



CARACTERIZACIÓN POR MICROSCOPIA AFM Y ESPECTROSCOPIA FT-IR DE UN BIOSENSOR OPTICO PARA DETERMINAR AMINAS BIOGENAS

Jesboc Arodi Mendoza Ortega, Orlando Zaca Morán, Valentín López Gayou, Raúl Jacobo Delgado Macuíl.
Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada CIBA-IPN, Tlaxcala, 90700., México.

Jes_arodi@hotmail.com

Palabras clave: Inocuidad, calidad alimentaria, biosensores.

Introducción.

Las aminas biógenas (AB) son bases orgánicas con actividad biológica, su análisis es importante debido a su toxicidad y su uso como indicadores de calidad en alimentos (1). Los métodos cromatográficos son los más utilizados para la determinación de AB, sin embargo requieren instrumentación costosa y consumen tiempo de operación. Por lo que se han buscado alternativas, como la aplicación de biosensores, los cuales son dispositivos que contienen un elemento de reconocimiento específico (enzimas), normalmente inmovilizado, integrado a un transductor de señal, el cual convierte la señal bioquímica en una señal electrónica u óptica (2). La construcción de biosensores requiere de técnicas espectroscópicas y microscópicas para caracterizar el correcto ensamblado de los componentes, con lo cual se busca observar la modificación química y topográfica generada en cada uno de los pasos del proceso de inmovilización.

El objetivo del trabajo es caracterizar el ensamblado de los componentes de un biosensor diseñado para determinar AB, en el cual se implementa un soporte de cuarzo funcionalizado con 3-Aminopropil-trietoxisilano (APTES) y 1', 3'-dihidro-8-metoxi-1', 3', 3', trimetil-6-nitroespiro [2H-1-benzopirano-2, 2'-(2H)-indol] 3 ácido carboxílico (SPIRO), con diamino oxidasa (DAO) como elemento de reconocimiento.

Metodología. El ensamblado de APTES se llevó a cabo por incubación de 1 hora en una disolución de tolueno-APTES al 1% de acuerdo a Howarter, 2006 (3). Para el ensamblado de SPIRO se llevó a cabo la activación del grupo carboxilo del espiro por medio de 0,5 mol/g de EDC (1 etil 3-3 dimetilaminopropil carbodiimida) y 0,005 g de NHS (N-hidroxisuccinimida) durante 15 min a un pH 4, después el pH de la solución se llevó hasta 7 y se incubó por dos horas de acuerdo a la metodología propuesta por Derek, 2006 (4). Para el ensamblado de la enzima DAO se implementó una solución Buffer de fosfato 0,1M a pH 8 y se adicionaron 3U de DAO y se dejó reaccionar por 4 horas. El análisis FT-IR se llevó a cabo en el modo de reflexión total atenuada. El análisis morfológico fue realizado mediante un microscopio de fuerza atómica (AFM) en modo Tapping, el área de escaneo fue de 1, 5 y 10 μm^2 .

Resultados. En la Figura 1 se muestra la respuesta espectral de cada una de las etapas de ensamblado del biosensor, donde mediante el número de onda 680 cm^{-1}

(Si-C de estiramiento), fue posible demostrar la presencia del APTES; los picos de absorción presentes en las bandas de la región aromática (670-1225 cm^{-1}), Amida I y III contribuyeron a constatar la inmovilización del SPIRO. La inmovilización de la DAO se constató mediante la presencia de los picos de absorción en las bandas de la Amida I, II, y III (1200-1680 cm^{-1}).

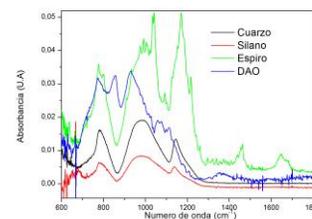


Fig. 1. Espectro FT-IR del biosensor, en la región de (1200-1750 cm^{-1}).

En la Figura 2 se observan las micrografías para el ensamble de SPIRO (izquierda) y DAO (derecha) respectivamente, donde se disciernen las capas uniformes, homogéneas y altamente densas de biomoléculas cuando los sustratos han experimentado un proceso de inmovilización.

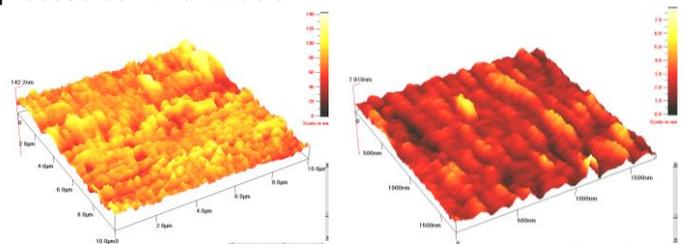


Fig. 2. Micrografías de AFM en tres dimensiones para la funcionalización con SPIRO y DAO.

Conclusiones. Los resultados FT-IR y las micrografías proporcionaron información complementaria, con la que se logró demostrar el ensamblado de cada uno de los componentes del biosensor.

Bibliografía.

1. Chaubey A, Malhotra B. (2002). *Biosensors & Bioelectronics*. Vol (17): 441-456.
2. Ruiz C, Jiménez F. (2005). *Food Science and Nutrition*. Vol (44): 489-599.
3. Howarter J, Youngblood J. (2006). *Langmuir*. Vol (22): 11142-11147.
4. Bernard A, Cullen D. (2008). *Optical Modulation of High-Affinity Biomolecules Function via Photochromic Dyes: A Step towards an Artificial Control of Biological Activity*. PhD Thesis of Cranfield University, UK. 95-99.