

## DETECCIÓN DEL MICROCONTAMINANTE AMPICILINA MEDIANTE FLUORESCENCIA Y BIOCÁTALISIS ENZIMÁTICA

José Luis García-Zamora<sup>1</sup>, Lidia Esmeralda García-Díaz<sup>1</sup>, María Teresa Moreira<sup>2</sup>, Eduardo Torres<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, CP 72570.

<sup>2</sup>CRETUS, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, CP 15782. josel.garciazamora@viep.com.mx

*Palabras clave: Ampicilina, Cloroperoxidasa, Método de detección*

**Introducción.** El uso excesivo de antibióticos como la ampicilina (AMP) ha causado la contaminación del medio ambiente y la aparición de resistencia bacteriana [1]. Los métodos de detección actuales son costosos y complejos, por lo que es necesario desarrollar métodos simples, confiables y económicos para la detección de estos contaminantes [2]. Algunos estudios han explorado enfoques enzimáticos para detectar contaminantes en el medio ambiente, lo que podría proporcionar una forma sencilla y efectiva de detectar residuos de AMP [3].

En este estudio se desarrolló un método biocatalítico para detectar AMP en agua a partir de un subproducto fluorescente de su biocatálisis con cloroperoxidasa (CPO). El método es preciso y potencialmente aplicable al análisis de múltiples muestras, encontrándose dentro del rango de sensibilidad de otras técnicas.

**Metodología.** Se empleó la metodología de superficie de respuesta para estudiar los efectos del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, concentración de CPO y el tiempo de reacción sobre la señal de fluorescencia del subproducto de degradación de AMP por CPO. Se analizaron los subproductos de la transformación enzimática mediante LC/DAD/MS y espectroscopia de fluorescencia. Se evaluó la selectividad del método en presencia de antibióticos y sales. Por último, se determinaron los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) en muestras ambientales de agua.

**Resultados.** La oxidación enzimática de AMP por CPO generó productos de reacción fluorescentes con un máximo de emisión a 460 nm después de 2 h de reacción (Fig. 1). De los 6 productos de reacción identificados, solo uno presentó fluorescencia (*m/z* 274.2517 con fórmula C<sub>14</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) y se utilizó como indicador para determinar la concentración de AMP.

Las condiciones óptimas que maximizan la señal de fluorescencia se establecieron en 1.1 h, 0.043 μM CPO y 1.7 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Por su parte, los límites LOD y LOQ se establecieron en 0.035 μM y 0.12 μM respectivamente, en un rango lineal de 0.75 – 40 μM, los cuales son comparables con otras técnicas de detección [4].

La adición de sales no interfirió significativamente con el método; sin embargo, la actividad enzimática de la CPO disminuyó por la presencia de sulfametoxazol y tetraciclina. El método se probó en muestras ambientales de agua contaminada con AMP, mostrando buena precisión y exactitud.

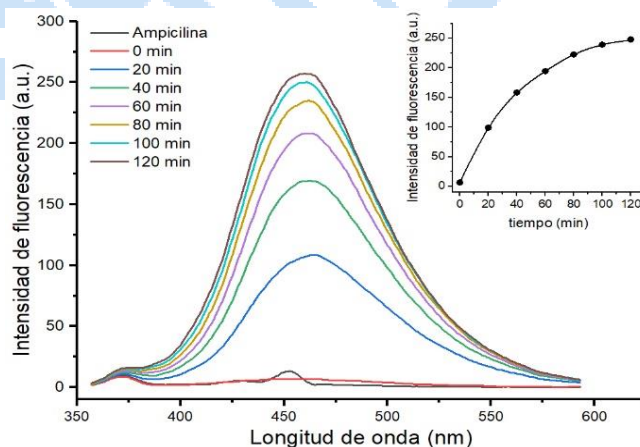


Fig. 1. Espectro de emisión de fluorescencia de la biocatálisis de ampicilina por CPO y su cinética aparente.

**Conclusiones.** La reacción biocatalítica de AMP por CPO genera un subproducto fluorescente útil en la detección y cuantificación de AMP a nivel micromolar en muestras de agua ambiental. La presencia de sales no afectó la actividad enzimática, pero otros antibióticos sí lo hicieron. Los métodos enzimáticos tienen potencial para detectar compuestos de interés ambiental, pero se necesita mejorar la sensibilidad a niveles nano y picomolares.

**Agradecimientos.** Al CONCYTEP, a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP-BUAP) y al CONACYT por la beca 769944.

### Bibliografía.

- Haenni, M., Dagot, C., Chesneau, O., Bibbal, D., Labanowski, J., Vialette, M., et al. (2022). *Environ. Int.* 159, 107047.
- Sharma, D. K., Sood, S., and Raj, P. (2019). *Anal. Chem. Lett.* 9, 345–361.
- Morsi, R., Bilal, M., Iqbal, H. M. N., and Ashraf, S. S. (2020). *Sci. Total Environ.* 714, 136572.
- Manirul Haque, S. K. (2021). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 34–38.