

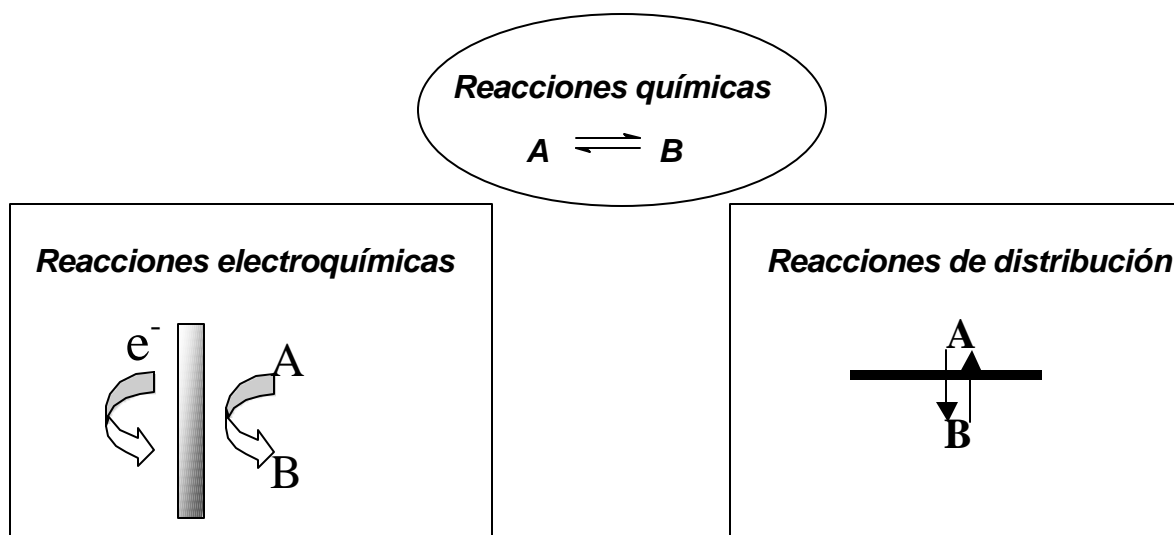
Sensores y Biosensores Electroquímicos

Dr. Alejandro Baeza

Facultad de Química, Departamento de Química Analítica

baeza@servidor.unam.mx

La materia interacciona entre sí en la naturaleza, en los laboratorios de los químicos y en su mente transformándose y transformando al entorno. Cualquiera de estas transformaciones cae dentro de tres tipos bien diferenciados de reacciones:



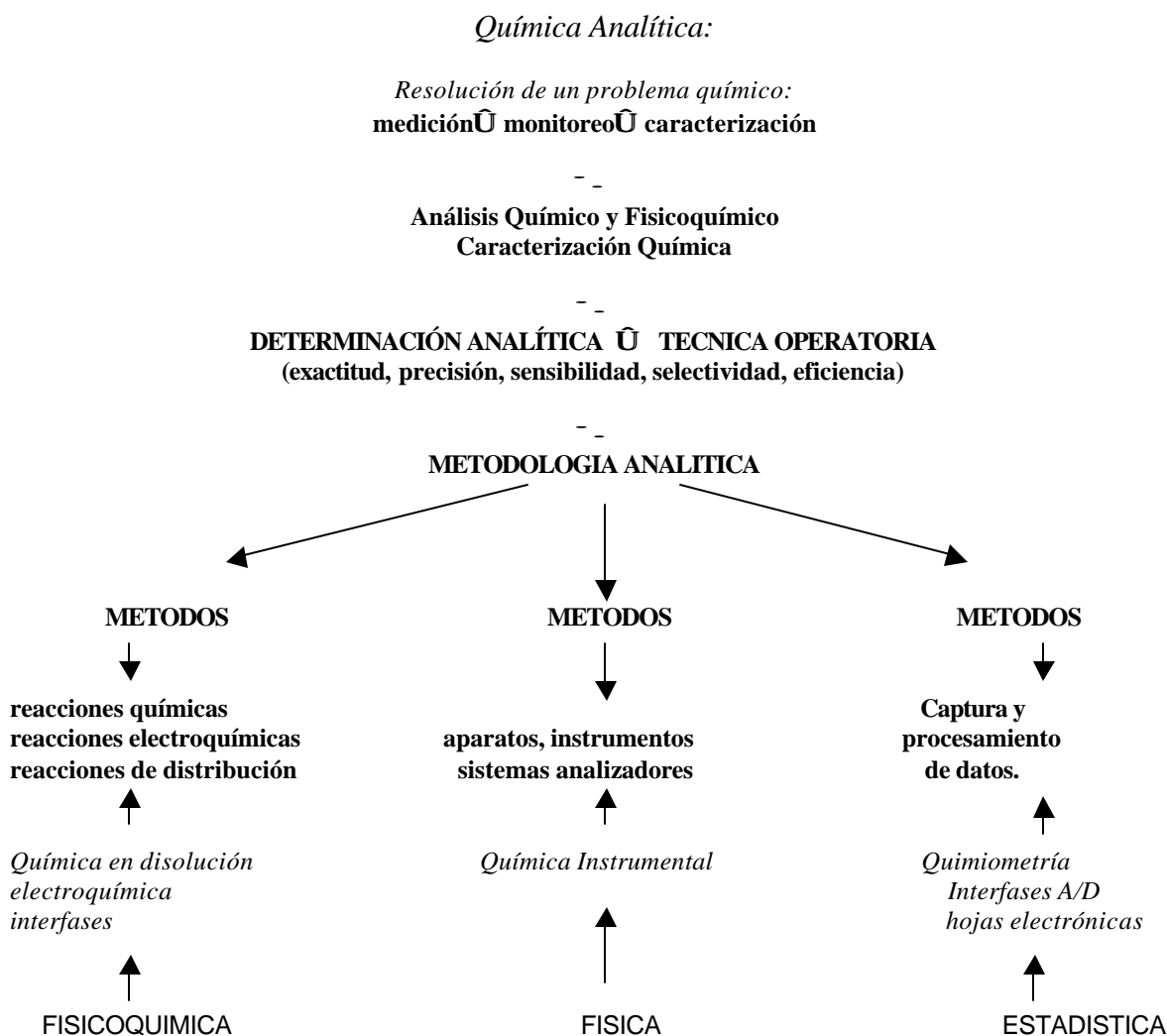
A través de su historia los químicos han encontrado maneras o *métodos* generales, sistemáticos, razonados y reproducibles para:

- a) analizar los fenómenos químicos en cuanto a su abundancia, su reactividad, su estructura y su interacción con el entorno.
- b) sintetizar nuevas moléculas imitando a las existentes en la naturaleza o creando otras totalmente nuevas.
- c) Analizar y/o sintetizar *teóricamente*, i.e., *diseñar*, procesos químicos.

De esta manera contamos con las tres disciplinas químicas desde el punto de vista metodológico para estudiar la transformación química de la materia:

Química Analítica ↔ **Química Sintética** ↔ **Química Teórica**

En términos generales la Química Analítica estudia los fenómenos químicos que requieren **la medición, el monitoreo y/o la caracterización** de una o más especies químicas. Para ello diseña **una metodología de Análisis** para llevar a cabo una determinación analítica por medio de una técnica operatoria. Todo ello con base diversas disciplinas científicas. Se puede proponer un esquema conceptual que jerarquiza el trabajo analítico para ubicar de manera precisa el tema de los sensores y biosensores electroquímicos:



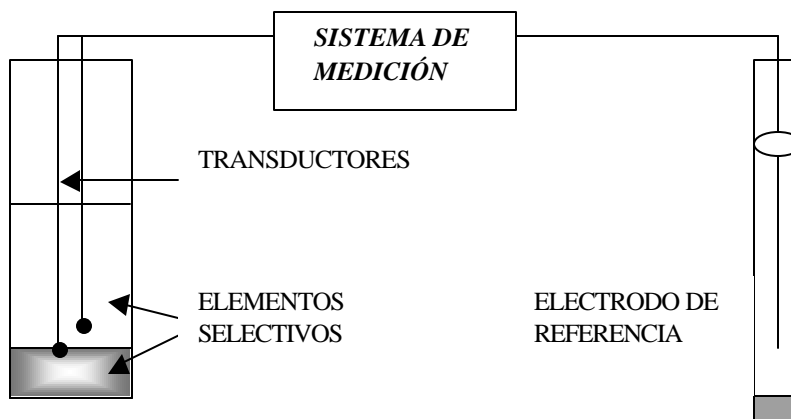
Sensores y biosensores electroanalíticos

En general un sensor es un dispositivo que recibe y responde a una señal o estímulo. Un sensor electroquímico es un dispositivo químico que responde a cambios específicos en el potencial o en la corriente eléctrica como consecuencia de la presencia de una especie química que interactúa con él. Cuando el elemento sensor está constituido por un elemento químico inorgánico u orgánico se tiene un sensor químico. El elemento químico sensor se selecciona de tal manera que interactúa con la especie a analizar (*analito*) **de manera muy exclusiva o selectiva**. En la literatura química se conoce a estos sensores químicos por sus siglas en inglés: **ISE**, *Ion Selective Electrodes*.

Para aumentar la selectividad del sensor se pueden utilizar elementos bioquímicos o biológicos (enzimas, anticuerpos, ácidos nucleicos, células, tejidos, microorganismos) como elementos sensores de tal manera que se obtiene un *biosensor*. Tanto los ISE como los biosensores necesitan de un elemento interno sensible a la interacción elemento sensor-analito y que transporte una señal hasta un dispositivo de medida y procesamiento de la información capturada. Dicho elemento se conoce como *transductor*. Aquel analito al cual se dirige la acción selectiva del elemento sensor se le conoce como *analito diana* (en inglés *target compound*).

La interacción sensor-diana puede generar cambios electroquímicos, luz, cambios en la temperatura, sonido. En cada caso se tiene transductores electroquímicos, ópticos, acústicos, termométricos, etc. En la literatura los sensores químicos y los biosensores más estudiados son aquellos con transducción electroquímica.

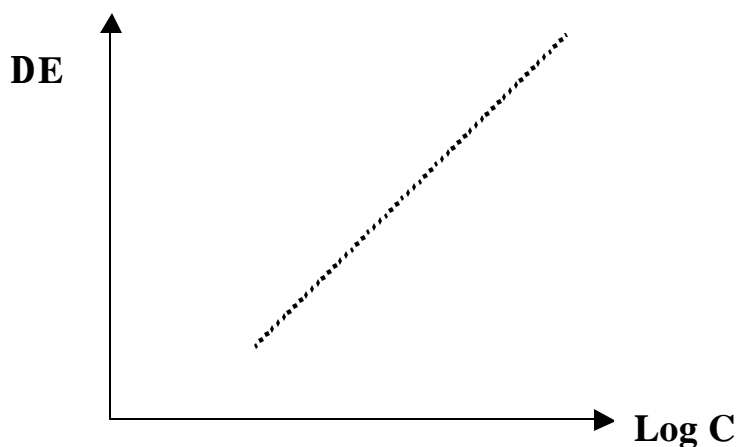
El siguiente esquema muestra los elementos mínimos de un ISE o de un biosensor:



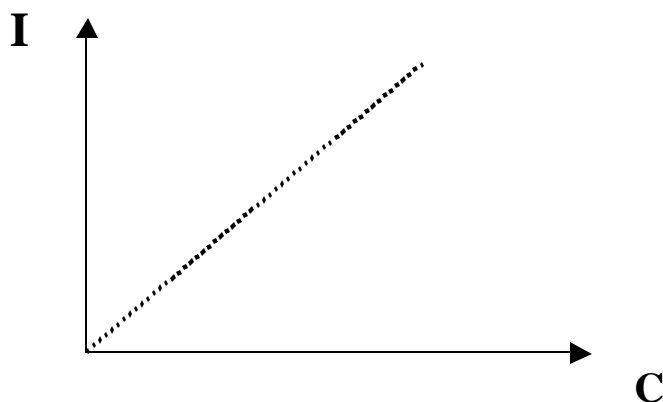
Aquellos ISE o biosensores que solo miden un cambio de potencial en la interfase sensor-analito con respecto al electrodo de referencia se conocen como *sensores o biosensores potenciométricos* y el sistema de medida de requieren es un potenciómetro a corriente nula. Aquellos en los cuales se impone un potencial externo para electrotransformar algún producto de la interacción sensor-analito, requieren un transductor extra para cerrar el circuito de corriente de electrólisis. Éstos se conocen como *biosensores amperométricos* y requieren de un amperímetro como sistema de medición adicionalmente a una fuente de poder para llevar a cabo la electrólisis.

Respuesta Analítica de ISE y biosensores

Los sensores químicos y los biosensores de transducción potenciométrica presentan un comportamiento con respecto a la concentración que se conoce como comportamiento de Nikolsky:

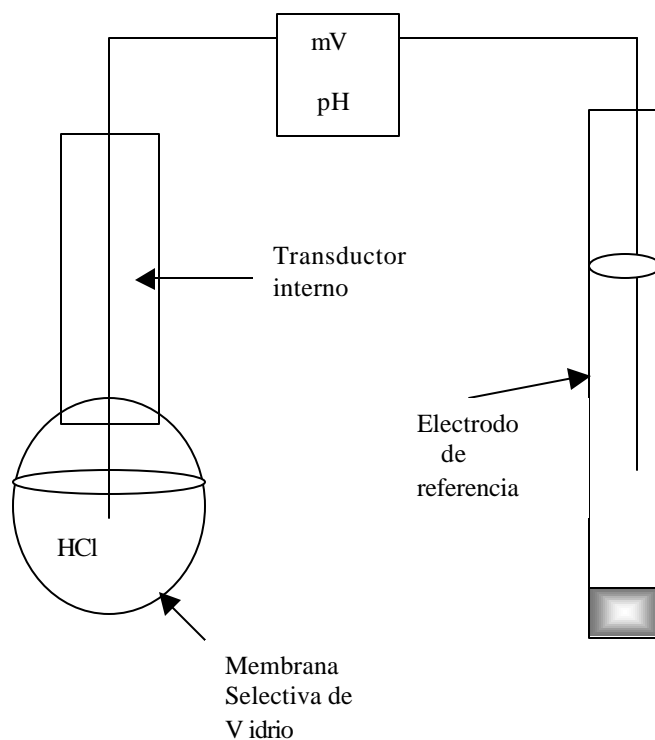


Los sensores químicos y los biosensores de transducción amperométrica presentan un comportamiento con respecto a la concentración de forma directamente lineal:



Ejemplos y Aplicaciones

El primer electrodo selectivo de la historia fue inventado en 1906 por Cremer para medir la acidez y la alcalinidad utilizando como elemento selectivo un bulbo de vidrio contaminado con átomos gigantes de europio o lantano. Dentro del bulbo se contiene una solución de ácido clorhídrico de concentración fija. Los iones ácidos de hidronio, H^+ , internos y los externos de la muestra generan un *potencial de membrana* el cual es detectado por un transductor de referencia interno que se mide con un potenciómetro con respecto a una referencia externa. Se hace coincidir el potencial de membrana con soluciones de pH conocido (estándares) para conocer el pH de cualquier muestra. Desde entonces este ISE ha tenido un éxito indiscutible toda vez que es muy eficiente, sensible (¡puede medir inclusive valores de $pH=14$, $(H^+) = 10^{-14}M!$), y muy selectivo. El diagrama siguiente muestra el esquema clásico de un ISE para el electrodo de pH:



Actualmente se encuentra en vigorosa investigación electrodos selectivos al pH diferentes al electrodo de vidrio toda vez que éste no puede ser usado eficientemente en muestras naturales tales como suero humano, tierra, aguas naturales, disolventes orgánico o citoplasma. Estos electrodos se diseñan con base a óxidos metálicos o polímeros electroconductores como la polianilina.

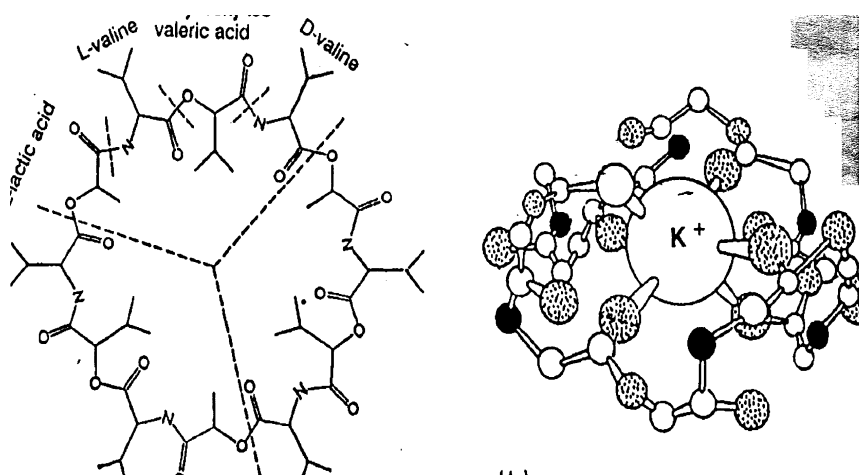
Desde el electrodo de vidrio se han diseñado muchos electrodos selectivos a aniones y cationes con mas o menos éxito. En general se han empleado cristales de sales inorgánicas poco solubles como elemento sensor químico como puede verse en la siguiente tabla:

ION DIANA	MATERIAL SELECTIVO	INTERFERENCIAS
FLORUROS	CRISTAL DE FLORURO DE LANTANO	HIDROXILOS
CLORUROS	CLORURO DE PLATA	HALOGENUROS, CIANUROS, AMONIACO DITIONATO, SULFUROS
BROMUROS	BROMURO DE PLATA	CIANUROS, SULFUROS
YODUROS	YODURO DE PLATA	CIANUROS,, SULFUROS
CIANUROS	YODURO DE PLATA	YUDUROS, SULFUROS
SULFUROS	SULFOCIANURO DE PLATA Y SULFURO DE PLATA	PLATA(I)
PLATA (I)	SULFURO DE PLATA	SULFUROS
CADMIO(II)	SULFURO DE CADIMIO	ACIDOS, MANGANESO, PLOMO, FIERRO, DICROMATO
PLOMO(II)	SULFURO DE PLOMO	COBRE, CADMIO
COBRE(II)	SULFURO DE COBRE	COBRE(I)
TALIO (I)	MOLIBDOFOSFATO DE TALIO EN RESINA EPOXICA	NINGUNA

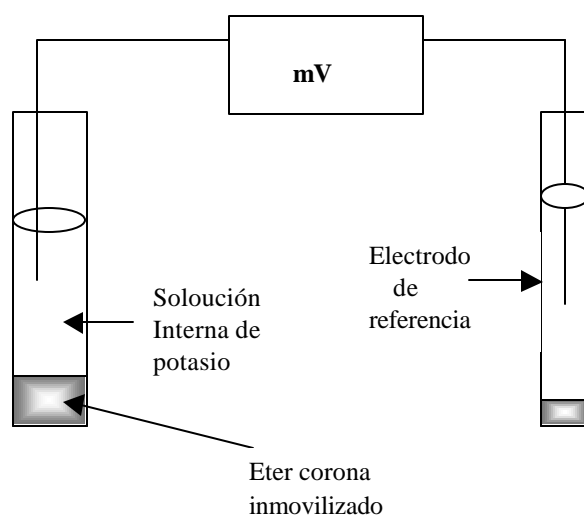
Como Puede observarse estos ISE son todavía poco selectivos por lo que se han buscado nuevos elementos con un reconocimiento más selectivo a los iones diana. En este campo la investigación en Química de Estado Sólido ha proporcionado interesantes alternativas al respecto.

Otro ejemplo ingenioso en el diseño de ISE lo representan los sensores químicos que reconocen iones muy poco reactivos químicamente como lo son los iones potasio, sodio, calcio y magnesio de gran importancia en Química Clínica, Química del Agua, etc.. Por ejemplo se sabe

que ciertos hongos producen sustancias capaces de atrapar potasio como defensa hacia las bacterias que los infectan. Estos compuestos se conocen como antibióticos del tipo Vancomicina constituidos químicamente por éteres corona en forma circular cuyo diámetro ajusta perfectamente para albergar al ion potasio, K^+ :

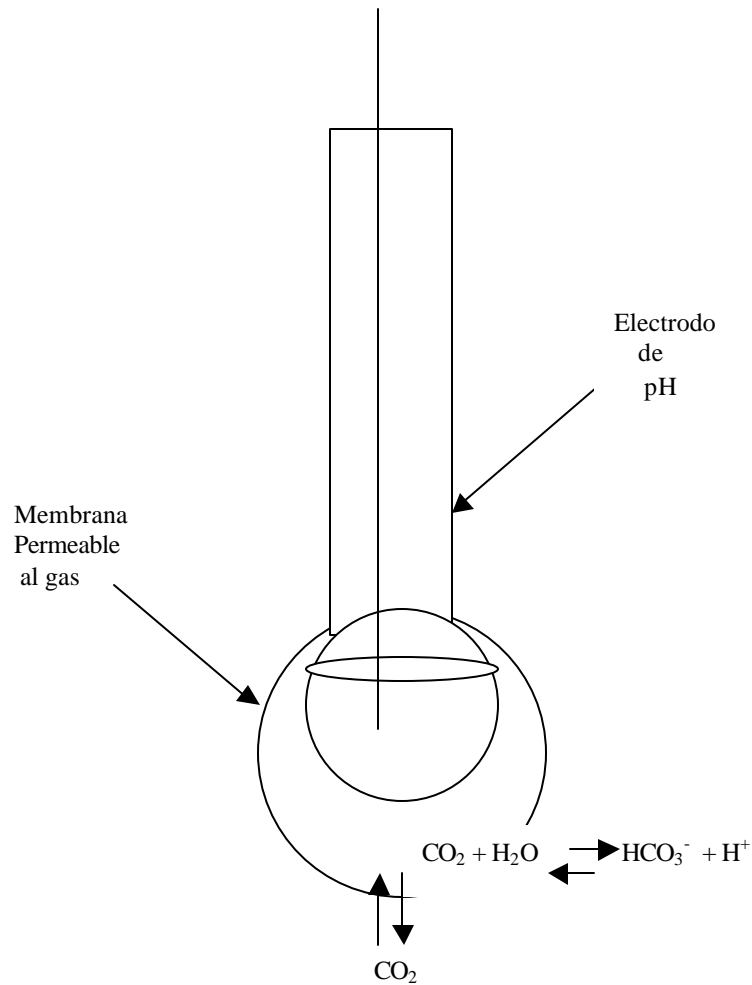


Estos compuestos éter corona aislados de cultivos de hongos o bien sintetizados químicamente se fijan en algún soporte inerte como la resina epóxica, pastas de carbón o polímeros para constituir el elemento selectivo:



Otro tipo de sensores químicos interesantes son aquellos que permiten detectar gases, dióxido de carbono, oxígeno, amoníaco, ácido sulfhídrico, etc. En estos casos se combina un

electrodo como el de pH en combinación con una membrana que permite la difusión selectiva a un gas determinado. Por ejemplo un electrodo selectivo a dióxido de carbono:



Biosensores

Una de las características que le confieren gran poder a los sensores como herramienta analítica es la posibilidad de utilizar biomoléculas que reaccionan muy selectivamente con diversos analitos. El uso de enzimas o anticuerpos, en forma pura o en forma de extractos crudos, células o tejidos completos, permite construir biosensores altamente selectivos hacia un sustrato específico.

Uno de los problemas a resolver en el diseño de un biosensor es investigar la forma de inmovilizar la biomolécula de elección sin que ésta pierda sus actividad biológica. Entre estas formas se encuentran: la adsorción sobre un soporte

(conductor metálico), unión química covalente sobre el sustrato (carbón vítreo), unión química a una red inerte, atrapamiento sobre un gel o polímero conductor, encapsulamiento dentro de una membrana de diálisis, pastas de carbón formadas mezclando la biomolécula con polvo de carbón conductor con un aglomerante inerte como el aceite mineral o una solución salina de pH controlado.

Campos de Aplicación

Química Clínica

Es en el campo de los análisis clínicos en donde se han desarrollado desde 1909 los ISE a tal grado que actualmente algunos como los electrodos selectivos a Na, K, Ca y Mg han sustituido oficialmente a las técnicas espectrofotométricas iniciales. La siguiente tabla muestra la evolución histórica de los sensores y biosensores en Química Clínica:

1909	Se demuestra la respuesta al H ⁺ de la membrana de vidrio
1924	Membranas de vidrio selectivas a Na ⁺ , K ⁺ y Li ⁺ .
1936	Sale al mercado el primer pH-metro comercial
1952-58	Se desarrollan los electrodos selectivos a CO ₂ y O ₂
1958	Se desarrolla el primer autoanalizador de 3 canales para CO ₂ , O ₂ y pH
1962	Se desarrollan ISE con materiales de estado sólido diferentes al vidrio
1967	Primer electrodo enzimático para glucosa
1968	Electrodo selectivo a K ⁺ a base de valinomicina
1971	Primer analizador para Ca ²⁺
1972	Los ISE de Na y K remplazan al análisis flamométrico
1973	Se desarrolla un analizador potenciométrico para Na y K en sangre total
1974	Primer electrodo enzimático comercial
1976	Analizador de Na y K con microprocesadores

Química Farmacéutica, Toxicología

ANALITO	ELEMENTO BIOSENSOR	TRANSDUCTOR
Benzopireno	Anticuerpo antibenzopireno	Fluómetro de fibra óptica
Creatinina	Creatinina iminohidrolasa	Transistor de campo para NH ₃
Etanol	NADH y dehidrogenasa	Electrodo redox
Gamma globulina	Anticuerpo antigama globulina	Luz polarizada
Lidocaina	Anticuerpo antilidocaína	Electrodo de oxígeno
Gas nervioso	Receptor a acetilcolina	Celda conductimétrica
Paratión	Anticuerpo a paratión	Cristal piezoeléctrico
Penicilina	Beta-lactamasa	Termistor
Testosterona	Enzimas bioluminiscientes	Fluómetro de fibra óptica
Teofilina	Anticuerpos a teofilina	Cristal piezoeléctrico
Vitamina B ₁₂	Bacteria (<i>Escherichia coli</i>)	Electrodo de oxígeno
Dopamina	Cáscara interna de platano	Carbón

Química de Alimentos

ANALITOS	AREAS DE APLICACIÓN
COMPUESTOS ORGANICOS: Aminoácidos, clorestero, carbohidratos, vitaminas, lípidos, lecitina, lisina, citrato, acetaldehído, polifenoles, histamina, hipoxantina salicilato, benzoato, ácido sórbico, amigdalina, sacarina, aspartame, ciclacmato,	Contaminantes en alimentos, Potenciadores de sabor, Control de calidad en bebidas, tes. Calidad de los vinos Frescura de pescados Conservadores, edulcorantes, control de calidad de yogurt, cerveza, jugos, vinos.
COMPUESTOS INORGÁNICOS: Sulfitos, dióxido de azufre, potasio, sodio, calcio, magnesio, nitratos, nitritos, cloruros, sulfatos, fluoruros, carbonatos, cinc, mercurio.	Control de la oxidación de los alimentos, Control de calidad de vinagre, jugos de frutas, leche, refrescos, cervezas, vinos y agua minerales.
TOXINAS EN ALIMENTOS: Saxitoxina, negonyautoxinas, hepatitis virus A, aflatoxinas, <i>Salmonella</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria</i> , <i>Campulobacter</i> , tetrodotoxina	Contaminación y control de productos marinos.

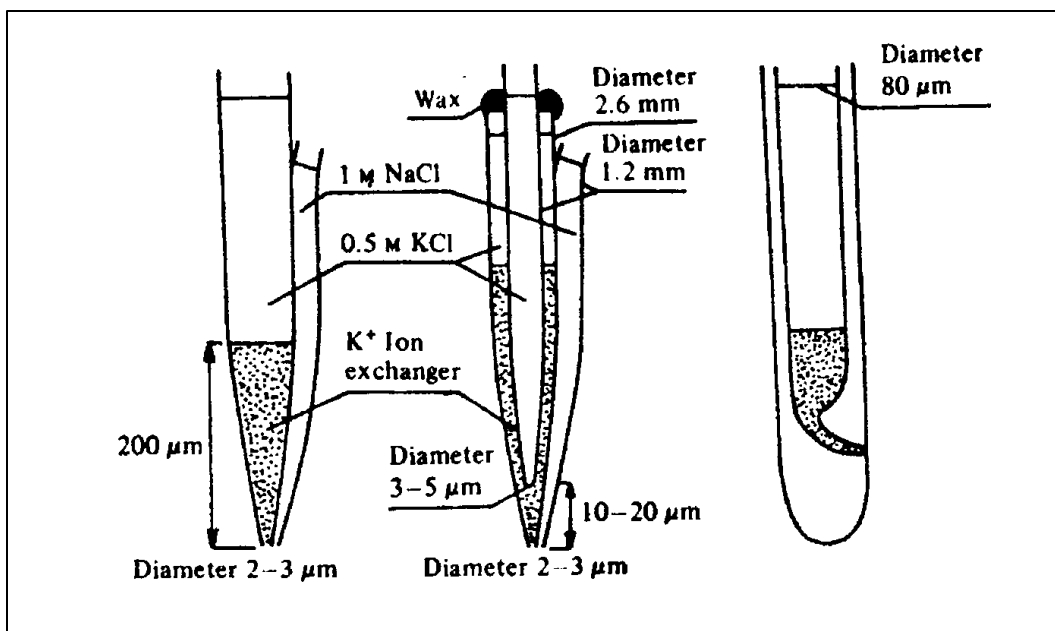
Química Ambiental

Actualmente se desarrollan sensores y biosensores que detecten selectivamente contaminantes en matrices complejas de analizar como lo son las aguas naturales, tierra, aire y piel humana. Se han desarrollado sensores para detectar pesticidas organofosforados, metales pesados así como insumos y contaminantes de la industria química:

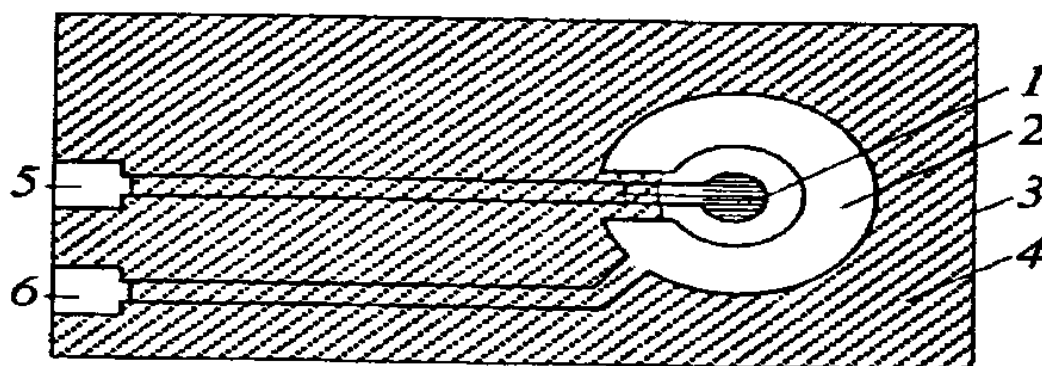
ISE	USO INDUSTRIAL
amoniacado	Contaminante
cadmio	Metalización electrolítica (electroplateado)
calcio	Dureza de agua, tratamiento de calderas
cloruro	Desalinización de agua y farmacéuticos
Cianuro	Metalización electrolítica
cobre	Industria minera
fluoruros	Agua potable, producción de ácido fluorhídrico
nitrito	Control de agua
plata	Industria fotográfica
sodio	Agua ultrapura, industria de alimentos
Sulfuro	Industrial papelera

Miniaturización

Una de las características que le confiere un gran poder a los sensores y biosensores como herramienta analítica es la posibilidad de **miniaturización** de los sensores. Actualmente la microelectroquímica se encuentra en crecimiento muy vigoroso dada las ventajas que representa poder efectuar análisis altamente selectivos *in situ*, es decir en el lugar mismo donde ocurren los fenómenos. De esta manera encontramos electrodos de pH capaces de efectuar mediciones intracelularmente, sensores conectados directamente al torrente sanguíneo, en operaciones a corazón abierto o corteza cerebral. El almacenamiento de tejidos para transplantes pueden monitorearse con sensores directamente colocados en la bolsa de conservación y monitorear el estado de salud del órgano sin necesidad de sacarlo. La siguiente figura muestra los diseños de sensores de 2 a 3 micrometros de diámetro:



Dentro de los electrodos miniaturizados se encuentran los electrodos “screen printed”, es decir el material sensor y de referencia se “imprime” sobre un soporte tipo tarjeta. De esta manera es posible fabricar en serie una cantidad grande de electrodos que pueden desecharse después del análisis. Este tipo de electrodos es muy adecuado para determinaciones de campo o determinaciones en unidades paramédicas. La siguiente figura muestra un ISE impreso:

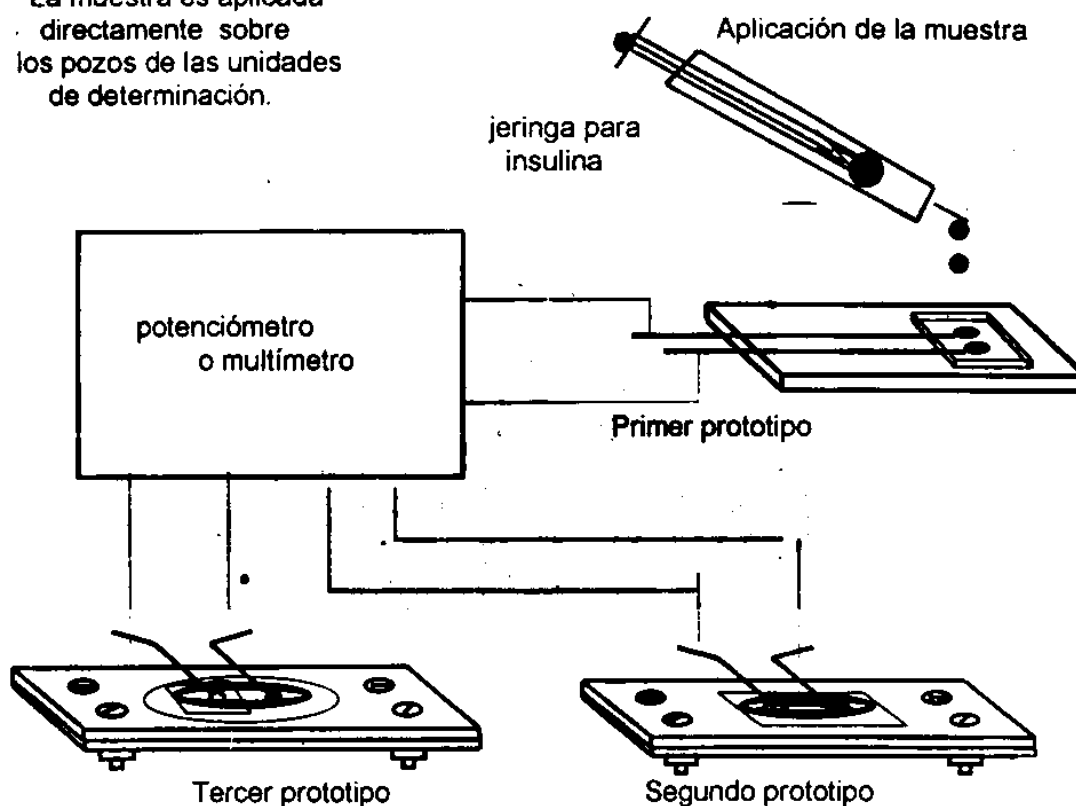


1) transductor; 2) electrodo de referencia de plata; 3) base de cerámica; 4) pasta aislante; 5,6) contactos.

Estos electrodos han sido usados para detectar glutatión reducido, coenzima A, vitamina C, tiamina, ácido úrico, glucosa, paracetamol, ácido salicílico, teofilina, nitatos, plomo y pesticidas organofosforados.

Otra alternativa para trabajo de campo, ahorro de reactivos y minimización de desechos lo representan las microcámaras de análisis potenciométrico que pueden ser fabricadas con material de bajo costo (acrílico) y cantidades pequeñas de material selectivo. En la siguiente figura se muestran tres prototipos de microcámaras para la determinación de peróxido usando un extracto de papa (rico en peroxidasa) inmovilizada en una microcámara con membrana de diálisis:

** La muestra es aplicada directamente sobre los pozos de las unidades de determinación.



Volumen de muestra requerido para la determinación del potencial:

Primer prototipo.....	300 μ L
Segundo prototipo.....	64 μ L
Tercer prototipo.....	19 μ L

Comentarios finales

De lo expuesto arriba se desprende que el mundo de los sensores y biosensores representa una oportunidad de combinar las disciplinas de la química con aplicaciones de gran importancia en muchas áreas del quehacer humano.

Bibliografía recomendada

- 1.0 G. A. Rechnitz
"Bioanalysis with potentiometric membrane electrodes"
Analytical Chemistry **54**(1982)1194A
- 2.0 John D. Czaban
"Electrochemical sensors in clinical chemistry: yesterday, today, tomorrow"
Analytical Chemistry **57**(1985)345^a
- 3.0 Enrique Galindo Fentanes
"Electrodos biológicos"
Ciencia y Desarrollo Nov-Dic. **71**(1986)37
- 4.0 W.H. Chan, M.S. Wong and C. W. Yip
"Ion-selective electrode in organic analysis"
Journal of Chemical Education **63**(1986)915
- 5.0 Jane E. Frew and H. Allen O. Hill
"Electrochemical biosensors"
Analytical Chemistry **59**(1987)933A
- 6.0 Jerome S- Schultz
"Biosensors"
Scientific American August (1991)64
- 7.0 Esteve Martínez-Fábregas and Salvador Alegret
"A practical approach to chemical sensors through potentiometric transducers"
Journal of Chemical Education **71**(1994)A67
- 8.0 Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case.
"Microbiology. An Introduction" Fifth Edition

- The Benjamin /Cummings Publishing Company Inc.
"Applications of Microbiology. Biosensors-bacteria that detect toxic pollutants"
(1995)707
- 9.0 Kim R. Rogers, Clare L. Gerlach
"Environmental Biosensors. A Status Report"
Environmental Science & Technology **30**(1996)486A
- 10.0 Martin S. Frant
"Where did ion selective electrodes come from?"
Journal of Chemical Education **74**(1997)159
- 11.0 Truman S. Light
"Industrial use and applications of ion selective electrodes"
Journal of Chemical Education **74**(1997)171
- 12.0 Jaromir Rixicka
"The seventies-Golden age for ion selective electrodes"
Journal of Chemical Education **74**(1997)167
- 13.0 C.C. Yung
"Evolution of blood Chemistry analyzers based on ion selective electrodes"
Journal of Chemical Education **74**(1997)177
- 14.0 John H.T. Loung, Pierre Bouverette and Keith B. Male
"Developments and Applications of biosensors in food analysis"
TIBTECH **15**
(1997)369-377
- 15.0 Ernő Pungor
"The Theory of Ion-Selective Electrodes"
Analytical Sciences **14**(1998)249-256
- 16.0 Natalia Rosario Cruz Martínez, Alejandro Baeza
"Diseño y Construcción de Prototipos de Sistemas Microbiosensores Electroquímicos Selectivos a Peróxido de Hidrógeno"
Tesis de Licenciatura. Facultad de Química.UNAM. 2001