

SÍLICE DE LAS ALGAS DIATOMEAS (CLASE *Bacillariophyceae*) COMO MATERIAL COMPLEJO Y SU IMPORTANCIA NANOTECNOLÓGICA

SILICA FROM DIATOMEAS SEAWEED AS COMPLEX MATERIAL AND ITS IMPORTANCE IN NANOTECHNOLOGY

Maria Colín-García^{1,2}, Alejandro Heredia^{2,3}, Carina T. Dos Santos-Rodríguez⁴,
Etelvina Figueira⁴, Salomé F.P. Almeida⁵, Vladimir A. Basiuk³, Andrés
Rodríguez-Galván², Engel G. Vrieling⁶

¹ Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología, Ciudad Universitaria, 04510, México, D.F. Fax: (52) (55) 5550 6644

² Instituto de Ciencias Nucleares Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior C.U. Apdo. Postal 70543. 04510 México, D.F., México. Fax. (+52) 55 56 16 22 33

³ Nanotechnology Research Division, Centre for Mechanical Technology & Automation, University of Aveiro, 3810193 Aveiro, Portugal

⁴ Centro de Biología Celular, Departamento de Biología, Campus de Santiago, Universidad de Aveiro, 3810193 Aveiro, Portugal

⁵ GeoBioSciences, GeoTechnologies and GeoEngineering (GeoBioTec) Research Unit and Department of Biology, University of Aveiro, 3810193 Aveiro, Portugal

⁶ Groningen Biomolecular Sciences & Biotechnology Institute GBB Coordinating Office Postal address: P.O. Box 11103, 9700CC Groningen

Autor para correspondencia: mcolin@nucleares.unam.mx y aheredia@nucleares.unam.mx.

Manuscrito recibido el 15 de marzo de 2012. Aceptado, tras revisión, el 18 de febrero de 2013.

Resumen

La presencia de depósitos minerales es muy común en microorganismos, plantas, hongos y mamíferos. Estos organismos son, por lo tanto, un modelo natural excelente para estudiar la relación entre las principales partes que los componen, es decir la fase biopolimérica y la mineral. La importancia de este tipo de estudios se relaciona directamente con la nanotecnología, una rama científica relativamente reciente, encargada de estudiar los fenómenos químicos y físicos a escalas menores a los 500 nm. Cuando el sistema de estudio tiene importancia biológica, posee estructuras biológicamente activas o procede de un sistema biológico, se llama entonces bionanotecnología. Este es el caso del estudio de la biomineralización en las algas diatomeas. Esta línea de investigación tiene alta relevancia por la dificultad de producir micro y nanoestructuras altamente controladas de dióxido de silicio o sílice (SiO₂), un tipo de vidrio que tiene potencialmente aplicaciones tecnológicas en liberación de drogas, celdas solares y materiales cerámicos de alto rendimiento.

Los factores que afectan la geometría, las propiedades mecánicas y fisicoquímicas en estas estructuras son pobremente comprendidos, por lo que este tipo de estudios es de suma importancia. Si se logra entender las interacciones y los procesos de formación en estos sistemas que producen vidrio en entes biológicos, podremos acercarnos racionalmente a la síntesis de nuevos y sofisticados materiales nanoestructurados, con aplicaciones en una gran gama de áreas que van desde la nanotecnología (semiconductores híbridos) hasta la biología y biomedicina (biomateriales y estructuras liberadoras de drogas). En el presente trabajo se hace un esbozo "ascendente" (*bottomup*) de la síntesis de "biosilice" en diatomeas donde se enfatiza la importancia de este fenómeno en la nanotecnología.

Palabras claves: biosilice, biominerales, biopolímero, vesícula de depósito de sílice (SDV).

Abstract

The presence of mineral deposition is very common in microorganisms, plants, mushrooms and mammals. These organisms are an excellent natural model to study the relation between the principal parts involved in the process, the biopolymeric and mineral phases. The importance of this kind of studies is the relation with nanotechnology. Being a relatively new science, nanotechnology studies the chemical and physical phenomena on a scale under the 500 nanometers. When the system under study has a biological significance, with active biologic structures, the term bionanotechnology is used. This is the case of the study of the biomineralization in diatoms seaweed. Due to the difficulty in the production of controlled micro and nanostructures containing silica (SiO₂), this study is relevant. The possible technological applications of this kind of crystals are drug liberation structures, photovoltaic cells and high performance ceramic materials. Factors that affect the geometry, mechanical and physicochemical properties are poorly understood, whereby this kind of studies are important. Understanding the interactions and processes involved in the production of biological crystals could yield to a rational production of new and sophisticated nanostructured material with a broad application in nanotechnology (hybrid semiconductors), biology and biomedicine (biomaterials, drug liberation structures). In the work we establish a "bottom up" draft of the synthesis of "biosilica" by diatoms emphasizing the impact in nanotechnology.

Keywords: biosilica, biominerals, biopolymer, silica deposition vesicle (SDV)

Forma sugerida de citar: Colín-García, M., A. Heredia, C.T. Dos Santos-Rodríguez, E. Figueira, S.F.P. Almeida, V.A. Basiuk, A. Rodríguez-Galván, y E.G. Vrieling. 2013. **Sílice de las algas diatomeas (clase *Bacillariophyceae*) como material complejo y su importancia nanotecnológica**. La Granja. Vol. 17(1): 5-15. ISSN: 1390-3799.

1. Introducción

Los materiales originados biológicamente, o biomateriales son estructuras altamente ordenadas, poseen características únicas; debido tanto a su composición química, como a su micro y nanoestructura. Estos materiales son también llamados compósitos (del inglés "composite" o "compuesto"), este nombre hace referencia a su naturaleza compleja, pues están formados por una parte orgánica y otra inorgánica. En nanotecnología, se les llama nanocompuestos o estructuras híbridas.

Los biominerales están compuestos por una parte amorfa y una cristalina (Carter, 1990), aunque en muchas ocasiones no se conoce completamente la composición de ninguna. Sin embargo, se sabe que existe una relación complementaria entre la fracción mineral y la fracción orgánica. La fracción mineral da a los biominerales la rigidez, mientras que la parte orgánica confiere flexibilidad.

Estos materiales se encuentran distribuidos ampliamente en la naturaleza (Schäffer *et al.*, 1997) en diferentes grupos como plantas y microorganismos, y a distintas escalas, desde organelos hasta tejidos (Watabe *et al.*, 1976). Muchas de las estructuras defensivas y locomotoras de los organismos están construidas por estos materiales; por ejemplo, huesos, dientes, las valvas de los moluscos, la frústula de las diatomeas, las espículas de las esponjas, etc.

Existen muchas clases de biomateriales de este tipo, los más conspicuos son los carbonatos, ópalo, óxidos de metales, etc. Las estructuras de estos biomateriales, en las células y los organismos, son estudiadas extensivamente por químicos, científicos de materiales y biólogos, para por un lado entender la naturaleza de los materiales y por otro, tratar de imitar los métodos naturales de síntesis de los sólidos. En este trabajo, se trata de manera particular de la biosílice, un compuesto de gran importancia natural y con posibles aplicaciones biotecnológicas. La biosílice producida por las diatomeas tiene un sinnúmero de aplicaciones industriales, sea en la nanotecnología o en procesos industriales o tecnológicos; se incluyen el uso como productos abrasivos, formando parte de desodorantes, agentes decolorantes, filtros para purificación de agua, material para separaciones cromatográficas, etc.

2. La Biosílice

El silicio es el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre y junto con el oxígeno forman el grupo más numeroso de minerales. Por su estructura interna, los minerales de silicio se dividen en dos grupos: los cristalinos, como el cuarzo; y los amorfos, como el ópalo.

Para muchos organismos, el silicio es un elemento esencial, en ellos se le encuentra formando estructuras o participando activamente en procesos metabólicos. El biomineral que forma el silicio es el sílice hidratado, llamado también ópalo; representa el segundo mineral más formado por los organismos, después de los carbonatos. La sílice (SiO_2) se encuentra en radiolarios (un tipo de protistas), coanoflagelados, algunas familias de esponjas, plantas superiores y es muy importante en las diatomeas; estos organismos son los que han sido más estudiados para esclarecer la estructura, las propiedades y los mecanismos de síntesis de la sílice.

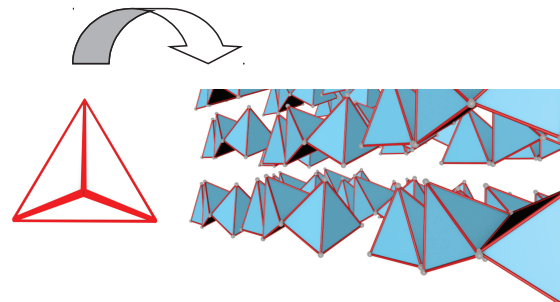


Figura 1. Modelo de la estructura interna del ópalo (sílice de origen inorgánico). En este mineral, aunque los poliedros de coordinación 4 del SiO_2 poseen la misma estructura que en el cuarzo, no hay un orden cristalino (periodicidad). Puede ser que esta falta de orden sea aprovechada por las macromoléculas para formar el sólido.

En general, los minerales se desarrollan de una forma semejante al crecimiento heteroepitaxial de los cristales. Esto quiere decir que para que un mineral cristalice se requiere de una base anterior o soporte para que los cationes y aniones se arreglen, formen el núcleo y se comience el crecimiento del cristal. En la biosílice, el compuesto no posee una estructura cristalina, por el contrario, el mineral es amorfo (Figura 1) y se le encuentra siempre acom-

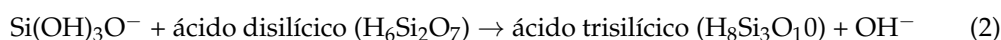
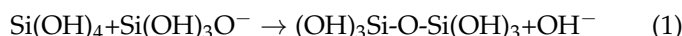
pañado por la parte biopolimérica constituida principalmente por polisacáridos, péptidos y aminoácidos (Scheffel *et al.*, 2011).

2.1 Biosilicificación

La biosilicificación se refiere a la formación de sílice hidratada amorfa (ópalo) por organismos. El mecanismo de biosíntesis no es conocido con detalle y se cree que la macromolécula que determina la mineralización de SiO₂ debe ser una molécula con regiones aminadas o por lo menos con regiones alcalinas. Es muy probable, sin embargo, que no sea solo una molécula, sino un conjunto de estructuras orgánicas, el cual de origen a la biosílice. Hasta el momento, tampoco hay un modelo consensuado de la interacción

entre la fase inorgánica y la fase biopolimérica en diatomeas a nivel molecular.

La formación de la biosilice puede ser explicada con un modelo (Figura 2). La forma soluble del silicio es el ácido ortosilícico, en el que el átomo de silicio se encuentra coordinado con cuatro grupos hidroxilo, formando un tetraedro. Esta forma es muy estable a 25°C cuando la concentración es menor a 100 ppm. Sin embargo, cuando la concentración aumenta, de 100 a 200 ppm, comienzan a producirse reacciones de autocondensación. El proceso puede ser dividido en tres fases: 1) polimerización de unidades de monómero que forma un núcleo estable con un tamaño crítico; 2) crecimiento del núcleo para formar partículas esféricas; 3) agregación de las partículas para formar cadenas ramificadas, con motivos estructurales.



y

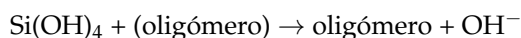
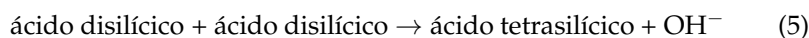
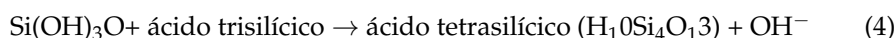
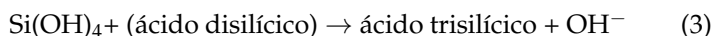


Figura 2. Reacción de polimerización del ácido silícico [Si(OH)₄], para formar el mineral amorfo. Obsérvese que se requiere la desprotonación del Si(OH)₄, reacción 1; Esto implica que se necesitan radicales OH⁻ un pH superior a 7, para que se de la polimerización; esta condición puede lograrse si la macromolécula contiene aminoácidos básicos.

2.2 Posibles macromoléculas responsables de la biosilicificación del SiO₂

En los años recientes se ha identificado tres tipos de macromoléculas, como candidatos para realizar la biosilicificación: a) las N-metilpropilaminas, b) las silicateínas y c) las silafinas. Estas moléculas son descritas a continuación.

- a) **N-metilpropilaminas**, llamadas también LCPA (Long Chain Polyamines) se encuentra en algas. Este grupo de poliaminas poseen una porción similar a la estructura de las putrescinas y está unido covalentemente a las silafinas (Figura 3).

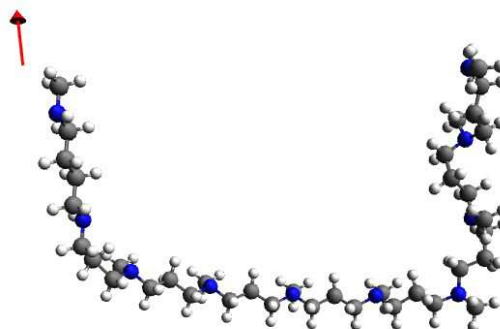


Figura 3. Poliamina de cadena larga con una sección central parecida a la putrescina. La estructura básica es –[CH₂CH₂CH₂NCH₂]⁻ (la flecha roja indica la dirección del momento dipolar de la molécula).

b) **Silicateínas** son las responsables de la silicificación en esponjas. Estas moléculas son proteínas cuya estructura ha revelado su cercanía con proteasas, como la catepsina y la papaina. En las esponjas se han identificado tres unidades: α , β y γ , que poseen secuencias muy parecidas, siendo las más abundantes las silicateínas α . La silicateína α se distingue por tener una secuencia de aminoácidos hidroxilados serina y tirosina. Un ejemplo de secuencia de esta molécula es la Ser-Ser-Cys-Thr-Tyr, Ser-Ser-Arg-Cys-Ser-Ser-Ser-Ser, que posee una gran cantidad de $-OH$ y también tioles.

Las silicateínas se caracterizan por tener un arreglo repetido de múltiples hidroxilos. Estas estructuras pueden promover la condensación de silicatos y de polímeros de siloxano orgánicamente modificados, provenientes de los alcoholes de silicio. La diferencia entre esta molécula y las otras, es que para esta sí existe un modelo de reacción química para la formación de ópalo (a pH neutros y condiciones normales de presión y temperatura). Se ha sugerido que las catepsinas en las esponjas son responsables del primer paso, en la reconstrucción del colágeno. Las silicateínas, junto con las catepsinas se encargan del ajuste fino en la síntesis de la matriz de colágeno, para la síntesis de la sílice. Las silicateínas juegan una doble función, por un lado precipitan la sílice en la matriz y por otro, toman parte de la espiculogénesis.

c) **Silafinas**, presentes en las diatomeas, se han identificado tres tipos: Silafina1A₁ (S1A₁), S1A₂ y Silafina 2 (S2). La Silafina1A₁ (S1A₁): Este tipo posee tres polipéptidos casi idénticos, ricos en lisina, arginina y serina. Silafina1A₂ (S1A₂): Es igual a la S1A pero tiene una repetición adicional del tipo S1A.

Es importante hacer notar que no se sabe si estas moléculas tienen una estructura de alfa hélice o de hoja beta. Actualmente, tampoco se sabe cómo es la interacción de estas moléculas con la fase inorgánica o el ácido silícico, aunque existen modelos donde una parte de la superficie del SiO₂ integra en el poliedro de coordinación del silicio oxígenos de la fase biopolimérica (Figura 4).

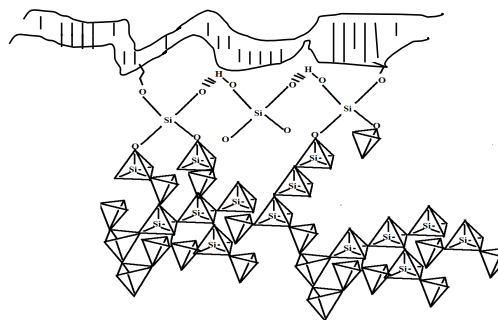


Figura 4. Modelo de interacción de la sílice (SiO₂ \cdot nH₂O) con una macromolécula de la pared celular en una alga diatomea.

3. Diatomeas

Las diatomeas son un tipo de algas, pertenecen al grupo de las Bacillariophyta se caracterizan porque sus células están rodeadas de una pared celular hecha de sílice, la frústula, que generalmente tiene dos partes no simétricas la epiteca y la hipoteca (Fig 5). Los patrones de las frústulas son específicos y se encuentran determinados genéticamente. Las frústulas están formadas por nanopartículas de sílice, recubiertas por matrices que contienen carbohidratos y proteínas.

Las diatomeas aparecen en el registro fósil en el Cretácico donde eran muy abundantes y formaron grandes depósitos de las llamadas tierra de diatomeas que han sido usadas comercialmente como abrasivos y para filtrado. Las diatomeas también son usadas como indicadores de las condiciones paleoambientales. Actualmente, las diatomeas están extendidas abundantemente en los ecosistemas marinos y dulceacuícolas, en el plancton y los sedimentos y se estima que aproximadamente el 25 % de la fijación del carbono orgánico en el planeta, se deba a las diatomeas: Las diatomeas pueden encontrarse libres o asociadas, al igual que de manera individual o formando colonias.

3.0.1 Reproducción de las diatomeas

Las diatomeas se reproducen tanto de manera sexual como asexual, principalmente lo hacen por fisión binaria; en esta división el ADN se replica, quedando en dos mitades idénticas. Cada una de las

células hijas, recibe una de las conchas de la célula madre y debe a su vez sintetizar otra. De esta manera, una de las células hijas disminuye su tamaño en cada generación, hasta que se alcanza un tama-

ño mínimo vital. Para poder restablecer el tamaño original de las células, las diatomeas deben reproducirse sexualmente, entonces las células diploides sufren meiosis (Fig 6).

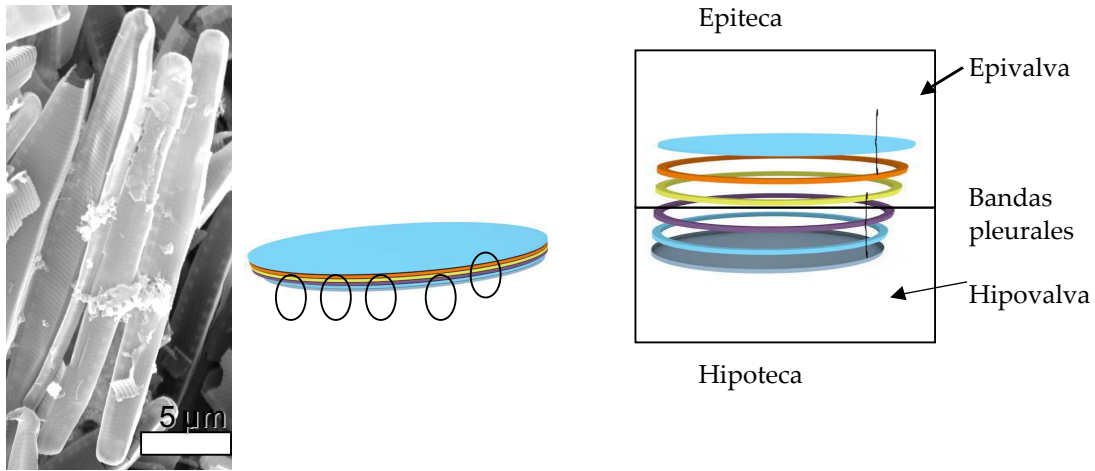


Figura 5. Diagrama que muestra la constitución de la frústula en las diatomeas. Se observan la epivalva y la hipovalva, junto con sus respectivas bandas pleurales, formando la hipoteca y la epiteca.

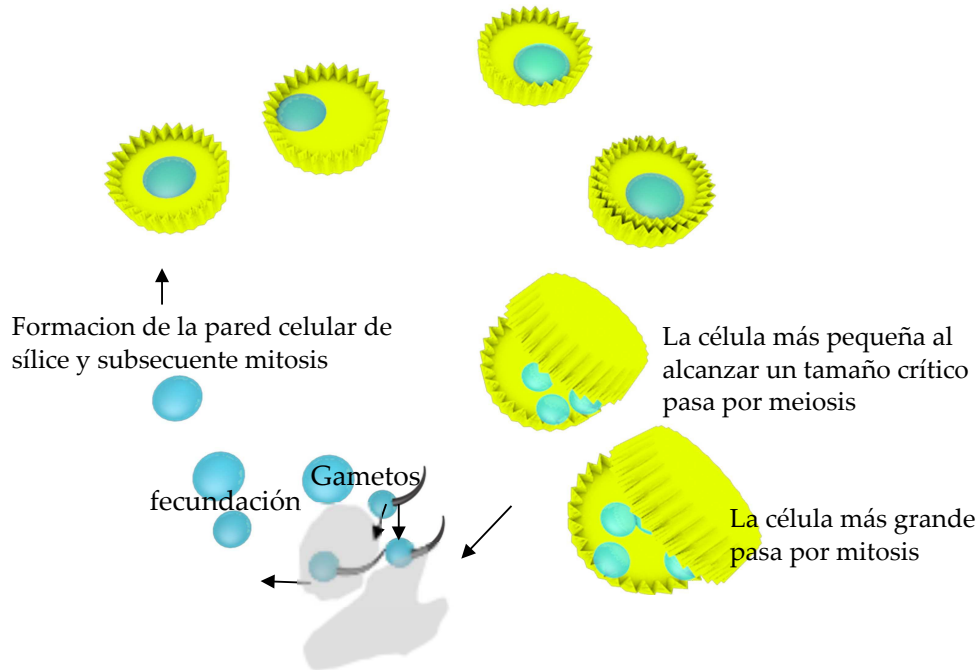


Figura 6. Reproducción sexual y asexual de las diatomeas. Después de la fecundación comienza la síntesis de la pared celular de sílice bajo un estricto control molecular específico de las especies. Su estructura molecular es actualmente muy estudiada para poder sintetizar materiales complejos.

3.0.2 Vesícula de Síntesis, o depósito, de Sílice (Silica Deposition Vesicle, SDV)

En la mayoría de los organismos que producen biosílice salvo en las plantas superiores y las lampreas, la sílice es sintetizada en las llamadas vesículas de síntesis de sílice (SDV Silica Deposition Vesicle, por sus siglas en inglés). Debido a la importancia de la SDV a continuación se describen algunas de sus características.

En las diatomeas la compleja pared, consiste en dos valvas y conjuntos de bandas entre ellas. Durante la citoquinesis la SDV es responsable de la formación de la valva, aparece entre la membrana plasmática expuesta de cada célula hija. La SDV se forma entre el centro de los microtúbulos y la membrana plasmática en una región llamada centro de formación (pattern center). La SDV se elonga formando un tubo y posteriormente aumenta de tamaño perpendicularmente hasta formar una gran vesícula, a lo largo de la pared celular. En este proceso el pH de la SDV cambia, acidificándose, como resultado del proceso de polimerización de la sílice. Algunos de los componentes después cubren la red ya polimerizada mientras que otras continúan armando la estructura sólida en mayores tamaños. Una vez que esta estructura, que ya posee la forma de valva es sintetizada, es excitada por fusión de la membrana de la SDV, este proceso es muy poco conocido. El hecho de que la frústula sea diseñada basada en una frústula anterior sugiere que existe una base genética detrás de este proceso de formación.

4. Biofísica y nanotecnología

La influencia de los procesos fisicoquímicos en los sistemas biológicos es altamente compleja, tanto que se le ha denominado "ingeniería natural biológica". La mayor parte de las estructuras sólidas en biología son amorfas (Zallen, 1983). Ejemplo de esto son las estructuras que almacenan información como el ADN y otros biopolímeros como la celulosa o colágena que organizan estructuralmente a los organismos.

Los organismos, entonces, son capaces de crear estructuras altamente ordenadas y con propiedades muy específicas, es exactamente en este punto donde la biología se encuentra con la nanotecnología (Mann, 1993). Muchos han sido los intentos por sin-

tetizar materiales que semejen a los producidos por los organismos. Muchos materiales han sido sintetizados, sin embargo, no se han podido reproducir exactamente las características de los materiales biogénicos. En muchas ocasiones, los materiales sintéticos no poseen las cualidades biomecánicas de los biogénicos, sus dimensiones o sus formas.

Los materiales derivados del silicio tienen importancia especial por sus potenciales usos para la síntesis de cerámicas, en aplicaciones electrónicas, por su alta resistencia mecánica, etc. Por eso, resulta de gran importancia conocer cómo se forman estas estructuras biológicas, pues ello posibilitará el diseño de materiales nanoestructurados que posean dichas propiedades mecánicas y estructurales que aún no se han podido alcanzar.

4.1 Interacciones mineral-orgánica en el composito

En los compositos, la parte orgánica y la inorgánica están tan estrechamente relacionadas, que muchas veces se requieren tratamientos severos, químicos o bioquímicos para separarlos. De esta relación tan estrecha se ha deducido que la parte orgánica podría regular de alguna manera el depósito del componente mineral. La importancia de conocer las interacciones entre la fase mineral y la porción orgánica radica en la posibilidad de generar un modelo de interacción y la posterior síntesis de nanomateriales de silicio, hasta el momento no desarrollados. Es exactamente en este punto de ensamblaje y síntesis de SiO₂ donde se centra el problema bionanotecnológico tanto a escala nanométrica (síntesis ordenada de la sílice), como micrométrica (síntesis de la frústula). Esto es en otras palabras, la síntesis de una estructura híbrida a partir de algo completamente desorganizado.

Una gran dificultad en el análisis de los sistemas Si-orgánico es la complejidad de estas estructuras (Figura 6, 7) que, como podrá suponerse, en las diatomeas resulta aún más complejo que en los otros casos. Para lograr elucidar dichas interacciones, el uso de algunas técnicas, como la espectroscopía infrarroja (FT-IR) para SiO₂, podrían ser de gran utilidad.

Estas complejas interacciones entre la fase orgánica y la fase mineral posiblemente son estables, controladas y se dan en distintos momentos del ciclo

de vida de la diatomea (Heredia *et al.*, 2008). Es probable que se den en la SDV y se mantengan cierto tiempo hasta que la sílice se ensambla para formar la frústula. Aunque la SDV es de diametral importancia se conoce muy poco de estos procesos en esta estructura.

Basados en el conocimiento de la biosílice, se han hecho aproximaciones a la síntesis de estructuras de SiO_2 ; y si bien no ha habido logros muy importantes, casi cualquier avance, por pequeño que sea, resulta de gran importancia en el campo. Por ejemplo, se ha logrado sintetizar microesferas de $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ y algunas microfibrillas de este mismo

material. En el primer caso, las microesferas biológicas ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ -ópalo) y las geológicas (inorgánicas), difieren aparentemente sólo en el tamaño (Fig 7 A y B).

Basados en esta estrecha relación de la parte orgánica y la inorgánica se han usado moléculas sintéticas para producir la precipitación, un proceso denominado biocatálisis. Por ejemplo, usando el péptido pR5 lograron sinterizar diferentes estructuras de sílice. Mientras que Brott *et al.* (2001), diseñaron un método para crear un composito nanoestructurado y ordenado de esferas por la incorporación de un péptido policatiónico, derivado de una silafina.

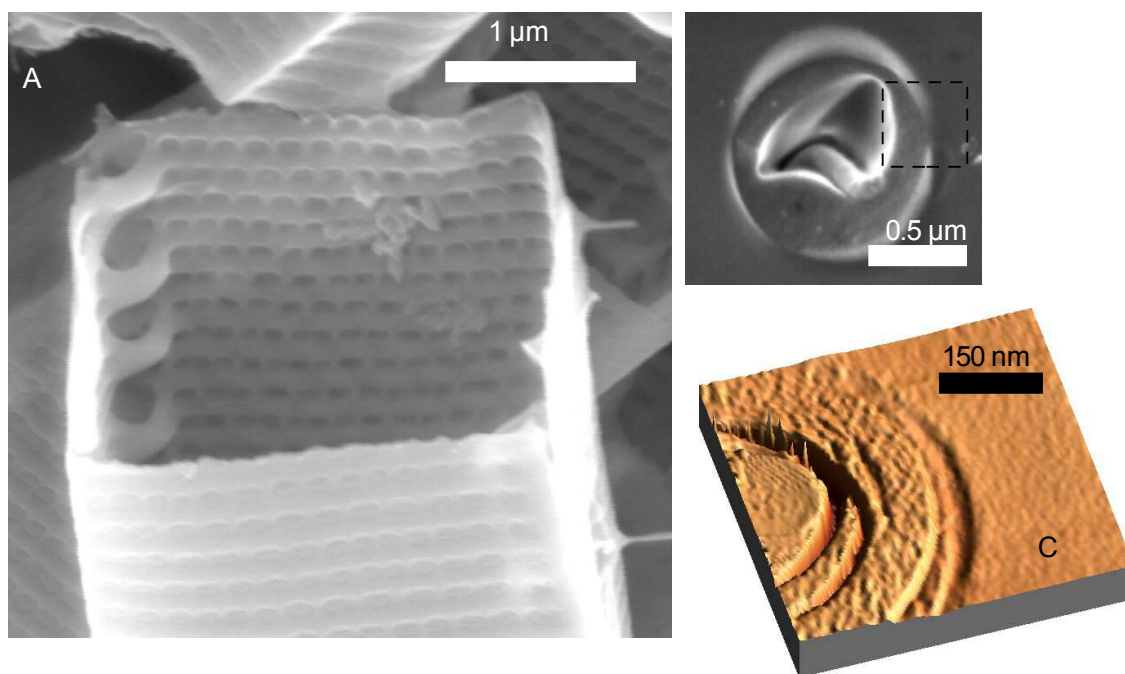


Figura 7. En las frústulas, la composición básica de la estructura son esferas de $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. A) La estructura completa es muy compleja y B) viendo por partes el biomineral se pueden apreciar las esferas procedentes de la precipitación del $\text{Si}(\text{OH})_4$ mediante macromoléculas como las silafinas. C) Se pueden apreciar las esferas a mayores escalas de detalle de la biosílice en C.

4.2 El Microscopio de Fuerza Atómica como herramienta nanotecnológica y bionanotecnológica

Los objetos más pequeños que podemos palpar son los átomos de gran tamaño y ello es posible con los microscopios de efecto túnel (STM, scanning tunne-

ling microscopy) y de fuerza atómica (AFM, atomic force microscopy) que fueron diseñados en los años ochenta. Este diseño de microscopio es el producto del trabajo del Dr. Gerard Binnig (Alemania, 1947) y Heinrich Rohrer (Suiza, 1933) de la empresa IBM en Zurich y desde luego no pudieron ser posibles, sin el trabajo previo, desarrollado desde 1931, por los Doctores alemanes Ernst Ruska (1906-1988) y Max

Knoll (1897-1969). Hasta el año 1986 se les reconoció internacionalmente y ganaron el Nobel tres de ellos, sin embargo era ya muy tarde para Knoll, quien vio la luz por última vez el 6 noviembre de 1969.

Lo que se puede hacer con el microscopio de fuerza atómica es generar una imagen en tres dimensiones debido al contacto de una punta de un material muy duro (nitruro de silicio normalmente) con la superficie de la muestra. Esta interacción se mide por que es posible que la punta en movimiento, barriendo la superficie dé una señal digital que indique qué tanto ha bajado o subido sobre la superficie. Este recorrido es el que nos dará la información necesaria para generar imágenes en tercera dimensión a diferentes niveles que bajo algunas condiciones puede llegar a ser de decenas de nanómetros (Figura 7 C).

En un principio, esta pequeña punta debió ser conductora de electricidad. Originalmente se trataba de un microscopio de efecto túnel, que se presenta cuando tanto la punta como la muestra son conductoras, generando un flujo de electrones que van de un lado a otro.

Hay varios estudios usando la microscopía de fuerza para tratar de entender la estructura y composición de la biosílice. El microscopio de fuerza atómica tiene ventajas importantes para desentrañar las pequeñas diferencias en las superficies de las frústulas que no son evidentes usando otras técnicas (Hildebrand *et al.* 2008). Con esta técnica Crawford *et al.* (2001) y Heredia *et al.* (2008) analizaron la pared celular de diatomeas *Pinnularia viridis* (Nitzsch) y *Dytilum* sp. Y vieron que está compuesta de un complejo ensamblaje de compuestos silicificados y una serie de capas orgánicas y esferas de SiO₂. Los mismos autores describieron que la pared está cubierta por un mucilago suave, no adhesivo y compresible. Almqvist *et al.* (2001) investigaron las propiedades micromecánicas y estructurales de una diatomea *Navicula pelliculosa* (Bréb.), usando AFM. Gebeshuber *et al.* (2003) usaron el AFM para estudiar varias especies de diatomeas *in vivo* (*Eunotia sudetica*, *Navicula seminulum* y una tercera especie no identificada); estos autores, determinaron el grosor del envoltorio orgánico de la frústula y siguieron la biomineralización. Hildebrand *et al.* (2009), usando esta técnica analizaron las frústulas de 16 especies de diatomeas y tomaron imágenes a nivel nano, meso y micro; llegaron a la conclusión de que la microescala tiene una influencia general en la

estructura a nivel nano y micro; esto implica que la SDV juega un papel fundamental en la formación de la estructura.

4.3 Perspectivas

Hay una gran necesidad en el desarrollo de fármacos, de técnicas bioquímicas, moleculares y genéticas para tener nuevas herramientas en las distintas áreas científicas. Los materiales silíceos tienen potencial para ser usados en diversos campos, como la microelectrónica, la optoelectrónica, la catálisis, la biomedicina, etc. Una de las ventajas de la síntesis mediada por organismos es que ésta ocurre en condiciones fisiológicas, mientras que la síntesis química requiere de condiciones extremas, como altas temperaturas, presiones o pH extremos, lo que la hace poco viable. Las diatomeas son capaces de sintetizar estructuras tridimensionales de manera rápida; lo que aún no es posible desde el punto de vista tradicional en la nanotecnología.

En el caso de la biosilificación, para que se de este desarrollo es necesario entender el funcionamiento de la SDV, para de esa forma escudriñar los detalles *in situ*. Uno de los puntos más importantes se refiere al uso de técnicas de fluorescencia. Algunos colorantes, como la rodamina 123 se unen selectivamente a la sílice haciéndola brillar, al cambiar el pH de la SDV. Para poder entender a las diatomeas completamente y con ello la síntesis de su frústula, se requiere mejorar las técnicas de cultivo, realizar estudios de la morfogénesis, además de estudiar procesos como la selección y la mutación.

5. Reflexiones finales

Los biomateriales tienen mucho aún por desvelar, constituyen un grupo de compuestos cuya síntesis y caracterización representa uno de los retos biológicos y tecnológicos más interesantes en la actualidad. Entre estos materiales la biosílice, que constituye la frústulas de las diatomeas, es un material con capacidades importantes. Las frústulas son estructuras con formas muy hermosas y con propiedades ópticas, mecánicas y de composición únicas que apenas ahora se están entendiendo. Las aplicaciones tecnológicas de estos organismos hasta ahora, han sido pocas, pero el desarrollo y la aplicación de técnicas

novedosas ampliará el conocimiento de este maravilloso grupo, posibilitando su aplicación en otras áreas.

Agradecimientos

Agradecemos al diseñador H. Heredia Barbero ((h.homero@gmail.com)) por el diseño gráfico de las figuras en el presente artículo. La figura 3 fue hecha con el programa Avogadro (an open-source molecular builder and visualization tool. Version 1.0.1.) (<http://avogadro.openmolecules.net/>)

Referencias

- Arnott, H. 1976. **Calcification in Higher plants. In: The mechanisms of mineralization in the invertebrate and plants.** The Belle W. Baruch Library in Marine Science No. 5. Univ. Of South Carolina press.
- Bell, M., Hörz y M. Zolensky. 2002. **Deformation Effects in experimentally shocked iceland spar.** Lunar and Planetary Science XXXIII.
- Binnig, G., C. F. Quate y C. Gerber. 1986. **Atomic force microscope.** Phys. Rev. Lett., 56: 930 – 933.
- Bourgeat-Lami, E. 2002. **Organic-inorganic nanostructured colloids.** Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2(1): 1 – 24.
- Carter, G. 1990. **Skeletal Biomineralization: Patterns, Processes and Evolutionary trends.** Van Nostrand Reinhold. N.Y.
- Einhorn, T. 1996. **Biomechanics of bone. In: Principles of bone biology Bilizikian.** Academic Press. USA.
- Heredia, A., L. Lozano, C. Martínez-Matías, M. Peña, A. Rodríguez-Hernández, R. Velázquez, M. García-Garduño, B. L. y O. E. 2002. **Microstructure and thermal expansion properties of ostrich eggshell.** En: *MRS Spring Meeting Symposia Proceedings.*
- Heredia, A., L. Lozano, M. Peña-Rico, A. Rodríguez-Hernández, A. Villarreal, A. Camacho, R. Velázquez, V. Basiuk, G.-G. M. y L. Bucio. **Structural principles of biopolymer-crystal interaction.** En: **17th European Society for Biomaterials Conference,** Barcelona, Spain.
- Heredia, A., A. Rodríguez-Hernández, L. Lozano, M. Peña-Rico, R. Velázquez, V. Basiuk y L. Bucio. 2005. **Microstructure and thermal change of texture of calcite crystals in ostrich eggshell struthio camelus.** Materials Science and Engineering: C, 25(1): 1 – 9.
- Heredia, A., S. Silva, C. Santos, I. Delgadillo y E. G. Vrieling. 2008. **Analysis of cross-sections of ditylum brightwelli biosilica by tapping mode atomic force microscopy and scanning electron microscopy.** Journal of Scanning Probe Microscopy, 3: 19 – 24.
- Lozano, L., M. Peña Rico, A. Heredia, A. Gomez-Cortes, R. Velázquez, E. Orozco, B. L. y J. Ocotlán-Flores. 2002. **Thermal properties of mineralized and nonmineralized type I collagen.** En: *MRS Spring Meeting Symposia, Proceedings.*
- Mann, S. 1993. **Molecular tectonics in biomineralization and biomimetic materials chemistry.** Nature, 365: 499 – 505.
- Mann, S. 2001. **Biomineralization. Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry.** Oxford University Press, U.K.
- Reusch, W. 1979. **Química Orgánica.** McGraw Hill, México D.F.
- Scheffel, A., N. Poulsen, S. Shian y N. Kröger. 2011. **Nanopatterned protein microrings from a diatom that direct silica morphogenesis.** PNAS, 108: 3175 – 3180.
- Schäffer, T., M. Viani, D. Walters, B. Drake, E. Runge, J. Cleveland, M. Wendman y P. Hansma. 1997. **An atomic force microscope for small cantilevers.** Proc. SPIE, 3009.
- Sherwood, D. 1976. **Crystals, X-Rays and Proteins.** Longman Group Ltd., U.K.
- Simkiss, K. 1976. **Cellular aspects of calcification.** The Belle W. Baruch Library in Marine Science No. 5. Univ. Of South Carolina press.
- Smith, B., T. Schäffer, M. Viani, J. Thompson, N. Frederick, J. Kindt, A. Belcher, G. Stucky, D. Morse y P. Hansma. 1999. **Molecular mechanistic origin of the toughness of natural adhesives, fibres and composites.** Nature, 399: 761 – 763.

- Stollberg, R. y F. Fitch. 1975. **Física. Fundamentos y Fronteras**. Publicaciones Cultural, México.
- Viani, M., L. Pietrasanta, J. Thompson, A. Chand, I. Gebeshuber, Kindt J.H., M. Richter, H. Hansma y P. Hansma. 2000. **Probing proteinprotein interactions in real time**. *Nature Structural Biology*, 7(8): 644 – 647.
- Viani, M., T. Schäffer, G. Palocz, L. Pietrasanta, B. Smith, J. Thompson, M. Rief, H. Gaub, K. Plaxco, A. Cleland, H. Hansma y P. Hansma. 1999. **Fast imaging and fast force spectroscopy of single biopolymers with a new atomic force microscope designed for small cantilevers**. *Rev. Sci. Instrum.*, 70(11).
- Watabe, N., V. Meenakshi, P. Blackwelder, E. Kurtz y D. Dunkelberger. 1976. **Calcareous spherules in the gastropod, Pomacea paludosa**. The Belle W. Baruch Library in Marine Science No. 5. Univ. Of South Carolina press.
- Zallen, R. 1983. **The Physics of Amorphous Solids**. John Wiley & Sons, N.Y.