



INVESTIGACION

CULTURA CIENCIA Y TECNOLOGIA

VOLUMEN 13

Nº 26

2021

INVESTIGACION

CULTURA CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Revista Nº 26
VOLUMEN 13 2021

Director

José Luis Vázquez López
investigación@galicia.com
36201 Vigo - España

Dirección Creativa e Innovación

María del Mar Vázquez Jiménez
mariadelmarvj@gmail.com

Consejo de Redacción

José Luis Vázquez López
Francisco Javier Rodríguez Berrocal
Almudena Fernández Brieria

Comité Científico

Juan Francisco Saborido Rey
Jesús Souza Troncoso
José Luis Legido Soto
Juan Manuel Vieites Baptista de Sousa
Francisco Javier Rodríguez Berrocal
Almudena Fernández Brieria
Ángel Tomás Camacho García
Antonio De Ron Pedreira
Diana Valverde Pérez
Juan Enrique Pardo Froján

Secretaría y Dep. Divulgación

Raquel María Vázquez

Revista adscrita al

INSTITUTO DE CULTURA,
CIENCIA Y TECNOLOGÍA (ICCT)
www.institutociencia.es

ISSN: 1889 - 4399
DEPÓSITO LEGAL:
VG - 347 - 2009

Patrocina



XUNTA
DE GALICIA

VICEPRESIDENCIA SEGUNDA E
CONSELLERÍA DE ECONOMÍA,
EMPRESA E INNOVACIÓN



Xacobeo 21-22



INSTITUTO CULTURA CIENCIA Y TECNOLOGIA

Queda prohibida la reproducción total o parcial de cualquiera de los contenidos de esta publicación, sin citar la procedencia. La revista "Investigación" no se hace responsable, ni se identifica con artículos, ni opiniones que publican sus autores y colaboradores.

LOS INVESTIGADORES DE INSTITUCIONES, EMPRESAS, LABORATORIOS Y UNIVERSIDADES INTERESADOS EN REMITIR ARTÍCULOS, PREVIAMENTE DEBERÁN CONTACTAR CON NUESTRO DEPARTAMENTO DE REDACCIÓN PARA RECIBIR INSTRUCCIONES: investigación@galicia.com



índice

SUMARIO
VOLUMEN 13 Nº 26 2021

Editorial

6 P PANDEMIA COVID ¿QUÉ HA SUPUESTO PARA LA INVESTIGACIÓN?

África González Fernández

*Doctora en Medicina y Cirugía. Catedrática de Inmunología. Académica de la RAFG.
Centro de Investigaciones Biomédicas (CINBIO). Universidad de Vigo.*

Metodología Analítica Clínica

8 A ANÁLISIS CLÍNICO Y SALUD: METODOLOGÍAS ANALÍTICAS APLICADAS A LA DETERMINACIÓN DE ESPECIES QUÍMICAS DE INTERÉS EN ORINA

Sara Caruncho Pérez, Ana María Prado Comesaña, Elisa González Romero

Dpto. de Química Analítica y Alimentaria. Facultad de Química. Universidad de Vigo. España.

Recursos Marinos: Aprovechamiento de desechos

20 O RECUPERACIÓN DE LÍPIDOS DE ALTO VALOR NUTRICIONAL A PARTIR DE PRODUCTOS DE DESECHO RESULTANTES DE LA COMERCIALIZACIÓN DE CHIPIRÓN (*Loligo gahi*)

Santiago, P.; Aubourg Martínez, Marcos Trigo; M^a. Jesús González; Salomé Lois; Isabel Medina

Instituto de Investigaciones Marinas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Vigo. España.

Parasitología
25 E VALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FAGOCITOSIS Y RESISTENCIA DE CEPAS DEL GÉNERO ACANTHAMOEBA, CABALLOS DE TROYA DE BACTERIAS
Isaac Pérez Maquieira, Raúl Iglesias Blanco, Cristina Arias Fernández
Laboratorio de Parasitología. Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Universidad de Vigo.

Nutrición en la Tercera Edad
31 D DISEÑO DE UNA ESTRATEGIA NUTRICIONAL INTEGRADA Y SOSTENIBLE COMO HERRAMIENTA PARA PROMOVER EL ENVEJECIMIENTO SALUDABLE EN LA TERCERA EDAD
M^a. José Chapela (2), Federica Farabegoli (2), Mercedes Alonso (2), Celina Costas (2), Eusebio Méndez (1), Sara Carvajal (1), Javier Costela (1), Manuel Riveiro (3), Bárbara Álvarez (4), Sergio Quiroga (4), Lizette del Socorro Valenzuela (5), Javier de la Fuente (5)
(1) *Freshcut.*
(2) *ANFACO-CECOPECA.*
(3) *AGACAL.*
(4) *Ecocelta.*
(5) *Hospital Ribera Salud-Povisa.*

Comunicación
38 C CONSECUENCIAS DEL FINAL DE LA CRISIS ECONÓMICA EN LOS GRUPOS DE COMUNICACIÓN EN ESPAÑA
Mercedes Román Portas, Aurora García González, Lourdes Román Portas
Facultad de Ciencias Sociales y de la Comunicación. Campus Pontevedra. Universidad de Vigo.

Historiografía Médica
47 L LOS ORÍGENES DE LA MEDICINA CIVIL MUNICIPAL EN VIGO
Fernando Domínguez Freire (1), Eloísa Amillas Gómez (2)
(1) *Médico especialista en Urología. Hospital Álvaro Cunqueiro Vigo. Dr. en Historia de la Ciencia por la Universidad de Santiago de Compostela. España.*
(2) *Médico especialista en Medicina Interna. Hospital Álvaro Cunqueiro. Vigo. España.*

Cosmética Termal
55 A GUAS TERMALES, ARCILLAS Y ALGAS COMO INGREDIENTES EN LA COSMÉTICA TERMAL
M^a. Lourdes Mourelle Mosqueira (1) (2), José Luis Legido Soto (1) (2), Carmen Paula Gómez Pérez (1) (2)
(1) *Centro de Investigaciones Biomédicas (CINBIO). Universidad de Vigo. España.*
(2) *Dpto. Física Aplicada. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Vigo. España.*

Derecho Social
65 E EL DERECHO DE EXTRANJERÍA EN ESPAÑA Y SU COMPARACIÓN CON PAÍSES DE REFERENCIA EN LA UNIÓN EUROPEA
M^a. del Pilar Caro Fernández
Licenciatura en Derecho por la UNED. Despacho abogados GB29. Vigo.(3) Facultad Ciencias Sociales y de la Comunicación. Universidad de Vigo. España.

editorial

PANDEMIA COVID: ¿QUÉ HA SUPUESTO PARA LA INVESTIGACIÓN?

Estamos en un momento difícil pero esperanzador. La pandemia COVID originada por el betacoronavirus SARS-CoV-2 ha irrumpido en nuestras vidas como un vendaval desde finales de 2019. En estos dos años hemos aprendido mucho del virus y de sus consecuencias, de cómo entra en nuestras células, qué enfermedad produce, las personas que son más vulnerables, las secuelas que deja. Ha producido una pandemia verdaderamente global en un mundo cada vez más interrelacionado, y nos ha pillado desprevenidos.

Como recientemente ha mostrado un informe sobre la gestión de la pandemia, se ha actuado tarde y se podría haber hecho de forma más eficiente. Tendremos que aprender de los errores, para estar mejor preparados para el futuro, porque es previsible que tarde o temprano pueda repetirse. Para ello es necesario un mayor liderazgo de la Organización Mundial de la Salud, con una coordinación ágil y voz relevante en la planificación global de futuros planes de contingencia.

En el ámbito de la investigación

En un tiempo record se han desarrollado técnicas para diagnosticar a personas infectadas (detectar el virus por PCR o por técnicas de inmunodetección como el test de antígenos), o para conocer si han desarrollado inmunidad (test de anticuerpos); también se han probado muchos tipos de terapias (la mayoría sin éxito) y se han desarrollado en un tiempo récord varias vacunas altamente eficaces frente al virus y con tecnología nunca antes usada.

Y todo esto, ha sido posible gracias a la investigación paciente, del trabajo de muchos investigadores, así como la aplicación de tecnologías ya desarrolladas con anterioridad en los laboratorios de investigación básica. Algunas de estas tecnologías han cambiado el mundo.

Un ejemplo es la técnica de *reacción en cadena de la polimerasa (PCR)*, descrita por el Dr. Kary Mullis en 1985, que le valdría el premio Nobel en 1993 junto al Dr. Michael Smith. Este método permite, a partir de un pequeño fragmento de ADN, amplificarlo y copiarlo millones de veces. Esto supuso una revolución en Medicina y en muchos otros ámbitos, permitiendo analizar genomas de diversos organismos, diagnosticar trastornos genéticos, identificar cadáveres, delimitar posibles culpables en robos, asesinatos, y como hemos visto, detectar infecciones por patógenos, como los virus. Sin esta técnica hubiera sido imposible, con prontitud, poder identificar a personas infectadas por el SARS-Cov-2. Y no solo saber si están infectadas, sino poder secuenciar el virus y saber qué mutaciones tiene, y a qué variante corresponde. En muy poco tiempo, el uso de la técnica de PCR se ha generalizado a nivel mundial para la detección del SARS-CoV-2, y nunca antes se habían empleado tantos kits de PCR como en esta pandemia.

Otro desarrollo en Inmunología, Medicina e investigación en distintos ámbitos, fue la *técnica de generación de los Anticuerpos monoclonales*. Los Dres. César Milstein y George Köhler, recibieron el premio Nobel por haber iniciado el camino de la generación de hibridomas productores de un único tipo de anticuerpo, con una altísima especificidad. Hoy ya hay miles de anticuerpos dirigidos frente a moléculas diferentes, que se emplean en diagnóstico, investigación, purificación de compuestos y en terapia. Muchos test diagnósticos emplean anticuerpos monoclonales, pero sin duda es en terapia donde están suponiendo una revolución para su aplicación en cáncer, enfermedades autoinmunes, degeneración macular, alergias graves y otras muchas enfermedades. Además, la implicación directa del sistema inmunitario en muchas patologías, ha abierto la opción del uso de la inmunoterapia con éxito.

Los anticuerpos se han empleado en la pandemia COVID para la puesta a punto de técnicas de diagnóstico, analizar la respuesta inmunitaria al virus, para la detección

temprana y bloqueo de la respuesta inflamatoria (tormenta de citocinas), y más recientemente se aprobaron para evitar la entrada del virus en las células, el uso de anticuerpos monoclonales neutralizantes frente al virus. Esta terapia, ya aprobada en EEUU, pero no aún en Europa, fue administrada con éxito al anterior presidente americano cuando se infectó.

Sin duda, uno de los grandes avances en esta pandemia ha sido la autorización, por vez primera, de vacunas de RNA. Tanto la vacuna de Pfizer-BionTech, como la de Moderna (y otras en camino), están basadas en la misma tecnología: emplea moléculas de RNA que llevan la información para producir la proteína de interés en nuestras células, en este caso de la espícula del virus (proteína S). Detrás de estas vacunas se encuentra una mujer, la Dra. Katalin Karikó, doctora en Biología de origen húngaro, que lleva más de 30 años trabajando en el desarrollo de terapias y vacunas basadas en la molécula de RNA. Las vacunas de RNA han demostrado que son altamente eficaces en proteger de la muerte, enfermedad grave y también en reducir la transmisión de los contagios. Confío que La Dra. Karikó consiga pronto el premio Nobel, por su tesón, por la eficacia de la técnica, y vidas que está salvando.

Junto al desarrollo de la tecnología, esta pandemia ha mostrado las carencias y fortalezas de nuestra sociedad, incluyendo las de la desigualdad económica y el voluntarismo de muchos profesionales, sobre todo los sanitarios.

¿Qué hemos aprendido? Muchísimas cosas

Somos vulnerables ante un virus, tan pequeño y letal, y también frente a otros patógenos que pueden atacarnos; debemos estar mejor y más preparados.

Debemos invertir mucho más en investigación básica, porque compensa; estudiar los miles de patógenos que potencialmente podrían ser peligrosos para preparar librerías de vacunas con las secuencias ya conocidas. Los patógenos están ahí, en reservorios animales que pueden saltar al hombre, como lo ha hecho el SARS-CoV-2. Se sospecha que deriva de un virus que infecta a murciélagos, aunque se desconoce cómo ha sido posible que infecte al hombre sin un mamífero intermedio, y aún desconocemos cuál es.

Debe protegerse a la población más vulnerable a nivel global primero y posteriormente al resto. Si dejamos que países como India siga incrementando sus contagios, surgirán nuevas variantes más peligrosas, poniendo en peligro todo lo conseguido hasta ahora con las vacunas. Para ello deberíamos revisar nuestros protocolos ante posibles futuras pandemias; consensuar a nivel global una estrategia de protección mediante la vacunación y facilitar que las vacunas lleguen a todos los países.

Hemos aprendido a hacer vacunas en un tiempo récord. Seguras y eficaces. La tecnología de RNA ya ha venido para quedarse, y es previsible que para otras variantes, así como para otros patógenos, se desarrollen vacunas de tipo RNA con éxito, y en poco tiempo. Otras vacunas con vectores virales como los adenovirus, virus vaccinia, gripe, etc. se están abriendo camino. Este tipo de pandemias ha agilizado la investigación, la inversión y la puesta en común de conocimientos ya previamente adquiridos sobre otras vacunas.

También retos por superar, como el abastecimiento a nivel mundial, escalar la producción, reparto equitativo a las personas más vulnerables y vacunas a precios asequibles. Se están intensificando las vacunaciones a nivel mundial. La

experiencia en otros países que fueron los primeros en vacunar, muestra signos muy positivos. Las vacunas están siendo muy eficaces, y si seguimos haciendo las cosas bien, es muy posible que podamos retomar una “cierta normalidad” pronto, aunque es previsible que el virus siga entre nosotros por mucho tiempo.

Queda mucho por investigar en nuevas terapias, en vacunas de amplio espectro que cubran a varios patógenos a la vez, en conocer mejor la inmunidad a las vacunas (memoria a largo plazo, intervalo entre dosis, mezclar o no vacunas, biomarcadores de correlación de protección), si habrá que vacunar a los niños o no, poder predecir nuevas variantes, y muchas cosas más.

Debemos intentar que los países puedan ser autosuficientes, y que no tengan que depender de otros para las cosas más básicas (hemos visto que por ejemplo Europa no tenía mascarillas, ni respiradores), así como existen pocas empresas para el desarrollo y fabricación de fármacos y vacunas.

Los investigadores debemos trabajar de forma coordinada, poner en común los conocimientos y contar con los expertos. En esta pandemia se han compartido las secuencias de los virus, se han publicado los resultados incluso muy preliminares en tiempo récord, y se han organizado grupos multidisciplinarios. La otra cara es que se incrementó el ruido, han surgido muchos artículos con escaso rigor científico, con conclusiones precipitadas, algunos de los cuales han tenido que ser retirados de las revistas, y muchos otros han creado confusión por datos no realmente avalados, ni contrastados. También, muchos científicos que no tenían experiencia en coronavirus se han implicado en su estudio, cometiendo errores.

Los medios de comunicación están ayudando a explicar y analizar la pandemia, y nunca antes se había contado con tantos especialistas en distintos ámbitos. Se ha visto que la sociedad necesita del conocimiento, sobre todo en los campos como la Virología, Inmunología y Epidemiología, y está viendo la importancia que tiene la investigación para poder conocer y combatir esta pandemia. Pero un exceso de noticias con el día a día de contagios, muertes, restricciones, alarmas, toques de queda, etc., lleva a que la gente esté muy cansada, y que la información verdaderamente importante no llegue a la población. Tal vez se está consiguiendo otra pandemia, la infodemia.

Entre las muchas carencias de nuestro país, está la necesidad de un Centro Nacional de Inmunología, que permita coordinar esfuerzos en este ámbito. Es hora de la Inmunología.

Esperemos que pasado un tiempo esto no se nos olvide, y las personas sigan viendo que lo único que nos permitirá progresar es si invertimos mucho más en investigación básica.

África González Fernández

Doctora en Medicina y Cirugía, Especialista en Inmunología.

Catedrática de Inmunología. Centro de Investigaciones Biomédicas (CINBIO). Universidade de Vigo.

Académica de la RAFG.

Fue Presidenta de la Sociedad Española de Inmunología (2016-2020) y Directora del Centro de Investigaciones Biomédicas (CINBIO) (2009-2019).

ANÁLISIS CLÍNICO Y SALUD: METODOLOGÍAS ANALÍTICAS APLICADAS A LA DETERMINACIÓN DE ESPECIES QUÍMICAS DE INTERÉS EN ORINA

Sara Caruncho-Pérez, Ana María Prado-Comesaña y Elisa González-Romero*

Departamento de Química Analítica y Alimentaria, Facultad de Química, Universidad de Vigo.

Palabras clave: Análisis clínico, Orina, Cationes, Aniones, Creatinina, Ácido úrico.

RESUMEN

El problema que se plantea es determinar ciertos compuestos de interés en el campo del análisis clínico, que son los cationes sodio y potasio, los aniones cloruro, nitrato, sulfato y fosfato, y del grupo de los compuestos orgánicos, la creatinina y el ácido úrico, todos ellos en muestras de orina. Además, se incluyen una serie de estudios complementarios para determinar la estabilidad o variabilidad de los parámetros generales de la orina, que son el pH, la conductividad y la turbidez. Para todo ello se emplean técnicas espectroscópicas, eléctricas y de separación, según la propiedad que presenten los analitos objeto de estudio.

OBJETIVO

Se pretende seleccionar y desarrollar la metodología más adecuada para el análisis de componentes de naturaleza orgánica e inorgánica, teniendo en cuenta el tipo de matriz compleja a la que se enfrenta el analista, la orina. Para ello, se deben conocer los antecedentes y el estado del arte del tema propuesto, el procedimiento analítico y sus etapas (muestreo y almacenaje de la muestra, preparación y tratamiento de la misma, medida y evaluación de los resultados), la elección de la técnica más adecuada, la calibración y la medida de la cantidad de analito en la muestra, así como hacer una evaluación de los resultados para llegar a unas conclusiones y presentar un informe. En concreto, seleccionados los analitos presentes en la muestra problema, el principal objetivo de este trabajo es, por tanto, aplicar el mayor número de técnicas instrumentales en la determinación de especies de interés para la salud. También se realiza un seguimiento de las muestras de orina para estudiar su estabilidad y las condiciones de almacenaje. Para poder llevar a cabo los análisis debe seguirse, como ya se ha mencionado, el procedimiento analítico en todas sus etapas de forma rigurosa. Además, el conocimiento del estudio quimiométrico es indispensable a la hora de tratar los datos obtenidos, que deben ser expresados adecuadamente para que cualquier miembro de la comunidad científica pueda interpretarlos inequívocamente.

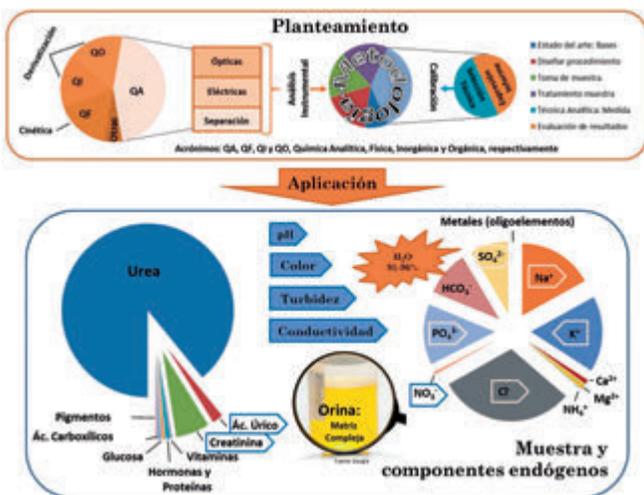


Gráfico resumen.

INTRODUCCIÓN

A finales del siglo XIX, con el auge del análisis instrumental, se han obtenido grandes avances en el campo del análisis clínico¹, lo que ha dado lugar a la obtención de diagnósticos más rápidos y sensibles que, a su vez, han repercutido en el desarrollo de nuevos tratamientos o en la mejora de los ya existentes. Son muchas las moléculas presentes en nuestro organismo que se pueden determinar en fluidos biológicos mediante distintas metodologías analíticas, que serán elegidas en base a la estructura y propiedades físico-químicas del analito objeto de análisis, así como de la concentración esperada en la muestra y las posibles interferencias presentes en ella que puedan entorpecer el proceso de medida. Es imposible realizar un análisis totalmente libre de errores², ya que la incertidumbre en las medidas no puede eliminarse por completo, pero sí se puede determinar la magnitud de dicha incertidumbre y minimizar los errores sistemáticos mediante el procedimiento adecuado. El análisis debe ser preciso y tener una sensibilidad adecuada para poder obtener resultados cercanos a la realidad, ya que un mal diagnóstico podría desencadenar consecuencias fatales. Además, es imprescindible la calibración de todos los equipos de análisis para asegurar el cumplimiento de las normas ISO 17025, que definen los requisitos que se deben cumplir en los laboratorios de ensayo y calibración para verificar la calidad de los resultados obtenidos³. Hay que tener en cuenta que cada analito tiene un intervalo fisiológico determinado, por lo que debe emplearse la técnica adecuada para cada caso, recurriendo al análisis clásico en el caso de sustancias que se encuentren como macro y microcomponentes o echando mano del análisis instrumental cuando se trata de compuestos a nivel de traza o ultratrazas, como es el caso de la mayoría de las sustancias que se encuentran en el organismo.

La orina es un fluido biológico de gran interés ya que al tratarse de un medio de excreción se pueden encontrar en ella un gran número de moléculas, tanto orgánicas como inorgánicas. Es debido a esto que el presente trabajo se ha enfocado exclusivamente a dicho fluido. La composición de la orina⁴ varía dependiendo del individuo, aunque generalmente está conformada casi en su totalidad por agua (entre el 91 y el 96%), siendo el resto sales, urea, creatinina, vitaminas, hormonas y ácidos orgánicos⁵, entre los que destaca el ácido úrico, que es un producto de la degradación de las purinas. El exceso o el defecto de dichos compuestos en la orina, así como la presencia de otras sustancias tales como hierro o ciertas proteínas, pueden ser signos alarmantes de enfermedades, por lo que determinar no solo su presencia sino también su concentración constituye el objetivo principal del análisis clínico. A modo de ejemplo, recientes investigaciones llevadas a cabo por investigadores de diferentes hospitales españoles⁶, identificaron que los niveles de creatinina en sangre de pacientes que ingresan con la COVID19 puede ser uno de los factores que puede determinar

el pronóstico y la gravedad de dicho paciente. Este índice, llamado COVID-19/SEIMC, se calcula con precisión teniendo en cuenta siete variables, además de la concentración de la creatinina, que son: la edad, el sexo, la dificultad para respirar; y otros parámetros de la sangre como la saturación de oxígeno y el número de leucocitos. Este índice predictivo ayudará a los facultativos en la toma de decisiones clínicas a razón de la gravedad del paciente, su evolución y su riesgo de fallecer.

MUESTREO. PREPARACIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA. REACTIVOS

Los análisis son realizados en muestras de orina de 24 horas, que deben ser recogidas adecuadamente⁵ y refrigeradas entre 2 y 8°C sin necesidad de añadir ningún preservativo hasta el momento del análisis (en el mismo día de la recogida, excepto en la medida y seguimiento de los parámetros generales que se realizan en una misma muestra durante un mes) (*Figura 1. Toma de muestra*). En el caso de la determinación de creatinina, las muestras empleadas son de orina aleatoria o *random*, en cuya recogida debe despreciarse la primera micción⁵, y la conservación es la misma que en el caso de muestras de orina de 24 h.

Para poder llevar a cabo los análisis pertinentes puede ser necesario un tratamiento previo de la muestra según la técnica empleada, concretamente para emisión atómica, espectrofotometría y cromatografía. El tratamiento consiste en centrifugar la muestra para después filtrar por gravedad el sobrenadante. Para ello, se emplea una centrífuga Mixtasel Selecta®, operando a 4000 rpm a temperatura ambiente. La filtración puede realizarse con un papel de filtro o con una membrana filtrante con tamaño de poro inferior a 0,45 micras en el caso de la cromatografía para evitar la obstrucción de la columna y del sistema cromatográfico. Además, puede ser necesario diluir la muestra si la concentración del analito a estudiar sobrepasa el intervalo lineal. Para ello, es imprescindible el uso de agua ultrapura, obtenida por el sistema de ósmosis inversa RO1 Compact/C (18 M Ω ·cm) de Peter Taboada.

Todos los reactivos utilizados en este trabajo fueron de calidad “para análisis” PA, con pureza > 99%, y suministrados por las casas comerciales Sigma-Aldrich, Fisher, Panreac y Riedel-de Haën. Con el ácido úrico se lleva a cabo un estudio de interferencias: para ello se emplea el kit de colesterol (200 mg/dL) de la casa SPINREACT. Para el mismo propósito se recurre a ciertos medicamentos: Trankimazín® (alprazolam, 0,121 M) de Upjohn, Leponex® (clozapina, 1,248 mM) de Sandoz y Somnovit® (loprazolam, 0,3442 mM) de Teofarma.

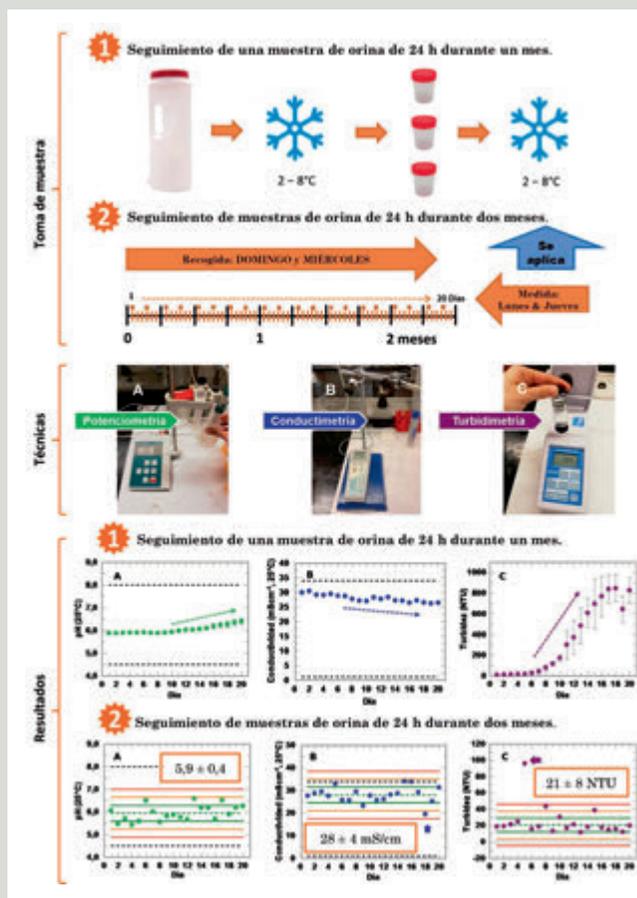


Figura 1. Procedimiento de toma de muestra, técnicas y resultados de la medida de los parámetros generales: (A) pH, (B) conductividad y (C) turbidez. (1) Toma de muestra y Evolución con el tiempo de los parámetros generales de una muestra de orina de 24 h. Las flechas indican la tendencia de las medidas con el tiempo. (2) Toma de muestra y Representación de los Gráficos de Shewhart para los parámetros generales de distintas muestras de orina de 24 h: las líneas discontinuas verdes, y las continuas verdes, naranjas y rojas, representan la media \bar{x} , $\bar{x} \pm 5S$, $\bar{x} \pm 2S$ (líneas de aviso) y $\bar{x} \pm 3S$ (líneas de acción), respectivamente. En todas las gráficas, las líneas discontinuas negras delimitan los respectivos intervalos fisiológicos. Para el caso de la turbidez, éste valor no fue encontrado en la bibliografía disponible.

PARÁMETROS GENERALES: PH, CONDUCTIVIDAD Y TURBIDEZ. ALMACENAJE

Parámetros generales de la orina: INSTRUMENTACIÓN Y TÉCNICAS

Los equipos utilizados en las medidas se recogen en la Figura 1-Técnicas. El pH de las muestras de orina se mide por potenciometría directa, empleando para ello un pH-metro modelo 774 para análisis iónico de Metrohm®, calibrado previamente con disoluciones tampón de hidrógeno ftalato potásico/ftalato

potásico e hidrógeno fosfato potásico/fosfato potásico, a pH de 4 y 7 en condiciones estándar, respectivamente. Para determinar la conductividad en dichas muestras de orina se recurre a un conductímetro portátil modelo CM35 de Crison®. En su calibrado se emplean disoluciones de cloruro potásico de distinta concentración, lo que conlleva a una distinta conductividad. Las concentraciones de dichas disoluciones son 0,0001, 0,0010 y 0,100 M, equivaliendo a 147 y 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$, y 12,88 mS/cm , respectivamente, en condiciones estándar. Por otra parte, para estudiar la turbidez se echa mano de la turbidimetría, una técnica óptica no espectroscópica que tiene una relación directa con los sólidos en suspensión presentes en la muestra. Para este propósito se emplea un turbidímetro portátil modelo 2100P de Hach®. El instrumento mide la intensidad de la radiación dispersada, que es proporcional a la concentración de un patrón de turbidez⁷, empleando disoluciones de formazina estandarizada de 0, 20, 100 y 800 NTU (unidad nefelométrica de turbidez).

Parámetros generales de la orina: RESULTADOS DEL ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Para poder estudiar la estabilidad de las muestras de orina se realizan dos estudios paralelos. En el primero se realiza un control de una misma muestra de orina de 24 h durante un mes. Los resultados obtenidos se reflejan en la Figura 1.1-Seguimiento de una muestra durante 1 mes. Tras analizar las distintas gráficas (Figura 1.1 A, B y C), se llega a la conclusión de que las muestras de orina de 24 horas, conservadas entre 2 y 8°C sin la adición de ningún preservativo, permanecen estables durante los primeros 10 días, a partir del cual se empiezan a observar cambios en los parámetros generales debido a la precipitación de los iones presentes en forma de sales, lo que hace que aumenten la turbidez y la basicidad del medio mientras que la conductividad disminuye a consecuencia de haber menor número de cargas en el mismo. Con este estudio se confirma entonces la información encontrada en la bibliografía con respecto a la estabilidad y almacenaje de las muestras⁸.

Por otra parte, en un segundo estudio se efectúa un control de los parámetros generales de la orina, recogiendo muestra dos veces por semana durante dos meses, para estudiar si el pH, la conductividad y la turbidez se encuentran dentro de los valores normales en una persona sana. Con los resultados obtenidos se pueden hacer los gráficos de Shewhart para cada parámetro a controlar, que también se pueden ver en la Figura 1.2-Seguimiento de muestras durante 2 meses. De ellos se puede extraer que los valores de cada medida se mantienen relativamente próximos al valor central, sin llegar a salirse en ningún caso de las líneas de acción. Una excepción es la turbidez, que en el día 7 refleja un valor superior al límite de acción, probablemente debido a que dicha muestra fue

congelada durante dos días. Debido a la baja temperatura la solubilidad de las sustancias disminuye, provocando la precipitación y, con ello, aumentando la turbidez.

Los valores normales están comprendidos entre 4,5-8,0 para el valor de pH^{8,9} y 1,1-33,9 para la conductividad¹⁰. No se han encontrado datos en la bibliografía de la turbidez debido a la gran variabilidad que presenta este parámetro en los diferentes individuos. Los resultados para los parámetros generales encontrados en las muestras de orina analizada fueron de pH de 5,9±0,4 y de conductividad de 28±4mS/cm, estando ambos entre los límites normales. Para la turbidez, el valor encontrado fue de 21±8 NTU.

PARÁMETROS INORGÁNICOS: CACIONES SODIO Y POTASIO

Parámetros inorgánicos sodio y potasio: FUNDAMENTO, TÉCNICA E INSTRUMENTACIÓN

En primer lugar se estudian dos cationes alcalinos, el sodio y el potasio. La técnica empleada para este propósito es la espectroscopía de emisión atómica (EEA o AES por las siglas en inglés, *Atomic Emission Spectroscopy*) o Fotometría de Llama (*Figura 2-Técnica*), usando butano como combustible y aire como fuente de oxígeno, que es la sustancia que actúa como comburente. La elección de la técnica se basa en las propiedades periódicas de los metales alcalinos, fácilmente ionizables, ya que sus electrones de valencia no se encuentran apantallados por ningún orbital más externo, derivando en un bajo potencial de ionización. Por consiguiente, la energía producida por la llama oxidante es suficiente para excitar los electrones de ambos metales a niveles energéticos superiores.

Posteriormente, dichos electrones regresarán al estado fundamental emitiendo radiación electromagnética de una longitud de onda determinada, específica de cada elemento, y cuya intensidad será proporcional a la concentración de los analitos en la muestra dentro de un intervalo de concentraciones determinado para cada especie. Las longitudes de onda de emisión para el sodio y el potasio son 589 y 766 nm, respectivamente^{11,12}, y dado que el equipo empleado es un fotómetro de llama (modelos PFP7 y PFP7/C de Jenway®), estas son separadas mediante filtros (*Figura 2-Técnica*). Los intervalos lineales que proporciona la técnica son: entre 1-5 ppm para el potasio y entre 1-10 ppm para el sodio. La calibración previa del equipo se lleva a cabo con disoluciones patrón del catión en el intervalo de concentraciones indicado.

Parámetros inorgánicos sodio y potasio: RESULTADOS DEL ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Para determinar el contenido de sodio y potasio en la muestra y evaluar sus respectivos límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) es necesario, como ya se ha mencionado, realizar una calibración para cada analito (*Figura 2-Calibrado*) que proporcione un buen coeficiente de correlación (R^2) entre las variables dependiente (señal analítica) e independiente (concentración del analito). Los resultados de la calibración para ambos cationes se recogen en la misma figura, junto con los estudios de precisión (Desviación Estándar Relativa, DER %) y exactitud (% de recuperación).

Las muestras fueron diluidas a 1:500 para el análisis de potasio, mientras que la dilución fue mayor (1:1000) para el análisis del sodio. Con respecto a la concentración de cada analito en la muestra, se obtiene que hay 4030±454 ppm de sodio y 1798±66 ppm de potasio. Estos resultados no son alarmantes, ya que se encuentran dentro de los valores normales esperados para una persona sana (920 - 5060 ppm para el sodio y 980 - 4890 ppm para el potasio)^{13,14}.

PARÁMETROS INORGÁNICOS: ANIONES FOSFATO, SULFATO, NITRATO Y CLORURO

Parámetro inorgánico anión fosfato: FUNDAMENTO, TÉCNICA E INSTRUMENTACIÓN

En cuanto a los aniones inorgánicos, el primero en ser analizado es el fosfato, anión incoloro. Para este propósito se

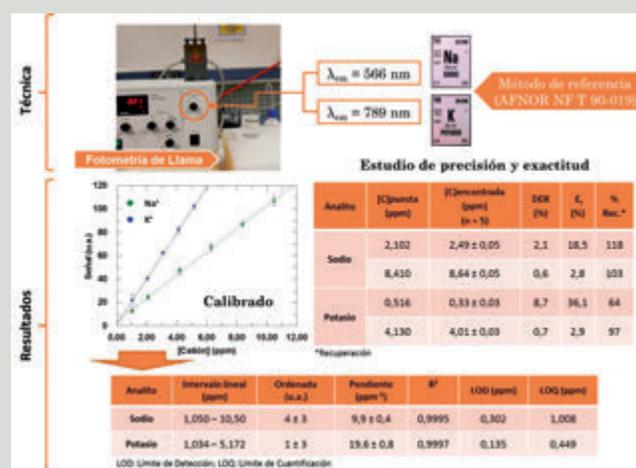


Figura 2- Técnica y resultados de la calibración de los parámetros inorgánicos: cationes sodio y potasio, siguiendo el método de referencia por Fotometría de Llama. Calibrado y Tabla resumen con los parámetros analíticos de la calibración. Tabla de los estudios de precisión y exactitud.

recurre a una reacción de derivatización del analito con molibdato de amonio en medio ácido con una posterior reducción con ácido ascórbico (AA)¹⁵, dando lugar a un complejo azul con estructura de ion Keggin (Figura 3). En este complejo, el molibdeno presenta un alto estado de oxidación, de forma que se produce una transferencia de carga desde los ligandos hacia el él, derivando en un desplazamiento batocrómico que permite al compuesto absorber radiación en la región visible. Gracias a este fenómeno se consigue un análisis más selectivo mediante espectrofotometría UV-Vis, empleando para ello un Espectrofotómetro UV-Vis modelo Cary 100 Bio de Varian® equipado con cubetas de cuarzo de 5 mL de capacidad y 1 cm de paso óptico. La lámpara que opera en la región visible es de tungsteno, pero también está provisto de una de deuterio para la región ultravioleta.

Para elaborar el reactivo mixto se sigue el proceso ilustrado en la misma Figura 3-Reacción de Derivatización. A continuación, se preparan todos los tubos con 2 mL de reactivo mixto, al que se añade 10 mL de disolución patrón de diferentes concentraciones o 10 mL de muestra de orina, según corresponda. El resultado es una disolución azul del complejo fosfomolibdico que se va a cuantificar. Para ello, es imprescindible realizar previamente un barrido entre 400 y 900 nm para determinar el máximo de absorción del complejo. Hay que tener en cuenta que el complejo tarda 30 minutos en desarrollarse¹⁶, por lo que la absorbancia de cada disolución se debe medir transcurrido ese tiempo.

Parámetro inorgánico anión fosfato: RESULTADO DEL ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Para poder determinar la concentración de fosfato en las muestras por colorimetría o espectrofotometría, el primer paso es determinar el máximo de absorción del complejo fosfomolibdico. En este caso, se obtienen dos máximos, a 732 y 867 nm (Figura 3. A), de los cuales se elige el segundo para realizar las posteriores medidas. Cabe destacar que esta metodología sigue un método oficial en el que las unidades de concentración se expresan referidas al fósforo. La muestra de orina fue diluida 1:5000 previamente a la aplicación del método y aplicado el método de derivatización para generar el complejo fosfomolibdico. A partir de la recta de calibrado (Figura 3. B) y los parámetros extraídos de ella (Figura 3-Tabla) se obtiene la concentración de fosfato en la muestra de orina de 3900±118 ppm, valor que se encuentra muy próximo al límite superior del intervalo fisiológico, entre 1240 y 3990 ppm¹³. Para asegurar la validez de este resultado, se lleva a cabo la determinación de este anión por otro método.

Parámetros inorgánicos de aniones fosfato, sulfato, nitrato y cloruro: FUNDAMENTO, TÉCNICA E INSTRUMENTACIÓN

Otro método que permite determinar el fosfato presente en las muestras de orina es mediante cromatografía de intercambio aniónico o simplemente cromatografía iónica (CI o IC por las siglas en inglés, *Ionic Chromatography*) (Figura 4-Técnica). Con esta técnica se puede analizar, no solo el fosfato, sino también el cloruro, el nitrato y el sulfato, todos ellos de forma simultánea, debido a la elevada selectividad que ofrece la técnica. Los analitos se reparten entre la fase móvil, la cual ha sido filtrada y desgasificada previamente a la puesta en marcha del equipo, y la fase estacionaria. En este caso, la fase móvil es una disolución tampón de carbonato sódico/hidrógenocarbonato sódico de pH 10,2, mientras que la fase estacionaria sólida está compuesta por grupos amonio cuaternario inmovilizados en su superficie que son capaces de atraer cargas negativas móviles en base a sus tamaños y cargas.

El equipo utilizado es un cromatógrafo modelo 792 Basic IC Metrohm® con detector conductimétrico, provisto de una columna Metrosep A Supp 4 - 250/4,0 rellena de partículas de alcohol polivinílico de 9 µm de diámetro recubiertas con sal de amonio cuaternario y una columna supresora

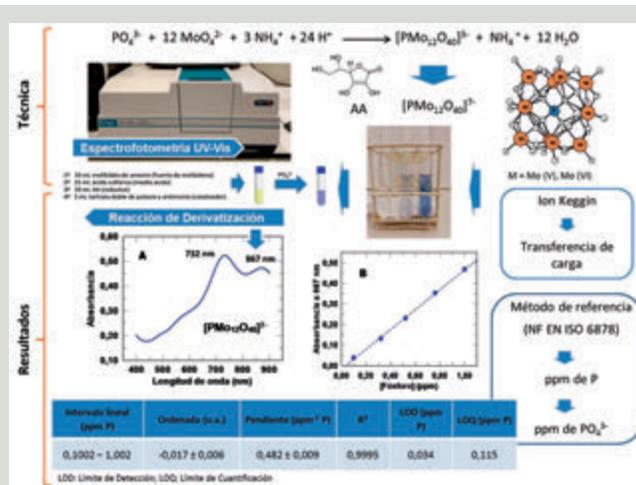


Figura 3. Procedimiento, técnica y resultados de la calibración del parámetro inorgánico fosfato, siguiendo el método de referencia por espectrofotometría UV-Vis. o Colorimetría. Reacción de derivatización del fosfato con el ácido ascórbico (AA) como agente reductor para dar lugar al complejo azul de molibdeno. En la ilustración¹⁷, M = Mo (V), Mo (VI). Esquema de la reacción de derivatización, desde la preparación del reactivo mixto (disolución amarilla) hasta la obtención del complejo fosfomolibdico (disolución azul). A) Espectro de absorción del complejo fosfomolibdico formado, con una disolución de 2,004 ppm de fósforo, en un tiempo de reacción de 30 minutos, presentando dos máximos de absorción a 732 y 867 nm. B) Recta de calibrado para fosfato, con unidades de concentración referidas al fósforo. Tabla resumen de los parámetros analíticos de la calibración.

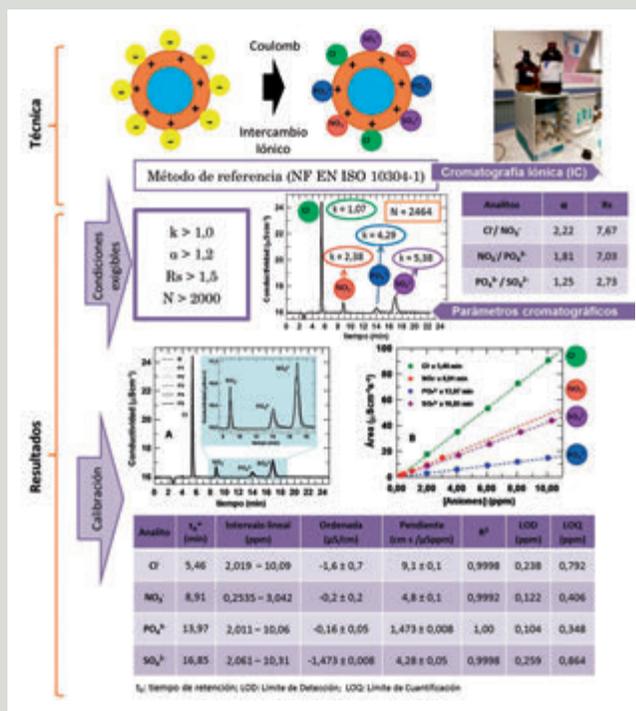


Figura 4. Técnica, parámetros cromatográficos optimizados y resultados de la calibración de los parámetros inorgánicos: aniones fosfato, cloruro, nitrato y sulfato, siguiendo el método de referencia por IC. Valores de referencia de los parámetros cromatográficos idóneos y los obtenidos en el desarrollo cromatográfico de un patrón mixto. A) Superposición de cromatogramas obtenidos en el proceso de calibración, donde P = patrón, B = blanco. B) Representación gráfica de la calibración realizada para los aniones: cloruro, nitrato, fosfato y sulfato. Tabla resumen de los resultados de la calibración de los cuatro iones por IC.

(Figura 4-Técnica). Para asegurar el buen funcionamiento de la columna de intercambio y una buena separación de los analitos deben controlarse cuidadosamente tanto la velocidad de flujo como la presión, manteniéndose en 1,0 mL/min y 5,4 MPa, respectivamente. Además, la muestra de orina debe ser tratada según los requerimientos del equipo de análisis previamente al proceso de medida, por lo que se desgasifica en un baño de ultrasonidos (Axtor® de Lovango S.L), se filtra a través de una membrana de 0,45 µm y, finalmente, se inyecta en el sistema cromatográfico por la válvula de inyección de seis vías con ayuda de una jeringa acoplada a una membrana filtrante. El detector de conductividad permite obtener una lectura (área del pico) que es directamente proporcional a la concentración del anión en la muestra.

Para asegurar el buen funcionamiento de la columna, y una buena separación de los analitos, es necesario calcular los parámetros cromatográficos correspondientes, así como evaluar la separación entre los picos. En primer lugar está el

factor capacidad (k), que expresa la retención del analito por la fase estacionaria. Se trata de un factor adimensional que es independiente del flujo que impulsa la fase móvil. En cuanto a la eficacia, ésta se puede expresar con respecto a la altura de plato (H) o a su número de platos teórico (N): es en dichos platos donde se produce el equilibrio entre los analitos y la fase estacionaria, por lo que a mayor número de platos, mayor será la eficacia alcanzada. Dado que H y N son inversamente proporcionales, la eficacia será mayor cuanto menor sea H . La separación entre picos adyacentes se puede definir en términos de separación cromatográfica o selectividad (α) y resolución (R_s): la primera define la distancia comprendida entre dos máximos, mientras que la segunda se traduce en la separación a base de pico. Si todos los parámetros citados son óptimos, se puede esperar que los resultados obtenidos en el análisis sean fiables. Cabe destacar que, aplicando esta técnica para la determinación de fosfato en orina se pueden validar los resultados obtenidos por espectrofotometría UV-Vis.

Parámetros inorgánicos de aniones fosfato, sulfato, nitrato y cloruro: RESULTADOS DEL ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En primer lugar se evalúan los parámetros cromatográficos y la separación entre los picos (Figura 4-Parámetros cromatográficos). En cuanto a la eficacia, calculada en base al cloruro, que es el primer analito en eluir, se ha obtenido un N aceptable de 2464, ya que lo normal en un buen análisis cromatográfico es que esté entre 2000 y 5000. Con respecto a la separación cromatográfica, se puede concluir que todos los picos están separados, ya que se obtienen α superiores a 1,2, y resueltos, ya que R_s son superiores a 1,5.

En cuanto al análisis por cromatografía iónica del fosfato junto con el nitrato, el sulfato y el cloruro, dado que se realiza la determinación simultánea de las cuatro especies, es necesario elaborar cinco patrones mixtos con distintas concentraciones que cubran los correspondientes intervalos lineales. Los cromatogramas superpuestos obtenidos durante la calibración se pueden observar en la Figura 4. A, donde se puede comprobar el aumento de la conductividad de los analitos a medida que aumenta su concentración. A partir de esta calibración (Figura 4. B), cuya información se encuentra recogida en la Tabla de la misma Figura 4, se pueden obtener los parámetros de sensibilidad, LOD y LOQ.

La muestra de orina fue diluida 1:500 y tratada como ya se ha descrito previamente al análisis. Finalmente, se obtiene que la concentración de cloruro, nitrato, fosfato y sulfato en la muestra de orina es de 5392±219, 33±4,

3767±231 y 2759±61 ppm, respectivamente. Todos los valores se encuentran dentro del intervalo fisiológico (3900 - 8860 ppm para el cloruro, 30 - 180 ppm para el nitrato, 1240 - 3990 ppm para el fosfato y 670 - 4520 ppm para el sulfato)^{13,14,18}. Respecto al fosfato, comentar que se puede confirmar la validez del resultado obtenido por el método espectrofotométrico (3900±118 ppm), ya que la diferencia entre los valores proporcionados por ambos métodos entra dentro del margen de error relativo (Er) del 3,5%.

PARÁMETROS ORGÁNICOS: CREATININA Y ÁCIDO ÚRICO

Parámetro orgánico creatinina:

FUNDAMENTO, TÉCNICA E INSTRUMENTACIÓN

La determinación de creatinina en orina se lleva a cabo por un método colorimétrico-cinético mediante la reacción de Jaffé^{19,20}, reacción de derivatización ilustrada en la *Figura 5-Reacción de derivatización*, donde la creatinina se hace reaccionar con el ácido pícrico en medio básico para formar un complejo rojo. La creatinina tiene en su estructura grupos cromóforos que no están conjugados, por lo que no absorbe en el visible, sino en la región del ultravioleta. En cambio, el complejo creatinina-picrato presenta numerosos grupos auxocromos y cromóforos conjugados que derivan en un desplazamiento batocrómico hacia la región del verde, entre 490 y 570 nm, pudiendo analizar el complejo por espectrofotometría UV-Vis (*Figura 5.A.*). En este estudio se trabaja con 2 mL de mezcla reactiva, a la que se añadirán 200 µL de disolución patrón o de muestra, según corresponda.

Para seleccionar la longitud de onda óptima de trabajo se utiliza radiación electromagnética entre 350 y 600 nm. Cabe destacar que el complejo no se forma inmediatamente, sigue una cinética de primer orden, por lo que es necesario realizar un control cinético de la reacción (*Figura 5.B.*). Para ello deben tomarse los valores de absorbancia a 30 y 90 segundos con el fin de minimizar los errores en la medida. La concentración de creatinina en orina se puede obtener directamente a partir de la Ecuación (1) (*Figura 5-Ecuación (1)*).

Parámetro orgánico creatinina:

RESULTADOS DEL ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Como ya se ha mencionado, para estudiar la creatinina es necesario hacer previamente un barrido para determinar la longitud de onda óptima de trabajo, obteniendo un máximo de absorción a 499 nm (*Figura 5. A*). A continuación, se lleva a cabo el estudio cinético de formación del complejo creatinina-

picrato que da como resultado una exponencial creciente. En la *Figura 5.B* se muestra la exponencial creciente de la absorbancia con respecto al tiempo y la lineal logarítmica, siguiendo una cinética de primer orden, cuya constante cinética observable, k_{obs} , presenta un valor del orden de 0,17 min⁻¹.

Para proceder al análisis es necesario hacer una dilución 1:50 a la muestra. Tras aplicar la *Ecuación (1)* de la *Figura 5* con los datos de absorbancia a 30 y 90 segundos se obtiene una concentración de creatinina en la muestra de orina del individuo femenino (22 años) de 356 ± 33 mg/dL. El valor obtenido supera el valor de referencia esperado para una persona sana, que es entre 37 y 250 mg/dL²¹ para individuos femeninos. Dado que los niveles de creatinina obtenidos superan el intervalo fisiológico se lleva a cabo un estudio comparativo con muestras de orina *random* de otros individuos: uno femenino (> 50 años) y otro masculino (20 años). El resultado obtenido para la muestra del individuo femenino (> 50 años) fue de 174±11 mg/dL, entrando en el intervalo fisiológico de una persona sana. Sin embargo, el resultado de la muestra del individuo masculino (20 años), también dio valores superiores (482±16 mg/dL) al valor de referencia, que es entre 40 y 300 mg/dl para este sexo. De estos resultados se puede concluir que, aunque tener niveles altos de creatinina en orina puede estar asociado a enfermedades renales, hay una gran variedad de factores que afectan a la

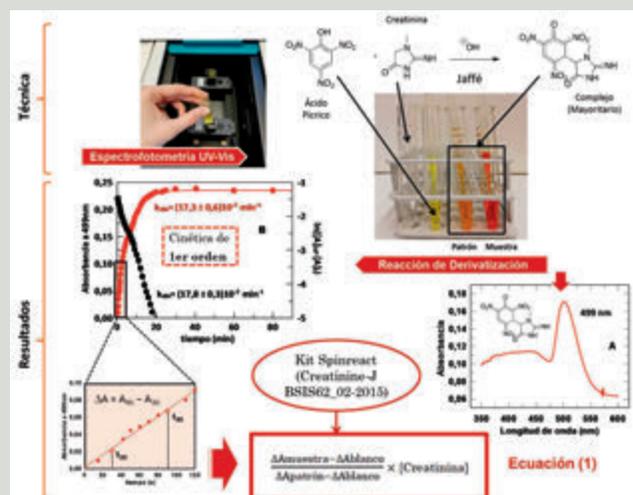


Figura 5. Procedimiento y resultados de la medida del parámetro orgánico creatinina, siguiendo el método de referencia por espectrofotometría UV-Vis. Reacción de derivatización con ácido pícrico. A) Espectro del complejo formado, con una concentración de creatinina de 2,07 mg/dL, con un máximo de absorción a 499 nm. B) Estudio cinético de la reacción de formación del complejo hasta tiempo infinito (rojo) y el correspondiente ajuste lineal de los primeros 18 minutos (negro), con un R² de 0,996. Ecuación (1) para la medida de creatinina en la muestra, donde A = absorbancia; [Creatinina] = concentración exacta del patrón de creatinina empleado durante el análisis (mg/dL).

concentración del analito, como la edad, la toma de ciertos medicamentos, el deporte y la cantidad de agua ingerida. Por todo esto, y teniendo en cuenta los valores encontrados para las muestras analizadas, se puede concluir que los niveles de creatinina en orina pueden oscilar enormemente entre individuos dependiendo de su estado físico y de sus hábitos, por lo que una concentración elevada del analito no ofrece ninguna prueba concluyente, sino que para determinar su causa habría que realizar un estudio médico-clínico más exhaustivo y el médico es el que tiene que valorar las causas.

Parámetro orgánico ácido úrico:

FUNDAMENTO, TÉCNICAS E INSTRUMENTACIÓN

Por otra parte, el análisis del ácido úrico se realiza por voltamperometría, un grupo de técnicas electroquímicas altamente selectivas debido a que cada analito posee un potencial de oxidación o reducción característico. El instrumento de medida requerido es un potencióstato/galvanostato modelo PGSTAT 30 de Metrohm® Autolab (*Figura 6-Técnicas*). Además, todo el estudio se realiza con electrodos serigrafados (SPE, del inglés Screen-Printed Electrode) debido a su diseño simple y versátil, que integra en un sustrato cerámico el electrodo de pseudo-referencia de plata, el auxiliar de grafito y el de trabajo de varios materiales (*Figura 6-Tabla estudio tipo SPE*), configurando la célula cuando se dispensa un volumen de 50 μL de disolución de forma que cubra los tres electrodos (*Figura 6-Técnicas*). Tras realizar un estudio del material de la superficie del electrodo de trabajo para determinar cuál de ellos proporciona una respuesta óptima en términos de sensibilidad y selectividad, el elegido es el de grafito modificado con nanotubos de carbono multipared (C-MWCNT) que presenta el menor potencial de pico para el ácido úrico, más selectivo, aunque no proporciona la mayor intensidad de pico (*Figura 6-Tabla estudio tipo SPE*). Cabe destacar que el SPE debe ser activado antes de cada medida para asegurar que el área activa del electrodo de trabajo sea máxima y uniforme, lo cual se consigue mediante voltamperometría cíclica (VC o CV por sus siglas en inglés, *Cyclic Voltammetry*) con una disolución de ácido sulfúrico 50 mM, durante 5 ciclos y empleando una ventana de potencial de -1,2 a 1,2 V.

En este trabajo se pretende estudiar la reacción electroquímica del ácido úrico (*Figura 6*). En ella, el compuesto se oxida a una diimina, que posteriormente sufre reordenamientos e hidrólisis hasta formar la alantoína^{22,23}. El intercambio de electrones que se produce en la reacción electroquímica produce una intensidad de corriente faradaica cuantificable, a partir de la cual se puede obtener la concentración del analito en la muestra.

Para poder estudiar la reacción electroquímica del ácido úrico se recurre a la voltamperometría cíclica (CV)²⁴. Por una parte,

permite saber si la reacción electroquímica que tiene lugar es reversible o irreversible. Por otra parte, se puede determinar si el proceso de transporte de materia está gobernado únicamente por difusión o si tiene un componente de adsorción. Para ello, se realiza el estudio de la velocidad de barrido, modificándose ésta entre 10 y 500 mV/s. La velocidad de barrido se relaciona con la intensidad de pico a través de la ecuación de Randles-Sevcik (*Figura 6-Ecuación (2)*). En primer lugar, de la *Figura 6*. A se deduce que la reacción de oxidación del ácido úrico es irreversible, ya que el pico que se observa en el barrido de ida (oxidación) no da lugar a un pico en el de vuelta (reducción). Además, según la Ecuación (2), se puede concluir que el proceso está gobernado por difusión, ya que se obtiene una respuesta lineal entre la intensidad de pico y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, tal y como predice la ecuación de Randles-Sevcik. Esto se puede corroborar con la *Figura 6 B*.

El ácido úrico puede presentar diferentes formas según el pH del medio en el que se encuentre²³. Dado que durante el análisis tiene lugar una reacción electroquímica de una molécula orgánica, el pH de la reacción debe tenerse en cuenta, ya que el intercambio de electrones va ligado a un intercambio de protones. Para saber a qué pH debe realizarse el análisis para obtener una mayor sensibilidad se hace un estudio por voltamperometría de pulso diferencial (VPD o DPV por sus siglas en inglés, *Differential Pulse Voltammetry*)²⁵ en tampón Britton-Robinson -mezcla equimolecular 40 mM de los ácidos fosfórico, bórico y acético, ajustando al pH deseado con hidróxido sódico 0,2 M- que abarca desde 2 hasta 12 unidades de pH. De esta forma se consigue mantener constante la fuerza iónica del medio en todo el intervalo de pH mencionado. A continuación se presenta el estudio del pH (*Figura 6.C*), en el que se observa que el potencial de pico del ácido úrico se desplaza hacia potenciales más negativos con el aumento del pH. Concretamente, se distinguen tres tramos lineales, de cuyos puntos de corte se pueden estimar las constantes ácido-base termodinámicas, pK_{a1} y pK_{a2} , con valores de 6,31 y 9,38, respectivamente. El tramo comprendido entre los dos pK_a tiene una pendiente de 34 mV/pH, indicativo de la pérdida de $1H^+$ y el intercambio de $H^+/2e^-$ en la reacción electroquímica. En cuanto a la intensidad de pico, la mayor sensibilidad se obtiene a pH 4 (*Figura 6. D*). Por lo tanto, el tampón más adecuado para el análisis es el tampón acético/acetato de pH 4. De este estudio se puede concluir que los valores de pK_a encontrados son próximos a los aportados por la bibliografía^{23, 25-28}, pero no iguales, ya que el pH es dependiente de la fuerza iónica del medio, por lo que, según el tampón empleado, los valores obtenidos pueden oscilar. Además, la temperatura del laboratorio donde se

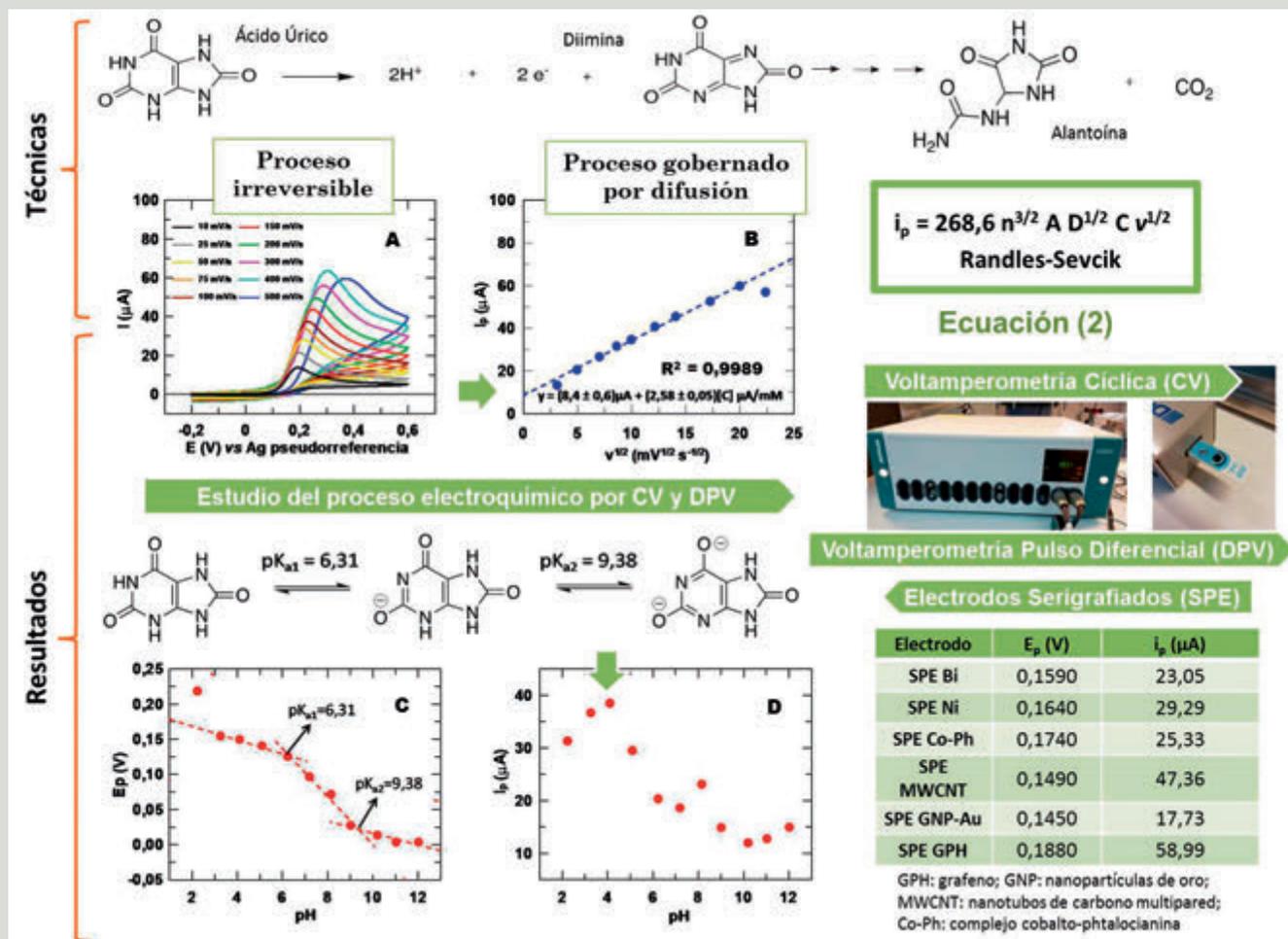


Figura 6. Técnicas y resultados del estudio del proceso electroquímico del parámetro orgánico ácido úrico por voltamperometría cíclica (CV) y voltamperometría de pulso diferencial (DPV). Reacción de oxidación electroquímica del ácido úrico. A) Estudio de la velocidad de barrido con una disolución de ácido úrico 1,494 mM en tampón acético/acetato 0,40 M a pH 4, mediante CV. Condiciones instrumentales: ventana de potencial de -0,2 a 0,6 V, de 10 a 500 mV/s, 1 scan. B) Ajuste del intervalo lineal que cumple la ecuación de Randles-Sevcik (ecuación 2), donde i_p = intensidad de pico; n = número de electrones intercambiados en la reacción electroquímica; A = área del electrodo (cm²); D = coeficiente de difusión (cm²/s); C = concentración (mol/cm³); v = velocidad de barrido (V/s). C) Representación del potencial de pico (con los valores de pKa obtenidos) y D) Representación de la intensidad de pico, obtenidos para cada valor de pH en tampón Britton-Robinson mediante DPV, con una disolución de ácido úrico 1,494 mM. Condiciones: ventana de potencial de -0,5 a 0,8 V, $v = 10$ mV/s, step = 5 mV, amplitud de pulso = 50 mV. Estudio del tipo de material del electrodo de trabajo del SPE por DPV.

lleva a cabo el estudio también influye enormemente en los resultados adquiridos. De todas formas, los resultados extraídos del estudio no se alejan demasiado de los valores bibliográficos, obteniendo un error relativo (E_r) menor del 10 y del 5% con respecto al pK_{a1} y el pK_{a2} , respectivamente.

Parámetro orgánico ácido úrico: INTERFERENCIAS

Dado que el analito se encuentra en un fluido biológico, que es la orina, y que se pretende realizar un análisis directo, deben tenerse en cuenta las interferencias presentes en ella que puedan derivar en un efecto matriz, perjudicando

el análisis. Por lo tanto, es necesario realizar un estudio de interferencias para poder estimar en qué medida le afectan al potencial e intensidad de pico del ácido úrico. Para ello, se preparan distintas disoluciones con componentes endógenos que pueden causar interferencia y/o efecto matriz, concretamente la creatinina y el colesterol (Figura 7. A y 7. B). También se emplean una serie de medicamentos para ver qué efecto produce la señal del fármaco que contienen sobre la del analito. Los fármacos elegidos para este propósito son el alprazolam, el loprazolam y la clozapina, que son los principios activos del Trankimazin®, del Somnovit® y del Leponex®,

respectivamente (Figura 7. C). Como resultado del estudio, se puede observar un desplazamiento del potencial de pico y/o una modificación en la intensidad de pico que sufre el ácido úrico en presencia de los distintos compuestos orgánicos, tanto endógenos como fármacos, lo que confirma que la presencia de otros compuestos sí afecta a la señal del analito, provocando un efecto matriz.

Parámetro orgánico ácido úrico: RESULTADOS DEL ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Una vez estudiado el proceso electroquímico que tiene lugar, el tipo de material de electrodo SPE, el medio

óptimo para llevar a cabo el análisis y el estudio de interferencias, el siguiente paso es realizar el estudio del efecto de la concentración. Dicho estudio se realiza con diez diluciones de la disolución patrón que cubren un intervalo de concentraciones entre 0,1005 y 5,025 mM. De las representaciones obtenidas (*no mostradas*) se puede concluir que sólo se obtiene una respuesta lineal hasta 1,025 mM, siguiendo la ecuación $i_p = (4 \pm 1) \mu A + (91 \pm 12) [C] \mu A/mM$. A partir de una concentración de 2 mM, aproximadamente, el analito comienza a cristalizar, de forma que se produce una disminución progresiva de la señal con el aumento

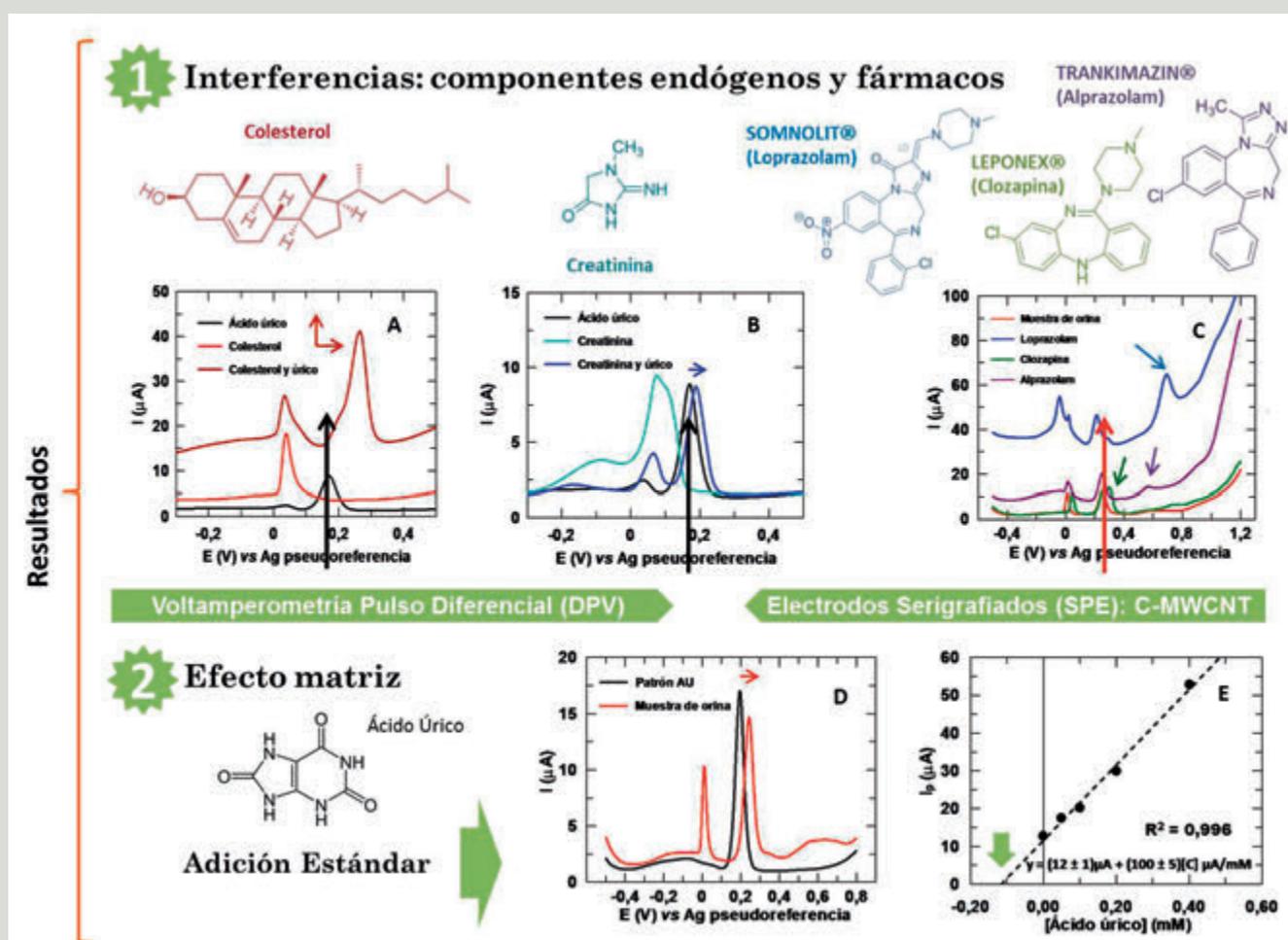


Figura 7. Estudio de interferencias con compuestos endógenos mediante DPV en tampón acético/acetato 0,40 M a pH 4. Disolución de ácido úrico 1,494 mM en negro. A) Disolución de colesterol 12,93 μM , en rojo. B) Disolución de creatinina 1,464 mM, en azul. C) Estudio de interferencias con fármacos mediante DPV en tampón acético/acetato 0,40 M a pH 4. Loprazolam 0,3442 mM en azul, clozapina 1,248 mM en verde y alprazolam 0,1210 M en morado. De los tres se han realizado las diluciones pertinentes para que su concentración sea similar a la del ácido úrico en la muestra de orina (rojo), que fue diluida 20 veces. D) Comparación del voltamperograma de un patrón de ácido úrico 0,1005 mM (negro) con una muestra de orina de 24 h diluida 20 veces (rojo). E) Ajuste lineal de la adición estándar realizada mediante DPV, la concentración añadida de ácido úrico sobre la muestra está comprendida entre 0,1005 y 0,4020 mM, con un R^2 de 0,996. Condiciones instrumentales: ventana de potencial -0,5 - 0,8 V, $v = 10$ mV/s, step = 5 mV, amplitud de pulso = 50 mV.

de la concentración. Los límites de detección, LOD, y cuantificación, LOQ, calculados fueron de $33\mu\text{M}$ y $110\mu\text{M}$, respectivamente.

Finalmente, se realiza el análisis del ácido úrico de una muestra de orina diluida 1:20 mediante DPV y por adición estándar, cuyas adiciones deben estar comprendidas dentro del intervalo lineal determinado en el estudio de la concentración anterior. De esta forma se puede minimizar el efecto matriz, que se observa claramente en la *Figura 7. D*, con el desplazamiento del pico a valores más positivos y con la disminución de su intensidad. En la *Figura 7. E* se muestra la representación y el ajuste lineal de la adición estándar aplicada, y a partir de la recta obtenida se determina la concentración del analito en la muestra por extrapolación, que es $2,3\text{ mmol/L}$, una vez considerada la dilución realizada en la muestra para su análisis. Hay que tener en cuenta que se realizó sólo una adición estándar, pero deberían hacerse, como mínimo, tres réplicas. Por lo tanto, el resultado obtenido sólo es una estimación, ya que expresar un resultado sin un margen de error no es correcto. El valor adquirido permite concluir que la concentración de ácido úrico en la muestra de orina se encuentra dentro del intervalo fisiológico ($1,5 - 4,5\text{ mmol/L}$)²⁵.

CONCLUSIONES

Como se ha mostrado en este trabajo, el análisis instrumental es de vital importancia en el campo del análisis clínico, ya que sin él no sería posible llevar a cabo la determinación de las diferentes especies presentes en nuestro organismo. La orina es la matriz compleja elegida para realizar los análisis pertinentes, ya que puede aportar gran cantidad de información clínica debido a que es el fluido de desecho por excelencia. Además, el tratamiento de muestra no es complejo y se puede llevar a cabo el análisis directo por el empleo de técnicas selectivas o, en su caso, por el uso de reacciones de derivatización. Los componentes endógenos presentes en la orina pueden dar lugar a un efecto matriz, que se resuelve realizando el análisis por adición estándar. Se puede decir que los resultados obtenidos son comparables a los proporcionados por un laboratorio de análisis acreditado, ya que se han seguido métodos oficiales, demostrando precisión y exactitud en condiciones de repetibilidad y extrayendo de ellos valores de los parámetros analizados (pH, conductividad, sodio, potasio, fosfato, cloruro, nitrato, sulfato, creatinina y ácido úrico) que se encuentran dentro de los intervalos fisiológicos esperados en una persona sana. En la *Figura 8* se muestra un modelo de informe técnico que recoge los resultados de los parámetros clínicos encontrados en este trabajo.

Además, se han abordado con éxito los siguientes hitos:



Figura 8. Modelo de informe técnico para la presentación de los resultados. Los nombres que aparecen en el informe son ficticios, excepto el de la analista, Sara Caruncho-Pérez, ejecutora del presente trabajo con la colaboración de Ana M. Prado-Comesaña.

- Búsqueda bibliográfica para conocer el estado del arte y manejo de bases de datos.
- Elección de la técnica analítica más adecuada (espectroscópica, no espectroscópica, eléctrica o de separación) en base al analito y su concentración en la muestra.
- Comprensión del procedimiento en la aplicación de las técnicas elegidas.
- Manejo adecuado de los equipos e instrumentos.
- Correcta calibración del equipo de medida.
- Optimización y validación de métodos de análisis.
- Tratamiento de muestra más adecuado según la especie a analizar y la técnica seleccionada.
- Tratamiento de los datos obtenidos, así como una discusión crítica de éstos.
- Conocimiento y manejo del estudio quimiométrico como apoyo indispensable al tratamiento de datos.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras hacen un agradecimiento personal a las personas que ayudaron, desinteresadamente, durante el desarrollo de este trabajo: Carmen Terán, Ezequiel Vázquez, Benita Pérez, Fran Pena y Pepe Lamas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Shrivastav, T. G. History and development of analytical chemistry in life sciences with reference to immunoassay in medicine. *Heal. Popul. Perspect. Issues* 25, 140-147 (2002).
2. Brown, A. W.; Kaiser, K. A., & Allison, D. B. Issues with data and analyses: Errors, underlying themes, and potential solutions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, 2563-2570 (2018).
3. Barradas, J., & Sampaio, P. ISO 9001 and ISO 17025 standards in a metrology laboratory. *Emerald Publ. Ltd.* (2011).
4. Rose, C.; Parker, A.; Jefferson, B., & Cartmell, E. The characterization of feces and urine: A review of the literature to inform advanced treatment technology. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 45, 1827-1879 (2015).
5. Keyfi, F.; Lukacs, Z., & Varasteh, A. A description of reference ranges for organic acids in urine samples from a pediatric population in Iran. *Reports Biochem. Mol. Biol.* 6, 39-49 (2017).
6. Berenguer, J. *et al.* Development and validation of a prediction model for 30-day mortality in hospitalised patients with COVID-19: The COVID-19 SEIMC score. *Thorax* 1-10 (2021) doi:10.1136/thoraxjnl-2020-216001.
7. Borgen, J., & Romslo, I. Lysozyme determined in serum or urine by a simple nephelometric method. *Clin. Chem.* 23, 1599-1601 (1977).
8. Cook, J. D.; Strauss, K. A.; Caplan, Y. H.; LoDico, C. P., & Bush, D. M. Urine pH: The effects of time and temperature after collection. *J. Anal. Toxicol.* 31, 486-496 (2007).
9. Yaxley, J. Alkalinisation of Urine in Patients with Infections of the Urinary Tract. *Br. J. Med. Med. Res.* 13, 1-4 (2016).
10. Fazil Marickar, Y. M. Electrical conductivity and total dissolved solids in urine. *Urol. Res.* 38, 233-235 (2010).
11. Chikhale, H. U., & Chikhale, P. U. Flame Photometric Estimation of Sodium and Potassium Ion Present In Water Sample of Darna and Godavari River. *Int. J. Sci. Eng. Res.* 8, 131-136 (2017).
12. Christopher, M. M.; Belknap, E. B.; Meyer, D. J.; Lackey, M. N., & Vap, L. M. Comparison of methods for sodium and potassium determination in llama urine. *Am. J. Vet. Res.* 57, 25-30 (1996).
13. Hospital Universitario Central de Asturias, Clínica, S. de B. & Pruebas, B. de Biblioteca de pruebas Cartera de Servicios. vol. 2010 <http://www.laboratoriomedicina-huca.es/es/catalogo-pruebas> (2006).
14. Holdings.Test, L. C. of A. Find the right test for your Browse Tests by Name. <https://www.labcorp.com/test-menu/search>.
15. García, J., & Ballesteros, M. I. Evaluación de los parámetros de calidad para la determinación de fósforo disponible en suelos. *Rev. Colomb. Química.* 35, 81-89 (2006).
16. Pradhan, S. and & Pokhrel, M. R. Spectrophotometric Determination of Phosphate in Sugarcane Juice, Fertilizer, Detergent and Water. *Sci. World.* 11, 58-62 (2013).
17. Shatalov, A. A.; Evtuguin, D. V., & Pascoal Neto, C. Cellulose degradation in the reaction system O₂/heteropolyanions of series [PMo(12-n)VnO₄₀ (3+n)-. *Carbohydr. Polym.* 43, 23-32 (2000).
18. Phuong Nhi Bories & Bories, C. Nitrate determination in biological fluids by an enzymatic one-step assay with nitrate reductase. *Clin. Chem.* 41, 904-907 (1995).
19. Blass, B. K. G.; Thibert, R. J., & Lam, K. A Study of the Mechanism of the Jaffe Reaction. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 12, 336-343 (1974).
20. Ohkura, K. K. Y. T. M. Y. Y. Mechanism of the Color Reaction of Active Methylene Compounds with 1,3,5-Trinitrobenzene Derivatives. XI) The Jaffé Reaction. *Chem. Pharm. Bull.* 27, 2122-2129 (1979).
21. Urine Creatinine/Interpretation and THC/Creatinine ratios. *Redwood Toxicology Laboratory.* 1-4 (2017).
22. Dryhurst, G. Electrochemical Oxidation of Uric Acid and Xanthine at the Pyrolytic Graphite Electrode. *J. Electrochem. Soc.* 119, 1659-1664 (1972).
23. Goyal, R. N.; Mittal, A., & Agarwal, D. Electrochemical oxidation and kinetics of the decay of UV-absorbing intermediate of uric acid oxidation at pyrolytic graphite electrodes. *Can. J. Chem.* 72, 1668-1674 (1994).
24. Elgrishi, N. *et al.* A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* 95, 197-206 (2018).
25. Dos Reis, A. P.; Tarley, C. R. T., & Kubota, L. T. Micelle-mediated method for simultaneous determination of ascorbic acid and uric acid by differential pulse voltammetry. *J. Braz. Chem. Soc.* 19, 1567-1573 (2008).
26. Simic, M. G., & Jovanovic, S. V. Antioxidation mechanisms of uric acid. *J. Am. Chem. Soc.* 111, 5778-5782 (1989).
27. Chong, D. P. Theoretical Study of Uric Acid and its Ions in Aqueous Solution. *J. Theor. Comput. Sci.* 1, 1-7 (2013).
28. Smith, R. C.; Gore, J. Z.; McKee, M., & Hargis, H. The first dissociation constant of uric acid. *Microchem. J.* 38, 118-124 (1988).

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS DE ALTO VALOR NUTRICIONAL A PARTIR DE PRODUCTOS DE DESECHO RESULTANTES DE LA COMERCIALIZACIÓN DE CHIPIRÓN (*Loligo gahi*)

Santiago P. Aubourg*, Marcos Trigo, M^a Jesús González, Salomé Lois e Isabel Medina

Instituto de Investigaciones Marinas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Vigo.

1. LAS ESPECIES MARINAS Y SUS PRODUCTOS DE DESECHO

La gran diversidad química y biológica observada en las especies marinas las hace especialmente atractivas como fuente de constituyentes de alto valor al objeto de ser empleadas en numerosas aplicaciones (Blanco y otros, 2007). Entre tales constituyentes se pueden citar proteínas de alto valor nutritivo y de gran digestibilidad, vitaminas liposolubles, minerales esenciales y ácidos grasos altamente insaturados (Tilami y Sampels, 2018). En concreto, los lípidos marinos son a día de hoy un objetivo de gran importancia debido a su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de la serie ω 3, los cuales, han demostrado un papel positivo relevante en la lucha contra determinadas enfermedades humanas (Minihane y otros, 2016; Schunck y otros, 2018).

La pesca y la acuicultura juegan un papel importante en el desarrollo de la sociedad humana. A día de hoy, la producción anual de productos marinos contribuye en más de 170 millones de toneladas de productos marinos en todo el mundo (FAO, 2018). Sin embargo, solamente un 50-60% del total de las capturas es usado para consumo directo humano, siendo el procesado de productos marinos considerado como una de las principales fuentes de productos de desecho (cabezas, sangre, vísceras, piel, colas, etc.). (Ezquerro-Brauer y Aubourg, 2019). Consiguientemente, se obtiene un volumen nada despreciable de productos no deseados, constituyendo una fuente de contaminación para el medio ambiente, a no ser que se hagan notables esfuerzos para su aprovechamiento (Atef

y otros, 2017) y su valor comercial pueda ser incrementado (Rustad y otros, 2011).

Asimismo, es sabido que los subproductos del procesamiento de la industria pesquera son fuentes valiosas de componentes tales como proteínas, ácidos grasos insaturados de la serie ω 3, pigmentos, vitaminas, minerales y enzimas (Arvanitoyannis y Kassaveti, 2008). Por ello, estos residuos deberían ser recuperados y aprovechados de forma eficiente, no solo para reducir el impacto ambiental que generan, sino por su potencial inclusión en alimentos, fármacos y otros tipos de productos en acuicultura, agricultura e industria en general. Así, se podrían convertir en coproductos de manera que llegasen a representar un campo de inversiones rentables (Shahidi, 2006).

Entre las distintas especies marinas, los cefalópodos constituyen un grupo biológico altamente interesante debido a su valor nutricional en la salud humana, por su significado comercial y por su gran aceptación por parte del consumidor a nivel mundial (Torrinha y otros, 2014). Entre las especies de cefalópodos, ha adquirido gran interés comercial el chipirón patagónico (*Loligo gahi* o *Loligo patagonica*). Esta especie nerítica se encuentra ampliamente distribuida a lo largo de la costa del sur de América, tanto atlántica (desde el golfo de San Matías hasta Tierra de Fuego, Argentina) como pacífica (desde el Sur de Perú hasta el Sur de Chile) (FAO, 2021). Este tipo de calamar es de pequeño tamaño (10-15 cm), oscilando su peso entre 75 y 150 g, y perteneciente a la familia *Loliginidae*.

2. PRESENTACIÓN DEL ESTUDIO

El presente estudio se centra en la extracción de constituyentes lipídicos con propiedades nutritivas y saludables a partir de desechos de esta especie de chipirón. Los productos de desecho, considerados de forma conjunta, son analizados a nivel de los siguientes parámetros: contenido lipídico, composición en clases o grupos de lípidos (fosfolípidos, esteroides, triglicéridos, ácidos grasos libres y tocoferoles) y perfil de ácidos grasos a nivel individual (análisis cualitativo y cuantitativo), a nivel de grupos (saturados, monoinsaturados y poliinsaturados) y a nivel de relaciones de grupos de ácidos (poliinsaturados/saturados y $\omega 3/\omega 6$). El empleo de productos de desecho en su totalidad se escogió por considerarse lo más práctico y comercialmente más interesante al no requerir un tratamiento o manipulación previa al objeto de llevar a cabo la separación de distintas fracciones (piel, vísceras, tentáculos, etc.). Asimismo, el estudio se llevó a cabo en piezas obtenidas a lo largo de un año, en concreto, en tiempos correspondientes a las cuatro estaciones del año.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Los productos de desecho de chipirón fueron facilitados por la empresa SERPESBA S.L.U. (Vigo, España). El cefalópodo fue obtenido en las cercanías de la costa argentina en el suroeste del océano Atlántico en los tiempos de verano (febrero), otoño (mayo), invierno (agosto) y primavera (noviembre) correspondientes al hemisferio Austral. Las muestras fueron transportadas en congelación a España. Una vez procesadas, los productos de desecho fueron transportados a nuestro laboratorio. En cada tiempo de muestreo, se consideraron tres lotes distintos de sub-productos de manera que el estudio se llevó a cabo por triplicado ($n = 3$).

La extracción lipídica se realizó de acuerdo con el método de Bligh y Dyer (1959), basado en una extracción en una mezcla monofásica de cloroformo-metanol. El contenido en fosfolípidos (FL) se midió mediante el procedimiento propuesto por Raheja y otros (1973), basado en la formación de un complejo entre el fósforo orgánico y molibdato amónico. En el caso de los esteroides (ES), este grupo lipídico se determinó a partir del método de Huang y otros (1961), basado en la reacción de Liebermann-Buchardt. El contenido en ácidos grasos libres (AGL) se determinó siguiendo el método de Lowry y Tinsley (1976), basado en la formación de un complejo con acetato cúprico y piridina.

Al objeto de cuantificar la presencia de triglicéridos (TG), se sometió el extracto lipídico a una cromatografía en capa fina (20 x 20 cm) al objeto de extraer los TG del extracto lipídico total. Posteriormente, la determinación del contenido de TG fue

realizada de acuerdo con el método de Vioque y Holman (1962), basado en la conversión de ésteres en ácidos hidroxámicos y la subsiguiente formación de un complejo con Fe (III).

El análisis de tocoferoles se llevó a cabo mediante el método propuesto por Cabrini y otros (1992). Para ello, los desechos de chipirón fueron extraídos con hexano y sometidos a separación por cromatografía líquido-líquido. Se estudió la presencia de distintos tipos de tocoferoles (α , β , γ y δ).

Al objeto de analizar la composición en ácidos grasos (AG) del extracto lipídico total, estos extractos fueron transmetilados mediante la adición de cloruro de acetilo, y posteriormente sometidos a una separación por cromatografía de gas-líquido (Álvarez y otros, 2009). Los picos obtenidos fueron identificados por comparación con patrones comerciales de tipo estándar y la cuantificación se llevó a cabo utilizando el ácido C19:0 como patrón interno. Asimismo, se calcularon los contenidos en ácidos grasos saturados (AGST), monoinsaturados (AGMI), AGPI, AGPI de las series $\omega 3$ (AGPI $\omega 3$) y $\omega 6$ (AGPI $\omega 6$) y las relaciones entre distintos grupos de ácidos como AGPI/AGST y AGPI $\omega 3$ /AGPI $\omega 6$.

Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza de una vía (ANOVA ($p < 0.05$)) al objeto de investigar el efecto de la estación del año.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. 1. Contenido en lípidos

El contenido lipídico estuvo incluido en todos los casos en el intervalo 17-22 g/kg de productos de desecho. Los valores lipídicos encontrados son mayores que los observados en partes comerciales de especies de cefalópodos en general (Piclet, 1987; Sieiro y otros, 2006). La comparación entre tiempos de captura indicó un incremento en valores medios de acuerdo con la siguiente secuencia: verano < otoño < invierno < primavera. Así, las muestras correspondientes a invierno y primavera reflejaron valores superiores ($p < 0.05$) a las correspondientes de verano y otoño.

4. 2. Contenido en clases de lípidos

El grupo de FL resultó ser la más abundante, con valores incluidos en el intervalo 359-464 g/kg lípidos (Figura 1). Se observó una tendencia decreciente en el valor medio desde invierno hasta otoño; así, estas dos estaciones proporcionaron los valores mayores y menores ($p < 0.05$), respectivamente. Los FL han demostrado ser fundamentales por su papel estructural durante el periodo vital de los seres vivos en general, siendo considerados como constituyentes fundamentales de las

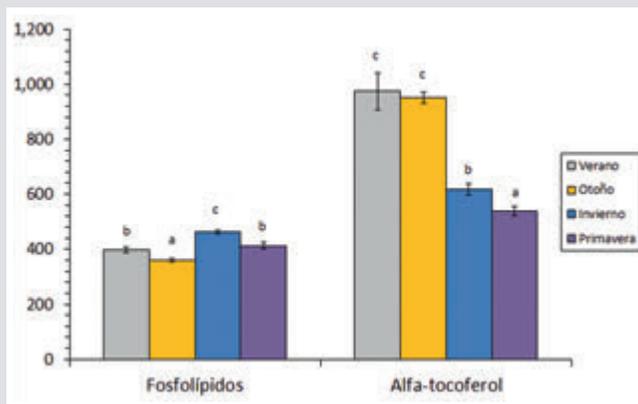


Figura 1: Contenido en fosfolípidos (g/kg lípidos) y α -tocoferol (mg/kg lípidos) en productos de desecho resultantes de la comercialización de chipirón*.

* Valores medios de tres replicados (n = 3) acompañados de distintas letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre estaciones.

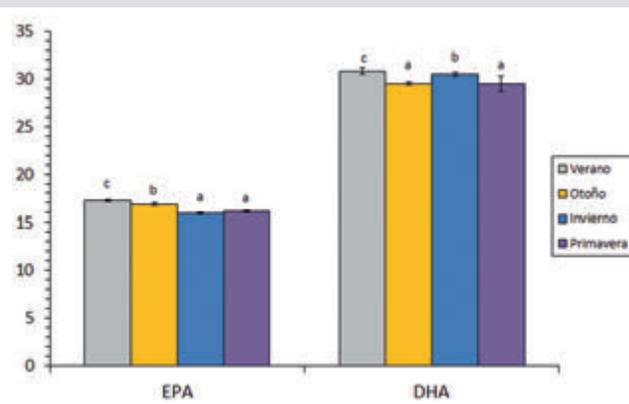


Figura 2: Contenido en los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) (g/100 g de ácidos grasos totales) en productos de desecho resultantes de la comercialización de chipirón*.

* Valores medios de tres replicados (n = 3) acompañados de distintas letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre estaciones.

membranas celulares. Además, y sobre la base de su carácter anfipático, los FL han atraído una gran atención como posibles sistemas portadores de componentes activos, por su papel como componentes bioactivos y su efecto protector en distintos tipos de enfermedades (Li y otros, 2015). A nivel de composición, es de especial importancia la presencia en contenido alto de los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA).

El contenido en ES de las distintas muestras reflejó valores muy parecidos entre las distintas muestras, estando incluidos todos ellos en el rango 115-132 g/kg lípidos. Tomando en cuenta los valores medios, la comparación entre muestras de distintas estaciones reveló un valor decreciente desde verano a primavera. Por tanto, su tendencia resultó ser inversa al contenido en lípidos totales. Esta relación inversa, de acuerdo con estudios previos, ha sido justificada sobre la base de que esta clase lipídica tiene un papel funcional y estructural en los seres vivos en general, al igual que los FL (Piclet, 1987; Barbosa y otros, 2018).

La clase de TG resultó la menos abundante de las clases analizadas. Sus valores oscilaron en el rango 10-13 g/kg lípidos. La comparación entre muestras indicó un incremento en los valores medios desde verano a primavera. Así, los valores encontrados en invierno y primavera fueron superiores a los de verano y otoño. Consiguientemente, se detectó una tendencia similar a la de los lípidos totales. Este resultado concuerda con estudios previos llevados a cabo en fracciones comestibles de especies marinas (Piclet, 1987; Barbosa y otros, 2018).

En comparación con los valores encontrados en fracciones comestibles de cefalópodos y especies marinas en general,

los valores encontrados para los AGL (157-282 g/kg lípidos) pueden considerarse como relativamente altos (Piclet, 1987; Álvarez y otros, 2009). Estos valores altos pueden justificarse por la actividad de enzimas de tipo lipasas o fosfolipasas, de conocida abundancia en las vísceras de especies marinas (Sieiro y otros, 2006; Aubourg y otros, 1999). El contenido en AGL dependería de la acción metabólica in vivo de este tipo de enzimas sobre moléculas lipídicas de mayor peso molecular tales como TG y FL. En el presente estudio, la comparación entre muestras de distintas estaciones reflejó un valor medio creciente desde invierno hasta otoño, siendo ésta una tendencia opuesta a la encontrada para los TG.

El análisis cualitativo de tocoferoles reveló únicamente la presencia de tocoferol, de acuerdo con estudios previos llevados a cabo en especies marinas de posición elevada en la escala evolutiva y alimentada por dietas naturales (Piclet, 1987; Álvarez y otros, 2009; Barbosa y otros, 2018). Los valores de este antioxidante endógeno (vitamina E) se mostraron incluidos en el rango 540-973 mg/kg lípidos (Figura 1). La mayor presencia ($p < 0.05$) se observó en las muestras de verano y otoño, mientras que la menor ($p < 0.05$) fue detectada en los productos de desecho correspondientes a la primavera. Sobre la base de los valores medios, se observó una tendencia decreciente desde verano hasta primavera, una tendencia similar a los ST y opuesta al contenido lipídico total y de TG.

4.3. Composición de ácidos grasos (AG)

El análisis cualitativo de AG resultó muy similar al de las partes comestibles de cefalópodos y especies marinas en general, con una amplia variedad en AGPI, AGMI y AGST

(Piclet, 1987; Sieiro y otros, 2006; Barbosa y otros, 2018). Desde un punto de vista cuantitativo, el ácido más abundante fue el DHA (30-31 g/100 g AG totales; Figura 2), seguido del C16:0 y del EPA (Figura 2). Otros ácidos relevantes por su presencia fueron: C20:1 ω 9, C18:0, C18:1 ω 9, C14:0, C20:4 ω 6 y C18:1 ω 7.

El análisis por grupos de AG reveló que el más abundante era el de AGPI (51-53 g/100 g AG totales). La comparación entre muestras indicó un valor medio creciente desde otoño hasta verano. El grupo de AGST mostró valores incluidos en el rango 32-35 g/100 g AG totales, indicando este grupo una tendencia creciente para los valores medios desde primavera hasta otoño. Finalmente, el grupo de AGMI fue el menos abundante con niveles incluidos en el rango 14-17 g/100 g AG totales, con tendencia creciente de sus valores medios desde verano hasta primavera.

Recientemente se presenta mucha atención al contenido en ácidos de la serie ω 3. Como consecuencia de una gran presencia de los ácidos DHA y EPA (Figura 2), los valores detectados en este estudio para ácidos insaturados de la serie ω 3 estuvieron incluidos en el rango 47-49 g/100 g AG totales. El contenido en este grupo de ácidos insaturados reflejó una tendencia creciente desde otoño hasta verano.

Asimismo, se presenta gran atención en la actualidad a distintas relaciones del contenido en diversos grupos de AG. Una de ellas es la relación AGPI/AGST, de acuerdo con su importante incidencia en el nivel de colesterol en sangre (Simopoulos, 2002). En este estudio, los valores de esta relación estuvieron incluidos en el rango 1.4-1.6. Es de destacar que los valores encontrados para primavera y verano fueron superiores ($p < 0.05$) a los correspondientes de otoño e invierno.

Es sabido que en la mayoría de los países occidentales no se consumen actualmente adecuados niveles de ácidos de la serie ω 3. Por ello, se le otorga una gran atención a la relación ω 3/ ω 6 de los alimentos incluidos en la dieta humana (Uauy y Valenzuela, 2000). Al objeto de prevenir desórdenes inflamatorios, cardiovasculares y neurológicos, la Organización Mundial de la Salud (WHO) recomienda actualmente que la mencionada relación no sea inferior a 1:10 (Kumari y otros, 2013). Asimismo, la Sociedad Nutricional Europea indica que un valor para esta relación de 1:5 o superior debe llevar a importantes beneficios para la salud (Simopoulos, 2002). En el estudio presente, los valores obtenidos se incluyeron en todos los casos en el rango 12-13, similar al obtenido en tejidos comestibles de especies marinas tales como besugo (*Pagellus bogaraveo*) y gallo (*Lepidorhombus whiffiagonis*) (Álvarez y otros, 2009; Barbosa y otros, 2018). Por tanto, estos valores pueden considerarse como altamente positivos para el consumo humano.

5. CONCLUSIONES

Este estudio proporciona una primera aproximación a la composición lipídica de los productos de desecho de chipirón como fuente válida de constituyentes lipídicos saludables para la dieta humana. Ha sido de destacar el alto contenido encontrado para la fracción de FL, para moléculas como α -tocoferol, DHA y EPA, y para ácidos grasos insaturados de la serie ω 3. Además, se observaron valores altamente saludables para relaciones entre distintos grupos de ácidos grasos tales como AGPI/AGST y ω 3/ ω 6.

El estudio estacional reflejó diferencias sustanciales entre las distintas épocas de captura a nivel del contenido de estos constituyentes. Sin embargo, los valores encontrados en las muestras estudiadas indicaron en todos los casos (en las distintas estaciones) que estos desechos pueden considerarse como fuentes apropiadas de constituyentes lipídicos altamente nutritivos y saludables para la dieta humana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Álvarez, V., Medina, I., Prego, R., and Aubourg, S. P. (2009). Lipid and mineral distribution in different zones of farmed and wild blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 957-966.
2. Arvanitoyannis, I. S., and Kassaveti, A. (2008). Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 726-745.
3. Atef, M., and Ojagh, M. (2017). Health benefits and food applications of bioactive compounds from fish byproducts: A review. *Journal of Functional Foods*, 35, 673-681.
4. Aubourg, S. P., Rey-Mansilla, M., and Sotelo, C. G. (1999). Differential lipid damage in various muscle zones of frozen hake (*Merluccius merluccius*). *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 208, 189-193.
5. Barbosa, R. G.; Trigo, M.; Prego, R.; Fett, R., and Aubourg, S. P. (2018). The chemical composition of different edible locations (central and edge muscles) of flat fish (*Lepidorhombus whiffiagonis*). *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 271-281.
6. Blanco, M.; Sotelo, C. G.; Chapela, M^a. J., and Pérez-Martín, R. I. (2007). Towards sustainable and efficient use of fishery resources: present and future trends. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 29-36.
7. Bligh, E., and Dyer, W. (1959). A rapid method of total extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
8. Cabrini, L.; Landi, L.; Stefanelli, C.; Barzanti, V., and Sechi, A. (1992). Extraction of lipid and lipophilic antioxidants from fish tissues: A comparison among different methods. *Comparative Biochemistry and Physiology. Biochemistry and Molecular Biology*, 101, 383-386.
9. Ezquerra-Brauer, J. M., and Aubourg, S. P. (2019). Recent trends for the employment of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) by-products as a source of bioactive compounds with nutritional, functional and preservative applications: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 987-998.
10. FAO. *El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: Rome, Italy. 2018; pp. 1-110.
11. FAO. Food and Agricultural Organisation of the United Nations. Fishery Division. Species Fact Sheets. *Loligo gahi* (Orbigny, 1835). 2021. www.fao.org/fishery/species/2713/en.
12. Huang, T.; Chen, C.; Wefler, V., and Raftery, A. (1961). A stable reagent for the Liebermann-Buchardt reaction. *Analytical Chemistry*, 33, 1405-1407.
13. Kumari, P.; Kumar, M.; Reddy, C. R., and Jha, B. (2013). Algal lipids, fatty acids and sterols. In *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*. Editora: H. Domínguez. Woodhead Publishing: Cambridge, UK, pp. 87-134.
14. Li, J.; Wang, X.; Zhang, T.; Huang, Z.; Luo, X., and Deng, Y. (2015). A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 81-98.
15. Lowry, R. and Tinsley, I. (1976). Rapid colorimetric determination of free fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 53, 470-472.
16. Minihane, A.; Armah, C.; Miles, E.; Madden, J.; Clark, A.; Caslake, M., and Calder P. (2016). Consumption of fish oil providing amounts of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid that can be obtained from the diet reduces blood pressure in adults with systolic hypertension: A retrospective analysis. *Journal of Nutrition*, 146, 516-523.
17. Piclet, G. (1987). Le poisson aliment. Composition-Intérêt nutritionnel. *Cahiers de Nutrition et Diététique*, XXII, 317-335.
18. Raheja, R.; Kaur, C.; Singh, A., and Bhatia, A. (1973). New colorimetric method for the quantitative determination of phospholipids without acid digestion. *Journal of Lipid Research*, 14, 695-697.
19. Rustad, T.; Storro, I., and Slizyte, R. (2011). Possibilities for the utilisation of marine by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 2001-2014.
20. Schunck, W.; Konkel, A.; Fischer, R., and Weylandt, K. (2018). Therapeutic potential of omega-3 fatty acid-derived epoxy eicosanoids in cardiovascular and inflammatory diseases. *Pharmacology and Therapeutics*, 183, 177-204.
21. Shahidi, F. (2006). *Maximising the Value of Marine By-Products*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 532 pp.
22. Sieiro, M. P.; Aubourg, S. P., and Rocha, F. (2006). Seasonal study of the lipid composition in different tissues of the common octopus (*Octopus vulgaris*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, 479-487.
23. Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 56, 365-379.
24. Tilami, S. K., and Sampels, S. (2018). Nutritional Value of Fish: Lipids, Proteins, Vitamins, and Minerals. *Reviews in Fisheries Science*, 26, 242-253.
25. Torrinha, A.; Gomes, F.; Oliveira, M.; Cruz, R.; Mendes, E.; Delerue-Matis, C.; Casal, S., and Morais, S. (2014). Commercial squids: Characterization, assessment of potential health benefits/risks and discrimination based on mineral, lipid and vitamin E concentrations. *Food Chemistry and Toxicology*, 67, 44-56.
26. Uauy, R., and Valenzuela, A. (2000). Marine oils: The health benefits of n-3 fatty acids. *Nutrition*, 16, 680-684.
27. Vioque, E., and Holman, R. (1962). Quantitative estimation of esters by thin-layer chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 39, 63-66.

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FAGOCITOSIS Y RESISTENCIA DE CEPAS DEL GÉNERO ACANTHAMOEBA, CABALLOS DE TROYA DE BACTERIAS

Isaac Pérez Maquieira, Raúl Iglesias Blanco, Cristina Arias Fernández

Laboratorio de Parasitología. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología, Universidade de Vigo.

RESUMEN

Las amebas del género *Acanthamoeba* son protozoos ampliamente distribuidos capaces de vivir de forma libre o como parásitos facultativos responsables de enfermedades humanas graves, como la encefalitis amebiana granulomatosa (EAG) o la queratitis amebiana (QA). A nivel ecológico, estas amebas juegan un papel importante al alimentarse de bacterias mediante fagocitosis. Sin embargo, algunos de estos microorganismos son capaces de resistir e incluso multiplicarse en su interior, lo que convierte a *Acanthamoeba spp.* en un reservorio ambiental o en un vehículo de transmisión altamente resistente a las condiciones del medio y a los tratamientos de desinfección. Por este motivo, en el presente trabajo se evaluó la capacidad de *A. castellanii* y *A. polyphaga* para fagocitar diferentes poblaciones bacterianas y resistir a tratamientos térmicos y de desinfección con etanol. Los resultados mostraron que todas las cepas bacterianas testadas fueron digeridas por las amebas a excepción de *Pseudomonas aeruginosa*, la cual se multiplicó en el interior de *Acanthamoeba spp.* provocando su lisis. En cuanto a los tratamientos evaluados, ninguna de las especies mostró supervivencia por encima de 37°C por lo que no son potencialmente patógenas, sin embargo, su susceptibilidad frente al etanol dependió de la concentración utilizada y el tiempo de exposición.

Palabras clave: *Acanthamoeba*, Fagocitosis, Bacterias resistentes, Etanol, Termotolerancia.

INTRODUCCIÓN

Las amebas de vida libre (AVL) son un grupo de protistas aerobios, mitocondriales y eucariotas ampliamente distribuidos en la naturaleza y el entorno humano (Arias y Paniagua, 1992; Visvesvara *et al.*, 2007; Król-Turmińska & Olender, 2017). Se han encontrado en suelos, aguas superficiales dulces y saladas (ríos, arroyos, lagos, mares, etc.), aguas residuales, piscinas, aguas embotelladas, en el polvo, en sistemas de ventilación, en unidades de diálisis y de tratamiento dental e incluso en lentes de contacto y soluciones oftálmicas (Trabelsi *et al.*, 2012; Gallegos *et al.*, 2014; Carbal *et al.*, 2016). Estos microorganismos también han sido denominados como amebas anfitriónicas, dada su capacidad para vivir de forma libre en el ambiente externo (exozoico) y como parásitos facultativos en los tejidos de animales y seres humanos (endozoico) (Oddó, 2006; Visvesvara *et al.*, 2007).

Dentro de este grupo de amebas, el género *Acanthamoeba*, es el que presenta un mayor número de especies. Hasta la fecha se han identificado más de 24 especies de *Acanthamoeba* en base a criterios morfológicos, las cuales se clasifican en tres grupos establecidos por Pussard y Pons en 1977 en función de las diferencias en el tamaño y en la morfología de sus quistes (Visvesvara, 1991; Trabelsi *et al.*, 2012; Rodrigo, 2014):

El género *Acanthamoeba spp.* es responsable de enfermedades humanas como la encefalitis amebiana granulomatosa (EAG) y de infecciones cutáneas, nasofaríngeas, pulmonares y renales que afectan fundamentalmente a personas inmunodeprimidas (Trabelsi *et al.*, 2012). La ruta de infección

incluye principalmente el tracto respiratorio superior y las lesiones cutáneas, seguido de la diseminación hematogena y la llegada al sistema nervioso central o a otros tejidos. Aunque el número de casos reportados en todo el mundo es bajo, la infección casi siempre es fatal debido a la dificultad y el retraso en el diagnóstico y a la falta de una terapia óptima. De forma adicional, las amebas de este género también causan queratitis amebiana en personas inmunocompetentes, la cual se suele asociar a un microtrauma ocular, exposición a agua contaminada o un manejo inadecuado de las lentes de contacto (Balczun & Scheid, 2017).

Por todo ello en este trabajo nos hemos planteado los siguientes objetivos:

Estudio comparativo de las necesidades nutricionales de las cepas de AVL objeto de estudio, *Acanthamoeba polyphaga*, aislada del río Lagares y *Acanthamoeba castellanii*, aislada del río Verdugo.

Estudio de termotolerancia de las cepas de *Acanthamoeba* utilizadas y comprobación de su posible variación en las cepas de *Acanthamoeba polyphaga* aisladas en el año 2018 y que están mantenidas en el laboratorio por resiembras sucesivas.

Estudio del grado de resistencia de las especies del género *Acanthamoeba* a tratamientos con etanol a diferentes concentraciones y tiempos de exposición.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron cepas de *A. polyphaga* y *A. castellanii* aisladas en 2018 a partir de muestras de agua de los ríos Lagares y Verdugo respectivamente. Posteriormente, se mantuvieron en el laboratorio mediante resiembras periódicas en placas de Petri con agar no nutritivo (ANN) al 2 % en agua destilada y se alimentaron con una suspensión de *E. coli* muertas por calor en autoclave (121 °C / 15 minutos).

Los datos de bacterias heterótrofas mesófilas (B.H.M.) y enterobacterias presentes en el momento de la recogida de las muestras de agua de los ríos Lagares y Verdugo fueron los siguientes:

- Río Lagares, en la depuradora 1390 B.H.M. (UFC/ml) y 16 Enterobacterias (UFC/ml) y antes de la depuradora 12200 B.H.M. (UFC/ml) y 212 Enterobacterias (UFC/ml).
- Río Verdugo, en la depuradora 1460 B.H.M. (UFC/ml) y 21 Enterobacterias (UFC/ml) y antes de la depuradora 11400 B.H.M. (UFC/ml) y 314 Enterobacterias (UFC/ml).

Para el estudio de la capacidad de fagocitosis de las especies de *Acanthamoeba* utilizadas se emplearon diversas especies bacterianas cedidas amablemente por la Dra. M^a del Pilar Combarro Combarro de la Facultad de Biología de la Universidad de Vigo, cuyas características se recogen en la *Tabla 1*.

Microorganismo	Grupo	Gram	Esporulación	A/An *
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Bacteria	Negativo	No esporulado	Anaerobio facultativo
<i>Escherichia coli</i>	Bacteria	Negativo	No esporulado	Anaerobio facultativo
<i>Klebsiella sp.</i>	Bacteria	Negativo	No esporulado	Anaerobio facultativo
<i>Shigella sp.</i>	Bacteria	Negativo	No esporulado	Anaerobio facultativo
<i>Proteus mirabilis</i>	Bacteria	Negativo	No esporulado	Anaerobio facultativo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacteria	Negativo	No esporulado	Aerobio

Para el cultivo y mantenimiento de los microorganismos hasta la realización de las pruebas de fagocitosis se utilizó el medio de cultivo líquido TSB (Tryptic Soy Broth).

Las cepas de *Acanthamoeba spp.* utilizadas se cultivaron en placas de Petri con ANN al 2 % en agua destilada estéril. Sobre su superficie se distribuyeron 200 µl de suspensión de los microorganismos utilizados en las pruebas de fagocitosis como fuente de alimento para las amebas. Las placas se incubaron entre 25 y 28 °C y se observaron al microscopio invertido a diario.

Para el mantenimiento de *Acanthamoeba spp.*, así como para la eliminación de microorganismos indeseables y de posibles impurezas que pudieran dificultar la observación, se realizaron resiembras de todas las placas cultivadas. Para ello, se seleccionaron mediante visión directa en microscopio invertido a 10 X los quistes con las mismas características morfológicas y los trofozoitos similares entre sí. La zona deseada se marcó en la placa original y, en condiciones asépticas, se extrajo una sección de aproximadamente 1 cm² del medio con ayuda de un bisturí y unas pinzas estériles. El fragmento extraído se transfirió a una placa de Petri nueva con ANN al 2 %. Cuando se observó crecimiento de la zona más externa, se seleccionó un fragmento y se repitió el mismo procedimiento 3 veces (*Figura 1*), lo que asegura la obtención de una sola cepa. A continuación, se añadieron 200 µl de suspensión de los microorganismos utilizados para las pruebas de fagocitosis y se incubaron las placas entre 25 y 28°C hasta que se observó enquistamiento.

Para poder observar los diferentes estados del desarrollo de las amebas se realizaron microcultivos inoculados con amebas procedentes de un cultivo rico en trofozoitos.

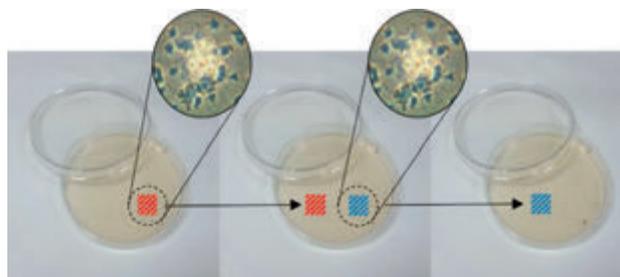


Figura 1.

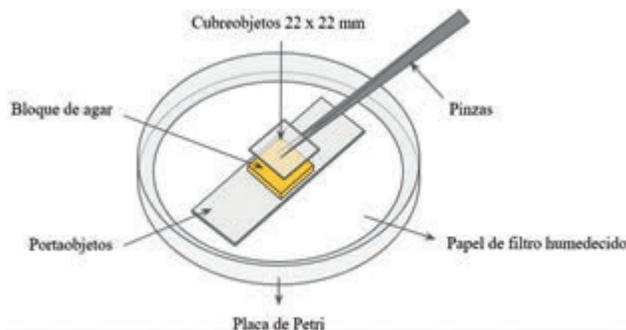


Figura 2.

El montaje (Figura 2) consistió en colocar un portaobjetos previamente desengrasado con xilol y flameado en el interior de una placa de Petri estéril. A continuación, se depositaron sobre el portaobjetos 4-5 gotas de ANN al 2 % previamente fundido en autoclave. Sobre este medio se depositó un cubreobjetos de 10x10 mm y una vez seco, se recortaron los restos de agar sobresalientes con ayuda de un bisturí estéril. Posteriormente, se retiró el cubreobjetos y se depositó una gota de una suspensión de los microorganismos utilizados en el centro del agar. Con ayuda de una asa de siembra previamente flameada se inocularon las amebas utilizadas en dicha gota. Finalmente, se colocó un cubreobjetos de 22x22 mm presionando ligeramente para garantizar su adhesión y se selló mediante una mezcla de Lanolina Anhidra y Colofonia. El montaje se incubó en cámara húmeda a una temperatura de 25-28 °C hasta el momento de su observación (Figura 2).

Para determinar si existe un posible carácter patógeno en las cepas estudiadas, las muestras se sembraron por triplicado en placas de ANN al 2 % en cámara húmeda y se incubaron a tres temperaturas diferentes: 26-27, 37 y 42 °C. Las placas fueron examinadas diariamente al microscopio invertido hasta que se observó enquistamiento. Finalmente, se realizó su resiembra como se describió anteriormente y se alimentó a las amebas con una suspensión de *E. coli* muertas por calor para determinar si producía desenquistamiento y, por tanto, supervivencia.

Para evaluar la capacidad de resistencia de las cepas de *A. castellanii* y *A. polyphaga* al etanol se utilizaron placas de cultivo con ANN al 2 % en las que se observó previamente que se había producido el enquistamiento. Sobre ellas se añadieron 4-5 gotas de soluciones de etanol a diferentes concentraciones: 15 %, 30 %, 45 % y 60 %. Posteriormente, las placas se mantuvieron a temperatura ambiente y se observaron

al microscopio invertido a los 5, 10, 20, 30 y 60 minutos. En estas observaciones se tomó la presencia de quistes deformados o vacíos en ausencia de trofozoitos como signo de susceptibilidad al tratamiento. Los quistes deformados fueron sembrados como se mencionó anteriormente para corroborar su supervivencia.

Para el tratamiento de los datos obtenidos se realizó un análisis estadístico empleando el software STATISTICA v.12 (Stat Soft, Inc., 2014). Dado que los resultados de todas las pruebas se consideran como variables binomiales (supervivencia/muerte), su análisis se realizó a través del método CHAID (Chi-Square Automatic Interaction Detector), el cual evalúa las interacciones existentes entre los diferentes factores mediante un test Chi-cuadrado. Para determinar la existencia de diferencias significativas entre los grupos ($\alpha = 0,05$) se utilizó el test de Bonferroni como prueba *post hoc*. Como resultado se obtuvieron diagramas en forma de "árbol de decisión" en el cual las variables se dividieron en ramas en función de si existen diferencias significativas entre ellas.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en las pruebas de fagocitosis mostraron que tanto *A. castellanii* como *A. polyphaga* internalizaron y digirieron fácilmente a *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Shigella sp.* y *Proteus mirabilis* (Figura 4). Por el contrario, en el caso de *Pseudomonas aeruginosa* se observó que la bacteria, a pesar de ser fagocitada, fue capaz no solo de soportar la digestión por parte de las dos especies de *Acanthamoeba*, sino de multiplicarse intracelularmente hasta provocar la lisis de las amebas (Figura 3).

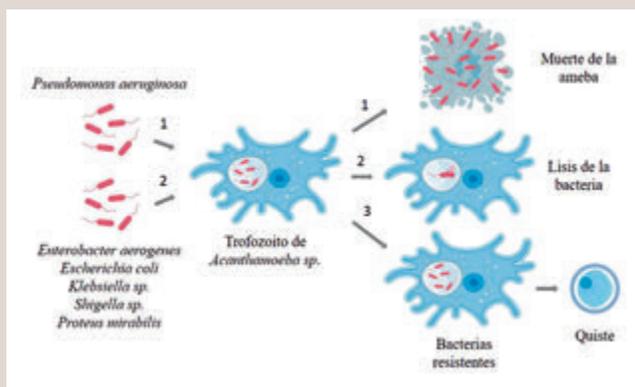


Figura 3.

Con las pruebas de termotolerancia, se observó que las cepas de *A. castellanii* y *A. polyphaga* incubadas a 26-27 °C se enquistaban a los 6-7 días, mientras que su cultivo a 37 °C adelantaba el enquistamiento ligeramente, produciéndose a los 5 días. En ambos casos, los quistes permanecieron viables y fueron capaces de desenquistarse cuando se realizó su resiembra en condiciones normales. Por el contrario, la incubación de las amebas a 42 °C produjo su enquistamiento a los dos días, sin embargo, ninguno de los quistes resembrados produjo desenquistamiento por lo que no sobrevivieron al tratamiento a esta temperatura.

Los resultados obtenidos a partir del CHAID, muestran que el primer factor diferenciador es la temperatura, existiendo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el cultivo realizado a 42 °C y las temperaturas de 26-27 y 37 °C. Ambas especies se vieron afectadas por igual por los distintos tratamientos térmicos ($p > 0,05$).

De los diferentes tratamientos utilizados se observó que la solución control registró crecimiento en todos los tiempos analizados. En el caso de las diluciones de etanol, se evidenció crecimiento hasta los 20 min de exposición con la dilución al 15 %, hasta los 10 min con la del 30 % y hasta los 5 min con la del 45 %, siendo el resto de los tiempos, así como todos los obtenidos para la dilución al 60 %, efectivas en la eliminación de los quistes de *A. castellanii* y *A. polyphaga*.

Los resultados obtenidos a partir del CHAID muestran que el primer factor diferenciador es la concentración de etanol utilizada, encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos control, 45 % y 60 %. Por el contrario, las concentraciones más bajas del 15 y 30 % que fueron significativamente iguales ($p > 0,05$), observándose que para ellas el tiempo de exposición representa un factor importante. En este caso, se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre

el grupo de tiempos más bajos, 5 y 10 minutos, y el resto de tiempos testados, 20, 30 y 60 minutos. Las especies estudiadas se vieron afectadas por igual tanto por la concentración de etanol como por los tiempos de exposición ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se ha evaluado la capacidad de dos especies de *Acanthamoeba* para fagocitar y degradar diferentes especies bacterianas, su termotolerancia y su resistencia al etanol.

En el caso de las bacterias, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp* y *Proteus mirabilis* nuestros resultados mostraron que son fagocitadas y digeridas por las dos especies del género *Acanthamoeba* utilizadas. Este hecho se ve respaldado por otros estudios realizados por diversos autores: Bozue & Jonhson (1996); Walochnik y col. (1998) Schuster (2002); Greub & Raoult (2004); Khan (2006); Pickup y col. (2007), y Swatson y col. (2018). Sin embargo, esto no es aplicable a todas estas bacterias ya que se ha demostrado que algunas de sus cepas son capaces de sobrevivir a la fagocitosis de estas amebas como indican Barker *et al.*, (1999); Alsam y col. (2006); Saed y col. (2009); Yousuf y col. (2013); Maisonneuve h col (2017).

La cepa de *Pseudomonas aeruginosa* utilizada no solo no fue digerida por las amebas, sino que terminó produciendo su lisis. Inicialmente, las bacterias fueron fagocitadas por *A. castellanii* y *A. polyphaga*, sin embargo, en lugar de ser degradadas en el interior de sus vacuolas digestivas, *P. aeruginosa* se multiplicó en el interior de las amebas hasta alcanzar una densidad bacteriana que desencadenó su lisis. Esto podría deberse a que *P. aeruginosa* indujo la transformación de la vacuola digestiva en una vacuola parasitófora como la que se produce en otros parásitos intracelulares. De esta forma, la bacteria se convierte en un endoparásito de la ameba, intracelular, pero extracitoplasmático, capaz de reproducirse en el interior de la vacuola parasitófora a la vez que queda protegida de las condiciones ambientales externas. Una vez que alcanza una densidad intracelular elevada, se induce la lisis amebiana de forma que vuelve a quedar libres en el medio.

Estos resultados son coincidentes con el estudio realizado por Abd y col. (2008), y Dey y col. (2019). En general, estos resultados son coherentes con el conocimiento previo de que algunas cepas de *Pseudomonas* podían actuar como microorganismos resistentes a las amebas, como demostraron Michel y col. (1995) al aislar una especie de *Acanthamoeba*

infectada con *P. aeruginosa* del sistema de agua de un hospital.

En el caso de que las amebas resultasen infecciosas para los humanos, estas deberían poseer un cierto grado de termotolerancia que les permitiese sobrevivir a temperaturas de 37 °C o incluso superiores si se tienen en cuenta los episodios de fiebre (Castro-Artavia *et al.*, 2017; Schuster, 2004). El crecimiento de las amebas a temperaturas superiores a 40 °C si se correlaciona directamente con su capacidad de producir daño celular *in vitro* (Castro-Artavia *et al.*, 2017). En base a esto, se considera que las cepas de *A. castellanii* y *A. polyphaga* utilizadas en nuestro trabajo no son directamente patógenas para el ser humano, ya que no fueron capaces de sobrevivir a 42 °C. Sin embargo, el hecho de que sí se observase supervivencia a 37 °C hace que no se pueda descartar del todo la patogenicidad de las cepas, la cual podría comprobarse mediante ensayos de inoculación intranasal en animales de experimentación. Además, cabe tener en cuenta que la termotolerancia es un factor menos determinante para aquellas especies que parasitan la córnea humana, en la que la temperatura ronda los 32-35 °C, de forma que una variedad más amplia de *Acanthamoeba spp.* podría resultar patógena a pesar de carecer de la capacidad para crecer a 37 °C (Castro-Artavia *et al.*, 2017; Schuster, 2004).

En nuestro caso, observamos que las dos especies de *Acanthamoeba* utilizadas mostraban un cierto grado de supervivencia al etanol, sobre todo a concentraciones bajas y tiempos de exposición cortos. Estos resultados son bastante coincidentes con los obtenidos por Aqueel y col. (2017). Por el contrario, recientemente Wekerle y col. (2020) encontraron que los desinfectantes probados a base exclusivamente de alcohol (etanol o isopropanol) resultaron inefectivos a la hora de eliminar tanto quistes como trofozoitos de *Acanthamoeba*.

Esta variabilidad entre estudios se puede atribuir a la falta de un consenso internacional en los protocolos para la obtención de quistes amebianos y la determinación de la actividad cisticida (Thomas *et al.*, 2010). A esto se suma también el hecho de que las diferentes cepas de *Acanthamoeba spp.* pueden mostrar diferentes susceptibilidades a los biocidas y que los métodos de cultivo empleados afectan a la producción de quistes maduros, cuya mayor resistencia puede deberse a la presencia de paredes celulares más gruesas (Coulon *et al.*, 2012).

En general, a pesar de que esté bien establecido que las AVL actúan como depredadoras bacterianas, las interacciones que involucran a *Acanthamoeba spp.* y a las bacterias presentes en el medio son muy complejas, dependiendo su desenlace de

las propiedades de virulencia de las amebas, la virulencia de las bacterias y las condiciones ambientales. Como resultado, estas relaciones pueden resultar beneficiosas únicamente para una de las partes o pueden dar lugar al desarrollo de una relación simbiótica entre ambas (Khan & Siddiqui, 2014). En este contexto, el papel de *Acanthamoeba spp.* como reservorio ambiental o vehículo de transmisión bacteriana altamente resistente a condiciones adversas representa nuevos desafíos en términos de control de enfermedades y saneamiento de las fuentes de agua (Khan & Siddiqui, 2014; Winiiecka-Krusnell & Linder, 2001).

CONCLUSIONES

- 1^a. De las pruebas de fagocitosis se puede concluir que las bacterias anaerobias facultativas, como *E. coli* o *Enterobacter aerogenes*, son las más idóneas como fuente de alimento para las cepas de *Acanthamoeba* estudiadas. Por el contrario, *Pseudomonas aeruginosa* es capaz de sobrevivir y multiplicarse en el interior de estas amebas hasta provocar su lisis.
- 2^a. Las pruebas de termotolerancia demostraron que las amebas estudiadas sobreviven a 37 °C, pero no a 42 °C, de forma que no son potencialmente patógenas para personas inmunocompetentes, pero sí pueden representar un riesgo para individuos inmunocomprometidos.
- 3^a. El estudio del grado de eficacia del etanol como agente desinfectante mostró que esta sustancia presenta efecto amebicida, sobre todo a concentraciones elevadas o tiempos de exposición prolongados.
- 4^a. El hecho de que las cepas de *Acanthamoeba spp.* estudiadas presenten una gran capacidad de fagocitosis y resistencia nos lleva a la conclusión de que son peligrosas desde el punto de vista de la sanidad ambiental, humana y animal, ya que pueden convertirse en hospedadores activos de algunos microorganismos patógenos y actuar como "caballos de Troya".

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero reconocimiento a la Dra. Pilar Combarro Combarro, profesora de Microbiología en la Universidad de Vigo, sin cuya ayuda no hubiera sido posible la realización de este trabajo

BIBLIOGRAFÍA

1. Abd, H.; Wretling, B.; Saeed, A.; Idsund, E.; Hultenby, K., & Sandström, G. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* utilises its type III secretion system to kill the free-living amoeba *Acanthamoeba castellanii*. *Journal of eukaryotic microbiology*. 55: 235-243.
2. Alsam, S.; Jeong, S. R.; Sissons, J.; Dudley, R.; Kim, K. S., & Khan, N. A. (2006). *Escherichia coli* interactions with *Acanthamoeba*: a symbiosis with environmental and clinical implications. *J. Med. Microbiol.* 55: 689-694.
3. Aqeel, Y.; Rodriguez, R.; Chatterjee, A.; Ingalls, R. R., & Samuelson, J. (2017). Killing of diverse eye pathogens (*Acanthamoeba spp.*, *Fusarium solani*, and *Chlamydia trachomatis*) with alcohols. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11: e0005382.
4. Arias, M. C., & Paniagua, E. (1992). Las amebas de vida libre o anfiótica (Protozoa, Lobosea). En: Durán, M. L. S. *Avances en parasitología*. Santiago de Compostela: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Santiago de Compostela, pp. 143-162.
5. Barker, J.; Humphrey, T. J., & Brown, M. W. (1999). Survival of *Escherichia coli* 0157 in a soil protozoan: implications for disease. *FEMS Microbiol. Let.* 173: 291-295.
6. Bozue, J. A., & Johnson, W. (1996). Interaction of *Legionella pneumophila* with *Acanthamoeba castellanii*: uptake by coiling phagocytosis and inhibition of phagosome-lysosome fusion. *Infect. and Immun.* 64: 668-673.
7. Carbal, R. L.; Foen, A. L.; Morales-Aleães, M.; Orozco-Ugarriza, M. (2016). Amebas de Vida Libre aisladas en aguas superficiales del municipio de Turbaco, Bolívar-Colombia. *Rev. Cub. Med. Trop.* 68: 59-69.
8. Castro-Artavia, E.; Retana-Moreira, L.; Lorenzo-Morales, J., & Abrahams-Sandí, E. (2017). Potentially pathogenic *Acanthamoeba* genotype T4 isolated from dental units and emergency combination showers. *Mem. do Inst. Osw. Cruz.* 112: 817-821.
9. Coulon, C.; Collignon, A.; McDonnell, G., & Thomas, V. (2010). Resistance of *Acanthamoeba* cysts to disinfection treatments used in health care settings. *J. Clin. Microbiol.* 48: 2689-2697.
10. Coulon, C.; Dechamps, N.; Meylheuc, T.; Collignon, A.; McDonnell, G., & Thomas, V. (2012). The effect of *in vitro* growth conditions on the resistance of *Acanthamoeba* cysts. *J. Eukar. Microbiol.* 59: 198-205.
11. Dey, R.; Rieger, A. M.; Stephens, C., & Ashbolt, N. J. (2019). Interactions of *Pseudomonas aeruginosa* with *Acanthamoeba polyphaga* observed by imaging flow cytometry. *Cytom.* 95: 555-564.
12. Gallegos, E. M.; Lugo, A.; Calderón, A.; Sánchez, M. R.; Mayén, R. (2014). Biodiversidad de protistas amébidos de vida libre en México. *Rev. Mex. Biodiv.* 85: 10-25.
13. Greub, G., & Raoult, D. (2004). Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clin. Microbiol Rev.* 17: 413-433.
14. Khan, N. A., & Siddiqui, R. (2014). Predator vs aliens: bacteria interactions with *Acanthamoeba*. *Parasitol.* 141: 869-874.
15. Khan, N. A. (2006). *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. *FEMS Microbiol. Rev.* 30: 564-595.
16. Król-Turmińska, K., & Olender, A. (2017). Human infections caused by free-living amoebae. *Ann. Agric. Environ. Med.* 24: 254-60.
17. Maisonneuve, E.; Cateau, E.; Delouche, M.; Quellard, N., & Rodier, M. H. (2017). An observational study of phagocytes and *Klebsiella pneumoniae* relationships: different behaviors. *Microbes Infect.* 19: 259-266.
18. Rodrigo, M. T. F. (2014). Caracterización molecular de amebas de vida libre e identificación de otros parásitos en aguas de red de la provincia de Zaragoza. (Tesis Doctoral). Universidad de Zaragoza.
19. Saeed, A., Abd, H., Edvinsson, B., & Sandström, G. (2009). *Acanthamoeba castellanii* an environmental host for *Shigella dysenteriae* and *Shigella sonnei*. *Arch. Microbiol.* 191: 83-88.
20. Scheid, P. (2014). Relevance of free-living amoebae as hosts for phylogenetically diverse microorganisms. *Parasitol. Res.* 113: 2407-2414.
21. Schuster, F. L., & Visvesvara, G. S. (2004) Free-living amoebae as opportunistic and non opportunistic pathogens of humans and animals. *Int. J. Parasitol.* 34: 1001-1027.
22. Schuster, F. L. (2002). Cultivation of pathogenic and opportunistic free-living amoebae. *Clin. Microbiol. Rev.* 15: 342-354.
23. Thomas, V., McDonnell, G., Denyer, S. P., & Maillard, J. Y. (2010). Free living amoebae and their intracellular pathogenic microorganisms: risks water quality. *FEMS Microbiol. Rev.* 34: 231-259.
24. Trabelsi, H.; Dendana, F.; Sellami, A.; Sellami, H.; Cheikhrouhou, F.; Neji, S.; Makni, F., & Ayadi, A. (2012). Pathogenic free-living amoebae: epidemiology and clinical review. *Pathol. Bio.* 60: 399-405.
25. Visvesvara, G. S.; Moura, H., & Schuster, F. L. (2007). Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba spp.*, *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 50: 1-26.
26. Visvesvara, G. S. (1991). Classification of *Acanthamoeba*. *Rev. Infect. Dis.* 13: 369-372.
27. Walochnik, J.; Picher, O.; Aspöck, C.; Ullmann, M.; Sommer, R., & Aspöck, H. (1998). Interactions of "Limax-amoebae" and gram-negative bacteria: Experimental studies and review of current problems. *Tokai J. Exp. Clin. Med.* 23: 273-278.
28. Wekerle, M.; Engel, J., & Walochnik, J. (2020). Anti-*Acanthamoeba* disinfection: hands, surfaces and wounds. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 56: 106122.
29. Winiacka-Krusnell, J., & Linder, E. (2001). Bacterial infections of free-living amoebae. *Res. Microbiol.* 152: 613-619.
30. Yousuf, F. A.; Siddiqui, R., & Khan, N. A. (2013). *Acanthamoeba castellanii* of the T4 genotype is a potential environmental host for *Enterobacter aerogenes* and *Aeromonas hydrophila*. *Parasit. Vectors.* 6: 1-8.

DISEÑO DE UNA ESTRATEGIA NUTRICIONAL INTEGRADA Y SOSTENIBLE COMO HERRAMIENTA PARA PROMOVER EL ENVEJECIMIENTO SALUDABLE EN LA TERCERA EDAD

M^a. José Chapela (2), Federica Farabegoli (2), Mercedes Alonso (2), Celina Costas (2), Eusebio Méndez (1), Sara Carvajal (1), Javier Costela (1), Manuel Riveiro (3), Bárbara Álvarez (4), Sergio Quiroga (4), Lizette del Socorro Valenzuela (5), Javier de la Fuente (5)

(1) *Freshcut.*

(2) *ANFACO-CECOPESCA.*

(3) *AGACAL.*

(4) *Ecocelta.*

(5) *Hospital Ribera Salud-Povisa.*

RESUMEN

A medida que envejecemos se modifican los requisitos nutricionales de nuestro organismo. Así, la población senior necesita unos aportes dietéticos caracterizados fundamentalmente por un incremento de la cantidad de proteína, el aporte de determinados minerales, vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados entre otros, así como una reducción de la cantidad de azúcares consumidos o un incremento en la cantidad de líquidos, etc. En este contexto, el presente estudio busca un cambio en el diseño de los productos alimenticios con base vegetal, innovadores y de fácil consumo, dirigidos a una población que envejece y que, en general, está cada vez más preocupada por la salud y la calidad de vida y sufre unos cambios fisiológicos que favorecen estados de malnutrición crónica.

Tras evaluar las necesidades nutricionales del grupo poblacional objeto del estudio se diseñó una actuación conjunta en todas las fases de la cadena productiva, desde la producción de la materia prima (vegetales de la huerta gallega) y la valorización de los subproductos generados, hasta el desarrollo de las cremas vegetales de alto valor

organoléptico y nutricional, cuyas propiedades funcionales sobre la población senior fueron validadas mediante la realización de un estudio de intervención clínica en personas institucionalizadas en residencias. Además, se tuvieron en cuenta aspectos relacionados con el contexto de economía circular y residuo cero.

ANTECEDENTES

Las tendencias demográficas de la Unión europea actuales predicen en las futuras décadas una deriva hacia un envejecimiento de la población. Según los datos estadísticos más recientes un 19,2% de la población total tiene actualmente 65 años o más, con una clara tendencia ascendente que prevé alcanzar el 29,1% en el año 2080. Según la información estadística del sistema sanitario europeo los mayores suponen el 46,15% de todas las altas hospitalarias y presentan estancias más largas que el resto de la población, con un elevado gasto sanitario implícito. En este contexto socio-demográfico, cada vez cobra más importancia el estado de salud y la calidad de vida del individuo durante sus últimos años de vida. La

búsqueda de nuevos alimentos que aúnen las necesidades de este colectivo con respecto, no solo a sus necesidades nutricionales específicas, sino también a la facilidad de empleo y la textura de los productos desarrollados, contribuirá a una mejora en la calidad de vida de este sector.

Por otra parte, el consumo de vegetales está asociado a múltiples beneficios para la salud y diferentes organizaciones como la FAO y la OMS recomiendan incrementar el consumo de verduras en la alimentación humana. Diferentes estudios han demostrado que una dieta rica en productos de origen vegetal puede ser considerada como una herramienta importante y realista para prevenir determinadas enfermedades. Además de los requerimientos nutricionales, actualmente, la conveniencia es el principal motor de innovación en el ámbito del procesado de alimentos. En este sentido, los productos vegetales mínimamente procesados son idóneos, por su gran aporte nutricional, para mantener la buena calidad de vida de un segmento importante de la sociedad como es la población en la tercera edad, así como para personas que utilicen habitualmente comedores colectivos (escolares, hospitales, residencias, etc.). Desafortunadamente, los vegetales son productos altamente perecederos que alteran rápidamente sus características nutricionales y organolépticas, por lo que la innovación en las formas de comercialización de las distintas variedades de vegetales incrementaría sensiblemente su valor añadido. El desarrollo de productos vegetales transformados de gran calidad abrirá nuevos nichos de mercado, disminuirá las pérdidas de la producción en fresco y proporcionará al consumidor productos atractivos y listos para consumir dotados de propiedades saludables específicas.

El sector hortícola gallego presenta una arraigada tradición y prestigio tanto a nivel nacional como internacional debido principalmente a la elevada calidad de sus productos. Sin embargo, en la actualidad se está constatando una disminución de la rentabilidad económica de las explotaciones agrarias debido entre otras causas, a la entrada en el mercado de productos provenientes de otras zonas y países donde los costes de producción son mucho más bajos. Teniendo en cuenta esta situación es evidente que la solución a este problema pasa necesariamente por incrementar la competitividad de la huerta gallega incidiendo en potenciar su rentabilidad y sostenibilidad a través de la innovación y la diversificación de sus productos.

Entre los factores que afectan a la calidad y sabor de vegetales y hortalizas es destacable la importancia del genotipo, pero también la optimización de las condiciones ambientales, las prácticas agrícolas, en particular la cantidad y calidad del agua empleada en el riego, los minerales y el sistema de

cultivo, y el modo y la temperatura en que son almacenados tras su recolección. En este sentido cabe esperar diferencias apreciables en las propiedades nutricionales de los productos en función de la variedad vegetal seleccionada, de las prácticas de cultivo aplicadas y del tipo de abono empleado en su cultivo. Todo lo comentado anteriormente pone de manifiesto la necesidad de revalorizar los subproductos y residuos obtenidos de la cadena de valor de las hortalizas para ser empleados en la obtención de abonos orgánicos que puedan ser empleados en la mejora de la calidad nutricional y organoléptica de los productos de la huerta gallega favoreciendo la sostenibilidad del proceso.

DESARROLLO Y RESULTADOS

1. Valorización de subproductos vegetales a través de la innovación en el compostaje

En primer lugar, se seleccionaron las especies vegetales para realizar las pruebas de cultivo y estudiar cambios en sus características nutricionales y funcionales según la variedad cultivada y las condiciones de cultivo empleadas; en concreto las especies objetivo de esta parte del estudio fueron: calabaza, haba, caupí, acelgas, faba de Lourenzá y nabicol.

Se trabajó en el diseño de un plan de gestión integral de los subproductos que abarcaba desde la separación del residuo en origen hasta su recepción por parte del gestor. La estrategia de valorización consistió en el compostaje del residuo de frutas y verduras de una de las empresas, para su comercialización como fertilizante, mezclándolo con otras materias primas como el estiércol; en concreto, el vermicompostaje del Compost AHGAVES obtenido en este proyecto podría registrarse como un Fertilizante de clase B en el Registro de Fertilizantes del MAPAMA.

Además, se analizó el procesado de la fruta fresca por larvas *Hermetia Illucens*, las cuales se podrían emplear como fuente de lípidos en piensos destinados a la acuicultura, siempre y cuando se corrijan sus deficiencias en ciertos ácidos grasos poliinsaturados. Por último, se realizó un ensayo de metanización con el objetivo de evaluar la producción de biogás a partir de materia orgánica. Los resultados fueron prometedores ya que se detectaron valores de metano por encima del mínimo establecido para que un gas tenga potencial para ser utilizado como fuente de energética. Estos resultados podrán representar un punto de partida para posibles proyectos futuros.

En el transcurso de esta primera actividad, también se realizó la identificación de las potenciales mejoras del proceso de producción de las cremas vegetales, obtenidos mediante el análisis de ciclo de vida realizados según las normas ISO 14040 y 14044. Se realizó un análisis comparativo de la producción de uno de los prototipos finales, en concreto una crema vegetal a base de alubia y berza, versus la circulación de un vehículo convencional medio para la categoría calentamiento global. El resultado de este análisis indicó que el impacto generado durante la producción de la crema en la categoría calentamiento global equivale al mismo que producirá un vehículo al desplazarse unos 7100 metros. Si se comparase la huella de carbono de 1 kg de crema con otros alimentos, los 1,67 kg de CO₂ calculados se situarían casi en el doble que en el de las verduras sin envasar y consumidas en fresco.

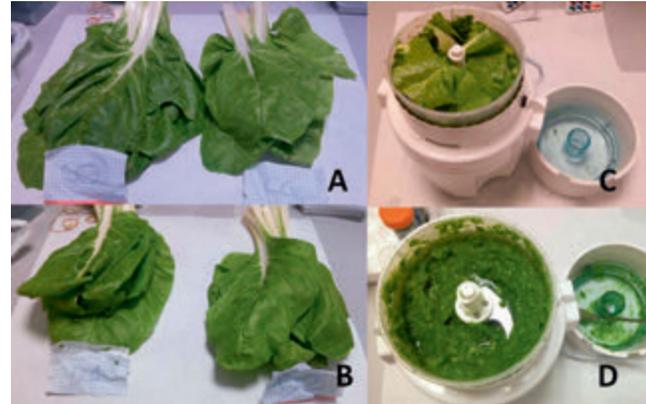
2. Cultivo de hortalizas de calidad nutricional y organoléptica mejorada

Con el objetivo de poner en valor el potencial nutricional de las especies objeto del estudio, de cara a su utilización como ingrediente para las cremas vegetales, se realizaron cultivos a pequeña escala de calabaza (10 variedades distintas de *Cucurbita spp.*), caupí (3 variedades de *Vigna unguiculada*) y haba (8 variedades de *Vicia faba*), y se realizó una caracterización físico-química de las mismas, haciendo especial hincapié en el contenido en fibra, no solo por su papel en la regulación del tránsito intestinal sino también por el carácter prebiótico de determinados tipos de fibra.

Los resultados indicaron que la calabaza contiene una gran cantidad de agua y por ello aporta bajas concentraciones de otros nutrientes de interés (proteína y fibra, sobre todo). En cuanto a la fibra en concreto se pudo concluir que su contenido varía en función del sitio de cultivo, más que de la variedad de calabaza. Además, la tipología de fibra que predomina en esta hortaliza es la soluble, por lo cual la calabaza inicialmente, se consideró un ingrediente interesante para este estudio, si no fuese por el contenido tan bajo en fibra total y en pectinas, indicador de fibra fermentable. Por su parte, el caupí resultó un producto muy interesante por su elevado contenido en proteína y en fibra total, pero en este caso la tipología de fibra predominante fue la insoluble, y el contenido en pectinas resultó muy bajo en las tres variedades cultivadas.

Asimismo, se realizó un estudio de la influencia del compost producido a partir de descartes vegetales en la actividad anterior (compost AHGAVES), en el cultivo de acelgas, fabas de Lourenzá y nabicol. Los resultados de este estudio indicaron que en general, tanto a nivel de productividad como a nivel organoléptico y nutricional, no se pudieron detectar diferencias remarcables en los diferentes cultivos de hortalizas en estudio.

En relación con caracterización de la fibra, el nabicol resultó interesante por su contenido en fibra total, a pesar de tratarse en su mayoría de fibra insoluble.



Muestras de acelgas obtenidas tras ser cultivadas en diferentes condiciones (A y B) e imágenes del tratamiento de las muestras para los posteriores análisis (C y D).

El estudio se profundizó analizando los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante (calculada por dos métodos, TEAC y ORAC) de las acelgas y de los nabicoles (Figura 1). Los resultados indicaron que el empleo del compost AHGAVES incrementó la presencia de compuestos funcionales (compuestos fenólicos) y la funcionalidad antioxidante de las acelgas y de los nabicoles.

3. Desarrollo de alimentos funcionales de V y VI Gama a partir de hortalizas de la huerta gallega.

Tras identificar las necesidades nutricionales de las personas objeto del estudio, se diseñaron una serie de prototipos de productos vegetales empleando las hortalizas analizadas en

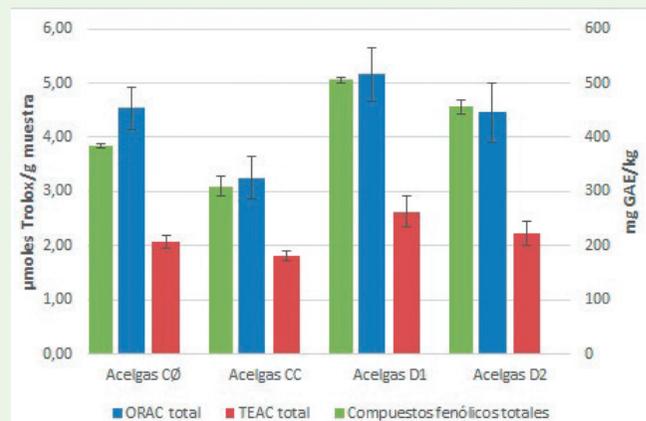


Figura 1. Análisis del contenido en compuestos fenólicos totales (µg GAE/kg) y de la capacidad antioxidante (µM Trolox/g muestra) de las acelgas cultivadas y seleccionadas para el estudio.

la fase anterior. Para su diseño, se tuvieron en cuenta las características de las hortalizas, tanto a nivel organoléptico, como los resultados de los análisis nutricionales realizados en relación con los diferentes tipos de fibra y minerales de interés.

Se desarrollaron y optimizaron los prototipos de cremas vegetales formuladas con alubias, grelos, brécol y berza, que fueron seleccionados en función a su contenido en fibra, proteína, minerales y vitaminas, nutrientes fundamentales en el envejecimiento saludable. En paralelo se realizaron pruebas de aceptación de las cremas de verduras en ancianos en atención a domicilio, y los resultados de dichas pruebas se tuvieron en cuenta para realizar modificaciones a las recetas propuestas. En concreto, las pruebas organolépticas remarcaron la necesidad de disponer de mínimo tres recetas diferentes para variar el sabor y animar a los ancianos incluidos en el estudio a consumir crema de verduras con sus comidas; además fue necesario mejorar la aceptación visual de los prototipos incluidos en el estudio variando el color de las cremas, y compensar el bajo contenido en sal empleando estrategias para incrementar el sabor de las cremas. Se testaron varias especias (nuez moscada, tomillo, romero, comino, cúrcuma, albahaca, pimienta blanca, orégano, entre ellos) y otros ingredientes como potenciales fuentes de fibra (chía).

En total se desarrollaron 3 prototipos diferentes de cremas, y se optimizó su contenido en sal y especias, para obtener productos con alegación nutricional de “bajos en sal” y organolépticamente aceptados por los ancianos incluidos en el estudio. Se realizaron numerosas pruebas a escala laboratorio y preindustrial y, junto con los resultados de las analíticas nutricionales, se decidió añadir fibra dietética (utilizando *psyllium* comercial), para variar la textura de los productos y adaptarla a las necesidades de la población diana. Se seleccionó una concentración de 0,25% de *psyllium* para proporcionar a la crema un aspecto más homogéneo y estructurado, sin alterar el sabor y la textura. Este tipo de prototipo se destinó al anciano frágil, mientras para el anciano con necesidad de asumir laxantes se incluyó 0,5% de *psyllium*. Además, se formuló un producto con un aspecto más gelatinoso, utilizando un porcentaje del 1% de *psyllium*, destinado al anciano con disfagia.

En esta fase del estudio, se realizaron pruebas preliminares para valorar el empleo de tecnologías alternativas y verdes. En concreto los ultrasonidos se han asociado a tratamientos térmicos menos agresivos, con el objetivo de mantener inalterado el contenido en nutrientes como las vitaminas, y al mismo tiempo la seguridad del producto. Los resultados obtenidos fueron prometedores, y podrían suponer un punto de partida para posibles proyectos futuros.

Con el fin de verificar las propiedades funcionales de los prototipos de cremas vegetales desarrollados, se realizaron ensayos *in vitro* para evaluar la posible capacidad antioxidante, antihipertensiva, antiinflamatoria y antiosteoporótica de los mismos (Figura 2). También se evaluaron las propiedades reológicas y funcionales de la fibra contenida en las formulaciones de las cremas. Por otra parte, se llevaron a cabo ensayos celulares de bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los minerales naturalmente presentes en las cremas vegetales a base de alubia y grelos al 1% de *psyllium*. Se define como bioaccesibilidad la fracción (%) de una sustancia o compuesto que es soluble en el medio gastrointestinal y que está disponible para la absorción por parte de las células intestinal (enterocitos); en cambio, la biodisponibilidad es la capacidad de una sustancia o compuesto de ser absorbido por las células intestinales, resultando en accesible para el organismo.

Con el objetivo de investigar cómo afecta la presencia de medicamentos a la funcionalidad de las cremas, se seleccionó el acenocumarol como modelo de fármaco anticoagulante más frecuentemente asumido para la población en estudio. El objetivo de este ensayo fue concretar si la asunción de un fármaco con principio activo el acenocumarol influye de alguna forma en la biodisponibilidad de los compuestos funcionales de las cremas, y en concreto de los minerales de interés (hierro, zinc, magnesio, calcio y potasio).

Los resultados obtenidos indicaron la presencia de compuestos antioxidantes en las cremas de verduras, que resistieron a los tratamientos térmicos empleados en el proceso de producción. En concreto los prototipos a base de grelos y a base de berza destacaron por su contenido en compuestos funcionales



Prototipos de cremas desarrolladas con distintas concentraciones de *psyllium*.

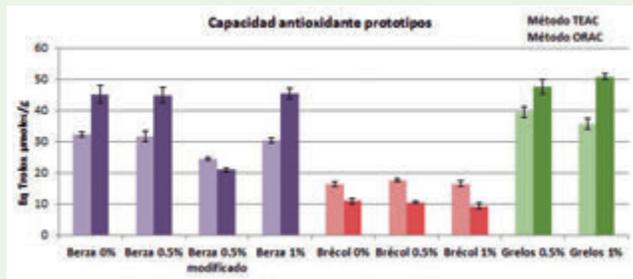


Figura 2. Capacidad antioxidante de los prototipos preparados con las tres recetas seleccionadas y diferentes concentraciones de psyllium (0%, 0,5% y 1%), calculada a través del método TEAC y ORAC.



Ingesta de las cremas desarrolladas en una de las residencias en las que se realizó el estudio clínico.

con capacidad antioxidante. En cambio, los ingredientes utilizados para las recetas de los prototipos no presentaron potencial como actividad antihipertensiva, antiinflamatoria o antiosteoporótica destacable.

Los ensayos reológicos y funcionales de la fibra indicaron que los prototipos de cremas vegetales podrían potencialmente determinar una mejoría del tránsito intestinal, como finalmente se valoró en el estudio clínico realizado en los pacientes.

Los resultados del estudio de bioaccesibilidad y biodisponibilidad indicaron que los minerales presentes en las cremas se encontraban, en general, bioaccesibles, sin embargo, los únicos minerales capaces de ser absorbidos por las células fueron calcio y potasio. Por último, los estudios demostraron que el consumo de acenocumarol influye negativamente en la bioaccesibilidad de casi todos los minerales estudiados (hierro, zinc, calcio, potasio y magnesio), mientras en general no se condiciona la absorción intestinal.

4. Estudio clínico con productos desarrollados

Finalmente, el trabajo realizado se completó con un estudio clínico para evaluar el impacto de la nutrición con las cremas funcionales desarrolladas en el envejecimiento saludable. Para tal fin se reclutaron 160 individuos mayores de 70 años, institucionalizados en diferentes residencias geriátricas. Los pacientes incluidos en el estudio presentaban criterios de fragilidad establecida (según la escala FRAIL). El objetivo principal del estudio fue valorar los cambios en la situación funcional, nutricional y en el ritmo intestinal tras la ingesta, cada dos días, de 250 ml de cremas vegetales adicionadas con un 0,5% de *psyllium*.

Los principales resultados de este estudio demostraron que la asunción 3 veces por semana de los prototipos a base de brécol, berza y grelos, suplementados con *psyllium*, durante 12 semanas, mejoraron el ritmo intestinal, aliviaron la periodicidad, consistencia y aspecto de las deposiciones de los pacientes; además, gracias a las propiedades de la

fibra, disminuyeron la polifarmacia de los pacientes, pudiendo reducir el consumo de fármacos laxantes. Además, se concluyó que los prototipos de cremas desarrollados constituirían una buena alternativa para personas con deterioro cognitivo moderado-severo, en los que existe mayor riesgo de disfagia y deben ingerir alimentos en textura pudding o néctar para prevenir potenciales broncoaspiraciones.

CONCLUSIONES

En primer lugar, se identificaron las necesidades nutricionales de las personas mayores principalmente en relación con el aporte de diferentes tipos de fibra y minerales de interés para este sector de la población que incorporaría en su dieta el consumo habitual de vegetales. A continuación, se seleccionaron las especies vegetales para las pruebas de condiciones de cultivo, con el fin de estudiar cambios en sus características nutricionales y funcionales según la variedad cultivada y las condiciones empleadas; en concreto las especies objetivo de esta parte del estudio fueron: calabaza, haba, caupí, acelgas, faba de Lourenzà y nabicol.

Se planteó una estrategia integral para la gestión de los subproductos vegetales, y se identificaron las potenciales mejoras del proceso de producción de las cremas vegetales, mediante estudio el ciclo de vida realizado en uno de los prototipos finales, en concreto la crema de alubia-berza. De este plan se concluyó que la reducción de impactos en la producción de la crema pasa por mejoras como la reducción de los consumos eléctricos en la propia planta, incorporando el uso de energías renovables, la reducción del uso de fertilizantes para minimizar el impacto ambiental, y el uso de un material biodegradable alternativo al polipropileno, que soporte las características de elaboración del producto y que tenga también un menor impacto ambiental.

Los resultados fisicoquímicos del vermicompostaje del compost AHGAVES concluyen que el producto podría registrarse como un Fertilizante de clase B en el Registro de Fertilizantes del MAPAMA. Además, el ensayo de metanización dio resultados positivos ya que se detectaron valores de metano por encima del mínimo establecido para que un gas tenga potencial para ser utilizado como fuente de energética.

Los resultados del estudio de valoración del compost AHGAVES en cultivo realizados con acelgas, fabas de Lourenzá y nabicol indicaron que, en todos los cultivos testados, el compost incrementó las propiedades funcionales de los cultivos en concreto aumentando su contenido en compuestos fenólicos totales y la funcionalidad antioxidante de las variedades estudiadas.

En los estudios de caracterización fisicoquímica de las variedades vegetales mencionadas se hizo hincapié en la fibra, no solo por su papel en la regulación del tránsito intestinal sino también por el carácter prebiótico de determinados tipos de fibra. Se concluyó que la calabaza es un producto que proporciona fibra soluble, pero en pequeñas concentraciones. En cambio, el caupí se demostró una buena fuente de fibra insoluble.

Se diseñó, perfeccionó y realizó el escalado industrial de 9 prototipos de cremas de verduras de tres sabores distintos y suplementados con tres porcentajes de *psyllium* diferentes, para encontrar las exigencias de varios targets de población: uno más diluido (0,25%) destinado al anciano frágil, uno intermedio, al 0,5% para potenciar las propiedades laxantes, y uno más concentrado (1%) destinado al anciano disfágico. Los resultados del análisis nutricional de los prototipos realizados con las acelgas incluidas en el estudio de valoración del compost indicaron que, en comparación con las variedades cultivadas con los abonos comercial o mineral, las variedades cultivadas con el abono desarrollado permitieron obtener cremas a base de acelgas con un contenido más elevado en fibra total y cremas a base de fabas de Lourenzá con un contenido más elevado en potasio. Además, tras las valoraciones obtenidas tanto a nivel organoléptico, como con los resultados obtenidos tras los estudios realizados, una de las empresas valora la futura comercialización de la sopa de caupí.

Los resultados de los ensayos *in vitro* de tipo bioquímico indicaron la presencia de compuestos antioxidantes en las cremas de verduras; destacaron por su contenido en compuestos funcionales el prototipo a base de grelos y el a base de berza.

Por otra parte, los resultados de los ensayos de funcionalidad de la fibra indicaron que la fibra contenida en los prototipos de cremas potencialmente podía determinar una mejoría

del tránsito intestinal, como finalmente se valoró en el estudio clínico. De hecho, si los comparamos con los valores calculados en las cremas de fabas de Lourenzá, las cremas suplementadas con *psyllium* obtuvieron mejores valores de capacidad de retención de agua (índices WHC y WRC).

Los datos obtenidos en el estudio de bioaccesibilidad indicaron que los minerales presentes en las cremas se encontraban en general en una forma muy bioaccesible. En cuanto a la biodisponibilidad de los minerales, hierro, zinc y magnesio no fueron absorbidos por las células intestinales; en cambio, calcio y potasio lo fueron en su totalidad. En este caso, la presencia de acenocumarol en las cremas no modificó la absorción de los minerales estudiados, solo en el caso del magnesio aumentó la capacidad de las células intestinales de absorber este mineral.

Finalmente, los resultados del estudio clínico demostraron que la asunción de 250 ml de los prototipos a base de brécol, berza y grelos, suplementados al 0,5% de *psyllium*, 3 veces por semana, durante 12 semanas, mejoraron el ritmo intestinal, aliviaron la periodicidad, consistencia y aspecto de las deposiciones, y disminuyeron la polifarmacia al poder retirar los laxantes. No se demostraron cambios en la situación funcional de los sujetos: las mediciones en las escalas FRAIL o Barthel se mantuvieron estables.

En conclusión, el trabajo aquí descrito proporcionó las bases para futuras colaboraciones entre las empresas y los centros de investigación involucrados y los resultados ofrecen ideas para la mejora de productos y procesos, y abren nuevas oportunidades de negocio.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto AHGAVES "Interrelación alimentación-salud para una vejez saludable mediante nutrición funcional en base a materias primas de la huerta gallega", financiado por la Axencia Galega de Innovación (GAIN) en el marco del Programa Conecta Peme 2018. Los responsables de la ejecución de este proyecto fueron las empresas gallegas Freshcut (líder), Ecocelta y el Hospital Ribera Salud-Povisa, las cuales contaron con el apoyo y la colaboración de centros de investigación, ANFACO-CECOPECA, de la Axencia Galega da Calidade Alimentaria (AGACAL), y de las empresas HORSALy SIGMA Biotech. El estudio clínico se llevó a cabo con pacientes de residencias correspondientes al área sanitaria del Hospital Povisa: Santa Marta (Vigo), Vila Do Conde (Gondomar) y Domus VI (Aldán).

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmed, T., & Haboubi, N. (2010). Assessment and management of nutrition in older people and its importance to health. *Clin Interv Aging*, 5 (1), 207-16.
2. Feijoo Costa, G., & Moreira Vilar, M. T. (2020). Análisis de ciclo de vida y huella de carbono. Casos prácticos.
3. Kinoshian, B. P.; Knight-Klimas, T. C. Drug-Nutrient Interactions in the Elderly. En: Boullata, J. I.; Armenti, V. T. (eds.). *Handbook of Drug-Nutrient Interactions*. 2ª ed. New York: Humana Press; 2010. pp. 617-662.
4. Robinson, S.; Cooper, C., & Aihie, Sayer A. (2012). Nutrition and sarcopenia: a review of the evidence and implications for preventive strategies. *Journal of aging research*, 3-15
5. Rouphael, Y.; Cardarelli, M.; Ali Bassal Leonardi C.; Giuffrida, F.; Colla G. (2012). Vegetable quality as affected by genetic, agronomic and environmental factors. *Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.10 (3&4): 680-688*.
6. Saikia, S., & Mahanta, C. L. (2016). In vitro physicochemical, phytochemical and functional properties of fiber rich fractions derived from by-products of six fruits. *Journal of food science and technology*, 53 (3), 1496-1504.
7. The 2015 ageing report. Economic and budgetary projections for the 28 EU Member States (2013-2060).
8. WHO Topics: Nutrition for older persons. <http://www.who.int/nutrition/topics/ageing/en/index1.html>

CONSECUENCIAS DEL FINAL DE LA CRISIS ECONÓMICA EN LOS GRUPOS DE COMUNICACIÓN EN ESPAÑA

Mercedes Román Portas, Aurora García González, Lourdes Román Portas

Facultad de Ciencias Sociales y de la Comunicación. Campus de Pontevedra. Universidad de Vigo. España.

RESUMEN

Este trabajo aborda los cambios que se produjeron en los principales grupos de comunicación españoles tras el impacto de la crisis económica que había afectado de modo particular al sector de la comunicación, debido entre otras causas al descenso de la inversión publicitaria y del consumo de medios de pago. El estudio se centra en el período comprendido entre 2012-2017. A partir de 2014, los medios españoles empezaron a recuperar sus ingresos publicitarios y diversificaron su actividad en busca de beneficios. La Comisión Europea dio oficialmente por cerrada la crisis en agosto de 2017.

El escenario de los medios estuvo marcado en este período por la creciente expansión del mundo digital y el desarrollo del sector televisivo, en concreto por los operadores de televisión de pago y la televisión digital terrestres; desarrollos interactivos de los grupos de medios españoles y compañías nativas digitales, que en pocos años lograron hacerse un hueco en el mercado. El trabajo partió de la localización y recopilación de documentos en fuentes primarias y secundarias que permitieran obtener datos para proceder a un análisis descriptivo de los hechos. El mercado televisivo mostró una creciente transformación de la mano de la expansión de operadores de pago en España y de la TDT que propiciarían el nacimiento y desarrollo de compañías productoras de contenidos tanto a nivel nacional como internacional con repercusión en este país. Los cambios en los patrones de consumo obligaron a los grupos a competir por el tiempo de ocio de los públicos.

Palabras clave: *Comunicación, Crisis, Grupos multimedia, Televisión digital, Contenidos, Digitalización, Medios de comunicación.*

INTRODUCCIÓN

Durante el período que abarca este estudio (2012-2017), se considera que España empezó a salir de la crisis financiera y económica, que los principales medios de comunicación habían empezado a notar a partir de 2014. Los medios españoles empezaron a recuperar sus ingresos publicitarios y diversificaron su actividad en busca de beneficios.

Este trabajo es continuación de un estudio anterior (Román y García: 2013), y las autoras han seguido los mismos parámetros de entonces con el fin de obtener una fotografía de la situación a finales de 2017 (últimos datos publicados disponibles) fecha en que se considera superada la crisis. La Comisión Europea la dio oficialmente por cerrada en agosto de 2017.

1. OBJETIVOS, METODOLOGÍA Y CUESTIONES DE INVESTIGACIÓN

El objeto de estudio de este trabajo ha sido conocer la evolución de los principales grupos de comunicación en España a partir del año 2012, que coincide con los primeros indicios del final de la crisis económica, y hasta 2017. Para ello, y por continuidad con la investigación anterior, se seleccionaron los grupos de mayor volumen de negocio durante aquellos años que fueron: Grupo Prisa, Grupo Vocento, Unidad Editorial, Atresmedia Corporación de Comunicación (antes Grupo Antena 3) y Mediaset España Comunicación.

El estudio perseguía también dos objetivos particulares: por una parte, conocer el impacto del final de la crisis en

la evolución de los grupos durante esos años; y por otra, identificar los cambios más importantes registrados en esos mismos grupos de comunicación.

El trabajo partió de la localización y recopilación de documentos en fuentes primarias y secundarias que permitieran obtener datos para proceder a un análisis descriptivo de los hechos. Como fuentes primarias se emplearon las páginas web corporativas de cada medio con los datos relativos a su composición y a los medios que los integran, así como los informes financieros que publican. Y como fuentes secundarias se acudió a publicaciones de investigadores que habían abordado propósitos semejantes y a la base de datos SABI (*Bureau Van Dijk electronic publishing*).

Una vez recopilada la documentación se procedió al estudio y análisis de los datos obtenidos de las fuentes consultadas y para el análisis se utilizó una metodología descriptiva a partir de las siguientes cuestiones de investigación:

- Como consecuencia de la mejora de la situación económica, los grupos de comunicación alcanzaron una mayor estabilidad.
- La paulatina recuperación de la inversión publicitaria facilitó la recuperación de los resultados económicos y casi todos los grupos emprendieron acciones de diversificación de sus actividades y puesta en marcha de nuevas iniciativas con el fin de mejorar sus balances (Cfr. "Inversión publicitaria en Televisión" *El Mundo*, 23/07/2019).

3. EL IMPACTO DEL FIN DE LA CRISIS EN LOS GRUPOS DE COMUNICACIÓN

El escenario de los medios estuvo marcado en este período por la creciente expansión del mundo digital y el desarrollo del sector televisivo, en concreto por los operadores de televisión de pago y la televisión digital terrestres; desarrollos interactivos de los grupos de medios españoles y compañías nativas digitales, que en pocos años lograron hacerse un hueco en el mercado.

Por su parte, el mercado televisivo mostró una creciente transformación de la mano de la expansión de operadores de pago en España y de la TDT que propiciarían el nacimiento y desarrollo de compañías productoras de contenidos tanto a nivel nacional como internacional con repercusión en este país. Destacó asimismo la presencia de Telefónica en la televisión de pago, con una compañía dedicada a la gestión de su colectivo de abonados (Distribuidora de Televisión Digital)

y otra especializada en la generación de contenidos y canales (Telefónica Audiovisual Digital). La entrada de la TDT, la TV de pago y los cambios en los patrones de consumo obligaron a los grupos a competir por el tiempo de ocio de los públicos.

3. 1. Principales medios de comunicación de cada grupo en 2012

El mapa correspondiente al año 2012 podría configurarse así en cuanto a la propiedad de medios de comunicación y su actividad dentro de cada uno de los grupos:

Prisa

El grupo Prisa encabezaba un conjunto de empresas integradas en el sector de los medios de comunicación. Una de sus principales filiales era Santillana que facturaba el 73% de todo el negocio del grupo en Iberoamérica. Otras empresas eran: Prisa TV, Media Capital, Diario El País, Diario Cinco Días, Diario As, Radio España, Radio Internacional y DTS (Distribuidora de Televisión Digital). Los ingresos por publicidad del grupo suponían el 23% del negocio, la venta de periódicos y revistas el 6%, la venta de libros y formación el 26%, los ingresos de abonados el 33% y la producción audiovisual el 3%. Los principales accionistas eran Rucandio, Promotora de Publicaciones, Asgard Inversiones, Nicolás Berggruen, Daiwa Securities Group, BH Stores IV y BNP Paribas.

Vocento

El grupo Vocento incluía, en medios impresos, el diario ABC de ámbito nacional, 12 diarios regionales (*El Correo*, *El Diario Vasco*, *El Diario Montañés*, *El Norte de Castilla*, *La Rioja*, *Sur*, *Ideal*, *Hoy*, *La Verdad*, *El Comercio* y *Las Provincias*, *La Voz de Cádiz*), el diario gratuito *Qué!* (hasta junio de 2012), la agencia de noticias Colpisa, la revista *Inversión & Finanzas*, el canal de televisión Net TV y los suplementos *XL Semanal*, *Mujer Hoy*, *Pantalla Semanal* y *Hoy Corazón*. También era propietario de la emisora radiofónica Punto Radio y las productoras de contenidos Europroducciones, Bocaboca Producciones, Videomedios, Hill Valley y Tripictures. Los ingresos por venta de ejemplares sumaban el 37% y los procedentes de publicidad el 35%. Los principales accionistas eran las familias Ybarra, Urrutia y Luca de Tena.

Unidad Editorial

Unidad Editorial era la empresa editora del diario madrileño *El Mundo*. En 2012, la empresa italiana Rizzoli Corriere della Sera (RCS) poseía el 94% del capital. Comercializaba productos complementarios como las revistas *Telva* y *Yo Dona*, *Grandes*

Genios del Arte, Nuestra Cocina y La Guerra Civil Española. El tráfico diario de la edición digital de *El Mundo* (elmundo.es) era de 1,8 millones de visitantes diarios. Había integrado el 100% de Grupo Recoletos (cabeceras *Marca, Expansión y Actualidad Económica*) para dar lugar al grupo de prensa electrónica y escrita más grande del mundo en lengua española. En Portugal era propietaria de *Diario Económico*.

Antena 3

Antena 3 era la empresa propietaria de los canales de TV Antena 3, La Sexta, Neox, Nitro, Xplora, Nova, La Sexta 3 y Gol TV; así como de las cadenas de radio Onda Cero, Europa FM y Nubeox. Como se ve, la empresa había absorbido la cadena Televisa La Sexta.

Mediaset España

El grupo Mediaset España era un grupo audiovisual formado por las cadenas Telecinco, La Cuatro, La Siete, FDF, Divinity, La Tienda en Casa, Energy y Boeing. El primer accionista era Mediaset Investimenti (41,6%) seguido por grupo Prisa (17%) y Tweedy Brown company (4,4%). Mediaset España explotaba las marcas Telecinco, Cuatro y Digital +.

3. 2. Cambios registrados en los grupos entre 2012 y 2017

Como es natural en el período comprendido entre 2012 en que comienza el estudio y 2017 se produjeron numerosos cambios en la conformación de los grupos y se vivieron situaciones de conflicto en algunos casos que dieron lugar a la renovación de los mismos. Los cambios más significativos registrados en los grupos durante este período, en lo que se refiere a sus Consejos de Administración, financiación, y apertura o cierre de medios, se concretaron de la siguiente manera.

Prisa

Ya en el año 2012 el Grupo Prisa incorporó a la cúpula directiva de la compañía a Fernando Abril-Martorell como consejero delegado adjunto y director financiero. José Luis Sainz sustituyó a Fernando Abril-Martorell como consejero delegado en 2015. Y en aquél momento se incorporaron también Manuel Mirat, como consejero delegado de *El País* y de Prisa Noticias, y Andrés Cardó como consejero delegado de Prisa Radio. Asimismo, se produjo el relevo en la dirección de *El País*, Antonio Caño sustituyó a Javier Moreno, y renovó todo el equipo directivo del diario.

En cuanto a la financiación, en el año 2012, firmó la refinanciación de toda su deuda. Llegó a un acuerdo con sus bancos acreedores (HSBC, La Caixa y Banco Santander) para

la conversión de parte de su deuda en acciones por valor de 334 millones de euros. Telefónica aportó, por acuerdos previos, otros 100 millones y los accionistas inyectaron más de 150 millones de euros en el capital social.

Dos años después (2014) se reestructuró la deuda financiera con el acuerdo de la totalidad de los bancos y los fondos de inversión acreedores. Prisa amortizó 780 millones de euros de deuda. Tras la ampliación de capital suscrita por Roberto Alcántara (de 100 millones de euros), Prisa anunció la venta del 56% de CANAL+ a Telefónica por 750 millones de euros. Y en diciembre de 2016 la deuda del grupo se situó en 1.486 millones de euros.

Finalmente llegó a un acuerdo con los acreedores para emitir bonos convertibles en acciones de Prisa mediante canje de deuda financiera. La conversión (100.742.090 €) se produciría en 2018. En enero de ese año la editora y las entidades acreedoras (CaixaBank; Santander; HSBC; y los *Hedge Funds*) alcanzaron un acuerdo clave para mantener la viabilidad del grupo que permitirá a Santillana extender el vencimiento de la deuda hasta finales de 2022 (EC, 10/07/19).

En lo que se refiere a los cambios en los medios que integraban el grupo, en el año 2014 *El País* puso en marcha una edición en portugués, *El País Brasil*, y abrió una redacción en São Paulo. En 2015, nació la edición digital catalana y se reforzó la redacción de México D.F. En 2016, en que la empresa celebraba 40 años de *El País* y 50 años de Los 40 Principales, se anunció la venta de Santillana, que se haría efectiva en 2017, posteriormente paralizada.

Vocento

El grupo Vocento estuvo presidido hasta 2014 por Enrique de Ybarra; en 2015 le sustituyó Santiago Bergareche Busquets a que sucedería Ignacio Ybarra en 2019. Durante todo este período el Consejero Delegado fue Luis Enríquez Nistal.

El grupo Vocento redujo costes en el año 2012 (un 14% en un año), y mantuvo su deuda estabilizada en 142,9 millones de euros. En febrero de 2014 el grupo pidió un préstamo bancario de 175 millones de euros a cinco años. Y en los años 2016 y 2017 se sometió a una auditoría independiente.

Por lo que se refiere a los medios del grupo, en el año 2012, adoptó decisiones estratégicas como la alianza con la cadena COPE; cerró la edición impresa del diario gratuito *¡Qué!* (en el mes de junio), y potenció los medios digitales (Oferplan.com y Kiosko y Más).

La evolución de las tecnologías emergentes y el empleo de dispositivos de movilidad permitieron una mejora de la

difusión de ABC, con el lanzamiento de una nueva web móvil. A partir del año 2015 empezó a utilizar Big Data. Y se creó Vocento Media Lab para reformar las redacciones.

En 2016 y 2017 cayó la venta de ejemplares y descendió igualmente la publicidad *off line*, o publicidad convencional, que empezaba a considerarse obsoleta; también bajó el consumo y los lectores empezaron a orientarse hacia los formatos *on line*. Este descenso era menos patente en los diarios regionales dependientes del grupo que seguía una dinámica distinta, pero también se vieron afectados en alguna medida. En ello influyó el crecimiento de las redes sociales.

Unidad Editorial

El grupo Unidad Editorial, en el año 2012, registró pérdidas que RCS atribuyó en aquel momento al deterioro en los activos intangibles del grupo, derivadas posiblemente de la compra de Recoletos por 1.000 millones de euros realizada en 2007. El férreo control de los costes y la sólida posición de las cabeceras de Unidad Editorial permitieron al grupo una mejora de resultados en 2013, aunque persistiera el deterioro.

En 2014 el diario atravesaba una profunda crisis de difusión y de resultados económicos y los propietarios (RCS) para acudir al rescate de la filial española y evitar su quiebra adoptaron la medida de sustituir a Pedro J. Ramírez, que había sido director de *El Mundo* desde 1989 por Casimiro García Abadillo. A partir de entonces se sucedieron los cambios: David Jiménez fue director entre 2015 y 2016; Pedro García Cuatango desde 2016, que fue el año más agitado de este período para Unidad Editorial, con la aplicación de un ERE que afectó a 160 empleados y la compra de su matriz, RCS Mediagroup, por parte del empresario Urbano Cairo.

En 2017, Francisco Rosell asumió la dirección de *El Mundo*, en sustitución de David Jiménez que fue destituido, y ese fue el primer año en que el grupo obtuvo resultados positivos.

En cuanto a los medios que integran el grupo, entre 2013 y 2014 se cerraron dos canales de Veo TV, para cumplir una sentencia del Tribunal Supremo, que requirió el cese de emisiones del múltiplex digital adjudicado por el Gobierno en 2010. Durante 2015, los tres diarios del grupo -*El Mundo*, *Expansión* y *Marca*- realizaron diversos cambios visuales y de navegación, y rediseñaron sus portales.

En enero de 2017 se lanzó el nuevo portal Marca Claro en México, en colaboración con Claro Sports, la mayor plataforma de contenidos multimedia en Latinoamérica. Se lanzó también el portal Marca Colombia. Todas las cabeceras de Unidad Editorial vieron incrementado sus accesos de tráfico a través de dispositivos móviles. Google y Unidad Editorial lanzaron

el proyecto Digital News Initiative (DNI), con el programa UE Content Intelligence, una iniciativa basada en un concepto más profundo y específico del Big Data.

Atresmedia

En el curso de estos años se registró en la empresa el cambio del presidente del Consejo de Administración, José Manuel Lara, que fue sustituido por José Creuheras en 2015.

En el grupo se había producido, ya en octubre de 2012, la integración de los canales de la Sexta con Antena 3 TV (cfr. Pascual, A. 2014). A partir de ese momento dio comienzo una nueva identidad corporativa Atresmedia que incluía siete canales de televisión, dos generalistas (Antena 3 y la Sexta), y cinco complementarias (Neox, Nova, Nitro, Xplora y la Sexta3) además de Gol TV que estaba en régimen de alquiler; tres emisoras de radio (Onda cero, Europa FM y Melodía FM); una productora cinematográfica (Atresmedia Cine), soportes digitales (Atresmedia digital) y una agencia de publicidad (Atresmedia Publicidad).

En 2013 nació la cadena Melodía FM y en aquel mismo año se lanzó Atres Player, para todos los dispositivos. Sin embargo, un año después, y como consecuencia del apagón analógico producido en 2010, Atresmedia perdió tres canales, Xplora, Nitro y LaSexta3.

En 2015 se produjo la convocatoria de un concurso para la asignación de las frecuencias que habían sido retiradas a los operadores de televisión en abierto por sentencia del Tribunal Supremo que decretó la devolución de las mismas con la consiguiente asignación de canales. El resultado final fue que se asignaron seis canales en total, uno de los cuales correspondió a Mediaset y otro a Atresmedia mientras que los otros cuatro (uno en alta definición y tres en definición estándar) fueron a parar, respectivamente, al Real Madrid, a 13TV S.A., a Radio Blanca S.A. y a Central Broadcaster Media S.L.U. (Cfr. BOE 28/10/2015).

En ese año entraron en funcionamiento Mega y Atreseries. En 2017 nació Atresmedia Studios y se adquirió Smart Clip,

Mediaset

Durante todo el período estudiado el presidente del Consejo de Administración del grupo Mediaset fue Alejandro Echevarría Busquets.

Desde que en 2011 se integrara en el Grupo la cadena Cuatro, con un bajo nivel de audiencia y problemas económicos, se empezó a formar el grupo de comunicación privado más potente del país: Mediaset España, que incluía Telecinco, Cuatro y el resto de cadenas del grupo nacidas de la TDT.

Esto trajo consigo algunos cambios importantes como el cierre de CNN Plus que se sustituyó por un programa Gran Hermano de 24 horas, es decir una cadena informativa fue sustituida por un reality. La cadena Cuatro aún perdió más audiencia, pero se consiguió restablecer la normalidad.

En lo que se refiere a la financiación, los ingresos de explotación disminuyeron en 2013 fundamentalmente a consecuencia de la caída registrada por los ingresos publicitarios, pese a que la mayor parte de los ingresos por el mercado publicitario a nivel global había correspondido a la televisión.

En 2015 el concurso para la asignación de las frecuencias afectó a este grupo, como se ha señalado.

3. 3. Evolución de las cifras de negocio y resultados

La evolución de las cifras de mercado de los grupos de Comunicación en los años sometidos a estudio fue la siguiente:

Prisa

Los ingresos de explotación del grupo Prisa fueron disminuyendo a lo largo de estos años de manera progresiva, y sus resultados registraron valores negativos en todos los años del período estudiado, tal como presenta la siguiente tabla.

TABLA 1		
Fecha	Ingresos de explotación (mil €)	Resultado del ejercicio (mil €)
2012	215.089	-685.793
2013	106.804	-596.576
2014	34.017	-912.696
2015	21.761	-5.162
2016	22.958	-1.298
2017	19.778	-131.598

Fuente: Bureau Van Dijk Electronic Publishing (Sabi, 2019 y elaboración propia).

Prisa, un grupo fuertemente endeudado, arrastraba una deuda que alcanzaba los 956 millones de euros y debía ser abonada a finales de 2018. Este lastre ponía en riesgo la misma viabilidad del grupo. La empresa acudió al endeudamiento bancario en una maniobra de rescate urgente en el año 2013; de esta manera pasaron a tener presencia directa en el capital principalmente el Banco de Santander, CaixaBank y HSBC.

El Consejo de Administración aprobó en enero del 2018 la firma de un acuerdo con la mayoría de los bancos acreedores del grupo. El acuerdo implicó que estas entidades capitalizaran

una parte de su deuda. Actualmente (2019), conservan el 4,1%, el 10% y aproximadamente el 1% de los títulos en su poder, respectivamente, valorados en unos 150 millones de euros.

En 2019 se hablaba en los medios especializados a la relación con los bancos que seguía manteniendo el grupo. En marzo de ese año, la deuda total de Prisa alcanzaba los 1.455 millones de euros. El último pacto rubricado recoge la extensión del vencimiento de la deuda hasta finales de 2022, es decir, una ampliación por cinco años. Además, no prevé amortizaciones obligatorias durante los tres primeros años, hasta diciembre de 2020, con un calendario de repago posterior ajustado a la generación de caja esperada de los negocios de Prisa. (ECD, 27/03/2019).

Vocento

Los ingresos de explotación del grupo Vocento tal como presentan la tabla 2 indica que el grupo empezó este período con una deuda financiera que al cierre del ejercicio 2013 se situaba en 149,3 millones de euros; ello no obstante continuaba con una generación de caja positiva.

TABLA 2		
Fecha	Ingresos de explotación (mil €)	Resultado del ejercicio (mil €)
2012	1.474	-45.554
2013	1.091	-17.183
2014	151.296	-9.962
2015	3.905	10.146
2016	2.532	-62.887
2017	105.412	-4.982

Fuente: Bureau Van Dijk Electronic Publishing (Sabi, 2019 y elaboración propia).

El grupo puso en marcha medidas extraordinarias para aligerar su balance con inversiones vinculadas al Plan de Eficiencia y desinversiones en activos no estratégicos. En febrero de 2014, firmó un préstamo sindicado de 175 millones de euros a cinco años, con el que logró reforzar su estructura financiera y prolongar el vencimiento de su deuda. En el informe anual del año 2013, Vocento explicaba que además de reducir su deuda había estabilizado los ingresos por publicidad y mejorado su rentabilidad.

El grupo cuenta también con entidades bancarias dentro de su accionariado. En concreto, el 3,9% de sus títulos está en manos de Santander Asset Management, mientras que el 3,3% lo posee el fondo soberano noruego Norges Bank (ECD, 27/03/2019).

Unidad Editorial

Los ingresos de explotación Unidad Editorial fueron disminuyendo a lo largo de estos años de manera progresiva; sus resultados registraron valores negativos en los dos primeros años del período estudiado, tal como presenta la tabla.

TABLA 3		
Fecha	Ingresos de explotación (mil €)	Resultado del ejercicio (mil €)
2012	237.869	-511.997
2013	219.191	-67.545
2014	228.939	37.353
2015	214.825	3.374
2016	203.888	26.557
2017	183.898	26.204

Fuente: Bureau Van Dijk Electronic Publishing (Sabi, 2019).

La tabla muestra la situación económica del grupo, al inicio de este período, en que se encontró al borde de la quiebra lo que motivó que la empresa RCS emprendiera una acción de rescate.

En consecuencia, el equipo de gestión de Unidad Editorial acometió una decidida apuesta por el ámbito digital que lógicamente tuvo su reflejo en las cuentas anuales. El Mundo centró su objetivo en el negocio digital, tal como hicieron también los demás medios impresos. De un modo u otro, la apuesta por el negocio digital obligó a aminorar la dependencia del llamado negociotradicional, como es la edición de periódicos y revistas en soporte papel.

La compañía italiana valoró favorablemente la política de contención de costes llevaba a cabo por el equipo de gestión.

Atresmedia Corporación de medios de comunicación

La situación financiera del grupo Atresmedia se mantuvo saneada a lo largo de todo el período. Sus ingresos de explotación fueron aumentando de manera progresiva y se obtuvieron beneficios en todos ellos, tal como presenta la tabla 4.

Durante todo el período analizado en este trabajo, el grupo obtuvo resultados positivos, y mantuvo una línea de constante crecimiento. Como ellos mismos indican "La positiva evolución que experimentó en esos años (...) fue una constante, mes a mes, en todos los canales. Es el éxito de un modelo contrastado, de una forma de entender la televisión como entretenimiento y también como negocio. La crisis nos lo ha puesto más difícil, pero no nos ha empujado a la inacción." (Memoria anual 2013).

TABLA 4		
Fecha	Ingresos de explotación (mil €)	Resultado del ejercicio (mil €)
2012	592.303	35.862
2013	678.109	34.468
2014	734.029	45.233
2015	801.799	89.503
2016	852.299	124.489
2017	858.716	137.292

Fuente: Bureau Van Dijk Electronic Publishing (Sabi, 2019).

Mediaset

Los ingresos de explotación de Mediaset se mantuvieron también en permanente crecimiento a lo largo del período de salida de la crisis. Es lo que muestra la tabla.

TABLA 5		
Fecha	Ingresos de explotación (mil €)	Resultado del ejercicio (mil €)
2012	715.807	64.492
2013	658.249	-8.594
2014	732.666	59.963
2015	765.398	167.404
2016	797.044	147.201
2017	805.921	164.666

Fuente: Bureau Van Dijk Electronic Publishing (Sabi, 2019).

En suma los resultados conjuntos de ingresos de explotación y resultados obtenidos por los grupos de comunicación españoles mientras el país salía de la crisis financiera los expresan las tablas 6 y 7:

3. 4. Principales medios de comunicación de cada grupo 2018

Los grupos que se seleccionaron para el estudio incluían, en el año 2018, los medios de comunicación que se relacionan a continuación según el informe de Ymedia 2019.

Prisa

Audiovisual Sport
Corporación Argentina de Radio
Diario As
Diario El País
Espacio Digital Editorial
Estructura G.E.Econ.
Grupo Latino de Radio

TABLA 6. EVOLUCIÓN DE LOS GRUPOS DE COMUNICACIÓN

AÑO	INGRESOS Y RESULTADOS	PRISA	VOCENTO	UNIDAD EDITORIAL	ATRESMEDIA	MEDIASET
2012	Ingresos	251.089	1.474	237.869	592.303	715.807
	Resultados	-685.793	-45.554	-511.997	35.862	64.492
2013	Ingresos	106.804	1.091	219.191	678.109	658.249
	Resultados	-596.576	-17.183	-67.545	34.468	-8.594
2014	Ingresos	34.017	151.296	228.939	734.029	732.666
	Resultados	-912.696	-9.962	37.353	45.233	59.963
2015	Ingresos	21.761	3.905	214.825	801.799	765.398
	Resultados	-5.162	10.146	3.374	89.503	167.444
2016	Ingresos	22.958	2.532	203.888	852.299	797.044
	Resultados	-1.298	-62.887	26.557	124.489	147.201
2017	Ingresos	19.778	105.412	183.898	858.716	805.921
	Resultados	-131.598	-4.982	26.204	137.292	164.666

Fuente: Bureau Van Dijk Electronic Publishing (SABI, 2019) y elaboración propia.

TABLA 7. SITUACIÓN DE LAS EMPRESAS AL COMIENZO Y FINAL DEL PERÍODO

	AÑO 2011		AÑO 2017	
	Ingresos de explotación	Resultados del ejercicio	Ingresos de explotación	Resultados del ejercicio
PRISA	178.587	-616.903	19.778	-131.598
VOCENTO	7.805	-17.029	105.412	-4.982
UNIDAD EDITORIAL	278.960	-377.809	183.898	26.204
ATRESMEDIA	633.453	96.184	858.716	137.292
MEDIASET	859.631	137.264	805.921	164.666

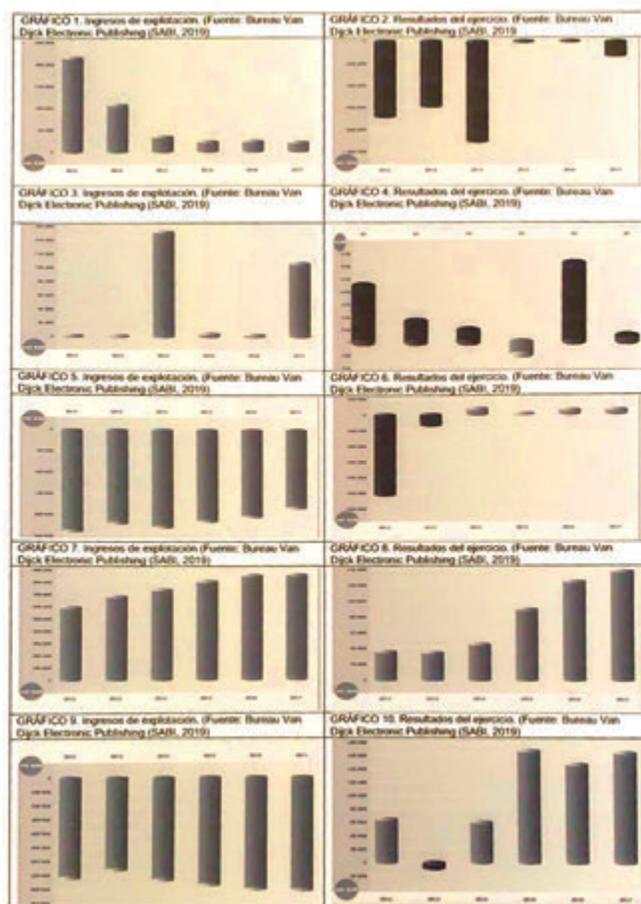
Fuente: Bureau Van Dijk Electronic Publishing (SABI, 2019) y elaboración propia.

Iberoamerican Radio Chile
Kiosko y Más
Media Capital (Portugal)
Meristation Magazine
Plural Entertainment
Prisa Brand Solutions
Prisa Radio
Prisa Tecnología
Progresa
Radio Zaragoza
Radiópolis (México)
SER

Vocento

ABC Sevilla
Autocasión Hoy

CM Vocento
Corporación de Medios de Andalucía
Corporación de Medios de Cádiz
Corporación de Medios de Extremadura
Diario ABC
Diario El Correo
Dinero Gelt
Editorial Cantabria
El Comercio
El Norte de Castilla
Federico Doménech
Habitsoft
Infoempleo
Inversor Ediciones



Fuente: Bureau Van Dijk Electronic Publishing (SABI, 2019).

Izen Producciones
 Kiosko y Más
 La Verdad Multimedia
 Nueva Rioja
 Prensa Malagueña
 Sdad. Vascongada de Publicaciones
 Serv. RedaccionalesBilbainos
 Sociedad Gestora de Televisión Net TV
 Sociedad Gestora de Televisión Onda 6
 Taller de Editores
 Veralia
 Veralia Distribución

Unidad Editorial

Ediciones Cónica
 Editora de Medios de Val. Ali. y Cast.
 Información Estadio Deportivo
 Rey Sol
 Unidad de Medios Digitales

Unidad Editorial Información Deportiva
 Unidad Editorial Información Económica
 Unidad Editorial Información General
 Unidad Editorial Información Regional
 Unidad Editorial Revistas
 Veo Televisión

Atresmedia

AtresAdvertising
 Atresmedia Televisión
 Aunia Publicidad Interactiva
 Floox Play
 Hola TV América
 Hola TV Latam
 Hola TV USA
 Smartclip
 Uniprex

Mediaset España

Ad4 Ventures
 Aunia Publicidad Interactiva
 Conecta 5
 La Fábrica de la Tele
 Megamedia TV
 Netsonic
 Producciones Mandarina
 Publiespaña
 Publimedia Gestión
 Supersport Televisión

4. CONCLUSIONES

La revisión del papel que la crisis financiera jugó para los grupos de comunicación en España, y las reflexiones sobre el grado en que ésta actuó como revulsivo para los grupos, permite destacar al menos las siguientes conclusiones:

Parece existir bastante consenso sobre el momento en que se comenzó a remontar el período de crisis; se establece este final en torno a 2014, si bien las opiniones son encontradas en este punto. Algunas evidencias obtenidas a lo largo de este trabajo permiten sin embargo aceptar esa posibilidad.

Los grupos Prisa, Vocento y Unidad Editoriales tuvieron fuertemente endeudados y no obtuvieron beneficios, a lo largo del período considerado. Mientras que Atresmedia y Mediaset mantuvieron unas economías saneadas con resultados positivos durante todos los años de este mismo período.

Los grupos endeudados (Prisa, Vocento, Unidad Editorial) consiguieron mantener su actividad por medio de diferentes procedimientos: por ejemplo, el grupo Prisa recurrió a la refinanciación por parte de los bancos y a los fondos de inversión acreedores; el grupo Unidad Editorial tuvo que ser rescatado por su grupo matriz RCS; y el grupo Vocento por medio también del recurso al préstamo bancario.

Otras iniciativas emprendidas con el fin de intentar superar las dificultades fueron: la venta por parte de Prisa del Grupo Santillana, y su posterior autocompra; y el cierre del diario Qué por parte del grupo Vocento.

El período estuvo marcado por el establecimiento de alianzas como la de Vocento con la Cope y fusiones como la de Antena3 con la Sexta (para formar el grupo Atresmedia) y la Cuatro con Telecinco (que daría origen a Mediaset).

Ya avanzada la crisis, los grupos de comunicación tomaron conciencia de la necesidad de diversificar sus actividades para mejorar sus beneficios. Todos ellos potenciaron su movimiento en medios digitales y reflejaron que la mejora de la inversión publicitaria fue el verdadero impulso del cambio de su situación.

Parece que la crisis en realidad sirvió como revulsivo para que los medios no quedaran estancados en sus actividades. Es importante dejar constancia del esfuerzo realizado en este sentido por los Grupos de comunicación españoles.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arrese Reca, Á. (2017). La crisis económica española: De la burbuja a la recuperación. *Nuevas tendencias*, ISSN 1139-8124, Nº. 99, págs. 9-14.
2. ATresmedia: Memorias anuales 2012-2018.
3. Base de Datos Sabi (2019) Bureau Van Dijk Electronic Publishing.
4. BOE, 28/10/2015.
5. La banca advierte a Podemos: si nos echáis de la prensa, habrá despidos masivos en una decena de medios. (2019, marzo, 27). *El Confidencial Digital (ECD)*. Recuperado de <https://www.elconfidencialdigital.com/articulo/dinero/banca-advierde-podemos-nos-echais-prensa-habra-despidos-masivos-decena-medios/20190326191313123468.html>
6. Fernández, E. (2019, julio, 23) Inversión publicitaria en Televisión. *El Mundo*. Recuperado de <https://www.elmundo.es/economia/empresas/2019/07/23/5d35d2e8fc6c8370118b468e.html>
7. Fundación Telefónica y Ariel (2017). *Sociedad Digital en España*. Madrid. Unigraf.
8. Mediaset: Memorias anuales 2012-2018.
9. Pascual, A. (2014) "La fusion de Antena 3 y La Sexta: análisis de la operación desde la perspectiva del Derecho de la Competencia" en repositorio. comillas.edu (ICAI-ICADE). Recuperado en 20/06/19.
10. Prisa: Memorias anuales 2012-2018.
11. Román Portas, M., & García González, A. (2013) Crisis económica y grupos de comunicación en España (2008-2012). *International Journal of Marketing, Communication and New Media*. 1-1, pp. 124-147. (España): ISSN 2182-9306. <http://u3isjournal.isvouga.pt/index.php/ijmcmn>.
12. The Horizon Reports (2018). Educause Publications.
13. Unidad Editorial: Memorias anuales 2012-2018.
14. Vocento: Memorias anuales 2012-2018.
15. Ymedia. <https://www.ymedia.es/es/mapa-de-medios>
16. Zarzalejos, A. G. (2019, julio, 10). Prisa estudia la salida a bolsa de Santillana, la joya de la corona del grupo. *El Confidencial (EC)*, 10/17/2019. Recuperado de https://www.elconfidencial.com/empresas/2019-07-10/prisa-salida-bolsa-santillana_2114643/

LOS ORÍGENES DE LA MEDICINA CIVIL MUNICIPAL EN VIGO

Fernando Domínguez Freire¹, Eloísa Arnillas Gómez²

¹Médico especialista en Urología. Hospital Álvaro Cunqueiro. Vigo. Doctor en Historia de la Ciencia por la Universidad de Santiago de Compostela.

²Médico especialista en Medicina Interna. Hospital Álvaro Cunqueiro. Vigo.

RESUMEN

El trabajo de investigación que presentamos estudia los orígenes de la medicina civil municipal en Vigo. Analizaremos el tema partiendo de las Instituciones de Caridad, pasando por las de Beneficencia, reservadas a los pobres, hasta llegar a las Asistenciales con cobertura poblacional mucho más generalizada.

Abordamos el socorro sanitario en Vigo, desde que se tienen noticias en la historiografía local, hasta el último tercio del siglo XIX, momento en el que, al amparo de la legislación vigente en todo el territorio español, surgieron los primeros recursos sanitarios de ámbito municipal. Extendemos el estudio hasta el primer tercio del siglo XX, momento en el que consideramos a la atención médica municipal, consolidada y reconocible a ojos de la medicina contemporánea.

Presentamos a los primeros profesionales e instituciones que se ocuparon del auxilio sanitario desde tiempos pretéritos, en los que Vigo, no era más que una pequeña villa marinera hasta que se convirtió en la ciudad más poblada de Galicia.

pioneros; la antisepsia, la asepsia, la anestesia y la hemostasia, se conoció el origen de las enfermedades, la radiología y las pruebas de laboratorio y se desarrollaron las primeras vacunas eficaces. En definitiva, se transformó y renovó la atención médica que, desde este momento, comenzaría a ser verdaderamente eficaz. Al mismo tiempo, la cirugía traspasó los límites establecidos por el dolor y la infección, permitiendo a los primeros cirujanos de la época acceder, con éxito, de forma sistematizada y sin prisas, a cavidades y localizaciones anatómicas como no se realizaba hasta ese momento.

Durante la Restauración, la sanidad viguesa va a dar un paso adelante en la asistencia médica. Inicialmente, de la mano de los profesionales más que desde las autoridades municipales, para finalizar el siglo sentando las bases de la sanidad pública contemporánea, con la puesta en funcionamiento, de dos instituciones claves en los orígenes de la medicina civil, el *Hospital de Elduayen* y el Laboratorio Municipal de Vigo. Este tránsito fue similar al camino que recorrieron la mayoría de localidades gallegas, empezando por Santiago de Compostela, centro cultural, eclesiástico y, por supuesto, médico de Galicia.

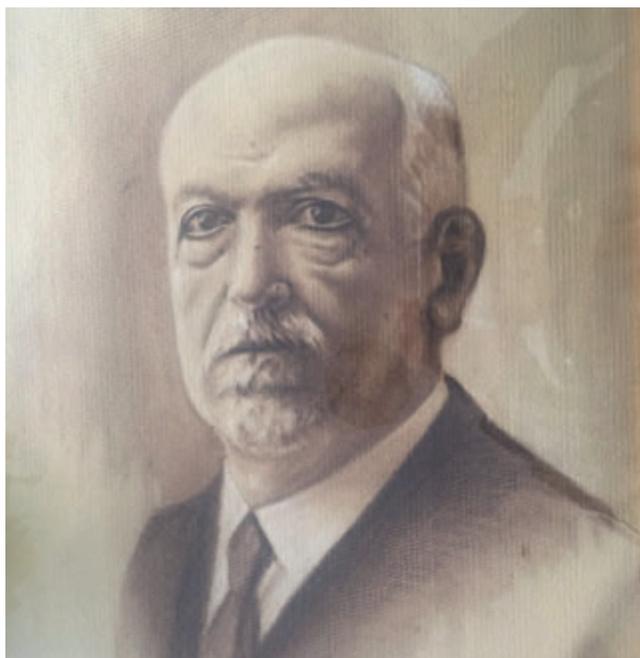
INTRODUCCIÓN

A lo largo del último tercio del siglo XIX se produjeron la mayoría de los grandes cambios de la historia de la medicina provocados por los extraordinarios avances en el conocimiento científico. Será en estos años cuando, en toda España, se implantaron, por la iniciativa de una serie de profesionales

SANIDAD MUNICIPAL EN ENTRESIGLOS

En Vigo, entre 1878 y 1880, se produjo la transición entre el ejercicio de los dos facultativos más relevantes del siglo XIX y el primer tercio del siglo XX. Nicolás Taboada Leal (1798-1883) y Enrique Lanzós Sánchez (1858-1930) quién, desde 1880,

incrementó progresivamente su participación en la sanidad civil municipal. Por su bagaje científico y actividad asistencial, Enrique Lanzós, debe ser considerado como el médico más relevante de la ciudad en el tránsito al siglo XX.



Enrique Lanzós Sánchez (1858-1930). Retrato del archivo familiar.

Conocemos el momento, pero no el motivo exacto por el que comenzó a ejercer en Vigo¹. Es probable que acudiese a la ciudad a instancias de alguno de los médicos que trabajaban en la población, compañeros de estudios y amigos, para asistir o realizar intervenciones en casos de especial complejidad o a requerimiento de pacientes que acudían a un profesional que, a pesar de su juventud, tenía un más que notable prestigio adquirido en sus primeros años de ejercicio en Santiago.

En abril de 1884, se estableció definitivamente en Vigo con un primer despacho en el nº 3 de la Plaza de la Constitución, encima del local ocupado por el Recreo Artístico, entidad social privada, famosa por sus bailes de sociedad.



Anuncio de la consulta del doctor Enrique Lanzós Sánchez. Faro de Vigo: 18 de abril de 1884.

Antes de la apertura de su despacho, ya existían referencias a distintos actos médicos, fundamentalmente operaciones, que situaban al joven cirujano con vinculaciones profesionales en la ciudad³.

El 5 de junio de 1884, llevó a cabo la primera intervención de envergadura, ya establecido en Vigo, se trataba de una talla vesical:

«El joven y aventajado médico-cirujano D. Enrique Lanzós Sánchez, recientemente establecido en esta población, ha practicado en la mañana de ayer, con asistencia de los profesores D. Javier Varela Sánchez y D. Victoriano Domínguez Coto, la difícil y delicada operación de la Talla a un individuo de 65 años de edad, a quien extrajo un voluminoso cálculo con la mayor lucidez y el más satisfactorio éxito. Siendo esta clase de enfermedades poco frecuentes en este país y debiéndose a ello sin duda el que en esta ciudad no se haya practicado otra operación igual hace muchos años, debemos felicitar a dicho señor Lanzós y demás profesores que le acompañaron en la operación de que hacemos mérito⁴.»

El texto de la reseña demuestra la importancia histórica de la intervención, que no se realizaba en ese momento, en toda España, nada más que en contadas ocasiones. La complejidad de este tipo de cirugía, asociada a una importante mortalidad, hizo que solo escogidos cirujanos se atreviesen a llevarla a cabo en esa época.

Son muchas las operaciones que demuestran el absoluto liderazgo concedido a Enrique Lanzós en Vigo. Era requerido, no solo en los establecimientos sanitarios, sino en los lugares más insospechados, a donde no dudaba en acudir para

¹ En diciembre de 1880, la prensa de Vigo, felicita al doctor Lanzós, al que califica de nuestro particular amigo por haber realizado la resección del maxilar superior a una mujer de 28 años. Faro de Vigo: 4 de diciembre de 1880. La misma intervención se describe en la prensa de Santiago con alguna modificación en los datos de la edad de la paciente, pero sin duda se trata de la misma intervención. En esta nota amplía la información comentando la realización no solo de la exéresis del tumor, sino de una importante reconstrucción de las fosas nasales, parte de la faringe y partes blandas afectadas por el tumor. Gaceta de Galicia: 2 de diciembre de 1880.

³ (...) Hemos tenido el gusto de saludar ayer al distinguido médico de Santiago, señor don Enrique Lanzós, quién se detendrá unos días en esta ciudad. Damos la bienvenida al Sr. Lanzós, a quien auguramos un buen resultado durante su permanencia en esta localidad. Faro de Vigo, 18 de febrero de 1882.

⁴ Faro de Vigo: 6 de junio de 1884.

tratar todo tipo de enfermedades, a requerimiento de otros facultativos que reconocían, en el joven cirujano, al más capaz para llevar a cabo el tratamiento de los casos más complejos. Así lo demuestra la siguiente nota de prensa:

«(...) A Vigo llegó al muelle de piedra remolcado por un vaporcito de pesca, un bote-canoa del vapor inglés "Amarapora" procedente de Manila y escalas destino a Liverpool con cargamento de azúcar y abacá. Su capitán Mr. Dean desembarca en Vigo con 5 tripulantes en un bote, con bandera amarilla y reclamó el auxilio de un facultativo para un herido que tenían a bordo después de haberle penetrado en la ingle a causa de la explosión, tras reventarle en el costado del barco un rifle con el que se entretenía en tirar a los pájaros. El director de la inspección sanitaria del puerto, Dr. Gil Villanueva acompañado del Dr. Lanzós embarcaron en un bote, y en el barco fondeado al final de la ría, llevaron a cabo la operación. Le aplicaron el cloroformo y procedieron a la extracción del proyectil, que consiguieron a los pocos minutos. El estado final del tripulante es bueno. Después del directorio que dieron al herido los facultativos, siguió a Liverpool el "Amarapora"⁵.»

La originalidad de la atención a bordo, la etiología de la lesión y el elegante uso del idioma dan forma a un genial acto médico, fiel reflejo de la época que le tocó vivir.

A la luz de los hechos documentados, el brillante discípulo de los principales cirujanos compostelanos⁶, inició una exitosa práctica de la cirugía desde sus primeros años de licenciatura y rápidamente adquirió un gran reconocimiento y prestigio entre sus compañeros. Con él, sin duda, la medicina de Vigo pasó de lo antiguo a lo moderno; inicialmente desde el ejercicio privado, para comenzar enseguida a participar en la sanidad municipal.

En esta época el ejercicio de la medicina y la cirugía era general, en toda la extensión de la palabra, de manera que encontramos numerosas referencias a actos médicos de nuestro protagonista, en casos de especial relevancia⁷. Además de ser médico de cabecera de destacados personajes, llevar a cabo las más destacadas intervenciones en la ciudad e incluso practicar la medicina forense, pronto desempeñó cargos en la medicina municipal. Desde 1887, lo encontramos formando parte de las Juntas locales de Sanidad que periódicamente convocaba la corporación municipal y, desde 1897, fue el director médico del *Hospital de Elduayen* y posteriormente de los *Pabellones Sanitarios*. Todo ello le convirtió en el interlocutor más válido ante cualquier crisis o cuestión sanitaria que se planteó en Vigo.

Recursos municipales de la sanidad de Vigo en el último tercio del XIX

A lo largo de la década de los 80, la atención médica municipal viguesa estaba en manos de los médicos titulares del ayuntamiento que se encargaban de asistir a los más desfavorecidos repartidos por zonas. Además, la corporación nombró un subdelegado de Sanidad del partido judicial que, en 1886 era Vicente Fernández Dios⁸ y, en 1889, ocupaba el cargo interinamente Nicolás Iglesias Vázquez⁹. Un Inspector de Higiene municipal denominado médico higienista, cargo que recaía sobre uno de los titulares completaba los cargos del concejo¹⁰.

En ese momento la población tan solo contaba con el *Hospital de la Caridad*, ubicado en el antiguo convento de San Francisco. Sin embargo, la necesidad de un hospital civil era una aspiración de la sociedad viguesa. En mayo de 1884, la sección editorial de *Faro de Vigo*, titulada Hospital Civil ponía de manifiesto el sentir de la población¹¹: «En la época

⁵ *Faro de Vigo*: 13 de abril de 1893.

⁶ Fue discípulo de Timoteo Sánchez Freire (1832-1912) catedrático de Patología General y su Clínica, Anatomía Patológica y Patología Quirúrgica, entre 1871 y 1906, en Santiago de Compostela y Maximino Teijeiro Fernández (1827-1900) que alternó las mismas cátedras en distintos años y, además, fue rector de la Universidad en dos ocasiones. Domínguez Freire (2018) *De la antisepsia a los Pabellones Sanitarios*. Ed: Instituto de Estudios Vigueses. pp 340-342.

⁷ En marzo de 1886, atiende como médico de cabecera a Victorio Guedes Infante, cónsul de Portugal en Galicia, quien fallece a consecuencia de una hemorragia cerebral en el Hotel Continental. La repatriación del cuerpo del diplomático exigió el embalsamamiento del cadáver, que llevó a cabo el doctor Lanzós, acompañado del subdelegado de Medicina del ayuntamiento Vicente Fernández Dios. Expediente instruido para poder trasladar, a Oporto, el cuerpo del cónsul de Portugal. Archivo Municipal de Vigo. Caja San-Ben 2.

⁸ Expedientes de traslado de cadáveres del cónsul de Portugal (1886) y de Manuel de Cea y Gándara, comendador de la Orden americana de Isabel la Católica (1887). AMV. Marzo de 1886 y octubre de 1887. Caja San-Ben 2

⁹ Expediente de autorización de traslado del cadáver de Manuel Giraldez al cementerio de Camos para ser exhumado en el cementerio. AMV. 1 de octubre de 1889. Caja San-Ben 2.

¹⁰ Sabemos que, en 1889, el higienista era Manuel Guerra Álvarez. Expediente de autorización al Instituto de vacunación del Dr. Moreira para vacunar directamente de la ternera. AMV. 2 de junio de 1889. Caja San-Ben 2.

¹¹ *Faro de Vigo*: 1 de mayo de 1884.

actual nadie desconoce que la necesidad de esta clase de establecimientos se impone por sí misma siendo su reconocida utilidad de todo punto indiscutible (...)».

La aspiración se amparaba en la Ley de Beneficencia que, en su artículo 24, establecía: «en las capitales de provincia y en todos aquellos pueblos en los que lo permitan los fondos propios cuidará el Gobierno de que haya hospital público para la curación de los enfermos que no puedan ser asistidos en sus casas».

A continuación, se enumeraba el evidente panorama de progreso y crecimiento de la ciudad y exponía la manifiesta necesidad del centro, ya que tenía una población con anchas y espaciosas calles, bellos edificios, numerosos y modernos hoteles, dos hermosos teatros, proyectos de ensanche, muelles, línea férrea, puente internacional y vías de comunicación terrestre con la meseta. Pues bien, a pesar de todo esto, decía el editorial: «Vigo no tiene un Hospital civil y es absolutamente indispensable que piense en tenerlo porque respecto a hospitales podemos asegurar que carece de ellos»¹².

Existía un establecimiento militar instalado en una casa particular de ruinoso aspecto cuya existencia dependía en buena parte de la voluntad de su propietario y en otra del propio Gobierno que ya había intentado, en varias ocasiones, suprimirlo.

Finalizaba el alegato de la editorial:

«Cuando el forastero que visite a Vigo después de admirar sus buenos paseos, elegantes construcciones y espléndidos hoteles, os pregunte donde se cobija el infeliz anciano, donde se cura el pobre enfermo, y le contestéis que no existe una casa de Caridad con arreglo a los adelantos modernos; al regresar a sus hogares dirá que Vigo es una buena población; pero no podrá decir que es una población caritativa siéndolo como ninguna».

En realidad, sí que existía un *Hospital de la Caridad*, pero evidentemente muy alejado de lo que se esperaba de una instalación adecuada para la práctica de la medicina, heredero de las instituciones de la Edad Moderna, retrasado en el continente y en el contenido. Es muy demostrativo el hecho de que no se nombre a esta institución en el editorial,

posiblemente porque en la mente de la sociedad viguesa se contemplaba el vetusto hospital más como una institución caritativa, asociada a su labor como hospicio, que a su función sanitaria.

En su defensa es necesario comentar que, a pesar de la precariedad de sus instalaciones, la atención médica no se limitó a elementales cuidados de enfermería y cuarto de socorro; merced a la iniciativa de los médicos del momento, se llegaron a realizar intervenciones no exentas de complejidad¹³. Todavía tendría que esperar doce largos años la ciudad para contar con el primer nosocomio civil municipal, el *Hospital de Elduayen*¹⁴.



Convento de San Francisco y sus huertas, donde se ubicó la Casa de la Caridad, en una panorámica de la playa del Berbés con el edificio del Matadero en su extremo. Dibujo de J. Ruíz en La Ilustración Gallega y Asturiana, nº del 8 de agosto de 1881.

La sanidad municipal tiene en el año 1895, un antes y un después en sus orígenes. Hasta ese año, los médicos titulares intentaron, con escasos medios y retribuciones, atender las necesidades de los más desfavorecidos. Durante 1894, el ayuntamiento inauguró en la Plaza de la Constitución el *Cuarto de Socorro*, encargado de asistir a las urgencias que se pudiesen presentar en la ciudad.

Sin duda ya podemos hablar de una planificación sanitaria desde las autoridades municipales, que excede a los sectores más desfavorecidos de la sociedad, extendiéndose a todo aquel vecino o transeúnte que precisase asistencia médica. Esto ya parece más asistencia institucionalizada que Beneficencia, si

¹² El Hospital Militar de Vigo, en esa época estaba ubicado en el antiguo convento de Ntra. Sra de los Remedios, fundado por Inés Pérez de Ceta en 1550, en el barrio del Arenal. Ya en el siglo XIX, al mismo tiempo que el exconvento de San Francisco se convirtió en Casa de Beneficencia, otra RO convirtió el exconvento de Religiosas en Hospital Militar. Rodríguez Paz, M. (2000). Santa María de Vigo. La Iglesia madre de la ciudad. La Concatedral. Cofradía del Santísimo Cristo de la Victoria.

¹³ En noviembre de 1899, Enrique Lanzós llevó a cabo la primera laparotomía documentada en un hospital de Vigo. Domínguez Freire (2018) op.cit.

¹⁴ Inaugurado el 23 de enero de 1896. Ibídem.

bien el nombre de Hospital aun suscitaba rechazo en clases medias y altas.

Este proceso se consolidó al año siguiente, cuando surge el Colegio Médico-Farmacéutico, antecedente de los actuales colegios de médicos. De su seno; con la abierta colaboración de una corporación municipal, nutrida por la presencia de hasta cinco médicos, presidida por Marcelino Astray Caneda como alcalde y Luis Ozores Camino como 1º teniente de alcalde; vieron la luz el Laboratorio Municipal, el *Hospital de Elduayen*, el Cuarto de Socoro y la Cruz Roja de Vigo.

Fue en este momento, diciembre de 1895, cuando definitivamente se sentaron los orígenes de la medicina civil municipal en la ciudad.

RESULTADOS

Trayectoria de la atención sanitaria hasta el siglo XX.

1. Contextualización de las diferentes etapas y modos de pensar en la asistencia sanitaria de la villa marinera de Vigo antes, durante y después de transformarse en la ciudad con mayor potencial demográfico e industrial de la Galicia decimonónica.

Desde la Edad Media hasta la Edad Moderna la asistencia sanitaria en Vigo, al igual que en toda España, se llevó a cabo en recintos o establecimientos muy rudimentarios, con un marcado carácter asilar. Los vacíos documentales y las ausencias que deterioraron la calidad de los datos recabados dificultan el estudio retrospectivo.

Como línea general sí podemos afirmar que la atención médica fue esencialmente caritativa, atendiendo a los pobres y a los peregrinos en sencillos recintos vinculados a órdenes religiosas.

Durante los siglos XVII y XVIII se atendió, con criterios sociales más que médicos, a los necesitados, entre los que estaban los enfermos.

A lo largo del primer tercio del siglo XIX, cuando la Iglesia sufrió los procesos de desamortización de sus posesiones, se modificó drásticamente el modelo de asistencia social. Surgió entonces un nuevo modelo de Beneficencia pública, en la que las autoridades civiles siguiendo el pensamiento ilustrado y

bajo la influencia de la Constitución de 1812, tomaron el relevo en la gestión de los recintos benéficos.

En esta nueva forma de pensar y gobernar, las administraciones locales, Ayuntamiento y Diputación provincial, desempeñaron un destacado papel. La Beneficencia, entendida como un servicio público, creó la Junta Local de Sanidad y sustituyó a la Junta de Caridad que, desde los inicios del ochocientos, ya venía funcionando.

Por el camino surgieron organismos y establecimientos vinculados a la sanidad marítima. La Junta de Sanidad del puerto y el Lazareto de San Simón (1842).

En los inicios del siglo XX, la legislación encargada de ordenar el arte de curar, tras años de inestabilidad, obtuvo sosiego y consenso con la Instrucción General de Sanidad (1904).

Los hospitales dejan de tener un carácter peyorativo, basados en la caridad cristiana y pasan a ser instituciones civiles asistenciales, separadas de la beneficencia pública.

2. Respuestas planteadas a las necesidades sanitarias de la ciudad hasta el último tercio del siglo XIX: rudimentos y primeros establecimientos hospitalarios.

Al final de la baja Edad Media y el inicio del Renacimiento es cuando existen las primeras referencias a recintos hospitalarios en Vigo, concretamente, además de los monasterios de Coruxo y Bembrive, se habla de un hospital para peregrinos en Castrelos.

Ya en el siglo XVI, Francisco de Ávila y la Cueva (1789-1859) recoge la primera referencia documentada a un nosocomio al hablar de la visita pastoral al hospital y la cofradía de la *Magdalena* en abril de 1559. Posteriormente hay constancia de la existencia del mismo hospital, arrasado por Drake en 1589, al que se sumó, más adelante, un segundo establecimiento para peregrinos llamado *Espíritu Santo*. Ambos se fusionaron, sumando sus escasas rentas en 1616, en un solo establecimiento, el *Hospital de Pobres y obra pía de la villa de Vigo*¹⁵.

Entre 1616 y 1839, el nosocomio, que funcionó como institución única, respondió a las características propias de los recintos hospitalarios de la Edad Moderna.

Hasta el 1800, subsistió como pudo, bajo el mismo régimen de censos, rentas y limosnas, heredado de sus orígenes. Desde

¹⁵ Sobre la asistencia sanitaria en los siglos XVI y XVII véase Domínguez Freire (2020). *Evolución del pensamiento médico de entre siglos (1878-1932) en Galicia: de la caridad a la asistencia. El caso de Vigo*. Universidad de Santiago de Compostela.

1802, ya encontramos referencias a este establecimiento bajo la denominación de *Hospital de la Caridad*, lo que se puede interpretar como una evidencia del cambio de mentalidad en la asistencia sanitaria que tendría lugar a finales de la centuria.

En 1819, el Obispo de Tuy firmó la enajenación del recinto que pasó a titularidad municipal tras 200 años de vinculación eclesiástica.

Durante el primer tercio del siglo XIX el recinto, pasó de casa en casa, cada cual más necesitada de reformas y obras de mantenimiento, sin referencias a la asistencia médica.

La ciudad carecía de recintos sanitarios y los pobres enfermos fueron más que atendidos, alojados, por la Junta de Caridad.

La situación se mantuvo hasta junio de 1839, cuando la Junta de Beneficencia demandó al Ministerio de Gobernación la cesión del antiguo Convento de Santa Marta para función de Hospital de la Caridad.

Entre 1840 y 1868, pocos cambios tuvieron lugar en el establecimiento. Dedicó camas para el ingreso de pobres enfermos y transeúntes desvalidos, en unas enfermerías separadas por sexo, atendido por los médicos titulares. Durante ese período, el subdelegado de sanidad del ayuntamiento fue Nicolás Taboada Leal, que ejerció como médico del establecimiento hasta la década de los setenta.

En marzo de 1868, se incorporaron a la casa de la Beneficencia de Vigo, cuatro Hijas de la Caridad de San Vicente de Paul. A partir de ese momento se fundó la Casa de la Caridad-Hogar San José. Sus enfermerías hicieron de cuarto de socorro en unas ocasiones y de hospital siempre, no solo para los acogidos y los enfermos del Ayuntamiento, sino para todos los que lo necesitaron.

3. Primeros profesionales que trabajaron en esos nosocomios.

Los primeros profesionales que trabajaron en estos recintos fueron los médicos titulares de Vigo.

El primero que hemos podido documentar fue Juan de Leses, en 1724¹⁶.

Hasta el último tercio del XIX el más destacado de los médicos fue Nicolás Taboada Leal, con actividad en la sanidad municipal entre 1828 y 1877.

A partir de 1880, Enrique Lanzós Sánchez encarnó la transformación de la atención médica en Vigo, incorporando los espectaculares avances de la medicina y sustituyendo a Taboada Leal como facultativo más destacado hasta el primer tercio del siglo XX.

A lo largo del primer tercio del XX se incorporaron los primeros especialistas. Waldo Gil Santóstegui, Enrique Lloria Despau, Manuel Cobas Núñez, Eugenio Arbones Castellanzuelo, Nicolás Paz Pardo, Manuel Millán Millán, José Troncoso Domínguez, Manuel Amoedo Seoane, Cándido Rasilla, Ramón González Sierra, Miguel Rodríguez Fernández-Vila, José Ramón de Castro y los hermanos Rafael y Ramón Álvarez Nóvoa, fueron los más destacados.

4. Los orígenes de la medicina civil municipal en la ciudad de Vigo

Sin duda, el año 1895 constituyó, un antes y un después, en la historia de la medicina civil de Vigo. Hasta ese momento la población carecía de una organización sanitaria estable y mucho menos eficaz.

Impulsados por la corporación encabezada por Marcelino Astray y Caneda, surgieron, la Academia Médico-Farmacéutica, órgano precursor del Colegio Médico y, a continuación, el Laboratorio Municipal, el Cuarto de Socorro, el *Hospital Elduayen* y la Cruz Roja de Vigo. Estos recintos fueron los pilares sobre los que se originó la medicina civil en Vigo.

A juzgar por el número y calidad de los aspirantes, las plazas de médico de los establecimientos mencionados eran atractivas.

Los méritos aportados por los candidatos, hablan de profesionales con experiencia quirúrgica, algunos en campañas militares y, la mayoría, con actividad en hospitales clínicos y departamentos quirúrgicos universitarios.

Las convocatorias excedieron el ámbito gallego. La procedencia de pretendientes, desde provincias muy alejadas de Vigo, las convirtió en un asunto de interés médico, a nivel nacional.

Todo ello demuestra el prestigio alcanzado por la sanidad municipal.

La actividad de los hospitales municipales vigueses fue similar a la que se desarrolló en otras localidades gallegas, si bien la idiosincrasia del desarrollo urbano olívico fue la causa del retraso encontrado en la aparición de los primeros nosocomios civiles.

¹⁶ Archivo Histórico Diocesano de Tui. Fondo Oficio Torre. Serie: Hospital Vigo. 1725-1730.

Las principales ciudades y capitales de provincia gallegas durante el siglo XVIII ya contaban con recintos más relevantes. El ejemplo paradigmático de lo ocurrido en Vigo, en otra ciudad gallega, fue el de Ferrol.

El desarrollo urbano en Ferrol tuvo lugar a mediados del siglo XVIII. Hasta entonces, no había sido más que una pequeña villa de pescadores y no dejó de crecer hasta convertirse en el núcleo más poblado, no solo de Galicia sino de todo el norte atlántico, con 25.000 habitantes en 1787 (Censo de Floridablanca). Precedida por la sanidad militar, la civil, acuciada por limitaciones económicas, creó de la mano de la hermandad del mismo nombre el Hospital de la Caridad. A lo largo del siglo XX, Vigo repitió este camino. Un siglo más tarde y con menor impacto de la sanidad militar, se convirtió en la ciudad más poblada de Galicia.

La comparación permite establecer conclusiones:

- El Hospital de Vigo fue un recinto muy pequeño en relación con los de ciudades similares.
- Tanto las capitales de provincia como núcleos urbanos, con importante presencia militar, disfrutaron de establecimientos mucho mejor dotados.
- Esto, se pone de manifiesto al cuantificar las estancias anuales. Mientras en Vigo, entre 1896 y 1932, las estancias medias fueron 365 (Domínguez Freire 2020), en Santiago se contaban por miles. En Ferrol y en Orense, un siglo antes, ya tenían estancias similares a las de Vigo.



Edificio de la EMAO de Vigo, obra de Michael Pacewicz, donado por José García Barbón en donde estuvo ubicado el Laboratorio Municipal de Vigo entre 1900 y 1953. Postal de Hauser y Menet.

- A lo largo del siglo XIX, el pensamiento médico en la ciudad evolucionó al mismo tiempo que en otras localidades españolas, pero partiendo con el retraso mencionado. A medida que se produjo el desarrollo urbano se completó el recorrido desde la Caridad, pasando por la Beneficencia hasta llegar a la Asistencia institucional.

Los Sanatorios Municipales fueron, desde 1896, los recintos civiles que aglutinaron la atención médica especializada en Vigo. A pesar de ser el único establecimiento desde finales del siglo XIX durante 26 años, el *Hospital de Elduayen* pasó de puntillas en la historia de la ciudad que, en el imaginario de la población identifica a los Pabellones Sanitarios como el primer hospital municipal.

5. Realidad de la medicina civil municipal en el primer tercio del siglo XX.

En 1932, la sanidad municipal en Vigo tiene recursos suficientes, personal estable y locales adecuados para ser reconocida desde el punto de vista actual.

Funcionaban: el Hospital Municipal, el Cuarto de Socorro, los Dispensarios antituberculoso y antivenéreo y el Laboratorio Municipal. También contaban con servicios médicos, la Gota de Leche, el Dispensario de Higiene infantil, el Preventorio Femenino "*Matilde Huichi*" y el departamento de Sanidad del Puerto. Poco después se sumaría el Hospital antituberculoso del Rebullón.

El ayuntamiento disponía de 7 médicos titulares a los que se sumaban dos inspectores médicos del Laboratorio y el tocólogo del Cuarto de Socorro.

En el Hospital se incorporaron medios complementarios, laboratorio propio y servicio de radiología. Las plantillas se incrementaron con médicos especialistas, enfermería bien formada, comadronas, practicantes y auxiliares que ayudaban a las hijas de la Caridad.

Existían órganos colegiados de médicos, el Colegio comarcal de Vigo y la Academia Médico-Quirúrgica pronto se pondría en funcionamiento.

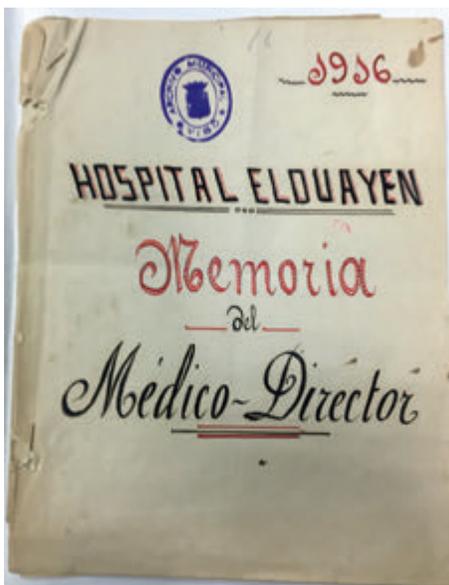
En 1932, encontramos una completa relación de tarifas para procedimientos quirúrgicos que se realizaban en el Hospital Municipal¹⁷, su contenido avala nuestra hipótesis. Sin duda, en ese año, la medicina que se practicaba en Vigo era reconocible y madura.

¹⁷ Acta de la sesión extraordinaria de la Junta de Gobierno de los Pabellones Sanitarios. AMV. 16 de noviembre de 1932. Caja San-Ben 11.

CONCLUSIONES

Al mismo tiempo que el pensamiento social evolucionó desde la caridad a la asistencia institucional, el pensamiento científico generalista avanzó al especializado.

La población viguesa decimonónica hizo suya la idea de que la sanidad no es solo un concepto privado sino público, en el que interviene toda la sociedad. Fue este cambio, esta evolución positiva del pensamiento médico, el motor de la medicina civil municipal que se originó a finales del XIX y se consolidó en el primer tercio del siglo XX.



Portada de la memoria del Médico-Director del Hospital de Elduayen correspondiente al año 1916. Archivo Municipal de Vigo. Cajas San-Ben.



Papeleta de ingreso en el Hospital Elduayen. Año 1897. Firmada por el alcalde Antonio López de Neira. Archivo Histórico de la Estructura Organizativa de Xestión Integrada de Vigo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Álvarez Blázquez, J. M^º (1960). La ciudad y los días. Calendario histórico de Vigo. Ediciones Monterrey.
2. Ávila y la Cueva, F. (1998). *Cuaderno de noticias muy curiosas para la Iglesia Colegiata de Vigo*. Edición facsímil conmemorativo del V centenario de la Colegiata. Edita: Concello de Vigo.
3. Bonet Correa, A. (2000). *Las ciudades gallegas en el siglo XIX*, en Carballo Calero, M. V. (coordinadora). *Arte y ciudad. Ámbitos medieval, moderno y contemporáneo*. Coruña, Fundación Caixa Galicia (Departamento de Publicaciones y Documentación), 2000. pp 178 a 200.
4. Carasa Soto, P. (1985). *El sistema hospitalario español en el siglo XIX. De la asistencia benéfica al modelo sanitario actual*. Edita Universidad de Valladolid.
5. De la Peña Santos, P. (2001). *Cruz Roja, un siglo en la historia de Vigo*. Ed: IEV. Vigo.
6. Domínguez Freire, F. (2018). *De la antisepsia a los Pabellones Sanitarios. El doctor Enrique Lanzós Sánchez (1858-1930)*. Ed: IEV. Vigo.
7. Domínguez Freire, F. (2020). *Evolución del pensamiento médico de entresiglos (1878-1932) en Galicia: de la caridad a la asistencia sanitaria. El caso de Vigo*. USC.
8. Domínguez Freire, F. (2021). *Origen y trayectoria del Laboratorio Municipal de Vigo. Una institución centenaria*. Ed: IEV. En prensa.
9. Espinosa Rodríguez, J. (2003). *Tierras do Fragoso, notas para la historia de Vigo y su comarca. Edición facsímil*. Ed: IEV. Vigo.
10. Franco Grande, A. (2014). *La medicina compostelana (1847-1950). Retazos históricos*. Ed: Andavira. Santiago de Compostela.
11. Granjel, L. S. (1986). *Medicina Española Contemporánea*. En: *Historia General de la Medicina Española*. Tomo V. Salamanca. Universidad. pp. 47-48.
12. Laín Entralgo, P. (1990). *Historia de la Medicina*. Editorial Salvat.
13. Ponte Hernando, F. J. (2012). *Dr. Ángel Baltar Cortés (1868-1934) Maestro de cirujanos*. Ed: In Éditor.
14. Ponte Hernando, F.J., y Rego Lijó, I. (2012). *La locura y el bisturí (I Centenario de don Timoteo Sánchez Freire)*. Ed: Seminario Mayor Compostelano, USC.
15. Rey Castelao, O., y Barreiro Mallón, B. (1999). *Pobres, Peregrinos y Enfermos. La red asistencial gallega en el Antiguo Régimen*. Santiago de Compostela. Consorcio de Santiago/ Nigra Arte.
16. Rodríguez Elías, A. (1949). *Historia de Vigo*. Obra inédita.
17. Rodríguez Paz, M. (2000). *Santa María de Vigo. (La iglesia, madre de la ciudad, la Concatedral, la cofradía del Cristo de la Victoria)*. Ed: Cofradía del Santísimo Cristo de la Victoria.
18. Taboada Leal, N. (1840). *Descripción topográfica-histórica de la ciudad de Vigo, su ría y alrededores: con una noticia biográfica de varios hombres ilustres hijos del país*. Ed: Imprenta de la Viuda e Hijos de Compañel.
19. VV.AA. (1980). *Vigo en su historia*. Ed: Caja de Ahorros Municipal de Vigo.
20. Vázquez Gil, L. (1996). *Dende o Elduayen ó Nicolás Peña (un século e algo máis de historia hospitalaria)*.

AGUAS TERMALES, ARCILLAS Y ALGAS COMO INGREDIENTES EN LA COSMÉTICA TERMAL

María Lourdes Mourelle Mosqueira^{1,2}, José Luis Legido Soto^{1,2}, Carmen Paula Gómez Pérez^{1,2}

¹ CINBIO, Universidade de Vigo, España.

² Dpto. Física Aplicada, Facultad de Ciencias del Mar, Universidade de Vigo, Campus Universitario Vigo. España.

RESUMEN

En este trabajo se muestra la descripción del término cosmético y sus variantes como cosmético termal, cosmeceútico y, por otro lado, se presentan los principales ingredientes utilizados en la cosmética termal como son el agua mineromedicinal, las arcillas y las algas. Estas materias primas son descritas, destacando la riqueza en oligoelementos y minerales de las aguas termales, las propiedades absorbentes y renovadoras celulares de las arcillas y peloides, así como, la gran diversidad de moléculas bioactivas de las algas, microalgas y cianobacterias.

INTRODUCCIÓN

La piel es el órgano más grande del cuerpo y actúa como barrera de protección frente a agentes físicos, químicos o microbiológicos. Pero la piel no es únicamente una cubierta protectora, sino que posee importantes funciones defensivas, termorreguladoras, metabólicas, excretoras y sensoriales. Una de las principales funciones defensivas de la piel es mantener la homeostasis mediante la prevención de la pérdida de agua transepidermica (Transepidermal water loss, TEWL), iones y proteínas séricas desde el organismo hacia el medioambiente que la rodea. La epidermis, la capa más externa, es la primera barrera, pero no es absolutamente impermeable a las sustancias que se aplican sobre la superficie cutánea. En esta barrera

cutánea de la epidermis se destaca la capa más externa, la capa córnea, que es la que ejerce las principales funciones protectoras. Está constituida por células (queratinocitos) unidas mediante bicapas lipídicas de las que depende la mayor o menor penetración. La integridad de esta capa es fundamental para mantener el equilibrio hídrico, y alteraciones cutáneas como la piel muy seca, la xerosis o ciertas patologías como algunas dermatitis están relacionadas con la alteración de la misma.

Por otra parte, también se ha demostrado que el paso de agua al exterior depende de la integridad del estrato córneo de la epidermis, de ahí la importancia de una buena salud cutánea, pero también de la protección adecuada y reparación de la barrera cuando, por distintas circunstancias, se daña.

Los cosméticos son productos destinados a la mejora de la estructura, morfología y apariencia del órgano cutáneo con la ayuda de excipientes e ingredientes activos adaptados a los distintos tipos de piel (normal, grasa, mixta, etc.). Cuando la piel es sensible o presenta alteraciones tales como eritema, xerosis, descamación, etc., asociada frecuentemente a sensaciones de picor, rubor o tirantez, los cosméticos convencionales no son suficientes y se hace necesario el empleo de formulaciones específicas adaptadas a sus necesidades, exentas de sustancias que puedan producir reacciones adversas. Es por ello que, en los últimos años, el sector de la cosmética natural y la cosmética termal han experimentado un importante crecimiento.

La historia del uso de los cosméticos es tan antigua como el ser humano. Se dispone de evidencias de su gran importancia en las antiguas civilizaciones, como ocurre en Egipto, en cuyas ciudades como Tebas, Luxor, Heliópolis o Edfú se crearon auténticos emporios comerciales de cosmético (figura 1). Se usaban aceites, resinas, diversas plantas, grasas, khol, alheña, etc.



Figura 1. Recipiente para cosméticos del antiguo Egipto (1504-1492 BC).

El uso de los cosméticos pasa a Oriente y Grecia, con establecimientos especializados en los que los productos eran aplicados por sirvientes y ya se describe la profesión de kosmetes, directamente vinculada con el cuidado de la belleza y el cuerpo. Los productos usados son similares, a los que se añade aceites de flores, colorantes vegetales y minerales, depilatorios a base de arsénico y plomo, etc.

En Roma se consolida definitivamente la cosmética y, además de los sirvientes, ya existían figuras especializadas, como las cosmetriae y las ornatrices, encargadas de su aplicación, así como de otros cuidados de belleza y peluquería. También abundaban las tiendas especializadas en la venta de cosméticos y perfumes. Se utilizan numerosas plantas, arcillas, pastas depilatorias, colorantes para dar rubor, etc.

La Edad Media se destaca por el desarrollo de una perfumería incipiente y por la gran influencia de la aportación de los países árabes, con amplio uso de mirra, incienso, aceites, zumo de uva, gomas, etc.

En el Renacimiento, la intensa vida social favorece el empleo de aceites y cosméticos, con gran desarrollo de la alquimia, que mejoró los sistemas de destilación para obtener aceites esenciales, extractos, etc.

En el siglo XVII comienza la Edad de Oro de la cosmética, que se consolida en el siglo XVIII, con perfumes, colorantes, polvos de perla, cremas y pomadas de todo tipo, y cuidados de las cejas y pestañas.

En los siglos XIX y XX la cosmética se especializaba, adquiriendo garantía industrial, con gran variedad de leches, cremas, jabones, cold-cream, agua de colonia, maquillajes, etc. A partir de este momento interviene también la publicidad y las técnicas de marketing, popularizándose el uso de los cosméticos en todos los estamentos sociales.

La industria cosmética es uno de los sectores más potentes en España y la comercialización de productos cosméticos aumenta cada año. Según los datos de STANPA (Asociación Nacional de Perfumería y Cosmética), en España, el sector de la cosmética es líder, con un mercado de 8.200 millones de euros y un crecimiento del +2,6% en 2019. Cada persona usa al día entre 7 y 9 productos cosméticos y compra alrededor de 28 al año, siendo el gasto medio 170 € al año.

CONCEPTO DE COSMÉTICO Y COSMECÉUTICO

Los productos cosméticos están regulados por las legislaciones española y europea que se citan a continuación y las modificaciones y actualizaciones posteriores:

- Real Decreto 85/2018, de 23 de febrero por el que se regulan los productos cosméticos.
- Reglamento (CE) N° 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de noviembre de 2009, sobre los productos cosméticos.

En ellas se define el producto cosmético como:

“Toda sustancia o mezcla destinada a ser puesta en contacto con las partes superficiales del cuerpo humano (epidermis, sistemas capilar y piloso, labios, uñas y órganos genitales externos) o con los dientes y las mucosas bucales, con el fin exclusivo o principal de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto,

protegerlos, mantenerlos en buen estado o corregir los olores corporales.”

Además de la regulación específica para cosméticos, las legislaciones europea y española contemplan otros productos para el cuidado de la piel, denominados “productos de higiene personal” que se definen como:

“Se entenderá por productos de higiene personal todas las sustancias o preparados que, sin tener la consideración legal de cosméticos, biocidas, productos sanitarios o medicamentos, están destinados a ser aplicados sobre la piel, dientes o mucosas del cuerpo humano con la finalidad de higiene o de estética, o para neutralizar o eliminar ectoparásitos, tales como dentífricos, productos de estética, pediculicidas, hidratantes vaginales, limpiadores anales en caso de hemorroides, productos para el masaje deportivo, limpiadores nasales o limpiadores oculares, o cualquier otro producto que pueda ser calificado como tal”.

Para el registro y comercialización de este tipo de productos se requieren ensayos adicionales y en el etiquetado deberá figurar el número de registro sanitario y la composición cuantitativa de los componentes activos.

El concepto de **cosmécéutico** es más reciente. Aunque el término no tiene aún reconocimiento oficial, puede definirse como *“Cosmetic products with biologically active ingredients purporting to have medical or drug-like benefits”*.

El término fue acuñado por Raymond Reed (miembro fundador de la Sociedad Americana de Químicos Cosméticos) en 1961, aunque fue Albert Kligman quien lo popularizó a finales de los años 70. Actualmente, se busca demostrar la eficacia y seguridad de estos productos para que sean reconocidos por las autoridades sanitarias.

Asimismo, también se hace referencia con cierta frecuencia a los “cosméticos dermatológicos” para referirse a aquellos productos que, sin ser medicamentos, se utilizan en la práctica profesional de la dermatología para la mejora del bienestar de la piel; tal es el caso de los productos de higiene para tratar infecciones y sobreinfecciones cutáneas, los productos hidratantes para pieles intolerantes o con sequedad severa, filtros solares, maquillajes correctores para alteraciones como el vitiligo, etc. Un ejemplo son los cosméticos elaborados con aguas termales.

De igual manera es preciso mencionar que en otros países existe una categoría adicional de productos cosméticos,

que son los *quasi-drug* o **cosméticos OTC** (*over the counter*), los cuales se caracterizan porque “modifican la fisiología del individuo”. En esta categoría se incluyen productos para el control del olor corporal, blanqueadores dentales y ungüentos antiinflamatorios, entre otros. En Japón y Korea también se comercializan *quasi-drugs*, diferenciándolos de los productos cosméticos convencionales.

Un producto cosmético se puede considerar que está formado por dos partes: la parte externa (embalaje o *packaging*, etiquetado, etc.) y la parte interna, que son los componentes o ingredientes de un cosmético.

La parte interna es la fundamental, la que define el tipo de cosmético, sus ingredientes, forma cosmética, funciones y usos, pero no lo es menos la parte externa, que debe cumplir unos requisitos de etiquetado (tal como marca la legislación) y que además sirve como instrumento de marketing y comunicación (figura 2).



Figura 2. Formatos de envasado de cosméticos.

Cosméticos termales

Se usa la denominación cosmética termal para los productos elaborados a partir de aguas minero-medicinales, que se aplican sobre la piel con el fin de mejorar sus propiedades de hidratación, flexibilidad y elasticidad, pero también buscando el efecto antiflogístico, calmante, desensibilizante, cicatrizante y antioxidante (antirradicales

libres). Dado que esta definición excede la establecida en el Real Decreto 85/2018 sobre productos cosméticos, así como las Directivas Europeas al respecto, se ha propuesto la denominación "Cosmética Dermatológica Termal" (Mejjide y Mourelle, 2006).

Actualmente, este término se ha convertido en genérico para denominar a los productos que están formulados con agua termal, pero también agua de mar o sus derivados (cosmética marina), junto con arcillas y peloides usados en el ámbito de la salud y el bienestar en balnearios, centros de talasoterapia y spas.

CLASIFICACIÓN DE LOS COSMÉTICOS

Las empresas cosméticas agrupan los productos que comercializan de muy distintas maneras atendiendo a las necesidades y demandas de sus clientes y a criterios comerciales.

Esta clasificación puede atender a distintos criterios como la función, la composición, la forma cosmética, el público al que van dirigidos, su lugar de aplicación, etc. Algunos ejemplos son:

- Zona de aplicación: cosméticos para los ojos, para las uñas, para la cavidad bucal, etc.
- Función que realizan: cosméticos de higiene, de protección solar, de maquillaje, etc.
- Personas para las que están indicados: cosmética masculina, para niños, para pieles jóvenes, para edad madura, etc.
- Tipos de piel: cosméticos para pieles sensibles, para pieles atópicas, para pieles grasas, etc.
- Excipiente: cosméticos en polvo, líquidos, en crema, etc.

En Química cosmética, se establecen grupos de cosméticos en función del excipiente y la forma cosmética final que se obtiene. Así, se distinguen:

- Sistemas dispersos homogéneos: disoluciones y disoluciones coloidales.
- Sistemas dispersos: geles, emulsiones y suspensiones.

De sistemas dispersos homogéneos, las diluciones pueden ser hidrófilas o lipófilas. En las hidrófilas, el principal disolvente es el agua, por ejemplo, soluciones acuosas

como lociones o tónicos herbales, aunque también puede ser soluciones hidroalcohólicas, como las usadas para la elaboración de aguas de colonia y lociones para después del afeitado, entre otras. Asimismo, pueden ser hidroglicólicas (ser mezclas de agua y un glicol). Las lipófilas son mezclas de aceites, generalmente de origen vegetal, que se usan como aceites emolientes, limpiadores, de masaje, etc.

Si las moléculas de soluto son muy grandes o se mantienen en grupos, nos encontramos con otro tipo de disoluciones en las que la luz no se dispersa bien y no son soluciones transparentes sino turbias, denominadas soluciones coloidales. Se consideran coloides cuando el tamaño de la partícula oscila entre 50 y 200 Amstrong (A). Si la disolución contiene gran cantidad de soluto de tamaño de partícula grande puede ser bastante viscosa porque las partículas tienden a unirse unas con otras y no fluyen libremente. Este tipo de disoluciones aportan viscosidad a los preparados.

Los sistemas dispersos están formados por dos fases: una fase dispersante, que es continua y generalmente líquida o gas y una fase dispersa, es decir, las partículas dispersas en el seno de la fase dispersante; es discontinua y puede ser sólida o líquida.

Los más utilizados en cosmética se resumen en la tabla 1.

TABLA 1. TIPOS DE DISPERSIONES

Tipos de dispersiones	Estado de las fases		Ejemplos
	Fase dispersante	Fase dispersa	
Emulsiones	Líquido	Líquido	Cremas
Suspensiones	Líquido	Sólido	Bases de maquillaje
Aerosoles	Gas	Líquido	Desodorante en aerosol
	Gas	Sólido	Champú seco
Espumas	Líquido	Gas	Espuma de afeitar

Si el coloide está muy concentrado no fluirá bien y se tratará de un gel. Esta propiedad de los geles se aplica en cosmética para hacer formulaciones de fácil aplicación que no resbalen sobre la superficie la piel. Cuando el tamaño de la partícula es de más de 2000 A, el sistema será una suspensión. Si el sistema está formado por dos o más líquidos no miscibles nos encontramos con una emulsión. Los aerosoles y espumas se caracterizan porque una de sus fases en un gas (Sabater y Mourelle, 2020).

INGREDIENTES DE LOS COSMÉTICOS

Los cosméticos pueden contener gran número de ingredientes y muy variados, de distinta naturaleza y con distintas propiedades.

Los ingredientes (también denominados materias primas en la jerga profesional) se suelen clasificar según la función que ejercen en el cosmético en cuatro grupos principales: principios activos, excipiente o vehículo, correctores y aditivos: conservantes, colorantes y perfumes.

Los principios activos, ingredientes activos o sustancias activas son los ingredientes responsables de realizar la función a la que está destinado el cosmético. Pueden ser de origen animal (cada vez menos frecuente, como la cera de abejas o la lanolina); de origen vegetal (aceites y extractos de plantas); minerales, que se usan como pigmentos en los maquillajes y filtros solares (óxidos de hierro, dióxido de titanio, etc.), y de síntesis, con una gran variedad de compuestos, que se usan como emulgentes, espesantes, etc.

El excipiente o vehículo se considera uno de los sistemas más importantes del preparado cosmético ya que es el medio portador de las sustancias activas, facilitando las interacciones de éstas con la piel y que el activo pueda ser eficaz o no (biodisponibilidad). Se clasifican por su forma física en sólidos (povos de maquillaje, barras de labios, etc.), líquidos (lociones y tónicos, perfumes y aguas de colonia, etc.) y semifluidos (leches y cremas).

Para conseguir una óptima estabilidad y aceptabilidad del cosmético, al excipiente se añaden correctores, que pueden ser de diverso tipo: agentes reológicos o de consistencia (carbómeros, gomas), reguladores de pH (ácidos orgánicos), cosolventes (etanol), solubilizantes (tensioactivos), componentes de relleno (en cosmética decorativa, los pigmentos blancos) o quelantes (derivados del EDTA).

Dentro de los aditivos, los conservantes y antioxidantes son imprescindibles para evitar el deterioro del cosmético; no así los colorantes, si se exceptúa la cosmética decorativa y, en el caso de los perfumes, generalmente se usan para mejorar los aspectos sensoriales (Sabater y Mourelle, 2020).

EL PAPEL DE LAS AGUAS TERMALES EN LOS COSMÉTICOS

El uso del agua está ligado a la existencia del ser humano y ha sido utilizada en muchas religiones para purificar, en rituales, incluso en algunas culturas se le atribuían poderes

sobrenaturales. En 1632, Ludovic Rowzee redactó una serie de enfermedades que podrían ser tratadas con agua mineromedicinal. Fue en este siglo cuando muchos balnearios alcanzaron gran prestigio como los de Vichy o Montecatini. Ya en el siglo XIX estos centros de “descanso y curación” a través de sus aguas eran lugares atractivos para los visitantes que además de buscar un tratamiento para sus dolencias se encontraban con centros de ocio y encuentro social (Nunes y Tamura, 2012).

La terapia termal es conocida universalmente y desde la antigüedad y ha sido utilizada ampliamente por médicos en todo el mundo. El uso del agua mineromedicinal o termal ha sido propuesto como una alternativa segura y natural para el tratamiento de muchas enfermedades y la mejora de la calidad de vida. La actividad antibiótica, queratolítica, anti-inflamatoria y antifúngica de estas aguas ha sido estudiada y probada por muchos autores (Nunes y Tamura, 2012, Khalilzadeh *et al.*, 2019).

La industria francesa cosmética ha sido pionera en la introducción de productos minerales con efectos biológicos, antioxidantes, hidratantes y anti-inflamatorios en cosmética (Nunes y Tamura, 2012). Así, las aguas minerales se han usado como ingredientes activos en diferentes cosméticos (figura 3). Su actividad biológica depende directamente de la composición iónica que posea dicha agua. Varios autores han abordado la permeabilidad de la piel a los iones, tanto *in vitro* (Paweloszek, 2016; Chandrasekaran, 2016) como en ensayos clínicos (Waring, 2014), demostrando que el paso dérmico e incluso transdérmico de iones es posible bajo ciertas condiciones (Tarnowska, 2020).



Figura 3. Formatos de envasado de aguas termales y cosméticos.

Los productos dermocosméticos termales basan sus propiedades en las acciones de las aguas mineromedicinales (MM) a partir de las cuales se formulan. Aunque las aguas MM más usadas son las de baja mineralización, sobre

todo bicarbonatadas, también se utilizan las sulfuradas y cloruradas. Teniendo en cuenta que cada agua MM es única, también lo serían los dermocosméticos que a partir de ellas se elaboren. En la tabla 2 se resumen los principales minerales y oligoelementos de las aguas MM y sus acciones sobre la piel.

Para la elaboración de cosméticos dermotermales es preciso estudiar con detalle su composición, realizando un análisis químico completo en el que se incluyan elementos traza, que pueden ser un elemento diferenciador (Mourelle *et al.*, 2015). Existen algunos inconvenientes que se deben tener en cuenta, como la presencia de hierro que puede alterar el producto final cosmético, o la elevada mineralización del algún tipo de agua MM, que, en algunos casos, hará necesario reducir la cantidad de agua total presente en la mezcla y en el cosmético final. Otro aspecto que se debe considerar es la microbiota propia del agua minero-medicinal, que si bien desde el punto de vista terapéutico es interesante, no lo es desde el punto de vista de la elaboración de cosméticos. Se hace, pues, necesario utilizar un sistema que, sin modificar la composición química del agua MM, permita disminuir esta carga microbiana a niveles aceptables para la formulación cosmética (Mourelle *et al.*, 2015).

ARCILLAS EN LA COSMÉTICA TERMAL

El uso de arcillas en cosmética se remonta a la antigüedad usándose sobre la piel con distintas funciones como protector, limpieza o mascarás de color (Carretero, 2002; Viseras *et al.*, 2019; Gomes y Silva, 2007). Entre las arcillas más usadas podemos destacar Caolines, Esmectitas, Montmorillonitas, Talcos, Palygorskitas y Sepiolitas (Dias *et al.*, 2017; Viseras *et al.*, 2007; Carretero y Pozo, 2010).

Las arcillas presentan propiedades de gran interés en cosmética (Daneluz *et al.*, 2020; Dias *et al.*, 2017; Carretero y Pozo, 2010; López-Galindo, 2007) como son: protectoras de la piel, con gran poder absorbente de agentes superficiales, opacificante de la superficie, renovadoras celulares, con poder antiséptico, colorantes, estabilizantes y como excipientes.

Las arcillas se pueden aplicar fundamentalmente sobre la piel (Viseras *et al.*, 2007), pero además también se usan sobre las uñas, labios, dientes y sobre el sistema capilar. La aplicación de las arcillas para limpieza capilar es muy habitual en la zona del Magreb (Khiari *et al.*, 2014; Gubitosa *et al.*, 2019), en esta zona es muy conocida la arcilla Rhassoul.

Las arcillas pueden formar parte de cosméticos preparados como geles, hidrogeles, cremas, emulsiones, mascarillas,

champús, barras de labios, sombra de ojos y dentífricos (Viseras *et al.*, 2007; Dias *et al.*, 2017; Beringhs *et al.* 2013) (figura 4).

En cosmética termal las arcillas se encuentran en la mayoría de los peloides (Gomes *et al.*, 2013) que son mezclas heterogéneas de una fase mineral y/o orgánica mezclada con agua minero-mineral que después de un proceso de maduración en la que pueden intervenir microorganismos de aplican sobre la piel en los centros termales. Los peloides se pueden aplicar como baños, envolvimientos y emplastos, y son bien conocidos sus buenos resultados en dermatitis, por ejemplo.



Figura 4. Muestra de arcillas empleadas en cosmética.

EL POTENCIAL DE LAS ALGAS Y MICROALGAS EN EL SECTOR COSMÉTICO

Los recursos de origen marino, especialmente las macroalgas, han sido fuente de sustancias activas en cosmética desde hace muchos años. Además, actualmente se investiga en el uso de compuestos de las microalgas, tanto de origen marino como de agua dulce, incluyendo las aguas termales. Se incluyen, además, en esta revisión las cianobacterias, aunque no pertenezcan al grupo de las microalgas (Mourelle *et al.*, 2017).

Desde antiguo se han usado los polisacáridos como agar-agar, alginatos y carragenatos como espesantes en las formulaciones cosméticas, pero actualmente el interés se ha centrado en componentes bioactivos para la prevención del envejecimiento, la hidratación, la protección solar, tratamientos reductores y desintoxicantes cutáneos, etc., todo ello fortalecido por la tendencia al uso de productos de origen natural (cosméticos bio, ecológicos u orgánicos) (Mourelle *et al.*, 2021).

Las algas, microalgas y cianobacterias proporcionan numerosos activos y otros ingredientes para la industria alimentaria, de complementos nutricionales y la cosmética; así, las macroalgas son fuente de minerales, vitaminas, polisacáridos, ácidos grasos poliinsaturados y polifenoles; las microalgas proporcionan pigmentos, principalmente carotenoides, y vitaminas; y las cianobacterias son ricas en proteínas y pigmentos.

TABLA 2. ELEMENTOS MINERALES Y OLIGOELEMENTOS CON ACCIONES SOBRE LA PIEL

Elemento químico	Acciones sobre la piel
Calcio	Acción sobre las proteínas reguladoras de las divisiones celulares: la calmodulina y la CRAB (Cellular Retinoic Acid Binding protein). Acción catalizadora de las enzimas de diferenciación: transglutaminasa, proteasa y fosfolipasas. Indispensable para la regulación de la permeabilidad de las membranas celulares. Regulación de la proliferación y diferenciación de los queratinocitos.
Azufre	Regenerador celular, queratolítico/queratoplástico (dependiendo de la dosis). Antibacteriano, antifúngico.
Magnesio	En concentraciones de 5×10^{-4} inhibe la síntesis de algunas poliaminas que están involucradas en la patogénesis de la psoriasis, y su reducción por el magnesio mejora la enfermedad. Antiinflamatorio, antiflogístico. Cataliza la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. Cataliza la producción de ATP. Produce sedación en el sistema nervioso central.
Cloruro	Equilibrio hídrico de los tejidos.
Sodio	Equilibrio hídrico de los tejidos.
Potasio	Síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, producción de energía.
Fósforo	Actúa sobre el metabolismo de las membranas celulares.
Yodo	Antiséptico.
Selenio	A dosis pequeñas, promueve la síntesis de ADN y crecimiento celular. Antioxidante, antiinflamatorio, protector frente a la radiación UVA y B.
Aluminio	Favorece la cicatrización.
Cobre	Antiinflamatorio, mantenimiento del sistema inmunológico.
Cromo	Activador enzimático.
Flúor	Aporte de energía en los queratinocitos.
Manganeso	Modulador del sistema inmunitario.
Níquel	Estimula el desarrollo celular de los tejidos.
Zinc	Antioxidante, preventivo del envejecimiento, cicatrización y regeneración de los tejidos cutáneos.
Silicio	Interviene en la síntesis de colágeno y elastina y en el metabolismo celular. Está presente en forma de sílice coloidal en muchas de las aguas minerales utilizadas en dermatología. Tiene un efecto dermoabrasivo sobre las placas psoriásicas y efecto emoliente.

Tomado de: Meijide, R., y Mourelle, M. L., 2006. Afecciones dermatológicas y cosmética dermotermal.
En: Hernández Torres, A. (Coord.). Técnicas y Tecnologías de Hidrología Médica e Hidroterapia.
Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Instituto Carlos III. Madrid, 2006, pp. 175-194.

De las especies algales investigadas, destacan las especies *Chondrus crispus*, *Codium tomentosum*, *Undaria pinnatifida*, *Durvillaea antarctica*, *Ascophyllum nodosum*, *Polysiphonia lanosa*, *Asparagopsis armata* y *Ecklonia cava*. De las microalgas y cianobacterias, los más estudiados son los géneros *Chlorella* y *Arthrospira*.

Entre las sustancias bioactivas, se pueden establecer grupos según su potencial interés en la formulación de cosméticos y cosmeceúticos para diversos usos, como hidratantes, productos para la prevención del envejecimiento, protectores solares y despigmentantes (Mourelle *et al.*, 2021).

Los polisacáridos, principalmente el fucoidan, laminarano y porphyran, se usan como ingredientes antienvjecimiento, ya que estimulan el fibroblasto y la deposición de matriz extracelular, además de la cicatrización de heridas (Sellimi *et al.* 2018; Isaka *et al.*, 2015); de este grupo también se usan los agar-oligosacáridos, carragenan-oligosacáridos, carragenan-oligosacáridos, alginatos, carragenatos y ulvanos como hidratantes (Song *et al.*, 2014 Pereira *et al.*, 2018). Además, el β -1,3-Glucan puede actuar como potenciador del sistema inmune, aspecto de gran interés en el cuidado de las pieles sensibles (Koller *et al.*, 2014).

Los fenoles y polifenoles son ampliamente conocidos en cosmética por su poder antioxidante; en el caso de las algas, son los florotaninos (como phloroglucinol, eckol y dieckol), así como los bromofenoles, las moléculas que han mostrado esta capacidad antioxidante y por tanto se usan en productos para la prevención del envejecimiento (Liu *et al.*, 2017).

De los pigmentos, los más clásicos usados en cosméticos son las clorofilas a, b, que se usan como colorantes y para enmascarar olores en dentífricos y desodorantes; además, otros carotenoides como β -carotenos, astaxantina, ficocianobilinas y ficoeritrobilinas actúan como despigmentantes, inhibiendo la síntesis de la melanina (Borowitzka *et al.*, 2013); y la fucoxantina puede ejercer una acción protectora frente al fotoenvejecimiento, ya que es un ROS scavenger y, además, estimula la reparación de la proteína filagrina (y por tanto de la barrera cutánea) (Matsui *et al.*, 2016).

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y otros lípidos también tienen interés en cosmética ya que son buenos emolientes, reparan la barrera epidérmica y ejercen una protección frente a la excesiva pérdida de agua transepidérmica (TEWL); los ácidos araquidónico y eicosapentaenoico ejercen acciones calmantes y

restauradoras de la piel, antiinflamatorias, antialérgicas y potenciadoras del sistema inmune (Łęska *et al.*, 2018).

Los aminoácidos y proteínas de las algas y microalgas también se usan en cosmética, sobre todo por su acción hidratante. Así, los aminoácidos alanina, serina, prolina, histidina, tirosina y triptófano actúan como agentes hidratantes (Pereira *et al.*, 2018); la taurina (ácido 2-aminoetanesulfónico) como ROS scavenger y con acción protectora frente al estrés oxidativo (Widiastuti & Khairani, 2018); y los aminoácidos micosporine-like como protectores solares y frente al fotoenvejecimiento (Suh *et al.*, 2017).

Otros compuestos de interés son la ectoína, que es un osmoprotector (hidratación cutánea), y ejerce acciones como la protección inmunitaria, la protección frente a la luz UV y, además, mejora la piel inflamada (Guillerme *et al.*, 2017); las vitaminas C, D y E ejercen acción antioxidante; el ácido pantoténico es cicatrizante (Kobayashi *et al.*, 2011); y los microelementos: Zn, Mg, Cu, I, Fe, Mn y los macroelementos: Ca, Na, K, Cl actúan como acondicionadores cutáneos (Mourelle *et al.*, 2015; Pereira *et al.*, 2018).

Los extractos de las algas citadas anteriormente se usan ampliamente en cosmética, con diversas acciones, ya sea hidratantes, despigmentantes, preventivas del envejecimiento, antiinflamatorias, etc. Presentan la ventaja de que se pueden incluir en formulaciones líquidas (lociones) o en sistemas dispersos como las emulsiones, ya que son solubles en la fase acuosa, aunque, en algunos casos, como especies del género *Fucus*, se utilizan también extractos o macerados lipídicos (figura 5).



Figura 5. Mascarilla formulada con algas.

CONCLUSIÓN

En conclusión, las aguas termales, las arcillas, las algas y microalgas son de gran interés en la formulación de cosméticos ya que aportan valor añadido, ya sea por su riqueza en macro y microminerales, o por su gran contenido en sustancias bioactivas, con numerosas acciones sobre la piel, con la ventaja de que son productos de origen natural, con una gran compatibilidad cutánea y fáciles de introducir en las formulaciones.

AGRADECIMIENTOS

Esta publicación científica fue financiada por las ayudas para la acreditación, estructuración y mejora de centros de investigación singulares y agrupaciones estratégicas consolidadas del Sistema universitario de Galicia, cuya financiación procede de la Unión Europea a través del Fondo Europeo de Desarrollo Regional en un 80%, y un 20% restante de la Xunta de Galicia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adrien, A.; Bonnet, A.; Dufour, D.; Baudouin, S.; Maugard, T., & Bridiau, N. 2017. Pilot production of ulvans from *Ulva* sp. and their effects on hyaluronan and collagen production in cultured dermal fibroblasts. *Carbohydr. Polym.* 157: 1306-1314.
2. Allwood, M. C., & Kearney, M. C. 1998. Compatibility and stability of additives in parenteral nutrition admixtures. *Nutrition*, 14 (9): 697-706.
3. Anderson, C., & MacKay, M. 2016. Physical compatibility of calcium chloride and sodium glycerophosphate in pediatric parenteral nutrition solutions. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 40 (8): 1166-1169.
4. Bedoux, A.; Hardouin, K.; Burlot, A. S., & Bourgougnon, N. 2014. Bioactive components from seaweeds: cosmetic applications and future development. *Adv. Bot. Res.* 71: 345-378.
5. Beringsh, A. O. R.; Rosa, J. M.; Stulzer, H. K.; Budal, R. M.; Sonaglio, D. 2013. Green clay and aloe vera peel-off facial masks: response surface methodology applied to the formulation design. *AAPS PharmSciTech*, 14: 445-455.
6. Borowitzka, M. A. 2013. High-value products from microalgae-their development and commercialisation. *J. Appl. Phycol.*, 25: 743-756.
7. Bule, M. H.; Ahmed, I.; Maqbool, F.; Bilal, M.; Iqbal, H. M. N. 2018. Microalgae as a source of high-value bioactive compounds. *Frontiers In Biosc. Scholar*, 10: 197-216.
8. Carretero, M. I. 2002. Clay minerals and their beneficial effects upon human health: a review. *Applied Clay Science*, 21(3-4):155-163.
9. Carretero, M. I. y Pozo, M. 2010. Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical and cosmetic industries Part II. Active ingredients. *App. Clay Sci.*, 47: 171-181.
10. Chandrasekaran, N. C.; Sanchez, W. Y.; Mohammed, Y. H.; Grice, J. E.; Roberts, M. S., and Barnard, R. T. 2016. Permeation of topically applied magnesium ions through humanskin is facilitated by hair follicles. *Magnes. Res.* 29, 35-42.
11. Chrapusta, E.; Kaminski, A.; Duchnik, K.; Bober, B.; Adamski, M., & Bialczyk, J. 2017. Mycosporine-Like Amino Acids: Potential Health and Beauty Ingredients. *Mar. Drugs* 15 (10): 326.
12. Couteau, C., & Coiffard, L. 2016. Seaweed Application in Cosmetics. In: Levine & Fleurence (Eds.). *Seaweed in Health and Disease Prevention* (pp. 423-441). Nantes, France. Academic Press.
13. Daneluz, J.; da Silva Favero, J.; dos Santos, V.; Weiss-Angelia, V.; Bonan Gomes, L.; SampaioMexias, A.; Pérez Bergmann, C. 2020. The Influence of Different Concentrations of a Natural Clay Material as Active Principle in Cosmetic Formulations. *Materials Research*. 23 (2): e20190572.
14. De Vos, P. 2010. European materiamedica in historical texts: longevity of a tradition and implications for future use. *J. Ethnopharmacol.*, 132: 28-47.
15. Dias Moraes, J. D.; Alina Bertolino, S. R.; Cuffini, S. L.; Ducart, D. F.; Bretzke, P. E.; Ricci Leonardia, G. 2017. Clay minerals: Properties and applications to dermocosmetic products and perspectives of natural raw materials for therapeutic purposes-A review. *International Journal of Pharmaceutics*. 534: 213-219.

16. Draelos Z. D. 2014. Cosmeceuticals. Efficacy and Influence on Skin Tone. *Dermatol. Clin.* 32: 137-143.
17. Gomes, C.; Carretero, M. I.; Pozo, M.; Maraver, F.; Cantista, P.; Armijo, F.; Legido, J. L.; Teixeira, F.; Rautureau, M.; Delgado, R. 2013. Peloids and pelotherapy: Historical evolution, classification and glossary. *Applied Clay Science*, 75: 28-38.
18. Gomes, C. S. F., y Silva, J. B. P. 2007. Minerals and clay minerals in medical geology. *Applied Clay Science*. 36: 4-21.
19. Gubitosa, J.; Rizzi, V.; Fini, P.; Cosma, P. 2019. Hair Care Cosmetics: From Traditional Shampoo to Solid Clay and Herbal Shampoo, A Review. *Cosmetics*, 6: 13-29.
20. Guillaume, J-B.; Couteau, C., & Coiffard, L. 2017. Applications for Marine Resources in Cosmetics. *Cosmetics*, 4 (3): 35.
21. Isaka, S.; Cho, K.; Nakazono, S.; Abu, R.; Ueno, M.; Kim, D. & Oda, T. 2015. Antioxidant and anti-inflammatory activities of porphyran isolated from discolored nori (*Porphyraezoensis*). *Int. J. Biol. Macromol.*, 74: 68-75.
22. Ismaiel, M. M. S.; El-Ayouty, Y. M., & Piercey-Normore, M. D. 2014. Antioxidants characterization in selected cyanobacteria. *Ann Microbiol.*, 64 (3): 1223-1230.
23. Khalilzadeh, S.; Shirbeigi, L.; Naghizadeh, A. 2019. Use of mineral waters in the treatment of psoriasis: Perspectives of Persian and conventional medicine. *Dermatologic Therapy*. 32: e12969. DOI: 10.1111/dth.12969.
24. Khiari, I.; Mefteh, S.; Sánchez-Espejo, R.; Cerezo, P.; Aguzzi, C.; López-Galindo, A.; Jamoussi, F.; Viseras Iborra, C. 2014. Study of traditional Tunisian medina clays used in therapeutic and cosmetic mud-packs *Applied Clay Science* 101: 141-148.
25. Kim, J. H.; Lee, J.-E.; Kim, K. H., & Kang, N. J. 2018. Beneficial Effects of Marine Algae-Derived Carbohydrates for Skin Health. *Mar. Drugs*, 16 (11): 459.
26. Kim, S-K.; Ravichandran, Y. D.; Khan, S. B.; Kim Y. T. 2008. Prospective of the Cosmeceuticals Derived from Marine Organisms. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13 (5): 511-523.
27. Kobayashi, D.; Kusama, M.; Onda, M., & Nakahata, N. 2011. The Effect of Pantothenic Acid Deficiency on Keratinocyte Proliferation and the Synthesis of Keratinocyte Growth Factor and Collagen in Fibroblast. *J. Pharmacol. Sci.*, 115 (2): 230-234.
28. Koller, M.; Muhr, A., & Braunegg, G. 2014. Microalgae as versatile cellular factories for valued products. *Algal Research*, 6: 52-63.
29. Łęska, B.; Messyasz, B., & Schroeder, G. 2018. Application of Algae Biomass and Algae Extracts in Cosmetic Formulations. In: Chojnacka, K.; Wiczorek, P.; Schroeder, G.; Michalak I. (Eds) *Algae Biomass: Characteristics and Applications. Developments in Applied Phycology*. 8. ISBN 978-3-319-74702-6. DOI 10.1007/978-3-39-74703-3.
30. Liu, X.; Yuan, W.; Sharma-Shivappa, R.; Van Zanten, J. 2017. Antioxidant activity of phlorotannins from brown algae. November 2017 *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* 10 (6): 184-191.
31. López-Galindo, A.; Viseras, C.; Cerezo, P. 2007. Compositional, technical and safety specifications of clays to be used as pharmaceutical and cosmetic products *Applied Clay Science* 36: 51-63.
32. Matsui, M.; Tanaka, K.; Higashiguchi, N.; Okawa, H.; Yamada, Y.; Tanaka, K.; Taira, S.; Aoyama, T.; Takaniishi, M., & Natsume, C. 2016. Protective and therapeutic effects of fucoxanthin against sunburn caused by UV irradiation. *J. Pharmacol. Sci.*, 132: 55-64.
33. Meijide, R., y Mourelle, M. L. 2006. Afecciones dermatológicas y cosmética dermatomal. En: Hernández Torres, A. (Coord.). *Técnicas y Tecnologías en Hidrología Médica e Hidroterapia*. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Instituto Carlos III, Madrid, 2006; pp 175-194.
34. Mourelle, M. L.; Gómez, C. P.; Legido, J. L. 2015. Cosmética dermatomal: valor añadido para los centros termales. Congreso Internacional del Agua, Termalismo y Calidad de Vida. Campus da Auga, Ourense, España.
35. Mourelle, M. L.; Gómez, C. P.; Legido, J. L. 2017. The Potential Use of Marine Microalgae and Cyanobacteria in Cosmetics and Thalassotherapy. *Cosmetics*, 4, 46.
36. Mourelle, M. L.; Gómez, C. P.; Legido, J. L. 2021. Role of algal derived compounds in pharmaceutical and cosmetics. In: Rajauria, G., & Yuan, Y. V., *Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing: Food and Health Perspectives*. Wiley editors.
37. Nunes, S., y Tamura, B. M. 2012. A historical review of mineral water. *Surg. Cosmet. Dermatol.*, surgical cosmetic. org. br.
38. Pangestuti, R.; Siahaan, E. A., & Kim, S.-K. 2018. Photoprotective Substances Derived from Marine Algae. *Mar. Drugs*, 16: 399.
39. Sellimi, S.; Maalej, H.; Rekek, D. M.; Benslima, A.; Ksouda, G.; Hamdi, M.; Sahnoun, Z.; Li, S.; Nasri, M., & Hajji, M. 2018. Antioxidant, antibacterial and in vivo wound healing properties of laminaran purified from *Cystoseira barbata* seaweed. *Int. J. Biol. Macromol.*, 119: 633-644.
40. Song, Y.-S.; Li, H.; Balcos, M. C.; Yun, H.-Y.; Baek, K. J.; Kwon, N.S.; Choi, H.-R.; Park, K.-C., & Kim, D.-S. 2014. Fucoidan Promotes the Reconstruction of Skin Equivalents. *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, 18: 327-331.
41. Suh, S. S.; Oh, S. K.; Lee, S. G.; Kim, I. C.; Kim, S. 2017. Porphyra-334, a mycosporine-like amino acid, attenuates UV-induced apoptosis in HaCaT cells. *Acta Pharm.*, 67: 257-264.
42. Tarnowska, M.; Brianc_on, S.; Resende de Azevedo, J.; Chevalier, Y.; Arquier, D.; Barratier C., and Bolzinger, M.-A. 2020. The effect of vehicle on skin absorption of Mg²⁺ and Ca²⁺ from thermals spring water. *International Journal of Cosmetic Science*, 42: 248-258.
43. Viseras, C.; Aguzzi, C.; Cerezo, P.; López-Galindo A. 2007. Uses of clay minerals in semisolid health care and therapeutic products. *Applied Clay Science*, 36: 37-50.
44. Viseras, C.; Carazo E.; Borrego-Sanchez, A.; García-Villén, F.; Sánchez-Espejo, R.; Cerezo, P.; Aguzzi, C. 2019. Clay minerals in skin drug delivery. *Clays and Clay Minerals*, 67: 59-71.
45. Waring, R. H. 2014. Report on magnesium sulfate across the skin. Available at: <http://www.mgwater.com/transdermal.shtml>.
46. Widiastuti, E. L., & Khairani, I. A. 2018. Antioxidant effect of taurine and macroalgae (*Sargassum* sp. and *Gracilaria* sp.) extraction on numbers of blood cells and protein profile of mice induced by benzo(α)piren. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series*, 1116, 05207.

EL DERECHO DE EXTRANJERÍA EN ESPAÑA

Y SU COMPARACIÓN CON PAÍSES DE REFERENCIA EN LA UNIÓN EUROPEA

M^a. del Pilar Caro Fernández

Licenciatura en Derecho por la UNED. Abogada. Despacho GB29. Vigo.

INTRODUCCIÓN

Los movimientos migratorios han adquirido en los últimos tiempos una importancia inaudita hasta este momento. La magnitud del fenómeno es tal que la población extranjera de nuestro país es ya el 10,1% de la población total. Así, la inmigración ha pasado de ser un hecho puntual a convertirse en uno de los principales problemas políticos en España, sobre todo porque al producirse este fenómeno con tanta rapidez, el Gobierno y las instituciones se han visto desbordados y no han sido capaces de gestionar de modo efectivo esta situación, al ser los instrumentos con los que contaban insuficientes para enfrentarse y adaptarse a esta nueva realidad social.

La preocupación por las políticas de inmigración no es en absoluto una cuestión aislada, sino que, debido a la globalización, ha quedado acreditado que los problemas que sufren algunas naciones individualmente, de una forma u otra, tienen consecuencias en el resto de los países, sobre todo en los territorios limítrofes como es el caso de España, que es la puerta de entrada al continente europeo.

VISIÓN GENERAL Y PRINCIPIOS RECTORES

Dos son las referencias obligadas a la hora de nombrar los principios básicos que rigen el Derecho de Extranjería español. Por un lado, los derechos civiles, contenidos en el Código Civil y, por otro, las libertades públicas recogidas en nuestra Constitución que son atribuidas a los extranjeros, con independencia de su nacionalidad y que resultan de

la dimensión de la protección internacional de los derechos humanos.

En lo que se refiere a los derechos civiles, encontramos como concepto inspirador de la igualdad entre españoles y extranjeros el art. 27 CC, que manifiesta la idea de la equiparación al afirmar que *los extranjeros gozarán en España de los mismos derechos civiles que los españoles, salvo lo dispuesto en las leyes especiales y en los tratados*.

Esto choca con la postura defendida en el art. 13.1 de la CE que dicta que los extranjeros *gozaran en España de las libertades públicas que garantiza el Título I, pero en los términos establecidos en los tratados y la ley*.

En este caso, la igualdad no es la regla general, aunque admite la posibilidad de que los tratados y la ley extiendan a los extranjeros el disfrute total de las libertades públicas que la Constitución proclama pero subordinándolo a lo prescrito en los tratados y la ley. En conclusión, los extranjeros tienen garantizados en nuestro país la práctica totalidad de los derechos constitucionales, aunque limitados en algunos aspectos.

España también está sujeta a su propio régimen de extranjería, compuesto por un conjunto de leyes que afectan y vinculan a los poderes públicos y que está presidido por la Ley Orgánica sobre Derechos y Libertades de los Extranjeros en España y su Integración Social, LO 4/2000, de 11 de enero, reformada en varias ocasiones y cuya última actualización dio lugar, en cumplimiento del mandato de adaptación establecido en ella, al RD 555/2011, de 20 de abril por el que se aprueba

el Reglamento de la Ley Orgánica 4/2000, sobre Derechos y Libertades en España y su Integración Social, tras su reforma por Ley Orgánica 2/2009.

A su vez, en el espacio jurídico europeo, la protección de los Derechos Humanos se encuentra especialmente garantizada por el Consejo de Europa, tanto desde el plano normativo como a través de los mecanismos institucionales de aplicación. En este sentido, España es miembro del Consejo desde noviembre de 1977 y de la Convención Europea para la salvaguarda de los Derechos Humanos y de las Libertades Fundamentales (Convenio de Roma), ratificado en octubre de 1979, sin olvidar que estamos vinculados por otros muchos tratados bilaterales, que también generan obligaciones internacionales en materia de extranjería.

La pertenencia de España a la Unión Europea implica, además, la aceptación de la aplicación de políticas comunes con los Estados comunitarios, como, por ejemplo, la libre circulación de mercancías, personas, servicios y capitales.

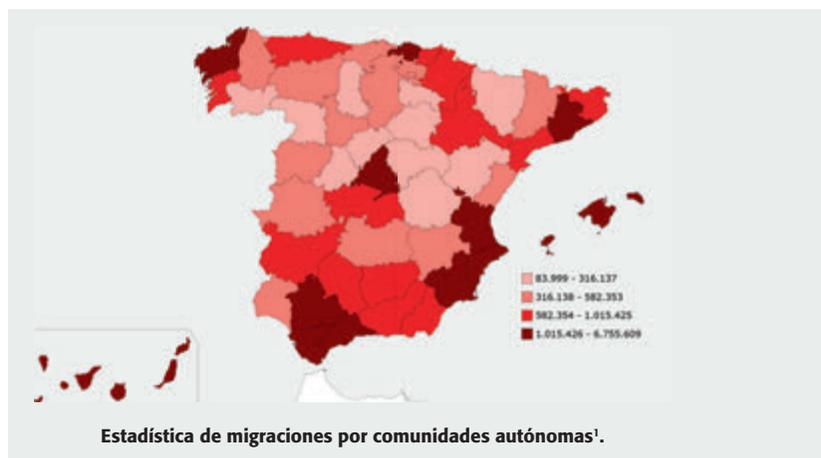
Por ello, desde la firma del Tratado de Adhesión a la CEE, el Derecho de Extranjería en nuestro Estado se articula en dos regímenes parcialmente diferenciados, como son el aplicable a los nacionales de países comunitarios, condicionado por las normas que dicta la propia UE, y el del resto de los extranjeros, basado en fuentes fundamentalmente internas, pero fuertemente condicionado por las obligaciones internacionales asumidas por España.

Por último, existen otros textos relevantes en materia de protección de los Derechos Humanos, como el Pacto Internacional de Derechos Civiles y Políticos de 1966, la Carta Social Europea, el Convenio de Naciones Unidas sobre Derechos del Niño, además de la Declaración Universal de Derechos Humanos de 1948.

Ahora bien, no cabe olvidar que la aceleración del proceso de integración europea (Acta Única de 1986, Tratado de Maastricht de 1992, Tratado de Ámsterdam de 1997, Acuerdo de Schengen de 1991, Acuerdo de Tampere de 1999,...) y los recientes compromisos adquiridos en esta materia conducen a que, en un inmediato futuro, la política de extranjería de España será la que acuerde la UE para el conjunto de sus

miembros y los demás tratados internacionales, incluida la reciente firma del Pacto Migratorio Mundial de la ONU.

Todo este compendio de normas internacionales, junto a nuestras normas de derecho interno, fundamentalmente, las leyes orgánicas y nuestra Constitución conforman un entramado de derechos y libertades que dan como resultado el estatuto jurídico del extranjero en España.



LA INMIGRACIÓN EN EUROPA

Europa es hoy en día uno de los destinos preferentes para la inmigración, y, aunque existen zonas en las que este fenómeno se da con mayor intensidad, podemos afirmar que de modo general afecta a la gran mayoría del continente.

La zona norte, formada por países como Finlandia, Suecia, Irlanda y Reino Unido, ha sido muy activa y dinámica en cuanto a movimientos migratorios; mientras que la zona central, con Dinamarca, Alemania, Bélgica y Francia, ha sido y es el principal foco de atracción de la inmigración que se dirige a Europa debido principalmente a su favorable situación económica y a la permisividad de sus políticas migratorias.

Finalmente, la zona mediterránea, formada por países como Italia, España, Portugal y Grecia, ha experimentado en cambio

¹ Mapa realizado con datos del Instituto Nacional de Estadística para el año 2020.

² Emigraban a países como Estados Unidos, Argentina, Venezuela, Brasil, Australia, Canadá y Sudáfrica y dentro de Europa a Alemania, Bélgica y Suiza, cuya demanda de trabajadores para su expansión económica e industrial los presentaba como países de acogida especialmente atractivos.

³ Datos procedentes del Informe del Alto Comisionado de la Organización de las Naciones Unidas para los Derechos Humanos, año 2008.

⁴ Los inmigrantes que llegan de Siria lo hacen a través de la Ruta del Mediterráneo que une las costas de Libia con la isla italiana de Lampedusa. Otra ruta es la llamada Ruta de los Balcanes con inicio en Turquía hasta llegar a las islas griegas, en particular a la Isla de Kos. Desde ese punto cruzan por diferentes medios por Macedonia, Serbia y Hungría, antes de buscar refugio en países como Alemania, Francia, Reino Unido y Suecia.

un giro importante respecto de épocas pasadas. Aquí han pasado de ser países eminentemente emigrantes², a ser receptores de inmigración, procedente principalmente del norte de África³ y Siria⁴.

En este apartado se analizará el impacto de las políticas migratorias en Europa tomando como referencia tres países que por su concreta coyuntura actual, hace especialmente interesante su estudio.

Así, nos fijamos en Alemania, por su privilegiado estatus de motor económico de Europa y su política de *puertas abiertas* ante el fenómeno migratorio que ha provocado una crisis política y un resurgir de la extrema derecha. El caso de Reino Unido es especialmente interesante debido a las dificultades surgidas con motivo de su salida de la Unión Europea y las incógnitas futuras que se presentan con el Brexit en materia de inmigración. Por último, Italia también reviste gran interés por sus políticas restrictivas en materia de extranjería y su modo de entender las políticas migratorias.

Alemania

A pesar de que históricamente Alemania ha sido un país eminentemente receptor de inmigración, no existía una legislación específica al respecto. Ante las oleadas migratorias de los últimos años, sobre todo de refugiados, en el año 2005 se produjo un gran cambio con la entrada en vigor de la Ley de Extranjería alemana, en la que por primera vez en su larga historia reconoce su carácter de país inmigrante receptor.

En la misma, según el Gobierno, se pretende garantizar la capacidad económica del país en el mercado internacional, crear empleo, prevenir la acuciante caída de la demografía, limitar la inmigración y luchar contra el abuso del Derecho de Asilo.

Entre los aspectos más importantes de esta ley cabe citar la simplificación de trámites administrativos, y la creación de un registro de extranjeros que promoverá, en su caso, medidas de carácter voluntario para el retorno de los inmigrantes que lo soliciten. O que los trabajadores extranjeros que acrediten una cierta formación profesional cualificadas, por ejemplo los informáticos, podrán obtener un permiso de residencia permanente de carácter inmediato.

La nueva ley prevé como causa de asilo la persecución por motivos sexuales, con asistencia a cursos de integración, con una duración de 600 horas, en los que impartirán conocimientos de lengua alemana y 30 horas de cultura alemana general, exigiéndose de modo obligatorio para todos los inmigrantes que no provengan de la Unión Europea y obtengan un permiso de residencia de más de un año, salvo excepciones tasadas.

La negativa a participar en estos cursos puede conllevar que no se prorrogue el permiso de residencia. Por último, desaparece el permiso de residencia para los ciudadanos de la Unión Europea, cuya residencia quedará acreditada mediante una hoja de registro que expide el padrón municipal.

A pesar de que supuso un adelanto importante al asumir Alemania su carácter de país de inmigración y de la necesidad de tener una legislación al respecto, esta ley impuso grandes restricciones para la entrada de nuevos emigrantes, por lo que más tarde debieron tomarse medidas para paliar las consecuencias de su aplicación, entre las que figuraron la falta de mano de obra en las empresas o la caída de los índices demográficos.

Por otro lado, y como consecuencia de la gran crisis humanitaria con motivo de las guerras en Siria, Irak y Afganistán, el Gobierno alemán se vio obligado a tomar nuevas medidas al respecto por lo que el 25 de mayo de 2016 se aprobó la Ley de Inmigración. Con esta nueva ley se pretendía facilitar la integración de los miles de refugiados que viven en Alemania, creando mayores facilidades de acceso a los inmigrantes al mercado laboral, impartiendo clases de lengua alemana o dando mayores beneficios sociales y de alojamiento.

Desde el año 2019, y ante las peticiones de los gremios de la industria, el comercio y la salud que siguieron demandando mano de obra⁵ para cubrir la gran necesidad de profesionales en estos sectores, se ha presentado en el *Bundestag*⁶ un documento que será debatido como proyecto de ley de inmigración.

A la espera de una nueva norma que facilite el acceso de los inmigrantes cualificados, los tres partidos políticos alemanes más importantes⁷ han alcanzado un acuerdo sobre política de inmigración en un entorno marcado por la fuerte presencia

⁵ Alemania registró 338.200 empleos vacantes en septiembre del 2018 únicamente en los sectores de la informática, las matemáticas y las tecnologías de la información, según datos del Instituto Económico Alemán con sede en la ciudad de Colonia.

⁶ El poder legislativo alemán, de naturaleza bicameral, está formado por el Bundestag (Cámara Baja) y el Bunderat (Cámara Alta) formada por miembros del poder ejecutivo de los Länder.

de la ultraderecha contraria a la estancia de extranjeros en el país.

En este acuerdo se adoptaron medidas para facilitar el acceso al mercado laboral de trabajadores extranjeros cualificados provenientes de países extracomunitarios. Entre estas medidas está la posibilidad de un permiso de estancia por 6 meses que será prorrogado por otros 6 meses en el caso de encontrar un trabajo y siempre condicionado a demostrar que tiene un nivel de lengua alemana adecuado al puesto.

Todas estas medidas son de especial importancia ya que el número de inmigrantes en Alemania va en aumento⁸ y aunque queda mucho por recorrer en políticas de inmigración, sobre todo de manera global, es un primer paso para el asentamiento de extranjeros en este país, donde los partidos de ultraderecha están tomando una considerable importancia.

Reino Unido

Además de por motivos económicos, el desacuerdo con la Unión Europea en materia de políticas migratorias fue el desencadenante de que Reino Unido plantease su salida de la Europa Comunitaria. Con el *Brexit*, este país buscaba restringir el flujo de inmigrantes, recuperando el control absoluto de sus fronteras y reducir el número de extranjeros que llegan para trabajar.

Por otra parte, su oposición a uno de los principios fundamentales de la Unión Europea, la libertad de circulación hizo que su permanencia en la Unión Europea, a pesar de las concesiones⁹ por parte de la Unión tras las intensas negociaciones con Bruselas, se plantease, cuanto menos, complicada.

El pasado 24 de diciembre, tras varios meses de negociaciones y años de terremoto político se llegaba a un acuerdo entre la UE y el Reino Unido, evitando así un *Brexit duro*⁹. A pesar

de todas las concesiones por parte de los 27 tras intensas negociaciones de la UE, el Reino Unido consumó su salida el 31 de diciembre de 2020 aunque los cambios más notables serán en este año 2021. Algunos de ellos son estancias limitadas en el Reino Unido y necesidad de un visado para estancias largas y visados especiales para trabajar, con exigencia de un nivel suficiente de la lengua inglesa y salario de al menos 25.600 libras al año, con importantes restricciones a la libertad de circulación, aunque para viajes de turismo, tanto británicos como europeos, no necesitaran visa.

Italia

Italia es una de las grandes vías de entrada para los inmigrantes que quieren llegar a Europa por mar. Este país ha aprobado recientemente una dura Ley de Inmigración y Seguridad para facilitar la deportación de inmigrantes. La *Camera dei Deputati* aprobó esta nueva ley, conocida como Decreto Salvini, ya que fue promovida por el ministro del Interior, Matteo Salvini¹⁰, en noviembre de 2018, entrando en vigor al mes siguiente.

Esta ley incluye entre sus objetivos principales la eliminación de la protección humanitaria para así limitar el número de inmigrantes a los que se concede asilo, aboliendo los permisos de residencia por protección humanitaria por lo que deja sin apoyo a aquellas personas que no pueden aspirar al estatus de refugiado.

La ley anterior contemplaba varias formas de protección: asilo, protección subsidiaria y protección humanitaria, siendo esta última la vía que utilizaban la mayoría de los inmigrantes que llegaban a Italia para reclamar protección, con la cual se les daba acceso a trabajo, prestaciones sociales y vivienda.

Además, con la nueva ley solo se concede asilo a los refugiados legítimos de las guerras o a las víctimas de persecución

⁷ Los Conservadores CDU-CSU Christlich-Demokratische Union-Christlich Soziale Union (Unión Democrática Cristiana-Unión Social Cristiana) y el Socialdemócrata SPD Sozialdemokratische Partei Deutschlands (Partido Socialdemócrata Alemán).

⁸ Bruselas, como sede del bloque económico de la UE, ofreció para evitar la salida de Gran Bretaña de la Unión Europea un paquete de medidas entre las que se encontraban el compromiso de que el Gran Bretaña no tendría obligación de formar parte de la alianza más estrecha con otros países de la UE por lo que podría conservar su soberanía en el caso de una futura unión federal, conservación de su moneda y compromiso de no discriminación en operaciones comerciales o financieras, limitaciones al libre movimiento en el Reino Unido, restringiendo la entrada de personas de terceros países casados con ciudadanos de la UE como medida para frenar los matrimonios reglados, excluyendo también a personas que suponga un riesgo para la seguridad del país, además de otras medidas.

⁹ El *Brexit duro* es el modo coloquial con el que se denominaba la posible salida del Reino Unido del bloque europeo sin haber llegado a un acuerdo que regulase su nueva situación jurídica.

¹⁰ El líder de la Derechista Liga Norte, Mateo Salvini, basó su campaña electoral en dos pilares fundamentales: Reformar la Unión Europea y limpiar Italia de Inmigrantes, reconociéndose como euroescéptico y antiinmigrante. Datos recogidos del Especial Elecciones en Italia 2018, emitido por Radio Televisión Española el 2 de marzo de 2018: [rtve.es/noticias/20180302/mateo-salvini-trumpista-busca-aislar-italia-desde-norte/1683678.shtml](https://www.rtve.es/noticias/20180302/mateo-salvini-trumpista-busca-aislar-italia-desde-norte/1683678.shtml)

política. También introduce una serie de permisos especiales, por motivos de salud o desastres naturales en el país de origen con una duración máxima de entre seis meses y un año y se amplía el periodo máximo de detención de inmigrantes que estén retenidos en los llamados *Centros de Repatriación* (*Centri di permanenza per il rimpatrio*) hasta 180 días.

Entre las medidas económicas citar el notable aumento de los fondos para la repatriación de inmigrantes, destinándose partidas de 500.000 € en 2018 a 1,5 millones de euros en 2019 y la misma partida en 2020.

Además de todas estas medidas que suponen un cambio en las políticas migratorias italianas que pasan a ser las más restrictivas de toda Europa, el Gobierno italiano se negó a la firma del Pacto Mundial para la Inmigración.

Italia, que en el pasado había sido un país que prestaba un gran apoyo a los inmigrantes, destinando grandes partidas presupuestarias a este tema y el primero en desarrollar una ley integral para la protección y recepción de niños inmigrantes no acompañados -la llamada *Proposta Zampa*-, ha pasado a ser el azote de los inmigrantes.

CONCLUSIONES

El fenómeno de la inmigración ha generado importantes cambios y consecuencias dentro de la sociedad española. Es innegable que la llegada de extranjeros ha sido fundamental para el crecimiento económico, social y cultural de España.

A partir de la llegada de los inmigrantes, el crecimiento potencial de la economía española ha experimentado un aumento muy significativo, especialmente debido a que con su trabajo hacen aportes sustanciales a la Seguridad Social española y a las arcas del Estado en concepto de impuestos, lo que ha permitido al Gobierno garantizar los servicios del estado de bienestar español.

No obstante, la intensa y rápida llegada de extranjeros también ha traído consecuencias difíciles de afrontar, especialmente en el ámbito social. Estas llegadas masivas de inmigrantes han sido percibidas por los nacionales como una especie de *invasión* provocando sentimientos de miedo, amenaza y rechazo.

Lamentablemente, el paso de los años no ha acallado estos sentimientos. Por el contrario, se mantienen y crecen hasta el punto de que han surgido partidos políticos que defienden a ultranza consignas como la de *España para los españoles*.

A todo ello hay que sumar la crisis económica de los últimos años, que no ha hecho más que aumentar la tensión sobre este tema al atribuir a los inmigrantes cierta responsabilidad de hechos como la crisis económica, el paro, la inseguridad o la delincuencia, aunque estas acusaciones no se sustentan a la vista de los datos aportados estadísticamente por el Instituto Nacional de Estadística (INE).

En lo relativo al desempleo debemos decir que existen numerosos puestos que no son cubiertos por los nacionales y que son ocupados por inmigrantes, sobre todo en el sector agrario o el de la construcción. Sin ellos, estos empleos quedarían vacantes, con el consiguiente cierre de empresas y explotaciones agrícolas.

El envejecimiento de la población y la conservación del estado del bienestar son otros datos que nos deben hacer reflexionar. Se estima que en el año 2052 por cada persona inactiva solo habrá una persona trabajando y que en el año 2030 el 3% de la población en España tendrá más de 65 años.

En el año 2019 el número de defunciones fue de 423.643 personas siendo el número de nacimientos el más bajo desde el año 1996. Todo ello indica un crecimiento vegetativo negativo (diferencia entre número de nacimientos y número de defunciones) con una cifra de -31.245.

Estas cifras son claras¹¹ y nos llevan a la conclusión de que España necesita inmigrantes para compensar el número de jubilados que se espera para los próximos años y poder hacer frente al pago de las pensiones correspondientes¹². Para ello, en España será necesario que se consiga la cifra de 55 millones de habitantes en 2050, cifra a la que solo se puede llegar a través de la acogida de inmigrantes, ya que es inviable, a la vista de las tendencias demográficas, llegar a esas cifras de otro modo.

Es cierto que la política de *papeles para todos* es utópica, pues un solo país no puede atender a la demanda de los millones de inmigrantes que hay en el mundo, por lo que estas políticas deben de ser enfocadas desde una perspectiva global.

¹¹ Fuente: Instituto Nacional de Estadística año 2018.

¹² Datos recogidos del análisis sobre las pensiones en España titulado: Retos más allá de la sostenibilidad financiera, realizado por el Fondo Monetario Internacional (FMI).

En el año 2018 se dio un paso muy importante con el Pacto Mundial de Inmigración, que fue el primer intento para gestionar los flujos migratorios de forma integral y a escala internacional, pero del que Estados Unidos, Austria, Hungría, Polonia, Estonia, Bulgaria, República Checa, Israel, Australia y República Dominicana se han desmarcado hasta el momento.

Algunos han argumentado que es incompatible con su soberanía o que podría tener un efecto de incitación de la inmigración ilegal. Aún así, una abrumadora mayoría de los Estados miembros de la ONU apoyan este proyecto cooperativo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aja, E. (2012). Inmigración y Democracia. *Alianza Editorial*. Madrid.
2. Alonso Olea, M. (2000). Apuntes sobre las leyes de extranjería del año 2000. *Ed. Civitas*. Madrid.
3. Alonso Pérez, F. (2002). Régimen Jurídico del extranjero en España. *Ed. Dykinson*. Madrid.
4. Alzaga Villamil, O. (2007). Derecho Político Español según la Constitución de 1978. *Ed. Universitaria Ramón Areces*. Madrid.
5. Bastida Freijedo, F. J.; Villaverde Menéndez, I. y otros. (2004). Teoría General de los derechos fundamentales en la Constitución española de 1978. *Ed. Tecnos*. Madrid.
6. Betegón, J.; De Páramo, J.R.; Laporta, F. J., y Prieto, L. (coord.) (2004). Constitución y Derechos Fundamentales. CEPC. Madrid.
7. Chofre Sirvent, J. F. (1994). Significado y funciones de las leyes orgánicas. *Ed. Tecnos*. Madrid.
8. Constitución Española 1978.
9. De Esteban, J.; López Guerra, L.; Espín E., y García Morcillo, J. (colab.) (1983). El régimen constitucional español. Vol. II. *Ed. Labor*. Barcelona.
10. De Lucas, J., y Solanes, A. (2009). La igualdad en los Derechos: claves de la integración. *Ed. Dykinson*. Madrid.
11. Ferrajoli, L. (2010). Derechos y Garantías. La ley del más débil. *Ed. Trotta*. Madrid.
12. Ferrer Peña, R. M. (1989). Los Derechos de los extranjeros en España. *Ed. Tecnos*, Madrid.
13. García Vázquez, S. (2007). El estatuto jurídico-constitucional del extranjero en España. *Ed. Dikinson*. Valencia.
14. González Rivas, J. J. (2005). La interpretación de la Constitución por el Tribunal Constitucional (1980-2005). *Ed. Thomson Civitas*. Madrid.
15. Iglesias Canle, I. (2006). Inmigración y Derecho. *Ed. Tirant lo Blanch*. Valencia.
16. La Jurisprudencia del Tribunal Constitucional en materia de Derechos Fundamentales de los extranjeros a la luz de la STC 236/ 2007. *Revista Española de Derecho Constitucional*. Año 2009.
17. Lacruz López, J. M. (2016). El extranjero en el Derecho español. *Ed. Dickinson*. Madrid.
18. Ley Orgánica 4/2000, de 11 de enero, sobre derechos y libertades de los extranjeros en España y su integración social.
19. Ley Orgánica 2/2009, de 11 de diciembre, de reforma de la Ley Orgánica 4/2000, de 11 de enero, sobre derechos y libertades de los extranjeros en España y su integración social.
20. Parrado, S.; Colino, C., y Olmeda, J. A. (2013). Gobiernos y Administraciones Públicas en perspectiva comparada. *Ed. Tirant lo Blanch*. Valencia.
21. Portal de Inmigración. Secretaría de Estado de Migraciones. Ministerio de Trabajo, Migraciones y Seguridad Social. Gobierno de España.
22. Ramos Quintana, M. I. (1997). *Revista Española de Derecho del Trabajo*. Núm. 86.
23. Rodotà, S. (2014). El derecho a tener derechos. *Ed. Trotta*. Madrid.
24. Vidal Fueyo, M. C. (2002). Constitución y extranjería: Derechos Fundamentales de los extranjeros en España. *Centro de Estudios Políticos y Constitucionales*. Madrid.
25. Vidal, M. (2002). Constitución y Extranjería: los Derechos Fundamentales de los extranjeros en España. *Centro de Estudios Políticos y Constitucionales*. Madrid.
26. Zugaldía Espinar, J. M., y Pérez Alonso, E. J. (2007). El Derecho penal ante el fenómeno de la inmigración. *Ed. Tirant lo Blanch*. Valencia.

