

SENSORES ELECTROQUÍMICOS CON APLICACIONES BIOMÉDICAS

Por:  Mónica Cerro López

RESUMEN

Los sensores electroquímicos se han desarrollado vertiginosamente en los últimos años debido a su gran sensibilidad, facilidad de operación y bajo costo. Una de las aplicaciones que han impulsado su desarrollo es su uso biomédico como herramienta de detección de diversos compuestos bioquímicos para monitorear el estado clínico de un paciente. El ejemplo más palpable de este tipo de sensores es aquel que permite la cuantificación de glucosa en el paciente diabético con tan sólo colocar una gota de sangre en una delgada tira de papel. La rapidez con que estos sensores pueden detectar una gran variedad de moléculas biológicas facilita el diagnóstico y promueve la identificación de enfermedades infecciosas en etapas tempranas. Por lo anterior, resulta interesante conocer en qué consisten estos electrodos y su principio de operación, así como algunas de sus

aplicaciones biomédicas y el papel que los nanomateriales juegan en la búsqueda de sensores de mayor sensibilidad, rapidez de respuesta y bajo costo.

ABSTRACT

Electrochemical sensors have remarkably developed in the last years due to their high sensitivity, ease of operation, and low cost. One of the applications that have triggered its development is its biomedical use as a detection tool for a variety of biochemical compounds to follow the health status of a patient. The most common example of these sensors is that one that allows glucose quantification in the diabetic patient with just placing a blood drop on a thin paper strip. The speed at which these sensors can detect a great variety of biological molecules makes the diagnostic easier and promotes the identification in infectious diseases in their

LOS SENSORES
PUEDEN GENERAR
UNA SEÑAL
PROPORCIONAL
A LA REACCIÓN
BIOQUÍMICA O
CAMBIAR ALGUNA
PROPIEDAD
ELÉCTRICA COMO
RESISTENCIA,
CAPACITANCIA O
INDUCTANCIA COMO
RESULTADO DE LA
MISMA.

early stages. Because of this, it is interesting to know how these electrodes are conformed and their operation principle, as well as, some of their biomedical applications; and the role that nanomaterials play in the search of sensors with higher sensitivity, speed of response and low cost.

PALABRAS CLAVE

Sensores electroquímicos · Aplicaciones biomédicas · Nanomateriales

KEYWORDS

Electrochemical sensors · Biomedical applications · Nanomaterials

ANTECEDENTES

Un sensor químico es un dispositivo compuesto por un material químicamente selectivo y un transductor de señal que transforma la respuesta derivada de la interacción de este material con su entorno en una señal detectable por un instrumento moderno. Los sensores pueden generar una señal proporcional a la reacción bioquímica o cambiar alguna propiedad eléctrica como resistencia, capacitancia o inductancia como resultado de la misma. Las señales producidas por estos dispositivos pueden ser eléctricas, térmicas u ópticas y se convierten en señales digitales posteriormente. Los sensores se pueden clasificar con base en estas señales. De igual forma, además de los sensores químicos, se encuentran los biosensores, que son capaces de encontrar compuestos bioquímicos como proteínas, nucleótidos e incluso tejidos. De lo anterior, surgen los biosensores

HAY TRES TIPOS DE SENSORES
ELECTROQUÍMICOS:

- 1 POTENCIOMÉTRICOS
- 2 AMPEROMÉTRICOS
- 3 CONDUCTIMÉTRICOS



Figura 1. Medición casera de glucosa en sangre: el reducido tamaño del sensor requiere que sólo se necesite una gota para el análisis (Q4927806, 2017).

electroquímicos, cuya ventaja sobre otros sensores radica en su capacidad de sensar moléculas presentes en el huésped sin causarle ningún daño, por lo que sus aplicaciones en la biomedicina son ya considerables (Yogeswaran y Chen, 2008). Los sensores electroquímicos son la clase de sensores químicos que ha crecido al mayor ritmo entre este tipo de sensores. Éstos son de gran interés por su alta capacidad de detección, simpleza experimental y bajo costo.

TIPOS DE SENSORES ELECTROQUÍMICOS

Hay tres tipos de sensores electroquímicos: potenciométricos, amperométricos y conductimétricos. En los potenciométricos se establece un equilibrio en la interfase del sensor y se mide el potencial del electrodo o de una membrana con respecto a un electrodo de referencia (un electrodo de potencial constante). El potencial así medido proporciona información acerca de la composición de una muestra. Los sensores amperométricos utilizan el potencial medido entre un electrodo de trabajo (electrodo en cuya interfase se lleva a cabo la reacción de interés) y otro de referencia, lo que provoca la oxidación o reducción de una especie electroactiva y se mide la corriente resultante de esta reacción. Por otro lado, los sensores conductimétricos involucran la medida de la conductividad a una serie de frecuencias (Stradioto, Yamanaka y Zanoni, 2003).

SENSORES POTENCIOMÉTRICOS

Los sensores potenciométricos se han utilizado ampliamente debido a su facilidad de uso y costo. Hay tres tipos principales: los electrodos selectivos de iones (*ion-selective electrodes*, ISE),

Nanomaterial	Analito	Método de detección	Intervalo dinámico / Límite de detección
SWNT-Nafion-Glucosa Oxidasa	Glucosa	Amperometría	2-20 mM
Composite de Polímero-SWNT	Dopamina	Voltametría cíclica (VC)	1.6×10^{-8} a 6×10^{-4} M/8 nM
SWNT	DNA	VC	5 a 30 μ M/1.43 μ M
MWNT	Colesterol	Amperometría	Hasta 6.0 mM/0.2mM
MWNT	Metimazol	Amperometría	0.074 a 63.5 μ M/0.056 μ M
MWNT-nanopartículas de plata	Sumatriptan	VC	80nM a 100 μ M/40 nM
Nanopartículas de oro	Biomarcador de cáncer	Amperometría	20 a 400 μ gM ⁻¹ /20 μ gM ⁻¹
Nanopartículas de plata	H ₂ O ₂	Amperometría	2.0 μ M a 353 mM/0.6 μ M
Nanopartículas de Pt-Au en nanotubos de TiO ₂	Glucosa	Amperometría	Hasta 1.8 mM/0.1 mM
Composite de Nanotubos de TiO ₂ y Ni	Glucosa	Amperometría y VC	0.1 a 1.7 mM/0.1 mM

Tabla 1. Nanomateriales utilizados en la fabricación de sensores electroquímicos con aplicaciones biomédicas. Adaptada de Chen y Chatterjee (2013). SWNT (Single walled carbon nanotubes); MWNT (Multi-walled nanotubes).

los electrodos de alambre recubierto (*coated wire electrodes*, CWE) y los transistores de efecto de campo (*field effect transistors*, FET).

Un ISE es utilizado para medir con exactitud el pH de una solución y determinar así su acidez o basicidad. Este electrodo se basa en una membrana de vidrio conductora y selectiva para el ion hidrógeno (H⁺) el cual al migrar al interior de la porción hidratada de la membrana cambia su potencial en una magnitud que se relaciona con la concentración del ion disuelto (H⁺), (Harris, 1999).

La selectividad de un electrodo depende, primordialmente, de la naturaleza y composición de la membrana. Dependiendo de la naturaleza de la membrana, los ISE se pueden dividir en tres grupos: electrodos de vidrio, líquido o sólido. Los electrodos de vidrio, como el de pH, son los más comunes y se construyen de delgadas membranas de vidrio, capaces de medir concentraciones de iones monovalentes como Na⁺, K⁺, Li⁺, y NH₄⁺. Por su parte, los ISE de electrodos líquidos se basan en membranas poliméricas impregnadas con sustancias líquidas inmiscibles en agua. En estos electrodos, la sustancia líquida posee un acarreador móvil que transporta al ion a través de la membrana. El reconocimiento del ion por parte de este acarreador puede darse como fenómeno de intercambio iónico o bien porque actúa como un compuesto macrocíclico neutro que tiene cavidades de dimensiones apropiadas para rodear al ion objetivo. El uso principal de los ISE líquidos es en la determinación potenciométrica directa de cationes polivalentes, así como algunos aniones en un intervalo de concentraciones que va de 10⁻⁶ o 10⁻⁵ a 1 M.

Por su parte, los ISE sólidos, se basan en membranas de estado sólido que pueden estar hechas de cristales simples, *pellets* policristalinos, o cristales mezclados que son selectivos a aniones (p.ej, F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, SCN⁻, S²⁻) o cationes (p.ej, Cu²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺).

Los CWE se constituyen de un alambre conductor recubierto por una membrana polimérica selectiva a iones, usualmente, cloruro de polivinilo, cloruro de polivinilbencilo o ácido poliacrílico. El intervalo de concentraciones en el que este electrodo responde va de 10⁻⁶ a 10⁻¹ M. La enorme ventaja de este electrodo es que no requiere de un electrodo de referencia interno, por lo cual, se le puede miniaturizar fácilmente. Es muy útil para la detección de diferentes analitos de tipo biomédico y clínico tanto *in vitro* como *in vivo*.

Los transistores de efecto de campo de ion selectivo (*ion-sensitive field-effect transistors*, ISFET) son un tipo de CWE cuya membrana se ha incorporado directamente sobre el área de la puerta (*gate*) de un FET. El FET es un dispositivo de estado sólido que presenta una alta impedancia de entrada y una baja impedancia de salida, por lo que puede monitorear la acumulación de carga en una membrana de ion selectivo. Su fabricación se basa en el grabado microelectrónico de los chips, por lo que, es posible preparar sensores con múltiples puertas que detectan varios iones simultáneamente. Asimismo, se puede alterar la selectividad de la matriz polimérica de estos sensores mediante la inmovilización de compuestos biomédicos o biológicos. Las aplicaciones biomédicas de estos sistemas incluyen la determinación enzimática y los inmunoensayos. Los electrodos

enzimáticos se fabrican al unir covalentemente una enzima a un ISE, a un electrodo selectivo, a gases, o bien, a un ISFET. El electrodo da una respuesta al detectar directamente un subproducto iónico de la reacción del sustrato con la enzima. Por ejemplo, la glucosa oxidasa puede inmovilizarse en la superficie de un electrodo de pH, donde la glucosa no tiene un efecto en el cambio de pH. Sin embargo, el gluconato enzimáticamente formado, sí ocasiona un cambio de pH por acidificación del medio. Actualmente, en la construcción de los ISFET se usan transductores fisicoquímicos basados en semiconductores entre los que se pueden mencionar al nitruro de silicio (Si₃N₄), alúmina (Al₂O₃), óxido de zirconio (ZrO₂) y óxido de tantalio (Ta₂O₅) (Pohanka y Skládal, 2008; Grieshaber, *et al*, 2008).

Una subclase de los sensores potenciométricos son los inmunosensores potenciométricos, los cuales basan su funcionamiento en el cambio de potencial asociado a la unión de un anticuerpo o antígeno con su compañero específico inmovilizado en el electrodo.

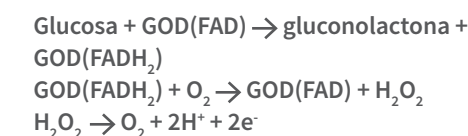
• SENSORES AMPEROMÉTRICOS

El principio de operación de los dispositivos amperométricos es la transferencia de electrones al analito o de éste al electrodo de trabajo a un potencial dado. La instrumentación básica para la operación de estos sensores requiere de un equipo que controla el potencial (potenciostato) y de al menos dos electrodos, aunque puede ser un sistema de tres electrodos que consta de un electrodo de trabajo sobre el que se lleva a cabo la reacción de interés, un electrodo de referencia (p. ej. Ag/AgCl, Hg/Hg₂Cl₂) y un material conductor inerte (platino o grafito), que sirve de electrodo auxiliar. Estos electrodos se encuentran inmersos en una solución que contiene un electrolito soporte que mantiene la fuerza iónica constante, elimina efectos de electromigración y disminuye la resistencia de la solución (figura 2).

El éxito en el desempeño de los sensores amperométricos depende –principalmente– del material que constituye al electrodo de trabajo. Algunos materiales que se han usado son mercurio, metales como oro, platino, plata, etcétera, y diversas formas de carbono. Estos materiales de electrodo pueden modificarse en su superficie (electrodos químicamente modificados) mediante la inmovilización de un agente modificador a través de reacciones químicas, quimisorción, formación de *composites* (*composite*: material heterogéneo compuesto de dos o más sustancias no gaseosas en el que, al menos una de ellas, constituye una fase con-

tinua) o por recubrimiento polimérico. Estos sensores han encontrado gran aplicación en la cromatografía de líquidos y los sistemas de inyección de flujo.

Actualmente, la miniaturización de estos electrodos ha permitido su uso *in vivo* e *in vitro*. Lo que ha impulsado el desarrollo de biosensores que, modificados con un reactante bioespecífico (receptor bioquímico), traducen el reconocimiento biológico específico en una respuesta amperométrica cuantitativa. El electrodo de trabajo de un biosensor amperométrico se basa en un metal noble o una capa serigráfica recubierta por el componente de biorreconocimiento. En estos sensores, a determinado potencial aplicado, se lleva a cabo la conversión de especies electroactivas generadas en la capa enzimática y se mide la corriente resultante (en un rango típico de nA a μ A). Un ejemplo de este proceso es la formación de peróxido de hidrógeno a partir de la oxidación de la glucosa por la glucosa oxidasa, cuyo sitio activo es el FAD, GOD(FAD); las reacciones involucradas se esquematizan a continuación:



Donde la última reacción es la oxidación electroquímica de peróxido de hidrógeno a un potencial cercano a 600 mV y de la cual se obtiene la corriente medida (Pohanka y Skládal, 2008).

Entre los receptores bioquímicos que se han usado para la fabricación de biosensores amperométricos se cuentan enzimas, tejidos, organelos, extractos crudos de vegetales, péptidos, anticuerpos, ácidos nucleicos, compuestos biomiméticos, etcétera. Dichas moléculas llevan a cabo un reconocimiento molecular que puede ir acompañado de una conversión química del analito a productos que se determinan por un sensor biocatalítico. En los casos en que las enzimas se usan como marcadores enlazados a anticuerpos, antígenos y oligonucleótidos, con una secuencia específica y en el reconocimiento, no ocurre la conversión del analito, el tipo de sensor asociado es un sensor de afinidad. En éste, el receptor bioquímico debe estar en contacto directo con el elemento de transducción electroquímica y la vida útil del biosensor estará sujeta a la estabilidad del material inmovilizado. Algunas enzimas procesadas biotecnológicamente que se han usado para la detección de metabolitos clínicos son: a) las oxidoreductasas como glucosa oxidasa y glucosa dehidro-



SENSORES POTENCIOMÉTRICOS

Un ISE es utilizado para medir con exactitud el pH de una solución y determinar así su acidez o basicidad.

HAY TRES TIPOS PRINCIPALES:

1

LOS ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES

2

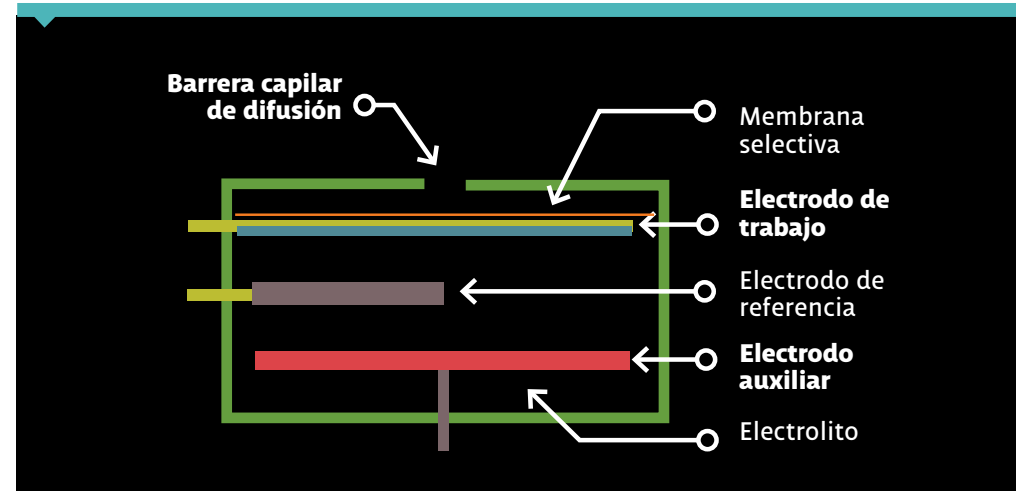
LOS ELECTRODOS DE ALAMBRE RECUBIERTO

3

LOS TRANSISTORES DE EFECTO DE CAMPO

EL ÉXITO EN EL DESEMPEÑO DE LOS SENSORES AMPEROMÉTRICOS DEPENDE DEL MATERIAL QUE CONSTITUYE AL ELECTRODO DE TRABAJO.

Figura 2. Configuración básica de un sensor electroquímico (adaptado de Capítulo 2: Electrochemical Sensors).

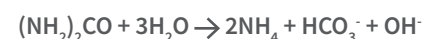


genasa para ensayos de glucosa, b) la ureasa para urea y c) la colesterol oxidasa para colesterol, por mencionar algunas (Pohanka y Skládal, 2008).

Los biosensores amperométricos se usan ampliamente en la detección de analitos como glucosa, lactato, ácido siálico, etcétera. También se han usado para la detección de pesticidas, como carbamatos y organofosfatos, y agentes patógenos como *Francisella tularensis* y *Bacillus cereus*.

● SENSORES CONDUCTIMÉTRICOS

En estos sensores la conductancia eléctrica de un filme o en el seno de un material se ve afectada por la presencia del analito. Los sensores conductimétricos son ventajosos, sobre los anteriormente mencionados, en que no es necesario un electrodo de referencia. El desarrollo de estos sensores se basa en la fabricación de materiales de electrodos novedosos. Se han desarrollado filmes de CdS para detectar oxígeno debido a que éste se quimisorbe en CdS, y diversos óxidos se han utilizado en sensores de humedad y otros gases. Los polímeros conductores también han encontrado uso en la detección de aminas volátiles y amoníaco. Un ejemplo del uso de estos sensores, en el área biomédica, es en el ensayo de urea, cuando se usa ureasa como componente de biorreconocimiento. La reacción que se lleva a cabo en el medio es



Como puede observarse, agua y urea tienen una mínima influencia en la conductancia medida. Sin embargo, los iones producidos de

la reacción enzimática sí contribuyen a un incremento significativo en la misma. El mismo principio se aplica para monitorear el crecimiento de microorganismos, debido a que producen metabolitos conductores.

Los sensores conductimétricos se usan con menor frecuencia que los potenciométricos y los amperométricos, pero su desarrollo ha ido en ascenso. Algunos ejemplos son el seguimiento de la hibridación de fragmentos de DNA mediante conductimetría o la construcción de un inmunosensor a base de un filme de polipirrol con avidina, conectada a través de biotina a una inmoglobina G (IgG) anti-humana, capaz de detectar anticuerpos en una concentración en el orden de los 10 pg/mL, o bien, la detección de etanol en bebidas alcohólicas por levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) inmovilizada en este tipo de biosensores.

● NANOMATERIALES Y LOS SENSORES ELECTROQUÍMICOS BASADOS EN ELECTRODOS SERIGRAFIADOS

Una clase de sensores electroquímicos que se ha desarrollado ampliamente en los últimos años es la que se refiere a los sensores electroquímicos a base de electrodos serigrafados (*screen-printed electrodes*, SPE). Los electrodos serigrafados, desde su aparición en la década de los noventa, han contribuido al desarrollo masivo de los sensores electroquímicos debido a su confiabilidad, reproducibilidad, facilidad de producción y bajo costo. Los electrodos serigrafados son dispositivos dúctiles que pueden adoptar, en su fabricación, diferentes formas, así como diferentes materiales y son susceptibles de ser modificados por una variedad de elementos biológicos como enzimas, anticuerpos, DNA,

elementos sintéticos de reconocimiento, entre otros (Arduini, et al. 2016) (figura 1).

La técnica de serigrafado de estos electrodos ha permitido su modificación con una variedad de nanomateriales y elementos sintéticos de reconocimiento. Materiales carbonáceos como nanotubos de carbono (*carbon nanotubes*, CNTs), grafeno (GR), nanopartículas metálicas de oro, plata o materiales magnéticos, así como nanopartículas mediadoras de Azul de Prusia y ftalocianinas de cobalto son ejemplos del uso de nanomateriales en estos electrodos. Estos electrodos modificados pueden, posteriormente, acoplarse a elementos de reconocimiento biológico como enzimas, anticuerpos, DNA y aptámeros, para obtener electrodos con características mejoradas (Arduini, et al. 2016). La tabla 1 muestra ejemplos específicos de los nanomateriales empleados en la construcción de sensores electroquímicos para aplicaciones biomédicas.

La modificación de los biosensores basados en SPE con nanomateriales involucra técnicas variadas como el depósito por goteo (*drop casting*), la adición del nanomaterial en la tinta durante la impresión, la electrodeposición, la aproximación de Langmuir-Blodgett y la deposición por electro-rocado. De las anteriores, la técnica del depósito por goteo es de las más socorridas por su facilidad y costo pero tiene la desventaja de presentar baja homogeneidad en la superficie resultante; en este sentido, con la técnica de Langmuir-Blodgett se obtiene una mayor homogeneidad superficial pero se requiere un equipo más sofisticado. Por otro lado, la naturaleza del nanomaterial utilizado, así como de la arquitectura usada para la fabricación del electrodo, es también determinante en el desempeño del biosensor (Arduini, et al., 2016).

Un ejemplo de lo anterior es el caso del grafeno que se ha usado para la elaboración de FET, en los cuales, dependiendo de cómo se colocan las capas de grafeno en el sustrato, se puede manipular la conductividad eléctrica, la reactividad y la biocompatibilidad. Otro ejemplo es el uso de un *composite* de grafeno-oro depositado en la superficie del electrodo, el cual provee de una plataforma con una gran superficie y sitios activos donde se puede inmovilizar anticuerpos para la captura de anti-cTnI (anticuerpo anticardíaco de troponina I); lo que permite aumentar la sensibilidad de detección de la troponina cardíaca I, útil en el diagnóstico de infarto al miocardio (da Silva, et al. 2017).

◆ CONCLUSIONES

Como hemos visto, la construcción de un sensor electroquímico es relativamente simple e involucra la aplicación de conceptos básicos de química, bioquímica y electroquímica. El desarrollo de estos sensores se ha visto beneficiado por el progreso de diferentes áreas de la ciencia, entre ellas la biotecnología y la microbiología y, recientemente, por la síntesis de materiales novedosos derivados de la nanotecnología. Ciertamente, el desarrollo de materiales como el grafeno, los nanotubos de carbono, las nanopartículas de oro, los semiconductores nanoestructurados, los polímeros conductores, etcétera, ha dado un nuevo impulso a la fabricación de sensores electroquímicos aplicados a la biomedicina, haciendo que cada día esta tecnología sea más confiable, accesible y de un gran valor como herramienta de diagnóstico.

◆ REFERENCIAS

- Arduini, F., Micheli, L., Moscone, D., Paleschi, G., Piermani, S., Ricci, F., et al. (2016). Electrochemical biosensors based on nanomodified screen-printed electrodes: recent applications in clinical analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, (79), 114-126.
- Capítulo 2: Electrochemical Sensors. *Electrochemical Sensors-International Sensor Technology*. Recuperado de: <http://www.intlsensor.com/pdf/electrochemical.pdf>
- Chen, A. y Chatterjee, S. (2013). Nanomaterials based electrochemical sensors for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 42(12), 5425-5438.
- da Silva, E. T. S. G., Souto, D. E. P., Barragan, J. T. C., Giarola, J. F., de Moraes, A. C. M., y Kubota, L.T. (2017) Electrochemical biosensors in point-of-care devices: recent advances and future trends. *ChemElectroChem*. Doi. 10.1002/celec.201600758.
- Grieshaber, D., Mackenzie, R., Vörös, J., y Reimhult, E. (2008). Electrochemical Biosensors: Sensor Principles and Architectures, *Sensors*, (8), 1400-1458.
- Harris, D. C. (1999). *Quantitative Chemical Analysis*, Nueva York: Freeman and Company.
- Pohanka, M. y Skládal, P. (2008). Electrochemical biosensors: principles and applications. *Journal of Applied Biomedicine*, (6), 57-64.
- Q4927806. (Marzo 16, 2017). *Wikidata*. Recuperado de: <https://www.wikidata.org/w/index.php?title=Q4927806&oldid=467006146>
- Stradioto, N. R., Yamanaka, H., y Zanoni, M. V. B. (2003). Electrochemical sensors: a powerful tool in analytical chemistry. *J. Braz. Chem. Soc.*, 14(2), 159-173.
- Yogeswaran, U., y Chen, S-M. (2008). A review on the electrochemical sensors and biosensors composed of nanowires as sensing material. *Sensors*, 8(1), 290-313.

○ Mónica Cerro López

La Dra. Mónica Cerro López es egresada del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica (CIDETEQU) y profesora-investigadora de tiempo completo en la UDLAP. Su investigación se enfoca en el desarrollo de nanomateriales a base de óxidos metálicos y materiales de carbono para diversas aplicaciones en el área ambiental y biomédica. monica.cerro@udlap.mx