

Artículo

## Uso de la biotecnología en la detección de arsénico: Una alternativa para la determinación en agua potable

Varinia López-Ramírez <sup>1</sup>, Adán-Topiltzin Morales Vargas <sup>2</sup> y César Álvarez-Mejía <sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup> Coordinación de Ingeniería Bioquímica Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Carretera Irapuato-Silao Km. 12.5, Irapuato, Gto., C.P. 36821 (462)60-67-900

<sup>2</sup> Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra, Av. Mutualismo Esq. Prol. Río Lerma S/N, 38060 Celaya, Gto.

<sup>3</sup> Coordinación de Ingeniería Ambiental, Instituto Tecnológico Superior de Abasolo, Blvd. Cuitzeo de los Naranjos No. 401. Abasolo, Gto.. C.P. C.P 36976, (429)10-61-300.\*

Correspondencia: cesar.am@abasolo.tecnm.mx.

**Resumen:** El arsénico es un metaloide que está ampliamente distribuido en la corteza terrestre y que se presenta como un contaminante natural del agua potable; su presencia y concentración se ha asociado a enfermedades neurodegenerativas, metabólicas, queratosis y cáncer entre otras. La determinación estándar de este contaminante generalmente requiere de equipos sofisticados, como espectrofotómetros de absorción atómica con generador de hidruros. Debido a la presencia de arsénico en agua de consumo humano, se ha vuelto indispensable el desarrollo de metodologías baratas y disponibles para la sociedad, ya que su detección temprana puede mejorar la administración del agua, así como el establecimiento de procesos para la eliminación de arsénico. En esta revisión exploraremos la naturaleza del contaminante, el efecto en la salud humana, así como los métodos de detección, resaltando los diferentes desarrollos biotecnológicos para realizar una detección oportuna, a bajos costos de manera específica y sensible, considerando la innovación en la fusión de métodos biológicos y el acoplamiento a sistemas de detección para aumentar la rapidez y especificidad de las determinaciones. Así mismo, se ofrece el aporte de la biotecnología para la detección de arsénico, y debido a esto el impulso de estrategias nuevas para su contención, considerando que el desarrollo de nuevas estrategias biotecnológicas puede ampliarse a nuevos contaminantes, y con ello la promoción de mejores estrategias de remediación.

**Keywords:** *Biomonitores; metales pesados; medio ambiente*

**Citar este trabajo:** López-Ramirez, V.; Morales-Vargas, A-T.; Álvarez-Mejía, C. Uso de la biotecnología en la detección de arsénico: Una alternativa para la determinación en agua potable. *REIA 2022, 6 (5), 40-53.*

Recibido: 18/07/2022

Aceptado: 09/09/2022

Publicado: 07/12/2022

## 1. Introducción

El arsénico inorgánico (iAs), es un metaloide presente de manera natural en la corteza terrestre, el cual fue utilizado intensivamente en el desarrollo de plaguicidas para la agricultura y diversos procesos industriales, además de generarse en las actividades mineras (Armienta y Segovia, 2008). Predominantemente, el arsénico se encuentra en agua en forma de arsenito ( $\text{As(III)}$ ,  $\text{H}_3\text{AsO}_3$ ), el cual es 100 veces más tóxico que el arsenato ( $\text{As(V)}$ ,  $\text{H}_3\text{AsO}_4$ ; World Health Organization, 2011). En la actualidad, se ha presentado un incremento de la presencia de arsénico en fuentes de agua potable, cuyo origen no es claro, pero algunos reportes indican un probable origen geológico (Armienta y Segovia, 2008), que puede estar ligado con el fluido volcánico (López et al., 2012), y la sobreexplotación de los mantos acuíferos. Su uso extensivo en el siglo pasado, así como el mal manejo de sus desechos podrían contribuir con este aumento en agua potable (World Health Organization, 2011); lo anterior representa un riesgo por exposición a las poblaciones que consumen este recurso, ya que generalmente desconocen la presencia del contaminante. No está delimitado a alguna zona, puede afectar ciudades y áreas rurales, cuya diferencia principal es el acceso a fuentes de agua potable y purificadas confiables. El efecto puede ser mínimo en las áreas urbanas; sin embargo, en las áreas rurales no se cuentan con los medios, así como la oportunidad de elegir su proveedor de agua potable, ya que de manera histórica han consumido agua de los pozos comunales, sin considerar en la mayoría de los casos la calidad y al aumentar la población, se han realizado una explotación con poca regulación, cada vez a mayores profundidades (Alarcón-Herrera et al., 2013; Reyes-Gómez et al., 2015). La Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, (NOM-127-SSA1-1994, 1994) establecía una concentración de arsénico en agua purificada de  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , con la modificación de esta norma, para máximo permisible a  $0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (Fernandez, 2000). La agencia de protección al medio ambiente de los Estados Unidos (EPA) ajustó recientemente el máximo permisible de arsénico en agua de  $0.05$  a  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (Fuku et al., 2012), debido a esto, la mayoría de las técnicas de detección se están desarrollando para conseguir el grado de sensibilidad que las normas requieren.

### Efecto en la salud humana.

El consumo de arsénico en el ser humano ocupacionalmente no expuesto es por el agua potable, incluyendo alimentos que puedan haber sido preparados con agua contaminada, lo cual es común en sitios donde la concentración de arsénico se presenta de manera natural (World Health Organization, 2011). El efecto que tiene el consumo de arsénico en la población puede ser variable. El arsénico soluble es rápidamente absorbido por el tracto gastrointestinal, y para el caso del  $\text{As(V)}$  y arsénico orgánico, es eliminado por los riñones, iAs puede ser acumulado en piel, huesos, hígado, riñón y músculo, no se ha reportado que pueda cruzar la barrera hematoencefálica (World Health Organization, 2011) sin embargo, si existe transferencia transplacentar, y puede detectarse en el cordón umbilical. La vida media en el cuerpo humano es entre 2 a 40 días, y pueden pasar años o décadas hasta la aparición de algunos de los síntomas clásicos, como la queratosis, cáncer de piel, de riñón, de pulmón, hiperpigmentación, neuropatía periférica (Del Razo et al.,

2011; Osorio-Yáñez et al., 2015; Ramos-Chavez et al., 2015). Se han realizado estudios del efecto en los recién nacidos, describiendo enfermedades neurodegenerativas y alteraciones metabólicas importantes (Osorio-Yáñez et al., 2015), así como la alteración del epigenoma. Estudios realizados por Smeester et al., (2011), en el cual se identificaron regiones del genoma humano hipermetiladas de individuos expuestos a arsénico, que están relacionados con genes involucrados en las enfermedades anteriormente descritas, enfermedades cardíacas, aumento en la presión sanguínea, modificación de la geometría ventricular izquierda y la función sistólica en niños que han sido expuestos a arsénico (Osorio-Yáñez et al., 2015). Otros trabajos se han realizado para encontrar la relación que tiene el consumo de agua con iAs con la prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 (Huang et al., 2011; Martin et al., 2015), ya que se ha observado la alta prevalencia en sitios altamente contaminados con iAs y la presencia de diabetes en Taiwan y México; sin embargo, estos trabajos no han podido establecer con claridad la participación del arsénico con la prevalencia de diabetes, se sugiere un desacoplamiento de la insulina debido a la concentración de arsénico en sangre, sin embargo, la exposición debería ser igual o mayor a  $0.3 \text{ mg L}^{-1}$  (Huang et al., 2011). Asimismo, el consumo de arsénico podría estar generando un proceso de adaptación por parte de la población expuesta y generar la tolerancia a mayores concentraciones (Jeong y Di Rienzo, 2014; Schlebusch et al., 2015).

Se ha establecido que existe una respuesta de estrés oxidativo por parte de las personas expuestas, generando un aumento en la expresión de los genes glutatión oxidasa (GSH). Actualmente se ha descrito el alelo *As3MT*, responsable de la tolerancia a arsénico (Antonelli et al., 2014; Engström et al., 2011) en poblaciones que han estado expuestas a altas concentraciones de manera crónica, como el caso del reporte de Gómez Rubio y col. (2012), que describió la prevalencia del alelo *AS3MT* en poblaciones de indígenas en el norte de México, y su importancia en la bimetilación de iAs.

El arsénico tiene una ruta compleja al ser ingerido por una persona, sin embargo, la gran mayoría es metilado y expulsado por la orina, en forma de ácido monometilarsónico y la presencia de *AS3MT* puede bimetilarlo como ácido bimetilarsénico (Gribble et al., 2015). Todo lo anterior ha generado un desarrollo de procedimientos para la determinación del arsénico, que puede ser utilizada en el diagnóstico de intoxicación, o su presencia en áreas contaminadas; sin embargo, el esfuerzo más importante es la determinación en agua potable, debido a la prevalencia y presencia de manera global. A continuación, exploraremos algunas de las metodologías más comunes en la determinación de arsénico en diversas fuentes.

### **Métodos de detección.**

#### **Métodos fisicoquímicos.**

Debido a la importancia de los metales pesados como cancerígenos y su presencia en agua potable, se desarrolló inicialmente una gran cantidad de metodologías fisicoquímicas para poder detectar la naturaleza de los metales, así como su concentración. La mayoría de estos contaminantes no necesitan estar en altas concentraciones para presentar un efecto detrimental en la salud humana, por ello, la mayoría de los equipos que se emplean para la determinación de metales pesados se basan en el análisis de la naturaleza atómica de cada uno de estos, y la sensibilidad permite detectarlos incluso a concentraciones traza. Algunos métodos utilizados para la detección de arsénico se muestran a continuación en la Tabla 1.

El estándar de oro fue por mucho tiempo la espectrofotometría de absorción atómica (Amaral et al., 2013), que fundamentalmente, mide la cantidad de luz absorbida por los

átomos del arsénico a la longitud de onda resonante, esta es, generada principalmente por una lámpara de cátodo hueco, y esta longitud de onda es la que puede ser absorbida cuando los átomos se encuentran excitados a altas temperaturas. Para detectar arsénico, se necesitaba un generador de hidruros y sistema de inyección de flujo, para poder generar arsina, AsH<sub>3</sub>, y de esta manera al ser calentando en una llama de aire acetileno, arrastrado por nitrógeno para formar As<sup>0</sup> e hidrogeno molecular. Esta metodología es sensible, y específica, sin embargo, el uso de los gases, así como el empleo del generador de hidruros elevan el costo de la determinación y lo hace una metodología inviable para el uso rutinario de la determinación de arsénico (Das et al., 2014).

Otras tecnologías de detección semejantes son la espectroscopia de fluorescencia atómica, y la espectroscopia de emisión óptica acoplada a plasma inductivo (Siddiki et al., 2012). A partir de las propiedades fisicoquímicas del arsénico se han propuesto y desarrollado otro tipo de metodologías, como la determinación de arsénico en agua potable a través de microelectrodos de fibras de carbono modificado con partículas de oro (Carrera et al., 2017), fluorescencia selectiva de iAs III, usando nanomaterial cubiertos de aptámeros de ADN (Kaur et al., 2015), y para el área médica, se ha explorado el uso de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplado a masas para la detección de los diferentes tipos de entidades metiladas de arsénico (Chung et al., 2014), el análisis de arsénico presente en uñas y cabellos, a través de absorción atómica (Del Razo et al., 2011), uso de sistema de fluorescencia de rayos X para detectar el efecto de la intoxicación de arsénico en tejido blando y huesos (Groskopf et al., 2017).

Por otro lado, los métodos colorimétricos, se basan en la producción de gas arsina, catalizado por la presencia de Zinc, el cual es detectado de manera colorimétrica por su reacción con bromuro de mercurio, produciendo un color amarillo, el cual es proporcional a la concentración de arsénico (Das et al., 2014).

### **Métodos biotecnológicos.**

Las metodologías anteriormente mencionadas presentan altos costos, implican el uso de aparatos especializados cuyo manejo exige cierto conocimiento técnico y para el caso de la generación de arsina, se generan desechos de manejo peligroso, como las tiras de bromuro de mercurio. Debido a esto, considerando la importancia de la detección de iAs en agua potable, se han desarrollado a través de técnicas biotecnológicas diferentes biosensores, que responden de manera específica a algunos metales pesados, tales como cromo, mercurio y arsénico (Huang et al., 2015; Merulla et al., 2013; Stocker et al., 2003). Algunos seres vivos son sensibles a la presencia de metales pesados y se han usado como una manera indirecta de la presencia de contaminantes en la naturaleza, como las algas (Smichowski et al., 2004), líquenes (Bajpai y Upreti, 2012) cuya presencia, velocidad de desarrollo o abundancia puede sugerir alguna clase de contaminación. Estos biosensores son útiles en algunos casos como bioinmineralizadores (Haas et al., 1998), por ello se puede conocer la identidad del contaminante, a través del estudio con espectroscopia de absorción atómica. Se ha explotado la capacidad de *Caenorhabditis elegans*, que responde al estrés oxidativo por metales pesados, a través de un marcador molecular, la metalotienina (MT) (Ma et al., 2009). Con ello, se han generado cepas transgénicas de *Caenorhabditis elegans*, con el gen MT fusionado transcripcionalmente al gen reportero GFP, para este caso se realizó la sensibilidad a diversos metales pesados y el tiempo de detección fue cercano a las 24 horas; sin embargo, este tipo de sistemas de detección son inespecíficos. Considerando el potencial de MT para detectar metales pesados, se han desarrollado biosensores que incluyen elementos genéticos que interactúan específicamente con metales, en este

caso, se modificó genéticamente la proteína *MT1a* humana, la cual fue físicamente absorbida en papel filtro y colocado en una pantalla impresa de electrodos de carbono (Irvine et al., 2017) el cual pudo ser capaz de detectar arsénico y mercurio con mayor rapidez, debido a la medición de cambios de potencial en mV a pH ácido, cuyo potencial es alterado por la unión de iAs o mercurio. El uso de sensores de arsénico en plantas ha sido reportado a través del uso de nanotubos de carbón, conocidos como SWNT, los cuales acoplados a un polímero sintético, en un proceso conocido como *Corona Phase Molecular Recognition* (CoPhMoRe), funciona como un sensor sensible y específico a arsenito (Lew et al., 2020), el cual una vez conformado el sensor, fue infiltrado a la planta, y en presencia de arsenito, provoca un cambio de la conformación del sensor, emitiendo una fluorescencia en el rojo cercano. Con ello, se puede monitorear en tiempo real la presencia y los cambios de concentración de arsenito en el medio (Lew et al., 2020). Estas nuevas estrategias donde la biotecnología se funciona con nanomateriales o la conformación de electrodos específicos para arsénicos han tenido un fuerte desarrollo en los últimos años, como por ejemplo el uso de proteínas quiméricas para su uso en electrodos específicos de arsénico. A través de biotecnología, se produce una proteína quimérica basado en la proteína Vmh2, una hidrofobia, junto con la proteína ArcC, la enzima arsenato reductasa, esta proteína asociada a partículas de oro ha sido utilizada exitosamente para medir la presencia de arsenato de manera eléctrica (Puopolo, R. et al 2021)

### Uso de biomonitores y biosensores microbianos

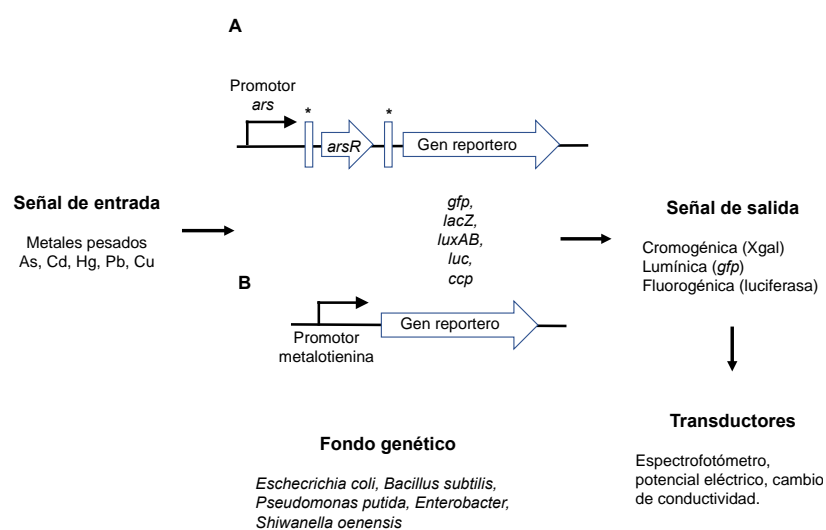
Esta tecnología se basa principalmente en la capacidad natural de algunos microorganismos de responder de manera específica a algunos compuestos, entre ellos los metales pesados (Huang et al., 2015). El sistema de detección está constituido por un circuito genético simple, que comprende un sistema de regulación como lo sería un promotor específico, o un gen regulador traduccional o transcripcional, y uno o varios genes reporteros (Figura 1; Merulla et al., 2013). Se han identificado y caracterizado promotores específicos que responden a metales pesados como cromo, mercurio, plomo y arsénico.

Por otro lado, se ha explotado la capacidad de adaptación de los microorganismos para desarrollar procesos de evolución dirigida y poder incrementar la especificidad y sensibilidad de la respuesta a arsénico (Li et al., 2015). Una vez identificados los elementos genéticos que responden de manera específica a los metales pesados, se pueden usar y clonar para dirigir la respuesta de un gen reportero mediada por la presencia del metal pesado, y de esta manera detectar no solamente la presencia del mismo, sino también, debido a la intensidad de respuesta del gen reportero, cuantificar el metal pesado. Entre los genes reporteros mayormente usados, encontramos aquellos cuya proteína puede ser cromogénica y fluorogénica, como por ejemplo la proteína verde fluorescente (GFP; Buffi et al., 2011a), alfa-galactosidasa (*lacZ*, Fernández et al., 2016), citocromo C peroxidasa (*ccp*) (Fuku et al., 2012; Wackwitz et al., 2008), luciferasa (*luc*, *luxAB*; Stocker et al., 2003), la proteína roja fluorescente (RFP; Hong et al., 2011) entre otras. Debido a la diversidad bacteriana existente, se han descrito parálogos de los genes reguladores de arsénico, que han sido utilizados en ensayos de detección en *Pseudomonas putida* KT2440 (Fernández et al., 2016), lo cual sugiere que puede ser usado como base para el diseño alternativo de una nueva familia de detectores. Hasta ahora, se han realizado ensayos novedosos, que integran la tecnología física con las capacidades de detección de arsénico de los microorganismos, y se ha conseguido un aumento en la sensibilidad y especificidad de detección, ade-

más de conseguir una base de estudio para entender los mecanismos de señalización molecular de los microorganismos ante un estímulo basado en metales pesados (Prindle et al., 2012).

Los biomonitores representan una ventaja ante los métodos fisicoquímicos, que podemos mencionar como especificidad, ya que las pruebas realizadas no se han encontrado elementos que puedan interferir con la detección, su sistema de producción es barato, y por ello es una metodología que puede ser usada de manera periódica, el manejo de la misma no requiere un entrenamiento especializado, tampoco de instalaciones especiales, pero sobre todo el potencial de seguir desarrollando nuevos detectores e integrar nuevas metodologías de detección, como por ejemplo: los biomonitores acoplados a sistemas electrónicos, capaces de detectar específicamente el cambio del gen reportero de manera electrónica y traducir la señal en una medición en  $\text{mg L}^{-1}$  en cuestión de minutos (Diesel et al., 2009; Merulla et al., 2013).

La Figura 1 muestra un resumen de los procesos de identificación de los metales pesados, considerando que, para el caso de arsénico, se utiliza una regulación indirecta de la presencia del analito, y para el caso de la metalotienina, se presenta una interacción directa.



**Figura 1.** Diagrama de la transducción de la señal de los metales pesados, los cuales son detectados por genes que responden a estrés oxidativo. A. En el caso del arsénico, el metaloide retira al represor ArsR de los sitios de unión (\*), provocando la expresión del gen reportero por el promotor *ars*. B. La señal puede promover directamente la expresión del gen reportero, como en el caso del promotor de la metalotienina. La señal de salida puede ser analizada directamente o a través de un transductor de señales



A continuación, describiremos algunos biomonitores utilizados en la determinación de arsénico que ofrecen la capacidad de calibración del sistema, sin embargo, esta calibración no solo depende de la concentración del analito, sino también del tiempo de incubación y la actividad fisiológica de la célula que influyen en la rapidez de la detección (Rasmussen y Minteer, 2015; Stocker et al., 2003).

De forma general, la detección de arsénico por biomonitores está basada en el operón *ars* bacteriano, descrito por conferir resistencia a arsénico en bacterias (Merulla et al., 2013; Sharma et al., 2013; Webster et al., 2014). Este operón es un sistema de transporte que bombea el arsénico hacia el exterior celular. En Gram positivas, el operón *ars* está codificado en plásmidos de *Staphylococcus aureus* p1258, el cual contiene un gen regulador *arsR*, que codifica para un represor transcripcional, el gen *arsB*, que codifica para una bomba específica de iAs, y finalmente el gen *arsC*, que codifica para un arsenito reductasa, el cual es el responsable de la reducción de As V a As III, así como la quelación y posterior eliminación por la célula. De la misma manera, *Escherichia coli* R773 porta un plásmido, que adicionalmente a los genes anteriormente descritos, contiene el gen *arsD* y un gen estructural *arsA*. Para el caso de *E. coli*, estos genes forman una ATPasa que transporta activamente el arsénico (Scott et al., 1997).

En ambos casos, la unión del arsénico al represor ArsR, provoca la pérdida de la afinidad del represor por los sitios de unión del ADN que rodean al promotor *arsR*, lo cual desencadena en la expresión de los genes de transporte, de esta manera es mediada la respuesta a la presencia de arsénico (Figura 1).

### Genes reporteros empleados en la detección de arsénico

Las proteínas con actividad luminiscente representan una ventaja en sensibilidad, y se adapta a las condiciones de expresión en los sistemas bacterianos. La luciferasa (*luxAB*), fusionada al gen represor de arsénico, *arsR*, en una diversidad de configuraciones, presenta un límite de detección de al menos 0.007 mg L<sup>-1</sup> en un tiempo de detección promedio de 1.5 h (Stocker et al., 2003). La señal de detección basado en la actividad de alfa-galactosidasa se ha usado intensamente en la determinación de arsénico, la respuesta de la producción de color, después de metabolizar p-aminofenol (PAP) o X-Gal es más rápida que la observada con luciferasa; sin embargo, debido a la naturaleza de lacZ, este suele presentar señal de fondo que puede intervenir con la especificidad de la reacción. Se han desarrollado versiones de la fusión transcripcional modificando el número de sitios de unión de la proteína represora ArsR, como el plásmido pMV-arsR-ABS, disminuyendo considerablemente la señal de fondo (Figura 1; Merulla et al., 2013). Con esta construcción, se han desarrollado metodologías para la detección de arsénico utilizando tiras de papel, en el cual el cultivo bacteriano puede colocarse en tiras de papel y dejarse secar, y posteriormente ser utilizado al sumergir la tira en agua por media hora y agregarle X-Gal. Este método es adecuado para una prueba semicuantitativa; sin embargo, Stocker et al (2003) encontraron que las muestras con 3 µM de arsénico perdían sensibilidad, y no podían diferenciarse a concentraciones mayores de iAs. Este tipo de pruebas portátiles puede ser mantenidas a -20, 4 o 30°C sin presentar una alteración en la determinación, por lo que se podría realizar muestreos de arsénico en áreas naturales sin perder la sensibilidad del método por la viabilidad microbiana. El cultivo microbiano utilizado por Stocker et al. (2003) no está fijo al papel y esto produce un desprendimiento del cultivo microbiano durante la incubación en agua, por ello se sugiere realizar ensayos para fijar las células al

soporte sin alterar la capacidad de detección o comprometer la viabilidad celular (Stocker et al., 2003).

Por su parte, el gen *gfp* representa una ventaja sobre los antes mencionados, ya que no requiere de un sustrato, y la determinación de arsénico tiene un punto final, con sensibilidades semejantes a la luciferasa, con una detección cercana a  $0.0075 \text{ mg L}^{-1}$  de arsénico (Huang et al., 2015). Este gen reportero se ha utilizado en el desarrollo de un sistema multiplex para la detección de cadmio, el cual está constituido por el represor *cadR*, y un promotor divergente *PcadR* y *Pcad*, clonados río arriba del gen reportero *gfp*. Se ha utilizado en diversos géneros bacterianos, a través de un plásmido de amplio espectro de replicación, pBR1MCS-5, en *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, *Shewanella oneidensis* MR-1 y dos especies de *Enterobacter* spp. (NCR3 y LCR17). Los géneros fueron seleccionados por su amplio espectro de adaptación en agua y suelo, y por su uso en procesos de biorremediación (Bereza-Malcolm et al., 2017); en este estudio, utilizaron el gen constitutivo *rfp*, por lo cual la doble expresión de los genes indicaría la viabilidad de la cepa y su funcionalidad a través del ensayo, debido a la combinación de la expresión de ambos genes (fluorescencia verde y roja, una inducible y otra constitutiva) arrojaron datos sobre sensibilidad, especificidad y tiempo de inducción, no solamente para la detección de cadmio, también para otros metales pesados, como mercurio, plomo, y arsénico (Huang et al., 2015); con este sistema, se estimó un tiempo de respuesta en una hora en concentraciones tan bajas como  $0.001 \text{ mg.L}^{-1}$ , se observaron diferencias apreciables de la determinación de metales pesados por el sistema multiplex, atribuido principalmente por el fondo genético de los diversos géneros utilizados, así como algún otro tipo de inductor aun no esclarecido, que sería responsable por las diferencias del sistema en los diferentes géneros bacterianos (Bereza-Malcolm et al., 2017). Otro gen que se ha empleado como monitor para la detección de metales es el citocromo C peroxidasa (*ccp*), aunque no es un gen reportero usado comúnmente, algunas mutantes *ccp* se han empleado en la detección para iAs, utilizando como sustrato guaiacol (Fuku et al., 2012; Wackwitz et al., 2008).

**Tabla 1.** Algunos métodos de determinación de arsénico y otros metales pesados por diversas tecnologías.

Método	Referencia
Electroquímico, con ultramicroelectrodos de fibra de carbono con partículas de oro	Carrera et al., 2017
LC-ICP-MS, HPLC-IPC-MS, detección de especies metiladas en orina	Carioni et al., 2017; Chung et al., 2014
Producción arsina, detección con bromuro de mercurio	Das et al., 2014
Liberación de rodamina B en materiales cubiertos con aptámeros de ADN	Oroval et al., 2017
Sistema fluorescente de rayos X	Groskopf et al., 2017
Colorimetría en silica gel, usando placas de nanoplatina	Siangproh et al., 2016
Genes <i>luc</i> , <i>luxAB</i>	Huang et al., 2015; Stocker et al., 2003
Biosensor multiplex para la identificación de Cd	Bereza-Malcolm et al., 2017



Gen <i>ccp</i>	Fuku et al., 2012
Sistema Ars-ArsR	Fernández et al., 2016; Li et al., 2015; Merulla et al., 2013; Scott et al., 1997; Siddiki et al., 2012
Sistema basado en metalotienina ARSOLux	Ma et al., 2009 Siegfried et al., 2015
Gen <i>gfp</i>	Buffi et al., 2011a; Merulla et al., 2013; Roberto et al., 2002
Gen <i>lacZ</i>	Fernández et al., 2016
Electroquímica de biosensores para la identificación de arsenito y antimonio	Bansod et al., 2017; Fuku et al., 2012; Scott et al., 1997
Microarreglo bacteriano de biosensores, determinación de iAs	Prindle et al., 2012
Proteína iLOV	Ravikumar et al., 2017; Buffi et al., 2011b.
CoPhMoRe	Lew et al., 2020
Quimera Vmh2-ArsC	Paupolo et al., 2021.

### Biosensores acoplados a sistemas de detección.

La integración de sistemas de detección para el análisis de la señal de genes reporteros, ha representado una ganancia en la rapidez, especificidad y sensibilidad del método de detección que ofrece el uso de los biomonitores. Son considerados la nueva generación de los sistemas de detección (Bereza-Malcolm et al., 2017; Strosnider, 2003). Entre estos, se encuentran los sistemas bioelectroquímicos para monitorear el medio ambiente; por ejemplo, la modificación por Ingeniería Genética de *Shewanella oneidensis*, la cual fue modificada la ruta de reducción de metales, bajo el control del promotor sensible a arsénico, incrementando la corriente eléctrica en presencia del metaloide, su límite de detección aproximado fue de 0.04 mg L<sup>-1</sup> (Webster et al., 2014). Entre los materiales más comúnmente usados, se encuentran las nanopartículas de sílica con mesoporo (MSNs), debido a su superficie de área interna y la modificación química de la superficie. El uso de aptámeros de ADN se ha reportado como un excelente material en la amplificación y detección de metales pesados debido a su estabilidad, alta afinidad y selectividad por las proteínas blanco, moléculas pequeñas e iones, como ha sido el caso para el reconocimiento de ATP, potasio, adenosina y trombina (Oroval et al., 2017). La combinación de sistemas MSNs con el aptámero de ADN, mejoran las capacidades y el diseño de estos detectores, como la reportada para el desarrollo de un sistema fluorogénico, en la detección de arsénico. El mecanismo de acción propuesto, es el acoplamiento de MSN con rodamina B, en la superficie con fracciones de aminopropil serán desplazados por la presencia de iAs(III), desbloqueando los poros, desplazado el aptámero y liberando el colorante, encontrando una sensibilidad cercana al 0.009 mg L<sup>-1</sup> (Oroval et al., 2017).

### Perspectivas

Actualmente, se han desarrollado nuevas tecnologías de detección al combinar el poder de amplificación de las señales, con los sistemas biológicos de reconocimiento de partículas, lo que ha originado el diseño de nuevos sistemas que integran lo mejor de la detección, sensibilidad, especificidad, costos y facilidades de uso. Se han considerado otros tipos de genes reporteros que directamente puedan generar corriente eléctrica (Gribble et al., 2013), basado en los mismos sistemas de detección de transcripción y transducción genéticos, consideramos que estamos ante la presencia de una nueva era de biosensores y biomonitores, para el análisis de una mayor cantidad de analitos, su desarrollo abrirá el campo de estudio para aquellos profesionales de la electrónica y programación, al campo de la biotecnología, así como la apertura a los biotecnólogos al uso y desarrollo de la biotecnología integrada a sistemas electrónicos. Lo mostrado en esta revisión solo es una fracción de los sistemas desarrollados, consideramos que la creatividad e innovación de las futuras generaciones revolucionaran en corto tiempo esta área de la biotecnología.

### Conclusiones

El desarrollo de la biotecnología ofrece una alternativa en detección de contaminantes, entre otros campos de interés como la biorremediación y exploración, ante la creciente presencia de compuestos xenobióticos, originados por actual estilo de vida. El arsénico producido y usado intensivamente como plaguicida hace 50 años, representa un problema prioritario a la salud de la gente expuesta al consumo de agua contaminada en nuestros días, y con el uso de herramientas biotecnológicas se proveerán de nuevas estrategias para la detección, monitoreo y manejo de este contaminante. La acumulación de contaminantes emergentes representará en unos años, nuevos problemas prioritarios que amenacen la seguridad alimentaria, salud y el equilibrio ecológico de los hábitats impactados, por ello, el desarrollo de nuevas tecnologías representa una estrategia para un adecuado manejo, remediación y recuperación de los sitios contaminados.

### Referencias

1. Alarcón-Herrera, M. T.; Bundschuh, J.; Nath, B.; Nicolli, H. B.; Gutierrez, M.; Reyes-Gomez, V. M.; Nuñez D; Martín-Dominguez I. R.; Sracek, O. (2013) Co-occurrence of arsenic and fluoride in groundwater of semi-arid regions in Latin America: Genesis, mobility and remediation. *Journal of hazardous materials*. 262:960-969.
2. Amaral, C. D. B.; Nóbrega, J. A.; Nogueira, A. R. A. (2013) Sample Preparation for Arsenic Speciation in Terrestrial plants-A Review. *Talanta* 115: 291-99.
3. Antonelli, R.; Shao, K.; Thomas, D. J.; Sams, R.; Cowden, J. (2014) AS3MT, GSTO, and PNP polymorphisms: Impact on arsenic methylation and implications for disease susceptibility. *Environmental Research* 132:156-167.
4. Armienta, M. A.; Segovia, N. (2008) Arsenic and fluoride in the groundwater of Mexico. *Environmental Geochemistry and Health* 4:345-353.
5. Bajpai, R.; Upreti, D. K. (2012) Accumulation and toxic effect of arsenic and other heavy metals in a contaminated area of West Bengal, India, in the lichen *Pyxine coccinea* (Sw.) Nyl. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 83:63-70.
6. Bansod, B.; Kumar, T.; Thakur, R.; Rana S.; Singh I. (2017) A review on various electrochemical techniques for heavy metal ions detection with different sensing platforms. *Biosensors and Bioelectronics* 94:443-55.

7. Bereza-Malcolm, L.; Aracic, S.; Kannan, R.; Mann, G.; Franks, A. E. (2017) Functional characterization of Gram-negative bacteria from different genera as multiplex cadmium biosensors. *Biosensors and Bioelectronics* 94:380-387.
8. Buffi, N.; Merulla D.; Beutier, J.; Barbaud, F.; Beggah, S.; Van Lintel, H.; Renaud P.; Van der Meer J. R. (2011a) Miniaturized bacterial biosensor system for arsenic detection holds great promise for making integrated measurement device. *Bioengineered Bugs* 2: 296-98.
9. Buffi, N.; Merulla D.; Beutier J.; Barbaud F.; Beggah S.; Van Lintel H.; Renaud P.; Van der Meer J. R. (2011b) Development of a microfluidics biosensor for agarose-bead immobilized *Escherichia coli* bioreporter cells for arsenite detection in aqueous samples. *Lab on a Chip* 14:2369-2377
10. Carioni, V. M. O.; McElroy, J. A.; Guthrie, J. M.; Ngwenyama, R. A.; Brockman, J. D. (2017) Fast and reliable method for As speciation in urine samples containing low levels of As by LC-ICP-MS: Focus on epidemiological studies. *Talanta* 165:76-83.
11. Carrera, P.; Espinoza-Montero, P. J.; Fernández, L.; Romero, H.; Alvarado, J. (2017) Electrochemical determination of arsenic in natural waters using carbon fiber ultra-microelectrodes modified with gold nanoparticles. *Talanta* 166:198-206.
12. Chung, J.-Y.; Lim, H.-J.; Kim, Y.-J.; Song, K.-H.; Kim, B.-G.; Hong, Y.-S. (2014) The separation of arsenic metabolites in urine by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Environmental Health and Toxicology* 29:e2014018
13. Das, J.; Sarkar, P.; Panda, J.; Pal, P. (2014) Low-cost field test kits for arsenic detection in water. *Journal of Environmental Science and Health* 49:108-15.
14. Del Razo, L. M.; García-Vargas, G. G.; Valenzuela, O. L.; Hernández-Castellanos, E.; Sánchez-Peña, L. C.; Currier J. M.; Drobná, Z.; Loomis, D.; Stýblo, M. (2011) Exposure to arsenic in drinking water is associated with increased prevalence of diabetes: A cross-sectional study in the Zimapán and Lagunera regions in Mexico. *Environmental Health* 10:a73.
15. Diesel, E.; Schreiber, M.; Van der Meer, J. R. (2009) Development of bacteria-based bioassays for arsenic detection in natural waters. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 394:687-693.
16. Engström, K.; Vahter, M.; Jurkovic-Mlakar, S.; Concha, G.; Nermell, B.; Raqib, R.; Cardozo, A.; Broberg K. (2010) Polymorphisms in arsenic (+III oxidation state) methyltransferase (AS3MT) predict gene expression of AS3MT as well as arsenic metabolism. *Environmental Health Perspectives* 119:182-88.
17. Secretaria de Salubridad y Asistencia (2000). Modificación a La Norma Oficial Mexicana NOM-127--SSA1--1994, disponible en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/m127ssa14.html> consultado 9 de mayo del 2017.
18. Fernández, M.; Morel, B.; Ramos, J. L.; Krell, T. (2016) Paralogous regulators *ArsR1* and *ArsR2* of *Pseudomonas putida* KT2440 as a basis for arsenic biosensor development. *Applied and Environmental Microbiology* 82:4133-4144. 49
19. Fuku, X.; Iftikar, F.; Hess, E.; Iwuoha, E.; Baker, P. (2012) Cytochrome c biosensor for determination of trace levels of cyanide and arsenic compounds. *Analytica Chimica Acta* 730:49-59.
20. Gomez-Rubio, P.; Klimentidis, Y.; Cantu-Soto, E.; Meza-Montenegro, M. M.; Billheimer, D.; Lu, Z.; Chen, Z.; Klimecki W. (2012) Indigenous american ancestry is associated with arsenic methylation efficiency in an admixed population of north-west Mexico. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 75:36-49.
21. Gribble, M. O., Crainiceanu, C. M.; Howard, B. V.; Umans, J. G.; Francesconi, K. A.; Goessler, W.; Zhang, Y., Silbergeld, E. K.; Guallar, E.; Navas-Acien A. (2013). Body composition and arsenic metabolism: A cross-sectional analysis in the strong heart study. *Environmental Health* 12:a107.

22. Gribble, M. O.; Voruganti, V. S.; Cole, S. A.; Haack, K.; Balakrishnan, P.; Laston, S.L.; Tellez-Plaza, M.; Francesconi, K. A.; Goessler, W.; Umans, J. G.; Thomas D. C.; Gilliland, F.; North, K. E.; Franceschini, N.; Navas-Acien, A. (2015) Linkage analysis of urine arsenic species patterns in the strong heart family study. *Toxicological Sciences* 148:89-100.
23. Groskopf, C.; Bennett, S. R.; Gherase, M. R.; Fleming, D. E. B. (2017) Detection of lead in bone phantoms and arsenic in soft tissue phantoms using synchrotron radiation and a portable x-ray fluorescence system. *Physiological Measurement* 38:374-386.
24. Haas, J. R.; Bailey, E. H.; William Purvis, O. (1998) Bioaccumulation of metals by lichens: Uptake of aqueous uranium by *Peltigera membranacea* as a function of time and pH. *American Mineralogist* 83:1494-1502.
25. Hong, K. P.; Spitzer, N. C.; Nicol, X. (2011) Improved molecular toolkit for cAMP studies in live cells. *BMC Research Notes* 4:a241.
26. Huang, C. F.; Chen, Y. W.; Yang, C. Y.; Tsai, K. S.; Yang, R. S.; Liu, S. H. (2011) Arsenic and diabetes: Current perspectives. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences* 27:402-410.
27. Huang, C. W.; Yang, S. H.; Sun, M. W.; Liao, V. H. C. (2015) Development of a set of bacterial biosensors for simultaneously detecting arsenic and mercury in groundwater. *Environmental Science and Pollution Research* 22:10206-10213.
28. Irvine, G. W.; Tan, S. N.; Stillman, M. J. (2017) A Simple metallothionein-based biosensor for enhanced detection of arsenic and mercury. *Biosensors* 7:a14.
29. Jeong, C.; Di Rienzo, A. (2014) Adaptations to local environments in modern human populations. *Current Opinion in Genetics and Development*, 29:1-8.
30. Kaur, H.; Kumar, R.; Babu, J. N.; Mittal, S. (2015) Advances in arsenic biosensor development - a comprehensive review. *Biosensors and Bioelectronics* 63:533-545.
31. Lew, S. T. T.; Park, M.; Cui, J.; Strano, S. M. (2020) Plant nanobionic sensors for arsenic detection. *Advanced Materials* <https://doi.org/10.1002/adma.202005683>.
32. Li, L.; Liang, J.; Hong, W.; Zhao, Y.; Sun, S.; Yang, X.; Xu, A.; Hang, H.; Wu, L.; Chen, S. (2015) Evolved bacterial biosensor for arsenite detection in environmental water. *Environmental Science and Technology* 49:6149-55.
33. López, D. L.; Bundschuh, J.; Birkle, P.; Armienta, M. A.; Cumbal, L.; Sracek, O.; Cornejo, L.; Ormachea M. (2012) Arsenic in volcanic geothermal fluids of Latin America. *Science of the Total Environment* 429:57-75.
34. Ma, H.; Glenn, T. C.; Jagoe, C. H.; Jones, K. L.; Williams, P. L. (2009) A transgenic strain of the nematode *Caenorhabditis elegans* as a biomonitor for heavy metal contamination. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28:1311-1318.
35. Martin, E.; González-Horta, C.; Rager, J.; Bailey, K. A.; Sánchez-Ramírez, B.; Ballinas-Casarrubias, L.; Ishida, M. C.; Gutiérrez-Torres, D. S.; Hernández Cerón, R.; Viniegra Morales, D.; Baeza Terrazas, F. A.; Saunders, R. J.; Drobná, Z.; Mendez, M. A.; Buse, J. B.; Loomis, D.; Jia, W.; García-Vargas, G. G.; Del Razo, L. M.; Stýblo, M.; Fry, R. (2015) Metabolomic characteristics of arsenic-associated diabetes in a prospective cohort in Chihuahua, Mexico. *Toxicological Sciences* 144:338-46.
36. Merulla, D.; Buffi, N.; Beggah, S.; Truffer, F.; Geiser, M.; Renaud, P.; Van der Meer, J. R. (2013) Bioreporters and biosensors for arsenic detection. *Biotechnological solutions for a world-wide pollution problem. Current Opinion in Biotechnology*, 24:534-541.
37. Merulla, D.; Hatzimanikatis, V.; Van der Meer, J. R. (2013) Tunable reporter signal production in feedback-uncoupled arsenic bioreporters. *Microbial Biotechnology* 6:503-514.
38. Oroval, M.; Coll, C.; Bernardos, A.; Marcos M. D.; Martínez-Máñez, M. R.; Shchukin, D. G.; Sancenón, F. (2017) Selective fluorogenic sensing of As(III) using aptamer-capped nanomaterials. *ACS Applied Materials and Interfaces* 9:11332-11336.

39. Osorio-Yáñez, C.; Ayllon-Vergara, J. C.; Arreola-Mendoza, L.; Aguilar-Madrid, G.; Hernández-Castellanos, E.; Sánchez-Peña, L. C.; Del Razo, L. M. (2015) Blood pressure, left ventricular geometry, and systolic function in children exposed to inorganic arsenic. *Environmental Health Perspectives* 123: 629-635.
40. Prindle, A.; Samayoa, P.; Razinkov, I.; Danino, T.; Tsimring, L. S.; Hasty, J. (2012) A sensing array of radically coupled genetic "biopixels". *Nature* 481:39-44.
41. Puopolo, R., Sorrentino, I., Gallo, G., Piscitelli, A., Giardina, P., Le Goff, A., Fiorentino, G. (2021) self-assembling thermostable chimeras as new platform for arsenic biosensing. *Scientific reports* 11:2991. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82648-9>.
42. Ramos-Chávez, L-A.; Rendón-López, C. R.; Zepeda, A.; Silva-Adaya, D.; Del Razo, L. M.; Gensebatt, M. E. (2015) Neurological effects of inorganic arsenic exposure: Altered cysteine/glutamate transport, NMDA expression and spatial memory impairment. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 9:1-12.
43. Rasmussen, M.; Minter, S. D. (2015) Long-term arsenic monitoring with an *Enterobacter cloacae* microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry*, 106:207-212.
44. Ravikumar, Y.; Nadarajan, S. P.; Lee, C. S.; Yun, H. (2017) Engineering an FMN-based iLOV protein for the detection of arsenic ions. *Analytical Biochemistry* 525:38-43.
45. Reyes-Gómez, V. M.; Alarcón-Herrera, M. T.; Gutiérrez, M.; López, D. N. (2015) Arsenic and fluoride variations in groundwater of an endorheic basin undergoing land-use changes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 68:292-304.
46. Roberto, F. F.; Barnes, J. M.; Bruhn, D. F. (2002) Evaluation of a GFP reporter gene construct for environmental arsenic detection. *Talanta* 58:181-188.
47. Secretaria de Salud (1994). NORMA Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Disponible en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.html> consultado 9 de mayo del 2017.
48. Schlebusch, C. M.; Gattepaille, L. M.; Engström, K.; Vahter, M.; Jakobsson, M.; Broberg, K. (2015) Human adaptation to arsenic-rich environments. *Molecular Biology and Evolution* 32:1544-1555.
49. Scott, D. L.; Ramanathan, S.; Shi, W.; Rosen, B. P.; Daunert, S. (1997) Genetically engineered bacteria: Electrochemical sensing systems for antimonite and arsenite. *Analytical Chemistry* 69:16-20.
50. Sharma, P.; Asad, S.; Ali, A; (2013) Bioluminescent bioreporter for assessment of arsenic contamination in water samples of India. *Journal of Biosciences* 38:251-258.
51. Siangproh, W.; Chailapakul, O.; Songsrirote, K. (2016) Simple and fast colorimetric detection of inorganic arsenic selectively adsorbed onto ferrihydrite-coated silica gel using silver nanoplates. *Talanta* 153:197-202.
52. Siddiki, M. S.; Ueda, S.; Maeda, I. (2012) Fluorescent bioassays for toxic metals in milk and yoghurt. *BMC Biotechnology*, 12:a76
53. Siegfried, K.; Hahn-Tomer, S.; Koelsch, A.; Osterwalder, E.; Mattusch, J.; Staerk, H-J.; Meichtry J. M.; De Seta, G. E.; Reina F. D.; Panigatti, C.; Litter, M. I.; Harms, H. (2015). Introducing simple detection of bioavailable arsenic at Rafaela (Santa Fe Province, Argentina) using the ARSOLux biosensor. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 12:5465-82.
54. Smeester, L.; Rager, J. E.; Bailey, K. A.; Guan, X.; Smith, N.; García-Vargas, G.; Del Razo, L. M.; Drobná, Z.; Kelkar, H.; Stýblo, M.; Fry, R. C. (2011) Epigenetic changes in individuals with arsenicosis. *Chemical Research in Toxicology* 24:165-67.

55. Smichowski, P.; Farías, S.; Valiente, L.; Iribarren, M. L.; Vodopivec, C. (2004) Total arsenic content of nine species of Antarctic macro algae as determined by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 378:465-469.
56. Stocker, J.; Balluch, D.; Gsell, M.; Harms, H.; Feliciano, J.; Daunert, S.; Malik, K. A.; Van der Meer, J. R. (2003) Development of a set of simple bacterial biosensors for quantitative and rapid measurements of arsenite and arsenate in potable water. *Environmental Science and Technology* 37:4743-50.
57. Strosnider, H. (2003). Whole-cell bacterial biosensors and the detection of bioavailable arsenic. Environmental Protection Agency, Office of Superfund Remediation and Technology Innovation Ed. Washington, DC U.S.A. p19
58. Wackwitz, A.; Harms, H.; Chatzinotas, A.; Breuer, U.; Vogne, C.; Van Der Meer, J. R. (2008) Internal arsenite bioassay calibration using multiple bioreporter cell lines. *Microbial Biotechnology* 1:149-157.
59. Webster, D. P.; TerAvest, M. A.; Doud, D. F.; Chakravorty, A.; Holmes, E. C.; Radens, C. M.; Sureka, S.; Gralnick, J. A.; Angenent, L. T. (2014) An arsenic-specific biosensor with genetically engineered *Shewanella oneidensis* in a bioelectrochemical system. *Biosensors and Bioelectronics* 62:320-24.
60. World Health Organization (2011). Arsenic in drinking-water: background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. World Health Organization (Vol. 27). Geneva, Switzerland
61. Yoon, Y.; Kim, S.; Chae, Y.; Kim, S. W.; Kang, Y.; An, G.; Jeong, S. W.; An, Y. J. (2016) Simultaneous detection of bioavailable arsenic and cadmium in contaminated soils using dual-sensing bioreporters. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100:3713-3722.