

DESARROLLO DE UN NUEVO BIOSENSOR AMPEROMÉTRICO DE FRUCTOSA INCLUYENDO UNA SAL CONDUCTORA CON TTF-TCNQ-FDH.

José Luis Montañés-Soto; Emma Gloria Ramos-Ramírez, Juan Alfredo Salazar-Montoya y Salvador Alegret*. CINVESTAV-IPN. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Av. IPN N°2508, Col. San Pedro Zacatenco, Apartado Postal 14-740, C.P. 07300, México 14, D.F. Número de fax 57477002;*UAB, Madrid.
E-mail: eramos@mail.cinvestav.mx

Palabras clave: *biosensor*, *fructosa deshidrogenasa (FDH)*, *tetratiofulvaleno (TTF)* y *tetracianoquinodimetano (TCNQ)*

Introducción. Un biosensor es un dispositivo analítico cuya parte receptora está construida con materiales biológicos de reconocimiento molecular. En la actualidad se investiga sobre el desarrollo de métodos analíticos que incluyan a los biosensores como detectores de analitos específicos. Estos métodos resultar más rápidos y económicos que los métodos analíticos tradicionales y permiten el monitoreo de sustratos *in situ*. Con este propósito se han desarrollado biosensores de fructosa en los que la enzima fructosa deshidrogenasa (FDH) de *Gluconobacter industrius*, ha sido inmovilizada de diversas formas y con diferentes sistemas de transducción de la señal. Estos biosensores aun presentan limitaciones que impiden su utilización en forma generalizada, razón por la que se continúa investigando sobre biosensores que cubran dichas deficiencias (3).

El objetivo de este trabajo consistió en desarrollar y caracterizar un biosensor amperométrico de fructosa, basado en un biocompósito de grafito-epoxy-tetratiofulvaleno (TTF)-tetracianoquinodimetano (TCNQ)-FDH.

Metodología. Se elaboraron dos biosensores de fructosa cuya formulación incluyó grafito en polvo 18%-epoxy, TTF-TCNQ al 18% y FDH 1% (4). Después del curado del material, se determinó su potencial de trabajo por voltamperometría cíclica (Autolab PGSTAT20). Posteriormente se realizó la caracterización de los biosensores al potencial de trabajo previamente establecido; para ello se utilizó un Detector Amperométrico (LC-4C) conectado a un registrador. Esta operación consistió en determinar el tiempo de respuesta, el efecto del pH y la temperatura, la respuesta del biosensor a diferentes concentraciones de fructosa, el intervalo de concentraciones de respuesta lineal, el valor de la constante aparente de Michaelis-Menten (K_m^{ap}) y de la intensidad máxima de corriente ($I_{máx}$), la sensibilidad y la reproducibilidad de la señal.

Resultados y discusión. El potencial de trabajo es uno de los factores más importantes a considerar en el desarrollo de un biosensor, debido a que si éste es grande, también grandes serán las interferencias en la señal.

En términos generales, las características del biosensor de fructosa (cuadro 1) son comparables a las que presentan los biosensores reportados en la literatura (1, 2 y 3).

Cuadro 1: Características del biosensor de fructosa

Potencial de trabajo	175 mV
Tiempo de respuesta	< 20 s
pH _{máx}	5.0 - 5.5
T _{máx}	30-35°C
Intervalo lineal	0.01- 0.3 mM de fructosa
Sensibilidad	2 ? A/mM
I _{máx}	1.268 ? A

Se observó que el biosensor pierde sensibilidad cuando no se pule su superficie entre una calibración y otra, dicha sensibilidad se recupera al 100% mediante un simple pulido de la superficie. No se encontraron diferencias significativas en la respuesta de un biosensor, ni entre las respuestas de los biosensores del mismo lote de fabricación.

Conclusiones.

Se obtuvo un biocompósito homogéneo que ofrece respuestas reproducibles a una misma concentración de fructosa. Las características de reproducibilidad de la señal, bajo potencial de trabajo y estabilidad son aceptables para un nuevo modelo de biosensor de fructosa. EL nuevo biosensor desarrollado responde en forma selectiva a la concentración de fructosa en el medio.

Agradecimientos. Al CONACYT por la beca doctoral otorgada a J. L. Montañés-Soto.

Bibliografía.

1. Paredes, P., Parellada, J., Fernández, V., Katakis, I. y Domínguez, E. (1997). Amperometric mediated carbon paste biosensor based on FDH for the determination of fructose in food analysis. *Biosensors & Bioelectronics*. 12 (12):1233-1243.
2. Dornelles, L. y Tatsuo, L. (2002). Review of the use of biosensors as analytical tools in food and drink industries. *Food Chemistry*. 77: 237-256.
3. Chaubey, A. y Malhotra, B. (2002). Review of mediated biosensors. *Biosensors & Bioelectronics*. 17:441-456.
- 4.- Alegret, S., Céspedes, F., Martínez, E., Martorell, D. y Morales, A. (1996). Carbon-Polymer biocomposites for amperometric sensing. *Biosensors & Bioelectronics*. 11(1/2): 35-44.

