

TECNOLÓGICO DE COSTA RICA  
ESCUELA DE QUÍMICA - INGENIERÍA AMBIENTAL

UNIVERSITÄT LEIPZIG  
FAKULTÄT FÜR CHEMIE UND MINERALOGIE

Proyecto Final de Graduación para optar por el grado de  
Licenciatura en Ingeniería Ambiental

**Estudio teórico de la química de espines aplicada a organismos  
fotosintéticos para su eventual uso como fuente de energía**

MONSERRATH VEGA CÁRDENAS

Cartago, junio 2020

**TEC** | Tecnológico de Costa Rica  
Ingeniería Ambiental



UNIVERSITÄT  
LEIPZIG

**“Estudio teórico de la química de espines aplicada a organismos fotosintéticos para su eventual uso como fuente de energía”**

Informe presentado a la Escuela de Química del Tecnológico de Costa Rica como requisito parcial para optar por el título de Ingeniera Ambiental con el grado de licenciatura.

**Miembros del tribunal**

  
Firmado digitalmente por ISAAC  
FABIAN CESPEDES CAMACHO  
(FIRMA)  
Fecha: 2020.08.07 19:46:21  
-06'00'

---

**Dr. Isaac F. Céspedes Camacho**  
**Director**

**ALLEN ARTURO PUENTE URBINA**  
**(FIRMA)**

---

**M.Sc. Allen Puente Urbina**  
**Lector 1**

Firmado digitalmente por RICARDO ELIAS COY  
HERRERA (FIRMA)  
Motivo: Estoy aprobando este documento  
Fecha: 2020.08.14 08:25:31 -06'00'

---

**MGA. Ricardo Coy Herrera**  
**Lector 2**

**DIANA ALEXANDRA**  
**ZAMBRANO**  
**PIAMBA (FIRMA)**  
Firmado digitalmente por  
DIANA ALEXANDRA  
ZAMBRANO PIAMBA (FIRMA)  
Fecha: 2020.08.07 15:36:41  
-06'00'

---

**Ing. Diana Zambrano Piamba**  
**Coordinador COTRAFIG**

Firmado digitalmente por RICARDO ELIAS COY  
HERRERA (FIRMA)  
Motivo: Estoy aprobando este documento  
Fecha: 2020.08.14 08:26:04 -06'00'

---

**MGA. Ricardo Coy Herrera**  
**Director Escuela de Química**

---

**M. Sc. Ana Lorena Arias Zúñiga**  
**Coordinadora Carrera de Ingeniería Ambiental**

## **DEDICATORIA**

Quiero dedicar esta tesis a mis papás que siempre han sido un apoyo incondicional en mi formación académica y en cada aspecto de mi vida, me han enseñado que con carácter y voluntad puedo lograr grandes cosas y que el trabajo duro es recompensado con una gran satisfacción. Ellos, con gran esfuerzo, han trabajado toda su vida para darme la mejor educación posible y me han formado para ser una gran profesional y persona en el futuro. Gracias por darme tantas oportunidades increíbles y por inspirarme a ser una mejor versión de mí. También quiero agradecer a mis hermanas, Mariana y María José, que sin duda han sido un soporte durante toda mi vida y han sabido apoyarme en momentos cruciales y por supuesto, a mi prometido, que me ha apoyado durante toda mi carrera universitaria y me ha mostrado que soy una mujer capaz de todo lo que me propongo, gracias por estar siempre empujándome para seguir adelante y motivándome para nunca renunciar cuando el camino se pone difícil. Por último, quiero dedicar mi tesis al resto de mi familia, porque son lo más importante para mí y siempre han estado presentes en todo momento de mi vida y sin duda no sería la persona que soy sin ellos.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Vicerrectoría de Vida Estudiantil y Asuntos Académicos (VIESA) del Tecnológico de Costa Rica por la beca otorgada para viajar a la Universidad de Leipzig, Alemania y así permitirme ampliar mis conocimientos en el área de Resonancia Magnética Nuclear, para una mejor comprensión de mi tema de tesis y una experiencia de enriquecimiento profesional y personal. A mi profesor tutor, el Dr. Isaac Céspedes Camacho, por su apoyo durante todo el proceso y por permitirme desarrollar un tema fuera de nuestro campo cotidiano de conocimiento, permitiéndome conocer los alcances que puedo tener con mucha dedicación y trabajo y ampliando el campo de acción de una futura ingeniera ambiental. También quiero extender un especial agradecimiento a las personas que dedicaron parte de su tiempo a explicarme sobre Resonancia Magnética Nuclear, tanto de forma teórica como práctica, y recibíndome en su equipo de trabajo de manera tan amena: Prof. Dr. Jörg Matysik, M.Sc. Lisa Köhler, Prof. Dr. Chen Song, M.Sc. Patrick Kurle, M.Sc. YongHong Ding, Dr. Pavlo Bielytskyi y a todo el equipo del grupo de investigación del Prof. Matysik, quienes me hicieron sentir bienvenida en la Universidad de Leipzig. Un agradecimiento personal a Rico Warias por su incondicional ayuda con mi estadía en Leipzig y en la Universidad.

## TABLA DE CONTENIDO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>  | <b>15</b> |
| <b>1.1. Objetivos .....</b>   | <b>16</b> |
| <b>2. MARCO CONCEPTUAL .....</b>  | <b>18</b> |
| <b>2.1. Principios de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y Química de Espines.....</b>                                   | <b>18</b> |
| 2.1.1. Espín de un núcleo atómico .....   | 18        |
| 2.1.2. Momentos magnéticos nucleares .....  | 19        |
| 2.1.3. Absorción de energía .....   | 20        |
| 2.1.4. Densidad de población en los estados de espín nuclear.....   | 24        |
| 2.1.5. Equipo de espectroscopia de RMN.....   | 25        |
| 2.1.6. Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido.....   | 28        |
| <b>2.2. Aplicaciones de la espectroscopia de RMN .....</b>  | <b>32</b> |
| <b>2.3. Fotosíntesis.....</b>   | <b>36</b> |
| 2.3.1. Longitudes de onda utilizadas en la fotosíntesis.....  | 36        |
| 2.3.2. Pigmentos fotosintéticos .....   | 37        |
| 2.3.3. Lugar de desarrollo de la fotosíntesis .....   | 39        |
| 2.3.4. Fases de la fotosíntesis.....  | 40        |
| 2.3.5. Fotosistemas.....  | 40        |
| 2.3.6. Diferencias entre los fotosistemas I y II .....  | 45        |
| 2.3.7. Reacciones dependientes de la luz.....   | 46        |
| <b>3. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>  | <b>48</b> |
| <b>4. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>  | <b>50</b> |
| <b>4.1. Espines en la fotosíntesis.....</b>   | <b>50</b> |
| <b>4.2. Hiperpolarización: Efecto <i>photo-CIDNP</i> .....</b>  | <b>53</b> |
| 4.1.1. Experimentos de RMN con <i>photo-CIDNP</i> en estado sólido .....  | 56        |
| <b>4.3. ¿Qué se puede obtener a partir de los espectros de RMN en estado sólido con el efecto <i>photo-CIDNP</i>? .....</b> | <b>63</b> |
| <b>4.4. Aplicaciones actuales relacionadas a la obtención de energía a partir de organismos fotosintéticos.....</b>         | <b>64</b> |
| <b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>  | <b>73</b> |
| <b>6. REFERENCIAS CONSULTADAS.....</b>  | <b>75</b> |

## LISTA DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 2.1 Número cuántico de espín de algunos de los isótopos más comunes estudiados mediante RMN. ....                          | 18 |
| Tabla 2.2. Valores de campos magnéticos ( $B_0$ ) y frecuencias ( $\nu$ ) en los que un núcleo presenta resonancia nuclear. .... | 22 |
| Tabla 2.3. Variación del exceso de núcleos de $^1\text{H}$ según la frecuencia de operación. ....                                | 25 |

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 2.1. Estados de espín de un protón en ausencia y presencia de $B_0$ (Laurella, 2017).   | 19 |
| Figura 2.2. Estados de espín permitidos para un protón (“Introducción ao RMN”, s/f).   | 20 |
| Figura 2.3. (a) Precesión de un trompo debido al campo magnético de la Tierra, (b) Precesión de un núcleo tras absorber energía (Pavia et al., 2009).  | 23 |
| Figura 2.4. Diagrama del proceso de Resonancia Magnética Nuclear (Pavia et al., 2009).   | 24 |
| Figura 2.5. Equipo de espectroscopia de RMN de 200 MHz para protones con sonda de estado sólido presente en el Instituto de Química Analítica de la Universidad de Leipzig (Fuente: Propia).   | 26 |
| Figura 2.6. Diagrama de la intensidad del pulso corto en el tiempo (Lambert & Mazzola, 2004).  | 27 |
| Figura 2.7. Diagrama del rango de frecuencias contenidas en un pulso (Lambert & Mazzola, 2004).  | 27 |
| Figura 2.8. Señal de Caída de Inducción Libre para los $^1\text{H}$ del fenilacetato de etilo a 300 MHz (Lambert & Mazzola, 2004).   | 28 |
| Figura 2.9. Representación esquemática de la disposición experimental para el giro de la muestra con el MAS $\theta=54^\circ44'$ (Cruz Díaz, 2017).  | 30 |
| Figura 2.10. Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ del óxido de trifenilfosfina en estado sólido, a diferentes frecuencias de MAS. Donde: (a) sin giro, (b) giro a 1.5 kHz y (c) giro a 3.0 kHz (Escudero-Belmonte, 2005).  | 30 |
| Figura 2.11. Distribución energética del conjunto de las ondas electromagnéticas conocido como Espectro Electromagnético.  | 37 |
| Figura 2.12. Molécula Chl A y B, pigmento principal en el proceso fotosintético.   | 38 |
| Figura 2.13. Molécula de $\beta$ caroneto, pigmento accesorio en la captación de energía lumínica y disipador de energía excedente.  | 39 |
| Figura 2.14. Microscopía electrónica de un cloroplasto y sus componentes principales.  | 39 |
| Figura 2.15. Esquema simplificado del complejo pigmento-proteína, conocido como fotosistema, formado por el CR y el complejo antena (Fuente: Propia).  | 42 |
| Figura 2.16. Estados de oxidación de la quinona, molécula aceptora de electrones (Berg, Tymoczko, & Stryer, 2007).   | 43 |
| Figura 2.17. Estructura 3D del CR fotosintético del FII (Mamedov et al., 2015).  | 44 |
| Figura 2.18. Estructura 3D del CR fotosintético del FI (Mamedov et al., 2015).   | 44 |
| Figura 2.19. Diagramas del FI y del FII de un organismo fotosintético (Khan, s/f).   | 46 |
| Figura 2.20. Diagrama de las reacciones dependientes de la luz en el proceso fotosintético (Khan, s/f).  | 47 |
| Figura 4.1. Modelo vectorial de los estados de espín (Céspedes-Camacho & Matysik, 2014).   | 51 |
| Figura 4.2. Esquema simplificado del Radical-Pair Mechanism (RPM), útil para comprender el proceso fotosintético (Fuente: Matysik, J.).  | 52 |
| Figura 4.3. Espectros de $^{13}\text{C}$ MAS RMN del CR con agotamiento de quinona de R. sphaeroides WT (A1, A2) y del mutante R26 sin carotenoides (B1, B2) en la oscuridad (A1, B1) y bajo iluminación continua con luz blanca (A2, B2) a 4.7 T (Wang et al., 2016). | 54 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 4.4. Fotografía de la fibra óptima para iluminación de la muestra dentro de la sonda. Del lado derecho también se puede observar el ángulo mágico (Fuente: Propia).....   | 55 |
| Figura 4.5. Espectros de $^{13}\text{C}$ MAS RMN del CR con agotamiento de quinona de R. sphaeroides WT en la oscuridad (negro) y bajo iluminación (rojo) a 17.6 T (A), 9.4 T (B), 4.7 T (C) y 2.4 T (D) a 235 K y bajo una frecuencia de MAS de 8 kHz y desacoplamiento de $^1\text{H}$ (Thamarath, Bode, et al., 2012). .....                    | 56 |
| Figura 4.6. Espectros de $^{13}\text{C}$ MAS RMN del CR con agotamiento de quinona de R. sphaeroides R26 en la oscuridad (negro) y bajo iluminación (rojo) a 17.6 T (A), 9.4 T (B), 4.7 T (C) y 2.4 T (D) a 235 K y bajo una frecuencia de MAS de 8 kHz y desacoplamiento de $^1\text{H}$ (Thamarath, Bode, et al., 2012). .....                   | 57 |
| Figura 4.7. Espectros de $^{13}\text{C}$ MAS RMN de fragmentos de membrana de Hb. mobilis en la oscuridad (a) y bajo iluminación continua (b) a 17.6 T (A), 9.4 T (B) y 4.7 T (C) y bajo una frecuencia de MAS de 8 kHz (Roy et al., 2008).....  | 58 |
| Figura 4.8. Espectros de $^{13}\text{C}$ MAS RMN de células enteras Hb. mobilis Braunstoff en la oscuridad (A) y bajo iluminación (B) y de Hb. mobilis Grünstoff en la oscuridad (C) y bajo iluminación (D) a 4.7 T y 235 K (Thamarath, Alia, et al., 2012). .....   | 59 |
| Figura 4.9. Espectros de $^{15}\text{N}$ MAS RMN del FI y FII de Spinacia oleracea. Se obtuvieron espectros del FI (A, oscuro; B, bajo iluminación) a 9,6 T y los espectros del FII (C, oscuro; D, bajo iluminación) a 4,7 T (Diller et al., 2007). .....  | 60 |
| Figura 4.10. Patrones de densidad de espín de los electrones basados en las intensidades del $^{15}\text{N}$ photo-CIDNP. Se pueden observar los patrones de densidad de espín de los cofactores donantes de FI (A) y FII (B). El tamaño de los círculos es proporcional a la intensidad relativa de la señal (Diller et al., 2007).....           | 61 |
| Figura 4.11. Árbol filogenético de la vida (Kelk, Stamoulis, & Wu, 2018) (Hasegawa, 2017) (Horiike, 2016) (Niranjan, 2011) (Edwards, 2019). Los cuadrados señalan los grupos con organismos fotosintéticos y los grupos señalados con rojo tienen organismos en los cuáles se ha estudiado el efecto <i>photo-CIDNP</i> (Blankenship, 2014). ..... | 62 |
| Figura 4.12. Espectros de $^{15}\text{N}$ MAS RMN de R. sphaeroides R26 en la oscuridad (negro) y bajo iluminación (rojo) a 247 K, 9.4 T y 8176 Hz (Bielytskyi, Gräsing, Zahn, Alia, et al., 2019).....  | 63 |
| Figura 4.13. Ilustración del funcionamiento de Bioo-Lite (“Bioo-Lite, la planta inteligente con la que podrás cargar tu celular”, s/f). .....  | 66 |
| Figura 4.14. Diagrama de una celda solar microbiana donde (A) es una celda de combustible microbiano (P-MFC) y (B) es un tipo específico de P-MFC, con plantas como organismos fotosintéticos (Helder, 2012).....  | 66 |
| Figura 4.15. Sección transversal del experimento con plantas de arroz y compostaje (Moqsud et al., 2014).....  | 67 |
| Figura 4.16. Ilustración del mecanismo para la conversión de energía sobre la base de la triboelectrificación que ocurre en la cutícula cuando se toca con un material dieléctrico (representado en gris) (Meder et al., 2018). .....  | 68 |
| Figura 4.17. Modelaje del comportamiento del flujo de iones en la LFC de acuerdo con el principio de electroquímica con consideración sobre el efecto de eficiencia (Ying-Ying & Dayou, 2016). .....   | 68 |
| Figura 4.18. Ilustración de la hoja artificial compuesta por una lámina de Si de triple unión recubierta con NiMoZn y Co-OEC (Nocera, 2012). .....   | 71 |

Figura 4.19. Diagrama de la construcción de la hoja artificial compuesta por una lámina de Si de triple unión recubierta con NiMoZn y Co-OEC (Fountain, 2016). ..... 71

## SIGLAS Y ACRÓNIMOS

|                   |  |
|-------------------|--|
| <i>in situ</i>    | En el lugar  |
| <i>in vivo</i>    | Dentro de lo vivo  |
| <i>in vitro</i>   | Dentro del vidrio  |
| <i>i.e.</i>       | <i>id est</i> (Esto es)  |
| <i>e.g.</i>       | <i>exempli gratia</i> (Por ejemplo)  |
| <i>vide infra</i> | Ver abajo  |
| <i>vide supra</i> | Ver arriba   |
| CO <sub>2</sub>   | Dióxido de carbono   |
| RMN               | Resonancia Magnética Nuclear   |
| I                 | Número cuántico de espín nuclear   |
| B <sub>0</sub>    | Campo magnético aplicado/externo   |
| μ                 | Momento magnético  |
| h                 | Constante de Planck  |
| J                 | Constante de acoplamiento (según el contexto)  |
| ν                 | Frecuencia   |
| E                 | Energía  |
| ΔE                | Diferencia de energía  |
| γ                 | Relación giromagnética   |
| rad               | Radianes: Unidad de medida para ángulos  |
| T                 | Tesla: Unidad de inducción magnética o densidad de flujo magnético (según el contexto) |
| G                 | Gauss: Unidad de inducción magnética o densidad de flujo magnético                     |
| Hz                | Hertz: Unidad de medida de frecuencia  |
| ω                 | Frecuencia de Larmor   |
| k                 | Constante de Boltzmann   |
| N                 | Población (según el contexto)  |

|                  |   |
|------------------|---|
| T                | Temperatura (según el contexto)                                   |
| K                | Kelvin  |
| °C               | Grados Celsius  |
| J                | Joule (según el contexto)   |
| s                | Segundo   |
| ppm              | Partes por millón   |
| mol              | Mol: Unidad de medida de la cantidad de sustancia                 |
| V                | Voltio: Unidad de medida de la tensión y fuerza electromotriz     |
| W                | Watt: Unidad de medida de la potencia eléctrica                   |
| m <sup>2</sup>   | Metro cuadrado: Unidad de medida de área                          |
| N                | Newton: Unidad de cantidad de fuerza aplicada (según el contexto) |
| CIL              | Señal de Caída de Inducción Libre                                 |
| J                | Constante de acoplamiento (según el contexto)                     |
| MAS              | <i>Magic-angle spinning</i> - Ángulo mágico                       |
| H <sub>2</sub> O | Agua  |
| O <sub>2</sub>   | Oxígeno   |
| km               | Kilómetro   |
| λ                | Longitud de onda  |
| nm               | Nanómetro   |
| FI               | Fotosistema I   |
| FII              | Fotosistema II  |
| CR               | Centro de reacción  |
| Chl              | Clorofila   |
| BChl             | Bacterioclorofila   |
| Phe              | Feofitina   |
| BPhe             | Bacteriofeofitina   |

|                    |  |
|--------------------|--|
| P700               | Par especial del FI  |
| P680               | Par especial del FII   |
| NADP <sup>+</sup>  | Coenzima nicotinamida adenina<br>dinucleótido fosfato en su forma oxidada  |
| NADPH              | Coenzima nicotinamida adenina<br>dinucleótido fosfato en su forma reducida   |
| ADP                | Nucleótido adenosín difosfato  |
| ATP                | Nucleótido adenosín trifosfato   |
| 3D                 | Tercera dimensión  |
| P                  | Pigmento   |
| P*                 | Pigmento excitado  |
| Q <sub>A</sub>     | Quinona A  |
| Q <sub>B</sub>     | Quinona B  |
| TE                 | Transporte de electrones   |
| D                  | Donador de electrones  |
| RPM                | Radical-Pair Mechanism   |
| ISC                | Intersystem Crossing   |
| <i>Photo-CIDNP</i> | Photochemically induced dynamic nuclear<br>polarization  |
| RuBisCo            | Ribulosa-1,5-bisfosfato<br>carboxilasa/oxigenasa. Enzima que se<br>encuentra en los cloroplastos de los<br>organismos autótrofos |
| MFC                | Celda de combustible microbiano  |
| P-MFC              | Celda de combustible microbiano-vegetal  |
| TENG               | Nanogeneradores triboeléctricos  |
| LFC                | Celda de Combustible de Planta Viva  |
| WT                 | Tipo natural   |
| R26                | Mutante sin carotenoides   |
| OEC                | Complejo evolutivo del oxígeno   |

## RESUMEN

Durante muchos años el consumo de combustibles fósiles, como principal fuente de energía, ha liberado grandes cantidades de gases de efecto invernadero, lo que ha generado cambios significativos en las condiciones climáticas y una búsqueda de fuentes de energía alternativas. La simulación de los procesos fotosintéticos a partir del uso y aprovechamiento de organismos biológicos es una opción cada vez más viable para obtener energía. No obstante, en el desarrollo de estas tecnologías, se hace omisión del aporte que la química de espines puede brindar en la comprensión y optimización de la fotosíntesis artificial. Gracias al estudio de la técnica conocida como Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es posible evaluar el papel que la química de espines tiene en el desarrollo de los procesos fotosintéticos. Mediante una revisión bibliográfica exhaustiva de fuentes primarias y secundarias, apoyadas en entrevistas con expertos internacionales, se ha efectuado un análisis del papel que la química de espines tiene en una serie de organismos que realizan el proceso de fotosíntesis. Al analizar varios espectros de RMN en estado sólido de los centros de reacción de los cloroplastos de ciertas plantas y bacterias, que han sido expuestos a iluminación continua, se han encontrado densidades electrónicas significativas en sitios moleculares específicos. Esta información, junto a un análisis de una serie de proyectos en los que se han desarrollado prototipos para obtener energía mediante fotosíntesis artificial, permite concluir que es necesario (y justificado) considerar a la química de espines como un actor clave para la optimización de los procesos y estudios en fotosíntesis artificial y, por tanto, vital en un proceso de obtención de energía.

Palabras clave: Resonancia Magnética Nuclear, Fotosíntesis, Química de espines, Hiperpolarización, Energías renovables.

## ABSTRACT

For many years the consumption of fossil fuels, as the main source of energy, has released large amounts of greenhouse gases, which has generated significant changes in climate conditions and a constant search for alternative energy sources. The simulation of photosynthetic processes through the use and exploitation of biological organisms is a viable option for obtaining energy. However, in the development of these technologies, the contribution that spin chemistry can provide in the understanding and optimization of artificial photosynthesis has been omitted. Thanks to the study of the technique known as Nuclear Magnetic Resonance (NMR) it is possible to evaluate the role that spin chemistry has in the development of photosynthetic processes. Through an exhaustive literature review of primary and secondary sources, supported by interviews with international experts, an analysis of the role of spin chemistry in a number of organisms that perform the process of photosynthesis has been performed. By analyzing several solid-state NMR spectra of the reaction centers of chloroplasts in certain plants and bacteria -which have been exposed to continuous illumination- significant electronic densities have been found at specific molecular sites. This information, together with an analysis of a series of projects in which prototypes have been developed to obtain energy through artificial photosynthesis, allows us to conclude that it is necessary (and justified) to consider the chemistry of spines as a key actor for the optimization of the processes and studies in artificial photosynthesis and, therefore, vital in a process of obtaining energy.

Keywords: Nuclear Magnetic Resonance, Photosynthesis, Spin Chemistry, Hyperpolarization, Renewable energy.

## 1. INTRODUCCIÓN

Durante muchos años el consumo de combustibles fósiles, como principal fuente de energía, ha liberado grandes cantidades de gases de efecto invernadero, suficientes para retener más calor en las capas inferiores de la atmósfera y alterar el clima mundial. Dicha situación ha originado que durante los últimos años cada década sea más cálida que cualquier década anterior desde 1850 (IPCC, 2019) (OMS, 2018) (IPCC, 2018). Es por esta razón que, en los últimos años, se ha hecho un mayor esfuerzo por desarrollar tecnologías que permitan explorar otras fuentes energéticas.

En Costa Rica la matriz energética eléctrica se basa en cinco fuentes renovables principales (ICE, 2015), en 2018 el Instituto Costarricense de Electricidad reportó una producción de energía compuesta en un 73.48% hidroeléctrica, 15.84% eólica, 8.52% geotérmica, 0.67% a partir de la biomasa, 0.09% solar y finalmente, como medio de respaldo, un 1.4% a partir de combustibles fósiles (Madrigal, 2019). Estas fuentes de energía renovables, como lo son la hidroeléctrica, solar, eólica, geotérmica y la proveniente de biomasa, son utilizadas como un medio para reducir el uso de combustibles fósiles (Stigka, Paravantis, & Mihalakakou, 2014) pero no como medio para sustituir su uso y esto se debe a ciertas limitaciones importantes que presentan cada una de estas fuentes renovables.

La principal limitación que tiene la energía hidráulica, solar y eólica es que se ven afectadas por las variaciones climatológicas, *e.g.*, para el caso de la energía hidroeléctrica puede haber una disminución en la generación de energía debido a la escasez de agua durante las épocas más secas; en el caso de la energía solar, además de que requiere de un terreno significativamente grande para poder operar de manera rentable, es una fuente de energía intermitente, ya que depende del clima y del número de horas-sol al año. Para el caso de la energía eólica, esta depende del viento en la zona, por lo que se debe realizar un estudio de mediciones de éste para tener una evaluación del potencial energético del lugar. Por otro lado, el caso de la energía geotérmica se debe a que no puede ser instalada en cualquier punto, si no que debe cumplir ciertos requisitos para poder desarrollarse. Finalmente, en el caso de la energía a partir de desechos biomásicos, resulta ser poco competitiva si se requiere de una

alta generación a gran escala, ya que depende de los residuos generados en un proceso de manufacturación (Contreras & Sauma, 2017) (Castillo-Wagemann, 2013).

Por otra parte, en Costa Rica, se creó el Plan Nacional de Energía 2015-2030, el cual aspira tanto a enfrentar los retos actuales más urgentes en materia energética, como a inducir transformaciones profundas en los procesos de producción, distribución y consumo de energía. En concreto, se busca provocar un salto hacia un futuro caracterizado por un bajo nivel de emisiones en la economía nacional, el desarrollo de procesos de generación y uso de energía más respetuosos de los límites del entorno natural, la construcción de una matriz energética más capaz de sostener la competitividad de las industrias nacionales y una mayor contribución del sector de energía a la calidad de vida de la población (MINAE & PNUD, 2015).

Por estas razones, se considera necesaria la búsqueda de nuevas fuentes de energía que permitan la disminución de la dependencia de los combustibles fósiles para la generación de electricidad. Por lo tanto, se desea estudiar si la química de espines puede ser un actor clave para la optimización de los procesos de obtención de energía a partir de organismos fotosintéticos.

### 1.1.Objetivos

Objetivo General:

Analizar el papel de la química de espines en la optimización de los procesos de obtención de energía a partir de organismos fotosintéticos.

Objetivos Específicos:

1. Identificar los principales fenómenos de la Resonancia Magnética Nuclear y la química de espines.

2. Conocer los principios del proceso fotosintético y la transferencia de electrones que ocurre en el mismo.
3. Examinar el papel de la química de espines en los procesos fotosintéticos.
4. Presentar a los organismos fotosintéticos como una posible fuente de energía a partir de estudios e investigaciones realizadas a la fecha.

## 2. MARCO CONCEPTUAL

### 2.1. Principios de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y Química de Espines

Para poner en contexto y generar un marco de referencia, a continuación, se presentan los principios de RMN y cómo se desarrolla esta técnica para lograr comprender su papel en el estudio teórico de la química de espines aplicada a organismos fotosintéticos para su eventual uso como fuente de energía.

#### 2.1.1. Espín de un núcleo atómico

Los núcleos de los átomos tienen carga eléctrica y se comportan como imanes, dado que tienen un momento magnético intrínseco, llamado espín nuclear (Laurella, 2017). Esta propiedad hace que el núcleo se comporte como si estuviera girando y solo sucede cuando el núcleo atómico posee masa y/o número atómico (*i.e.* cantidad de protones) impar, así es como va a poseer un momento angular de espín cuantificado (Shoolery, 2008).

Cada núcleo con espín tiene permitida una cantidad de estados de espín específica y está determinada por el número cuántico de espín nuclear  $I$ . Para cada núcleo hay  $2I + 1$  estados de espín permitidos (ver tabla 2.1) que van desde  $+I$  hasta  $-I$  (Levitt, 2008).

Tabla 2.1 Número cuántico de espín de algunos de los isótopos más comunes estudiados mediante RMN.

| Isótopos                                 | $^1\text{H}$  | $^{13}\text{C}$ | $^{15}\text{N}$ | $^{19}\text{F}$ | $^{31}\text{P}$ | $^{27}\text{Al}$ | $^{29}\text{Si}$ |
|--|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| Número cuántico de espín nuclear ( $I$ ) | $\frac{1}{2}$ | $\frac{1}{2}$   | $\frac{1}{2}$   | $\frac{1}{2}$   | $\frac{1}{2}$   | $\frac{5}{2}$    | $\frac{1}{2}$    |
| Estados de espín                         | 2             | 2               | 2               | 2               | 2               | 6                | 2                |

Fuente: (Iggo & Luzyanin, 2020) (Pavia, Lampman, Kriz, & Vyvyan, 2009).

### 2.1.2. Momentos magnéticos nucleares

En ausencia de un campo magnético externo aplicado ( $B_0$ ), todos los estados de espín de un núcleo están degenerados (*i.e.* tienen la misma energía), pero en el momento en que se aplica un  $B_0$ , se elimina la degeneración y la energía de dichos estados es ligeramente diferente entre ellos (ver figura 2.1); este escenario se da debido al efecto Zeeman (Halse, 2016) y la diferencia de energía entre un estado y otro es conocida como división de Zeeman, la cual depende de la intensidad de  $B_0$ , tal y como se observa en la figura 2.1 (Levitt, 2008). Zeeman descubrió que, si uno expone un electrón a un campo magnético externo, el electrón puede tomar los valores de estados estables conocidos como *eigenstates*, es decir, puede tomar un valor identificado como  $-1/2$ , que se podría llamar estado menos estable o excitado (ya que está opuesto a la dirección de  $B_0$ ) o  $+1/2$ , que se suele llamar estado estable (ya que está alineado con el  $B_0$ ). Al aumentar  $B_0$  la diferencia de energía entre el estado estable y el excitado aumenta.

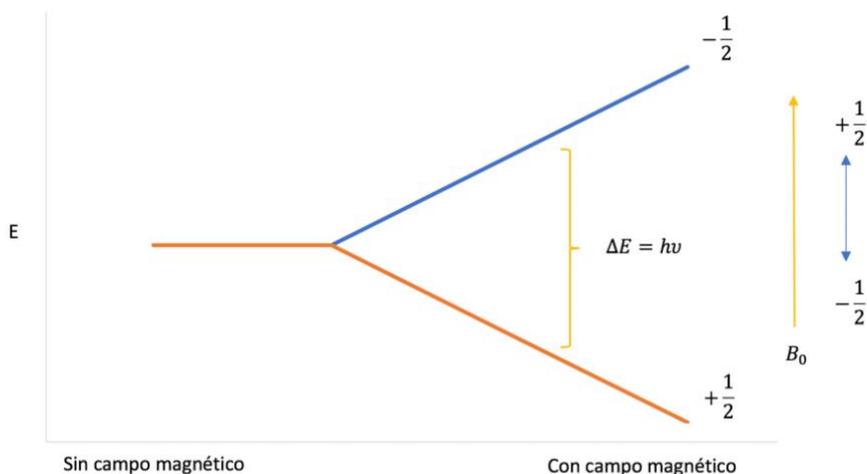


Figura 2.1. Estados de espín de un protón en ausencia y presencia de  $B_0$  (Laurella, 2017).

Por lo tanto, al aplicar  $B_0$ , el núcleo va a tener un momento magnético  $\mu$ , alineado u opuesto a la dirección de dicho campo, como se observa en la figura 2.2, ya que el núcleo es una partícula cargada (Lambert & Mazzola, 2004).

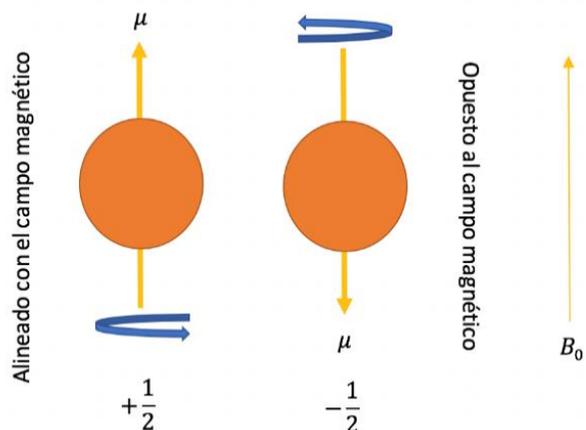


Figura 2.2. Estados de espín permitidos para un protón (“Introducción a RMN”, s/f).

El Prof. Matysik, de la Universidad de Leipzig, indica que al menos así funcionaba en los inicios de la RMN, pero esto solo era eficiente cuando se utilizaba una onda continua con diferentes frecuencias para irradiar la muestra, en cambio, ahora se utiliza una radiación pulsada. Este pulso no solo induce el cambio hacia los *eigenstates* ( $\pm 1/2$ ) sino que, según el ángulo del pulso, este puede tomar otros valores no estables (no *eigenstates*), *e.g.*,  $90^\circ$ , el cual toma un valor transversal con la frecuencia de Larmor (*vide infra*) y luego será detectado por una bobina.

### 2.1.3. Absorción de energía

El fenómeno de RMN en realidad ocurre cuando el núcleo está expuesto a un  $B_0$  y, por lo tanto, es incitado a absorber energía y cambiar la orientación del espín. Esta energía que absorbe el núcleo debe igualar la diferencia de energía entre los estados de espín involucrados para poder cambiar dicha orientación (Pavia et al., 2009).

$$E_{\text{absorbida}} = \left( E_{\text{estado } -\frac{1}{2}} - E_{\text{estado } +\frac{1}{2}} \right) = f(B_0) \quad (1.1)$$

La magnitud de la diferencia de energía entre los estados de espín también depende de la carga y masa del núcleo, ya que estas son diferentes para cada núcleo, presentan una relación

de momento magnético y momento angular particular para cada uno. Esta relación, llamada relación giromagnética ( $\gamma$ ), es constante para cada núcleo y determina la dependencia de energía con  $B_0$  (Pavia et al., 2009).

$$\Delta E = f(\gamma B_0) = h\nu \quad (1.2)$$

donde  $h$  es la constante de Plank ( $6.624 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$ ) y  $\nu$  es la frecuencia.

Dado que el momento angular del núcleo es cuantificado en unidades de  $\frac{h}{2\pi}$ , la ecuación final sería:

$$\Delta E = \gamma \left( \frac{h}{2\pi} \right) B_0 = h\nu \quad (1.3)$$

$$\nu = \left( \frac{\gamma}{2\pi} \right) B_0 \quad (1.4)$$

En la Tabla 2.2 se presentan los valores de  $B_0$  y  $\nu$ , en los cuales los núcleos de algunos átomos presentan resonancia.

Sin la aplicación de un  $B_0$ , los espines giran aleatoriamente. Al absorber energía inician un proceso de precesión (*i.e.* fenómeno similar al del movimiento de un trompo) que se da en el momento en que se aplica un  $B_0$ , tal y como se observa en la figura 2.3 (Pavia et al., 2009).

Tabla 2.2. Valores de campos magnéticos ( $B_0$ ) y frecuencias ( $\nu$ ) en los que un núcleo presenta resonancia nuclear.

| Isótopo          | Abundancia natural (%) | Tasa giromagnética ( $\gamma$ ) (rad/T) | Campo magnéticos ( $B_0$ ) (T) | Frecuencia ( $\nu$ ) (MHz) |
|------------------|------------------------|---|--------------------------------|----------------------------|
| $^1\text{H}$     | 99.08                  | 267.53                                  | 1.41                           | 60.0                       |
|                  |                        |   | 2.35                           | 100.0                      |
|                  |                        |   | 4.70                           | 200.0                      |
|                  |                        |   | 7.05                           | 300.0                      |
| $^{13}\text{C}$  | 1.108                  | 67.28                                   | 1.41                           | 15.1                       |
|                  |                        |   | 2.35                           | 25.0                       |
|                  |                        |   | 4.70                           | 50.0                       |
|                  |                        |   | 7.05                           | 75.0                       |
| $^{15}\text{N}$  | 0.364                  | -27.1                                   | 9.4                            | 40.5                       |
| $^{19}\text{F}$  | 100                    | 251.7                                   | 1.00                           | 40.0                       |
| $^{31}\text{P}$  | 100                    | 108.3                                   | 1.00                           | 17.2                       |
| $^{27}\text{Al}$ | 100                    | 69.763                                  | 11.74                          | 130.318                    |
| $^{29}\text{Si}$ | 4.685                  | -53.190                                 | 11.74                          | 99.362                     |

Fuente: (Iggo & Luzyanin, 2020) (Pavia et al., 2009).

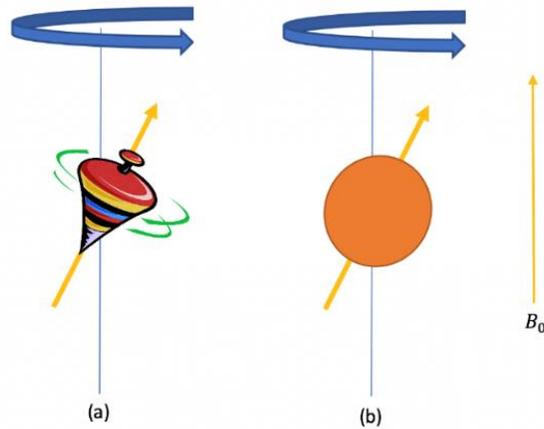


Figura 2.3. (a) Precesión de un trompo debido al campo magnético de la Tierra, (b) Precesión de un núcleo tras absorber energía (Pavia et al., 2009).

Cuando  $B_0$  es aplicado, el núcleo comienza a precesar sobre su propio eje de espín con una frecuencia angular  $\omega$ , llamada frecuencia de Larmor (Lambert & Mazzola, 2004). Esta frecuencia de precesión es directamente proporcional a la fuerza de  $B_0$  (Pérez, 2009), es decir, entre más fuerte sea  $B_0$ , mayor será la tasa de precesión  $\omega$  (Corredor, 2016) y como el núcleo tiene carga, la precesión genera un campo eléctrico oscilante con la misma frecuencia, por lo tanto, al suministrarle ondas de radiofrecuencia de esta misma frecuencia al protón, la energía puede ser absorbida. Es decir, cuando la frecuencia del campo eléctrico oscilante de la radiación que se suministra coincide con la frecuencia del campo eléctrico generado por la precesión del núcleo, los dos campos eléctricos se acoplan y la energía puede ser transferida de la radiación entrante al núcleo, lo que provoca un cambio de espín; esta condición se conoce como resonancia (ver figura 2.4). Es en este momento cuando se dice que el núcleo está en resonancia con la onda magnética entrante (Pavia et al., 2009).

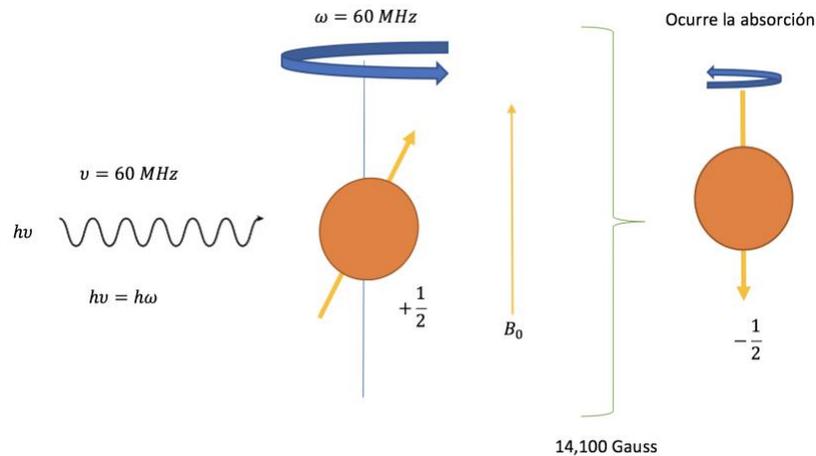


Figura 2.4. Diagrama del proceso de Resonancia Magnética Nuclear (Pavia et al., 2009).

#### 2.1.4. Densidad de población en los estados de espín nuclear

Existe un ligero exceso de núcleos en el estado de espín de menor energía y la magnitud de esta diferencia puede calcularse usando las ecuaciones de distribución de Boltzmann (Pavia et al., 2009).

$$\frac{N_{\text{superior}}}{N_{\text{inferior}}} = e^{\frac{-\Delta E}{kT}} = e^{\frac{-h\nu}{kT}} \quad (1.5)$$

donde  $h$  es la constante de Plank,  $k$  es la constante de Boltzmann ( $1.380 \times 10^{-23} \frac{\text{J}}{\text{K}}$ ),  $T$  es la temperatura absoluta (en Kelvin) y  $\nu$  es la frecuencia de operación del instrumento.

Por lo que usando la ecuación 1.5 se puede calcular que a 25°C (298 K) para un instrumento operando a una frecuencia de 60 MHz:

$$\frac{N_{\text{superior}}}{N_{\text{inferior}}} = e^{\frac{-(6.624 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s})(60 \text{ MHz})}{(1.380 \times 10^{-23} \text{ J/K})(298 \text{ K})}}$$

$$\frac{N_{\text{superior}}}{N_{\text{inferior}}} = 0.999991 = \frac{1\ 000\ 000}{1\ 000\ 009}$$

Existen 1 000 009 núcleos en el estado de espín de menor energía ( $N_{inferior}$ ) por cada 1 000 000 de núcleos en el estado de espín de mayor energía ( $N_{superior}$ ). En otras palabras, existe un exceso de población de 9 núcleos en el estado inferior de energía.

Este mínimo exceso de núcleos es el que permite observar el fenómeno de resonancia, es decir, que si la población estuviera saturada (*i.e.* la población en ambos estados de energía fuera la misma) no se obtendría ninguna señal, es por esto que durante los experimentos de RMN hay que evitar la saturación, y esta se alcanza rápidamente si la potencia de la señal de radiofrecuencia es demasiado alta. De hecho, si se aumenta  $B_0$  y como consecuencia la frecuencia de resonancia del isótopo, la diferencia de energía entre los dos estados de espín aumenta, lo que causa que aumente el exceso de núcleos en el nivel inferior como se muestra en la tabla 2.3 (Pavia et al., 2009).

Tabla 2.3. Variación del exceso de núcleos de  $^1H$  según la frecuencia de operación.

| Frecuencia (MHz) | Exceso de núcleos |
|------------------|-------------------|
| 100              | 16                |
| 200              | 32                |
| 300              | 48                |
| 600              | 96                |

Fuente: (Pavia et al., 2009).

#### 2.1.5. Equipo de espectroscopia de RMN

El poder de la técnica de espectroscopia de RMN se manifiesta en su aplicabilidad a muestras de tamaños cada vez más pequeños, además de que proporciona un método preciso y no destructivo (Khandpur, 2006).

En los primeros años después de su descubrimiento, la RMN se observó, principalmente, mediante un campo de radiación estacionario, pero pronto, gracias al perfeccionamiento de

tecnologías, la aparición de computadoras potentes de alta velocidad y finalmente con la transformación matemática, llamada Transformada de Fourier, se desarrolló la espectroscopia de RMN por Transformada de Fourier Pulsado (Bakhmutov, 2012) (Chiznik et al., 2014) (ver figura 2.5). El método consiste en aplicar una secuencia de pulsos cortos de radiofrecuencia a la muestra que se va a investigar y transformar la respuesta del sistema por medio de la transformación de Fourier, obteniendo ventajas como: menor tiempo para registrar un espectro y mayor sensibilidad inherente (Ernst & A, 1966).

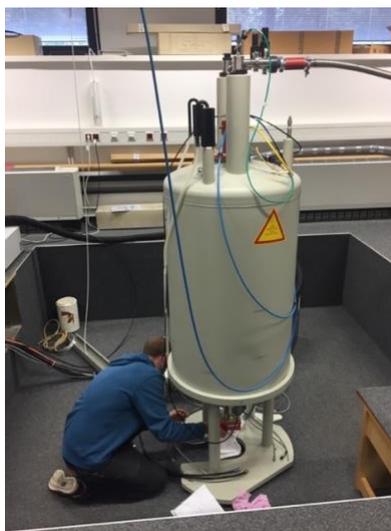


Figura 2.5. Equipo de espectroscopia de RMN de 200 MHz para protones con sonda de estado sólido presente en el Instituto de Química Analítica de la Universidad de Leipzig (Fuente: Propia).

El equipo de espectroscopia de RMN por Transformada de Fourier Pulsado utiliza una breve, pero potente ráfaga de energía (Lambert & Mazzola, 2004), llamada pulso, que excita todos los núcleos magnéticos de la molécula a la vez. Esto quiere decir que, en una molécula orgánica todos los núcleos elegidos son inducidos a experimentar resonancia simultáneamente y para lograrlo se utiliza un instrumento con un  $B_0$  determinado que utiliza una ráfaga corta de radiofrecuencia de entre  $1 \mu\text{s}$  y  $10 \mu\text{s}$ . La fuente se enciende y apaga rápidamente, generando un pulso similar al que se muestra en la figura 2.6 (Pavia et al., 2009).

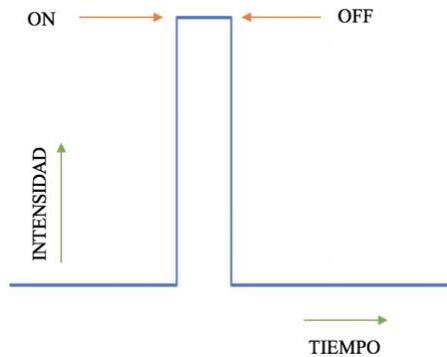


Figura 2.6. Diagrama de la intensidad del pulso corto en el tiempo (Lambert & Mazzola, 2004).

De acuerdo con una variación del Principio de Incertidumbre de Heisenberg, aunque la frecuencia del oscilador que genera este pulso sea, *e.g* 90 MHz, si la duración del pulso es muy corta, la frecuencia es en realidad incierta, por lo tanto, el pulso contiene en realidad un rango de frecuencias como el que se observa en la figura 2.7. Este rango de frecuencias es lo suficientemente grande como para excitar todos los diferentes tipos de núcleos en una molécula al mismo tiempo, con una sola ráfaga de energía (Pavia et al., 2009).

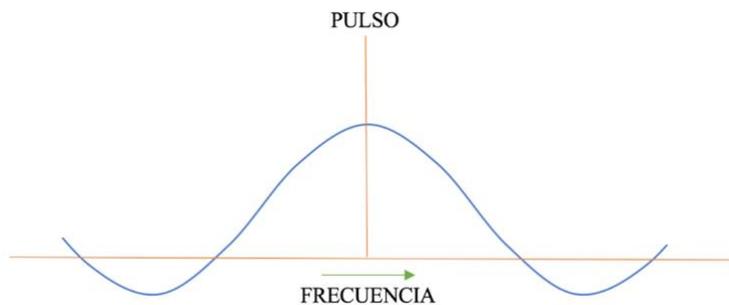


Figura 2.7. Diagrama del rango de frecuencias contenidas en un pulso (Lambert & Mazzola, 2004).

Cuando se interrumpe el pulso, los núcleos excitados comienzan a perder su energía de excitación y vuelven a su estado de espín original (*i.e.* se relajan), a medida que esto sucede se emite energía en forma de radiación electromagnética. Dado que el espín contiene muchos ambientes diferentes a su alrededor, es por lo que se emiten muchas frecuencias diferentes

de radiación electromagnética (ver figura 2.8). Esta emisión se denomina Señal de Caída de Inducción Libre (CIL) (Pavia et al., 2009).

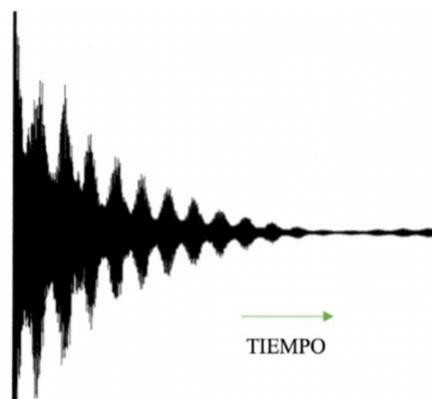


Figura 2.8. Señal de Caída de Inducción Libre para los  $^1\text{H}$  del fenilacetato de etilo a 300 MHz (Lambert & Mazzola, 2004).

Como se puede observar, la intensidad de la CIL decae con el tiempo ya que todos los núcleos eventualmente pierden su excitación (ver figura 2.8). Esta CIL es una combinación de todas las frecuencias emitidas y puede ser bastante compleja. Usualmente se extraen las frecuencias individuales debido a diferentes núcleos usando una computadora y aplicando el método matemático de la transformada de Fourier que permite obtener representaciones gráficas (espectros) en el dominio de la frecuencia (Pavia et al., 2009).

#### 2.1.6. Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido

Si bien es necesario conocer los principios básicos de la RMN en estado líquido, las muestras que se toman en consideración en esta memoria suelen encontrarse en estado sólido, lo que cambia considerablemente muchos de los fundamentos teóricos que se consideran al estudiar la RMN.

Mientras que en muestras en estado líquido se obtienen, en general, espectros de alta resolución, con picos estrechos, donde se puede observar fácilmente los acoplamientos (*i.e.* interacción entre núcleos vecinos, definida por una constante de acoplamiento  $J$ ), determinar

los átomos unidos y otros datos relevantes, en estado sólido aparecen bandas anchas poco definidas que complican la obtención de información debido a los efectos anisotrópicos (*i.e.* aquellos generados por un movimiento limitado en la fase condensada) por su estructura atómica y molecular regular. La principal causa de este problema se debe a que las diferentes interacciones entre los momentos magnéticos nucleares y el campo magnético dependen de la orientación de los mismos, y en una muestra sólida no es posible promediar estos efectos, como sucede en líquidos (Escudero-Belmonte, 2005).

Escudero-Belmonte (2005) indica que existen varios aspectos a considerar durante una RMN en estado sólido para disminuir las consecuencias de los efectos anisotrópicos, dentro de los cuales es útil mencionar los siguientes:

- A. Ángulo mágico (MAS): Todas las interacciones que se dan en RMN poseen un componente isotrópico (*i.e.* que no depende de la orientación del campo magnético) y otro anisotrópico (*i.e.* que depende de la orientación del campo magnético). Muchas de estas partes anisotrópicas de las interacciones dependen de la expresión 1.6

$$3 \cos^2 \theta - 1 \tag{1.6}$$

donde la interacción del campo magnético con las moléculas en las distintas orientaciones en estado sólido se mide por ese ángulo  $\theta$ . Por lo tanto, si la ecuación 1.6 se iguala a cero para que todas las interacciones anisotrópicas se anulen, el ángulo  $\theta = 54^\circ 44'$  (ver figura 2.9 y 4.4) (Escudero-Belmonte, 2005) (Laws, Bitter, & Jerschow, 2002). Este ángulo, denominado ángulo mágico, evita la pérdida de información por las interacciones dipolares producidas por la heterogeneidad de las muestras y parámetros residuales anisotrópicos, las cuales, en muestras líquidas, son promediadas por el movimiento Browniano. A grandes rasgos, el ángulo mágico permite la reducción de la anchura de banda efectiva de las resonancias a valores comparables a los obtenidos con muestra líquidas (Cruz Díaz, 2017) (Sabín-López, 2017).

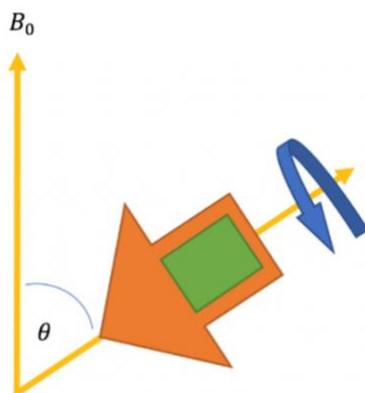


Figura 2.9. Representación esquemática de la disposición experimental para el giro de la muestra con el MAS  $\theta=54^{\circ}44'$  (Cruz Díaz, 2017).

B. Anisotropía del desplazamiento químico (entre núcleo y nube electrónica): Esta interacción se puede eliminar con el ángulo mágico y la resolución del espectro depende de la velocidad de giro como se muestra en la figura 2.10 (Sabín-López, 2017) (Escudero-Belmonte, 2005).

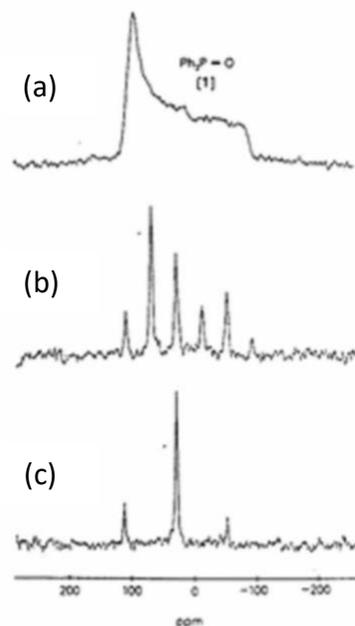


Figura 2.10. Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  del óxido de trifenilfosfina en estado sólido, a diferentes frecuencias de MAS. Donde: (a) sin giro, (b) giro a 1.5 kHz y (c) giro a 3.0 kHz (Escudero-Belmonte, 2005).

- C. Acoplamiento escalar: Son los acoplamientos a través de los enlaces y en estado sólido son despreciables (Escudero-Belmonte, 2005).
- D. Acoplamiento dipolar: Son los acoplamientos entre núcleos activos en RMN a través del espacio. Estos acoplamientos no tienen parte isotrópica, es decir, que no existen en estado líquido. Para su eliminación se requiere de secuencias de pulsos (Escudero-Belmonte, 2005).
- E. Interacciones cuadrupolares: Se dan entre núcleos con valores de I mayor a 1/2 (*e.g.*,  $^{27}\text{Al}$ ) y solo se pueden observar en estado sólido. Estas se pueden minimizar usando campos magnéticos altos (Escudero-Belmonte, 2005).

Finalmente, la diferencia tecnológica más significativa entre la RMN en estado sólido y líquido, es la sonda que se utiliza (ver figura 4.4). La sonda es la parte más importante del equipo, ya que con ella se logra la excitación de espines nucleares y la detección de la señal mediante bobinas (Colorado, s/f-b).

Las sondas para RMN en estado sólido permiten el uso del ángulo mágico y el ingreso de la muestra, al rotor (SCAI, s/f) (Bruker, s/f), el cual a su vez se inserta en el estator, donde aire comprimido pasa a través de pequeños agujeros permitiendo que la muestra gire (a mayor frecuencia de giro, se presenta una mayor resolución en el espectro obtenido) para luego ser irradiada por radiofrecuencias.

Las sondas de RMN de estado sólido están diseñadas para manejar una potencia de radiofrecuencia mucho más alta, necesaria para excitar y desacoplar los anchos de banda de frecuencia necesarios para la RMN de estado sólido (Colorado, s/f-a). Conociendo estos aspectos se pueden considerar las condiciones necesarias para analizar las muestras fotosintéticas en estado sólido bajo RMN.

## 2.2. Aplicaciones de la espectroscopia de RMN

La RMN presenta una amplia variedad de aplicaciones teóricas y prácticas, donde son muchos los campos de acción de la técnica. En las siguientes líneas se enumeran algunas de ellas, ya sea por su uso generalizado o bien por la extensión de dicha aplicación a aspectos medio ambientales.

### 2.2.1. En análisis estructural y estereoquímico para la caracterización de compuestos químicos

Una de las principales aplicaciones la RMN es la caracterización estructural. Dicha caracterización puede ser estructural, utilizando la RMN en líquidos, o bien electrónica, a partir de la RMN en estado sólido, *e.g.*: se ha realizado la caracterización de  $^{27}\text{Al}$  y  $^{39}\text{K}$  (Alahmari, Dey, Emwas, Davaasuren, & Rothenberger, 2019), al igual que la de la lignina de la especie de bambú *D. sinicus* (Shi et al., 2019) y en materiales porosos (Marti, 2018).

Además, se han realizado estudios para caracterizar el kerógeno (*i.e.* mezcla de compuestos químicos orgánicos presente en las rocas sedimentarias) debido a su heterogeneidad, complejidad, e insolubilidad, utilizando espectroscopía de RMN en estado sólido debido a la capacidad de la técnica de RMN de proveer información estructural completa no destructiva (Cao, Yang, & Mao, 2011). Otro estudio ha analizado la estructura de los puntos cuánticos coloidales (*i.e.* nanocristales coloidales semiconductores) (Piveteau et al., 2015), igualmente se ha utilizado para descifrar la estructura de entidades celulares (Renault et al., 2012), la caracterización del polímero de lignina (Jia-Long, Shao-Long, Bai-Liang, & Run-Cang, 2013), la caracterización petrofísica de carbones por RMN de campo bajo (Yao et al., 2010), entre otras.

### 2.2.2. En control de calidad y autenticidad de alimentos

En materia de calidad y autenticidad de alimentos se han realizado distintos estudios debido a los avances en la sensibilidad instrumental de la técnica, la estabilidad electrónica y el

rápido crecimiento en nuevos algoritmos para el análisis de datos multivariantes para observar el metaboloma (*i.e.* conjunto de metabolitos) de alimentos. Existen estudios sobre las ventajas y limitaciones de la técnica de RMN para el análisis de alimentos (Laghi, Picone, & Capozzi, 2014) (Marcone et al., 2013).

Por otra parte, esta herramienta de análisis se ha utilizado en la evaluación del deterioro oxidativo de los aceites de pescado (Giese, Winkelmann, Rohn, & Fritsche, 2016), igualmente se ha utilizado para determinar cuantitativamente la composición de la cadena de ácidos grasos en productos de carne de cerdo (Siciliano et al., 2012) o en la discriminación de aceites vegetales (Popescu et al., 2015), para citar algunos casos.

### 2.2.3. En medicina y farmacia

La RMN es una herramienta analítica enormemente versátil que se puede aplicar a una amplia gama de problemas biomédicos y farmacéuticos, esto debido a una serie de factores, entre los que se pueden mencionar: i) su apreciable sensibilidad, ii) su capacidad de analizar tanto *in vitro* como *in vivo*, iii) no es una herramienta selectiva (*i.e.* todos los compuestos de bajo peso molecular en la muestra se detectan simultáneamente en una sola ejecución), iv) proporciona información estructural amplia y v) es una técnica cuantitativa (Simmler, Napolitano, McAlpine, Chen, & Pauli, 2014) (Malet-Martino & Holzgrabe, 2011).

Debido a estas características que se han realizado estudios en metabolómica, con énfasis en la investigación de trazadores enriquecidos con isótopos estables para determinar las rutas bioquímicas y las redes de la bioquímica de nucleótidos (Lane & Fan, 2017); además, se ha utilizado la herramienta para asegurar sustancias farmacológicas puras, y conocer a fondo las impurezas que acompañan a sus sustancias y productos farmacéuticos fabricados (Maggio, Calvo, Vignaduzzo, & Kaufman, 2014).

Por otro lado, se ha utilizado la espectroscopia de RMN de campo alto para diferenciar cationonas (*i.e.* sales de baño) para identificación forense (Krummel, Russell, Haase, Schelble, & Tsai, 2015), para evaluar la variabilidad fenotípica metabólica en la orina de los niños

(Maitre et al., 2017), para detección y perfilado de células tumorales circulantes (Castro et al., 2014), y para estudiar la dinámica de enzimas (Palmer, 2015), entre otras aplicaciones.

#### 2.2.4. En estudios de RMN a nivel de nanoescala

Un enfoque prometedor para la RMN aprovecha las mediciones ópticas de los “*nitrogen-vacancy colour centres in diamond*”, facilitando una combinación de sensibilidad de campo magnético y resolución espacial a escala nanométrica, mientras opera bajo condiciones ambientales en un sistema robusto de estado sólido (Aslam et al., 2017) (DeVience et al., 2015) (Loretz, Pezzagna, Meijer, & Degen, 2014).

Se han realizado estudios que permiten la exploración de imágenes de la sonda de la composición química y la estructura molecular de muestras arbitrarias, generando un método con aplicación generalizada en la ciencia de materiales, incluso en muestras biológicas hasta el nivel de macromoléculas individuales (Häberle, Schmid-Lorch, Reinhard, & Wrachtrup, 2015).

#### 2.2.5. En análisis ambientales

Debido a la capacidad de la RMN para proporcionar información molecular en muestras que tienen múltiples fases y en muestras que han tenido poco o ningún pretratamiento (A. J. Simpson, McNally, & Simpson, 2011), la técnica de RMN se ha utilizado en investigaciones ambientales, específicamente, para la caracterización de materia orgánica natural (Mao, Cao, Olk, Chu, & Schmidt-Rohr, 2017), además se ha utilizado para la caracterización a escala molecular de los componentes macromoleculares del suelo y la materia orgánica sedimentaria (Zhong, Sleighter, Salmon, McKee, & Hatcher, 2010). Así mismo, se han realizado investigaciones para caracterizar los componentes químicos orgánicos de la descomposición de los desechos de madera de diferentes regiones climáticas (Hishinuma, Osono, Fukasawa, Azuma, & Takeda, 2015) e incluso para el estudio de la caracterización y germinación de semillas (Lam, 2014).

Adicionalmente se ha realizado la caracterización de sustancias húmicas que se forman a partir de los residuos orgánicos mediante la acción de la actividad microbiana y análisis de los contaminantes ambientales y sus productos de transformación (Cardoza, Korir, Otto, Wurrey, & Larive, 2004).

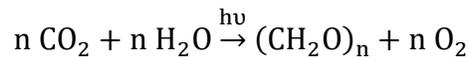
Un estudio ha determinado que la técnica de RMN puede utilizarse para muestras de materia orgánica del suelo (permitiendo comprender la estructura de los agregados del suelo, los procesos de humidificación, la fertilidad y la estabilidad y, a su vez, pronosticar cómo responde este reservorio de carbono al cambio climático, la agricultura intensiva y el cambio de uso de la tierra), materia orgánica disuelta (una de las mezclas más complejas conocidas, en donde la comprensión de su estructura y función permite entender el ciclo global del carbono, el transporte de contaminantes y la química oceánica en general) y materia orgánica atmosférica (para comprender procesos como la formación secundaria de aerosoles, la formación de la lluvia y las reacciones en la superficie, y para comprender las interfaces, la estratificación y la composición de las partículas de aire *in situ*) (A. J. Simpson, Simpson, & Soong, 2012), además tiene papel evaluación de la materia prima para la producción de biocombustibles, en la elucidación de propiedades estáticas y dinámicas de los minerales de arcilla y sus reactividades químicas, interacciones entre el suelo y el agua y mecanismos y dinámicas de los contaminantes orgánicos e inorgánicos en el medio ambiente con otras biogeomoléculas y minerales (M. J. Simpson & Simpson, 2014).

La RMN permite seguir el destino de cada átomo de una molécula durante la bioconversión, permite estudiar la eliminación de nutrientes biológicos y metales pesados como el  $^{27}\text{Al}$ , el  $^{65}\text{Zn}$  y el  $^{113}\text{Cd}$ . Además, la RMN se ha utilizado para ayudar a la ingeniería ambiental en el estudio y la optimización del tratamiento de residuos sólidos y lodos y ofrece la posibilidad de estudiar los procesos de la difusión y el flujo en los biorreactores (Lens & Hemminga, 1998), entre muchas más aplicaciones.

### 2.3.Fotosíntesis

Considerando el interés de esta memoria en utilizar organismos fotosintéticos como fuente de energía a partir del estudio de la química de espines (*vide supra*), resulta imprescindible presentar la fotosíntesis, cómo funciona y qué organismos en los dominios biológicos poseen la capacidad de llevar a cabo dicho proceso.

La fotosíntesis es un proceso biológico dentro de un organismo, en el cual la energía solar es capturada y, mediante una serie de procesos, es convertida en energía bioquímica para luego almacenarla y utilizarla en múltiples procesos celulares (Mirkovic et al., 2017) (Mahdi Najafpour, Carpentier, & Allakhverdiev, 2015). En general, la fotosíntesis se puede representar de la siguiente forma (Yahia, Carrillo-López, Malda-Barrera, Suzán-Azpiri, & Queijeiro-Bolaños, 2019):



El carbohidrato producido,  $(\text{CH}_2\text{O})_n$ , representa la materia prima esencial para la vida de los organismos fotosintéticos, que junto con los nutrientes que extraen del suelo, permiten cumplir los procesos químicos y biológicos que les permiten existir (Reinoso, Tordable, & Grosso, s/f).

#### 2.3.1. Longitudes de onda utilizadas en la fotosíntesis

Como se mencionó anteriormente, la luz utilizada para llevar a cabo el proceso fotosintético es la emitida por el Sol. La biosfera (*i.e.* capa del planeta Tierra que comprende desde unos 10 km de altitud en la atmósfera hasta los fondos oceánicos) recibe radiación solar que va desde los 290 nm hasta los 3000 nm de longitud de onda, aunque alrededor de un 45 % de la energía está agrupada entre los 380 nm y los 710 nm como se muestra en la figura 2.11 (Manrique, 2003). Esto puede visualizarse de mejor manera al recordar la ecuación de Planck (ecuación 1.7), en la que se relacionan la energía con las frecuencias y las longitudes de onda. Dicha ecuación puede expresarse de la siguiente manera:

$$\Delta E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (1.7)$$

donde  $h$  es la constante de Planck,  $\nu$  es frecuencia y  $\lambda$  la longitud de onda.

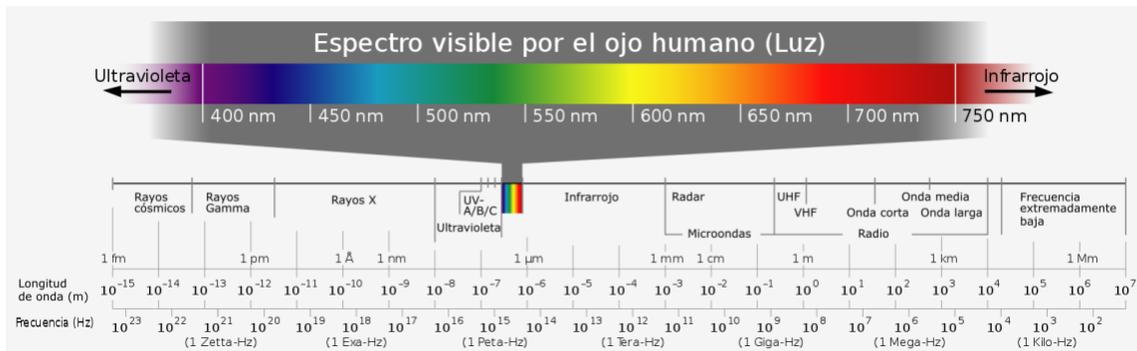


Figura 2.11. Distribución energética del conjunto de las ondas electromagnéticas conocido como Espectro Electromagnético.

La radiación llega a la tierra en paquetes de energía conocidos como fotones (Zwinkels, 2015), los cuales tienen una energía inversamente proporcional a su longitud de onda, es decir, los fotones con longitud de onda corta tienen mucha energía y los fotones con longitud de onda larga tienen baja energía (Reinoso et al., s/f).

Por lo general, solo se utiliza un rango estrecho del espectro solar para la fotosíntesis debido a las propiedades de los pigmentos fotosintéticos, los cuales se especializan en la absorción de longitudes de onda dentro del rango de luz visible del espectro (Nowicka, Ciura, Szymańska, & Kruk, 2018).

### 2.3.2. Pigmentos fotosintéticos

La energía lumínica es absorbida por los pigmentos, sustancias que absorben longitudes de onda específicas de luz. Los principales pigmentos fotosintéticos son la clorofila, que absorbe la luz violeta (380-435 nm), azul (435-500 nm) y roja (625-740 nm) y refleja la verde (520-

565 nm), las ficocianinas (presentes sólo en algas y cianobacterias) y los carotenoides, los cuales absorben la luz azul (435-500 nm) y verde (520-565 nm) y reflejan amarilla (565-590 nm), anaranjada (590-625) o roja (625-740 nm) (Mirkovic et al., 2017).

La clorofila (Chl) es una molécula formada por un anillo de porfirina, que tiene como función absorber la luz, y una larga cadena de fitol, que mantiene a la clorofila unida al interior de la membrana fotosintética. De este pigmento se encuentran distintas clases que difieren entre sí por los grupos laterales unidos al anillo de porfirina. La Chl A (ver figura 2.12) está presente en todos los organismos fotosintéticos productores de oxígeno, pero está ausente en las sulfobacterias (*i.e.* bacterias púrpuras fotosintéticas que requieren niveles de oxígeno menores a los que hay en la atmósfera, no usan H<sub>2</sub>O como agente reductor, por lo que no producen oxígeno, en su lugar usa ácido sulfhídrico que produce gránulos de ácido sulfúrico). Además de la Chl A, en todas las plantas y en las algas verdes, se encuentra la Chl B y en algas pardas, diatomeas (*i.e.* grupo de algas unicelulares) y ciertos protozoarios (*i.e.* microorganismos unicelulares primitivos de ambientes húmedos o acuáticos) se puede encontrar la Chl C. (Reinoso et al., s/f).

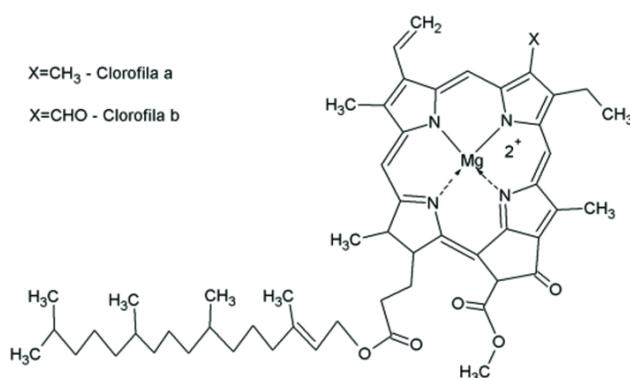


Figura 2.12. Molécula Chl A y B, pigmento principal en el proceso fotosintético.

Los carotenoides (ver figura 2.13) son indispensable debido a sus funciones como pigmentos accesorios en la captación de energía lumínica, que luego transfieren a las Chl, y como moléculas capaces de disipar la energía de excitación excedente, en forma de calor, con el fin de evitar posibles daños en la planta (Reinoso et al., s/f) y en la desintoxicación de las formas reactivas del oxígeno que se forman durante la fotosíntesis (Manrique, 2003).

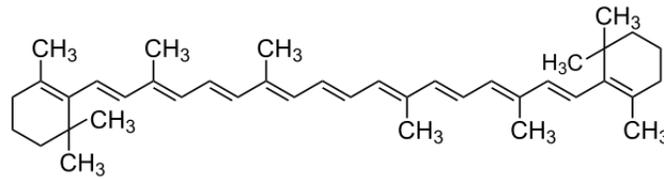


Figura 2.13. Molécula de  $\beta$  caroneto, pigmento accesorio en la captación de energía lumínica y disipador de energía excedente.

### 2.3.3. Lugar de desarrollo de la fotosíntesis

El proceso de fotosíntesis se lleva a cabo en las organelas llamadas cloroplastos (ver figura 2.14). Esta estructura contiene todos los pigmentos y en la mayoría de los organismos lleva a cabo todas las fases principales del proceso fotosintético (Wayne, 2019).

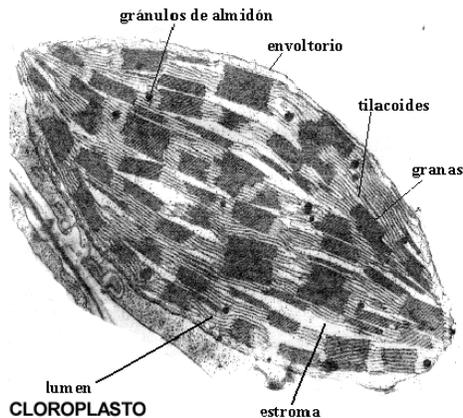


Figura 2.14. Microscopía electrónica de un cloroplasto y sus componentes principales.

Dentro del cloroplasto se encuentra un amplio sistema de membranas conocidas como tilacoides. Estos se pueden encontrar apilados en conjuntos conocidos como grana (Zamora Silva, 2017), en donde se encuentran los pigmentos, por lo que estas membranas tilacoides son los sitios donde se absorbe la luz y se desatan las primeras reacciones de la fotosíntesis (León & Guevara-García, 2007). Adicionalmente, los cloroplastos tienen un interior acuoso

conocido como estroma, que permite las reacciones fijación del carbono (*i.e.* Ciclo de Calvin) en forma de productos que pueden usarse para otros procesos celulares más tarde (Vigo, s/f).

En los organismos fotosintéticos procariotas más primitivos, las primeras etapas de la fotosíntesis se llevan a cabo en las membranas especializadas de la membrana plasmática de la célula y las reacciones del metabolismo del carbono se dan en el citoplasma celular (Pérez-Urria Carril, 2009).

#### 2.3.4. Fases de la fotosíntesis

La fotosíntesis se lleva a cabo en dos etapas: una serie de reacciones que dependen de la luz y otra serie de reacciones que son independientes de la luz (Yahia et al., 2019). Cada reacción se lleva a cabo en un lugar distinto del cloroplasto, pero ambas etapas se acoplan mediante moléculas portadoras de energía (Reinoso et al., s/f). Por el alcance que se está desarrollando dentro de esta memoria, solamente se discutirán las reacciones dependientes de la luz y, por ende, de los fotosistemas en donde se llevan a cabo estas reacciones.

#### 2.3.5. Fotosistemas

Un fotosistema se trata de un complejo pigmento-proteína impulsado por la luz y localizado en la membrana tilacoide, el cual está formado por un centro de reacción (CR) y un complejo antena, como se observa en la figura 2.15 (Mamedov, Govindjee, Nadochenko, & Semenov, 2015). En las plantas superiores (*i.e.* planta con órganos diferenciados y con tejidos especializados para realizar el proceso de fotosíntesis y la conducción de savia y de agua) se presentan dos fotosistemas llamados fotosistema I (FI) y fotosistema II (FII) (Krüger, Novoderezhkin, Romero, & van Grondelle, 2014).

##### 2.3.5.1. Complejo antena

Los pigmentos fotosintéticos, como la Chl A, la Chl B y los carotenoides, son moléculas que absorben la luz (Yahia et al., 2019) y se encuentran en la membrana tilacoide (Sánchez

Barajas, 2016). Estos pigmentos están organizados junto con proteínas en complejos llamados complejos antena (Krüger et al., 2014).

Cuando un pigmento del complejo antena absorbe un fotón, uno de sus electrones se eleva a un orbital de mayor energía (Herek & Mahi, 2005) y se transfiere energía a un pigmento vecino a través de interacciones electromagnéticas (*i.e.* reacciones redox). El pigmento vecino, a su vez, puede transferir energía a uno de sus vecinos y así sucesivamente (Sánchez Barajas, 2016).

En conjunto, las moléculas de pigmento aumentan la cantidad de energía que se puede absorber en comparación con un solo pigmento (McConnell, Li, & Brudvig, 2010) y la transportan hacia la parte central del fotosistema llamada centro de reacción (CR) (Cogdell, Gardiner, Yukihiro, & Hashimoto, 2018) (McConnell et al., 2010).

El CR de un fotosistema contiene un único par de moléculas de Chl A, que suele denominarse par especial. Una vez que se aumenta el nivel de energía en el par especial, ya no pasará a otros pigmentos mediante la transferencia de energía por resonancia, sino que el par especial perderá un electrón al excitarse y este pasará a otra molécula llamada aceptor primario de electrones (Khan, s/f). Con esta transferencia, el electrón comenzará su recorrido por una cadena de transporte de electrones (Herek & Mahi, 2005).

En realidad, el complejo antena no realiza ninguna reacción química, sino que se encarga de recolectar y transportar la energía, por lo que es más importante centrarse en el estudio del CR.

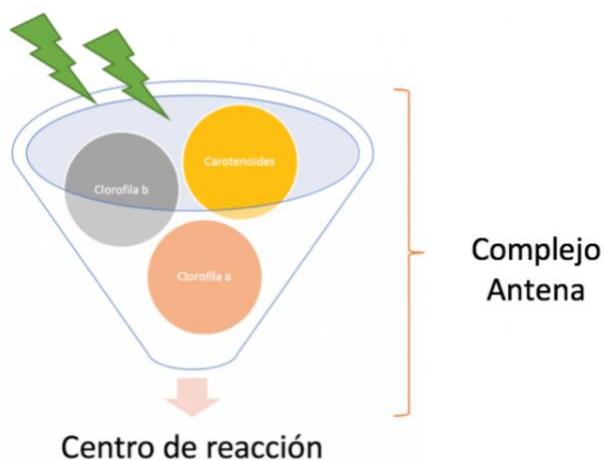


Figura 2.15. Esquema simplificado del complejo pigmento-proteína, conocido como fotosistema, formado por el CR y el complejo antena (Fuente: Propia).

#### 2.3.5.2. Centro de reacción

El CR contiene un dímero (*i.e.* molécula compuesta por dos unidades similares) especial de pigmentos, el cual es el principal donante de electrones para la cadena de transporte de los mismos (Gelzinis, Abramavicius, Ogilvie, & Valkunas, 2017). Estos pigmentos son químicamente idénticos a las Chl que se encuentran en el complejo antena, pero su entorno en la proteína del CR les atribuye propiedades especiales. El último paso en el sistema de antena es la transferencia de energía a este dímero, creando un dímero excitado electrónicamente (Blankenship, 2002).

En todos los CR de organismos fotosintéticos se realiza un proceso básico, el cual se desarrolla de la siguiente manera: un pigmento similar a la Chl (P) se promueve a un estado electrónico excitado ( $P^*$ ) (Blankenship, 2002), ya sea por absorción directa de fotones o por transferencia de energía desde el complejo antena (McConnell et al., 2010). El  $P^*$  es una especie reductora extremadamente fuerte, por lo que dona rápidamente un electrón a una molécula aceptora de electrones cercana (quinona) ( $Q_A$ ) (ver figura 2.16), generando un estado de par iónico  $P^{\cdot+}Q_A^{\cdot-}$  (Prakash et al., 2007). Esta separación de cargas es la reacción primaria de la fotosíntesis (Gisriel et al., 2017). En este momento puede pasar que el electrón simplemente se transfiera de nuevo a  $P^{\cdot+}$  desde  $Q_A^{\cdot-}$  y la energía se convierte en calor y se

pierde y esto es posible porque ambas especies,  $P^{+}$  altamente oxidante y  $Q_{A}^{-}$  altamente reductora, están físicamente una al lado de la otra (Blankenship, 2002).

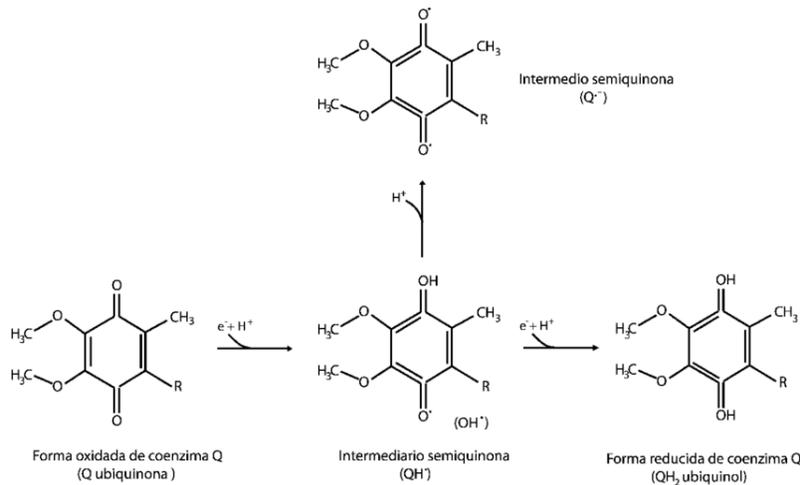


Figura 2.16. Estados de oxidación de la quinona, molécula aceptora de electrones (Berg, Tymoczko, & Stryer, 2007).

El sistema evita estas pérdidas por recombinación mediante una serie de reacciones secundarias extremadamente rápidas (nanosegundos) que separan espacialmente las cargas positivas de las negativas (Blankenship, 2002). Luego, los procesos más lentos pueden apropiarse y estabilizar el almacenamiento de energía y convertirlo en formas más sencillas de utilizar (Blankenship, 2002).

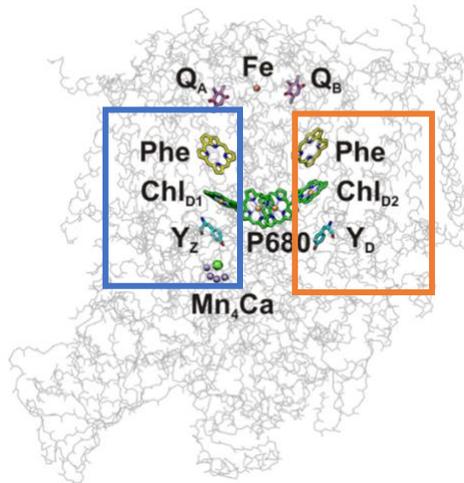


Figura 2.17. Estructura 3D del CR fotosintético del FII (Mamedov et al., 2015).

Como se puede observar en la figura 2.17, el CR del FII cuenta con dos ramas, la rama D1 (cuadro de color azul) y la rama D2 (cuadro de color anaranjado), pero la transferencia de electrones en FII se da solamente a lo largo de la rama D1 (a pesar de tener cofactores idénticos a lo largo de la rama D2) para la formación de P680<sup>+</sup>·Phe<sup>-</sup> (ya que la feofitina es el primer aceptor de electrones en el FII) y luego P680<sup>+</sup>·QA<sup>-</sup> (Mamedov et al., 2015) (Gruszecki & Wardak, 2003). La preferencia por la rama D1 sobre la D2 puede deberse al entorno proteico alrededor de los cofactores, que puede alterar sus potenciales redox, lo que hace que la transferencia de electrones a esos cofactores sea favorable para D1 (Mamedov et al., 2015), aunque esta asimetría sigue siendo estudiada.

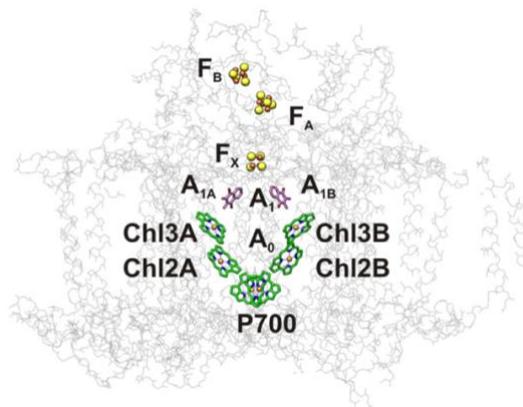


Figura 2.18. Estructura 3D del CR fotosintético del FI (Mamedov et al., 2015).

Como se observa en la figura 2.18, la cadena de transferencia de electrones del FI consiste en pasar de P700 (Chl1A/Chl1B) al aceptor primario de electrones A<sub>0</sub> (Chl2A/Chl3A y Chl2B/Chl3B), luego a A<sub>1</sub> (moléculas de filoquinona designadas A<sub>1A</sub> y A<sub>1B</sub>) y finalmente a los grupos de hierro-azufre F<sub>x</sub>, F<sub>A</sub> y F<sub>B</sub>. Adicionalmente, se sabe que la transferencia de electrones en FI se produce a través de ambas ramas de los cofactores redox desde P700 hasta F<sub>x</sub> (Mamedov et al., 2015).

### 2.3.6. Diferencias entre los fotosistemas I y II

En el FI las moléculas de Chl A del CR, es decir, el par especial, son conocidas como P700 en donde P proviene de pigmento y 700 hace referencia al pico de absorción óptimo en 700 *nm*. En el FII las moléculas de clorofila A del CR son conocidas como P680 en donde 680 indica el pico de absorción óptimo en 680 *nm* (Zamora Silva, 2017) (Pribil & Leister, 2017).

Por otra parte, el par especial de cada fotosistema transfiere electrones a un aceptor primario diferente. El aceptor primario de electrones del FII es la feofitina (Phe), una molécula orgánica que se asemeja a la Chl, mientras que el aceptor primario de electrones del FI es una Chl llamada A<sub>0</sub> (Khan, s/f) y además una vez perdido un electrón, cada fotosistema se abastece con electrones de una fuente distinta: el CR del FII obtiene electrones del H<sub>2</sub>O, mientras que el CR del FI se abastece con los electrones que fluyen hacia abajo de una cadena de transporte de electrones del FII (ver figura 2.19) (Krewald, Retegan, & Pantazis, 2015).

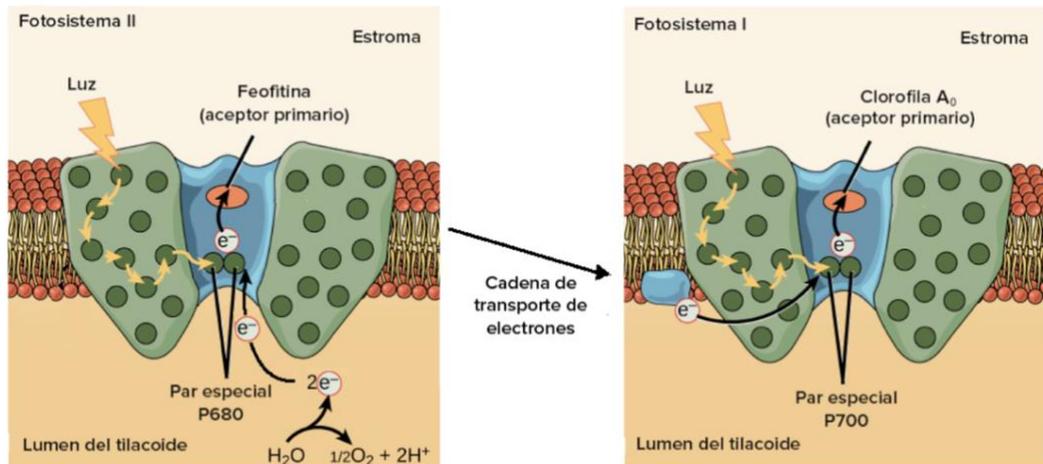


Figura 2.19. Diagramas del FI y del FII de un organismo fotosintético (Khan, s/f).

### 2.3.7. Reacciones dependientes de la luz

Estas reacciones son un proceso en el cual se toman electrones del  $H_2O$  que pasan a través del FII y el FI hasta terminar en NADPH. Este proceso requiere que se absorba luz, una vez en cada fotosistema, y finalmente se crea ATP a partir de ADP (ver figura 2.20) (Zamora Silva, 2017) (Kalyanasundaram & Graetzel, 2010). Este proceso se resume a continuación:

Uno de los pigmentos del FII absorbe la energía de los fotones, esta pasa de un pigmento a otro hasta llegar al CR. Aquí la energía se transfiere al P680 y se impulsa a un electrón a un nivel de energía superior, este electrón pasa a una molécula aceptora y es reemplazado por un electrón del  $H_2O$  (Khan, s/f). Esta división del  $H_2O$  libera oxígeno e iones  $H^+$  (Krewald et al., 2015). A continuación, el electrón de alta energía recorre una cadena de transporte de electrones, perdiendo energía a medida que avanza y utilizándola para bombardear iones  $H^+$  del estroma hacia el lumen tilacoidal y formar un gradiente (los iones  $H^+$  de la división del  $H_2O$  también se incorporan al gradiente). A medida que los iones  $H^+$  fluyen de nuevo hacia el estroma, pasan a través del complejo ATP sintasa, que estimula la producción de ATP (Leegood, 2013) en un proceso conocido como quimiosmosis (Krewald et al., 2015).

El electrón llega al FI y se une al par especial de Chl P700 en el CR (El-Khouly, El-Mohsnawy, & Fukuzumi, 2017). Cuando los pigmentos absorben la energía y esta llega al

CR, el electrón en P700 es impulsado a un nivel mucho más alto de energía y se transfiere a una molécula aceptora. El electrón que falta del par especial es reemplazado por un nuevo electrón proveniente del FII (Khan, s/f). Este electrón de alta energía recorre la cadena de transporte de electrones para finalmente pasar al  $\text{NADP}^+$ , junto con un segundo electrón, para formar NADPH (Khan, s/f).

El objetivo principal de estos pasos es convertir la energía luminosa en energía química en forma de ATP y NADPH, los cuales se utilizan para formar azúcares en el ciclo de Calvin (Khan, s/f).

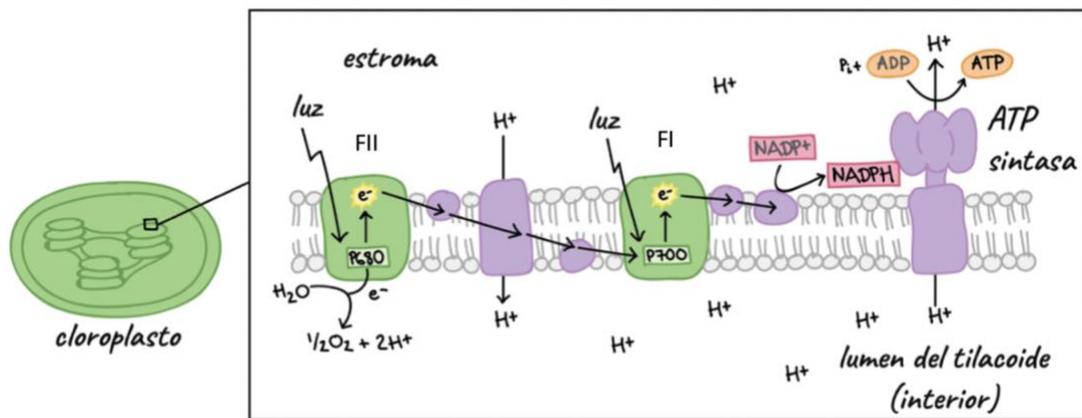


Figura 2.20. Diagrama de las reacciones dependientes de la luz en el proceso fotosintético (Khan, s/f).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Entrevistas a expertos

Debido a la falta de información referente al uso de la RMN en organismos fotosintéticos, y la teoría de espines asociada, las cuales son escasas en la literatura, se realizaron entrevistas no estructuradas a expertos en el tema y visitas a un equipo de Resonancia Magnética Nuclear del Instituto de Química Analítica de la Facultad de Química y Mineralogía de la Universidad de Leipzig, Alemania. Los expertos entrevistados fueron: Prof. Dr. Jörg Matysik, Prof. Dr. Chen Song, Dr. Pavlo Bielytskyi, M.Sc. Lisa Köhler, M.Sc. Patrick Kurle y M.Sc. YongHong Ding. El objetivo de estas entrevistas no estructuradas fue el de conocer más sobre el funcionamiento del equipo de RMN en estado sólido, los principios de la técnica y sus aplicaciones, particularmente en organismos fotosintéticos.

#### 3.2. Revisión de la literatura

La revisión bibliográfica realizada se centró en fuentes primarias y secundarias. La misma se centró en varios tópicos: RMN (tanto en estado líquido como sólido), principios de la fotosíntesis, el papel de los espines en la fotosíntesis, hiperpolarización (específicamente la técnica *photo-CIDNP*), así como estudios y aplicaciones en las que se hayan implementado organismos fotosintéticos para la extracción de energía u otros productos (principalmente la fotosíntesis artificial).

La información obtenida proviene principalmente de libros, artículos científicos, entrevistas con expertos, trabajos universitarios, revistas científicas y diferentes bases de datos.

#### 3.3. Análisis de datos cualitativos

Toda la información recolectada se examinó, organizó y sintetizó para realizar filtros temáticos, con los cuales poder realizar un análisis multidisciplinar del estado del arte. A partir de análisis espectrales (con ayuda de las entrevistas y la observación durante

mediciones de RMN), y de una selección de proyectos vigentes, se propusieron las conclusiones y recomendaciones del caso bajo estudio.

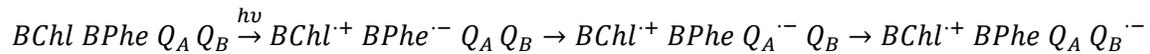
## 4. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1. Espines en la fotosíntesis

Durante mucho tiempo el estudio de la fotosíntesis se ha centrado en el análisis del transporte de electrones (TE) y se ha pensado que los espines no desempeñan un papel significativo en el proceso fotosintético. En realidad el TE resulta en una transferencia de carga y de espín (Céspedes-Camacho & Matysik, 2014), por lo que es necesario su estudio para entender la conversión de la energía en la fotosíntesis.

El paso inicial en el TE se produce en los CR en unos pocos picosegundos entre el donador de electrones primario BChl (en el caso de *Rhodobacter (R.) sphaeroides* se trata de una bacterioclorofila conocida como par especial) y el primer aceptor de electrones BPhe, (en el caso de *R. sphaeroides* se trata de una bacteriofeofitina con un monómero de bacterioclorofila accesorio), continuando a través de las dos quinonas Q<sub>A</sub> y Q<sub>B</sub> (Schulten et al., 2002).

Esta fotorreacción en el CR de *R. sphaeroides* (*vide infra*) puede expresarse como:



En plantas superiores se requiere de dos complejos de proteína fotosintética, mencionados anteriormente, FI y FII, que operan en serie.

En el TE durante la fotosíntesis, las reacciones se producen a partir del estado singlete excitado ( $S = 0$ ) en el orden de los picosegundos (relacionado con la alta eficiencia de la reacción primaria). Sin embargo, si se bloquea la reacción (debido a un exceso de electrones), la fotoexcitación (*i.e.* excitación producida por luz) forma moléculas de Chl y BChl en sus estados tripletes ( $S = 1$ ), lo que representa un peligro para los fotosistemas porque reaccionan con el oxígeno molecular creando oxígeno singlete, una especie extremadamente reactiva que puede dañar la proteína; por lo que se debe evitar la formación de estados tripletes de Chl en todos los fotosistemas, que es en realidad lo que sucede

naturalmente. Para evitar la formación de ese oxígeno singlete, existen dos pasos de la reacción que son altamente optimizados y rápidos: (1) la transferencia de energía singlete en el complejo antena y (2) la separación de carga en el CR. Adicionalmente, existe una protección natural adjudicada a los carotenoides cerca de las moléculas de Chl que permiten la transferencia eficiente de la energía del triplete de las Chl a los carotenoides (*vide supra*), ya que estos estados triplete de carotenoides se desintegran al estado basal singlete por disipación de energía (ver figura 4.1) (Céspedes-Camacho & Matysik, 2014) (McConnell et al., 2010).

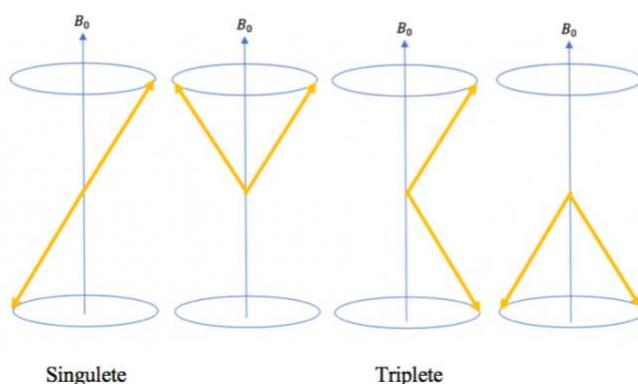


Figura 4.1. Modelo vectorial de los estados de espín (Céspedes-Camacho & Matysik, 2014).

Para entender mejor cómo el espín juega un papel importante en el proceso fotosintético se puede estudiar el mecanismo conocido como *Radical-Pair Mechanism* (RPM), como se muestra en figura 4.2. Según el Prof. Matysik (Universidad de Leipzig), dicho mecanismo explica que cuando se tiene un pigmento ( $^1P$ ), el cual se encuentra en estado singlete, es decir, los electrones del orbital están apareados  $\uparrow\downarrow$ , y es bombardeado con un fotón, este se excita electrónicamente a  $^1P^*$ , es decir un estado singlete excitado en el que un electrón de un orbital se va a otro orbital de mayor energía, pero sin cambiar su dirección. A continuación, lo que puede pasar es que  $^1P^*$ , tiene suficiente tiempo para cambiar su estructura electrónica y pasar a un estado triplete  $^3P$  ( $\uparrow\uparrow$  o  $\downarrow\downarrow$ ), en un proceso denominado *Intersystem Crossing* (ISC). Dicho estado triplete puede vivir bastante tiempo ya que no

puede volver al estado singlete debido a que la recombinación es prohibida por el principio de exclusión de Pauli.

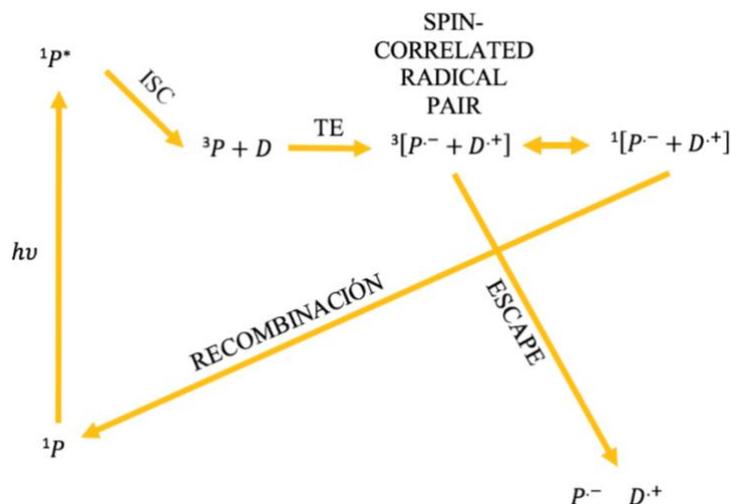


Figura 4.2. Esquema simplificado del Radical-Pair Mechanism (RPM), útil para comprender el proceso fotosintético (Fuente: Matysik, J.).

Ahora bien, si  ${}^3P$  es reactivo, ya que tiene espacio vacío en el orbital en que un electrón subió a otro orbital, este atrae electrones y si se tiene una molécula donadora de electrones (D), lo que puede pasar es que se dé una transferencia de electrones y se genere un *Spin-Correlated Radical-Pair*, es decir, un par radical triplete  ${}^3[P^{\cdot-} + D^{\cdot+}]$ , donde  $P^{\cdot-}$  es un radical anión y  $D^{\cdot+}$  es un radical catión, y este, bajo ciertas circunstancias, puede formar un par radical singlete  ${}^1[P^{\cdot-} + D^{\cdot+}]$ ; esto pasa debido a la velocidad a la que se mueven ambas moléculas, es decir, si ambas se movieran a la misma velocidad siempre se tendría un estado triplete. Ahora bien,  ${}^1[P^{\cdot-} + D^{\cdot+}]$  tiene permitido la recombinación, pero no así  ${}^3[P^{\cdot-} + D^{\cdot+}]$ , el cual solo puede separarse en  $P^{\cdot-}$  y  $D^{\cdot+}$  y participar en otros procesos o incluso pueden volver a recombinarse, proceso que se conoce como *Escape Reaction*. Dependiendo de las condiciones, incluso  ${}^1[P^{\cdot-} + D^{\cdot+}]$  puede realizar *Escape Reaction*.

Según el Prof. Matysik indica, que suceda todo esto es atípico ya que, al pensar en un proceso químico normal, solo se necesita de la energía suficiente para convertir ciertos reactivos en los productos correspondientes. En este punto puede llegarse a pensar que la química de

espines no juega un papel importante, ya que las energías de espín (J/mol) no son tan grandes comparadas con las energías de reacción (kJ/mol), pero la misma se lleva a cabo más por un factor cinético que por un factor termodinámico.

Es decir, la termodinámica diría que la recombinación en  $^3[P^{\cdot-} + D^{\cdot+}]$  debería pasar, ya que  $^3[P^{\cdot-} + D^{\cdot+}]$  y  $^1[P^{\cdot-} + D^{\cdot+}]$  tienen casi la misma energía, pero la recombinación es prohibida para el estado triplete. Es así como finalmente, las pequeñas energías de espín pueden decidir el futuro químico de una reacción.

#### 4.2. Hiperpolarización: Efecto *photo-CIDNP*

La RMN es capaz de facilitar un alto contenido de información, pero cuenta con la desventaja de tener una baja sensibilidad inherente (entre otros factores) en comparación con otras técnicas analíticas estándar, como la espectrometría de masas, y esto se debe a que la señal en un experimento de RMN se origina gracias a un desequilibrio de la población a través de un conjunto de estados de espín nuclear (*vide supra*) pero, la señal de RMN puede ampliarse significativamente aumentando la polarización nuclear más allá de la dictada por Boltzmann en el campo de detección (una amplificación menor se puede obtener aumentando  $B_0$  o disminuyendo la temperatura, pero la misma no es tan considerable), mediante procesos conocidos como de hiperpolarización (Halse, 2016).

Existen diferentes métodos para lograr la hiperpolarización, aunque en esta memoria se desarrollará más en detalle la conocida como *Photochemically induced dynamic nuclear polarization (photo-CIDNP)*, debido a su aplicabilidad y utilidad en estudios de organismos fotosintéticos.

*Photo-CIDNP* es un efecto que produce una polarización nuclear de espín “anti Boltzmann” que puede observarse en un espectro de RMN como señales absorptivas (positivas) o emisivas (negativas). El efecto *photo-CIDNP* se produce durante una reacción química (Wang, Thamarath, Alia, Bode, & Matysik, 2016) al iluminar la muestra con una fuente de luz (Paul, Bode, Matysik, & Alia, 2015).

A partir de los datos mostrados en la figura 4.3, donde se midieron los espectros de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN del CR de la bacteria *R. sphaeroides* WT (*i.e.* tipo natural) y R26 (*i.e.* mutante sin carotenoides) en la oscuridad y bajo iluminación, respectivamente (Wang et al., 2016), es posible visualizar la importancia del efecto *photo-CIDNP*.

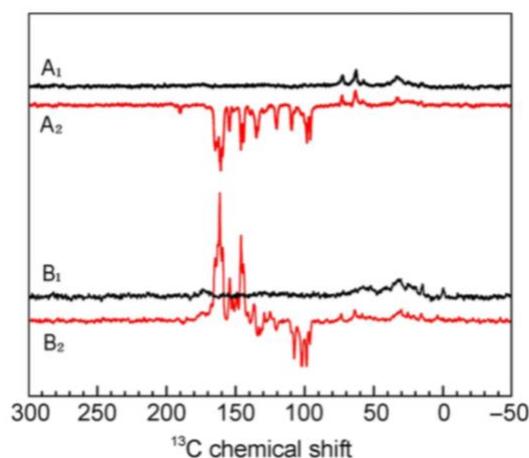


Figura 4.3. Espectros de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN del CR con agotamiento de quinona de *R. sphaeroides* WT (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>) y del mutante R26 sin carotenoides (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>) en la oscuridad (A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>) y bajo iluminación continua con luz blanca (A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub>) a 4.7 T (Wang et al., 2016).

En el espectro obtenido en la oscuridad (A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>), aparecen las resonancias esperadas de la proteína pero al iluminar la muestra con luz blanca continua (ver figura 4.4), generada a partir de una lámpara de Xe, (A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub>), se muestran varias señales fuertes inducidas por la luz, generadas debido al efecto *photo-CIDNP* de estado sólido (Wang et al., 2016).

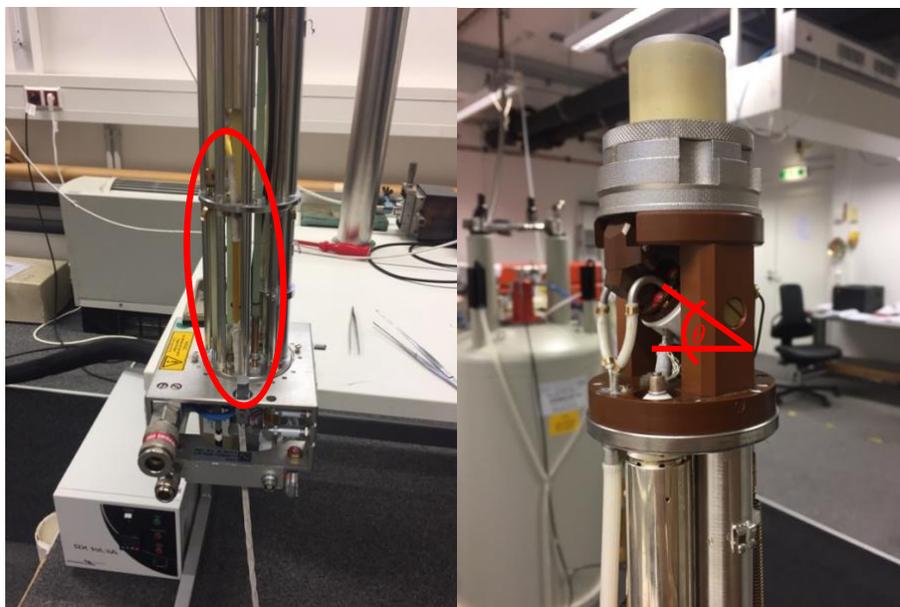


Figura 4.4. Fotografía de la fibra óptica para iluminación de la muestra dentro de la sonda. Del lado derecho también se puede observar el ángulo mágico (Fuente: Propia).

Es importante considerar que el efecto *photo-CIDNP* depende de la magnitud del campo magnético y, aparentemente, es posible que la dependencia del campo magnético del efecto también se deba a la diferencia entre los CR tipo I y tipo II, por lo que no se puede determinar si un campo magnético más bajo podría ser indicativo de una mejoraría mayor a la señal de todos los CR de los organismo fotosintéticos (Najdanova, Janssen, de Groot, Matysik, & Alia, 2015). Estudios recientes han reportado que el campo magnético terrestre ( $\sim 50 \mu\text{T}$ ) podría ser utilizado, pero, aunque se han realizado experimentos para disminuir los campos magnéticos, esta disminución no es sencilla de lograr. Actualmente, se ha observado el efecto *photo-CIDNP* en unidades de mT mediante un equipo llamado “*Shuttle system*” (Gräsing et al., 2017) (Barnes & Greenebaum, 2015) (Jeschke, Anger, Bode, & Matysik, 2011) (Mohorič & Stepišnik, 2009). Dicho resultado, y la observación del efecto *photo-CIDNP* en  $^1\text{H}$ , permite acercar la química de espines a condiciones fotosintéticas naturales (Bielytskyi, Gräsing, Zahn, Alia, & Matysik, 2019) (Bielytskyi, Gräsing, Zahn, Mote, et al., 2019).

#### 4.1.1. Experimentos de RMN con *photo-CIDNP* en estado sólido

A continuación, y con el fin de demostrar la versatilidad de esta técnica de hiperpolarización y su papel en los procesos energéticos inherentes a la fotosíntesis, se mencionarán algunos organismos fotosintéticos a los que se les han realizado experimentos con *photo-CIDNP* en estado sólido.

##### 4.1.1.1. Experimentos de RMN con *photo-CIDNP* en estado sólido en *Rhodobacter sphaeroides* WT y R26

El CR de la bacteria púrpura *R. sphaeroides* ha sido estudiado debido a que, aunque el arreglo de cofactores es altamente simétrico, la transferencia de electrones, como se vio anteriormente, ocurre solamente a lo largo de una de las dos ramas (ver figuras 4.5 y 4.6) (Bielytskyi, Gräsing, Zahn, Alia, et al., 2019) (Thamarath, Bode, et al., 2012) (Davis et al., 2010) (Prakash et al., 2007) (Prakash et al., 2006) (Prakash et al., 2005).

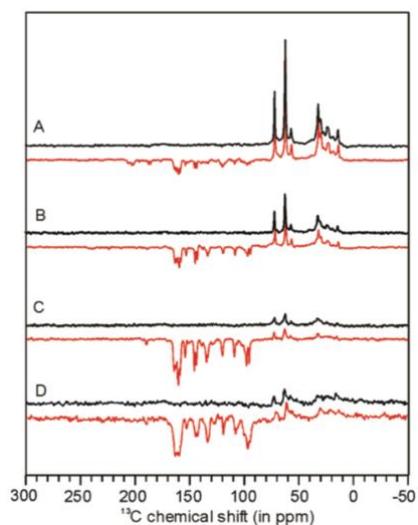


Figura 4.5. Espectros de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN del CR con agotamiento de quinona de *R. sphaeroides* WT en la oscuridad (negro) y bajo iluminación (rojo) a 17.6 T (A), 9.4 T (B), 4.7 T (C) y 2.4 T (D) a 235 K y bajo una frecuencia de MAS de 8 kHz y desacoplamiento de  $^1\text{H}$  (Thamarath, Bode, et al., 2012).

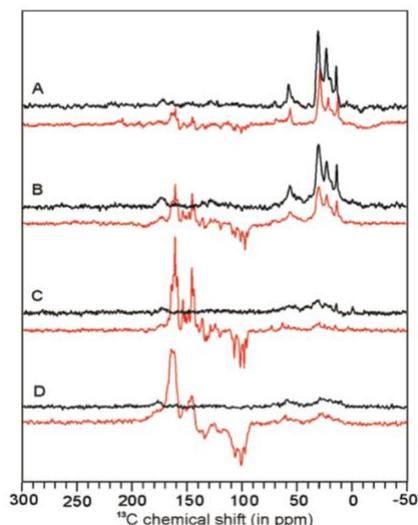


Figura 4.6. Espectros de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN del CR con agotamiento de quinona de *R. sphaeroides* R26 en la oscuridad (negro) y bajo iluminación (rojo) a 17.6 T (A), 9.4 T (B), 4.7 T (C) y 2.4 T (D) a 235 K y bajo una frecuencia de MAS de 8 kHz y desacoplamiento de  $^1\text{H}$  (Thamarath, Bode, et al., 2012).

En las figuras 4.5 y 4.6 se pueden observar los espectros de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN del CR de la bacteria púrpura *R. sphaeroides* WT y R26, respectivamente. En el caso de los espectros en color negro, estos se obtuvieron en la oscuridad, es decir, sin utilizar *photo-CIDNP* y en el caso de los espectros en color rojo se puede observar, para la misma muestra, el efecto en las señales al utilizar *photo-CIDNP*, es decir, bajo la influencia de la iluminación. Claramente, al comparar los espectros negros con los rojos se observa un *enhancement* de la señal, debido a que se supera la baja sensibilidad intrínseca y la no selectividad de la espectroscopia de RMN mediante la inducción fotoquímica de la población “anti Boltzmann” en los estados de espín nuclear, lo cual permite una lectura más sencilla de los mismos. Los cuatro espectros (A, B, C y D) se diferencian en el campo magnético externo al que la muestra fue expuesta. En el espectro A, la muestra fue expuesta a 17.6 T, en el B fue expuesta a 9.4 T, C fue expuesta a 4.7 T y D fue expuesta a 2.4 T. Observando los diferentes campos magnéticos también se puede observar la influencia del mismo en el espectro final, para el caso de los espectros de la muestra en oscuridad se puede observar un *enhancement* de la señal a mayor campo magnético y al contrario, en la muestra bajo efecto de la iluminación, se puede observar un *enhancement* de la señal a menor campo magnético. Por otro lado, se

puede observar que, en los picos más intensos del espectro, existe una mayor densidad electrónica que se manifiesta aún más al iluminar la muestra.

Los espectros de la figura 4.5 y la figura 4.6 se diferencian en que en la figura 4.5 el CR se obtuvo de una *R. sphaeroides* WT y en la figura 4.6 se obtuvo de un *R. sphaeroides* R26. La *R. sphaeroides* WT es la bacteria que se encuentra de forma natural y la *R. sphaeroides* R26 es una bacteria mutante sin carotenoides, esto es así debido a que la vida útil de un pigmento en estado triplete depende de los canales de relajación proporcionados por el entorno, por lo que su vida es corta en un CR WT, ya que tiene carotenoides cercanos, y significativamente más largo en el mutante sin carotenoides R26.

#### 4.1.1.2. Experimentos de RMN con *photo-CIDNP* en estado sólido en otras bacterias

También se han estudiado CR de otras bacterias fotosintéticas como *Rhodopseudomonas (Rps.) acidophila*, *Chlorobium (C.) tepidum* y *Heliobacillus (Hb.) mobilis* (ver figura 4.7 y 4.8) (Thamarath, Alia, et al., 2012) (Roy et al., 2008) (Diller, Alia, Gast, Jeschke, & Matysik, 2008) (Roy et al., 2007).

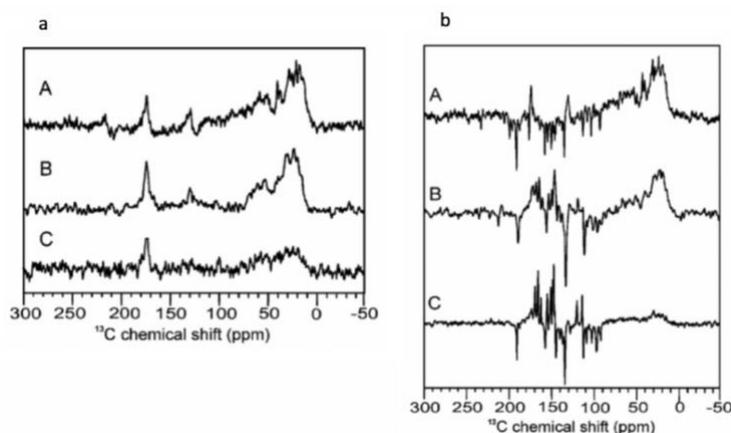


Figura 4.7. Espectros de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN de fragmentos de membrana de *Hb. mobilis* en la oscuridad (a) y bajo iluminación continua (b) a 17.6 T (A), 9.4 T (B) y 4.7 T (C) y bajo una frecuencia de MAS de 8 kHz (Roy et al., 2008).

En la figura 4.7 se puede ver el espectro de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN de fragmentos de membrana de *Hb. mobilis*, en la imagen a se puede apreciar el espectro en la oscuridad bajo la influencia de distintos campos magnéticos, en el caso de A, el campo magnético es de 17.6 T, en B, el campo magnético es de 9.4 T y en C es de 4.7 T. Aquí se observa una señal más intensa en el caso de A, es decir, bajo un campo magnético más alto. Al contrario, en la imagen b, la muestra se encuentra bajo iluminación continua, en este caso se puede evaluar cómo el efecto *photo-CIDNP* mejora las señales del espectro sin importar el campo magnético. Ahora bien, en esta muestra se puede observar que el espectro más claro de leer debido a la intensidad de sus señales es C, es decir, el que se encuentra a un menor campo magnético.

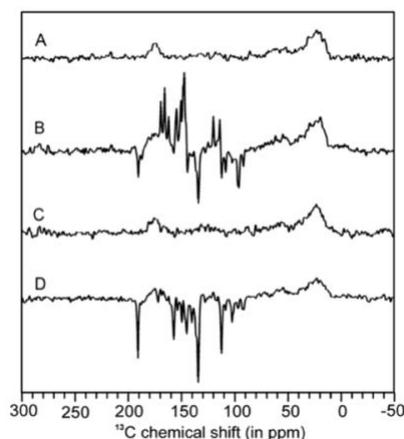


Figura 4.8. Espectros de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN de células enteras *Hb. mobilis Braunstoff* en la oscuridad (A) y bajo iluminación (B) y de *Hb. mobilis Grünstoff* en la oscuridad (C) y bajo iluminación (D) a 4.7 T y 235 K (Thamarath, Alia, et al., 2012).

En la figura 4.8 se puede ver el espectro de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN de células enteras de *Hb. mobilis Braunstoff* y *Hb. mobilis Grünstoff*, en el caso de los espectros A y C estos muestran las señales de la muestra sin ninguna iluminación y en el caso de los espectros B y D, se puede ver el efecto de la iluminación con luz blanca proveniente de una lámpara de xenón.

La diferencia entre *Hb. mobilis Braunstoff* y *Hb. mobilis Grünstoff* radica en que *Braunstoff* (en alemán, sustancia café) es un cultivo conservado anaeróbicamente y después de ser

expuesto al oxígeno se convierte en *Grünstoff* (en alemán, sustancia verde) (Thamarath, Alia, et al., 2012).

#### 4.1.1.3. Experimentos de RMN con *photo-CIDNP* en estado sólido en fotosistemas de plantas

En plantas superiores y algas, la fotosíntesis se lleva a cabo en dos fotosistemas, FI y FII, los cuales también han sido analizados y estudiados bajo el efecto *photo-CIDNP* (ver figura 4.9 y 4.10) (Diller et al., 2007) (Alia et al., 2004).

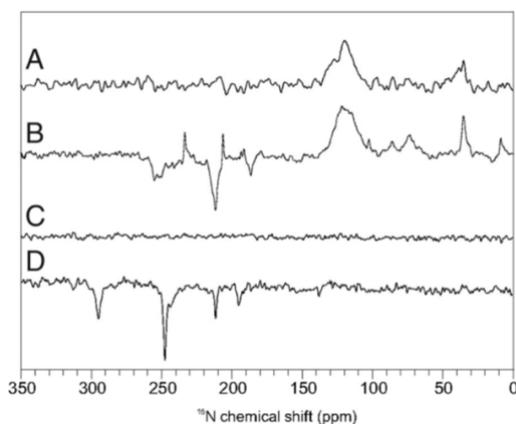


Figura 4.9. Espectros de  $^{15}\text{N}$  MAS RMN del FI y FII de *Spinacia oleracea*. Se obtuvieron espectros del FI (A, oscuro; B, bajo iluminación) a 9,6 T y los espectros del FII (C, oscuro; D, bajo iluminación) a 4,7 T (Diller et al., 2007).

En la figura 4.9 se pueden ver los espectros de  $^{15}\text{N}$  MAS RMN del FI y el FII. En los espectros A y C se observan las señales para el FI y FII, respectivamente, obtenidos en la oscuridad y en el caso de los espectros B y D se observan las mismas muestras, respectivamente, bajo iluminación. Para el espectro B del FI, hay un mejoramiento significativo en las señales cerca de 200 ppm asociada al Nitrógeno N-II (asignado a una Chl). En el caso del espectro D, para FII, las señales más intensas se obtienen a 250 ppm y 300 ppm, y pueden asociarse al pirrol del Nitrógeno N-IV (asignado a una Chl) y al Nitrógeno N-IV (asignado al aceptor primario de electrones Phe), respectivamente, como se observa en la figura 4.10.

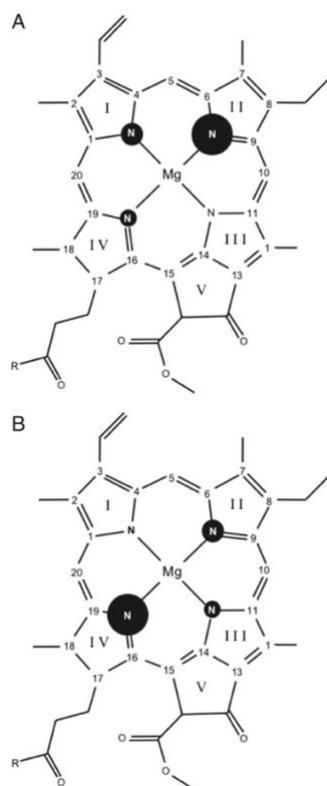


Figura 4.10. Patrones de densidad de espín de los electrones basados en las intensidades del  $^{15}\text{N}$  *photo-CIDNP*. Se pueden observar los patrones de densidad de espín de los cofactores donantes de FI (A) y FII (B). El tamaño de los círculos es proporcional a la intensidad relativa de la señal (Diller et al., 2007).

Gracias a la pequeña división de Zeeman que resulta al aplicar  $B_0$  y la desfavorable distribución de Boltzmann, la RMN cuenta con una baja sensibilidad intrínseca pero, al analizar estos espectros de RMN en estado sólido bajo los efectos *photo-CIDNP* se demuestra que al aplicar iluminación en las muestras fotosintéticas aparecen señales mucho más específicas y es que, el efecto *photo-CIDNP* en estado sólido supera estas limitaciones mediante la inducción fotoquímica de estados de espín nuclear “anti Boltzmann”, permitiendo un estudio más minucioso de las muestras fotosintéticas (Matysik, Diller, Roy, & Alia, 2009).

El importante aumento (*enhancement*) de la señal debido al efecto *photo-CIDNP* en estado sólido permite un análisis detallado de la estructura electrónica de los cofactores activos; los desplazamientos químicos de la RMN están relacionados con la estructura electrónica del estado electrónico basal después del foto-ciclo, y las intensidades del efecto están relacionadas con las densidades locales de los espines de los electrones. Por lo tanto, la RMN del efecto *photo-CIDNP* en estado sólido, permite la investigación, tanto del estado electrónico basal como del estado de par radical (Matysik et al., 2009).

Como se observa en la figura 4.11, el efecto *photo-CIDNP* se ha utilizado en muestras de organismos pertenecientes a diferentes grupos dentro del árbol filogenético de la vida como lo son las cianobacterias (*e.g.*, *Synechocystis* (Janssen et al., 2010)), bacterias púrpuras (*e.g.*, *R. sphaeroides* WT y R26 y *Rps. acidophila*), bacterias verdes del azufre (*e.g.*, *C. tepidum*), gram positivas (*e.g.*, *Hb. mobilis*) y plantas (*e.g.*, *Spinacia oleracea*, conocida comúnmente como espinaca, y *Spirodela oligorrhiza*, conocida como “*duckweed*” (Janssen et al., 2018), tanto en el FI como el FII).

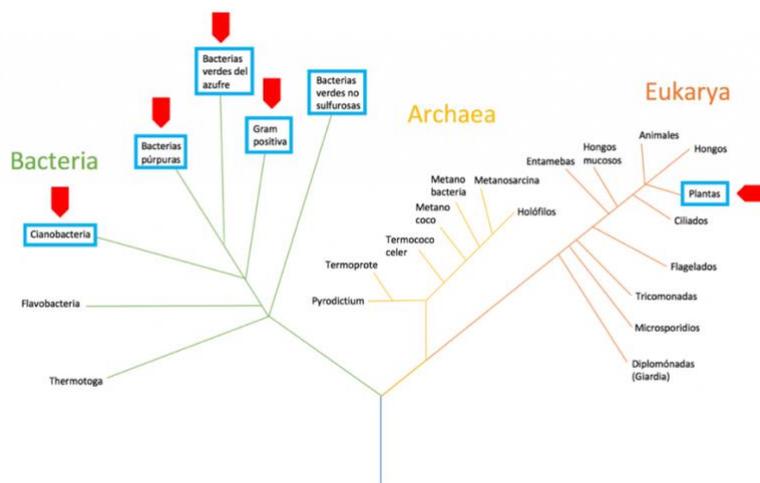
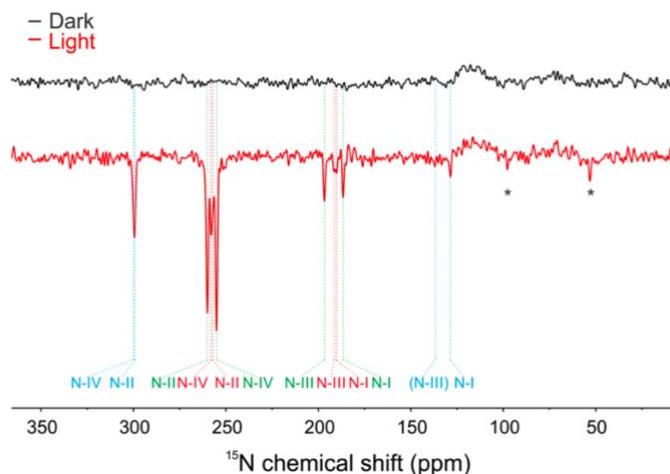


Figura 4.11. Árbol filogenético de la vida (Kelk, Stamoulis, & Wu, 2018) (Hasegawa, 2017) (Horiike, 2016) (Niranjan, 2011) (Edwards, 2019). Los cuadrados señalan los grupos con organismos fotosintéticos y los grupos señalados con rojo tienen organismos en los cuáles se ha estudiado el efecto *photo-CIDNP* (Blankenship, 2014).

4.3.¿Qué se puede obtener a partir de los espectros de RMN en estado sólido con el efecto *photo-CIDNP*?



| Desplazamiento químico<br>(ppm) | Asignación |                           |
|---------------------------------|------------|---------------------------|
|                                 | Átomo      | Cofactor                  |
| 127                             | N-I        | <i>BPhe</i>               |
| 137                             | N-III      | <i>BPhe</i>               |
| 187                             | N-I        | <i>BChl P<sub>L</sub></i> |
| 189                             | N-I        | <i>BChl P<sub>M</sub></i> |
| 190                             | N-III      | <i>BChl P<sub>M</sub></i> |
| 198                             | N-III      | <i>BChl P<sub>L</sub></i> |
| 260                             | N-IV       | <i>BChl P<sub>L</sub></i> |
| 261                             | N-II       | <i>BChl P<sub>M</sub></i> |
| 262                             | N-IV       | <i>BChl P<sub>M</sub></i> |
| 263                             | N-II       | <i>BChl P<sub>L</sub></i> |
| 299                             | N-II       | <i>BPhe</i>               |
| 300                             | N-IV       | <i>BPhe</i>               |

Figura 4.12. Espectros de  $^{15}\text{N}$  MAS RMN de *R. sphaeroides* R26 en la oscuridad (negro) y bajo iluminación (rojo) a 247 K, 9.4 T y 8176 Hz (Bielytskyi, Gräsing, Zahn, Alia, et al., 2019).

Usando los espectros de RMN con el efecto *photo-CIDNP* de los CR fotosintéticos es posible ver que existe una densidad electrónica que se manifiesta al iluminar la muestra. Esta densidad electrónica es la que se puede apreciar gracias a los picos más sobresalientes en el espectro de la figura 4.12. En esta figura 4.12 se puede observar el espectro de  $^{15}\text{N}$  MAS RMN de *R. sphaeroides* R26, en el cual los picos más sobresalientes se encuentran a los 260 ppm y 263 ppm, esto indica que en estas bacterioclorofilas existe una mayor densidad electrónica y, por lo tanto, es posible pensar que existe una mayor cantidad de energía en las mismas, lo que permite generar la pregunta de si es posible utilizar esta energía fotosintética como una fuente energética adicional a las existentes.

#### 4.4. Aplicaciones actuales relacionadas a la obtención de energía a partir de organismos fotosintéticos

Ahora bien, ¿Cómo podría ser utilizado este conocimiento sobre RMN y química de espines para obtener energía a partir de organismos fotosintéticos?

Actualmente, existen diferentes aplicaciones relacionadas con la obtención de energía a partir de organismos fotosintéticos, como se muestran a continuación.

Existen aplicaciones como Bioo-Lite, de la compañía española Arkyne Technologies, la cual trata de una planta capaz de generar energía usando como fuente el proceso de fotosíntesis. En un proceso químico, las bacterias presentes en la tierra de la planta rompen los compuestos orgánicos liberando electrones que viajan a través de nanocables y la electricidad resultante de este proceso podrá proporcionar energía suficiente para abastecer un puerto USB, con el que se podrá cargar el celular o Tablet (“Bioo-Lite, la planta inteligente con la que podrás cargar tu celular”, s/f) (“Bioo”, s/f). Otro proyecto bajo el mismo funcionamiento es el conocido como E-Kaia, desarrollado en Chile en 2009, semifinalistas de The International Business Model Competition (organizado por las universidades de Harvard, Stanford y Brigham Young University) y que recibió el Premio Nacional Avonni a la Innovación en el 2014, otorgado por el gobierno chileno. En Holanda, Plant-e se desarrolla como un proyecto

con el mismo concepto, pero a una escala distinta, ya que utiliza grandes extensiones de plantas como fuente de energía limpia. Plant-e, fundada en 2009, como una empresa derivada del departamento de Tecnología Ambiental de la Universidad de Wageningen, se ha dedicado a alimentar segmentos del alumbrado público, dispositivos de wifi en espacios abiertos y cargadores de celulares (BBC, 2015) (“Científicos desarrollan plantas que producen electricidad”, 2015) (Schrama, 2015) (“About Plant-e”, s/f).

Plant-e explica que la celda de combustible microbiano-vegetal, llamada P-MFC, utiliza plantas y bacterias vivas para generar electricidad. El P-MFC hace uso de procesos naturales alrededor de las raíces de las plantas para generar electricidad directamente. Esto se debe a que la planta genera materia orgánica a partir del proceso de fotosíntesis, en el que aproximadamente un 70 % de esta materia termina en el suelo como material de raíz muerta, lisados, mucílago y exudados. Dicha materia orgánica puede ser oxidada por bacterias que viven cerca de las raíces o en las mismas, liberando CO<sub>2</sub>, protones y electrones. Estos electrones liberados son donados por las bacterias al ánodo de la P-MFC, el cual está acoplado, a través de una carga externa, a un cátodo y los protones que se liberaron en el lado del ánodo viajan a través de una membrana hacia el cátodo. Es decir, las P-MFC son una forma específica de celdas solares microbianas, es decir un sistemas en que las celdas de combustible microbianas o las celdas de electrólisis microbiana funcionan con energía solar (ver figura 4.13 y 4.14) (Helder, 2012) (Quick, 2012).

Helder explica que se utilizaron *Spartina anglica* y *Arundinella anomala* para producir la electricidad. Estas plantas se utilizaron ya que son de pantano y por lo tanto son capaces de sobrevivir y crecer bajo condiciones de saturación de agua como se impone en las P-MFC. *S. anglica* y *A. anomala* produjeron simultáneamente biomasa y bioelectricidad durante seis meses consecutivos, para *S. anglica* la producción media de energía de la P-MFC durante 13 semanas fue del 16 % de la potencia máxima teórica y para *A. anomala* del 8 % durante 7 semanas. La mayor densidad de potencia obtenida en una P-MFC fue de 222 mW/m<sup>2</sup> de superficie de membrana con *S. anglica*.



Figura 4.13. Ilustración del funcionamiento de Bioo-Lite (“Bioo-Lite, la planta inteligente con la que podrás cargar tu celular”, s/f).

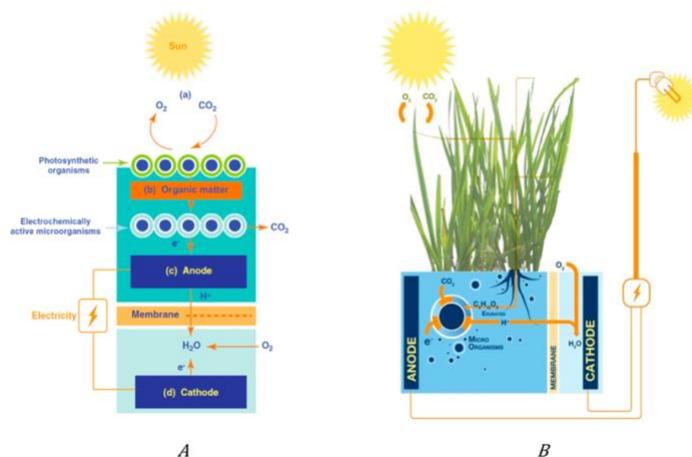


Figura 4.14. Diagrama de una celda solar microbiana donde (A) es una celda de combustible microbiano (P-MFC) y (B) es un tipo específico de P-MFC, con plantas como organismos fotosintéticos (Helder, 2012).

Así como es el caso de Bioo-Lite, E-Kaia y Plant-E se encontró un estudio que, utilizando la misma tecnología, experimentó la variación de generación de electricidad mediante el uso de compostaje en plantas de arroz, registrando un pico de voltaje en las P-MFC de alrededor de 700 mV, y concluyendo que la densidad de potencia se hizo 3 veces más alta cuando se usó compost, ya que el contenido orgánico agregado por el mismo, brinda capacidad adicional para generar bioelectricidad (ver figura 4.15). Por otra parte, el crecimiento del arroz fue importante, alcanzando una longitud máxima de 100 cm permitiendo ver que la cosecha de

bioelectricidad no tuvo influencia negativa en el crecimiento de la planta (Moqsud et al., 2014).

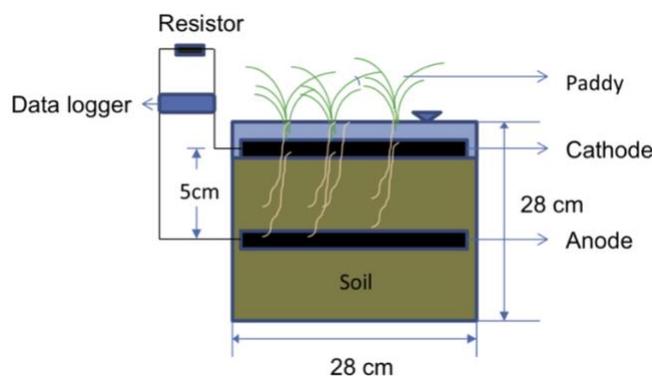


Figura 4.15. Sección transversal del experimento con plantas de arroz y compostaje (Moqsud et al., 2014).

La búsqueda de fuentes de energía alternativa, idealmente verdes y autónomas, incluye el aprovechamiento de sistemas vivos y tejidos biológicos. Recientemente se descubrió que la bicapa del tejido celular (*i.e.* cutícula) en las hojas de las plantas superiores funciona como una pareja de conductores generadores triboeléctricos (*i.e.* electrificación causado por el contacto con otro material) integrados, los cuales son capaces de convertir estímulos mecánicos en electricidad. Existen estudios que investigan por primera vez cómo se produce la generación de carga en la hoja de la planta viva, y cómo se podrían usar plantas completas en la cosecha de energía. Al parecer, esta conversión de energía, se puede utilizar para estimular directamente diodos emisores de luz, cargar un capacitor o cosechar energía eólica. Esto se debe a que las plantas traducen los estímulos externos en señales eléctricas y, por lo tanto, ciertas estructuras de la planta (más allá del aparato fotosintético), evolucionaron para operar como convertidores de energía. Este mecanismo se explota para construir recolectores de energía artificial, es decir, nanogeneradores triboeléctricos (TENG), que consiste en al menos un electrodo que generalmente está recubierto con una capa dieléctrica y luego se pone en contacto con otro material. Debido al efecto triboeléctrico, las cargas se generan en la superficie dieléctrica y se inducen electrostáticamente en el electrodo, donde se pueden usar como energía eléctrica (ver figura 4.16). Las salidas de potencia en una sola hoja llegan

a  $\approx 15 \mu\text{W cm}^2 \text{ N}$ . Esta potencia depende de la especie de la planta, la estructura de la hoja y el tipo de material que toca las hojas (Meder et al., 2018).

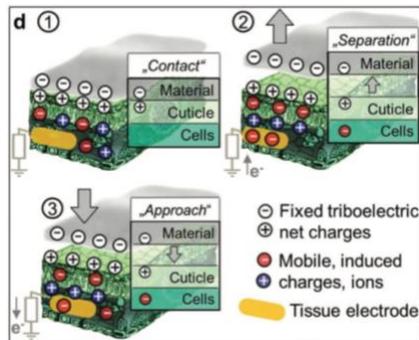


Figura 4.16. Ilustración del mecanismo para la conversión de energía sobre la base de la triboelectrificación que ocurre en la cutícula cuando se toca con un material dieléctrico (representado en gris) (Meder et al., 2018).

Por otro lado, en un estudio se descubrió que el proceso electroquímico de las plantas es responsable de su mecanismo de producción de energía (ver figura 4.17). Esta fuente de energía denominada Celda de Combustible de Planta Viva (LFC) convierte la energía química en energía eléctrica al incorporar un par de electrodos en la planta permitiendo el flujo de iones. Para este propósito, el sistema de recolección de energía consiste en electrodos de Zn-Cu que se sumergieron en la hoja de Aloe Vera (Ying-Ying & Dayou, 2016) (Ying-Ying & Dayou, 2013).

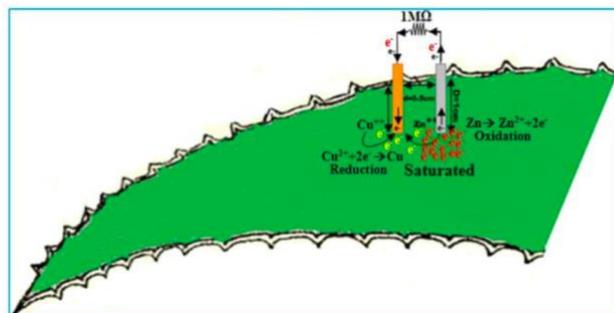


Figura 4.17. Modelaje del comportamiento del flujo de iones en la LFC de acuerdo con el principio de electroquímica con consideración sobre el efecto de eficiencia (Ying-Ying & Dayou, 2016).

Finalmente existe un campo de investigación, que puede llegar a tener un potencial realmente importante si se logran avances sustanciales en la química de espines, el cual es comúnmente conocido como fotosíntesis artificial. Esta área de la investigación científica, como su nombre lo indica, se originó de la ambición de imitar los procesos fotosintéticos de la naturaleza para almacenar energía de la luz solar en enlaces químicos de alta energía (Kim, Sakimoto, Hong, & Yang, 2015). Esta investigación sobre fotosíntesis artificial busca descubrir formas factibles de convertir la luz solar en combustibles solares almacenables debido a que, actualmente, la electricidad se puede producir de manera eficiente a partir de fuentes limpias de energía renovable utilizando paneles solares, turbinas eólicas, entre otras (Cogdell et al., 2018) (Xu et al., 2017). Sin embargo, en este campo de investigación, quedan grandes desafíos por enfrentar, entre ellos el descubrimiento de catalizadores de oxidación de H<sub>2</sub>O baratos, robustos y eficientes y una eficiente separación de cargas (McConnell et al., 2010).

Actualmente, esta investigación de la fotosíntesis artificial se centra principalmente en la comprensión y la imitación de los pasos empleados por la fotosíntesis natural para producir combustibles ricos en energía al dividir el H<sub>2</sub>O (Bonke, Wiechen, MacFarlane, & Spiccia, 2015) (Llansola-Portoles, Gust, Moore, & Moore, 2017). En la naturaleza, estos procesos están vinculados a membranas fotosintéticas donde los pigmentos de la antena convierten los fotones solares en estados excitados, ajustan el flujo de energía de excitación recolectada en los CR y finalmente producen oxígeno e hidrógeno en forma de NADPH. Los equivalentes reductores de NADPH se combinan con CO<sub>2</sub> para finalmente producir carbohidratos. (Xu et al., 2017). Hoy en día, han surgido ideas sobre la optimización de los pasos y se han sintetizado sistemas modelo artificiales para la recolección de luz, la separación y transferencia de cargas y las reacciones catalíticas finales (El-Khouly et al., 2017) (Fingerhut, Zinth, & de Vivie-Riedle, 2008) (El-Khouly et al., 2017).

Avances en este campo no están muy lejos de la realidad. El 11 de octubre de 2019 se realizó un comunicado sobre el proyecto Rheticus II, de Evonik y Siemens, este combina un biorreactor (*i.e.* recipiente en el que se lleva a cabo un proceso químico que involucra

organismos o sustancias bioquímicamente activas) y un electrolizador (*i.e.* que produce hidrógeno y oxígeno a partir del H<sub>2</sub>O) de energía renovable para producir sustancias químicas industriales a partir de CO<sub>2</sub>. Este proyecto ha entrado en su segunda fase, donde ambas compañías combinan el biorreactor y electrolizador de la primera fase en una instalación de prueba, programada para comenzar a operar durante el 2020, que utilizará energía renovable y microorganismos para convertir CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O en sustancias químicas y combustibles. El proyecto está financiado por el Ministerio Federal de Educación e Investigación de Alemania. Esta planta se construirá en Evonik en Marl, cerca de Münster. En su primera etapa, utilizando tecnología desarrollada por Siemens, el CO<sub>2</sub> y el H<sub>2</sub>O se convierten en monóxido de carbono e hidrógeno mediante electrolizadores. Estos gases pasan a un biorreactor, desarrollado por Evonik, donde los microorganismos los convierten en compuestos químicos útiles. Las compañías se refieren a esto como fotosíntesis artificial porque combina pasos químicos y biológicos aunque, a diferencia de la fotosíntesis natural, la energía no es en forma de luz (“Artificial photosynthesis transforms carbon dioxide into liquefiable fuels”, 2019).

Por otra parte, químicos de la Universidad de Illinois han producido exitosamente combustibles utilizando H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> y luz visible a través de fotosíntesis artificial, convirtiendo el CO<sub>2</sub> en moléculas más complejas como el propano, aunque este proceso de fotosíntesis artificial no es tan eficiente como en las plantas. Así es posible pensar que se está cada vez más cerca de usar el exceso de CO<sub>2</sub> para almacenar energía solar en forma de enlaces químicos cuando el sol no brilla (Nocera, 2012).

Adicionalmente, el científico y profesor de la Instituto Tecnológico de Massachusetts, Daniel Nocera, busca convertir la energía de la luz solar en energía química mediante la creación de una hoja artificial (ver figuras 4.18 y 4.19). Este dispositivo simple e independiente, compuesto por materiales abundantes en la tierra, proporciona un primer paso, gracias a la ingeniería y la fabricación de sistemas de bajo costo, para la conversión de energía solar a combustibles. El objetivo de este desarrollo es llevar la energía a los pobres, dirigiendo a la sociedad mundial hacia un futuro energético sostenible. Esta hoja artificial funciona mediante la inmersión de una lámina de Si de triple unión recubierta con NiMoZn y Co-OEC (Complejo Evolutivo del Oxígeno, por sus siglas en inglés) en el agua y su mantenimiento a

la luz solar logrando la conversión directa de la energía solar a través de la división del agua. La membrana fotosintética es reemplazada por dicha unión de Si, que realiza la captura de luz y la conversión a una corriente inalámbrica. El complejo evolutivo de oxígeno y la ferodoxina reductasa de la membrana fotosintética son reemplazados por catalizadores de Co-OEC y NiMoZn, respectivamente, para realizar la división del H<sub>2</sub>O (Nocera, 2012).



Figura 4.18. Ilustración de la hoja artificial compuesta por una lámina de Si de triple unión recubierta con NiMoZn y Co-OEC (Nocera, 2012).

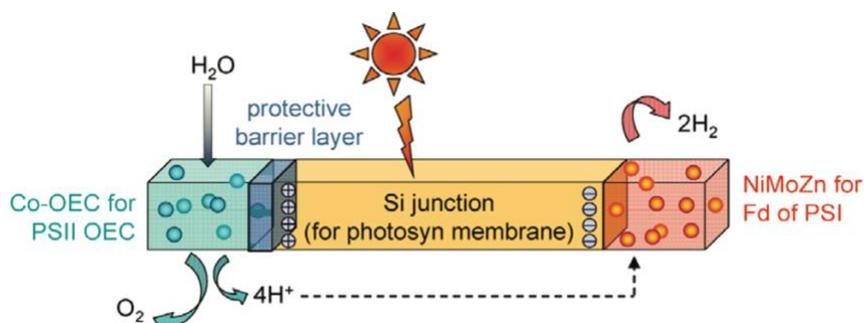


Figura 4.19. Diagrama de la construcción de la hoja artificial compuesta por una lámina de Si de triple unión recubierta con NiMoZn y Co-OEC (Fountain, 2016).

El tema de fotosíntesis artificial no es desconocido para el público. En 2016, el New York Times publicó un artículo titulado: “Los investigadores tienen como objetivo volver a poner en funcionamiento el dióxido de carbono”, en este artículo se menciona la idea de capturar el CO<sub>2</sub> para generar productos útiles e igualmente figuran esfuerzos realizados como el del laboratorio Lawrence Berkeley y el Dr. Atwater, quien lidera un equipo de científicos que trata de imitar lo que hacen las plantas a través de la fotosíntesis para obtener combustible

mediante un dispositivo que pueda generar un solo producto, como en la fotosíntesis natural, pero de manera más eficiente, al mismo tiempo que cuenta con un largo período de vida útil, así este dispositivo podría reciclar CO<sub>2</sub> capturado de plantas de energía e incluso directamente de la atmósfera (Andrei, Reuillard, & Reisner, 2019).

Por otro lado, en el 2019 se publicó una investigación sobre la producción fotoelectroquímica de gas de síntesis (*i.e.* combustible gaseoso compuesto por CO y H<sub>2</sub>, obtenido a partir de sustancias ricas en carbono sometidas a un proceso químico a alta temperatura) a partir de H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> y luz solar como una tecnología afín a una economía de carbono circular. Esta se produce mediante la integración de un catalizador (*i.e.* que acelera o retarda una reacción química sin participar en ella) de porfirina de cobalto inmovilizado en nanotubos de carbono con perovskita de haluro mixto de triple catión y fotoabsorbedores de vanadato de bismuto (BiVO<sub>4</sub>). Sin embargo, el alto potencial que debe superarse para la reducción simultánea de CO<sub>2</sub> y la oxidación del H<sub>2</sub>O, la baja selectividad y el costo de los catalizadores comúnmente empleados presentan desafíos para este proceso sostenible de conversión de energía que en la actualidad es producido a partir de combustibles fósiles, altas temperaturas y presiones y la gasificación de la biomasa .

Así como estas investigaciones existen muchas más, pero, como se ha visto, la química de espines no ha sido profundamente estudiada en ninguno de los estudios anteriores, esto demuestra que en realidad el proceso fotosintético no está siendo estudiado en su totalidad durante las investigaciones y el desarrollo de prototipos. Como vimos anteriormente, los espines juegan un papel verdaderamente importante en el proceso fotosintético y este podría ser un indicativo del camino que puede recorrerse en búsqueda de la optimización del cultivo de energía en organismos fotosintéticos.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Gracias a la intensa revisión bibliográfica y al trabajo con expertos en los temas discutidos en esta memoria, es posible determinar que existe una relación directa entre la química de espines y los procesos fotosintéticos, y que para una apropiada optimización de la fotosíntesis artificial –con el fin de que la misma sea una fuente viable de energía– es necesario el desarrollo de más líneas de investigación, en las que la RMN sea piedra angular.

No cabe duda de que las investigaciones realizadas hasta la fecha se han llevado a cabo en condiciones de laboratorio (*e.g.* bajas temperaturas, intensos campos magnéticos), pero se están realizando avances significativos en los que la química de espines se acerca cada vez más a condiciones biológicas.

La baja sensibilidad inherente a la RMN se ve subsanada por la aplicación de fenómenos de hiperpolarización, que incrementan considerablemente las señales, que por cualquier otra técnica espectroscópica serían imposibles de obtener e identificar. El efecto *photo*-CIDNP en estado sólido es uno de dichos fenómenos y que, aplicado en organismos fotosintéticos, ha permitido una profundización en cómo el transporte electrónico dentro de los centros de reacción se ve fuertemente influenciado por la química de espines.

Un estudio detallado del árbol filogenético, y de los organismos en los cuales la fotosíntesis es clave, ha demostrado que el efecto *photo*-CIDNP se presenta en prácticamente todos ellos, situación que permite una lectura en la cual dicho efecto de hiperpolarización puede ser una propiedad inherente evolutiva a los organismos fotosintéticos, lo que revaloriza su papel en estudios de la fotosíntesis.

El papel de esta memoria ha sido el de demostrar que, si se estudia a profundidad la química de espines y la caracterización electrónica de cofactores en centros de reacción, y se promueve una inversión en I+D+i en las técnicas y propiedades de la RMN, la optimización de los procesos fotosintéticos será una realidad y, con ella, alcanzar un eficiente uso del proceso de fotosíntesis como fuente primaria de energía en las sociedades contemporáneas.

El papel de la Ingeniería Ambiental es brindar soluciones científicas, tecnológicas y sociales a problemas medioambientales. Esta tesis permite demostrar que para la resolución de la problemática energética –tanto a nivel mundial como en Costa Rica– es necesaria una vinculación inter y multidisciplinar con la cual dicha situación sea tratada desde diferentes ángulos y generando una solución integral. El hacer entes activos a distintas áreas del conocimiento permite ofrecer un valor agregado a proyectos de investigación que, si no fuera por esta simbiosis, no generarían los resultados ideales y aplicables que la sociedad requiere de un ingeniero ambiental.

¿Es la química de espines necesaria para optimizar los procesos de fotosíntesis y generar con esto un producto que pueda ofrecer la tan ansiada energía limpia y universal requerida por la humanidad? Luego de analizar los aportes dados por tantos grupos de investigación a nivel mundial, gracias a grupos y proyectos de emprendimiento, la autora de esta tesis se suma a aquellos cuya respuesta es Sí.

Esta memoria presenta por primera vez, en idioma español, terminología nunca traducida a la lengua castellana. Ojalá y sea de apoyo para grupos de investigación en Costa Rica y en América Latina.

## 6. REFERENCIAS CONSULTADAS

- About Plant-e. (s/f). Recuperado el 25 de abril de 2019, de <https://www.plant-e.com/en/over-ons/>
- Alahmari, F., Dey, S., Emwas, A.-H., Davaasuren, B., & Rothenberger, A. (2019). Layered copper thioaluminate  $K_2Cu_3AlS_4$ : Synthesis, crystal structure, characterization and solid-state  $^{27}Al$  and  $^{39}K$  NMR studies. *Journal of Alloys and Compounds*, 776, 1041–1047.
- Alia, Roy, E., Gast, P., van Gorkom, H. J., de Groot, H. J. M., Jeschke, G., & Matysik, J. (2004). Photochemically Induced Dynamic Nuclear Polarization in Photosystem I of Plants Observed by  $^{13}C$  Magic-Angle Spinning NMR. *Journal of the American Chemical Society*, 126, 12819–12826.
- Andrei, V., Reuillard, B., & Reisner, E. (2019). Bias-free solar syngas production by integrating a molecular cobalt catalyst with perovskite– $BiVO_4$  tandems. *Nature Materials*, 19, 189–194.
- Artificial photosynthesis transforms carbon dioxide into liquefiable fuels. (2019, mayo 22). *EurekAlert!* Recuperado de [https://www.eurekalert.org/pub\\_releases/2019-05/uoia-apt052219.php](https://www.eurekalert.org/pub_releases/2019-05/uoia-apt052219.php)
- Aslam, N., Pfender, M., Neumann, P., Reuter, R., Zappe, A., Fávoro de Oliveira, F., ... Wrachtrup, J. (2017). Nanoscale nuclear magnetic resonance with chemical resolution. *Science*, 357(6346), 67–71.
- Bakmutov, V. I. (2012). General Principles of Pulsed NMR and NMR Techniques. En *Solid-State NMR in Materials Science: Principles and Applications* (pp. 2–35). Boca Ratón: Taylor & Francis Group.
- Barnes, F. S., & Greenebaum, B. (2015). The Effects of Weak Magnetic Fields on Radical Pairs. *Bioelectromagnetics*, 36, 45–54.
- BBC. (2015). El invento chileno para recargar el celular conectándolo a una planta. Recuperado el 18 de abril de 2019, de [https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/09/150901\\_tecnologia\\_recargar\\_bateria\\_plantas\\_chile\\_egn](https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/09/150901_tecnologia_recargar_bateria_plantas_chile_egn)
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2007). *Bioquímica* (Sexta).

- Bielytskyi, P., Gräsing, D., Zahn, S., Alia, A., & Matysik, J. (2019).  $^{15}\text{N}$ – $^1\text{H}$  Transfer of Light-Induced Nuclear Hyperpolarization in Frozen Photosynthetic Reaction Centers. *Applied Magnetic Resonance*, 50(5), 695–708.
- Bielytskyi, P., Gräsing, D., Zahn, S., Mote, K. R., Alia, A., Madhu, P. ., & Matysik, J. (2019). Assignment of NMR resonances of protons covalently bound to photochemically active cofactors in photosynthetic reaction centers by  $^{13}\text{C}$ – $^1\text{H}$  photo-CIDNP MAS-J-HMQC experiment. *Journal of Magnetic Resonance*, 298, 64–76.
- Bioo-Lite, la planta inteligente con la que podrás cargar tu celular. (s/f). Recuperado el 18 de abril de 2019, de <https://www.ngenespanol.com/travel/start-up-buscara-producir-energia-electrica-a-traves-de-la-fotosintesis/>
- Bioo. (s/f). Recuperado el 21 de junio de 2020, de <https://www.biootech.com/>
- Blankenship, R. E. (2002). The Basic Principles of Photosynthetic Energy Storage. En *Molecular Mechanisms of Photosynthesis* (pp. 1–10).
- Blankenship, R. E. (2014). *Molecular Mechanisms of Photosynthesis* (Second). Missouri: Wiley Blackwell.
- Bonke, S. A., Wiechen, M., MacFarlane, D. R., & Spiccia, L. (2015). Renewable fuels from concentrated solar power: towards practical artificial photosynthesis. *Energy & Environmental Science*, 8(9), 2791–2796.
- Bruker. (s/f). Solid State NMR. Recuperado de <http://www2.chem.uic.edu/nmr/downloads/solid-state-broch.pdf>
- Cao, X., Yang, J., & Mao, J. (2011). Characterization of kerogen using solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy: A review. *International Journal of Coal Geology*, 108, 83–90.
- Cardoza, L. ., Korir, A. ., Otto, W. ., Wurrey, C. ., & Larive, C. . (2004). Applications of NMR spectroscopy in environmental science. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 45, 209–238.
- Castillo-Wagemann, C. I. (2013). *Estudio y análisis sobre almacenamiento de energía en la región de los ríos*. Universidad Austral de Chile.
- Castro, C. M., Ghazani, A. A., Chung, J., Shao, H., Issadore, D., Yoon, T.-J., ... Lee, H. (2014). Miniaturized nuclear magnetic resonance platform for detection and profiling of circulating tumor cells. *Lab on a Chip*, 14(1), 14–23.

- Céspedes-Camacho, I. F., & Matysik, J. (2014). Spin in Photosynthetic Electron Transport. En J. Golbeck & A. van der Est (Eds.), *The Biophysics of Photosynthesis* (pp. 141–170). Springer.
- Chiznik, V. ., Chernyshev, Y. ., Donets, A. ., Frolov, V., Komolkin, A., & Shelyapina, M. . (2014). Basic Principles of Detection of Nuclear Magnetic Resonance. En *Magnetic Resonance and Its Applications* (pp. 99–162). Switzerland: Springer, Cham.
- Científicos desarrollan plantas que producen electricidad. (2015). Recuperado el 18 de abril de 2019, de <https://elcomercio.pe/amp/tecnologia/inventos/cientificos-desarrollan-plantas-producen-electricidad-369487>
- Cogdell, R. J., Gardiner, A. T., Yukihiro, N., & Hashimoto, H. (2018). Solar fuels and inspiration from photosynthesis. *Contents lists available at ScienceDirect Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 353, 645–653.
- Colorado, U. of. (s/f-a). Solid-State NMR Spectroscopy.
- Colorado, U. of. (s/f-b). What is a Probe? Recuperado el 28 de abril de 2020, de <https://www.colorado.edu/lab/nmr/content/what-probe>
- Contreras, L., & Sauma, P. (2017). Perspectivas de la energía eólica en Costa Rica: estado, retos y oportunidades. San José.
- Corredor, J. (2016). *Optimización de protocolos de imágenes en resonancia magnética de cerebro del Hospital Departamental de Villavicencio*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Cruz Díaz, K. P. (2017). *Aplicación de técnicas de RMN al análisis de quesos de oveja y películas comestibles. Evaluación de su potencial para la supervisión y predicción de características reológicas y estructurales*. Universidad Complutense de Madrid.
- Daviso, E., Prakash, S., Alia, A., Gast, P., Jeschke, G., & Matysik, J. (2010). Nanosecond-Flash <sup>15</sup>N Photo-CIDNP MAS NMR on Reaction Centers of Rhodospirillum rubrum R26. *Applied Magnetic Resonance*, 37, 49–63.
- DeVience, S. J., Pham, L. M., Lovchinsky, I., Sushkov, A. O., Bar-Gill, N., Belthangady, C., ... Walsworth, R. L. (2015). Nanoscale NMR spectroscopy and imaging of multiple nuclear species. *Nature Nanotechnology*, 10, 129–134.
- Diller, A., Alia, A., Gast, P., Jeschke, G., & Matysik, J. (2008). <sup>13</sup>C Photo-CIDNP MAS NMR on the LH1-RC Complex of Rhodospirillum rubrum. En *Photosynthesis*.

- Energy from the Sun* (pp. 55–58). Dordrecht: Springer.
- Diller, A., Roy, E., Gast, P., van Gorkom, H. J., de Groot, H. J. M., Glaubitz, C., ... Alia, A. (2007).  $^{15}\text{N}$  photochemically induced dynamic nuclear polarization magic-angle spinning NMR analysis of the electron donor of photosystem II. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(31), 12767–12771.
- Edwards, R. J. (2019). Phylogenetic Tree Rooting. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*, *2*, 727–735.
- El-Khouly, M. E., El-Mohsnawy, E., & Fukuzumi, S. (2017). Solar energy conversion: From natural to artificial photosynthesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, *31*, 36–83.
- Ernst, R. ., & A, A. (1966). Application of Fourier Transform Spectroscopy to Magnetic Resonance. *Review of Scientific Instruments*, *37*(1), 93.
- Escudero-Belmonte, A. (2005). *Resonancia Magnética Nuclear aplicada al estado sólido*. Sevilla.
- Fingerhut, B. P., Zinth, W., & de Vivie-Riedle, R. (2008). Design criteria for optimal photosynthetic energy conversion. *Chemical Physics Letters*, *466*, 209–213.
- Fountain, H. (2016, mayo 2). Researchers Aim to Put Carbon Dioxide Back to Work. *The New York Times*. Recuperado de <https://www.nytimes.com/2016/05/03/science/carbon-dioxide-recycling.html>
- Gelzinis, A., Abramavicius, D., Ogilvie, J. P., & Valkunas, L. (2017). Spectroscopic properties of photosystem II reaction center revisited. *The Journal of Chemical Physics*, *147*(115102).
- Giese, E., Winkelmann, O., Rohn, S., & Fritsche, J. (2016). Toward determining fat quality parameters of fish oil by means of  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *119*(2).
- Gisriel, C., Sarrou, I., Ferlez, B., Golbeck, J. H., Redding, K. E., & Fromme, R. (2017). Structure of a symmetric photosynthetic reaction center–photosystem. *Science*, *357*(6355), 1021–1025.
- Gräsing, D., Bielytskyi, P., Céspedes-Camacho, I. F., Alia, A., Marquardsen, T., Engelke, F., & Matysik, J. (2017). Field-cycling NMR with high-resolution detection under magic-angle spinning: determination of field-window for nuclear hyperpolarization in

- a photosynthetic reaction center. *Scientific Reports*, 7(1), 12111.
- Gruszecki, I. ., & Wardak, A. (2003). Photosynthetic pigment-protein complexes in planar lipid membranes. En *Membrane Science and Technology* (Vol. 7, pp. 981–990).
- Häberle, T., Schmid-Lorch, D., Reinhard, F., & Wrachtrup, J. (2015). Nanoscale nuclear magnetic imaging with chemical contrast. *Nature Nanotechnology*, 10(2), 125–128.
- Halse, M. E. (2016). Perspectives for hyperpolarisation in compact NMR. *Trends in Analytical Chemistry*, 83, 76–83.
- Hasegawa, M. (2017). Phylogeny mandalas for illustrating the Tree of Life. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 117, 168–178.
- Helder, M. (2012). *Design criteria for the Plant-Microbial Fuel Cell*. Wageningen University.
- Herek, J., & Mahi, F. (2005). *Physics of Photosynthesis. Encyclopedia of Condensed Matter Physics*.
- Hishinuma, T., Osono, T., Fukasawa, Y., Azuma, J. ., & Takeda, H. (2015). Application of <sup>13</sup>C NMR spectroscopy to characterize organic chemical components of decomposing coarse woody debris from different climatic regions. *Annals of Forest Research*, 58(1), 3–13.
- Horiike, T. (2016). An introduction to molecular phylogenetic analysis. *Agricultural Science*, 4, 36–45.
- ICE. (2015). *Costa Rica: Matriz eléctrica*. (I. Ovares, E. Durán, A. Viquez, C. Vargas, & R. M. Monge, Eds.). Costa Rica.
- Iggo, J. A., & Luzyanin, K. (2020). Fundamentals. En *NMR Spectroscopy in Inorganic Chemistry* (Segunda, pp. 1–22). Oxford.
- Introducción ao RMN. (s/f). Recuperado el 19 de abril de 2020, de <https://www.usc.gal/gl/investigacion/riaidt/rm/rmn/introducion.html>
- IPCC. (2018). *Fuentes de energía renovables y mitigación del cambio climático*.
- IPCC. (2019). *La tierra es un recurso decisivo, según un informe del IPCC*. Ginebra.
- Janssen, G. J., Bielytskyi, P., Artiukhin, D. G., Neugebauer, J., de Groot, H. J. M., Matysik, J., & Alia, A. (2018). Photochemically induced dynamic nuclear polarization NMR on photosystem II: donor cofactor observed in entire plant. *Scientific Reports*, 8, 17853.
- Janssen, G. J., Daviso, E., van Son, M., de Groot, H. J. M., Alia, A., & Matysik, J. (2010).

- Observation of the solid-state photo-CIDNP effect in entire cells of cyanobacteria *Synechocystis*. *Photosynthesis Research*, *104*, 275–282.
- Jeschke, G., Anger, B. C., Bode, B. E., & Matysik, J. (2011). Theory of Solid-State Photo-CIDNP in the Earth's Magnetic Field. *The Journal of Physical Chemistry*, *115*(35), 9919–9928.
- Jia-Long, W., Shao-Long, S., Bai-Liang, X., & Run-Cang, S. (2013). Recent Advances in Characterization of Lignin Polymer by Solution-State Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Methodology. *MDPI-Materials*, *6*(1), 359–391.
- Kalyanasundaram, K., & Graetzel, M. (2010). Artificial photosynthesis: biomimetic approaches to solar energy conversion and storage. *Current Opinion in Biotechnology*, *21*(3), 298–310.
- Kelk, S., Stamoulis, G., & Wu, T. (2018). Treewidth distance on phylogenetic trees. *Theoretical Computer Science*, *731*, 99–117.
- Khan, S. (s/f). Fotosíntesis. Recuperado el 14 de noviembre de 2019, de <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants>
- Khandpur, R. (2006). Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer. En *Handbook of Analytical Instruments* (Segunda). India: McGraw Hill Education.
- Kim, D., Sakimoto, K. K., Hong, D., & Yang, P. (2015). Artificial Photosynthesis for Sustainable Fuel and Chemical Production. *Angewandte Minireviews*, *54*(11), 3259–3266.
- Krewald, V., Retegan, M., & Pantazis, D. A. (2015). Principles of Natural Photosynthesis. En *Solar Energy for Fuels* (pp. 23–43). Springer.
- Krüger, T. P. ., Novoderezhkin, V. I., Romero, E., & van Grondelle, R. (2014). Photosynthetic Energy Transfer and Charge Separation in Higher Plants. En J. Golbeck & A. van der Est (Eds.), *The Biophysics of Photosynthesis* (pp. 79–118). Springer.
- Krummel, J. N., Russell, L. N., Haase, D. N., Schelble, S. M., & Tsai, E. (2015). Application of High-field NMR Spectroscopy for Differentiating Cathinones for Forensic Identification. *Colonial Academic Alliance Undergraduate Research Journal*, *5*.
- Laghi, L., Picone, G., & Capozzi, F. (2014). Nuclear magnetic resonance for foodomics

- beyond food analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 59, 93–102.
- Lam, L. (2014). *Characterization and Germination of <sup>13</sup>C Labeled Seeds by Comprehensive Multiphase NMR Spectroscopy*. University of Toronto.
- Lambert, J. B., & Mazzola, E. P. (2004). Introduction. En *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: An Introduction to Principles, Applications, and Experimental Methods* (Primera, pp. 1–30). New Jersey: Pearson Education, Inc.
- Lane, A. N., & Fan, T. W.-M. (2017). NMR-based Stable Isotope Resolved Metabolomics in systems biochemistry. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 15(628), 123–131.
- Laurella, S. L. (2017). *Resonancia magnética nuclear* (First). Buenos Aires.
- Laws, D. D., Bitter, H.-M. L., & Jerschow, A. (2002). Solid-State NMR Spectroscopic Methods in Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*, 41, 3096–3129.
- Leegood, R. C. (2013). Photosynthesis. En *Encyclopedia of Biological Chemistry* (Segunda, pp. 492–496). Sheffield.
- Lens, P. N. L., & Hemminga, M. A. (1998). Nuclear magnetic resonance in environmental engineering: Principles and applications. *Biodegradation*, 9, 393–409.
- León, P., & Guevara-García, A. (2007). El cloroplasto: un organelo clave en la vida y en el aprovechamiento de las plantas. En *Biotecnología* (pp. 223–238).
- Levitt, M. H. (2008). Nuclear Magnetism. En *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance* (Segunda, pp. 6–60). Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.
- Llansola-Portoles, M. J., Gust, D., Moore, T. A., & Moore, A. L. (2017). Artificial photosynthetic antennas and reaction centers. *Comptes Rendus Chimie*, 20, 296–313.
- Loretz, M., Pezzagna, S., Meijer, J., & Degen, C. . (2014). Nanoscale nuclear magnetic resonance with a 1.9-nm-deep nitrogen-vacancy sensor. *Applied Physics Letters*, 104(033102).
- Madrigal, L. M. (2019, enero 16). 98,6% de la electricidad generada en Costa Rica en 2018 fue con fuentes renovables. *Delfino*. Recuperado de <https://delfino.cr/2019/01/986-de-la-electricidad-generada-en-costa-rica-en-2018-fue-con-fuentes-renovables>
- Maggio, R. M., Calvo, N. L., Vignaduzzo, S. E., & Kaufman, T. S. (2014). Pharmaceutical impurities and degradation products: Uses and applications of NMR techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 101, 102–122.
- Mahdi Najafpour, M., Carpentier, R., & Allakhverdiev, S. I. (2015). Artificial

- photosynthesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 152, 1–3.
- Maitre, L., Lau, C.-H. E., Vizcaino, E., Robinson, O., Casas, M., Siskos, A. P., ... Coen, M. (2017). Assessment of metabolic phenotypic variability in children's urine using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *Scientific Reports*, 7(46082).
- Malet-Martino, M., & Holzgrabe, U. (2011). NMR techniques in biomedical and pharmaceutical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55(1), 1–15.
- Mamedov, M., Govindjee, Nadtochenko, V., & Semenov, A. (2015). Primary electron transfer processes in photosynthetic reaction centers from oxygenic organisms. *Photosynthesis Research*, 125(1–2), 51–63.
- Manrique, E. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas*, 12.
- Mao, J., Cao, X., Olk, D. C., Chu, W., & Schmidt-Rohr, K. (2017). Advanced solid-state NMR spectroscopy of natural organic matter. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 100, 17–51.
- Marcone, M. F., Wang, S., Alabish, W., Nie, S., Somnarain, D., & Hill, A. (2013). Diverse food-based applications of nuclear magnetic resonance (NMR) technology. *Food Research International*, 51(2), 729–747.
- Marti, R. M. (2018). *An NMR Study of CO<sub>2</sub> Dynamics and Structural Characterization of Porous Materials*. Washington University.
- Matysik, J., Diller, A., Roy, E., & Alia, A. (2009). The solid-state photo-CIDNP effect. *Photosynthesis Research*, 102(2–3), 427–435.
- McConnell, I., Li, G., & Brudvig, G. W. (2010). Energy Conversion in Natural and Artificial Photosynthesis. *Chemistry & Biology*, 17(5), 434–447.
- Meder, F., Must, I., Sadeghi, A., Mondini, A., Filippeschi, C., Beccai, L., ... Mazzolai, B. (2018). Energy Conversion at the Cuticle of Living Plants. *Advanced Functional Materials*, 1806689.
- MINAE, & PNUD. (2015). VII Plan Nacional de Energía 2015-2030. San José.
- Mirkovic, T., Ostroumov, E. E., Anna, J. M., van Grondelle, R., Scholes, G., & Scholes, G. D. (2017). Light Absorption and Energy Transfer in the Antenna Complexes of Photosynthetic Organisms. *Chemical Reviews*, 117(2), 249–293.

- Mohorič, A., & Stepišnik, J. (2009). NMR in the Earth's magnetic field. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 54, 166–182.
- Moqsud, M. A., Yoshitake, J., Bushra, Q. S., Hyodo, M., Omine, K., & Strik, D. (2014). Compost in plant microbial fuel cell for bioelectricity generation. *Waste Management*, 36, 63–69.
- Najdanova, M., Janssen, G. ., de Groot, H. J. M., Matysik, J., & Alia, A. (2015). Analysis of electron donors in photosystems in oxygenic photosynthesis by photo-CIDNP MAS NMR. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 152, 261–271.
- Niranjan, R. B. P. (2011). Basics for the Construction of Phylogenetic Trees. *Webmed Central BIOLOGY*, 2(12).
- Nocera, D. G. (2012). The Artificial Leaf. *Accounts of Chemical Research*, 45(5), 767–776.
- Nowicka, B., Ciura, J., Szymańska, R., & Kruk, J. (2018). Improving photosynthesis, plant productivity and abiotic stress tolerance – current trends and future perspectives. *Journal of Plant Physiology*, 231, 415–433.
- OMS. (2018). Cambio climático y salud. Recuperado el 14 de noviembre de 2019, de <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cambio-climático-y-salud>
- Palmer, A. G. (2015). Enzyme Dynamics from NMR Spectroscopy. *Accounts of Chemical Research*, 48(2), 457–465.
- Paul, S., Bode, B. E., Matysik, J., & Alia, A. (2015). Photochemically Induced Dynamic Nuclear Polarization Observed by Solid-State NMR in a Uniformly <sup>13</sup>C-Isotope-Labeled Photosynthetic Reaction Center. *The Journal of Physical Chemistry*, 119(43), 13897–13903.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2009). Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Part One: Basic Concepts. En L. Lockwood, B. Kirksey, & E. Woods (Eds.), *Introduction to Spectroscopy* (Cuarta, pp. 105–176). Belmont: Brooks/Cole Cengage Learning.
- Pérez-Urria Carril, E. (2009). Fotosíntesis: Aspectos Básicos. Madrid.
- Pérez, L. (2009). *Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear*. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Piveteau, L., Ong, T.-C., Rossini, A. J., Emsley, L., Copéret, C., & Kovalenko, M. V. (2015). Structure of Colloidal Quantum Dots from Dynamic Nuclear Polarization

- Surface Enhanced NMR Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 137(43), 13964–13971.
- Popescu, R., Costinel, D., Dinca, O. R., Marinescu, A., Stefanescu, I., & Ionete, R. E. (2015). Discrimination of vegetable oils using NMR spectroscopy and chemometrics. *Food Control*, 48, 84–90.
- Prakash, S., Alia, A., Gast, P., de Groot, H. J. M., Jeschke, G., & Matysik, J. (2007). <sup>13</sup>C Chemical Shift Map of the Active Cofactors in Photosynthetic Reaction Centers of *Rhodobacter sphaeroides* Revealed by Photo-CIDNP MAS NMR. *Biochemistry*, 46(31), 8953–8960.
- Prakash, S., Alia, Gast, P., de Groot, H. J. M., Jeschke, G., & Matysik, J. (2005). Magnetic Field Dependence of Photo-CIDNP MAS NMR on Photosynthetic Reaction Centers of *Rhodobacter sphaeroides* WT. *Journal of the American Chemical Society*, 127(41), 14290–14298.
- Prakash, S., Alia, Gast, P., de Groot, H. J. M., Matysik, J., & Jeschke, G. (2006). Photo-CIDNP MAS NMR in Intact Cells of *Rhodobacter sphaeroides* R26: Molecular and Atomic Resolution at Nanomolar Concentration. *Journal of the American Chemical Society*, 128(39), 12794–12799.
- Pribil, M., & Leister, D. (2017). Photosynthesis. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 1, 90–95.
- Quick, D. (2012). Plant-Microbial Fuel Cell generates electricity from living plants. Recuperado el 3 de mayo de 2019, de <https://newatlas.com/plant-microbial-fuel-cell/25163/>
- Reinoso, H., Tordable, M. del C., & Grosso, M. (s/f). *Desde la célula a la fotosíntesis en plantas superiores*. Argentina.
- Renault, M., Tommassen-van Boxtel, R., Bos, M. P., Post, J. A., Tommassen, J., & Baldus, M. (2012). Cellular solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(13), 4863–4868.
- Roy, E., Alia, A., Gast, P., van Gorkom, H. J., de Groot, H. J. M., Jeschke, G., & Matysik, J. (2007). Photochemically induced dynamic nuclear polarization in the reaction center of the green sulphur bacterium *Chlorobium tepidum* observed by <sup>13</sup>C MAS NMR.

- Biochimica et Biophysica Acta*, 1767(6), 610–615.
- Roy, E., Rohmer, T., Gast, P., Jeschke, G., Alia, A., & Matysik, J. (2008). Characterization of the Primary Radical Pair in Reaction Centers of *Heliobacillus mobilis* by <sup>13</sup>C Photo-CIDNP MAS NMR. *Biochemistry*, 47, 4629–4635.
- Sabín-López, A. (2017). *Empleo de la técnica de RMN de sólidos para la determinación estructural de polímeros impresos de huella molecular*. Universidade da Coruña.
- Sánchez Barajas, V. (2016). *Importancia de la fotosíntesis para la vida en la Tierra*. Universidad de Jaén.
- SCAI. (s/f). Resonancia Magnética Nuclear. Recuperado el 28 de abril de 2020, de <http://www.scai.uma.es/areas/aqcm/rms/rms.html>
- Schrama, N. (2015). How to generate electricity from living plants. Recuperado el 22 de abril de 2019, de <https://www.weforum.org/agenda/2015/08/how-can-you-generate-electricity-from-living-plants/>
- Schulten, E. A. ., Matysik, J., Alia, Kiihne, S., Raap, J., Lugtenburg, J., ... de Groot, H. J. M. (2002). <sup>13</sup>C MAS NMR and Photo-CIDNP Reveal a Pronounced Asymmetry in the Electronic Ground State of the Special Pair of *Rhodobacter sphaeroides* Reaction Centers. *Biochemistry*, 41(27), 8708–8717.
- Shi, Z., Xu, G., Deng, J., Dong, M., Murugadoss, V., Liu, C., ... Guo, Z. (2019). Structural characterization of lignin from *D. sinicus* by FTIR and NMR techniques. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 12(3), 235–243.
- Shoolery, J. N. (2008). *A Basic Guide to NMR* (Tercera). Castano Primo: Stan's Library.
- Siciliano, C., Belsito, E., De Marco, R., Di Gioia, M. L., Leggio, A., & Liguori, A. (2012). Quantitative determination of fatty acid chain composition in pork meat products by high resolution <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *Food Chemistry*, 136(2), 546–554.
- Simmler, C., Napolitano, J. G., McAlpine, J. B., Chen, S.-N., & Pauli, G. F. (2014). Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples. *Current Opinion in Biotechnology*, 25, 51–59.
- Simpson, A. J., McNally, D. J., & Simpson, M. J. (2011). NMR spectroscopy in environmental research: From molecular interactions to global processes. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 58(3–4), 97–175.
- Simpson, A. J., Simpson, M. J., & Soong, R. (2012). Nuclear Magnetic Resonance

- Spectroscopy and Its Key Role in Environmental Research. *Environmental Science and Technology*, 46, 11488–11496.
- Simpson, M. J., & Simpson, A. J. (2014). *NMR spectroscopy: A versatile tool for environmental research*. (R. K. Harris & R. E. Wasylshen, Eds.) (Primera). Toronto: Wiley.
- Stigka, E. K., Paravantis, J. A., & Mihalakakou, G. K. (2014). Social acceptance of renewable energy sources: A review of contingent valuation applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 32, 100–106.
- Thamarath, S. S., Alia, A., Daviso, E., Mance, D., Golbeck, J. H., & Matysik, J. (2012). Whole Cell Nuclear Magnetic Resonance Characterization of Two Photochemically Active States of the Photosynthetic Reaction Center in Heliobacteria. *Biochemistry*, 51, 5763–5773.
- Thamarath, S. S., Bode, B. E., Prakash, S., Sankar Gupta, K. B. S., Alia, A., Jeschke, G., & Matysik, J. (2012). Electron Spin Density Distribution in the Special Pair Triplet of Rhodospirillum rubrum R26 Revealed by Magnetic Field Dependence of the Solid-State Photo-CIDNP Effect. *Journal of the American Chemical Society*, 134(13), 5921–5930.
- Vigo, U. de. (s/f). Cloroplastos. Recuperado el 28 de abril de 2020, de <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/6-cloroplastos.php>
- Wang, X.-J., Thamarath, S. S., Alia, A., Bode, B. E., & Matysik, J. (2016). The Solid-State Photo-CIDNP Effect. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 32(2), 399–404.
- Wayne, R. (2019). Chloroplasts. En M. Preap (Ed.), *Plant Cell Biology* (Segunda, pp. 235–267). Wolff, Andre G.
- Xu, Y., Li, A., Yao, T., Ma, C., Zhang, X., Shah, J. H., & Han, H. (2017). Strategies for Efficient Charge Separation and Transfer in Artificial Photosynthesis of Solar Fuels. *CHEMSUSCHEM*, 10(22), 4277–4305.
- Yahia, E., Carrillo-López, A., Malda-Barrera, G., Suzán-Azpiri, H., & Queijeiro-Bolaños, M. (2019). Photosynthesis. En A. Carrillo-López (Ed.), *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. México: Wolff, Andre G.
- Yao, Y., Liu, D., Che, Y., Tang, D., Tang, S., & Huang, W. (2010). Petrophysical characterization of coals by low-field nuclear magnetic resonance (NMR). *Fuel*, 89,

1371–1380.

Ying-Ying, C., & Dayou, J. (2013). A Method to Harvest Electrical Energy from Living Plants. *Journal of Science and Technology*, 5, 79–90.

Ying-Ying, C., & Dayou, J. (2016). Modelling of the electricity generation from living plants. *Jurnal Teknologi*, 78(6), 29–33.

Zamora Silva, E. M. (2017). *Comparación de la energía eléctrica generada mediante la fotosíntesis de las especies Ipomea purpurea y Palma areca*. Universidad César Vallejo.

Zhong, J., Sleighter, R. L., Salmon, E., McKee, G. A., & Hatcher, P. G. (2010). Combining advanced NMR techniques with ultrahigh resolution mass spectrometry: A new strategy for molecular scale characterization of macromolecular components of soil and sedimentary organic matter. *Organic Geochemistry*, 42(8), 903–916.

Zwinkels, J. C. (2015). Light, Electromagnetic Spectrum. En *Encyclopedia of Color Science and Technology* (pp. 1–8). Ottawa.