



Dr. Juan Gabriel Rodríguez

Desarrollo de Negocio Área Nanotecnología. Álava Ingenieros

Dra. Ana Pérez Campos

Jefe de Producto Área Nanotecnología. Álava Ingenieros

Es una realidad palpable, de sobra conocida, que estamos viviendo una revolución de gran relevancia comparable con la revolución industrial: la revolución nanotecnológica. Este hecho trasciende a numerosos aspectos de nuestra vida, y continúa con una evolución exponencial de la que sabemos cambiará rápido nuestras vidas futuras. El campo de la biología, microbiología o farmacología no son una excepción. De hecho generan un notable interés, tanto desde el punto de investigador como del de la industria. Como en la mayoría de los avances tecnológicos, el primer paso viene de la mano de investigadores que buscan soluciones innovadoras mediante estudios y muestras experimentales que poder trasladar a la industria. De forma general podemos dividir su trabajo experimental dentro de fabricación de muestras o ejecución de experimentos y caracterización de las mismas en la búsqueda de resultados concluyentes. El presente artículo pretende dar una visión general de las tecnologías más usadas de caracterización para aplicaciones bio.

La microscopía electrónica es utilizada ampliamente en campos muy diversos del mundo nano y micro. Los TEM (microscopio electrónico de transmisión) y SEM (microscopio electrónico de barrido) destacan por su versatilidad y amplia variedad de aplicaciones.

En el área de la biología destacan:

Ingeniería biomédica: en implantes, tejidos artificiales o matrices soporte para el crecimiento de células, así como la predicción de la aceptación del material por el

La revolución nanotecnológica

cuerpo del anfitrión. Con los sistemas actuales, los investigadores pueden incidir directamente en los materiales e investigar las interfaces de material tejido o visualizarlos en 3D, obteniendo mayor información en menos tiempo.

Morfología celular: los cambios en la morfología de la membrana externa pueden ser una muestra de que las funciones celulares han sufrido algún cambio, tales como la formación de tumores, ataque viral o la diferenciación de células madre. Los SEM son instrumentos ideales para investigar la estructura celular y de tejidos con alta resolución. Existen sistemas SEM UHR (Ultra High Resolution) diseñados específicamente para obtener imágenes de resolución ultra alta a bajas tensiones de aceleración, lo que proporciona mejor contraste y resolución topográfica. Esto ayuda a los científicos a investigar cambios en la forma de surcos, poros, ampollas o microvellosidades en la superficie celular.

Microbiología: la contaminación microbiana no controlada es una causa común de rechazo de los dispositivos biomédicos tales como catéteres de plástico, los implantes de prótesis y otros dispositivos médicos. Las imágenes de alta resolución de la superficie microbiana que se pueden obtener con un SEM ayudan a comprender mejor la morfología de las poblaciones microbianas, la comunicación de bacterias y la formación de biopelículas. Además, con un Cryo-SEM se pueden observar estas biopelículas microbianas en las condiciones y medio ambiente requeridos,

usando para ello las opciones de presión variable o de adaptación que ofrece el microscopio.

- **Farmacéuticas:** la estructura, el tamaño de partícula, la porosidad y la presencia de contaminantes que cambian la actividad final del fármaco son algunas de las medidas que se pueden realizar con un SEM. Constituyen una herramienta perfecta y fiable para el control de calidad de las nuevas preparaciones que proporciona altas corrientes de análisis y alta resolución.

Análisis subcelular: típicamente esta área de investigación ha sido un dominio de la microscopía electrónica de transmisión, TEM. Sin embargo, la tecnología SEM va siendo cada vez más popular en este campo, debido a las técnicas emergentes de las que disponen estos equipos.

A su vez, los SEM Focus Ion Beam (FIB) pueden cortar la muestra observada. Utilizando este sistema, los usuarios pueden hacer crosssections, una opción ideal para la inspección de tejidos y materiales, límites de biopelículas microbianas y las características subcelulares. Por seccionamiento en serie, también se pueden reproducir fácilmente los datos tomográficos en 3D.

Paralelamente al desarrollo de los SEM "tradicionales", una nueva línea de microscopios SEM de sobremesa ha surgido en los últimos años. Su reducido tamaño y facilidad de manejo sin restar potencia ni resolución, facilitan el trabajo del investigador y, lo que es más importante, aportan grandes ventajas a la hora de estudiar el mundo bio. Gracias al bajo voltaje al que trabajan estos equipos la muestra no se carga eléctricamente y, por tanto, se evita el tratamiento previo para poder observarla bien. Ahorrándonos estos tratamientos tan comunes como el recubrimiento de capas finas de metal o spacer, no sólo reducimos el tiempo de trabajo sino que evitamos dañar la muestra. Además, trabajar a bajos voltajes es crítico cuando hablamos de biomuestras, ya que a altos valores es habitual que las muestras se quemen.

En el caso de los TEM de sobremesa encontramos estas mismas ventajas: una vez más el que no sea necesario tratar la muestra previamente, aspecto vital cuando hablamos de bioaplicaciones.

En cuanto a técnicas de microscopía, es importante hablar del microscopio holográfico multimodal (MHM) para la microscopía óptica avanzada. Es un instrumento para el barrido de imágenes cuantitativo de fases (denominado quantitative phase imaging QPI), basado en la tecnología patentada de la microscopía holográfica, controlada por la coherencia. Esta tecnología utiliza fuentes de luz incoherentes (lámpara halógena, LED) que proporcionan QPI con la más alta calidad.

El único sistema MHM actual, Q-Phase, está especialmente diseñado para observar células vivas *in vitro*, una

nueva técnica con incalculables posibilidades y repercusión en este sector. Se basa en una plataforma de microscopio de transmisión invertida. Todo el sistema puede estar situado en una incubadora específica para el microscopio. La motorización completa cumple con las más altas exigencias en materia de automatización de cada experimento.

Dentro de los equipos para caracterizar biomuestras no podemos olvidarnos de los AFM (Atomic Force Microscope) que respecto a otras técnicas de microscopía aportan la ventaja de caracterizar muestras líquidas, un medio habitual en los experimentos biológicos. En este caso la tecnología más puntera, especialmente pensada para estas aplicaciones.

El único sistema MHM actual, Q-Phase, está especialmente diseñado para observar células vivas *in vitro*

Otra técnica, más rápida que las citadas anteriormente y que permite por tanto ir caracterizando o revisando las muestras, a la vez que se trabaja sin suponer una interrupción en el experimento en cuestión, es la perfilometría óptica sin contacto. Mediante ella se barren superficies obteniendo datos como espesor, rugosidad, tamaños críticos o texturas con una resolución por debajo del nanómetro. Los perfilómetros se usan en multitud de sectores para muestras de todo tipo de aplicaciones. La gran resolución y posibilidades de estos equipos aportan mucha información sobre la salud y el modo de vida de nuestros antepasados.

Aparte de estas tecnologías de "imagen", una de las técnicas de análisis/caracterización más extendidas en diversos campos de la ciencia es la difracción de rayos X. Como es de sobra conocido, los rayos X permiten reconocer materiales y diferir entre posibles fases y composición de un compuesto. Esto resulta especialmente útil cuando se trata de análisis de fase de productos farmacéuticos de múltiples componentes y componentes biomédicos teniendo una importante repercusión en la industria.

La combinación de estas técnicas, junto con la de fabricación o preparación de muestras experimentales, permite un avance en la biotecnología y sus áreas cada vez mayor. Estas tecnologías viven a su vez en continua evolución, apareciendo cada año equipos con más posibilidades y mejoras para facilitar la labor del investigador y contribuir así al avance de la biociencia.