm. Estos nanocatalizadores presentan hasta 5 formas cristalinas distintas (Figura 2), dependiendo de las condiciones térmicas y el método de síntesis empleado. Cada forma tiene sus propias capacidades, alterándose así sus propiedades electrónicas y ópticas [11]. A pesar de esto, todas las formas presentan unas características que resultan muy interesantes. Entre ellas, se encuentran una bandgap de 2,6-2,8 eV, lo cual permite que absorban parte de la luz visible emitida por el sol [14]; estabilidad en medios acuosos con un pH bajo, baja susceptibilidad a la fotocorrosión, inocuidad y un bajo coste [11]. No obstante, muestran un nivel energético de CB muy bajo, lo que supone una pérdida de eficacia a la hora de realizar la conversión de la energía lumínica.

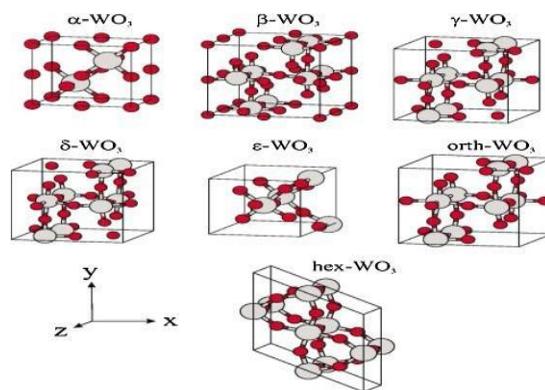


Fig. 2. Formas cristalinas de los fotocatalizadores basados en WO<sub>3</sub> [11].

Adicionalmente, el WO<sub>3</sub> presenta propiedades ácidas al poseer sitios con cierta acidez, lo cual le aporta otra ventaja más sobre el TiO<sub>2</sub>. Estas propiedades convierten al WO<sub>3</sub> en un nanocatalizador ácido estable, además de un fotocatalizador, lo que permite su utilización para llevar a cabo tanto catálisis ácida como fotocatalisis y una estrategia combinada de estas.

### 3. APLICACIONES EN QUÍMICA VERDE

#### 3.1. Fotorreformado del glicerol

Una de las principales aplicaciones de los fotocatalizadores con respecto al glicerol es su empleo para la producción de  $H_2$  [15], [16]. De esta forma se consigue obtener una fuente de energía potencialmente renovable como el hidrógeno a partir de la propia energía solar. La obtención de  $H_2$  a partir de moléculas como glucosa, metanol o sacarosa ha sido estudiado mediante reacciones fotocatalíticas. No obstante, si bien es verdad que a partir de todas ellas se consigue obtener el producto deseado (junto con otros productos de la reacción), la eficiencia es baja [15]. Mientras tanto, el uso de glicerol con este fin ofrece una eficiencia mucho mayor, teniendo como único subproducto de la reacción  $CO_2$  (Figura 3). Se están empezando a producir otros biocombustibles además de  $H_2$ , como es el caso del etanol o del metanol. Todo esto demuestra el potencial que ofrece el glicerol para obtener fuentes energéticas verdes, a diferencia de los combustibles fósiles.

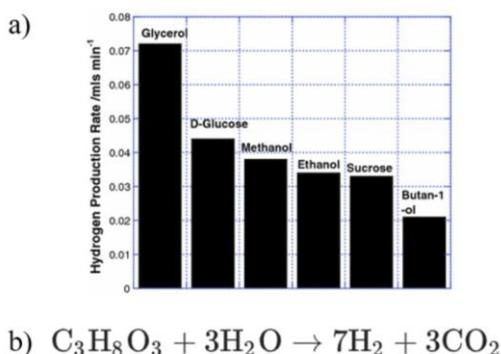


Fig. 3. a) Eficiencia de producción de  $H_2$  a partir de reacciones fotocatalíticas [15]. b) Reacción de conversión del glicerol en  $H_2$  y  $CO_2$ .

Además de la producción de biocombustibles, el glicerol puede ser empleado para obtener otros productos revalorizados. Por ejemplo, nos permite obtener ácidos como el propiónico, cítrico o glicérico, utilizados a nivel industrial como aditivo alimenticio, pesticida o incluso en la industria farmacéutica, entre otras aplicaciones. También permite obtener ácidos grasos poliinsaturados como el ácido docosahexaenoico o el ácido eicosapentaenoico, ambos empleados a nivel farmacéutico en terapias contra el cáncer, enfermedades cardíacas o Alzheimer [17] (Figura 4). Estos son algunos ejemplos de las múltiples aplicaciones del glicerol a nivel industrial. Por ello, el glicerol ha cobrado una gran importancia a nivel industrial, así como el uso de la fotocatalisis para la conversión del glicerol.

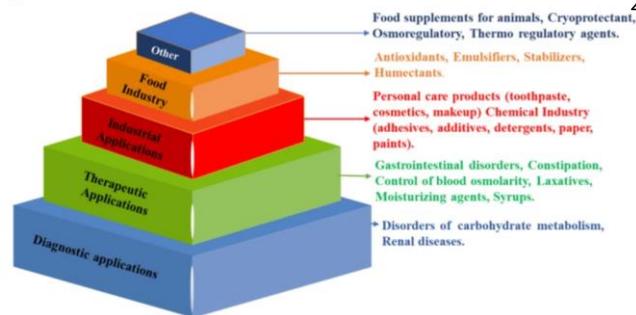


Fig. 4. Aplicaciones del glicerol a nivel industrial [17].

#### 3.2. Eliminación de PFAS

En términos de contaminación ambiental, encontramos las sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas (PFAS), también conocidos como "productos químicos permanentes". Estos PFAS son unos compuestos orgánicos sintéticos que se generan como resultado de la actividad industrial y que son muy estables, lo que los hace muy poco biodegradables. La contaminación con PFAS afecta al agua, al aire y al suelo y se relaciona con efectos adversos para la salud de los humanos y de la vida silvestre.

Se han probado diferentes estrategias para su eliminación, pero no han tenido mucho éxito. En una de las investigaciones recientes [18], se ha descubierto que la ozonización fotocatalítica empleando nanocatalizadores de  $WO_3/TiO_2$  es útil para tal objetivo (Figura 5). La ozonización fotocatalítica es una estrategia emergente que ha demostrado su eficacia en la degradación de compuestos orgánicos y la reducción de la toxicidad de los contaminantes. Combina la fotocatalisis y la ozonización, lo que permite solucionar uno de los problemas del primero, como es la rápida recombinación de los huecos de electrones. El catalizador más usado es el de  $TiO_2$ , pero se ha demostrado que la eficiencia se puede mejorar combinándolo con otros materiales semiconductores. La combinación con  $WO_3$  permite la aplicación sobre áreas de superficie más altas, una fotoactividad mejorada en longitudes de onda más largas y una transferencia de carga de  $TiO_2$  a  $WO_3$ , extendiendo la vida útil de los huecos de electrones. El nanocatalizador combinado se ha empleado con éxito en la eliminación de contaminantes orgánicos [18].

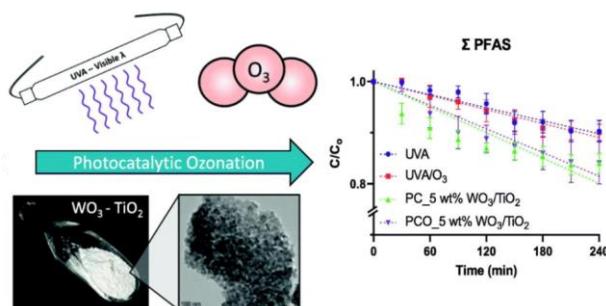


Fig. 5. Degradación de PFAS mediante diferentes métodos: fotólisis (UVA), fotólisis con ozono (UVA/ $O_3$ ), fotocatalisis (PC) y ozonización fotocatalítica (PCO). Para los dos últimos se emplearon nanocatalizadores  $WO_3/TiO_2$  con un contenido del 5% en peso de  $WO_3$  [18].

### 3.3. Fuente de energía más sostenible y con aplicación ambiental

Con el fin de mejorar la situación actual en relación con la contaminación y la crisis energética, se buscan recursos energéticos alternativos y sostenibles que presenten buen rendimiento pero que minimicen el impacto ambiental. Recientemente ha surgido un nuevo enfoque multicatalítico, denominado "termofotocatálisis", que se basa en el efecto sinérgico de la fotocatalisis y la termocatálisis con finalidad ambiental y energética (Figura 6). Entre los catalizadores empleados encontramos los basados en  $\text{TiO}_2$  [19].

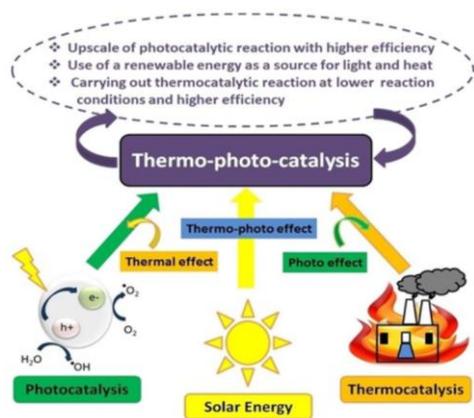


Fig. 6. Termofotocatálisis para aplicaciones relacionadas con el medio ambiente y la energía [19].

La termofotocatálisis permite recolectar y utilizar la energía solar para múltiples aplicaciones energéticas. La fotocatalisis por sí misma ya supone un proceso ecológico con gran potencial, pero la aceleración que supone el combinarlo con el efecto térmico hace que las eficiencias sean altamente destacables. Se estaría empleando la energía solar como fuente de luz y de calor, lo que hace que parta de una base renovable, disponible y de fácil acceso. En cuanto a la aplicación de la energía producida, se ha probado en producción de hidrógeno, en síntesis química para obtener productos revalorizados y en conversión  $\text{CO}/\text{CO}_2$  [19].

Adicionalmente, también se puede utilizar la termofotocatálisis para la remediación de la contaminación ambiental. Particularmente, se ha empleado en el tratamiento de agua y de aire, incluyendo tratamiento de contaminantes emergentes, pesticidas, disruptores endocrinos, bacterias y eliminación de compuestos orgánicos volátiles [19].

## 4. CONCLUSIÓN

En la actualidad, como consecuencia de la sobrepoblación y la explotación desmesurada de recursos, nos vemos envueltos en una crisis energética y grandes problemas de contaminación. Las consecuencias de esta situación se ven reflejadas en la calidad del agua, del suelo y el aire, además de las afecciones que pueden tener sobre la salud. Adicionalmente, conlleva un agotamiento de las fuentes, lo que perpetúa el ciclo en el que nos encontramos. De-

bido a ello, es necesario encontrar alternativas energéticas que sean más respetuosas con el medio ambiente, así como formas de combatir la contaminación actual.

Durante los últimos años, los investigadores han buscado diferentes estrategias para este fin. Una de ellas consiste en el empleo de nanocatalizadores basados en  $\text{WO}_3$  y  $\text{TiO}_2$  y su aplicación mediante reacciones de tipo catalítico, principalmente catálisis ácida y fotocatalisis. Estos catalizadores destacan por su fotoactividad, estabilidad química y bajo coste. Se componen de nanopartículas inorgánicas que son capaces de emplear luz visible y luz solar con fines energéticos.

El uso de estos nanocatalizadores ha ofrecido resultados muy prometedores en el problema que estamos tratando. Se han descrito múltiples aplicaciones de los mismos en Química Verde, desde la producción de energía a partir de fuentes renovables, la obtención de productos revalorizados a partir de productos secundarios, el tratamiento de aguas y suelos contaminados, la eliminación de contaminantes orgánicos y otras a nivel tanto energético como ambiental. Por lo tanto, el desarrollo de esta estrategia supone una opción muy eficiente para restaurar los problemas de contaminación y crisis energética.

## REFERENCIAS

- [1] Spargo, P. (2004). Green Chemistry: An Introductory Text By Mike Lancaster. Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK. ISBN 0-85404-620-8. *Organic Process Research & Development*, 8(2), 299–300. <https://doi.org/10.1021/op049976c>
- [2] Salaheldeen, M., Mariod, A. A., Aroua, M. K., Rahman, S. M. A., Soudagar, M. E. M., & Fattah, I. M. R. (2021). Current State and Perspectives on Transesterification of Triglycerides for Biodiesel Production. *Catalysts*, 11(9), 1121. <https://doi.org/10.3390/catal11091121>
- [3] Aghbashlo, M., Peng, W., Tabatabaei, M., Kalogirou, S. A., Soltanian, S., Hosseinzadeh-Bandbafha, H., Mahian, O., & Lam, S. S. (2021). Machine learning technology in biodiesel research: A review. *Progress in Energy and Combustion Science*, 85, 100904. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2021.100904>
- [4] Clark, J., & Deswarte, F. (2015). *Introduction to Chemicals from Biomass* (J. Clark & F. Deswarte, Eds.; 2nd ed.). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118714478>
- [5] Laird, T. (2012). Applied Homogeneous Catalysis. *Organic Process Research & Development*, 16(9), 1570–1570. <https://doi.org/10.1021/op300217c>
- [6] Schlögl, R. (2015). Heterogeneous Catalysis. *Angewandte Chemie International Edition*, 54(11), 3465–3520. <https://doi.org/10.1002/anie.201410738>
- [7] Fukuzumi, S., Lee, Y., & Nam, W. (2020). Acid Catalysis via Acid-Promoted Electron Transfer. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 41(12), 1217–1232. <https://doi.org/10.1002/bkcs.12124>
- [8] Ameta, R., Solanki, M. S., Benjamin, S., & Ameta, S. C. (2018). Photocatalysis. In *Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment* (pp. 135–175). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-810499-6.00006-1>
- [9] Jeon, J., Kweon, D. H., Jang, B. J., Ju, M. J., & Baek, J. (2020). Enhancing the Photocatalytic Activity of  $\text{TiO}_2$  Catalysts. *Advanced Sustainable Systems*, 4(12). <https://doi.org/10.1002/adsu.202000197>

- [10] Zhang, L., Zhang, J., Yu, H., & Yu, J. (2022). Emerging S-Scheme Photocatalyst. *Advanced Materials*, 34(11). <https://doi.org/10.1002/adma.202107668>
- [11] Peleyeju, M. G., & Viljoen, E. L. (2021). WO<sub>3</sub>-based catalysts for photocatalytic and photoelectrocatalytic removal of organic pollutants from water – A review. *Journal of Water Process Engineering*, 40, 101930. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.101930>
- [12] Hidalgo-Carrillo, J., Estévez-Toledano, R. C., López-Tenllado, F. J., Bautista, F. M., Urbano, F. J., & Marinas, A. (2021). Fourth generation synthesis of solketal by glycerol acetalization with acetone: A solar-light photocatalytic approach. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 125, 297–303. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2021.06.035>
- [13] Szilágyi, I. M., Fórizs, B., Rosseler, O., Szegedi, Á., Németh, P., Király, P., Tárkányi, G., Vajna, B., Varga-Josepovits, K., László, K., Tóth, A. L., Baranyai, P., & Leskelä, M. (2012). WO<sub>3</sub> photocatalysts: Influence of structure and composition. *Journal of Catalysis*, 294, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2012.07.013>
- [14] Dutta, V., Sharma, S., Raizada, P., Thakur, V. K., Khan, A. A. P., Saini, V., Asiri, A. M., & Singh, P. (2021). An overview on WO<sub>3</sub> based photocatalyst for environmental remediation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(1), 105018. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.105018>
- [15] Bowker, M. (2012). Photocatalytic Hydrogen Production and Oxygenate Photoreforming. *Catalysis Letters*, 142(8), 923–929. <https://doi.org/10.1007/s10562-012-0875-4>
- [16] Escamilla, J. C., Hidalgo-Carrillo, J., Martín-Gómez, J., Estévez-Toledano, R. C., Montes, V., Cosano, D., Urbano, F. J., & Marinas, A. (2020). Hydrogen Production through Glycerol Photoreforming on TiO<sub>2</sub>/Mesoporous Carbon: Influence of the Synthetic Method. *Materials*, 13(17), 3800. <https://doi.org/10.3390/ma13173800>
- [17] Chilakamarry, C. R., Sakinah, A. M. M., Zularisam, A. W., & Pandey, A. (2021). Glycerol waste to value added products and its potential applications. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 1(4), 378–396. <https://doi.org/10.1007/s43393-021-00036-w>
- [18] Lashuk, B., Pineda, M., AbuBakr, S., Boffito, D., & Yargeau, V. (2022). Application of photocatalytic ozonation with a WO<sub>3</sub>/TiO<sub>2</sub> catalyst for PFAS removal under UVA/visible light. *Science of The Total Environment*, 843, 157006. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157006>
- [19] Nair, V., Muñoz-Batista, M. J., Fernández-García, M., Luque, R., & Colmenares, J. C. (2019). Thermo-Photocatalysis: Environmental and Energy Applications. *ChemSusChem*, 12(10), 2098–2116. <https://doi.org/10.1002/cssc.201900175>



**Diego Sánchez-Pulido.** Recibió el título de Graduado en Bioquímica por la Universidad de Córdoba en el curso 2022/2023. Actualmente cursa el Máster en Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla), en la mención de Nuevos Fármacos.



**Nuria Cañizares-González.** Recibió el título de Graduada en Bioquímica por la Universidad de Córdoba en el curso 2022/2023. Actualmente cursa el Máster en Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla), en la mención de Terapia Celular.

# Nanopartículas como vehículos para la entrega de CRISPR/Cas9 a las células tumorales

José Francisco Casquero Blanco

**Resumen**—El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo y supone una importante carga para el sistema de salud público. En los últimos años, gracias al desarrollo de tecnologías como el sistema CRISPR/Cas9, la edición genética representa una prometedora estrategia terapéutica para el tratamiento del cáncer. Sin embargo, la aplicación terapéutica de este sistema de edición genética se enfrenta a algunos desafíos, entre ellos, la entrega eficiente de CRISPR/Cas9 a las células tumorales. En este contexto, las nanopartículas se postulan como vehículos de entrega de CRISPR/Cas9, evitando los principales inconvenientes del uso de vectores virales en el ámbito terapéutico. En este artículo se revisan las principales estrategias de entrega de CRISPR/Cas9 empleando nanopartículas y se discuten las ventajas y limitaciones de las nanopartículas como vehículos de entrega de CRISPR/Cas9.

**Palabras Claves**— CRISPR/Cas9, cáncer, nanotecnología, nanopartículas lipídicas, terapia contra el cáncer.

## 1. INTRODUCCIÓN

El término cáncer engloba un grupo de enfermedades que comparten características comunes como son el crecimiento rápido y descontrolado de las células tumorales, y la capacidad de invasión de estas células tumorales a regiones adyacentes o a diferentes órganos. Según los datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo, con casi 10 millones de muertes registradas en el año 2020 [1]. El cáncer se desarrolla de manera progresiva. Así, las células normales pueden sufrir alteraciones genéticas que las hacen atravesar una serie de estados premalignos (iniciación), hasta convertirse en cáncer invasivo (progresión), que puede diseminarse por el resto del organismo (metástasis) [2]. Debido a estas alteraciones genéticas, las células tumorales se transforman en inmortales y adquieren la capacidad de adaptar su metabolismo energético a estados que favorecen el crecimiento y la proliferación celular [3]. Se sabe que las mutaciones genéticas y epigenéticas juegan un papel clave en la aparición y el desarrollo del cáncer a través de la activación de oncogenes o la inactivación de genes supresores de tumores [4], [5]. Debido a esto, la edición genética de las células cancerosas se ha postulado como una herramienta muy poderosa para la terapia contra el cáncer en los últimos tiempos [5]. Para poder aplicar la edición genética en el tratamiento del cáncer, es necesario emplear una herramienta que produzca una edición genética de alta precisión y con los menores efectos adversos posibles.

## 2. CRISPR/CAS9

Entre las herramientas de edición genética, el sistema CRISPR/Cas9 ha ganado mucha popularidad en compara-

ción con otras estrategias de edición genética, como las nucleasas de dedos de Zinc (ZFN) o las nucleasas TALEN. Algunas de las ventajas que presenta CRISPR/Cas9 son su elevada especificidad por el ADN diana, su bajo coste, la facilidad del diseño de los ARN guía o la posibilidad de modificar el complejo ribonucleoproteico para aumentar la eficiencia y la especificidad [6], [7]. Todo esto, hace que la edición genética mediante CRISPR/Cas9 haya surgido como una herramienta para el estudio y el tratamiento del cáncer [7], [4]. El sistema de edición genética CRISPR/Cas9 está constituido por una hebra monocatenaria de ARN que indica la secuencia específica de ADN que se tiene que cortar, y la nucleasa Cas9, que provoca la rotura del ADN en un sitio específico [8].

## 3. CRISPR/CAS9 EN CÁNCER

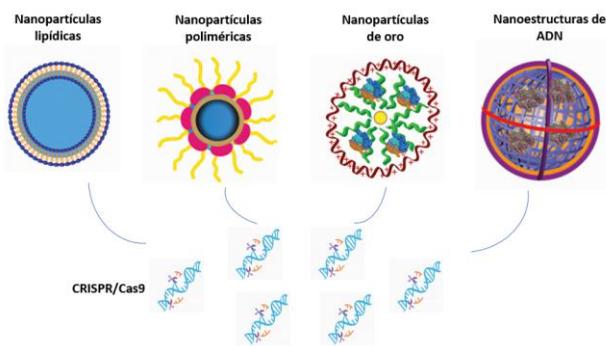
Para que el tratamiento del cáncer con CRISPR logre ser efectivo, tanto el ARN guía como Cas9 tienen que entrar a las células tumorales, e introducirse en el núcleo simultáneamente para producir la edición genética [5]. El sistema CRISPR presenta una serie de inconvenientes, como baja estabilidad in vivo [9], entrega deficiente o baja eficacia cuando se aplica en enfermedades que involucran microambientes complejos como el cáncer [10]. Por todo esto, se necesita de un sistema de entrega seguro y eficiente, que sea capaz de transportar los componentes de CRISPR a las células tumorales. Sin embargo, este sigue siendo el paso limitante en el empleo de CRISPR como terapia antitumoral [11].

Existen diferentes estrategias para la entrega de los componentes de CRISPR/Cas9, pudiendo emplear métodos físicos, como la microinyección o electroporación, vectores virales o vectores no virales. Los métodos de entrega físicos no son indicados para el tratamiento del cáncer, ya que no presentan buenos resultados in vivo [5]. Los

vectores virales tienen buenas eficiencias *in vitro* e *in vivo* y han demostrado obtener resultados terapéuticos, sin embargo, su diseño es un proceso lento y complejo, además de que pueden presentar problemas de bioseguridad [12]. Los vectores virales tienen grandes limitaciones en aplicaciones clínicas debido a las respuestas inmunogénicas, su capacidad de empaquetamiento limitada y los posibles efectos nocivos fuera del objetivo. Ante esta problemática, los vectores no virales basados en nanomateriales surgen como posibles transportadores del sistema CRISPR [13].

#### 4. NANOPARTÍCULAS PARA LA ENTREGA DE CRISPR/CAS9

Para tratar de evitar los inconvenientes de los vectores virales, se están empleando nanopartículas para el transporte de CRISPR. Entre las nanopartículas más empleadas para el transporte de CRISPR, encontramos las nanopartículas lipídicas, nanopartículas poliméricas, nanopartículas de oro y nanoestructuras de ADN (Figura 1).



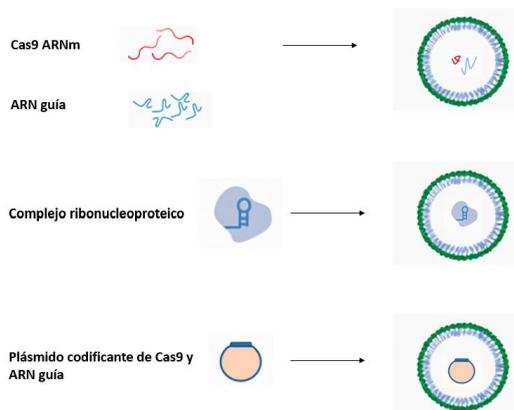
**Figura 1. Nanopartículas para la entrega del sistema CRISPR/Cas9.** El sistema CRISPR/Cas9 se puede entregar de diversas formas. Las principales nanopartículas empleadas para la entrega del sistema CRISPR/Cas9 son las nanopartículas lipídicas, nanopartículas poliméricas, nanopartículas de oro y las nanoestructuras de ADN.

##### 4.1. Nanopartículas lipídicas

Las nanopartículas lipídicas son capaces de entregar el sistema CRISPR/Cas9 con una alta eficiencia al mismo tiempo que protegen el ARNm de Cas9 y el ARN guía de las RNAsas, la degradación enzimática y las respuestas inmunológicas. Gracias a la capa lipídica, los componentes de CRISPR son capaces de atravesar la membrana celular sin problemas. Se ha observado que los complejos ribonucleoproteicos entre Cas9 y el ARN guía son altamente eficientes cuando son encapsulados en nanopartículas lipídicas, llegando a modificar un 80 % del genoma en células humanas [14]. El sistema CRISPR/Cas9 se puede encapsular de varias formas, en función de las necesidades (Figura 2): en un plásmido que codifica la proteína Cas9 y el ARN guía, en forma de ARNm de Cas9 y ARN guía o formando un complejo ribonucleoproteico entre Cas9 y el ARN guía [13]. Las nanopartículas lipídicas presentan ciertas ventajas a la hora del transporte del siste-

ma CRISPR/Cas9, como su alta biocompatibilidad y biodegradabilidad o la posibilidad de modificar la superficie de las nanopartículas para dirigir las a las células diana.

Las nanopartículas lipídicas son sistemas de transporte de ácidos nucleicos aprobados clínicamente. El punto negativo de estas nanopartículas es que tienen dificultades para la entrega de moléculas grandes como ARNm o plásmidos [15].



**Figura 2. Encapsulación de CRISPR/Cas9 en nanopartículas lipídicas.** El sistema CRISPR/Cas9 se puede entregar de diversas formas: en un plásmido que codifica la proteína Cas9 y el ARN guía, ARNm de Cas9 y ARN guía o formando un complejo ribonucleoproteico entre Cas9 y el ARN guía.

##### 4.2. Nanopartículas poliméricas

Las nanopartículas poliméricas constituyen sistemas de entrega de baja inmunogenicidad y elevada biocompatibilidad y biodegradabilidad. Existen muchos tipos de polímeros que se emplean para la entrega de material de edición génica, como polímeros de polietilimina (PEI), quitosano, poliamidoamina (PAMAM), etc. Al igual que las nanopartículas lipídicas, son capaces de proteger los componentes de CRISPR de las respuestas inmunológicas y de la degradación. Los polímeros catiónicos pueden presentar mayores niveles de toxicidad. Para evitar este problema, se suelen emplear copolímeros, como PEG, para recubrir la superficie de los polímeros catiónicos y reducir su toxicidad [14].

Una ventaja que presentan las nanopartículas poliméricas es que su composición química es más variada, por lo que se pueden diseñar estructuras más flexibles que con las nanopartículas lipídicas [16].

##### 4.3. Nanopartículas de oro

Las nanopartículas de oro se emplean para la entrega del sistema CRISPR formando el complejo ribonucleoproteico. Estas nanopartículas tienen una eficiencia de entrega de alrededor del 90 % y una eficiencia de edición genética entorno al 30 % de complejos CRISPR en múltiples líneas celulares [14]. Para introducir el complejo RNP en las nanopartículas de oro, se le añaden péptidos catiónicos modificados en la superficie y posteriormente el RNP es adsorbido por interacciones electrostáticas [16].

### 4.3. Nanoestructuras de ADN

Las nanoestructuras de ADN son un sistema de entrega novedoso que presenta ciertas ventajas como una alta capacidad de carga, biocompatibilidad y biodegradabilidad. Las nanoestructuras de ADN se usan para entregar complejos RNP de CRISPR/Cas9. Estas nanoestructuras pueden modificarse químicamente para hacer que se dirijan a receptores de membrana específicos o para mejorar aún más la estabilidad fisiológica de las nanoestructuras.

### 5. BARRERAS DE LAS NANOPARTÍCULAS COMO VECTORES DE CRISPR/CAS9

A pesar de que se han alcanzado grandes resultados en la edición genética empleando nanopartículas como vectores de CRISPR, aún existen muchas barreras que sortear para que el proceso de edición pueda ser completamente seguro y eficiente. Uno de los mayores obstáculos es la incapacidad de empaquetar todos los componentes del sistema CRISPR/Cas9 en un solo vector. El vehículo de entrega también tiene que ser capaz de atravesar las barreras extracelulares e intracelulares y proteger a CRISPR/Cas9 de las DNAsas, RNAsas, proteasas, reconocimiento por células del sistema inmune, activación de citoquinas, etc.

### 6. CONCLUSIONES

El sistema CRISPR/Cas9 supone una estrategia revolucionaria de edición genética con un potencial tremendo para la aplicación terapéutica en enfermedades con alteraciones genéticas como el cáncer. CRISPR/Cas9 presenta ciertas ventajas en comparación con otras estrategias de edición genética, como una mayor eficiencia y estabilidad. Sin embargo, este sistema también tiene inconvenientes. Entre los principales problemas del complejo CRISPR/Cas9, destaca su baja estabilidad in vivo y la degradación de sus componentes por las RNAsas.

En este contexto, la nanotecnología permite el diseño de nanoformulaciones para el transporte y la entrega de CRISPR/Cas9 para la edición del genoma de las células tumorales. Gracias a estas nanoformulaciones, la entrega de CRISPR en el núcleo de las células y la eficiencia de la edición genética han aumentado considerablemente. Estas nanoformulaciones entregan el sistema complejo CRISPR/Cas9 de manera más eficiente al mismo tiempo que lo protegen de la degradación por RNAsas. Sin embargo, aún existen limitaciones para la entrega segura de estas nanoformulaciones, como la capacidad de carga, que es uno de los mayores limitadores.

A pesar de que aún queda mucho trabajo e investigación por delante, los vectores no virales como las nanopartículas tienen un gran potencial como vehículos de entrega de CRISPR/Cas9 en el tratamiento del cáncer gracias a su baja inmunogenicidad y su elevada biocompatibilidad.

### REFERENCIAS

[1] «Cáncer». Accedido: 21 de junio de 2024.

- <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- [2] D. Hanahan y R. A. Weinberg, «The Hallmarks of Cancer», *Cell*, vol. 100, n.o 1, pp. 57-70, ene. 2000, doi: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
- [3] D. Hanahan y R. A. Weinberg, «Hallmarks of Cancer: The Next Generation», *Cell*, vol. 144, n.o 5, pp. 646-674, mar. 2011, doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [4] K. S. Allemailem et al., «Recent Advances in Genome-Editing Technology with CRISPR/Cas9 Variants and Stimuli-Responsive Targeting Approaches within Tumor Cells: A Future Perspective of Cancer Management», *IJMS*, vol. 24, n.o 8, p. 7052, abr. 2023, doi: 10.3390/ijms24087052.
- [5] X. Xu et al., «Nanotechnology-based delivery of CRISPR/Cas9 for cancer treatment», *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 176, p. 113891, sep. 2021, doi: 10.1016/j.addr.2021.113891.
- [6] N. G. González Castro, J. Bjelic, G. Malhotra, C. Huang, y S. H. Alsaffar, «Comparison of the Feasibility, Efficiency, and Safety of Genome Editing Technologies», *IJMS*, vol. 22, n.o 19, p. 10355, sep. 2021, doi: 10.3390/ijms221910355.
- [7] G. Sharma, A. R. Sharma, M. Bhattacharya, S.-S. Lee, y C. Chakraborty, «CRISPR-Cas9: A Preclinical and Clinical Perspective for the Treatment of Human Diseases», *Molecular Therapy*, vol. 29, n.o 2, pp. 571-586, feb. 2021, doi: 10.1016/j.ymthe.2020.09.028.
- [8] Y. Rui, M. Varanasi, S. Mendes, H. M. Yamagata, D. R. Wilson, y J. J. Green, «Poly(Beta-Amino Ester) Nanoparticles Enable Nonviral Delivery of CRISPR-Cas9 Plasmids for Gene Knockout and Gene Deletion», *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, vol. 20, pp. 661-672, jun. 2020, doi: 10.1016/j.omtn.2020.04.005.
- [9] W. Ruan et al., «Brain-targeted CRISPR/Cas9 nanomedicine for effective glioblastoma therapy», *Journal of Controlled Release*, vol. 351, pp. 739-751, nov. 2022, doi: 10.1016/j.jconrel.2022.09.046.
- [10] M. J. Beha et al., «Bioorthogonal CRISPR/Cas9-Drug Conjugate: A Combinatorial Nanomedicine Platform», *Advanced Science*, vol. 10, n.o 27, p. 2302253, sep. 2023, doi: 10.1002/advs.202302253.
- [11] S. Abbasi et al., «Co-encapsulation of Cas9 mRNA and guide RNA in polyplex micelles enables genome editing in mouse brain», *Journal of Controlled Release*, vol. 332, pp. 260-268, abr. 2021, doi: 10.1016/j.jconrel.2021.02.026.
- [12] X. Li, Q. Feng, Z. Han, y X. Jiang, «Enhancing gene editing efficiency for cells by CRISPR/Cas9 system-loaded multilayered nanoparticles assembled via microfluidics», *Chinese Journal of Chemical Engineering*, vol. 38, pp. 216-220, oct. 2021, doi: 10.1016/j.cjche.2021.02.009.
- [13] F. Wan, M. S. Draz, M. Gu, W. Yu, Z. Ruan, y Q. Luo, «Novel Strategy to Combat Antibiotic Resistance: A Sight into the Combination of CRISPR/Cas9 and Nanoparticles», *Pharmaceutics*, vol. 13, n.o 3, p. 352, mar. 2021, doi: 10.3390/pharmaceutics13030352.
- [14] F. Chen, M. Alphonse, y Q. Liu, «Strategies for nonviral nanoparticle-based delivery of CRISPR/Cas9 therapeutics», *WIREs Nanomed Nanobiotechnol*, vol. 12, n.o 3, p. e1609, may 2020, doi: 10.1002/wnan.1609.
- [15] D. Rosenblum et al., «CRISPR-Cas9 genome editing using targeted lipid nanoparticles for cancer therapy», *Sci. Adv.*, vol. 6, n.o 47, p. eabc9450, nov. 2020, doi: 10.1126/sciadv.abc9450.
- [16] L. Duan et al., «Nanoparticle Delivery of CRISPR/Cas9 for Genome Editing», *Front. Genet.*, vol. 12, p. 673286, may 2021, doi: 10.3389/fgene.2021.673286.



**José Francisco Casquero Blanco** nacido en Badajoz. Obtuvo la titulación de Biología (2023) por la Universidad de Extremadura (UEX). Actualmente, está cursando el primer curso del Máster de Biología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide (UPO).

# Why so spicy...

Ramón Alarcón Márquez

**Abstract**— Capsaicin is an organic molecule present in all plants from the Capsicum family as well as in many spicy foods. In this article, I will be looking at this molecule and some of its analogs, explaining the reason behind the classical burning sensation it causes as well as other data. Furthermore, not only will I present some beneficial and harmful health outcomes such as cancer or metabolism regulation but also talk about some possible and already existing clinical uses of this ambivalent molecule.

**Key words**— Capsaicin, Metabolism, Obesity, Pungency, Spicy.

## 1. INTRODUCTION

Spicy food is popular among countries such as Mexico, Thailand, India... Although it might not be enjoyed by everyone, that doesn't make it less interesting to study.

In this article, I will be looking at the characteristics of the molecule that causes this sensation and talk about the different types of spiciness and how they are classified. Furthermore, I will include some benefits of consuming these types of food as well as some health issues it can cause and, lastly, I will expound how these outcomes can be transferred to the clinical area showing its potential.

## 2. BURNING SENSATION

### 2.1. Capsaicin and VR1 receptor

The main responsible for the pain caused by spicy food is called capsaicin, an organic compound produced by the seeds of the plants from the Capsicum family as a defense mechanism [1].

Capsaicin is a non-polar molecule in which groups such as phenol, amide and alkoxy can be observed (Fig. 1 [2]). Therefore, to purify and maintain this molecule, non-polar solvents are required such as benzene, or ether. Ethanol would also be an option due to its ability to dissolve non-polar molecules to a certain extent [3].

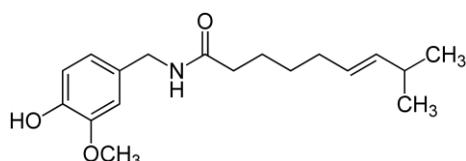


Fig. 1. Capsaicin molecule

Capsaicin's main target are pain receptors called TRPV1 or VR1 (vanilloid receptor). The human tongue has millions of these on its surface as well as those that detect each of the 5 flavours: sweet, sour, bitter, salty and

umami/savouriness [1], [3].

VR1 is a ligand-gated, non-selective ion channel expressed mainly by sensory neurons. It has a high affinity for calcium and sodium, and it responds to harmful stimuli such as capsaicin and its by-products (capsaicinoids), heat and extracellular acidification [3].

VR1 agonists change the channel size, enabling a calcium rush and other ions into the receptor. This causes the release of the neurotransmitter, sending the signal to the brain and coming back as that familiar burning sensation. However, unlike real burning, it leaves no physical damage [1], [4].

### 2.2. How to stop the heat

Although it is commonly said that milk is ideal to get rid of the pain, few people know the chemistry behind it.

To stop the heat, you must dissolve capsaicin. However, capsaicin is actually a hydrophobic molecule. Taking this into account, a cup of water will only spread it more making it worse, whereas a cup of milk, an oily substance, or anything with fat content will dissolve the molecule releasing the pain. Carbohydrates also seem to be useful in diminishing the pain [1].

### 2.3. Scoville scale

We can measure the pungency intensity with the scoville scale (Fig. 2 [5]). This scale is based on a test which consists in diluting a solution containing an extract of the chilli pepper (capsaicinoids) or other spicy substances in sugared water until the pungency can no longer be detected by the taster. Therefore, 300,000 Scoville units would mean that the extract was diluted 300,000 times until the capsaicin was undetectable [5].

However, the pungency of a chilli pepper can vary depending on factors such as the crops condition, maturation, pepper variety...

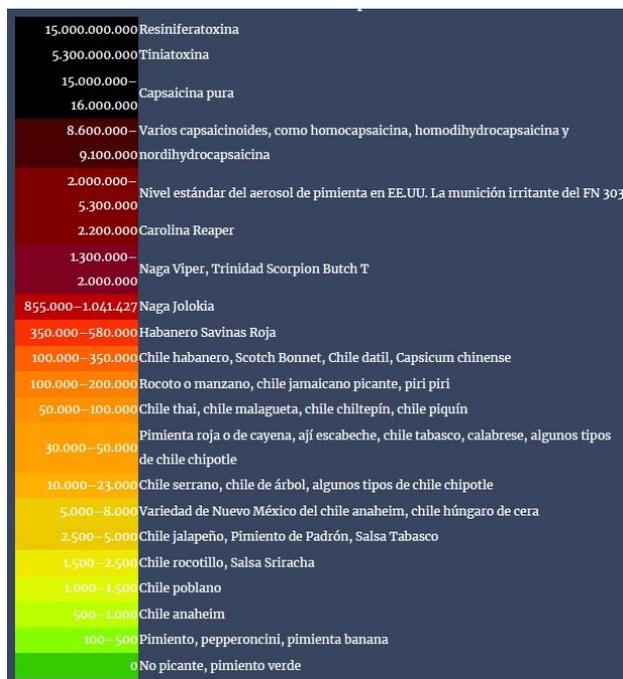


Fig. 2. Chilli extracts and organic molecules on the Scoville scale

## 2.4. Resiniferatoxin (RTX)

Resiniferatoxin, a functional capsaicin analog, is the most potent agonist known to VR1 with an astonishing 15,000,000,000 units on the Scoville scale (Fig. 3) [6].

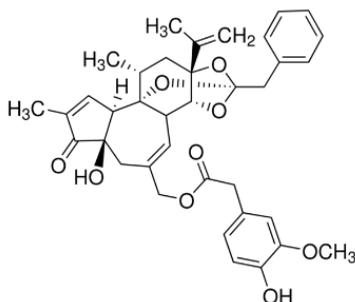


Fig. 3. Resiniferatoxin molecule

It is a natural product found in *Euphorbia resinifera*, a cactus commonly found in Morocco, and in *Euphorbia poissonii* found in northern Nigeria [6].

Needless to say, RTX can be toxic being able to cause chemical burns in minute quantities. In addition, VR1 stimulation by RTX is followed by analgesia and desensitization due to nerve ending death by calcium overload [6].

As an interesting data, RTX was thought to treat illnesses such as overreactive bladder, interstitial cystitis, rhinitis and premature ejaculation due to its nerve desensitizing properties. However, it has never received FDA (Food and Drug Administration) approval [6].

## 3. HEALTH OUTCOMES

Chilli peppers have been valued as a food crop, seasoning ingredient, natural dyestuff, and traditional herbal medicine [7]. With respect to the latter one, they contain a wide variety of phytochemical compounds such as capsaicin, dihydrocapsaicin, phenolic compounds and antioxidants with many therapeutic uses. Despite this, it is not clear whether spicy foods have an overall positive or negative effect on health outcomes. What is undeniable is that we can find outcomes in many areas (Fig. 4) [7].

MAP OF OUTCOMES RELATED SPICY FOOD AND CHILLI PEPPERS CONSUMPTION.

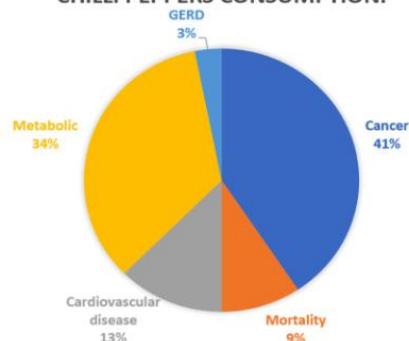


Fig. 4. Map of outcomes regarding spicy food and chili peppers consumption.

### 3.1. Cancer

It is controversial whether capsaicin consumption is completely safe: some studies talk about its positive effects as a cancer preventive agent and its chemopreventive and chemotherapeutic properties, whereas some studies label it as a carcinogen and a tumour promoter [8].

Several studies have proven that spicy food intake is related to a higher risk of cancers such as esophageal, gallbladder... For instance, it was concluded that a moderately-high pepper consumption of pepper in India was linked to gastric cancer [7].

However, this data is not always consistent. For example, some studies show no correlation between digestive cancer and spicy food intake. Furthermore, some studies with mice have resulted in neoplastic changes in the liver after a 10% chilli content diet, but no effect if they were fed a diet with a 0.25% capsaicinoid content [8].

### 3.2. Metabolism and obesity

Regarding capsaicin's metabolic outcomes I will mainly focus on lipid and energy metabolism here [9].

It has been demonstrated that capsaicin affects energy metabolism by altering fatty acid and sugar metabolism. It even regulates lipid metabolism not only by stimulating fat oxidation, but also by inhibiting adipogenesis as it inhibits fatty acid synthetase activity [9].

These metabolic pathways are regulated by activating transcription factors and kinase signalling pathways gov-

ing as a result, for example, the enhancement of the mitochondrial electron transport chain. All this promotes calorie expenditure and fat oxidation, helping in reducing weight and preventing obesity diseases [9].

Furthermore, a study was carried out in which several obese young women were subjected to a 500 Kcal restriction diet while taking a certain capsaicin dose. It concluded that capsaicin was able to reduce the anti-inflammatory effect of certain mediators characteristic of reduced caloric intake. In addition, it was found that it could alter the appetite perception, energy expenditure/intake and weight and fat distribution [9].

On the other hand, about sugar metabolism, it is able to induce insulin secretion, sugar use and inhibit glucose absorption. These outcomes help maintain blood sugar balance and prevent the development of some metabolic diseases such as diabetes [9].

### 3.3. Other outcomes

*“The following outcomes had a direct correlation with spicy-food and capsicum intake: esophageal cancer, gastric cancer, or gallbladder cancer. However, there was a negative correlation between the intake of spicy food and capsicum and blood pressure, energy expenditure, respiratory quotient, obesity, all-cause mortality, cardiovascular mortality, or cerebrovascular accident deaths”* [7].

Interestingly, it seems that chilli pepper consumption can reduce all-cause mortality up to 12%. An explanation could be that it may take part in improving systolic and diastolic blood pressure [7].

Additionally, capsaicin can induce different phenotypes of gastrointestinal reflux disease (GERD). This was seen in a study in which 35% of the healthy volunteers and 90% of those who already had GERD presented esophageal symptoms after capsaicin perfusion [10].

## 4. CLINICAL USES

### 4.1. Cancer

Although it is true that many studies agree on capsaicin's carcinogen activity, other studies suggest quite the opposite. These differences might be due to methodological deficiencies, different doses, lack of patients... For example, chemoprevention is a treatment that involves using certain drugs or chemicals to prevent cancerous tumour development before they can fully form and invade surrounding tissues. Capsaicin has shown properties that make it a possible chemopreventive agent [11].

Capsaicin treatment suppressed DNA binding of benzo (a) pyrene (carcinogen), inhibiting lung carcinogenesis in mice. It also showed protective effects against other chemical carcinogens (mostly hydrocarbons). This role has been associated to its ability to modulate CYP en-

zymes, as they metabolize them generating highly reactive genotoxic products that lead to cancer [11].

Additionally, TRPV1 activation by capsaicin has proven to be plausible as a treatment for many illnesses such as autoimmune diseases, inflammation and cancer. Moreover, capsaicin has been able to delay tumour progression, limit or partially inhibit metastasis and even improve survival rates. Not only that, but it even promotes the activation of tumour suppressive pathways and related transcription factors as well as cell growth arrest, all this while inhibiting tumour promoters. Finally, according to studies carried out on mice with pancreatic cancer and colorectal cancer, capsaicin inhibits the development of cancer cells *in vivo* by acting on cancer-related genes and signaling pathways. [7], [8].

Another way in which capsaicin can fight cancer is by directly inducing cell death via apoptosis in prostate, pancreatic, breast and skin cancer among others. This is done primarily via TRPV1 receptors which, after being activated by capsaicin, trigger apoptosis via p38 signaling pathway. Surprisingly, it has also been reported to induce apoptosis in human nasopharyngeal carcinoma cells by increasing the autophagy rate. This is done by blocking Pi3/Akt/mTOR signalling pathway, increasing autophagic markers [11].

Finally, it can carry out really basic cancer-preventive functions as well: it can act as a free radical scavenger and upregulate the expression of antioxidant enzymes. Capsaicin can as well act as an anti-inflammatory agent by inhibiting IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  production by increasing liver X receptor- $\alpha$  expression through peroxisome proliferator-activated receptor-gamma pathway. This is useful to prevent chronic inflammation, as it can cause damage to the DNA structure resulting in cancer [11].

### 4.2. Weight loss

Capsaicin seems to have the potential to become an anti-obesity agent due to its numerous related functions.

First of all, activation of VR1 channels by capsaicin prevents adipogenesis and induces apoptosis in preadipocytes. It was also able to reduce metabolic dysregulation, a cluster of symptoms which suppose a risk factor for cardiovascular and overall metabolic health, in obese and diabetic mice by increasing adiponectin (a hormone that plays an important role in regulating energy homeostasis and insulin sensitivity) and its receptor expression [12], [13], [14].

*“The effects of capsaicin in adipose tissue and liver are related to its dual action on peroxisome proliferator-activated receptor alpha and transient receptor potential vanilloid-1 expression/activation”* [12].

In addition, consumption of food containing capsaicin is associated with lower obesity prevalence as oral and

gastrointestinal capsaicin exposure increase satiety and reduce energy and fat intake [12].

It was also proven that capsaicin can work as a supplement for obese or hyperlipidemic people if ingested 1h before low intensity exercise as it prompts lipolysis [12].

### 4.3. Muscle and joint pain

A really simple but effective option for muscle and joint pain would be a capsaicin cream or patch. After applying on the skin, they cause a warm tingling or mild burning sensation. This is because they are binding to VRP1 receptors, preventing substance P, a body chemical which would trigger the pain signal to the brain, from binding instead [15].

In my opinion, this treatment consists in gradually or temporarily desensitizing this receptor, avoiding the pain sensation. Furthermore, regarding capsaicin's concentration, creams of different strengths can be found ranging from 0.025% - 8%, but for this reason some precautions must be taken [15]:

- If the burning sensation is too intense, lower the strength.
- Avoid application before a shower or workout as it can intensify the burning sensation.
- Don't apply the cream on areas with cuts, infections or rashes.
- Handwash after applying to avoid contact with the eyes and other delicate areas.

The amount of relief obtained will vary on the person, but it still is a good alternative for oral medications which can cause stomach/intestinal problems [15].

## 5. CONCLUSIONS

Despite existing a wide number of articles providing information for this topic, no consensus has been reached about whether the consumption of spicy food is healthy. The only thing we can conclude from this is that, as everything, capsaicin is not a substance that should be abused of. However, it is true that including a moderate dose into our diets could have some beneficial effects.

The only aspect I would consider a limitation here is that there does not seem to exist much knowledge about the specific mechanism through which capsaicin interacts with VR1 receptor.

### APPRECIATIONS

The authors would like to thank Ana Paula for providing some information related to maintenance of pure capsaicin.

**References**[1] F. Republic, «What makes food spicy?», Food Republic. Accedido: 23 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: [https://www.foodrepublic.com/2011/05/11/what-](https://www.foodrepublic.com/2011/05/11/what-makes-food-spicy/)

- [makes-food-spicy/](https://www.foodrepublic.com/2011/05/11/what-makes-food-spicy/)
- [2] J. Martens, *Deutsch: Strukturformel von Capsaicin*. 2008. Accedido: 27 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Capsaicin\\_Formulae.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Capsaicin_Formulae.png)
- [3] J. B. Davis *et al.*, «Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia», *Nature*, vol. 405, n.º 6783, pp. 183-187, may 2000, doi: 10.1038/35012076.
- [4] V. Fattori, M. S. N. Hohmann, A. C. Rossaneis, F. A. Pinho-Ribeiro, y W. A. Verri, «Capsaicin: Current Understanding of Its Mechanisms and Therapy of Pain and Other Pre-Clinical and Clinical Uses», *Molecules*, vol. 21, n.º 7, p. 844, jun. 2016, doi: 10.3390/molecules21070844.
- [5] «Picantes del Mundo: Tipos, Categorías, Unidades Scoville y Usos Culinarios-Mi pequeña Colección.» Accedido: 26 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: <http://www.sergiorecetas.com/2016/03/picantes-del-mundo.html>
- [6] «Resiniferatoxin», *Wikipedia*. 26 de abril de 2024. Accedido: 26 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Resiniferatoxin&oldid=1220876496>
- [7] Z. Ao, Z. Huang, y H. Liu, «Spicy Food and Chili Peppers and Multiple Health Outcomes: Umbrella Review», *Mol. Nutr. Food Res.*, vol. 66, n.º 23, p. 2200167, 2022, doi: 10.1002/mnfr.202200167.
- [8] Y.-H. Chen *et al.*, «High Spicy Food Intake and Risk of Cancer: A Meta-analysis of Case-control Studies», *Chin. Med. J. (Engl.)*, vol. 130, n.º 18, p. 2241, sep. 2017, doi: 10.4103/0366-6999.213968.
- [9] Z. Peng *et al.*, «Recent advances in analysis of capsaicin and its effects on metabolic pathways by mass spectrometry», *Front. Nutr.*, vol. 10, p. 1227517, jul. 2023, doi: 10.3389/fnut.2023.1227517.
- [10] J. A. Herrera-López, M. A. Mejía-Rivas, F. Vargas-Vorackova, y M. A. Valdovinos-Díaz, «Capsaicin induction of esophageal symptoms in different phenotypes of gastroesophageal reflux disease», *Rev. Gastroenterol. Mex.*, vol. 75, n.º 4, pp. 396-404, 2010.
- [11] T. L. Adetunji, F. Olawale, C. Olisah, A. E. Adetunji, y A. O. Aremu, «Capsaicin: A Two-Decade Systematic Review of Global Research Output and Recent Advances Against Human Cancer», *Front. Oncol.*, vol. 12, jul. 2022, doi: 10.3389/fonc.2022.908487.
- [12] F. W. Leung, «Capsaicin as an Anti-Obesity Drug», en *Capsaicin as a Therapeutic Molecule*, O. M. E. Abdel-Salam, Ed., Basel: Springer, 2014, pp. 171-179. doi: 10.1007/978-3-0348-0828-6\_7.
- [13] «BANT\_FFYH\_WHAT\_IS\_METABOLIC\_DYSREGULATION.pdf». Accedido: 27 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: [https://nutritiondynamics.co.uk/wp-content/uploads/2021/03/BANT\\_FFYH\\_WHAT\\_IS\\_METABOLIC\\_DYSREGULATION.pdf](https://nutritiondynamics.co.uk/wp-content/uploads/2021/03/BANT_FFYH_WHAT_IS_METABOLIC_DYSREGULATION.pdf)
- [14] «Adiponectin/Acrp30 Protein, Mouse (144a.a) from supplier medchemexpress.com», *MedchemExpress.com*. Accedido: 27 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: <https://www.medchemexpress.com/recombinant->

proteins/adiponectin-acrp30-protein-mouse-144a-a.html

- [15] «Can Capsaicin Cream Help Joint Pain?», Hospital for Special Surgery. Accedido: 27 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: [https://www.hss.edu/article\\_capsaicin\\_cream.asp](https://www.hss.edu/article_capsaicin_cream.asp)



**Ramón Alarcón Márquez** is a 1st year biotechnology student at the Faculty of Experimental Sciences, at the university Pablo de Olavide.

# Modelos *in silico* y nanotecnología: la clave contra el cáncer

Gabriel Santos-Díaz , María Tripodi-Vera

**Resumen**—La nanotecnología surge como alternativa prometedora a las terapias anticancerígenas convencionales, tanto por las propiedades que presentan los nanomateriales como por la posibilidad de desarrollar sistemas de administración de fármacos de forma directa. Los modelos de simulación computacionales o *in silico* facilitan este procedimiento al permitir el análisis de los nanomateriales según sus propiedades respecto al fármaco de interés antes de proceder a la fase experimental.

**Palabras Claves**— Modelos computacionales, dinámica molecular, nanoinformática, nanomateriales *in silico* para cáncer.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las terapias convencionales contra el cáncer permiten controlar la progresión de la enfermedad y reducir el tamaño del tumor. Sin embargo, los efectos adversos de las mismas pueden resultar contraproducentes, ya que también dañan tejidos sanos, deteriorando así el estado de salud del paciente. La principal causa de esto es la falta de una forma de administración del tratamiento que sea directa y específica contra las células cancerígenas, lo cual podría ser contrarrestado con la nanotecnología [1, 2].

Además de sus características fisicoquímicas, baja toxicidad y mejor farmacocinética, el interés en usar nanopartículas en biomedicina se basa en su facilidad para llegar a tipos celulares concretos y por la alta permeabilidad y efecto de retención de los tumores [2, 3]. Así, la posibilidad de desarrollar sistemas de administración de fármacos a nanoescala surge como una terapia prometedora sin los efectos adversos de los tratamientos tradicionales [2].

Para que esto sea posible, se necesitan conocimientos previos sobre el comportamiento *in vivo* de los diferentes nanomateriales y el diseño de nanoformulados mediante screening y análisis de variables biológicas que resultaría excesivamente laborioso experimentalmente [4]. Sin embargo, la informática ha hecho esto posible mediante el desarrollo de modelos computacionales. Estos modelos *in silico* permiten simular, clasificar y predecir el comportamiento de nanomateriales de interés en presencia de componentes biológicos en la fase inicial de la investigación, facilitando su estudio y aplicación en biomedicina [4, 5].

## 2. MODELOS *IN SILICO*

### 2.1. Nanomateriales unidimensionales

Se han considerado los nanocompuestos de grafeno, las estructuras de nanohojas como el óxido de grafeno (GO), el carburo de boro y los nitruros de boro debido a su bajo

coste, gran superficie y funcionalidades que pueden favorecer la interacción electrostática, solubilidad en agua y los puentes de hidrógeno. La química de superficie, la alta pureza, la biocompatibilidad y la dispersabilidad de estos materiales pueden mejorarse aún más mediante la ingeniería de superficie utilizando materiales poliméricos y otros materiales activos a nanoescala [6-8].

Para los nanomateriales unidimensionales se han usado las simulaciones de dinámica molecular (MD) con modelos explícitos de disolvente, como el agua, que proporcionan una descripción más detallada de las interacciones disolvente-soluto y pueden captar el comportamiento dinámico del disolvente. Estos modelos son especialmente valiosos para estudiar los cambios conformacionales impulsados por los disolventes y los efectos de la solvatación en las vías de reacción [9-12].

Se han estudiado las interacciones entre nucleobases y grupos amino residuales con láminas de óxido de grafeno, y se ha descubierto que la estabilización entre estas entidades se debe a la interacción de apilamiento  $\pi - \pi$  de los materiales 1D [13,14]. También se ha demostrado que las interacciones de las partes del fármaco son más fuertes (en comparación con las láminas de grafeno prístinas) cuando los materiales de las nanohojas se funcionalizan con moléculas poliméricas como el polietilenglicol (PEG), GO - PEG, GO - Chitosan y otras formulaciones similares de portadores de fármacos desarrolladas hasta ahora (Fig. 1).

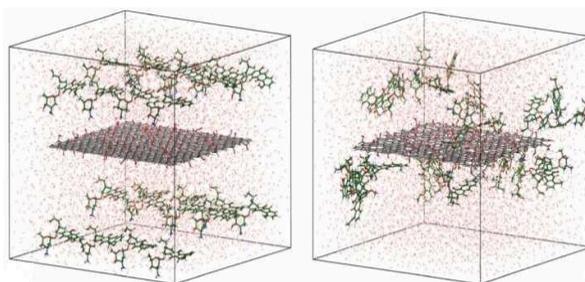


Fig. 1. Simulación de una nanohoja con moléculas poliméricas en un disolvente acuoso [1].

## 2.2. Nanomateriales bidimensionales

Las estructuras lineales como nanorods, nanocables y nanotubos con diámetros comprendidos entre 1 y 100 nm se clasifican como nanomateriales bidimensionales. Los nanotubos de carbono (CNT) han ganado mucha atención como plataformas portadoras de fármacos, ya que su gran volumen favorece la encapsulación espontánea y la captación celular sin desencadenar respuestas inmunogénicas [13-15].

Además de los nanotubos de carbono, recientemente se han sintetizado nanotubos de nitruro de boro (BNNT), que presentan ventajas adicionales como una mayor inercia química y grandes valores de banda prohibida (~ 5,5 eV) debido al carácter parcialmente iónico del enlace B-N. Las interacciones a nivel molecular entre los vectores (CNTs / BNNTs) y las moléculas del fármaco se estudian mediante cálculos con la teoría del funcional de la densidad (DFT). La DFT calcula la energía de un sistema minimizando la energía electrónica total, sujeta a la variación de la densidad electrónica [16,17].

Las estructuras del fármaco y del huésped se optimizan mediante cálculos cuánticos *ab initio* utilizando el paquete de química cuántica Gaussiana, por ejemplo, con el funcional B3LYP y el conjunto de bases 6 - 31 (d, p). La naturaleza de las interacciones se analiza utilizando la Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas (QTAIM) implementada en el software AIMAll. Los cálculos QTAIM proporcionan información sobre los puntos críticos de enlace (BCP), incluyendo la densidad de energía, la energía potencial y el puente de hidrógeno, que se determinan utilizando expresiones de mecánica cuántica [1,18]. Algunos estudios computacionales que se han realizado con esta aproximación son:

- ❖ Encapsulación de moléculas de ifosfamida (IFO) altamente polares en una matriz de nanotubos de carbono (CNTs) no polares (Fig. 2) [18].
- ❖ Captación de carmustina (BCNU), en nanotubos de nitruro de boro (BNNTs) funcionalizados con hidroxilo como nano vector [19].
- ❖ La capacidad de almacenamiento de los CNTs encapsulando el fármaco cisplatino [20].
- ❖ Modelos de mecánica cuántica para investigar la carga del ácido 5-aminolevulínico (ALA), un fármaco común contra el cáncer, en CNTs carboxi-funcionalizados y nanopartículas de óxido de hierro (IONs) [21].

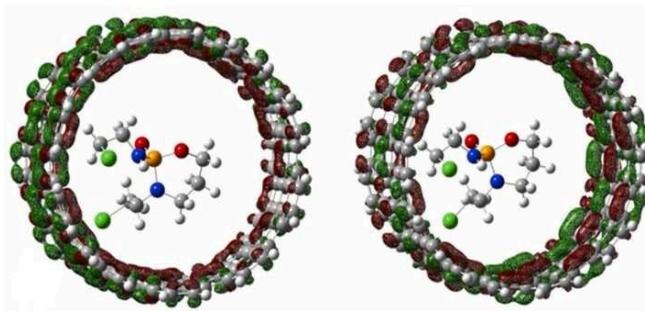


Fig. 2. Simulación de un nanotubo de carbono (CNT) conteniendo una molécula farmacológica [1,18].

## 2.3. Nanomateriales tridimensionales

Las estructuras metal-orgánicas (MOFs) se consideran plataformas alternativas prometedoras de transporte de fármacos a nanoescala debido a sus propiedades únicas, como las relaciones interfaciales huésped-huésped, la biocompatibilidad, la estabilidad química, las propiedades superficiales sintonizables y el orden de porosidad en función de las moléculas de fármaco huésped [22].

Las MOFs han sido ampliamente estudiadas para la administración de fármacos anticancerígenos; sin embargo, el papel de las interacciones a nivel molecular entre el fármaco y las matrices huésped sigue siendo menos explorado y comprendido [23]. La capacidad de las MOFs para actuar como transportadores de fármacos es muy adecuada para la investigación con métodos computacionales. Los estudios computacionales pueden proporcionar una visión profunda de la relación entre parámetros clave como la distancia proximal entre las moléculas huésped y en el espacio operacional, el movimiento real de las moléculas del fármaco bajo la influencia de estructuras porosas geométricas estáticas y las mejoras en la captación de fármacos debidas a la funcionalización variable de la superficie [24,25]. Investigaciones recientes han demostrado que simulaciones de Monte Carlo (GCMC), junto con simulaciones MD, podrían predecir fácilmente las capacidades de carga de fármacos de las MOFs y los coeficientes de difusión para la liberación sostenida de fármacos (Fig. 3).

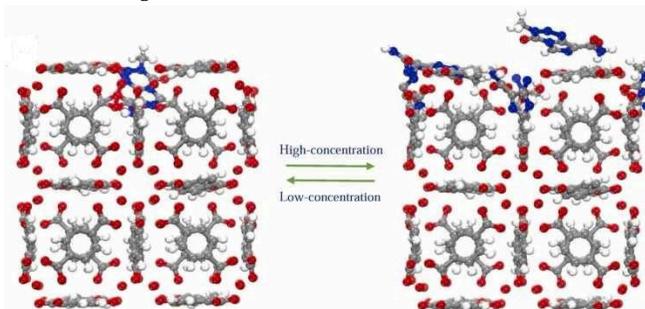


Fig. 3. Simulación de MOFs interaccionando con una molécula farmacológica [1].

### 3. APLICACIONES EN CÁNCER

Una aplicación de modelos *in silico* con nanomateriales bidimensionales ha sido el mencionado anteriormente modelo de mecánica cuántica para estudiar la carga del ALA en CNTs carboxi- funcionalizados en IONs. Mediante metodologías DFT para la optimización de la estructura y cálculos de energía, fue posible predecir la capacidad de administración a través de la membrana celular de los CNTs junto con el robusto complejo que este formaría con el ALA. Sin embargo, solo algunas configuraciones eran significativamente estables, por lo que es necesario determinar una conformación del complejo CNT-ALA que facilite su administración en cualquier orientación, para lo que se requeriría realizar múltiples simulaciones con diversos modelos que permitan su optimización sin comprometer las condiciones experimentales que se están llevando a cabo [21].

Respecto a nanomateriales tridimensionales, es posible realizar investigaciones computacionales y simulaciones que han permitido seleccionar entre diferentes MOFs la más eficiente como carrier según su capacidad de adsorción de la droga de interés según diferentes características o variables. Así, se pudo seleccionar entre matrices porosas de MOF-72, la forma isorreticular óptima para la carga y liberación prolongada de metotrexato (MTX) y 5-fluorouracilo (5-UF) [26]. También se determinó cómo la eficiencia de absorción de 5-UF de MOFs (Mut-2/MOF-123) fusionado con  $Zn^{2+}$  funcionalizado con grupos  $NO_2^-$  varía según las magnitudes de presión y cómo aumentan gradualmente las fuerzas de interacción entre las moléculas de droga y ambas MOFs en la fase tardía de la saturación [27]. De forma similar, entre las MOFs basadas en cobalto MUT-6 y MUT-7, designaron a esta última como mejor candidata para la carga máxima de quercetina, un tipo de flavonoide con propiedades terapéuticas, en valores bajos de fugacidad por sus características [28].

Aunque estos modelos proporcionan una valiosa perspectiva sobre las interacciones moleculares, es necesario desarrollar sistemas más precisos para estructuras cristalinas complejas de MOFs con centros metálicos y uniones orgánicas que requieren de muchos átomos para un alineamiento apropiado, predicciones de carga y liberación de fármacos en MOFs grandes, además de cómo se ven influenciada la estructura del MOF según el efecto del solvente [29].

### 4. CONCLUSIONES

Los modelos *in silico* para el análisis de nanomateriales en la administración de fármacos permiten obtener una gran cantidad de información a nivel molecular en poco tiempo. Su aplicación junto con validaciones experimentales podría acelerar enormemente el futuro desarrollo de terapias anticancerígenas basadas en nanotecnología.

En un futuro se espera poder desarrollar modelos con sistemas multiescala que permitan comprender la influencia del microambiente tumoral en la liberación del fármaco y cómo se puede ver influenciado por factores biológicos, tales como el sistema vascular.

### REFERENCIAS

- [1] Shukla S, Jakowski J, Kadian S, Narayan RJ. Computational approaches to delivery of anticancer drugs with multidimensional nanomaterials. *Comput Struct Biotechnol J*. 2023;16: 21:4149-4158
- [2] Liu J, Li M, Luo Z, et al. Design of nanocarriers based on complex biological barriers *in vivo* for tumor therapy. *Nano Today*. 2017;15:56-90.
- [3] Kaddi CD, Phan JH, Wang MD. Computational nanomedicine: modeling of nanoparticle-mediated hyperthermal cancer therapy. *Nanomedicine (Lond)*. 2013;8(8):1323-1333.
- [4] Verma SK, Nandi A, Simnani FZ, Singh D, Sinha A, Naser SS, Sahoo J, Lenka SS, Panda PK, Dutt A, Kaushik NK, Singh D, Suar M. *In silico* nanotoxicology: The Computational Biology State of Art for Nanomaterial Safety Assessments. *Materials Design*. 2023;235:112452.
- [5] Mancardi G, Mikolajczyk A, Annapoorani VK, Bahl A, Blekos K, Burk J, Chiavazzo E. A computational view on nanomaterial intrinsic and extrinsic features for nanosafety and Sustainability. *Materials Today*, 2023;67, 344-370.
- [6] Pandey PC, Shukla S, Narayan RJ. Organotrialkoxysilane-functionalized Prussian Blue nanoparticles-mediated fluorescence sensing of arsenic (III). *Nanomaterials* 2021;11(5):1145.
- [7] Pandey PC, Mitra MD, Shukla S, Narayan RJ. Organotrialkoxysilane-functionalized noble metal monometallic, bimetallic, and trimetallic nanoparticle mediated nonenzymatic sensing of glucose by resonance rayleigh scattering. *Biosensors* 2021;11 (4):122.
- [8] Pandey PC, Shukla S. Solvent dependent fabrication of bifunctional nanoparticles and nanostructured thin films by self-assembly of organosilanes. *JSSST* 2018;86: 650-63.
- [9] Tomasi J, Mennucci B, Cammi R. Quantum mechanical continuum solvation models. *Chem Rev* 2005;105(8):2999-3094.
- [10] Zhang J, Zhang H, Wu T, Wang Q, van der Spoel D. Comparison of implicit and explicit solvent models for the calculation of solvation free energy in organic solvents. *J Chem Theory Comput* 2017;13(3):1034-43.
- [11] Marenich AV, Olson RM, Kelly CP, Cramer CJ, Truhlar DG. Self-consistent reaction field model for aqueous and nonaqueous solutions based on accurate polarized partial charges. *J Chem Theory Comput* 2007;3(6):2011-33.
- [12] Pliego Jr JR, Riveros JM. Hybrid discrete-continuum solvation methods. *Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci* 2020;10(2):e1440.
- [13] Kadian S, Manik G, Das N, Nehra P, Chauhan RP, Roy P. Synthesis, characterization and investigation of synergistic antibacterial activity and cell viability of silver-sulfur doped graphene quantum dot (Ag@S-GQDs) nanocomposites. *J Mater Chem B* 2020;8(15):3028-37.
- [14] Kadian S, Manik G. Sulfur doped graphene quantum dots as a potential sensitive fluorescent probe for the detection of quercetin. *Food Chem* 2020;317:126457.
- [15] Shukla S, Huston RH, Cox BD, Satoskar AR, Narayan RJ. Transdermal delivery via medical device technologies. *Expert Opin Drug Deliv* 2022;19(11):1505-19.
- [16] Azizi Machekposhti S, Khanna S, Shukla S, Narayan R. Microneedle fabrication methods and applications. *MRS Commun* 2023;13:1.
- [17] Chen ML, He YJ, Chen XW, Wang JH. Quantum dots conjugated with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-filled carbon nanotubes for cancer-targeted imaging and magnetically guided drug delivery. *Langmuir* 2012;28(47):16469-76.
- [18] Yoosefian M, Sabaei S, Etminan N. Encapsulation efficiency of

- single-walled carbon nanotube for Ifosfamide anticancer drug. *Comput Biol Med* 2019;114:103433.
- [19] Mortazavifar A, Raissi H, Akbari A. DFT and MD investigations on the functionalized boron nitride nanotube as an effective drug delivery carrier for Carmustine anticancer drug. *J Mol Liq* 2019;276:577–87.
- [20] Mejri A, Vardanega D, Tangour B, Gharbi T, Picaud F. Encapsulation into carbon nanotubes and release of anticancer cisplatin drug molecule. *J Phys Chem B* 2015; 119(2):604–11.
- [21] Rezaei A, Morsali A, Bozorgmehr MR, Nasrabadi M. Quantum chemical analysis of 5-aminolevulinic acid anticancer drug delivery systems: carbon nanotube, –COOH functionalized carbon nanotube and iron oxide nanoparticle. *J Mol Liq* 2021;340:117182.
- [22] Kotzabasaki M, Froudakis GE. Review of computer simulations on anticancer drug delivery in MOFs. *Inorg Chem Front* 2018;5(6):1255–72.
- [23] Horcajada P, Chalati T, Serre C, Gillet B, Sebrie C, Baati T, et al. Porous metal–organic-framework nanoscale carriers as a potential platform for drug delivery and imaging. *Nat Mater* 2010;9(2):172–8.
- [24] Pandey PC, Shukla S, Pandey G, Narayan RJ. Organotrialkoxysilane-mediated controlled synthesis of noble metal nanoparticles and their impact on selective fluorescence enhancement and quenching. *J Vac Sci* 2020;38(5):052801.
- [25] Pandey PC, Shukla S, Pandey G, Narayan RJ. Organotrialkoxysilane-mediated synthesis of functional noble metal nanoparticles and their bimetallic for electrochemical recognition of L-tryptophan. *MRS Adv* 2020;5(46–47):2429–44.
- [26] Erucar I, Keskin S. Computational investigation of metal organic frameworks for storage and delivery of anticancer drugs. *J Mater Chem B* 2017;5(35):7342–51.
- [27] Karimi Alavijeh R, Akhbari K, Tylianakis E, Froudakis GE, White JM. Two-fold homointerpenetrated metal–organic framework with the potential for anticancer drug loading using computational simulations. *Cryst Growth Des* 2021;21(11):6402–10.
- [28] Parsaei M, Akhbari K, Tylianakis E, Froudakis GE, White JM, Kawata S. Computational study of two three-dimensional Co (II)-based metal–organic frameworks as quercetin anticancer drug carriers. *Cryst Growth Des* 2022;22(12):7221–33.
- [29] Boroushaki T, Dekamin MG, Hashemianzadeh SM, Naimi-Jamal MR, Koli MG. A molecular dynamic simulation study of anticancer agents and UiO-66 as a carrier in drug delivery systems. *J Mol Graph* 2022;113:108147.
- [30] Mahdavi M, Rahmani F, Nouranian S. Molecular simulation of pH-dependent diffusion, loading, and release of doxorubicin in graphene and graphene oxide drug delivery systems. *J Mater Chem B* 2016;4(46):7441–51.



**Gabriel Santos-Díaz.** Graduado en Biotecnología por la Universidad Pablo de Olavide, actualmente se encuentra cursando la modalidad de Nuevos Fármacos del Máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide, en Sevilla.

 <https://orcid.org/0009-0004-2810-989X>



**María Tripodi-Vera.** Graduada en Biología por la Universidad de Córdoba, actualmente se encuentra cursando la modalidad de Terapia Celular del Máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide, en Sevilla.

# Posibilidades y usos de la reflectografía infrarroja en el patrimonio cultural

María Berges Buró

**Resumen**—Este trabajo analiza, por medios bibliográficos, el uso de la reflectografía infrarroja como técnica no destructiva aplicada al estudio del Patrimonio Cultural. Desde su descubrimiento, esta técnica ha aportado numerosas posibilidades en el diagnóstico de obras artísticas, la identificación de falsificaciones, reaprovechamientos de lienzos, dibujos preparatorios, arrepentimientos y estilo del autor. La información científica obtenida ha sido fundamental para la datación precisa de obras de arte y para llevar a cabo intervenciones de restauración basadas en criterios científicos.

**Palabras Claves**— Técnica no destructiva, Infrarrojo, espectro lumínico, diagnóstico, conservación.

## 1. INTRODUCCIÓN

La radiación infrarroja (780 nm – 1 mm) es la zona del espectro electromagnético inmediatamente inferior en energía y frecuencia a la luz visible [1]. Fue descubierta en 1800 por William Herschel [2] y es la base de la fotografía y reflectografía infrarroja.

El uso de la radiación infrarroja en patrimonio cultural se remonta a los años 30 del S. XX con la primera fotografía infrarroja. Sin embargo, no será hasta los años 60 del mismo siglo cuando la fotografía IR comience a ser sustituida por la reflectografía IR [3].

Tanto la fotografía IR como la reflectografía IR son técnicas sencillas, que consisten en iluminar la superficie pictórica con una fuente de emisión IR que es absorbida o reflejada por los materiales de la obra [4]. La fotografía IR opera en el rango de sensibilidad espectral del infrarrojo cercano corto (SWIR) entre 780 y 1350 nm, lo que limita su capacidad de atravesar determinados pigmentos. En cambio, la reflectografía infrarroja tiene un rango de operatividad más amplio que abarca el infrarrojo cercano corto (SWIR), cercano medio (MWIR) y cercano largo (LWIR), entre 780 nm y 2200 nm, permitiendo obtener mucha más información en cuanto a dibujos preparatorios, inscripciones... [3].

El objetivo de este artículo es describir en detalle el funcionamiento de la reflectografía IR y recopilar sus principales aplicaciones al mundo del patrimonio cultural.

## 2. FUNDAMENTOS DE LA REFLECTOGRAFÍA IR

La reflectografía se basa en la capacidad que tiene la radiación IR (concretamente entre 700 y 3000 nm) de atravesar determinadas superficies y captar la respuesta de los materiales analizados a dicha radiación.

Cuando un material es irradiado con radiación IR, la radiación puede ser absorbida, transmitida o reflejada [5]. La absorción es un fenómeno físico que ocurre cuando un material toma o retiene la energía de una radiación electromagnética. La reflectancia se define como la relación entre el flujo reflejado ( $P_r$ ) y el flujo incidente ( $P_i$ ). En términos de imagen es, por oposición a la absorbancia, la responsable de la formación de la imagen y el color.

Finalmente, la transmitancia es la relación presente entre el flujo radiante transmitido ( $P_t$ ) y el flujo radiante incidente ( $P_i$ ). Es la cantidad de energía que es capaz de traspasar un cuerpo sin ser absorbida [5].

La acción conjunta de estos tres fenómenos es la que hace que la reflectografía IR permita identificar capas invisibles, repintes, escrituras ilegibles a causa de suciedad, reaprovechamientos del autor o incluso falsificaciones de algunas obras [6]. Para que la reflectografía IR sea efectiva, deben darse una serie de condiciones. El grosor del pigmento no debe ser excesivo y los resultados de la técnica van a depender también de coeficientes de absorción y dispersión de la capa pictórica (que a su vez depende del tipo de pigmento, molienda, aglutinante...) [5].

Para descartar la radiación visible en la toma de imágenes, se puede colocar un filtro en la cámara, que la elimina. Actualmente se dispone de muchos tipos de filtros siendo los más importantes los de tipo *cut-on* o *longpass* que solo dejan pasar aquellas longitudes de onda por encima del visible [5].

Hoy en día, los sistemas utilizados para la captura de imágenes infrarrojas son electrónicos, pero anteriormente se utilizaban emulsiones fotográficas en blanco y negro sensibles al IR. Una de las principales ventajas de los métodos electrónicos es que permiten ver los valores de reflectancia de la obra analizada en tiempo real. Según los niveles de reflectancia que muestra cada material, en la imagen captada se observarán diferentes niveles de grises (más claros indican mayor reflectancia y más oscuros menos reflectancia) [7].

Los primeros sistemas electrónicos (años 60) fueron cámaras de video con un sensor de tubo Vidicon (900 – 2000 nm). Su principal problema era que para obtener buena resolución eran necesarias tomas muy pequeñas. En los 80 se sustituyeron por cámaras con sensores de Silicio, que tenían buena resolución, pero poco contraste. Después se sustituirían por sistemas InGaAs, PtSi... En la actualidad se utilizan cámaras digitales [5]. Todo este tipo de mejoras ha ido ligado a cambios en la óptica, resolución y sensibilidad del IR [8].

### 3. USO COMBINADO CON MSI, HSI, REFLECTOGRAFÍA IR POR TRANSMISIÓN Y TERMOGRAFÍA.

Dado que los diferentes compuestos presentan diferencias de absorción y reflectancia en las distintas longitudes de onda del IR, a partir de los años 90 se empezó a desarrollar la aplicación de la reflectografía IR en combinación con otras técnicas de imagen, como la fotografía Multiespectral (MSI) y la fotografía Hiperespectral (HSI). Este tipo de técnicas capturan múltiples imágenes, registrando la reflectancia de un material en diferentes longitudes de onda. Esto permite obtener una firma espectral para cada material, que puede ser útil para la caracterización de los pigmentos de una obra de arte [9].

A su vez, en la Fotografía Infrarroja por Transmisión (ITR), la fuente de iluminación se sitúa detrás de la obra y no frente a esta, iluminándola así desde el reverso. Durante el S. XX, esta técnica no fue muy popular ya que en la época de la fotografía analógica esta implicaba un proceso lento, con largos tiempos de exposición, que provocaba el sobrecalentamiento del reverso de las obras. Este problema hoy en día se ha solucionado con el desarrollo de la fotografía digital, que permite acortar considerablemente los tiempos de exposición. La principal ventaja de esta técnica es que permite llegar a las capas más inferiores de una obra, permitiendo ver las pérdidas bajo los repintes, la trama de la tela, grietas y craquelados, cortes, marcas del bastidor... La Figura 1, muestra un claro ejemplo de la diferencia de información obtenida entre ambas técnicas [10].



Figura 1. Círculo de Anthon van Dyck, *Crucifixión*, ca. 1630, colección particular A) visualización normal, B) fotografía IR, C) Fotografía ITR, diferencia de información ofrecida entre B y C y como se complementan la una a la otra. Fuente: CAEM (UDL), extraída del artículo [10].

A su vez, en la Figura 2, se aprecia la cantidad de información obtenida mediante la técnica de ITR. En este caso se puede apreciar el reaprovechamiento del lienzo, donde se observa una figura masculina pintada con anterioridad.



Figura 2. Isabel de Portugal de Tiziano, 1548, Museo del Prado. Fuente: Periódico el Mundo, reportaje: "Lo que ocultan los cuadros" por Amalia Gómez revista Magazine [10].

Finalmente, el uso combinado de la Reflectografía IR con la Termografía es también destacable. Esta, además de ser una técnica no destructiva, ni requerir gran infraestructura, permite obtener información sobre anomalías en la composición de la obra, proceso de ejecución, materiales utilizados... [4].

### 4. APLICACIONES EN MATERIALES ARTÍSTICOS

Su principal aplicación al patrimonio es la identificación de dibujos preparatorios. Cuando una obra de arte es iluminada con radiación IR, parte del espectro visible es absorbido, y parte reflejado [8]. Dependiendo de los pigmentos usados, debido al fenómeno de transmitancia, parte de la radiación alcanzará la capa de preparación. Es aquí donde muchas obras presentan un dibujo preparatorio que, normalmente está compuesto a base de carbono, material cuya absorción del infrarrojo es muy alta. Este contraste es que permitirá que la imagen IR obtenida sea capaz de realzar el dibujo preparatorio. Esto se ve reflejado en el estudio sobre dos obras de Murillo donde la aplicación de la técnica revela el dibujo preparatorio (Figura 3), donde se aprecia un cambio de posición de la jarra entre el dibujo preparatorio y la obra final [11].



Figura 3. *Moisés haciendo bajar las aguas de la roca Hareb*. Por Bartolomé Esteban Murillo, 1667-1670, Hospital de la Caridad (Sevilla) Fuente: "Dos grandes lienzos de Murillo analizados con diferentes técnicas analíticas y de imagen" por Anabelle Kriznar et. Al. en revista La Ciencia y el Arte [11].

Es importante mencionar, que para determinadas obras y contextos esta técnica de análisis puede presentar problemas. A partir del S. XVII, la pintura se vuelve más suelta, el dibujo preparatorio es menos elaborado y se usan preparaciones coloreadas. Todas estas casuísticas dificultan la captación de resultados.

Esta técnica también es efectiva para identificar repintes y restauraciones en obras de arte. Los pigmentos utilizados en las capas originales y los repintes presentan diferentes niveles de absorción y reflectancia en el rango del infrarrojo por lo que pueden ser fácilmente identificados. Como es el caso de la restauración de un arca de novia catalana del S. XVI donde la imagen IR (Figura 4) ha permitido ver una restauración antigua bajo unos repintes más invasivos y modernos [12].



Figura 4. Arca de Novia Catalana. S. XVI. Palau de la Generalitat (Barcelona) Fuente: "La intervención de conservación y restauración de un arca de novia catalana del S. XVI" por Josep Paret en la revista Res Mobilis [12].

En fechas más recientes, el uso combinado de reflectografía infrarroja con MSI y HSI ha sido aplicado a la caracterización de los pigmentos empleados en la obra; como en el caso del estudio de Max Rahrig sobre una pintura mural de Paolo de San Leocadio y Francesco Pagano en la Catedral de Valencia [13].

## 5. CONCLUSION

El estudio bibliográfico efectuado corrobora que, la reflectografía infrarroja es útil para identificar los dibujos subyacentes y arrepentimientos, obtener datos sobre capas intervenidas e intervenciones de restauración anteriores y detectar firmas e inscripciones que no se detectaban a simple vista.

La mejora de esta técnica desde sus inicios y su uso combinado con MSI y HSI posibilitan que, hoy en día, la reflectografía infrarroja sirva también para diferenciar pigmentos que se comportan de forma similar en espectro visible.

La fotografía infrarroja con luz transmitida permite obtener más información de las capas más ocultas de la pintura. Su principal limitación es que el soporte sobre el que se aplica debe ser translucido, como es el caso de las pinturas sobre lienzo.

El hecho de que esta técnica permita un análisis en profundidad de la obra, sin toma de muestras, in situ, con costes bajos y manejo sencillo; la convierte en una técnica muy prometedora para el estudio del patrimonio cultural. Su uso conjunto con otras técnicas analíticas abre nuevas

posibilidades en la caracterización y diagnóstico del patrimonio cultural.

## 1. REFERENCIAS

- [1] R. Figueiredo Viegas, *Compositional characterization of iron gall inks in manuscripts using non-destructive techniques.*, Lisboa: Técnico Lisboa, 2014.
- [2] R. Bachiller, «William Herschel: su legado científico y sus grandes telescopios,» *Anuario del Real Observatorio Astronómico de Madrid*, pp. 377-404, 2023.
- [3] A. Gabaldon, T. Antelo, C. Vega y M. Bueso, «2.1. Un espacio para lo invisible,» de *La Ciencia y el Arte*, Madrid, Ministerio de Cultura, pp. 25-37.
- [4] J. Peeters, G. Van der Snickt, S. Sfarra, S. Legrand, C. Ibarra-Castanedo, K. Janssens y G. Steenackers, «IR Reflectography and Active Thermography on Artworks: The Added Value of the 1.5-3 Band,» *Applied Sciences*, vol. 8, nº 50, pp. 1-19, 2018.
- [5] J. M. Pereira Uzal, «Una aproximación a la imagen infrarroja, ultravioleta, fluorescencias y análisis de imagen,» de *Diagnóstico por imagen en bandas no visibles sobre patrimonio cultural*, Alemania, Books on Demand GmbH, 2019, pp. 3-9 39-46.
- [6] J. Blazek, J. Striová, R. Fontana y B. Zitová, «Improvement of the visibility of concealed features in artwork NIR reflectograms by information separation,» *Digital Signal Processing*, nº 60, pp. 140-151, 2017.
- [7] M. Attas, D. M. Goltz, E. Cloutis y J. R. Mansfield, «Near-infrared spectroscopic imaging in art conservation: Investigation of drawing pigments constituents,» *Journal of Cultural Heritage*, nº 4, pp. 127-136, 2003.
- [8] A. Gonzalez Moro, «La reflectografía infrarroja y la historia del arte,» *La Ciencia y el Arte*, vol. IV, pp. 163-177, 2013.
- [9] J. Peeters, S. Steenackers, S. Sfarra, S. Legrand, C. Ibarra-Castanedo, K. Janssens y G. Van der Snickt, «IR Reflectography and Active Thermography on Artworks: The Added Value of the 1.5-3 micrometres Band,» *Appl. Sci*, vol. 8, nº 2, p. 50, 2018.
- [10] M. Á. Herrero-Cortell, P. Artoni, M. Raich, J. Aliaga y I. Puig, «Observando a través de los estratos: fotografía infrarroja transmitida (IRT) aplicada al estudio técnico y documental de pinturas sobre lienzo,» *Ge-conservación*, pp. 62 - 73, 2021.
- [11] A. Kriznar, F. J. Ager, M. A. Gómez-Morón, C. Caliri, F. P. Romano y M. Á. Respaldiza, «Dos grandes lienzos de Murillo analizados con diferentes técnicas analíticas y de imagen».
- [12] J. Paret y J. Zornoza, «Intervención de Conservación y Restauración de un Arca de Novia Catalana del S. XVI,» *Res Mobilis. Revista internacional de investigación en mobiliario y objetos decorativos*, vol. 10, nº 13, pp. 63-79, 2021.
- [13] M. Rahrig, M. Á. Herrero Cortell y J. L. Lerma, «Multiband Photogrammetry and Hybrid Image Analysis for the Investigation of a Wall Painting by Paolo de San Leocadio and Francesco Pagano in the Cathedral of Valencia,» *Sensors*, vol. 23, nº 2301, pp. 1- 21, 2023.



**MARÍA BERGES BURÓ** ES TITULADA EN CONSERVACIÓN Y RESTAURACIÓN DE BIENES CULTURALES POR LA ESCUELA SUPERIOR DE CONSERVACIÓN Y RESTAURACIÓN DE BIENES CULTURALES DE ARAGÓN (HUESCA) DESDE 2016. HA REALIZADO UNA BECA DE FORMACIÓN EN EL DEPARTAMENTO DE RESTAURACIÓN DE DIPUTACIÓN PROVINCIAL DE ZARAGOZA.

ACTUALMENTE CURSA EL MÁSTER EN DIAGNOSTICO DEL ESTADO DE CONSERVACIÓN DEL PATRIMONIO HISTÓRICO EN LA UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. ACTUALMENTE SE DEDICA A LA CONSERVACIÓN Y RESTAURACIÓN EN PROYECTOS EN PINTURA MURAL, LIENZO, ESCULTURA, OBRA CONTEMPORÁNEA Y TODO TIPO DE MATERIALES.

# Avances científicos en el pasmado de obras pictóricas

Laura Romaní Borrallo

**Resumen**— Los pasmados, fenómenos caracterizados por una alteración visual que confiere un tono blanquecino o azulado a las superficies pictóricas, han sido tradicionalmente vinculados con procesos de microfisuración que alteran el índice de refracción. No obstante, este fenómeno ha sido escasamente estudiado hasta la fecha. Gracias a recientes avances científicos, se ha identificado la humedad como un factor crítico en la formación de los pasmados bajo ciertas condiciones. Este descubrimiento es esencial no solo para comprender su formación, sino también para el desarrollo de tratamientos innovadores destinados a restaurar la integridad visual de las obras afectadas. En este artículo se exploran los avances en la investigación de los pasmados, abordando sus causas, el proceso de formación y las estrategias actuales para su intervención, proporcionando una perspectiva ética y efectiva para su entendimiento e intervención en la conservación de pinturas.

**Palabras Claves**— Barniz, humectación, pasmado, pintura de caballete, porosidad

## 1. INTRODUCCIÓN

El pasmado o blanqueado de obras pictóricas es un fenómeno por el cual la superficie pictórica adquiere una tonalidad blanquecina o azulada, perdiendo transparencia y contraste, y disturbando de manera importante la visualización del motivo representado (Fig. 1).

En referencia a la terminología, es relevante señalar que en manuales y glosarios de arte en español que incluyen traducciones al inglés, el término 'pasmado' se traduce comúnmente como *bloom* [1]. Sin embargo, en la mayoría de los artículos científicos y documentos técnicos en inglés, se utiliza el término *blanching* para describir este fenómeno, reservando *bloom* para efectos específicos de tonalidad azulada, los cuales se discutirán más adelante en este artículo.

En los principales manuales de pintura de caballete y sus alteraciones, la explicación común que se le da al efecto del pasmado se basa en un proceso de microfisuración que altera el índice de refracción de la superficie [1]. A su vez, en estos mismos textos se comparte la opinión de que el pasmado es un fenómeno muy poco estudiado, menos aún entendido por los mismos conservadores, y que por ello es necesario investigar en este campo [2], [3], [4].

Afortunadamente, en la última década los estudios dedicados a estudiar este fenómeno se han incrementado significativamente, con especial hincapié en ahondar en el fundamento científico para comprender las causas de su formación, la descripción y caracterización del proceso, y, en resumen, entenderlo para poder intervenir desde una perspectiva ética. Estos procesos se han identificado en

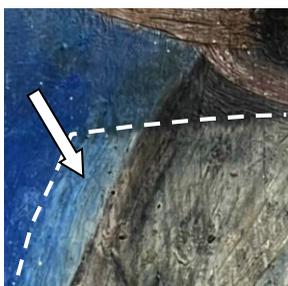


Fig. 1 Detalle de un pasmado localizado en el área marcada con la flecha (fuente: propia).

los últimos años especialmente en el C2RMF (*Centre de recherche et de restauration des musées de France*) [5], [6], [7], [8], [9].

Cabe mencionar, sin embargo, que los procesos de pasmado pueden darse por causas muy variadas. Por ejemplo, se ha encontrado tanto en capas de barniz como en capas pictóricas no barnizadas, siendo los procesos y los factores que intervienen diferentes, como en los casos en que solo algunos colores se ven afectados en contraposición de otros, por lo que la composición química resulta decisiva [5], [7]. A su vez, se ha descrito su aparición en tratamientos de limpieza de barnices, como también como una alteración causada por la exposición prolongada a la humedad y/o inundaciones [4], [10]. Esta última, especialmente en barnices naturales, ha sido la que más se ha estudiado transversalmente hasta ahora, y por ello en los siguientes apartados se tratará el estado de la cuestión, los resultados y las explicaciones obtenidas para explicar este fenómeno en concreto.

## 2. DEGRADACIÓN DEL BARNIZ POR HUMEDAD

Muchas pinturas que han sufrido inundaciones, problemas de humedad o condensación, y que por ende han estado en contacto directo con agua durante un tiempo prolongado, han presentado el efecto de pasmado [2]. En un estudio experimental para reproducir la formación de este efecto, se dejaron inmersas en agua varias probetas de barniz, y se observó como a medida que pasaban los días, el blanqueamiento de la capa aumentaba [8]. Para entender los mecanismos, se estudió la superficie afectada mediante microscopía electrónica de barrido con cañón de electrones de emisión de campo (FEG-SEM), descubriendo que, a medida que la muestra estaba más pasmada, su estructura microscópica se volvía más porosa (Fig. 2).

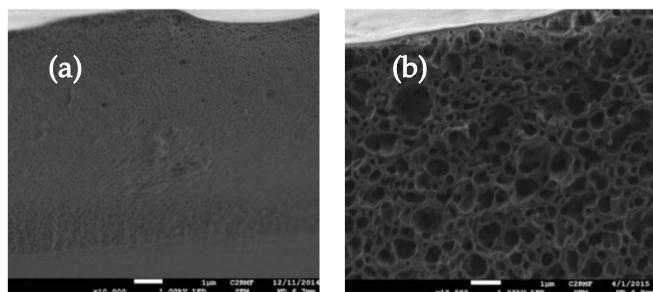


Fig. 2 Imágenes FEG-SEM de muestras de barniz inmersas en agua por 1 día (a) y 31 días (b) (fuente: Genty-Vincent *et al.*, [9]).

El uso de FEG-SEM fue crucial puesto que, de haber embutido las muestras en resina y puliéndola posteriormente como es habitual, estos poros hubieran sido tapados, imposibilitando o dificultando el entendimiento de la superficie alterada [11]. Aunque el motivo de la formación de los poros sigue en vía de estudio, algunos investigadores apuntan a que podría deberse a una hidratación de materia micro-segregada, la cual deja una superficie porosa llena de aire una vez el agua se ha evaporado [7].

Aparte del FEG-SEM, otra técnica no invasiva y de no contacto que ha resultado interesante para estudiar y valorar las capas de barniz pasmadas por ambientes húmedos es la tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (SD-OCT), que permite obtener imágenes estratigráficas sin toma de muestra. En los estudios realizados se pudo observar que los craquelados de la superficie tenían un papel relevante a la hora de transferir el pasmado de la obra, ya que este resultaba más intenso cuanto más próximo estaba a grietas (Fig. 3) [5], [12].

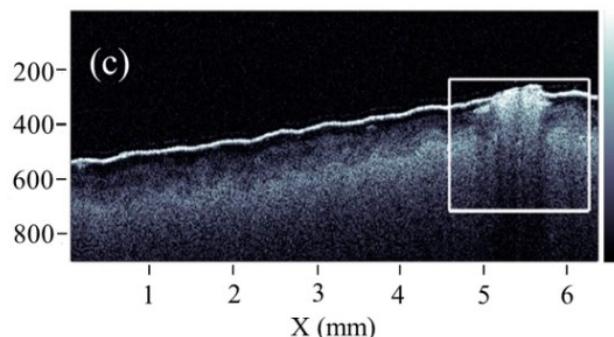


Fig. 3 Escaneo transversal OCT de un pasmado localizado en una grieta (fuente: C. L. Koch Dandolo *et al.* [1]).

En estos casos, las grietas actúan como rutas de transporte e inducen a la vez procesos de lixiviación o migración de partículas a la superficie (mencionado en la literatura con el término *blooming* [4]), lo que explicaría que algunas superficies pictóricas pasmadas presenten tonalidades de color.

La micro-segregación de la materia se identificó en un estudio de 2017 mediante nanotomografía de contraste de fases (nano-TC), una técnica derivada de las aplicaciones de rayos X en sincrotrón [13]. En la imagen obtenida, los poros se localizaron estrictamente en el aglutinante (Fig. 4), lo que ilustraría el transporte de las partículas de pigmento [5].

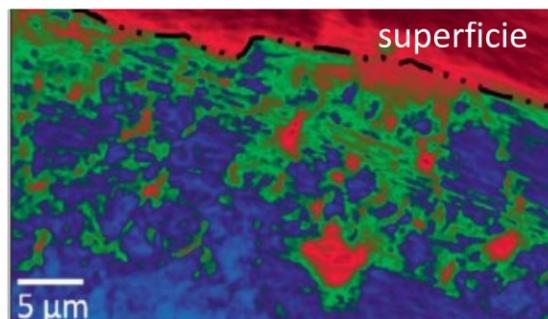


Fig. 4 Nanotomografía de contraste de fase de una superficie pasmada, donde se observan los pigmentos (azul), el aglutinante (verde) y los poros (rojo) (fuente: M. Cotte *et al.* [12]).

### 3. ¿POR QUÉ EL PASMADO TIENE UNA APARIENCIA BLANQUECINA?

Una vez observado que el proceso bajo el efecto del pasmado está basado en la formación progresiva de poros, resulta importante explicar su relación con la apariencia blanquecina que se observa. A partir de unos estudios basados en la aplicación de ecuaciones numéricas de transferencia radiactiva, se concluyó que el tamaño del poro condiciona la apariencia visual de la superficie pasmada, y que este efecto es resultado de la dispersión de la luz por parte de los poros [7]. Esto se puede explicar mediante las teorías de Rayleigh y Mie a medida que la porosidad va aumentando con el tiempo de inmersión [8].

#### 3.1. Teorías físicas

El modelo de Rayleigh es aplicable cuando las partículas o poros tienen un tamaño menor de 50 nm aproximadamente. Según este modelo, la intensidad de la radiación dispersada es proporcional a  $\lambda^{-4}$ , donde  $\lambda$  es la longitud de onda de la luz incidente [14]. Esta relación implica que las longitudes de onda cortas, como las del rango azul (~400-490 nm), se dispersan unas 16 veces más que las longitudes de onda largas, pertenecientes al rango rojo (~600-700 nm) [15]. Por ende, cuanto más corta es la longitud de onda, mayor es la dispersión, y por ello partículas pequeñas dispersarán mucho más el rango azul del espectro electromagnético.

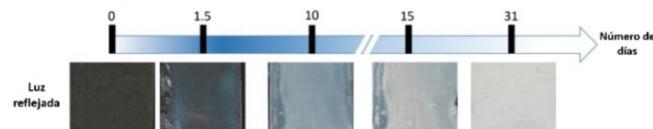


Fig. 5 Pasmado fotografiado a medida que los poros aumentan de tamaño con la inmersión en agua, ilustrando la dispersión de la luz con las teorías de Rayleigh y Mie (fuente: Genty-Vincent *et al.*, [8])

Por otro lado, la teoría de Mie se puede aplicar cuando se trata de partículas o poros mayores de 50 nm, lo que provoca que la dispersión deje de depender en gran parte de la longitud de onda [16]. Esto se debe a que los poros de mayor tamaño interactúan con un rango más amplio del espectro electromagnético, induciendo una dispersión más isotrópica que afecta de manera uniforme a todas las longitudes de onda del espectro visible. Como resultado,

la dispersión omnidireccional de la luz incidente lleva a un blanqueamiento superficial total.

Ambas teorías se aplicaron en un estudio de 2015 al observar muestras pasmadas que, iluminadas con luz reflejada, mostraban una tonalidad azulada (también mencionada con el término *bloom*) al inicio de la inmersión en agua (poros de menor tamaño). A medida que transcurrían los días y los poros aumentaban de tamaño, la superficie presentaba una tonalidad totalmente blanquecina (Fig. 5) [8].

#### 4. TRATAMIENTOS PARA SU INTERVENCIÓN

El pasmado en obras pictóricas se encuentra descrito y mencionado desde los primeros estudios de limpieza a partir del siglo XIX [2]. En la literatura se encuentran tratamientos basados en la aplicación de líquidos y mezclas (aceites secativos, no secativos, bálsamos, extractos naturales) como también en la exposición de la obra a vapores apolares, conocido como proceso Pettenkofer, que fue igual de popular que criticado [4], pero que en todo caso se ha demostrado no ser ni eficaz a largo plazo, ni ético, ni controlable [9]. Sin embargo, hasta hace unos pocos años no se planteó el desarrollo de productos específicamente diseñados para “regenerar” superficies pasmadas.

Los últimos estudios se han basado en el uso de disolventes fluorados puesto que presentan propiedades interesantes como inercia química, estabilidad térmica y atoxicidad [6], [9]. Su eficacia radica en que los grupos polares facilitan la entrada en los poros del estrato, cambiando la difusión de la luz lo suficiente para atenuar el pasmado de la superficie [6]. Además, es estable frente a la hidrólisis y reversible con disolventes orgánicos comunes. Sin embargo, los mismos autores apuntan que en futuras investigaciones pretenden centrarse en disminuir la cantidad de grupos polares para evitar la interacción excesiva de la sustancia con las moléculas originales.

#### 5. CONCLUSIONES

Todo lo revisado permite concluir que los pasmados causados por humedad excesiva en obras pictóricas se forman por la interacción del agua con el medio orgánico dejando la superficie porosa, lo que hace perder la transparencia del estrato. Según el tamaño de los poros, la apariencia del pasmado es más azulada o blanquecina y opaca. Además, puede producirse la migración de pigmentos u otros componentes micro-segregados hacia la superficie. En cuanto a su tratamiento, actualmente se sigue trabajando en encontrar soluciones que penetren lo suficiente para atenuar y rellenar los poros de los estratos afectados, a la vez que tengan una buena reversibilidad y duración a largo plazo y no sean tóxicos.

Por otro lado, aun habiendo avanzado sustancialmente en la comprensión de la fenomenología, estos estudios se han centrado en los casos de capas barnizadas y pasmadas por humedad. Por este motivo, es necesario ampliar la experimentación e investigación en obras pasmadas durante el tratamiento con disolventes en limpieza, o seguir estudiando el pasmado selectivo encima de pintu-

ras no barnizadas, profundizando en el papel de los diferentes pigmentos, aglutinantes y cargas empleadas.

#### REFERENCIAS

- [1] Ministerio de Cultura y Deporte, *Proyecto COREMANS. Criterios de intervención en pintura de caballete*. Subdirección General de Documentación y Publicaciones, 2018, p. 117.
- [2] L. Baij, J. Hermans, B. Ormsby, P. Noble, P. Iedema, y K. Keune, «A review of solvent action on oil paint», *Heritage science*, vol. 8, n.º 1, pp. 1-23, 2020, doi: 10.1186/s40494-020-00388-x.
- [3] P. B. Boissonnas, «A Treatment for Blanching in Paintings», *Studies in conservation*, vol. 22, n.º 1, pp. 42-44, 1977, doi: 10.2307/1505674.
- [4] J. H. S. Rushfield Rebecca, Ed., *Conservation of Easel Paintings*, 1.ª ed. London: Routledge, 2012, pp. 254, 483, 492-496, 530. doi: 10.4324/9780080941691.
- [5] C. L. Koch Dandolo *et al.*, «Insights into the Blanching of Water-Damaged Varnish by Means of Spectral-Domain Optical Coherence Tomography», *Studies in Conservation*, vol. 67, n.º 3, pp. 151-160, abr. 2022, doi: 10.1080/00393630.2020.1825901.
- [6] Y. Zhang *et al.*, «Synthesis of novel partially perfluorinated C-glycosides and their application in blanching easel painting restoration», *Journal of cultural heritage*, vol. 62, pp. 493-500, 2023, doi: 10.1016/j.culher.2023.06.019.
- [7] A. Genty-Vincent, T. P. Van Song, C. Andraud, y M. Menu, «Four-flux model of the light scattering in porous varnish and paint layers: towards understanding the visual appearance of altered blanched easel oil paintings», *Applied physics. A, Materials science & processing*, vol. 123, n.º 7, pp. 1-9, 2017, doi: 10.1007/s00339-017-1092-1.
- [8] A. Genty-Vincent *et al.*, «Blanching of paint and varnish layers in easel paintings: contribution to the understanding of the alteration», *Applied physics. A, Materials science & processing*, vol. 121, n.º 3, pp. 779-788, 2015, doi: 10.1007/s00339-015-9366-y.
- [9] A. Genty-Vincent *et al.*, «Les chances des peintures de chevalet : étude des traitements de restauration actuels et proposition d'une alternative innovante», *Technè. La science au service de l'histoire de l'art et de la préservation des biens culturels*, n.º 46, Art. n.º 46, dic. 2018, doi: 10.4000/techne.453.
- [10] M. Martínez Domingo, E. Valero, R. Huertas, M. Durbán, T. Espejo, y R. Blanc, «Spectral information to get beyond color in the analysis of water-soluble varnish degradation», *Heritage science*, vol. 7, n.º 1, pp. 1-16, 2019, doi: 10.1186/s40494-019-0323-5.
- [11] C. M. dr. Groen, «Paintings in the laboratory: scientific examination for art history and conservation», Universiteit van Amsterdam, 2011. Accedido: 26 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: <https://dare.uva.nl/search?identifier=9def77e5-47ed-4fc1-87d8-29e7ac11b486>
- [12] R. Fontana *et al.*, «Application of non-invasive optical monitoring methodologies to follow and record painting cleaning processes», *Applied physics. A, Materials science & processing*, vol. 121, n.º 3, pp. 957-966, 2015, doi: 10.1007/s00339-015-9505-5.
- [13] M. Cotte, A. Genty-Vincent, K. Janssens, y J. Susini, «Applica-

tions of synchrotron X-ray nano-probes in the field of cultural heritage», *Comptes Rendus Physique*, vol. 19, n.º 7, pp. 575-588, nov. 2018, doi: 10.1016/j.crhy.2018.07.002.

- [14] J. W. Strutt, «XXXVI. On the light from the sky, its polarization and colour», *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, vol. 41, n.º 273, pp. 274-279, abr. 1871, doi: 10.1080/14786447108640479.
- [15] A. J. Brown, «Spectral bluing induced by small particles under the Mie and Rayleigh regimes», *Icarus*, vol. 239, pp. 85-95, sep. 2014, doi: 10.1016/j.icarus.2014.05.042.
- [16] Y. A. Eremin, «SCATTERING | Scattering Theory», en *Encyclopedia of Modern Optics*, R. D. Guenther, Ed., Oxford: Elsevier, 2005, pp. 326-330. doi: 10.1016/B0-12-369395-0/00682-5.



**Laura Romani Borrillo** se graduó en Conservación y Restauración de Bienes Culturales por la ESCRBCC en 2023, especializándose en conservación y restauración de Pintura. Desde 2023 trabaja como Conservadora - Restauradora de Pintura de caballete en un taller privado de Barcelona. Actualmente es estudiante del Máster en Diagnóstico del Estado de Conservación del Patrimonio Histórico en la Universidad Pablo de Olavide.

Su interés investigador incluye el estudio histórico de los pigmentos artísticos, las técnicas de caracterización y análisis de materiales pictóricos, los tratamientos de conservación – restauración de obra pictórica y el uso de biocidas sostenibles en el ámbito de la conservación del patrimonio.

# La revolución química en la cocina

Manuel Olmedo-Manzano

**Resumen**—La cocina y la química estrechan una gran relación, ya que cuando cocinamos usamos sustancias químicas como el azúcar ( $C_6H_{12}O_6$ ), la sal ( $NaCl$ ), el agua ( $H_2O$ ) ... Los alimentos que se consumen diariamente no son solo una mezcla de sabores y texturas, sino un mundo de química en constante acción. La ciencia química se relaciona con los aromas y apariencia de los alimentos, desde las reacciones de Maillard, que dan sabor a la carne asada, hasta la formación de emulsiones en salsas. Además, los conservantes y la química de la conservación son críticos para mantener la seguridad alimenticia y reducir el desperdicio de alimentos. Por otra parte, la cocina molecular es un campo en crecimiento que utiliza principios químicos para crear platos innovadores y sorprendentes. En definitiva, la química mejora la calidad, la creatividad y la comprensión de los alimentos, lo que a su vez enriquece la experiencia en la cocina.

**Palabras Claves**— Química, cocina, sabor, aroma, cocina molecular, alimentos, sustancias químicas.



## 1. INTRODUCCIÓN

La química en la cocina es una disciplina fascinante que se encuentra en el corazón de todo lo que se prepara y se disfruta en los platos. Desde la delicadeza de un soufflé hasta el aroma irresistible de una pizza, la química es la fuerza invisible que da vida a la gastronomía. A primera vista, la cocina puede parecer un arte puramente creativo y culinario, pero debajo de la superficie, cada plato se convierte en un laboratorio de reacciones químicas. La ciencia detrás de la cocina no solo ayuda a comprender por qué una salsa se espesa, cómo se obtiene ese dorado en un filete o por qué el pan aumenta de tamaño en el horno, sino que también nos permite mejorar las habilidades culinarias y abrir la puerta a la innovación gastronómica.

## 2. SABOR, AROMA, TEXTURA Y APARIENCIA DE LOS ALIMENTOS

La química es responsable de los sabores y aromas de los alimentos, esto ha permitido a los chefs y cocineros comprender cómo los compuestos aromáticos y los sabores interactúan en los alimentos. Los compuestos químicos presentes en los alimentos interactúan con nuestras papilas gustativas y receptores olfativos para crear experiencias gustativas únicas, esto ha llevado a la creación de sabores personalizados mediante la combinación de ingredientes de manera inesperada, lo que a menudo se encuentra en la alta cocina y la gastronomía molecular.

### 2.1. INFLUENCIA DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS DE LOS ALIMENTOS

Las propiedades organolépticas de los alimentos son el sabor, el olor, la textura y el color, en conjunto generan la llamada respuesta organoléptica, que es el resultado de las sensaciones químicas recibidas a través de los sentidos. Por ejemplo, el olor percibido por los receptores olfativos de los pasajes nasales, en combinación con el sabor

percibido en la lengua y el paladar, brindan lo que se conoce como sabor. Esta sensación de sabor se determina en un 80% por el olfato y en un 20% por el gusto, por esta razón, las personas con congestión nasal o problemas respiratorios no perciben los sabores.

#### 2.1.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LOS ALIMENTOS

**Color**— El color es fundamental en la percepción de un alimento por parte del consumidor. Es lo primero que se detecta e indica qué reacciones químicas han sucedido durante la vida útil del alimento, que empieza desde su fabricación hasta su consumo. Los cambios de color en los alimentos pueden verse afectados por la exposición a la luz o el aire, ambos catalizadores en las reacciones bioquímicas de formación de peróxidos que son responsables de las oxidaciones del alimento. Esta oxidación da lugar a los cambios de color de un tono brillante y vivo, a uno más oscuro o estropeado en alimentos frescos. Técnicas como la espectrofotometría o tecnologías como Minolta sirven para evaluar los cambios de color y utilizar escalas bien definidas para comparar el color de los alimentos.

**Sabor**— En la industria alimentaria se identifican cinco tipos de sabores, también es posible distinguir entre sabores lentos y sabores de aparición inmediata. Por lo general, todas las sustancias tienen un sabor único que se compone de varios sabores diferentes.

**Olor**— El olor viene definido por las diferentes sustancias volátiles que se encuentran presentes en los alimentos, que o bien provienen del propio alimento de forma natural, o bien responden a un procesado derivado de la incorporación de aromas al alimento. Es fácil detectar cuando un alimento se ha estropeado solo por su olor.

**Textura**— Este es otro de los factores a tener en cuenta, puesto que, en la primera toma de contacto con el alimento, se usa el sentido del tacto para evaluar su estado y elegir el que más se adapta al propio criterio de preferencia. Algunos parámetros que se pueden evaluar son su dureza, grosor, viscosidad o rigidez. El consumidor detecta cualquiera de esas características y automáticamente se relaciona con una alteración microbiológica que nos

hace evitar su consumo.

### 3. REACCIONES DE MAILLARD

A principios del siglo XX el químico francés Louis Camille Maillard pudo demostrar la procedencia de los pigmentos marrones de los alimentos cocinados, antecedente de la denominada posteriormente reacción de Maillard. La reacción de Maillard consiste en el conjunto de reacciones químicas producidas entre las proteínas y los azúcares de los alimentos a altas temperaturas y que generan ese color, sabor y olor a tostado. Es decir, es el complejo proceso por el que las proteínas y los azúcares de los alimentos interaccionan a consecuencia de las altas temperaturas produciendo compuestos que modifican las características de los alimentos. En ocasiones, esa característica es beneficiosa, por ejemplo, en la cerveza, en la leche, frutas y hortalizas. Existen varios factores que afectan a esta reacción, como por ejemplo: el tipo de azúcar, el tipo de proteínas, la temperatura, la presencia de metales, y el pH que mide la acidez de los alimentos en una escala comprendida entre 0 (ácido) y 14 (alcalino). La reacción de Maillard se acelera en condiciones de alcalinidad, alcanzando su valor óptimo de velocidad a pH 10. Conociendo estos factores se pueden manipular para favorecer o evitar que se produzca la reacción de Maillard. Por ejemplo, en alimentos como el chocolate, galletas o aceitunas se les eleva el pH para favorecer la reacción y así obtener chocolate más negro, galletas más tostadas o aceitunas más negras. Sin embargo, en otros alimentos que se quiere evitar la reacción de Maillard se utilizan inhibidores químicos como los sulfitos o las sales de bicarbonato que impiden la interacción de los azúcares y las proteínas. Para que se de esta reacción existen varias etapas:

#### ETAPAS DE LA REACCIÓN

Etapas I: No se produce modificación de color. En esta fase se da la unión entre el azúcar y la proteína del alimento.

Etapas II: En esta fase ya hay formación de colores amarillos ligeros, así como la producción de olores.

Etapas III: En esta etapa se produce la formación de pigmentos oscuros, la responsable del color amarronado característica de los alimentos tostados.

La reacción de Maillard produce algunas desventajas: En primer lugar, disminuye el valor nutritivo ya que en su formación se degradan proteínas y carbohidratos. Además la reacción de Maillard favorece la alteración de las características organolépticas, al verse alterados compuestos como las vitaminas y aminoácidos esenciales. Un exceso en la cocción de los alimentos conlleva a una aparición más fuerte de la reacción, lo que genera un gusto amargo en el paladar y origina compuestos tóxicos y mutagénicos, como la acrilamida, que es un compuesto químico que se puede formar al cocinar o procesar alimentos a temperaturas elevadas (especialmente compuestos ricos en almidón como las patatas o los cereales)

### 4. CONSERVACIÓN QUÍMICA DEL ALIMENTO

La conservación química de los alimentos es un conjunto de técnicas que se utilizan para preservar los ali-

mentos mediante la aplicación de productos químicos o compuestos que inhiben el crecimiento de microorganismos, retrasan la oxidación, o evitan cambios indeseables en las características del alimento, como el sabor, el color y la textura. Estas técnicas permiten extender la vida útil de los alimentos y reducir el riesgo de deterioro o contaminación. Algunos de estos métodos son:

Salazón--- Consiste en la adición de cloruro sódico, sal común, que inhibe el crecimiento de los microorganismos, la degradación de los sistemas enzimáticos y, por tanto, la velocidad de reacciones químicas. El alimento obtenido tiene modificaciones de color, sabor, aroma y consistencia. Se utiliza en quesos, carnes y algunas especies de pescados.

Curado--- Es un método de gran tradición en nuestro país que utiliza, además de la sal común, sales curantes, nitratos y nitritos potásicos y sódicos, dichas sustancias deben estar muy controladas por la legislación sanitaria para evitar sus efectos adversos, ya que a partir de ellas se forman nitrosaminas que son cancerígenas y pueden constituir un problema para la salud, sin embargo, el uso de estas sustancias es necesario porque impide el crecimiento del *Clostridium botulinum*, un peligroso microorganismo, además de que sirve para estabilizar el color rojo, sonrosado de las carnes.

Fermentación--- Este proceso se aprovecha de los propios microorganismos presentes en la materia prima. Permite la conservación de alimentos, mejora la calidad nutricional y aumenta las cualidades organolépticas de los alimentos. Algunos de estos alimentos son, las bebidas alcohólicas, el café, productos cárnicos embutidos...

### 5. COCINA MOLECULAR

La cocina molecular es una disciplina culinaria que se basa en principios y conceptos de la química para transformar la forma en que se preparan y se experimenta con los alimentos. En esta forma de cocina, se aplican conocimientos químicos para comprender y controlar los procesos que ocurren durante la cocción y la manipulación de ingredientes.

La cocina molecular surgió en 1969, Nicholas Kurti, estudió y experimentó con diferentes productos a través de transformaciones moleculares. Más tarde, Herver This se unió a este proyecto de investigación. Lo que se buscaba era averiguar cómo reaccionaban los alimentos a las diferentes técnicas y formas de cocinado.

Gracias a los avances tecnológicos se han podido aplicar todos estos nuevos conocimientos y esta investigación a la alta cocina. Haciendo así, que grandes chefs adapten tales conceptos a sus propias creaciones consiguiendo generar experiencias increíbles en el momento de la degustación de sus platos. La comida molecular ha sido una oportunidad que ha permitido a los chefs experimentar y dar rienda suelta a su imaginación.

#### 5.1 TÉCNICAS DE LA COCINA MOLECULAR

La gastronomía molecular consiste en experimentar con diferentes técnicas los productos. Por lo que los alimentos pasan por un conjunto de procesos químicos para conse-

guir obtener esa textura tan peculiar. Las técnicas más conocidas para conseguir las diferentes elaboraciones en la comida molecular son:

**Esterificación---** Se puede convertir alimentos líquidos en esferas semi sólidas, o dicho de otra forma, se consigue la gelificación de un líquido. Este proceso es posible gracias a algunos aditivos, como el alginato de sodio y el cloruro de calcio, que consiguen mantener el líquido dentro de una especie de membrana de gel comestible.

**Reacciones químicas para el sabor---** Se aplican reacciones químicas controladas, como la Maillardización, para crear sabores específicos en los alimentos. La Maillardización es la reacción entre azúcares y aminoácidos que produce sabores y colores característicos, como los que se encuentran en carnes asadas.

**Criocongelación---** La aplicación de nitrógeno líquido se basa en los principios de la termodinámica y la cinética química para lograr la congelación rápida de alimentos. Esto preserva la textura y el sabor de los ingredientes.

## 6. CONCLUSIONES

La química desempeña un papel esencial en la cocina, ya que subyace en los procesos fundamentales que ocurren durante la preparación de alimentos. A lo largo de la historia, la comprensión de la química de los alimentos ha permitido a los cocineros mejorar la calidad, la seguridad y la diversidad de platos que se pueden ofrecer. En resumen, la química es una aliada valiosa para los chefs y amantes de la cocina, ya que proporciona una base sólida para experimentar, innovar y crear platos deliciosos. La comprensión de los principios químicos detrás de los alimentos permite tanto a los cocineros profesionales como a los aficionados mejorar sus habilidades culinarias y apreciar más profundamente la ciencia que se encuentra en cada bocado.

## REFERENCIAS

- [1] <https://thefoodtech.com/tecnologia-de-los-alimentos/el-papel-la-quimica-en-los-alimentos/> (Enlace web)
- [2] <https://andyapp.io/contaminacion-quimica-de-los-alimentos/> (Enlace web)
- [3] <https://www.barcelonaculinaryhub.com/blog/quimica-en-la-cocina> (enlace web)
- [4] <https://www.uab.cat/web/detalle-noticia/la-quimica-de-la-cocina-1345680342040.html?noticiaid=1345691843491> (enlace web)
- [5] <https://costarica.pochteca.net/que-es-lo-que-da-sabor-y-aroma-en-los-alimentos/> (Enlace web)
- [6] <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/propiedades-organolepticas-de-los-alimentos.html> (Enlace web)
- [7] <https://vecinadelpicasso.wordpress.com/2012/04/13/lectura-conservacion-quimica-de-los-alimen-#:-:text=La%20conservaci%C3%B3n%20qu%C3%ADmica%20consiste%20en,%2C%20sabor%2C%20olor%20o%20consisten> (Enlace web)
- [8] <https://www.trucosnaturales.com/metodos-quimicos-de-conservacion-de-los-alimentos/> (Enlace web)

- [9] <https://www.barcelonaculinaryhub.com/blog/cocina-comida-molecular-que-es> (Enlace web)



**Manuel Olmedo-Manzano.** nacido en Dos Hermanas, Sevilla. Cursando segundo año del grado Ciencias Ambientales

# Bioquímica en el Infierno: El origen de los precursores biológicos durante el Eón Hádico

Arturo Cuevas Angulo

**Resumen**— En este trabajo, exploraré una serie de reacciones que representan el primer paso de la teoría Darwiniana de la abiogénesis: el paso de materia inorgánica a monómeros biológicos. Comenzaré revisando las condiciones geoclimáticas del Hádico, destacando cómo estas pudieron haber proporcionado los compuestos y las condiciones idóneas para el surgimiento de biocompuestos en nuestro planeta. Luego, teorizaré sobre la abiogénesis, paso a paso, mediante una serie de reacciones inorgánicas y de síntesis orgánica, como la serpentinización, el proceso Fischer Tropsch o la reacción de Strecker. Este análisis nos ayudará a comprender cómo la química prebiótica pudo haber allanado el camino para la emergencia de la vida en la Tierra.

**Palabras Claves**— Monómeros biológicos, serpentinización, prebiótica, formamida, aminoácidos, Hádico.

## 1. INTRODUCCIÓN

Aún hoy, con los avances y recursos científicos actuales, no es posible determinar con certeza los pasos sucesivos que llevaron al origen de la vida en nuestro planeta. La primera creación documentada de monómeros biológicos (moléculas orgánicas sencillas que definen la unidad estructural de las moléculas biológicas) a partir de materia abiótica ocurrió hace solo 70 años, gracias al experimento de Miller-Urey. Todo ello, sumado a la ausencia de pruebas contundentes de vida en otros planetas, parece sugerir que la vida en la Tierra fue un suceso extraordinariamente fortuito y difícilmente reproducible en condiciones controladas [1].

Sin embargo, los avances en química orgánica, bioquímica y exobiología ofrecen hipótesis cada vez más plausibles sobre los procesos químicos que dieron origen a la vida desde la materia inorgánica.

En este documento mostraré algunos de estos procesos, definiendo una serie de reacciones químicas con los productos y condiciones provistos por las reacciones previas. Así, paso a paso, partiremos de los componentes presentes durante el Hádico hasta llegar a algunos de los monómeros que conforman la vida en nuestro planeta [1].

## 2. CONDICIONES GEOCLIMÁTICAS DEL HÁDICO

El término *Eón Hádico* hace referencia a Hades, dios griego del inframundo. Esto es debido a que, hasta hace poco, creíamos que este período, que comenzó hace unos 4567 millones de años, fue una época completamente inhóspita para el surgimiento de la vida: Un mundo árido y seco, con condiciones extremas de temperatura y radiación ultravioleta, cubierto por volcanes en erupción y magma, y frecuentemente golpeado por meteoritos [1]. La ausencia de agua líquida en este periodo señalaba que el surgimiento de los componentes orgánicos debió haber

sucedido en un periodo posterior.

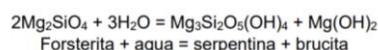
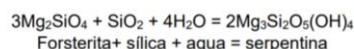
Sin embargo, mediante estudios de la temperatura de este periodo gracias al análisis de modelos termodinámicos y densidades de impurezas de titanio en el circón, parece ser que la temperatura media en este periodo fue bastante menor de lo que se creía en un inicio (unos 680°C) [1][2].

Bajo estas condiciones, no es imposible imaginar que en algún punto de los 567 millones de años que duró este eón surgiese algún momento en el que la temperatura bajase lo suficiente como para permitir la presencia de agua líquida. Concretamente, se estima que pudo haber agua condensada sobre la superficie terrestre hace unos 4400 millones de años [1].

El agua condensada sobre un manto terrestre indiferenciado y aún en formación facilitaría la interacción de silicatos de hierro y magnesio (componente principal de rocas ultramáficas), dando así lugar al primer paso de la abiogénesis mediante una reacción, en un inicio, inorgánica: la serpentinización [1].

### 2.1. Reacción de serpentinización

La reacción de serpentinización, observable en la Fig. 1, debe su nombre a uno de los productos de su reacción: la serpentinita. Esta es en realidad, no una, sino una serie de reacciones que tienen una gran diversidad de productos. Uno de estos productos tiene gran interés para nuestra hipótesis: El H<sub>2</sub> [3].



**Figura 1:** Ejemplo de reacciones de serpentinización usando como silicatos de hierro y magnesio la Fayalita y la Forsterita. [4]

Además, como reacción secundaria, apreciable en la Fig. 2, observamos que el hidrógeno molecular puede a su vez reaccionar con CO<sub>2</sub> (presente en grandes cantidades gracias a la expulsión de gases de origen volcánico) para dar CH<sub>4</sub>, una molécula orgánica simple.

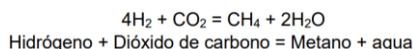


Figura 2: Reacción secundaria de interacción del CO<sub>2</sub> volcánico con H<sub>2</sub> de la serpentinización para dar CH<sub>4</sub> [4]

A pesar de que existan diversas reacciones conocidas y utilizadas en la industria para obtener estos dos compuestos, la gran mayoría se basa en la descomposición de hidrocarburos y otros compuestos orgánicos; es decir, estaríamos partiendo desde los productos que queremos obtener. Sin embargo, mediante esta reacción obtenemos, partiendo de compuestos inorgánicos, productos necesarios para llevar a cabo reacciones orgánicas complejas. Este es, por tanto, el primer paso para superar el primer escalón de la escalera de la abiogénesis.

### 3. HIPÓTESIS DE SÍNTESIS ABIÓTICA

A medida que la roca ultramáfica se fue agotando por la reacción de serpentinización, habría un decrecimiento en la proporción de los gases H<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> [1]. Sin embargo, durante un periodo de tiempo difícil de determinar, podemos deducir que habría una convivencia entre los gases CO y CO<sub>2</sub> expulsados de las capas profundas de la Tierra y el CH<sub>4</sub> y H<sub>2</sub> provenientes de la serpentinización. En los subapartados siguientes presentamos algunas de las reacciones de síntesis orgánica que pudieron haber surgido con estos compuestos.

#### 3.1. Proceso Fischer Tropsch (FT)

Este proceso que se muestra en la Fig. 3, es la base de la creación de hidrocarburos lineales de longitud de cadena variable a partir de CO, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> [1].

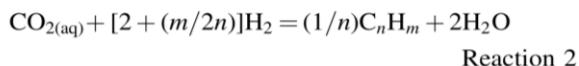
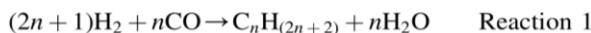


Figura 3: Reacción de obtención de hidrocarburos a partir de H<sub>2</sub> y CO ("Reaction 1") y CO<sub>2</sub> ("Reaction 2") [6]

El proceso FT se usa actualmente en la industria principalmente para crear combustibles sintéticos, pero en el contexto de la Tierra primigenia, podría haber sido una de las reacciones clave que dieron lugar a biomoléculas tales como los ácidos grasos. Cabe destacar el trabajo de Hayatsu y Anders quienes, añadiendo NH<sub>3</sub> a la reacción FT, obtuvieron biomoléculas nitrogenadas [6].

El problema con esta reacción es que debe llevarse a cabo en un ambiente de altas temperaturas y presiones en un entorno acuoso, y con un catalizador capaz de disociar el CO y el CO<sub>2</sub>, ya que estos, a diferencia del H<sub>2</sub>, se disocian muy lentamente.

Gracias a nuestros conocimientos actuales de las condiciones geoclimáticas de la Tierra durante el Eón Hádico, sabemos que dichas condiciones de presión y temperatura en medio acuoso pudieron haberse alcanzado

en las fuentes hidrotermales en fosas marinas [6].

En cuanto a los catalizadores, observamos que en la reacción de serpentinización, entre otros productos, obtenemos magnetita, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (Fig. 1), que es un mineral de óxido de hierro Fe(II)-Fe(III) capaz de catalizar esta reacción. Además, hay otros muchos compuestos que podrían haber estado presentes en menor medida, tales como el sulfuro de molibdeno, sulfuro de níquel o el sulfuro de tungsteno [6][7].

#### 3.2. Experimento de Miller-Urey

Esta es quizás la reacción con más relevancia histórica, dado que fue la primera en aportar luz sobre la síntesis de aminoácidos a partir de componentes simples.

La base de este experimento fue simular el ciclo del agua en un entorno similar al Eón Hádico.

Primero, Miller disolvió H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> (moléculas que ahora sabemos, podrían haber sido obtenidas por serpentinización) y NH<sub>3</sub> (un gas comúnmente expulsado por volcanes y traído por meteoritos) en agua. A continuación, utilizó un aparato con dos matraces conectados y calentó la disolución presente en el primero de los matraces para favorecer la evaporación, pasando esta hacia el segundo matraz, como se muestra en la Fig. 4. En ese momento, el agua evaporada era sometida a fuertes cargas eléctricas (simulando las tormentas y rayos que debieron abundar durante este eón). Una vez sometida a esta fuente de energía, se hacía pasar por un condensador para regresar al medio acuoso [8].

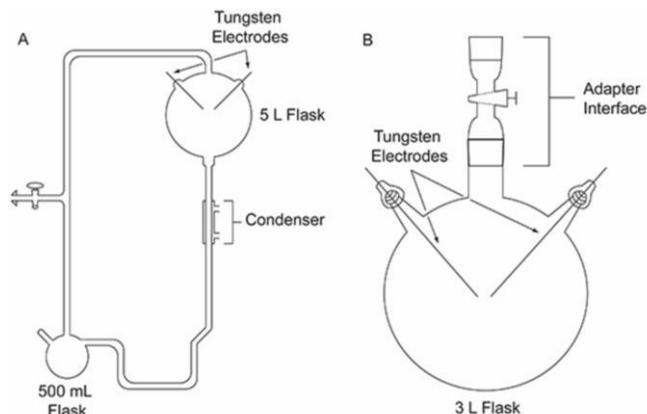


Figura 4: Aparatos utilizados por Miller (A) y versión posterior simplificada del mismo (B) [8]

Este fue el experimento inicial, pero posteriormente se ha repetido cambiando ligeramente los componentes de la disolución: añadiendo N<sub>2</sub> (que se puede obtener en pequeñas cantidades como subproducto de una reacción de NO y NO<sub>2</sub>, gases de origen volcánico) y CO<sub>2</sub>.

La genialidad de este experimento fue demostrar la posibilidad de que, en las condiciones dadas, con los compuestos agregados, obtuviésemos como producto ciertas moléculas orgánicas e incluso biomoléculas: α-aminonitrilos (precursores de aminoácidos), aminoácidos no protéicos e incluso más de 20 tipos de aminoácidos protéicos racémicos [8].

Para comprender mejor cómo se obtienen dichos biocompuestos, podemos distinguir dos fases.

Primero, con obtención de compuestos intermedios: el formaldehído, el cianuro de hidrógeno y la formamida, que podemos observar en la Fig. 5.

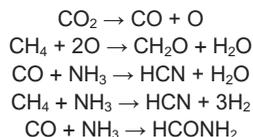


Figura 5: Posibles reacciones de obtención de formaldehído ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), cianuro de hidrógeno ( $\text{HCN}$ ) y formamida ( $\text{HCONH}_2$ ).

A continuación, con los compuestos de esta primera fase podremos llevar a cabo una serie de reacciones con las que superaremos finalmente el primer filtro de Fermi: el paso de materia inorgánica a biomoléculas.

#### 4. SÍNTESIS DE MONÓMEROS BIOLÓGICOS

¿Qué surgió antes, el ADN que codificaba proteínas, o las proteínas, que, entre otras funciones, se encargan de la replicación del ADN? Esta es una de las paradojas más frecuentes en química prebiótica, al estilo de la paradoja del huevo o la gallina.

Si bien no está en mi mano dar una respuesta a esta pregunta, aquí presento una serie de reacciones por las cuales sería posible la síntesis de los dos monómeros biológicos más importantes: los aminoácidos y los precursores de las bases nitrogenadas.

##### 4.1. Aminoácidos: Reacción de Strecker

Como ya he introducido en el experimento de Miller-Urey, queda probado que es posible crear aminoácidos a partir de las condiciones y compuestos dados. Sin embargo, no he explicado el mecanismo de reacción aceptado para la obtención de estos productos: la reacción de Strecker, que podemos observar en la Fig. 6.

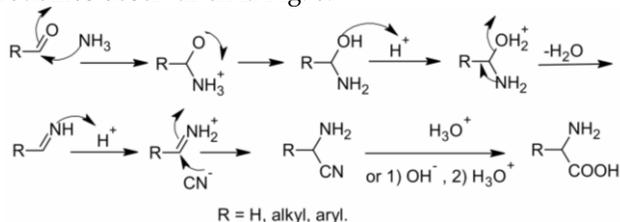


Figura 6: Reacción genérica de Strecker [6]

Esta reacción comienza, en nuestro caso, con el formaldehído, aunque podría darse con otro compuesto portador de un grupo carbonilo.

El formaldehído reacciona con  $\text{NH}_3$ , que actúa como nucleófilo, atraído por la carga parcial positiva del carbono creada por la fuerza inductiva del grupo carbonilo. Tras el ajuste de cargas en medio ácido, el alcohol aceptará otro protón y se convertirá en un grupo saliente en forma de  $\text{H}_2\text{O}$ .

El  $\text{NH}_2$  se unirá al carbono con un doble enlace, donando y aceptando un protón en el proceso. Esto crea una estructura resonante en la que el carbono y el nitrógeno comparten una carga positiva.

El  $\text{HCN}$  deprotonado (por acción del amoníaco [9]) actúa como nucleófilo y se une al carbono por su carga positiva compartida de forma resonante con el grupo  $\text{NH}_2^+$ , carga que desaparece tras la unión.

En medio acuoso ácido, el  $\text{H}_3\text{O}^+$  reaccionará con el grupo nitrilo, realizando la hidrólisis de nitrilo, para dar un grupo carboxilo, obteniendo, finalmente, la estructura del aminoácido; en nuestro caso, la glicina.

Este mecanismo de reacción muestra por qué los aminoácidos resultantes son racémicos: tanto el grupo  $\text{NH}_2$  como el grupo  $\text{CN}^-$  atacan a estructuras de geometría trigonal plana. Como los ataques electrófilo y nucleófilo (respectivamente) pueden suceder por las dos caras del plano, el orden de los sustituyentes cambiaría en cada caso, formándose así compuestos tanto R como S.

En el caso de nuestro ejemplo, como la glicina no es quiral, esto no aplica, pero si el grupo R fuese cualquier sustituyente distinto a los demás, sí podríamos obtener mezclas racémicas [6].

##### 4.2. Bases Nitrogenadas: Purinas y Pirimidinas

Las bases nitrogenadas son el componente más importante de los ácidos nucleicos. Estas se pueden dividir en dos, atendiendo al heterociclo que conforma su base estructural: pirimidinas y purinas.

Existen multitud de teorías y reacciones viables para la síntesis de estas moléculas; sin embargo, he elegido una ruta que parte de las moléculas que hemos obtenido en los procesos anteriores: la formamida, el  $\text{NH}_3$  y el  $\text{HCN}$ .

Si bien esta reacción tiene un mecanismo de reacción de gran complejidad, que podéis ver detallado en la referencia nº 8, nos centraremos en la versión simplificada de esta reacción, apreciable en la Fig. 7.

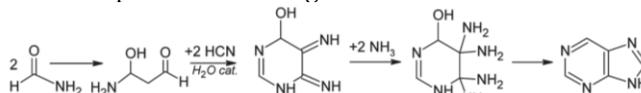


Figura 7: Formación de precursores de pirimidinas (molécula 3) y moléculas de purinas (molécula 5) [9]

En este proceso, la formamida (molécula 1) reaccionará consigo misma para dar un dímero de formamida [9]. Tras esto, puede reaccionar con 2 moléculas de  $\text{HCN}$  para dar la molécula 3 (Fig. 7), la 6-hidroxi-4,5-diimino-3,4,5,6-tetrahidropirimidina, precursor directo de las pirimidinas. Este paso necesita una gran energía de activación, pero se ha observado que moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$ , ya presentes en forma líquida durante el Hádico, pueden actuar como catalizador. De esta forma, la energía de activación pasa de 43.8 kcal/mol a 35.6 kcal/mol [9].

La molécula 3 es tanto un precursor de las pirimidinas como de las purinas. Para llegar a las purinas, es necesario agregar 2 moléculas de  $\text{NH}_3$  y otra molécula de formamida, como podemos apreciar en la Fig. 8 [9].

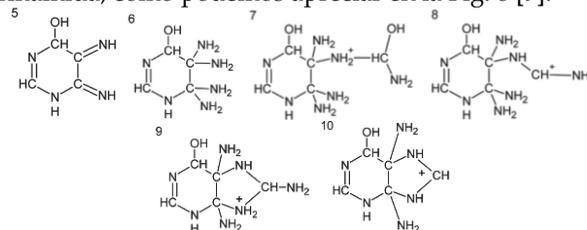


Figura 8: Compuestos generados en las etapas de la formación de precursor de purinas a partir de 6-hidroxi-4,5-diimino-3,4,5,6-tetrahidropirimidina [9]

Esta segunda parte de la reacción también se beneficia de la catálisis de agua para estabilizar los carbocationes y cationes de grupos amino intermedios. Todas estas reacciones (Fig. 7 y 8) deben darse en un medio ácido que favorezca la donación y aceptación de protones [9]. Este medio ácido puede haber sido aportado por el contacto del CO<sub>2</sub> con el H<sub>2</sub>O en el que se llevarían a cabo las catálisis, por ejemplo.

Pese a que no hayamos obtenido directamente las 5 bases nitrogenadas que conforman los ácidos nucleicos de la vida (Adenina, Guanina, Citosina, Timina y Uracilo), hemos conseguido importantes precursores a partir de los cuales se obtienen los mismos. Una investigación en mayor profundidad sería necesaria para concluir este punto; sin embargo, parece una hipótesis plausible la posibilidad de que pudieran haber aparecido estos precursores durante el Eón Hádico, ya que el proceso de la reacción no implica la utilización de catalizadores de metales de transición, o reacciones redox cuya abundancia en este período desconocemos [9].

## 5. CONCLUSIÓN

Tras realizar este recorrido, paso a paso, intentando probar la posibilidad del surgimiento de biomoléculas durante el Eón Hádico, queda abierta una puerta a la solución del primer problema de la abiogénesis que propusieron científicos como Darwin o Aleksandr Oparin: el paso de la materia inorgánica a los biocompuestos que forman los seres vivos.

Aunque fundamentada en reacciones estudiadas e incluso aplicadas en la vida real, esta hipótesis no puede demostrarse por falta de evidencia científica. Sin embargo, conocemos algunos meteoritos donde se han encontrado aminoácidos simples, lo que nos hace plantearnos la posibilidad de que este proceso se pueda dar en el medio natural.

La prebiótica nos explica no sólo de dónde venimos, sino cómo podemos buscar a nuestros semejantes en el universo. Su unión interdisciplinaria con la exobiología crea un foco de investigación poco valorado por su falta de beneficio económico inmediato. Sin embargo, creo que merece la pena la inversión para averiguar, en el proceso de conocer la historia del origen de la vida en la Tierra, si compartimos esta historia con algún ser fuera de nuestro planeta.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi profesora Ana Paula Zaderenko Partida la oportunidad de realizar este artículo, y su ayuda con las correcciones de este. Me ha servido para entender mejor un tema que me ha interesado desde que comencé a aprender ciencia.

Agradezco también a Bruno Mattia Bizzarri y N.G. Holm, cuyos artículos (mencionados en la bibliografía) me han servido de esqueleto principal para desarrollar este tema.

## REFERENCIAS

[1] Bizzarri, B. M., Saladino, R., Delfino, I., García-Ruiz, J. M., & Di Mauro, E. (2021). Prebiotic Organic Chemistry of Formamide

and the Origin of Life in Planetary Conditions: What We Know and What Is the Future. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 917. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22020917>

- [2] Borisova, A. Y., Nédélec, A., Zagrtednov, N. R., Toplis, M. J., Bohrsen, W. A., Safonov, O. G., Bindeman, I. N., Melnik, O. E., Pokrovski, G. S., Ceuleneer, G., Jochum, K. P., Stoll, B., Weis, U., Bychkov, A. Y., & Gurenko, A. A. (2021). Hadean zircon formed due to hydrated ultramafic protocrust melting. *Geology*, 50(3), 300-304. DOI: <https://doi.org/10.1130/G49354.1>
- [3] Holm, N. G., Oze, C., Mousis, O., Waite, J. H., & Guilbert-Lepoutre, A. (2015). Serpentinization and the Formation of H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> on Celestial Bodies (Planets, Moons, Comets). *Astrobiology*, 15(7), 587-600. DOI: <https://doi.org/10.1089/ast.2014.1188>
- [4] Soriano López, C. A. (2020). Cuantificación de la habitabilidad de la luna Encélado a partir de análogos metabólicos e hidrotermales terrestres (Tesis profesional, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Ciencias Biológicas). DOI: Tesis Doctoral sin DOI
- [5] Alhassan, M., Jalil, A. A., Bahari, M. B., Owgi, A. H. K., Nabgan, W., Hassan, N. S., ... Sholejah, N. A. (2023). Profitable Fischer Tropsch realization via CO<sub>2</sub>-CH<sub>4</sub> reforming; an overview of nickel-promoter-support interactions. *RSC Advances*, 13(3), 1711-1726. DOI: <https://doi.org/10.1039/d2ra06773k>
- [6] Masamba, W. (2021). Petasis vs. Strecker Amino Acid Synthesis: Convergence, Divergence and Opportunities in Organic Synthesis. *Molecules*, 26(6), 1707. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26061707>
- [7] FischerTropschFT. (2020). Animación de la catalización del proceso de Fischer-Tropsch [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=44OU4JxEK4k>
- [8] Parker, E. T., Cleaves, J. H., Burton, A. S., Glavin, D. P., Dworkin, J. P., Zhou, M., Bada, J. L., & Fernández, F. M. (2014). Conducting Miller-Urey experiments. *Journal of Visualized Experiments*, (83), e51039. DOI: <https://doi.org/10.3791/51039>
- [9] Šponer, J. E., Mládek, A., Šponer, J., & Fuentes-Cabrera, M. (2012). Formamide-based prebiotic synthesis of nucleobases: a kinetically accessible reaction route. *The Journal of Physical Chemistry A*, 116(1), 720-726. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp209886b>



**Arturo Cuevas Angulo:** Estudiante del Grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

# El alcohol y su papel protagonista en procesos industriales

Rut Praena García

**Resumen**— En el presente artículo se discutirá acerca del alcohol. Se expondrán sus características y propiedades, así como importantes reacciones químicas en las que se encuentra implicado. Además, se explicarán los procesos de fermentación alcohólica y de destilación, así como la obtención de distintos compuestos alcohólicos de alta relevancia en la industria. Se finalizará con un breve inciso sobre el impacto de las bebidas alcohólicas en el organismo.

**Palabras Claves**— Alcohol, destilación, fermentación alcohólica, grupo hidroxilo, procesos industriales

## 1. INTRODUCCIÓN

El alcohol es un compuesto químico con fórmula general  $R-OH$  (Figura 1), que se asemeja a la del agua ( $H-O-H$ ), pero con la diferencia de que uno de los hidrógenos ( $H$ ) de la molécula de agua se encuentra sustituido por un grupo alquilo ( $R$ ). Más tarde se relacionará este hecho con determinadas propiedades del alcohol. En general, ambas moléculas presentan una hibridación  $sp^3$ , sin embargo, el ángulo  $R-O-H$  del alcohol es  $108.9^\circ$ , mientras que el ángulo  $H-O-H$  del agua es de  $104.5^\circ$ . Además, el enlace  $C-O$  del alcohol es levemente más pequeño ( $142\text{pm}$ ) que el enlace  $C-C$  ( $143\text{pm}$ ) debido a que la electronegatividad del oxígeno es más alta que la del carbono. Todo ello será importante para la estabilidad y reactividad de los alcoholes. [1]

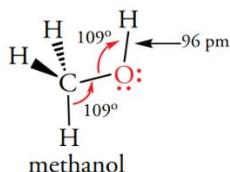


Fig. 1. Estructura de la molécula de metanol, con sus respectivos ángulos y longitudes de enlace [1]

El grupo funcional que representa a los alcoholes es el grupo hidroxilo ( $-OH$ ). Mientras que los fenoles presentan un grupo hidroxilo enlazado a un anillo aromático ( $ar-OH$ ). En la Figura 2 se observa una comparativa general entre las tres moléculas mencionadas; agua, alcohol y fenol. [2]

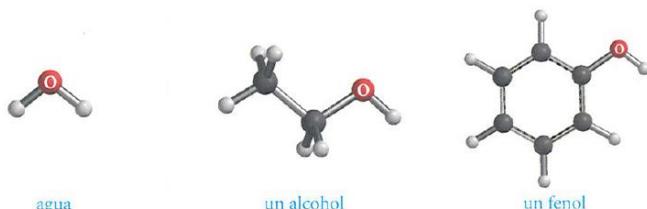


Fig. 2. Disposición espacial de una molécula de agua, de alcohol y de fenol, mediante la representación de bolas. [2]

## 2. CLASIFICACIÓN

La clasificación de los alcoholes, en cuanto a su estructura, se basa en el número de átomos de hidrógeno sustituidos por grupos orgánicos en el átomo de carbono enlazado al grupo  $-OH$ , como se puede observar en la Figura 3. Esta clasificación se correlaciona con las propiedades de los alcoholes y con determinadas reacciones que protagonizan.

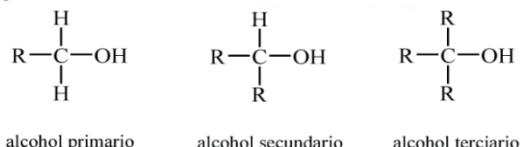


Fig. 3. Clasificación de los alcoholes según el número de sustituyentes distintos de  $H$  que presenta el carbono enlazado al grupo hidroxilo. [3]

El metanol (alcohol metílico; Figura 4), pese a su carencia de grupo  $-R$ , puede ser considerado como alcohol primario. [2]



Fig. 4. Estructura espacial mediante la representación de bolas, de la molécula de metanol [1]

## 3. PROPIEDADES

### 3.1. Punto de ebullición

Los alcoholes presentan unos puntos de ebullición más bajos que el agua, pero muy superiores a los puntos de ebullición de los hidrocarburos de masas moleculares similares y a los de los éteres. Este fenómeno se debe a la formación de puentes de hidrógeno.

La explicación de la formación de enlaces de hidrógeno en moléculas de alcohol es similar a la de la molécula de agua ( $H_2O$ ). El átomo de oxígeno tiene una elevada electronegatividad (con valor de 3.44 según la Escala de Pauling) que provoca la formación de un dipolo por la pérdida de simetría de la nube electrónica en la molécula de alcohol. Esto es porque el oxígeno atrae hacia sí mismo los electrones del hidrógeno, de manera que la molécula se polariza, quedándose el "O" con una carga parcial negativa y el "H" con una carga parcial positiva. Este hecho,

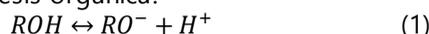
permite que se establezcan fuerzas de atracción. [2]

### 3.2. Solubilidad

Los alcoholes de bajo peso molecular son miscibles en agua. Sin embargo, a medida que la cadena hidrocarbonada del alcohol se hace más larga, va disminuyendo su solubilidad en agua, y por el contrario aumentando su solubilidad en alcanos. Además, los alcoholes de cadena corta disuelven sales. [2]

### 3.3. Acidez

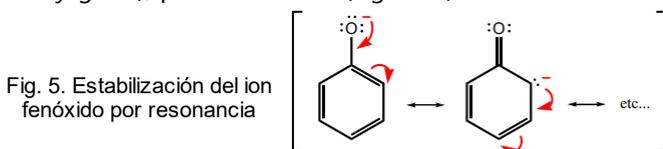
Los alcoholes y los fenoles son ácidos débiles, al igual que el agua. Sin embargo, los alcóxidos (bases conjugadas de los alcoholes; Ecuación 1) son bases fuertes de gran importancia en síntesis orgánica.



A igualdad de tamaño: si la molécula de alcohol presenta un halógeno, al ser más electronegativo que el carbono, será capaz de estabilizar el anión alcóxido por efecto inductivo creando una carga parcial positiva sobre la molécula de carbono, lo cual aumenta la acidez de la molécula. Debido a ello, los nucleófilos con un componente halogenado son tan utilizados en las reacciones con alcoholes, ya que permiten que se lleven a cabo determinadas reacciones químicas de gran importancia como la sustitución nucleófila.

Nota: En cuanto a la estabilización por efecto inductivo; los sustituyentes atractores de electrones aumentan la acidez mientras que los dadores de electrones la disminuyen.

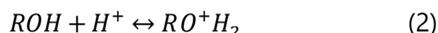
Por otra parte, los fenoles son más ácidos que los alcoholes debido a que la presencia del anillo de benceno estabiliza la carga negativa del ion fenóxido (base conjugada), por resonancia (Figura 5).



Nota: Cuanta mayor estabilidad por resonancia, más ácido es el alcohol.

### 3.4. Basicidad

Los alcoholes y fenoles pueden actuar como bases débiles (Ecuación 2). Los pares de electrones libres que presenta el átomo de oxígeno a su alrededor son los que les confieren el carácter básico.



## 4. REACCIONES CON ALCOHOLES

### 4.1. Reactividad de alcoholes

Las distintas reacciones de los alcoholes pueden estar divididas en dos grupos principales:

1. Las reacciones que conllevan la ruptura del enlace entre el átomo de oxígeno y el átomo de hidrógeno perteneciente al grupo hidroxilo (RO-H). Estas serían análogas a las reacciones de ácido-base que

sufre la molécula de agua. [2], [3]

- a. Formación de sales (alcóxidos)
  - b. Reacción con reactivos de Grignard
  - c. Formación de ésteres
  - d. Formación de éteres. Síntesis de Williamson
2. Las reacciones que suponen la ruptura del enlace ROH entre el átomo de oxígeno y el átomo de carbono (perteneciente al grupo alquilo R). [2], [3]
    - a. Deshidratación (reacción de eliminación)
    - b. Formación de halogenuros (reacción de sustitución)
    - c. Oxidación

### 4.2. Preparación de alcoholes

Existen múltiples métodos, se destacarán los siguientes: [3]

- Obtención a partir de reactivos de Grignard
- Por reducción de compuestos carbonílicos
- A partir de alquenos
- Mediante hidrólisis de halogenuros de alquilo

## 5. PROCESOS INDUSTRIALES EN LOS QUE EL ALCOHOL ADQUIERE UN PAPEL PROTAGONISTA

### 5.1. Fermentación alcohólica

La fermentación es un proceso catabólico de oxidación incompleto que presenta las siguientes características:

- Se trata de un proceso anaeróbico
- El aceptor final de electrones y protones es un compuesto orgánico
- La síntesis de ATP es a nivel de sustrato

Las fermentaciones son propias de microorganismos, como determinadas bacterias y levaduras. Sin embargo, algunas como la fermentación láctica puede llevarse a cabo en el tejido muscular de los animales cuando no llega suficiente oxígeno a las células. Se distinguen varios tipos de fermentaciones según la naturaleza del producto final:

- ✚ Fermentación alcohólica
- ✚ Fermentación láctica
- ✚ Fermentación butírica
- ✚ Putrefacción

En el presente artículo nos centraremos en la fermentación alcohólica.

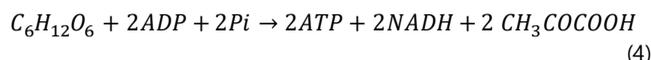
De manera básica, se puede definir la **fermentación alcohólica** como la transformación de ácido pirúvico en etanol y dióxido de carbono, tras una previa glucólisis de la glucosa. Suele producirse cuando ciertos hongos unicelulares, como levaduras del género *Saccharomyces*, están catalizando mediante respiración un líquido rico en azúcares y agotan el oxígeno disponible. En ese momento estos organismos continúan el catabolismo mediante fermentación.

Dependiendo del sustrato y de la especie de levadura, se pueden obtener bebidas alcohólicas como: vino (*S. ellypsoideus*), sidra (*S. apiculatus*), cerveza, *whisky* o ron (*S. cerevisiae*). Además, mediante la fermentación alcohólica (Ecuación 3) también se pueden conseguir alimentos como el pan.

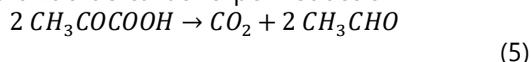
La reacción global de la fermentación alcohólica es:  
 $C_6H_{12}O_6 + 2ADP + 2Pi \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2 + 2ATP$  (3)

Un esquema de las reacciones (ecuaciones 4, 5 y 6) que se llevan a cabo durante el proceso son las siguientes:

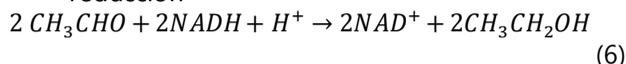
i. Glucólisis



ii. Transformación del ácido pirúvico en acetaldehído y dióxido de carbono por reducción



iii. Transformación del acetaldehído en etanol por reducción



Como productos secundarios pueden formarse otras moléculas orgánicas como glicerina, ácido succínico y ácido acético. [4]

## 5.2. Obtención de acetato de etilo por destilación mediante una reacción de esterificación

Así como expone Juan Luis del Rio [5], la destilación es "una operación unitaria que sirve para separar los componentes de una mezcla con base en sus diferentes presiones de vapor. En la destilación se pueden separar mezclas en sus componentes individuales [...]". Ejemplos: separación en crudo de petróleo en gasolina, diésel, etc. Se trata, gracias a ello, de una técnica de separación empleada con alta frecuencia en la industria.

En la destilación reactiva se lleva a cabo una reacción química y una separación en un mismo mecanismo. Actualmente, a nivel industrial, sus aplicaciones más destacables son las reacciones de esterificación y de esterificación, ya que se ven limitadas por su equilibrio químico.

**Esterificación de Fisher** (Ecuación 7 y Figura 6): "reacción directa de un ácido carboxílico con un alcohol primario o secundario catalizada por ácido concentrado." [5]

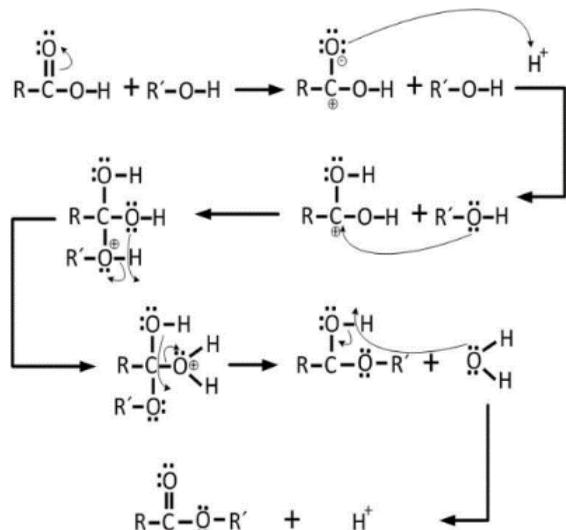
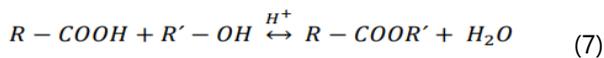


Fig. 6. Mecanismo de reacción de la Esterificación de Fisher. [5]

El acetato de etilo puede obtenerse a partir de la esterificación de ácido acético y etanol (Ecuación 8 y Figura 7) empleando como catalizador ácido concentrado (como HCl o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). [5]

Reacción global:

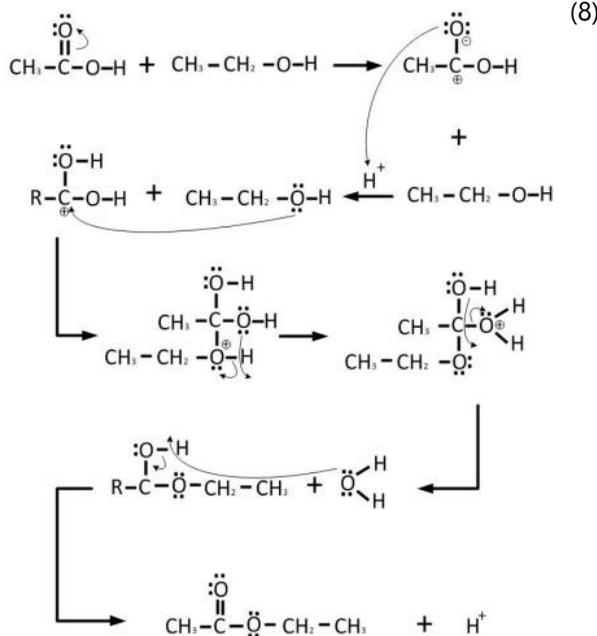
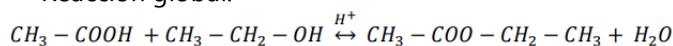
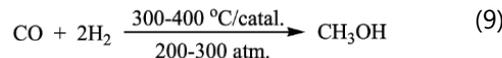


Fig. 7. Mecanismo de reacción de la obtención de acetato de etilo mediante la esterificación de Fisher. [5]

## 5.3. Obtención de alcohol metílico

El alcohol metílico también se puede conocer como "alcohol de madera", debido a que antiguamente se extraía por destilación destructiva de la madera. El metanol puede ser producido industrialmente mediante un método que involucra una reacción entre el hidrógeno y el monóxido de carbono a altas presiones y temperaturas en presencia de un catalizador (cromito de zinc u óxido de zinc). Observar Ecuación 9.



Usos: disolvente, anticongelante, combustible para aviones de retropropulsión, ... También, se emplea como un importante intermediario en la industria química para obtener determinados compuestos como: formaldehído, éter dimetílico, cloruro de metilo, etc. [2], [6]

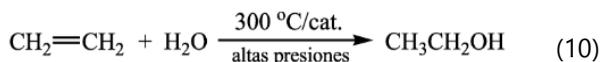
Toxicidad: su ingestión puede provocar ceguera permanente. [2]

## 5.3. Obtención de alcohol etílico

El etanol participa en diversas bebidas alcohólicas (por ejemplo; cerveza, vino, ron) como el ingrediente intoxicante. En estas bebidas, el alcohol etílico se obtiene por fermentación del residuo de procesamiento de la caña de azúcar, o del almidón presente en el grano, el arroz, la patata, ... mediante un proceso de transformación de los glúcidos (glucosa) contenidos en estos alimentos, en etanol, como ya se ha explicado. Una vez concluida la fermentación, el alcohol obtenido se separa y purifica

mediante destilación, obteniéndose una mezcla al 96.6% de alcohol, siendo el resto agua. Para la obtención de etanol puro, se puede eliminar el agua del alcohol mediante un proceso químico como, por ejemplo, por calentamiento con óxido de calcio, seguido de la destilación del alcohol seco para separarlo del hidróxido de calcio resultante.

No obstante, actualmente a nivel industrial, el alcohol etílico suele obtenerse por hidratación del eteno (Ecuación 10): reacción de adición de una molécula de agua al compuesto eteno bajo condiciones de 300°C y de altas presiones sobre un catalizador sólido.

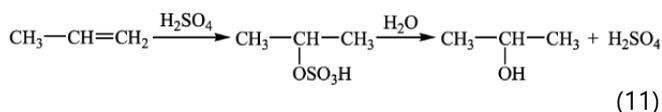


También, puede producirse etanol a partir de un método de reducción del acetaldehído, siendo este último obtenido por hidratación del acetileno. Sin embargo, este proceso presenta una menor rentabilidad industrial y es, por tanto, empleado con menos frecuencia. [6]

Usos del alcohol etílico: disolvente, antiséptico, combustible, intermediario en la formación de otros compuestos químicos industriales como: ácido acético, acetato de etilo (ya explicado), cloroformo, éter, ... [2], [6]

### 5.3. Obtención de alcohol isopropílico

Se puede producir por una serie de reacciones en cadena (Ecuación 11): el propeno líquido reacciona con ácido sulfúrico, así el producto obtenido (sulfato de isopropilo) se hidroliza y el alcohol se recupera por destilación. [6]



Usos: disolvente, esterilización del instrumental quirúrgico, productos de limpieza y productos de cuidado personal. [2], [6]

## 6. IMPACTO DE LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS EN EL ORGANISMO

Así como comunica el *National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* [7], el consumo de alcohol en exceso afecta perjudicialmente al organismo. De manera general, el nivel de gravedad puede depender de la cantidad consumida, el grado de alcohol de la propia bebida, la continuidad de la ingesta, la edad, la salud y la propia constitución biológica del individuo, entre otros.

El alcohol principalmente puede tener efectos en los sistemas cardiovascular, digestivo, nervioso e inmunológico, entre los que destacan los órganos hígado y cerebro. Además, múltiples estudios confirman la relación entre el excesivo consumo de alcohol y el cáncer. El *National Cancer Institute*, explica esta correlación en su página web "[Alcohol and Cancer Risk](#)" [8], donde expone los motivos, las evidencias, la influencia genética, el impacto en el organismo y el efecto que se produce cuando se combina con el tabaco.

## 7. CONCLUSIONES

La molécula de alcohol se caracteriza por la presencia de un grupo hidroxilo que le confiere características que repercuten en la estructura y en las propiedades del compuesto. Según la naturaleza del compuesto alcohólico y de las condiciones a las que se someta, este puede sufrir diversas reacciones químicas que permiten la síntesis de nuevos compuestos.

Diversos compuestos que surgen a partir de procesos en los que el alcohol participa, presentan alta relevancia en la industria y/o en la biología. Por ejemplo, la glucólisis es una ruta metabólica, producida en el citoplasma de la célula, que juega un importante papel en el organismo para posibilitar procesos como la respiración celular y la fermentación. Asimismo, la glucólisis también es necesaria en, por ejemplo, métodos de fermentación alcohólica para la obtención de productos industriales y bebidas alcohólicas.

Por otra parte, para la separación y formación de alcoholes con mayor purificación se pueden llevar a cabo procesos de destilado que permiten producir bebidas alcohólicas con mayor grado de alcohol. Finalmente, como explica la *Organización Mundial de la Salud*, el consumo excesivo de estas bebidas puede conllevar efectos desfavorables no solo en la salud, sino también en la seguridad y en el ámbito socioeconómico del individuo. Las repercusiones pueden ser duraderas e, incluso, tener consecuencias mortíferas; el cáncer es un claro ejemplo de ello. Es por esto por lo que se recomienda un consumo moderado y responsable de alcohol.

## REFERENCIAS

- [1] R.J. Ouellette y J.D. Rawn, *Organic Chemistry: Structure, Mechanism, and Synthesis*, Elsevier, Saint Louis, p. 43, 2018
- [2] H. Hart, *Química orgánica*, Duodécima edición, Mc Graw Hill, 2007
- [3] R. Paredes, *Introducción a la química orgánica*. Calif: Universidad del Valle, pp. 233, 236-238, 249, 2011.
- [4] A. Jimeno, L. Ugedo y M. Ballesteros. *Biología. Serie Observa*. Santillana Educación, Madrid: Tres Cantos, pp. 204-205, 2016
- [5] J.L. del Río, "Propuesta de la obtención de acetato de etilo, utilizando solo un equipo para la reacción química y la separación por destilación a partir de ácido acético y etanol", Tesis Doctoral, Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas, Instituto Politécnico Nacional, México D.F., 2016
- [6] R. Paredes, B. Yates y H. F. Zuluaga, *Introducción a la química orgánica*, Programa Editorial Universidad del Valle, Calif, pp. 254-255, 2011.
- [7] Web del National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA). Alcohol's Effects on the Body. <https://www.niaaa.nih.gov/alcohols-effects-body>
- [8] Web del National Cancer Institute (NCI). Alcohol and Cancer Risk. <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/alcohol/alcohol-fact-sheet#>



Rut Praena García es una estudiante que cursa el grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.