

BIOSENSORES ENZIMÁTICOS, SENSORES BIOMIMÉTICOS Y SENSORES QUÍMICOS PARA APLICACIONES AGROALIMENTARIAS, BIOMÉDICAS Y/O MEDIOAMBIENTALES (APPLIED-SENS)

Cubillana-Aguilera, L., López-Iglesias, D., Sierra-Padilla, A., García-Guzmán, J.L., Bellido-Milla, D., Palacios-Santander, J.M.,

Equipo de investigación Instrumentación y Ciencias Ambientales, Instituto IMEYMAT, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz.

Los sensores y biosensores químicos son herramientas muy sencillas, rápidas y fiables que se emplean en el análisis de sustancias en multitud de campos, entre los que cabe destacar la agroalimentación, la biomedicina y el medioambiente. Entre las ventajas que presentan respecto a otros métodos de análisis como la espectroscopía o la cromatografía, instrumentos que pueden encontrarse en cualquier laboratorio de análisis, puede destacarse su bajo coste, rápida respuesta (en algunos casos, incluso en tiempo real), portabilidad, la simplicidad en su manejo (no se requiere personal cualificado) y, por encima de todo, la posibilidad de realizar medidas *in situ*, es decir, en el propio lugar donde se requiere realizar el análisis. Este hecho convierte a los sensores químicos en utensilios de campo, susceptibles de ser empleados para determinar, por ejemplo, pesticidas en un río o lago; para cuantificar lactato en la sangre de un paciente en el hospital; o incluso para detectar el contenido en ácido málico de un vino joven en la propia bota en una bodega.

En el grupo de investigación FQM-249 de la Universidad de Cádiz, llevamos bastantes años diseñando, desarrollando, caracterizando y aplicando sensores y biosensores químicos, principalmente de tipo electroquímico. Por ejemplo, recientemente y en el campo de la biomedicina, se ha iniciado la fabricación de un biosensor de lactato para la determinación de dicho analito en personas adultas sanas. Este trabajo cuenta con la colaboración del Instituto de Investigación e Innovación Biomédica de Cádiz (INIBI-CA), facultativos del Área de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario de Puerto Real (Cádiz) y la empresa Ubrisecurity, S.L. Dicho biosensor se basa en la enzima lactato oxidasa, la cual se deposita sobre un electrodo serigrafado de platino mediante la técnica de inmovilización por entrecruzamiento con glutaraldehído y albúmina de suero bovino. De momento, el biosensor ofrece respuesta lineal en el intervalo de 0,1 a 1 mM y de 1 a 10 mM, pero necesitamos mejorar su sensibilidad, así como el resto de parámetros analíticos de calidad (rango lineal, reproducibilidad, repetibilidad y límite de detección, entre otros).

Por una parte, y relacionado ahora con los campos del medioambiente y la biomedicina, se ha optimizado con éxito (empleando diseño de experimentos) la síntesis de nanopartículas magnéticas de óxido de hierro ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$) mediante ultrasonidos de alta energía. Dicho proceso de síntesis destaca por ser ecológico y extremadamente rápido (1 minuto). Las $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ obtenidas se han funcionalizado con diferentes polímeros (polidopamina, ácido cítrico, quitosano, etc.), la mayoría de ellos con elevada

biocompatibilidad y, posteriormente, se han aplicado con éxito a la determinación de mercurio en agua (nanobiosensores) y en estudios de inmunoprecipitación de proteínas relacionadas con el cáncer de piel. Estos resultados se han publicado en la revista científica de alto impacto indexada en JCR: Materials Science & Engineering C, en la categoría Materials Science, Biomaterials (8/38), con un factor de impacto de 5.880 (2019): <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112023>, y en colaboración con la Universidad del Algarve (Portugal), la Universidad Politécnica de Bucarest (Rumanía) y la Universidad de La Habana (Cuba).

Por otra parte, y siguiendo la línea de investigación centrada en los sensores biomiméticos (sensores altamente específicos que semejan el modelo de funcionamiento ‘antígeno-anticuerpo’ o de ‘llave-cerradura’ de las enzimas), se ha completado la síntesis de polímeros magnéticos impresos molecularmente (MMIPs) empleando polidopamina como polímero principal y, además, se está desarrollando con éxito un método limpio y ecológico que emplea la radiación microondas para sintetizar estos MMIPs o sensores biomiméticos (pendiente de publicación). Estos sensores se han aplicado al campo medioambiental y también al agroalimentario y, en el caso de los MMIPs basados en polidopamina, aunque aún hay resultados pendiente de publicación, una parte de ellos se han publicado en una revista científica de muy reciente creación: Chemistry Africa: doi: 10.1007/s42250-020-00177-w, así como en un capítulo de libro (ISBN: 978-0-12-819952-7), publicado por la editorial de prestigio Elsevier: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819952-7.00002-0>. Para alcanzar estos logros, ha sido fundamental la colaboración con el grupo de investigación del Prof. Aziz Amine de la Universidad Hassan II de Casablanca (Marruecos).

En la última década, nuestro grupo de investigación también se ha centrado en el desarrollo de sensores químicos basados en el material Sonogel-Carbono y polímeros conductores (SNGC-PC), concretamente, el poli-(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT) y la polianilina (PANI). La idea principal de estos sensores es la de obtener un material económico, versátil, casi 100% conductor y competitivo, sobre todo porque resuelve los problemas derivados del empleo típico de polímeros conductores en forma de película en sensores. En nuestro caso, el polímero forma parte constitutiva del propio material y, con sólo renovar electroquímica o mecánicamente la superficie del sensor, disponemos de un sensor químico completamente nuevo y funcional, que apenas se ve afectado negativamente por la polimerización de especies químicas (cosa que sí ocurre en los senso-

Se está desarrollando con éxito un método limpio y ecológico que emplea la radiación microondas para sintetizar estos MMIPs o sensores biomiméticos

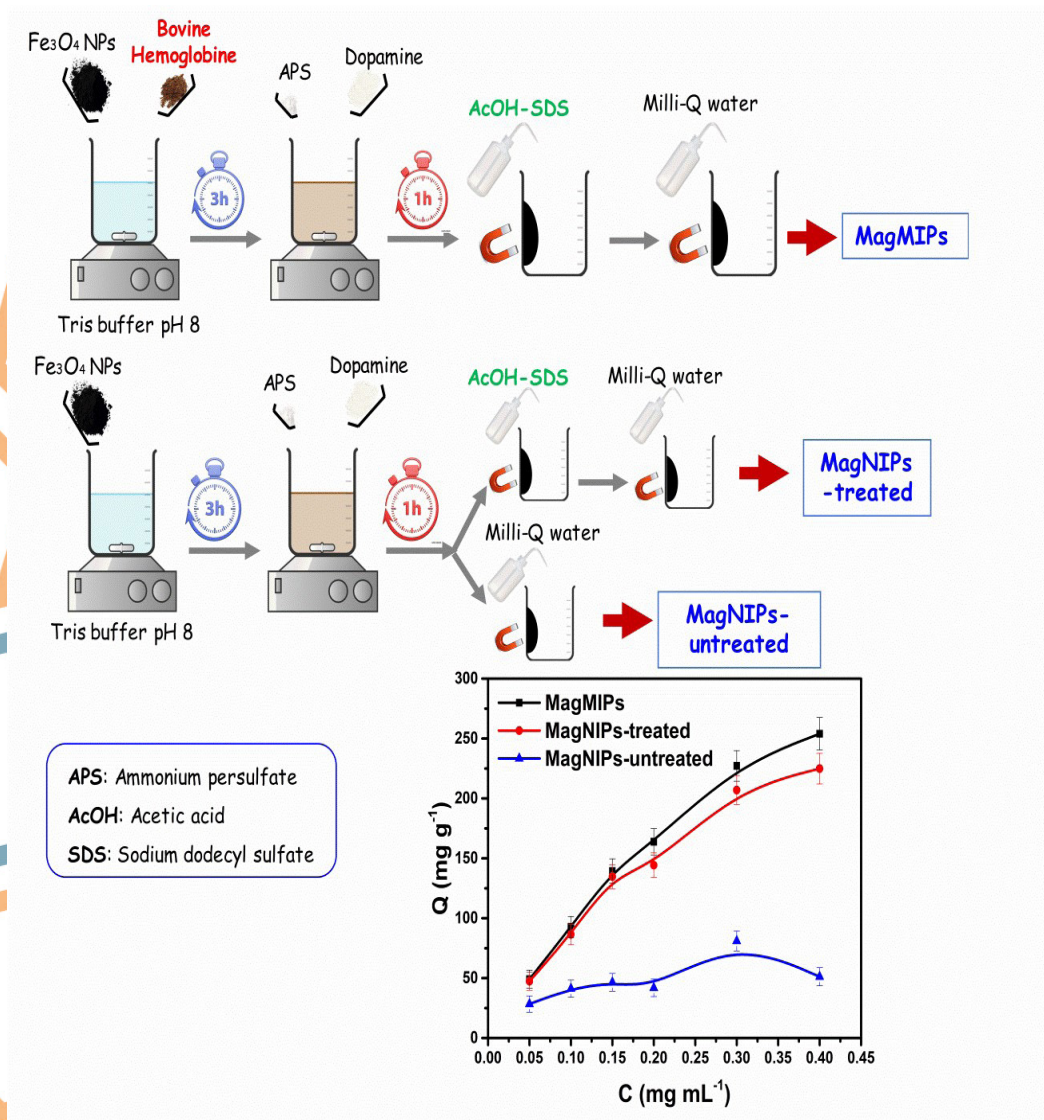


Figura 1. Esquema general de fabricación de un polímero impreso molecularmente o MIP basado en polidopamina. El material soporte está constituido por nanopartículas magnéticas. (DOI:10.1016/j.microc.2021.106043).

res basados en películas de polímeros), fenómeno conocido como 'fouling' o envenenamiento del sensor. Recientemente, hemos completado los estudios relativos al uso de PANI en estos sensores químicos para la cuantificación de clorofenoles en aguas, es decir, con aplicación medioambiental (artículo pendiente de publicación); y también se ha ampliado el campo de aplicación de los sensores basados en PEDOT, con la determinación electroquímica de especies de tipo cannabinoide (artículo publicado en Journal of Electroanalytical Chemistry, indexada en la categoría JCR Chemistry, Analytical (17/86), con un factor de impacto de 3.807 (2019): <http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114591>).

Igualmente, también hemos desarrollado sensores electroquímicos basados en el material Sonogel-Carbono modificado con nanomateriales, tanto en su interior (black carbon o carbono nanoparticulado, CB), como en su superficie (nanopartículas de oro, AuNPs). Respecto al primer caso, se ha sustituido parte del grafito empleado para hacer conductor el material sonogel por CB, utilizando el sensor resultante, con un rendimiento electroquímico excepcional

y una elevada sensibilidad, para la determinación de polifenoles en agroalimentación. Este estudio se ha publicado también en la revista Journal of Electroanalytical Chemistry: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114653> (en colaboración con las Profas. Chiara Zanardi y Laura Pigani, de la Universidad de Módena y Reggio Emilia (Italia), como en el caso del estudio de los cannabinoides). En relación al empleo de nanomateriales metálicos (AuNPs), en este caso, se ha colaborado con la Universidad de Sousse (Túnez), y se han diseñado sendos sensores electroquímicos modificados en su superficie con AuNPs, sintetizadas a partir de extractos vegetales de hojas de geranio y de olivo, mediante ultrasonidos de alta energía. Dichos sensores se emplearon para determinar fenol en aceite de oliva y nanoplasticos en aguas, respectivamente. Los resultados de sendos estudios se han publicado recientemente en la revista Journal of Applied Electrochemistry (indexada en Electrochemistry (18/27), con un factor de impacto de 2.384 (2019): <https://doi.org/10.1007/s10800-021-01544-2>) y en Materials Science and Engineering B (indexada en Material Science, Multidisciplinary (78/314), con un factor

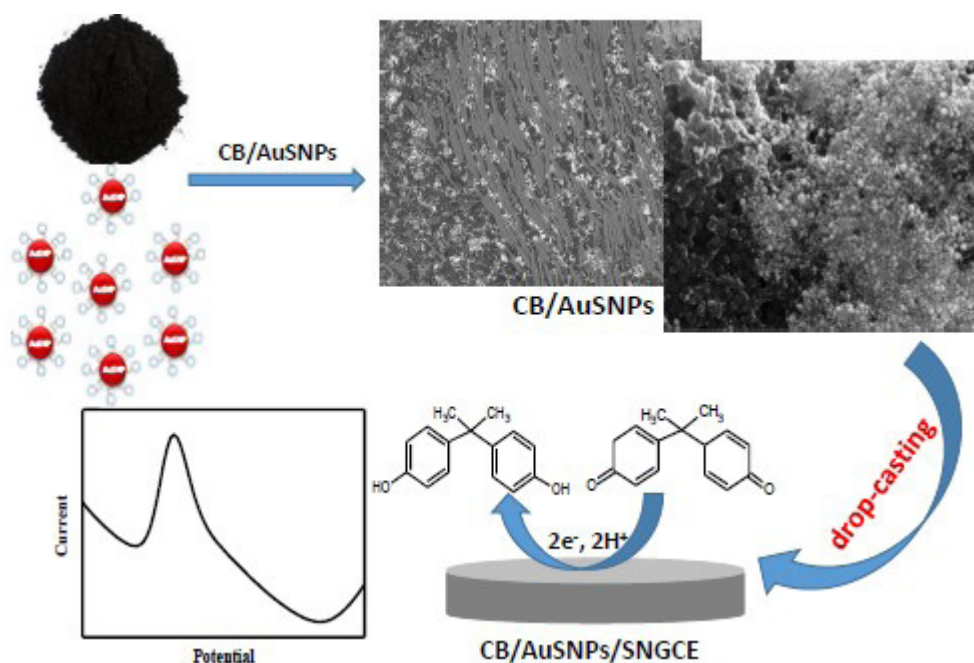


Figura 2. AuNPs sintetizadas por primera vez a partir de extractos de hojas de olivo empleando una sonda de ultrasonidos de alta energía. Dichas AuNPs, polimórficas (esféricas, triangulares y hexagonales), con una distribución de tamaños según STEM entre 14 y 40 nm, se mezclan con carbon black (carbono nanoparticulado) y se depositan sobre la superficie de un electrodo Sonogel-Carbono. Dicho dispositivo sensor modificado se emplea para determinar bisfenol A (contaminante prioritario) en muestras reales de agua mediante técnicas electroanalíticas. (DOI: 10.1016/j.mseb.2020.114951).

Electroanalytical procedure in organic/buffer solution

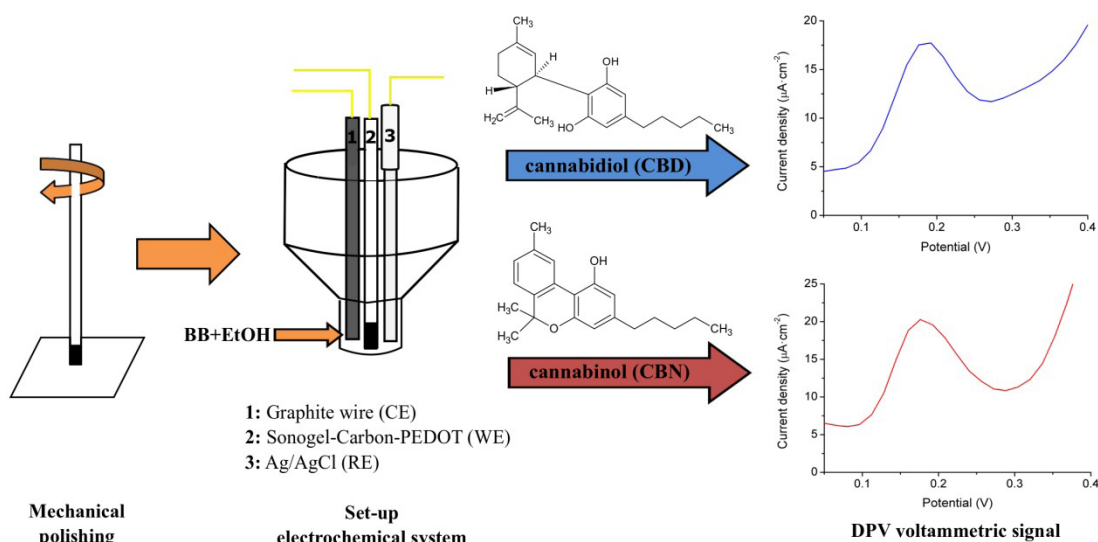


Figura 3. Procedimiento electroanalítico para la determinación de cannabinol y cannabidiol en una disolución reguladora de borato/etanol, empleando un electrodo Sonogel-Carbon-PEDOT (poli-3,4(etilendioxitiofeno)). (DOI: 10.1016/j.jelechem.2020.114591).

de impacto de 4.706 (2019): <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2020.114951>), respectivamente.

Por último, merece la pena destacar otras dos publicaciones de alto impacto relacionadas con la síntesis ecológica de nuevos materiales y nanomateriales para (bio)sensores, llevadas a cabo por el grupo FQM-249 en colaboración con otros investigadores extranjeros: la primera publicada en la revista TRAC - Trends in Analytical Chemistry,

indexada en JCR en Chemistry, Analytical (2/86), con un factor de impacto de 9.801: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115840>; y la segunda, en la forma de un capítulo de libro (ISBN 978-3-030-45115-8) publicado por la prestigiosa editorial Springer: doi: 10.1007/978-3-030-45116-5.



La Dra. Laura Cubillana Aguilera se doctoró en 2007 en la Universidad de Cádiz. Colabora con varios grupos de investigación a nivel nacional e internacional (Marruecos, Italia, Rumanía, Cuba, etc.). Es Profesora Titular de Universidad desde 2017 e investigadora del grupo de investigación FQM-249: 'Instrumentación y Ciencias Ambientales', desempeñando sus labores docentes y de investigación en el Dpto. de Química Analítica de la Universidad de Cádiz. Compagina estas actividades con un cargo de gestión en la Facultad de Ciencias, siendo Vicedecana de Estudiantes y Relaciones Institucionales desde 2015