



## Biosensor amperométrico basado en lacasa inmovilizada en trazos iónicos

Humberto García Arellano<sup>a</sup>, Dietmar Fink<sup>b,c</sup>, Gerardo Muñoz Hernández<sup>b,d</sup>, Jiri Vacík<sup>c</sup>, Vladimir Hnatowicz<sup>e</sup>, Lital Alfonta<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma. Lerma, Estado de México, C.P. 52005. <sup>b</sup>División de Ciencias Naturales e Ingeniería, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, México, D.F., 01120. <sup>c</sup>Nuclear Physics Institute, 25068, Rež, Czech Republic. <sup>d</sup>Departamento de Física, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D.F., 09340. <sup>e</sup>Avram and Stella Goldstein-Goren Department of Biotechnology Engineering, Ben-Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, 84105, Israel.  
Email: h.garcia@correo.ler.uam.mx

*Palabras clave: Biosensor, Lacasa, Compuestos fenólicos*

**Introducción.** Se construyó un nuevo tipo de biosensor para la determinación de compuestos fenólicos. El sensor consiste en hojas poliméricas nanoporosas (12  $\mu\text{m}$  de espesor) en las cuales se ha inmovilizado una lacasa. El sensor se ensayó con diferentes compuestos fenólicos. Durante la reacción con la lacasa inmovilizada se formaron productos que difieren de los sustratos en su conductividad eléctrica. Esta propiedad se correlaciona con las concentraciones de los sustratos fenólicos. La sensibilidad del sensor depende fuertemente del sustrato ensayado, siendo mejor para el ácido cafeico, seguido del azul ácido 74, ABTS y ácido ferúlico.

**Metodología.** El sensor se construyó utilizando hojas poliméricas delgadas que han sido irradiadas con iones pesados. Este tratamiento produce en el polímero micro o nanoporos conocidos como trazos iónicos. Estos trazos iónicos son posteriormente tratados químicamente para producir poros más grandes en los cuales es posible inmovilizar enzimas.

Nuestro grupo se centró básicamente en una estrategia de enriquecimiento del producto dentro estos nanoporos (1). En este concepto, una enzima seleccionada se inmoviliza en las paredes de los trazos iónicos e inmediatamente después de la adición del sustrato se registra la corriente transmitida durante la aplicación de un voltaje externo. La magnitud de la corriente transmitida se correlaciona con la concentración del sustrato, de tal forma que los dispositivos creados funcionan como sensores amperométricos.

**Resultados.** Se construyó un biosensor basado en lacasa para la detección de compuestos fenólicos (2). El criterio básico para la aplicación de estos sensores radica en la diferencia de conductividades entre el sustrato y los productos de reacción. Esto significa que la estrategia es aplicable sólo si a) el sustrato es no iónico pero los productos si lo son; b) el sustrato es iónico pero sus productos no; y c) tanto el sustrato como sus productos son iónicos pero difieren en sus estados de carga. Analitos que se disocian fácilmente inducen respuestas rápidas y claras. Nuestros sensores respondieron a la presencia de diferentes compuestos fenólicos y se construyeron curvas de calibración que correlacionan la

corriente transmitida contra la concentración de los sustratos ensayados. Debido a que cada par sustrato/producto difiere en conductividad se logró obtener una curva de calibración para cada sustrato ensayado.

Las diferentes respuestas de corriente obtenidas para cada sustrato se explican por los diferentes estados de carga entre los analitos y sus diferentes productos intermediarios y finales. Estas diferencias de carga son lo suficientemente grandes para permitir una señal razonable en el sensor.

Se encontró que el sensor puede cubrir rutinariamente entre 5 y 9 órdenes de magnitud y en el mejor de los casos es posible detectar concentraciones en el orden picomolar. La sensibilidad del dispositivo depende fuertemente del compuesto ensayado siendo mayor para el ácido cumárico, ácido cafeico y azul ácido 74, seguido por el ABTS y el ácido ferúlico.

La vida útil del sensor está determinada por la estabilidad de la enzima inmovilizada en el polímero. En nuestro caso, experimentos previos sugirieron vidas útiles de alrededor de tres meses con cerca de treinta reúsos sin pérdida de actividad.

**Conclusiones.** Se construyó un nuevo tipo de biosensor basado en lacasa. Este sensor demostró una alta sensibilidad para compuestos fenólicos. El rango de detección es amplio abarcando entre 5 y 9 órdenes de magnitud. En el mejor de los casos se logró detectar compuestos fenólicos en el orden picomolar.

**Agradecimientos.** D.F. Agradece a la Agencia de Subvenciones de la República Checa (P108-12G-108) por el apoyo económico.

### Bibliografía.

1. Fink, D.; Muñoz, G.; Alfonta, L. (2011). Ion track-based urea sensing. *Sens. Actuator B*. 156: 467-470.
2. García-Arellano, H., Fink, D., Muñoz Hernández, G., Vacík, J., Hnatowicz, V., Alfonta, L. (2014). Nuclear track-based biosensors with the enzyme laccase. *Appl. Surf. Sci.* 310: 66-76.