

CUANTIFICACIÓN DE TOXINAS CO MICROCYSTEST PARA STEM

**REIJA OTERO, BELÉN
RODRÍGUEZ GARCÍA, X. CARLOS**
IES Lucus Augusti, Lugo

1. Introducción

As proliferacións de algas nocivas nas augas liberan diferentes tipos de toxinas que supoñen un risco para a saúde humana e animal. As microcistinas e nodularinas, producidas por cianobacterias, aparecen en augas doces e o seu consumo prolongado pode desencadear graves problemas para a saúde e o ecosistema. A OMS establece os valores de máximos permitidos destas toxinas producidas por estes microorganismos para valorar os niveis de risco para a saúde (Cotruvo 2017).

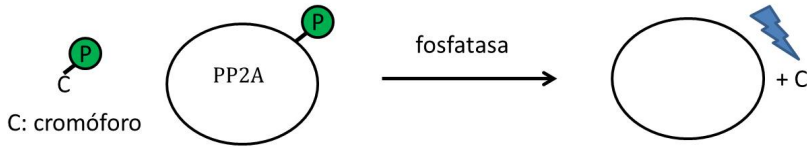
Un exemplo de proliferación de cianobacterias en augas prodúcese a miúdo na nosa Comunidade no encoro de As Conchas, na provincia de Ourense. Este é un dos impactos producidos pola agricultura e gandería intensivas na bisbarra da Limia. Nesta zona existen macrogranxas de porcino que producen gran cantidade de vertidos de xurro, e estes á súa vez fan que a concentración de nitratos en dito encoro sexan das máis elevadas a nivel mundial (Anónimo 2014). A alta concentración destes e outros nutrientes fan que todos os veráns, dende 2011, se produzan “blooms” de *Microcystis Aeruginosa* e que a concentración de microcistinas converta a auga en perigosa para o baño.

No bacharelato STEM do IES Lucus Augusti, o alumnado determinou a concentración de microcistinas e nodularinas na auga de As Conchas mediante o kit Microcystest de ZEULAB (Zeulab s.f.).

2. Fundamentación teórica e metodolóxica

A toxicidade das microcistinas e nodularinas está directamente relacionada coa súa capacidade para inhibir unha familia de serina/treonina fosfatases presentes nas células eucariotas dos humanos e animais, en particular a PP1 e a PP2A (Bialojan e Takai 1988). Estas fosfoproteínas son moi importantes no control bioquímico de sinais intracelulares nas células eucariotas. O balance entre a actividade de quinases e fosfatases determina a actividade final das proteínas reguladas.

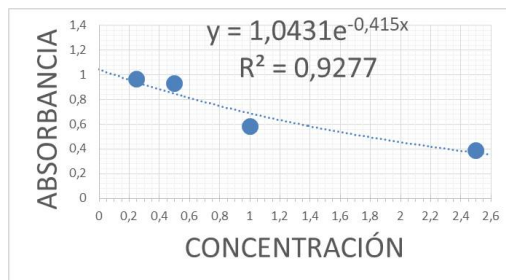
O citado kit, empregado para determinar a concentración destas toxinas, baséase en que a capacidade inhibitoria destas enzimas hidrolíticas (fosfatases) se produce de xeito proporcional á cantidade de microcistinas presente na mostra. Concretamente, emprega a enzima PP2A e un substrato colorimétrico específico (C), tal como se mostra no esquema seguinte. En condicións normais a fosfatasa é capaz de hidrolizar este substrato fosfatado obténdose un produto cromóforo, que pode detectarse medindo a súa absorbancia a 405 nm nun lector de absorción para placas ELISA (“Ensaio por inmunoabsorción ligado a enzimas”).



3. Desenvolvemento

Empregouse o ensaio para determinar microcistinas libres en augas naturais presentado no kit. Prepararon unha disolución de enzima fosfatasa, que engadiron a patróns e mostrás. Despois, engadiron o substrato cromoxénico para a determinación da fosfatasa a patróns e mostrás, incubáronas, engadíronlles a disolución de parada e finalmente mediron a absorbancia a 405 nm cun lector de placas empregadas usando como branco aire.

Axustaron un modelo exponencial aos datos de calibrado cos patróns e posteriormente determinaron a concentración da mostra cos datos do modelo obtido cos patróns (ver figura seguinte). Tamén obtiveron resultados semellantes realizando axustes coa ecuación linealizada.



4. Conclusións

Este ensaio enzimático permitiu realizar unha aplicación práctica dos ensaios microbiolóxicos para a cuantificación de toxinas, que se realizou no bacharelato STEM do IES Lucus Augusti aproveitando os medios dispoñibles para os alumnos do módulo ensaios microbiolóxicos do ciclo superior de Laboratorio de Análise e de Control de Calidade deste IES.

As mostrás de auga analizadas de As Conchas (aproximadamente 0,5 µg/L de microcistinas) resultaron ser aceptables, tanto para uso recreativo (recomendación OMS = 20 µg/L) como de consumo (OMS = 1 µg/L). A concentración de toxinas é baixa porque se tomaron as mostrás en marzo, cando aínda non existe proliferación destas cianobacterias, xa que as condicións de temperatura e luz non favorecen a súa reprodución ata a chegada do verán.

5. Referencias

Anónimo (24 novembro 2014). Los datos de nitratos de las aguas del Limia son de los más altos del mundo. *Dende a Limia*. <https://www.dendelalimia.com/articulo/entrevistas/datos-nitratos-aguas-son-mas-altos-mundo/20141124224239002671.html>

Bialojan, C. & Takai, A. (1988) A. Inhibitory effect of a marine-sponge toxin, okadaic acid, on protein phosphatases. Specificity and kinetics. *Biochemical Journal*, 256 (1): 283-90. <https://doi.org/10.1042/bj2560283>

Cotruvo, J.A. (2017). 2017 WHO Guidelines for Drinking Water Quality: First Addendum to the Fourth Edition. *Journal AWWA*, 109 (7): 44-51. <https://doi.org/10.5942/jawwa.2017.109.0087>

Zeulab (s.f.). Toxinas de augas y marinas. <https://www.zeulab.com/toxinas-de-agua-y-marinas/>