

SINC | 14 junio 2012

Nuevo biosensor para el análisis de aguas continentales

Investigadores de la Universidad Complutense de Madrid han desarrollado un biosensor óptico para analizar en aguas dulces las microcistinas, unas toxinas que producen las cianobacterias. El estudio se publica en la revista *Biosensors & Bioelectronics*.

* [FOTOGRAFÍAS](http://www.agenciasinc.es/Noticias/Nuevo-biosensor-para-el-analisis-de-aguas-continentales/%28formato%29/fotografias/%28nodo%29/38996)



Procedimiento de medida. Imagen: UCM.

SINC | 14 junio 2012 09:00

El Grupo de sensores químicos ópticos y fotoquímica aplicada ([GSOLFA](http://www.ucm.es/info/gsolfa/)) de la Facultad de Ciencias Químicas de Universidad Complutense de Madrid (UCM) ha desarrollado un biosensor óptico, basado en matrices (“microarrays”) de anticuerpos, para determinar in situ la calidad de aguas continentales.

En concreto analiza las microcistinas tipo LR  (MC-LR), las toxinas más frecuentes en las proliferaciones de cianobacterías (microorganismos antes conocidos como 'algas verde-azuladas').

El análisis está basado en un inmunoensayo de tipo 'competitivo'. La cianotoxina presente en la muestra compite con un derivado de la misma, inmovilizado sobre una superficie plana que actúa como guía de onda de la radiación (chip), por los sitios de unión de un anticuerpo selectivo a MC-LR.

La cantidad de anticuerpo unido a la superficie del chip se evalúa, posteriormente, empleando un anticuerpo secundario marcado con un indicador o sonda fluorescente. Esta interacciona selectivamente con el anticuerpo fijado a la superficie sensora, obteniéndose una señal inversamente proporcional a la concentración de MC-LR presente en la muestra analizada.

La detección de las microcistinas se lleva a cabo empleando un instrumento que integra, en una unidad portátil, los sistemas de excitación (diodo láser), detección (cámara CCD) y microfluídico. En este instrumento, la radiación procedente del diodo láser incide sobre uno de los bordes del vidrio  -empleado como guía de onda- e ilumina la zona sensible en la que se produce la reacción inmunológica.

**Evanescente y fluorescente**

La radiación se transmite por reflexión interna originando un campo electromagnético, denominado campo evanescente, que penetra una cierta distancia desde la superficie excitando a las moléculas fluorescentes que se encuentran en la zona sensible. La radiación emitida se mide con una cámara CCD que permite obtener una imagen de la superficie de la guía de onda.

El proceso de medida es muy simple. El chip funcionalizado se inserta en el equipo de medida haciéndose fluir sobre su superficie las muestras de agua a analizar (hasta 6 muestras), a las que se ha adicionado una concentración constante y conocida del anticuerpo selectivo a MC-LR. Tras la incubación con un trazador fluorescente, se adquiere una imagen de la superficie. La intensidad de la señal fluorescente permite calcular la concentración de microcistina en la muestra.

El biosensor optimizado presenta un límite de detección de 16 ± 3 ng/l y un intervalo dinámico de 0.06 -1.5 µg/l, que incluye el valor guía recomendado por la OMS (1 mg/l). El microarray presenta reactividad cruzada frente a otras microcistinas, como la RR (MC-RR 90%) y microcistina YR (MC-YR 91%), que también aparecen en aguas contaminadas en España.

El dispositivo puede realizar seis determinaciones simultáneas en 60 minutos y los chips se pueden reutilizar para varios ensayos sin una pérdida significativa de sus prestaciones analíticas, algo novedoso frente a otros resultados descritos en bibliografía empleando microarrays. Estos se han aplicado al análisis de distintas muestras de aguas de lagos y ríos de la geografía española, en colaboración con el Centro de Estudios Hidrográficos del CEDEX (CEH-CEDEX) y los resultados se han validado mediante la técnica de HPLC-MS-MS.

Continuando con esta línea de investigación, el grupo GSOLFA trabaja actualmente en el desarrollo de microarrays de anticuerpos para el análisis simultáneo e in situ de contaminantes medioambientales emergentes empleando un único chip (análisis multianalito) de forma rápida, sencilla y a bajo coste. Para ello se están desarrollando nuevos elementos de reconocimiento biomimético (enzimas modificadas con dextranos, polímeros de impronta molecular…) que pueden resultar de gran utilidad para la fabricación, en un futuro cercano, de microarrays multianalito.

**Referencia bibliográfica:**

Herranz, S., Marazuela, M.D., Moreno-Bondi, M.C. "Automated portable array biosensor for multisample microcystin analysis in freshwater samples". *Biosensors & Bioelectronics* 33: 50-55, 2011. Doi: 10.1016/j.bios.2011.12.016.

.

**Las cianobacterias y sus toxinas**

Las cianobacterias, también conocidas como algas verde-azuladas, son microorganismos procariotas, aeróbicos y fotoautótrofos. En otras palabras, no tienen núcleo diferenciado, necesitan del oxígeno diatómico para vivir o poder desarrollarse y efectúan fotosíntesis para obtener energía. Crecen en medios de agua dulce y marino, donde la creciente eutrofización (enriquecimiento de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo) favorece su proliferación incontrolada (afloramientos), especialmente en los meses de verano, con el consiguiente impacto negativo sobre la calidad de las aguas.

Por otro lado, a este problema medioambiental se suma el hecho de que algunas cianobacterias producen ciertos metabolitos secundarios, conocidos como cianotoxinas, que resultan tóxicos para distintos organismos -incluídos los seres humanos- lo cual supone un importante riesgo sanitario.Las microcistinas (MC) son las toxinas más frecuentes en las proliferaciones de cianobacterias en aguas continentales.

Se trata de heptapéptidos cíclicos, muy estables, producidos por varios géneros de cianobacterias, como *Microcystis*, *Anabaena* y *Oscillatoria*. La exposición a dosis altas de MCs puede conducir a la muerte por choque hipovolémico, también llamado hemorrágico, mientras que la exposición crónica a dosis bajas parece estar relacionada con la aparición de cáncer de hígado. Estas toxinas son resistentes a los oxidantes empleados habitualmente en el tratamiento de aguas, por ejemplo a la cloración, y su degradación térmica se produce a temperaturas superiores a 120 oC, lo cual dificulta su eliminación por ebullición del agua.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido un valor provisional de concentración máxima en agua de microcistina-LR (MC-LR), una de las más abundantes en nuestro país, de 1 mg/l para el consumo directo. Por todo ello, es necesario disponer de métodos de detección sensibles, rápidos y selectivos que faciliten el control de la presencia de microcistinas en el medioambiente y que permitan asegurar la calidad del agua que llega al consumidor.