

(UIMP) Sede Pirineos

**BIOSENSORES ELECTROQUÍMICOS.
UNA ALTERNATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE
DROGAS DE ABUSO**

J. Arcos. Escuela Politécnica Superior (Huesca) 28 y 29 /09/16

**BIOSENSORES ELECTROQUÍMICOS.
UNA ALTERNATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE DROGAS DE ABUSO**

- 1. Introducción drogas de abuso**
 - Tipos usos
 - Métodos de detección. Ventajas y desventajas
- 2. Técnicas electroquímicas**
 - Fundamentos
 - Tipos de electrodos
- 3. Biosensores Electroquímicos**
 - Características: Tipos. Métodos de inmovilización.
 - Aplicaciones de biosensores
- 4. Determinación electroquímica de drogas.**
 - Sensores electroquímicos
 - Biosensores electroquímicos
 - Inmunosensores y aptasensores electroquímicos

J. Arcos.

DROGAS DE ABUSO

JUNTOS SIN DROGAS

DROGAS DE ABUSO

Distribución del consumo de drogas legales por sexo

Consumo de Drogas Ilegales

COCAINE

% of Adult Population Using Cocaine

COCAÍNA

Planta de Coca
Erithroxylon coca

Pasta de Coca **Cocaína base** **Cocaína clorhidrato**

J. Arcos.

EFFECTOS DE LA COCAÍNA

Neuronas

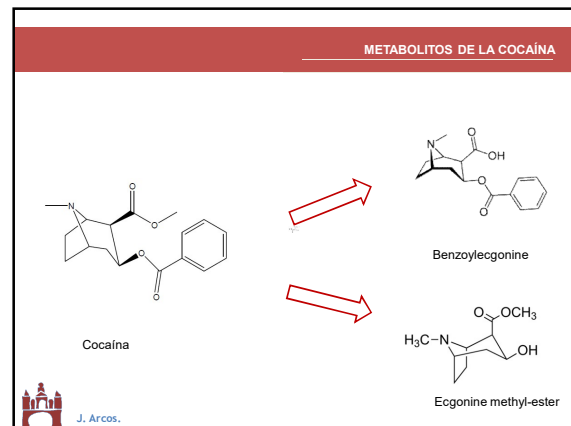
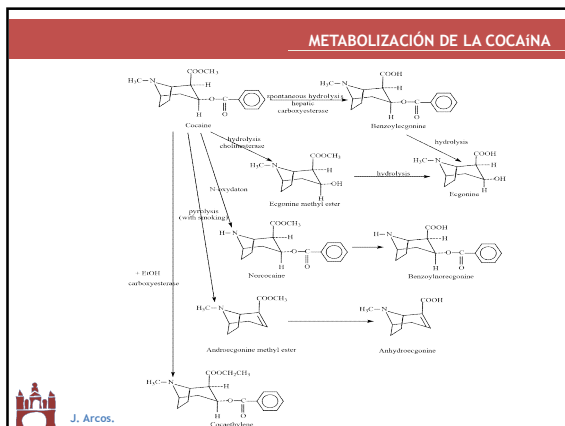
Sinapsis

Dopamina

Proteína especializada recicla la dopamina devolviéndola a la neurona transmisora

La cocaína se adhiere a la proteína transportadora de dopamina y bloquea el proceso normal de reciclaje

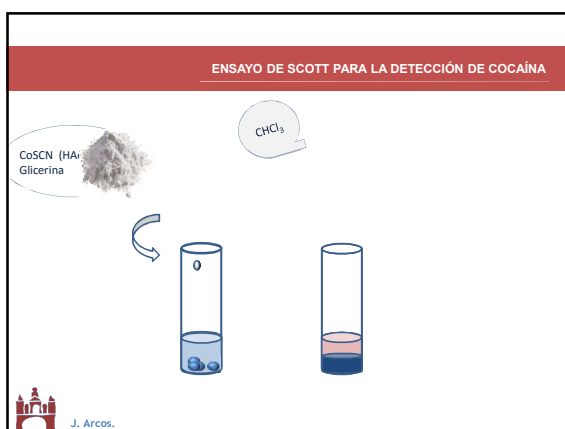
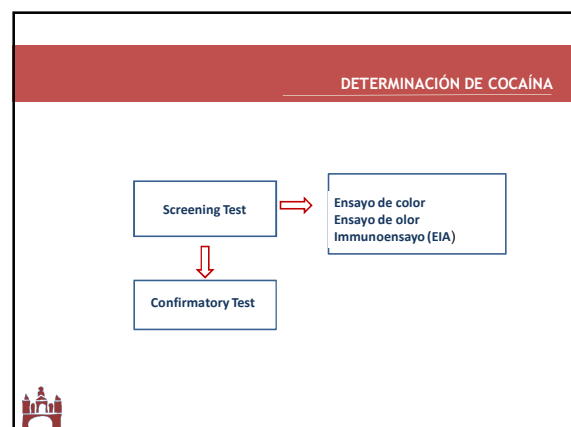
J. Arcos.



METABOLIZACIÓN DE LA COCAÍNA

Sangre	50–2000 ng mL ⁻¹ 30–120 minutos
Orina	1–9% 6-8 horas
Saliva	3 veces en sangre 5 veces orina
	20 ng mL ⁻¹

metabolitos 144 horas



DETERMINACIÓN DE COCAÍNA

The diagram shows the chemical reaction of cocaine with NaOH and CH₃OH, resulting in the formation of a derivative, likely methyl benzoate, used for identification.

DETERMINACIÓN DE COCAÍNA

```

    graph TD
      A[Screening Test] --> B[Ensayo de color  
Ensayo de olor  
Inmunoensayo (EIA)]
      A --> C[Confirmatory Test]
      C --> D["• Liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry (LC-MS/MS)  
• Gas chromatography- mass spectrometry (GC-MS)"]
  
```

LD: 50 ng mL⁻¹ (cocaína y metabolitos)

J. Arcos.

DETERMINACIÓN DE COCAÍNA

GC-ECD: FID GROMATÓGRAFO DE GASES AGILENT 6890 GC

Extracción
Centrifugación o filtración
Preconcentración
Purificación del extracto
Derivatización

J. Arcos.

DETERMINACIÓN CROMATOGRAFICA DE COCAÍNA

GC-ECD: FID GROMATÓGRAFO DE GASES AGILENT 6890 GC

NECESIDAD DE TÉCNICAS
MÁS VERSÁTILES

J. Arcos.

BIOSENSORES ELECTROQUÍMICOS
UNA ALTERNATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE DROGAS DE ABUSO

• Fundamentos
• Tipos de electrodos

2. Técnicas electroquímicas

J. Arcos.

Métodos eléctricos FUNDAMENTOS

Celda electroquímica

Reacción electroquímica

J. Arcos.

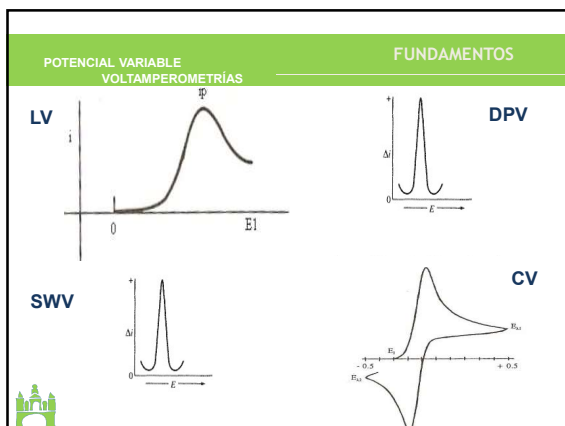
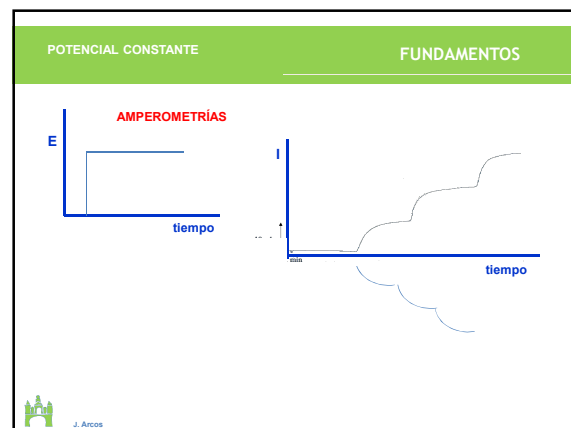
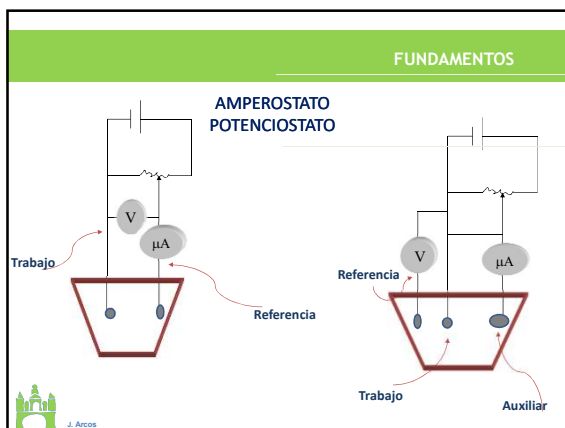
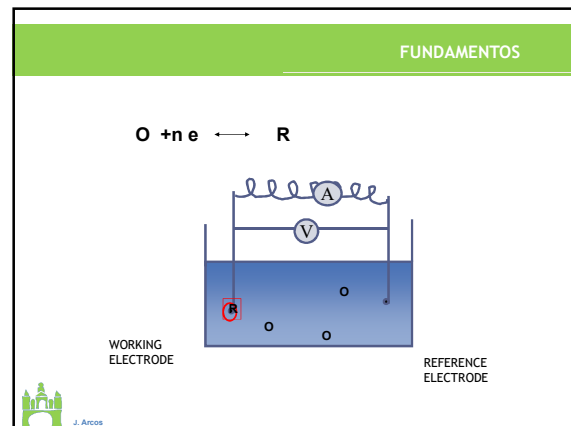
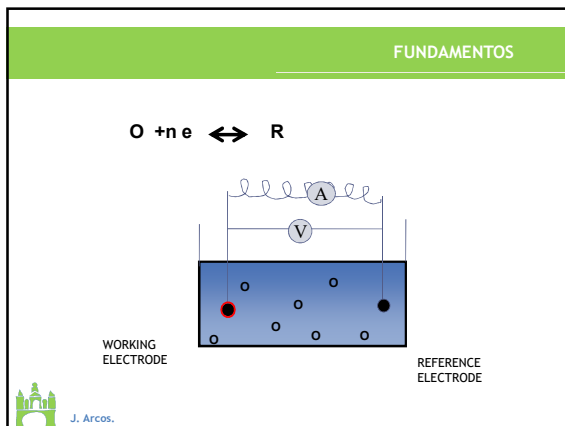
Métodos eléctricos FUNDAMENTOS

Potenciostato
Amperostato

WORKING ELECTRODE

REFERENCE ELECTRODE

J. Arcos.




ELECTRODOS DE TRABAJO

Ag, Au, Pt, Pd


Hg
Dropping
Hanging

Pasta de carbono
Carbono vitrificado
Grafeno
Nanotubos de C

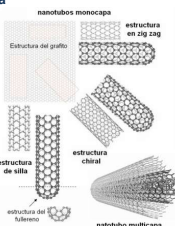


ELECTRODOS DE TRABAJO

hibridaciones del tipo: sp².




Grafeno
Movilidad electrónica
Baja resistencia



Nanotubos de carbono

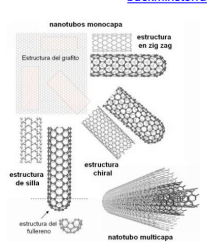
Master en Química Avanzada, 2015-16



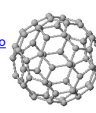
ELECTRODOS DE TRABAJO

hibridación intermedia entre la sp² y la sp³

Nanotubos de carbono




Fullereno
buckminsterfullereno



Nanospuma de carbono

Master en Química Avanzada, 2014-15




ELECTRODOS DE TRABAJO

INCONVENIENTES DE LOS ELECTRODOS CONVENCIONALES

- Mala de reproducibilidad
- Tareas de recuperación tediosas
- Sistemas rígidos

↓

Electrodos serigrafados



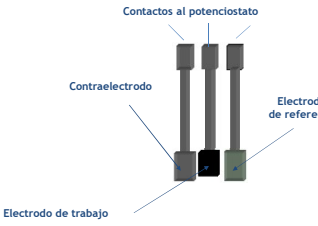
SCREEN PRINTED ELECTRODES

Selección del diseño


Distribución espacial

Forma

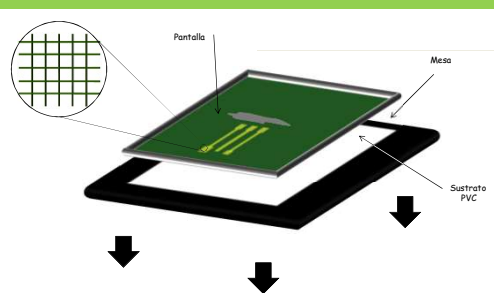
Área



J. Arcos



ELECTRODOS SERIGRAFIADOS



Pantalla, Mesa, Sustrato PVC


↓

↓

↓

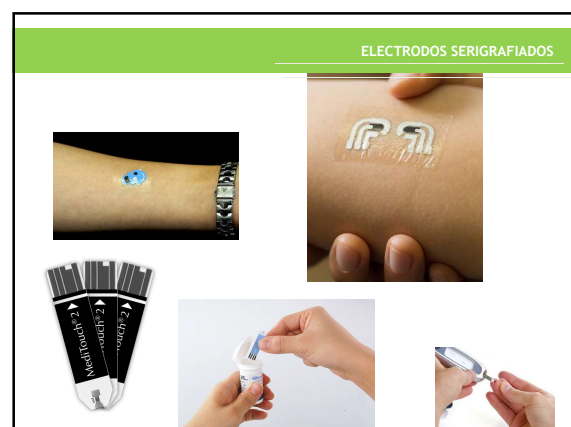
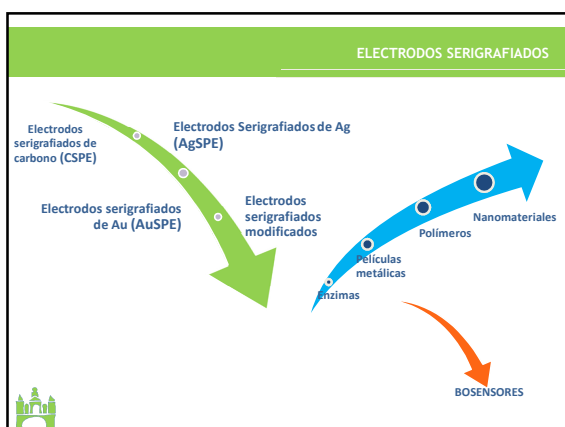
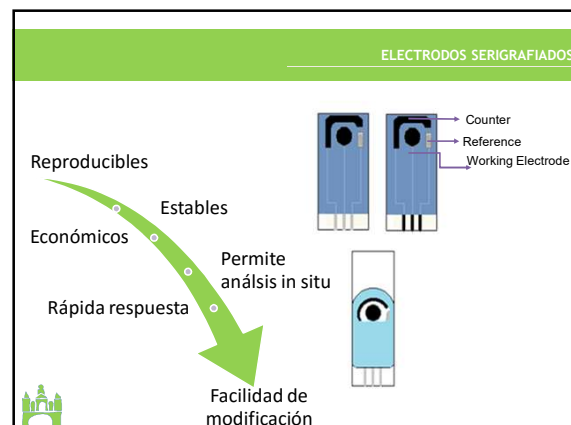
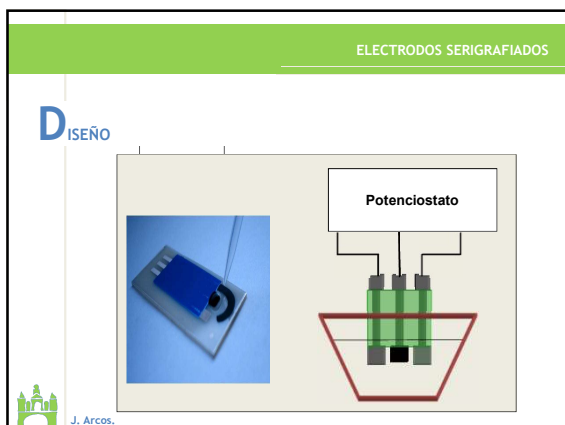
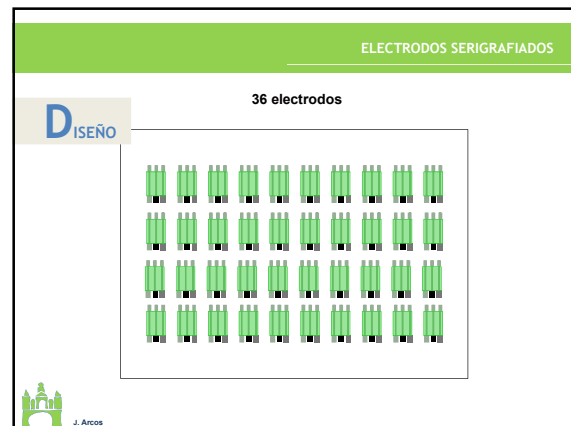
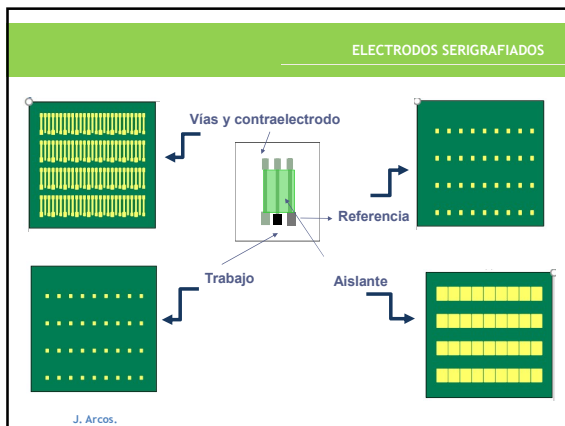
VACIO

J. Arcos



Diapositiva 26

u12 ubu; 14/11/2011



BIOSENSORES ELECTROQUÍMICOS.
UNA ALTERNATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE DROGAS DE ABUSO

3. Biosensores Electroquímicos

- Características
- Tipos
- Métodos de inmovilización
- Aplicaciones de biosensores

J. Arcos.

BIOSENSORES

ASPECTOS GENERALES

Biosensor → Sensor

↻

Compuestos de interés biológico

J. Arcos.

BIOSENSORES

ASPECTOS GENERALES

Analito → Bioreceptor → Transductor → Señal → Procesador de Señales → Monitor

J. Arcos.

BIOSENSORES

ASPECTOS GENERALES

Analito → Bioreceptor → Transductor → Señal → Procesador de Señales → Monitor

J. Arcos.

BIOSENSORES

ASPECTOS GENERALES

TIPOS DE TRANSDUCTORES →

Analito → Bioreceptor → Transductor → Señal → Procesador de Señales → Monitor

ELECTROQUÍMICOS

ÓPTICOS

TÉRMICOS

J. Arcos.

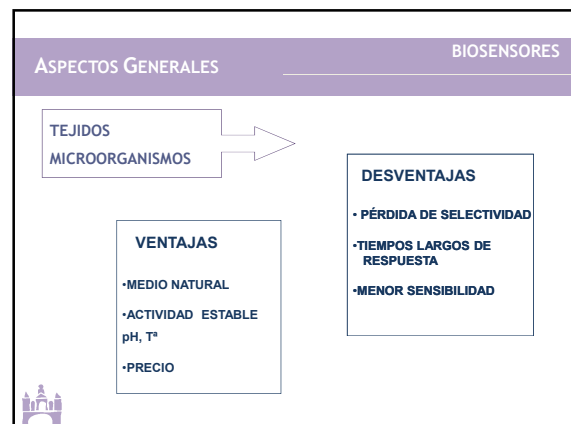
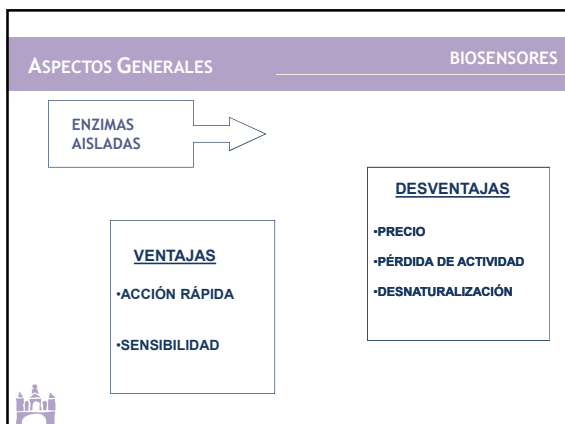
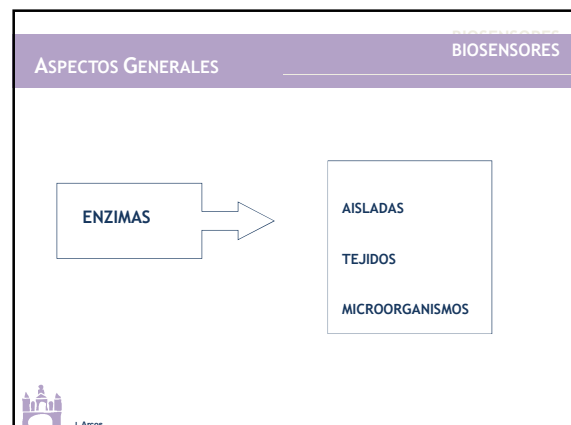
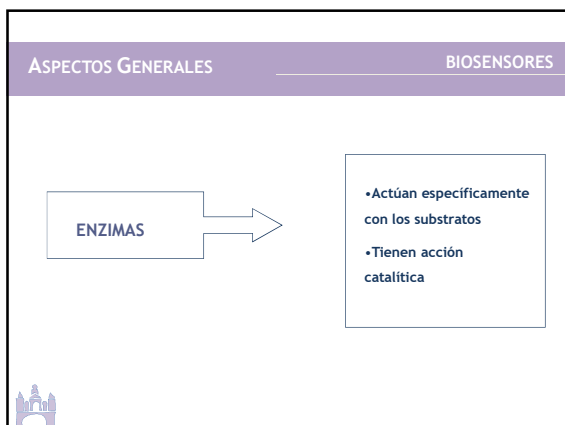
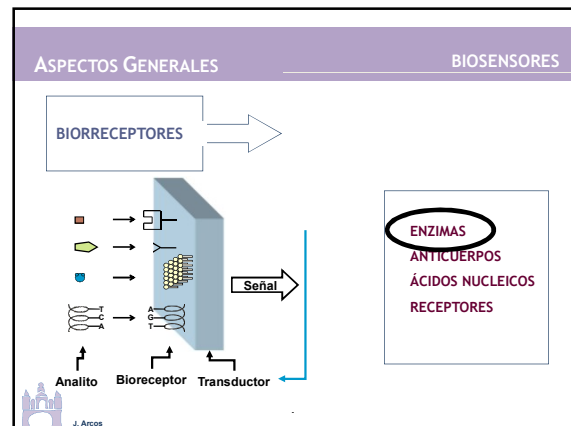
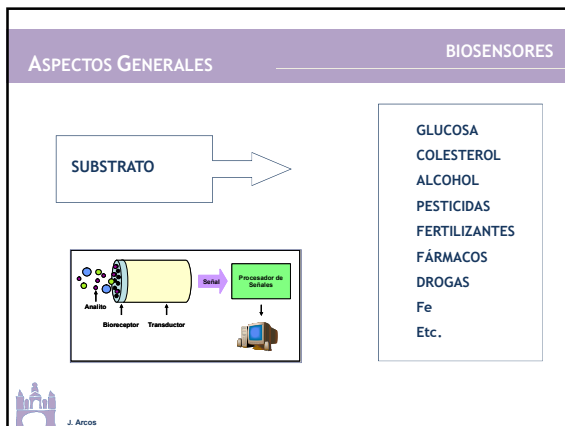
BIOSENSORES

ASPECTOS GENERALES

TRANSDUCTORES ELECTROQUÍMICOS

- Robustez
- Fabricación simple
- Bajo coste
- Amplio rango de linealidad
- Tiempo de respuesta bajo
- Miniaturización
- Facilidad de integración en sistemas
- Automatización

J. Arcos.



ASPECTOS GENERALES BIOSENSORES

INMOBILIZACIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Analito
Bioreceptor
Transductor
Señal
Procesador de Señales

ADSORPTION
MICROENCAPSULATION
ATRAPPAMENT
CROSSLINKING
COVALENT BOND

J. Arcos

ASPECTOS GENERALES BIOSENSORES

INMOBILIZACIÓN ADSORCIÓN

•ISOTERMA LANGMUIR
•TEMPERATURA
•POCO ESTABLES

J. Arcos

ASPECTOS GENERALES BIOSENSORES

INMOBILIZACIÓN MICROENCAPSULATION

BIO MATERIAL ATRAPADO EN UNA MEMBRANA

- ACETATO DE CELULOSA
- POLICARBONATO (Nucleopore)
- COLÁGENO
- TEFLON
- NAFION
- POLIURETANO

J. Arcos

ASPECTOS GENERALES BIOSENSORES

ATRAPPMENT IN GEL MATRIX

Monómero que polimeriza y retiene al material biológico

ACRYLAMIDA
POLYACRYLAMIDA

↓

•Inhibición de la difusión
•Pérdida de la actividad enzimática a través de los poros

J. Arcos

ASPECTOS GENERALES BIOSENSORES

CROSS LINKING

AGENTE BIFUNCIONAL

$$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-CHO} \\ | \\ \text{CH}_2 \\ | \\ \text{CH}_2\text{-CHO} \end{array} \quad \text{GLUTARALDEHIDO}$$

Hexametil diisocianato
1,5 dinitro-2,4 difluorobenceno

- Puede dañar la enzima
- Limita la difusión del sustrato
- Puede introducir tensión

J. Arcos

ASPECTOS GENERALES BIOSENSORES

COVALENT BOND

FORMACIÓN DE UN ENLACE COVALENTE ENTRE EL BIOMATERIAL Y EL TRANSDUCTOR

J. Arcos

ASPECTOS GENERALES **BIOSENSORES**

a. The cyanogen bromide technique

O=C(O)C1=CC=CC=C1 + CNBr -> O=C(N#C)C1=CC=CC=C1 + HBr
O=C(N#C)C1=CC=CC=C1 + H2N-R -> O=C(NH-R)C1=CC=CC=C1 + HCN

b. The carbodiimide method

O=C(O)C1=CC=CC=C1 + R'-NH-C(=O)-NH-R'' + H+ -> O=C(NH-R')C1=CC=CC=C1 + R''-NH-C(=O)-NH-R'' + H2O

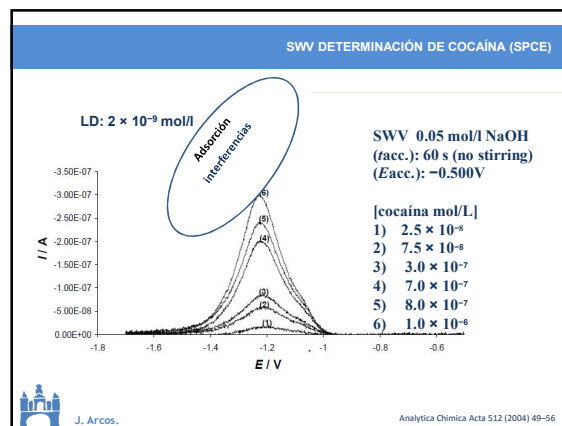
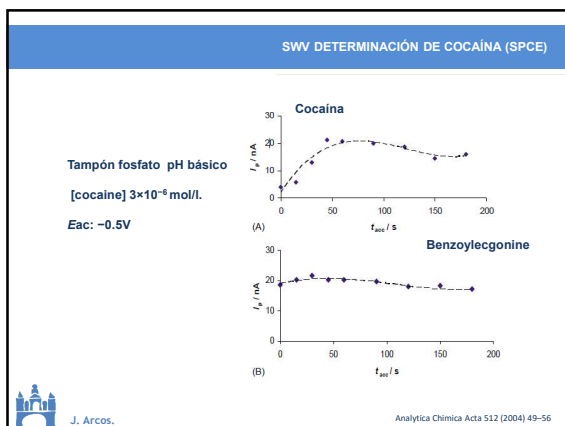
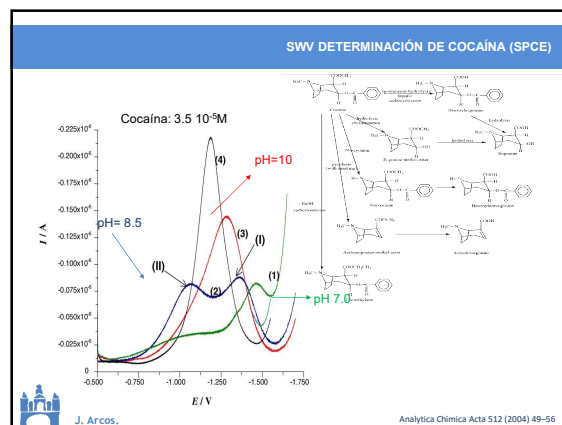
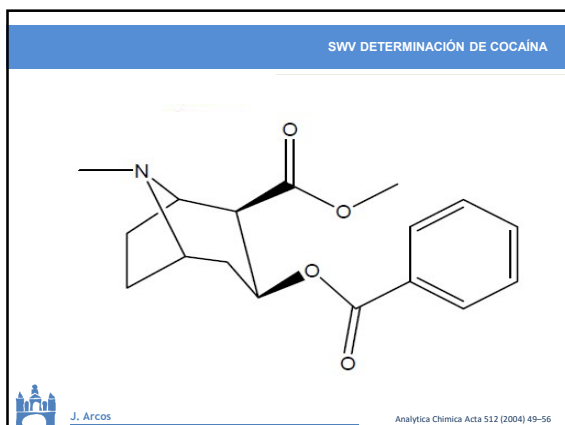
J. Arcos

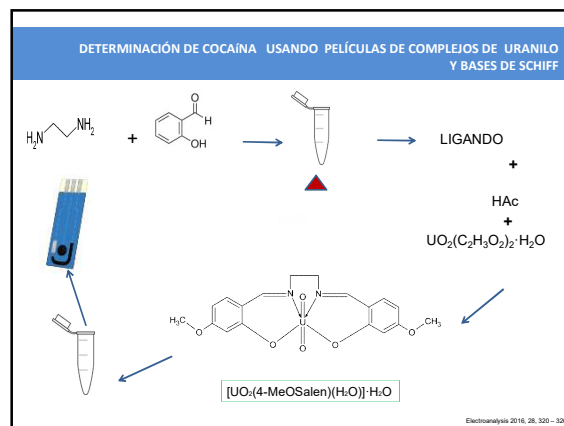
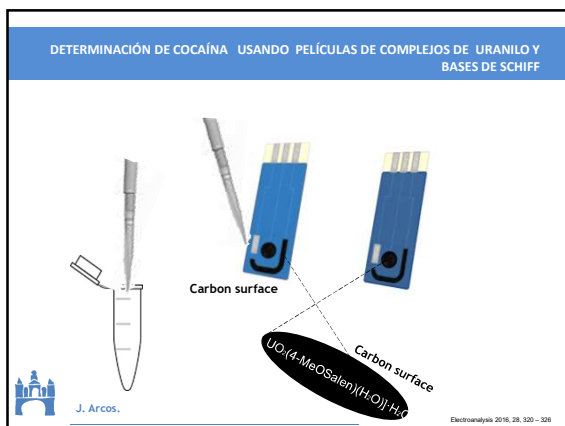
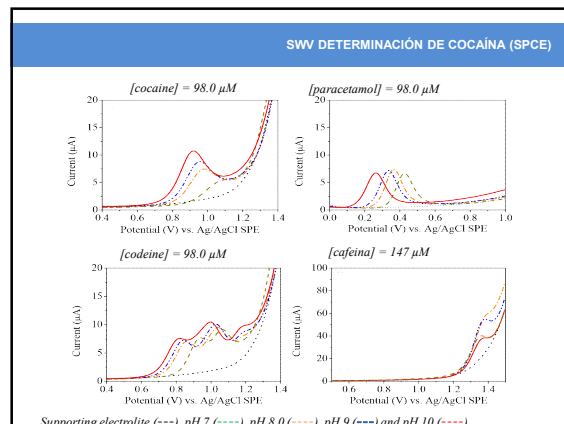
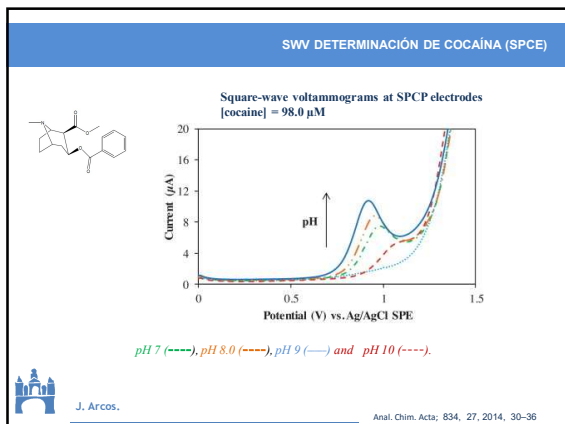
BIOSENSORES ELECTROQUÍMICOS. UNA ALTERNATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE DROGAS DE ABUSO

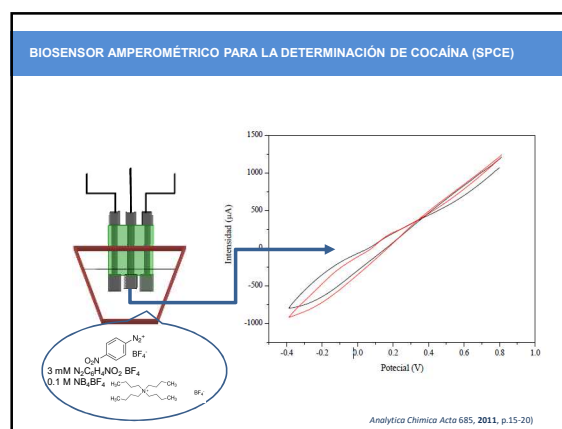
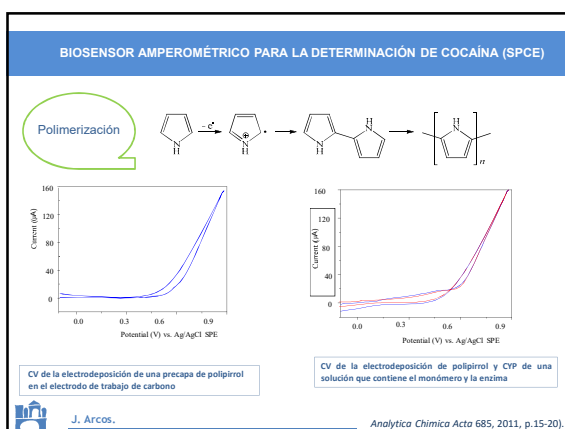
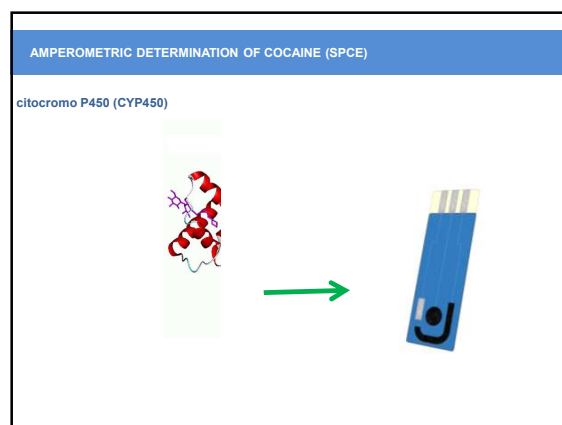
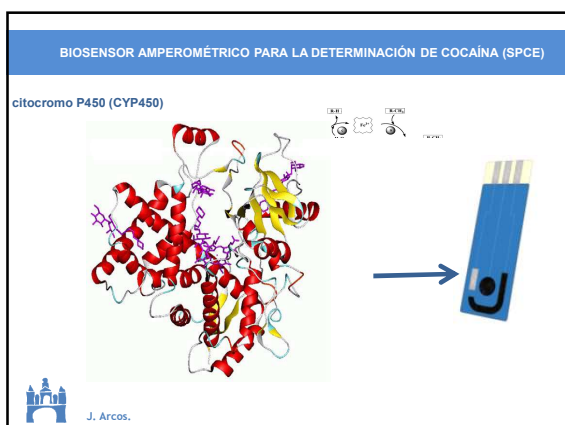
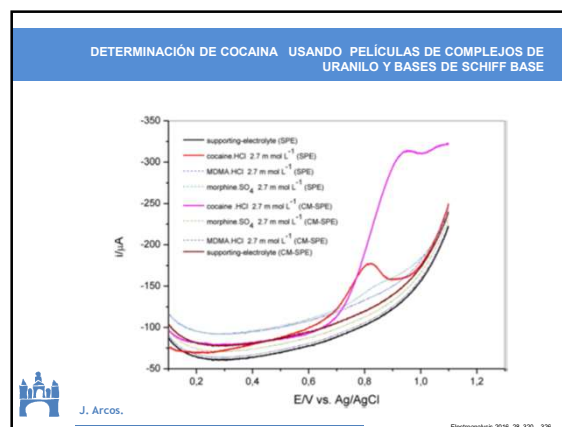
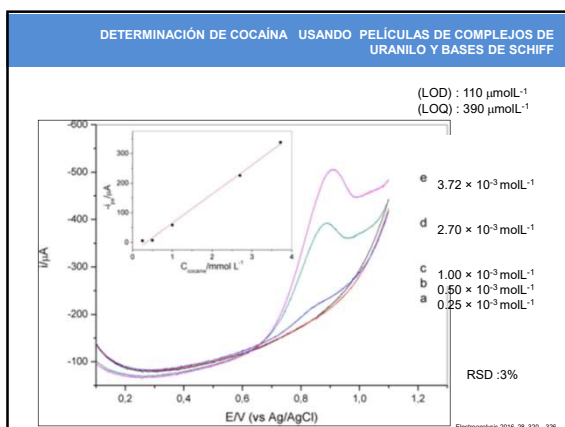
A. Determinación electroquímica de drogas

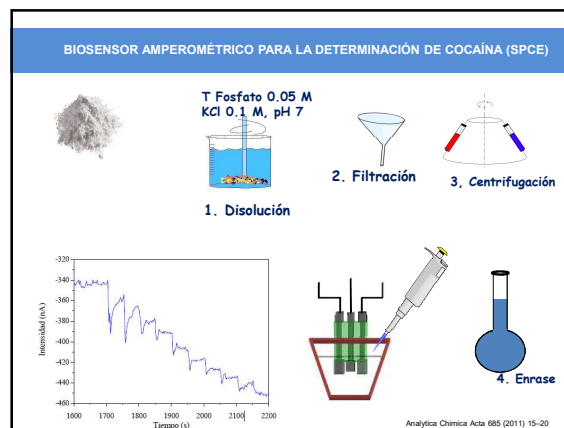
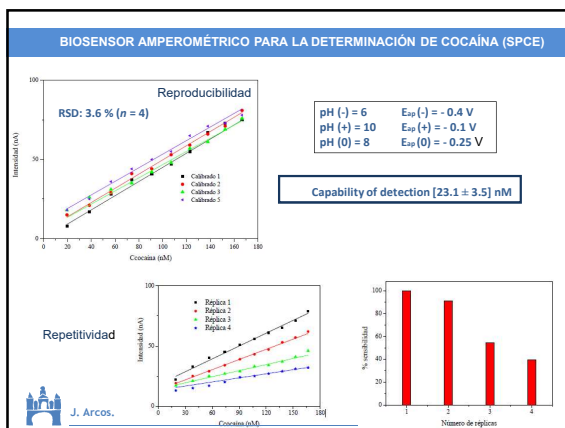
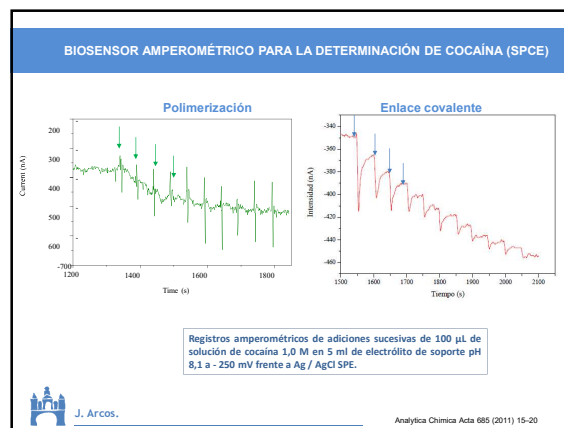
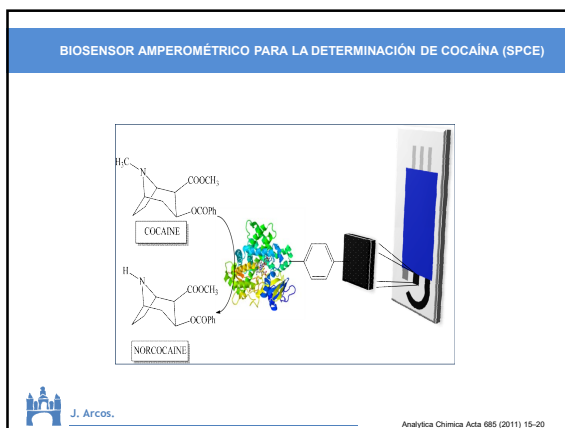
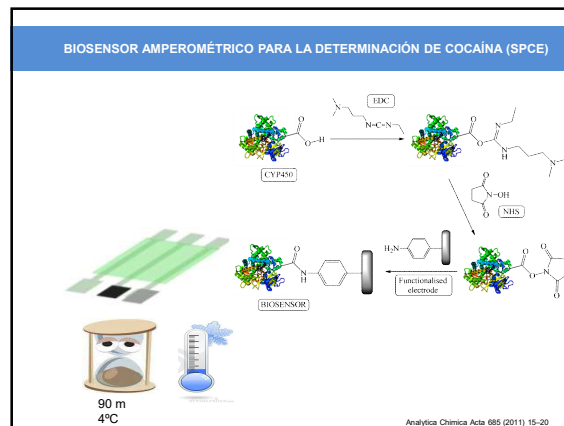
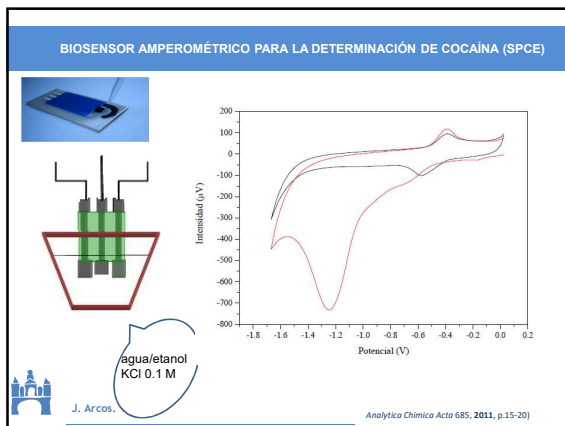
- Sensores electroquímicos.
- Biosensores electroquímicos.
- Inmunoensayos y aptasensores

J. Arcos









DETERMINACIÓN AMPEROMÉTRICA DE COCAÍNA (SPC_{CYP489 E})

Cocaine
CN1[C@H]2CC[C@@H]1[C@@H](C(=O)OC)C[C@H]2C(=O)OC

Norcocaine
CN1[C@H]2CC[C@@H]1[C@@H](C(=O)OC)C[C@H]2O

J. Arcos. Talanta 105, 2013, 131-134

DETERMINACIÓN AMPEROMÉTRICA DE COCAÍNA (SPC_{CYP489 E})

Reproducibility (5.9 %, n = 5)

Repeatability (10.5 %, n = 3)

Reference value (%)	Cocaine detected (%)	95 % confidence interval for mean (%)	Recovery (%)	RSD (%)
85.2	90.9	[84.4 ± 7.8]	111.1	
76.7	81.8		106.6	5.8
	79.7		103.9	

Detection limit : 200 μ M
 Calibration range from 0.2 to 1.2 mM

J. Arcos. Talanta 105, 2013, 131-134

DETERMINACIÓN AMPEROMÉTRICA DE CODEÍNA (SPCE)

Codeine-6-glucuronide
CN1[C@H]2CC[C@@H]1[C@@H](C(=O)OC)C[C@H]2OC(=O)C(O)CO

Codeine
CN1[C@H]2CC[C@@H]1[C@@H](C(=O)OC)C[C@H]2O

Morphine
CN1[C@H]2CC[C@@H]1[C@@H](C(=O)OC)C[C@H]2O

Norcodeine
CN1[C@H]2CC[C@@H]1[C@@H](C(=O)OC)C[C@H]2O

Norcodeine-6-glucuronide
CN1[C@H]2CC[C@@H]1[C@@H](C(=O)OC)C[C@H]2OC(=O)C(O)CO

J. Arcos.

DETERMINACIÓN AMPEROMÉTRICA DE CODEÍNA (SPCE)

Adsorption
 Enzyme molecules are physically attached to the support surface.

Cross Linking (Copolymerization)
 Enzyme molecules are cross-linked to each other and to the support.

Covalent Bonding
 Enzyme molecules are chemically bonded to the support surface.

J. Arcos.

DETERMINACIÓN AMPEROMÉTRICA DE CODEÍNA (SPCE)

0.5 μ L

SPCE

Carbon surface

4 °C.

J. Arcos.

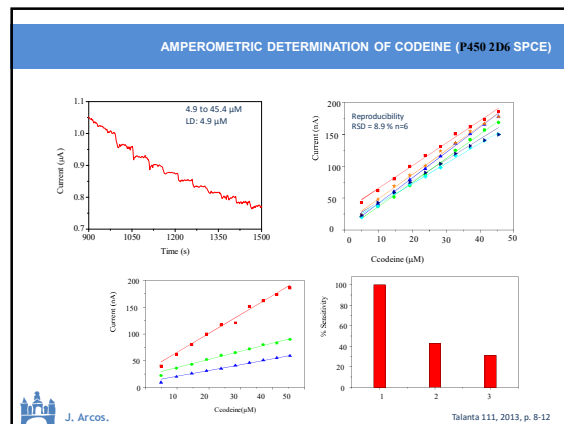
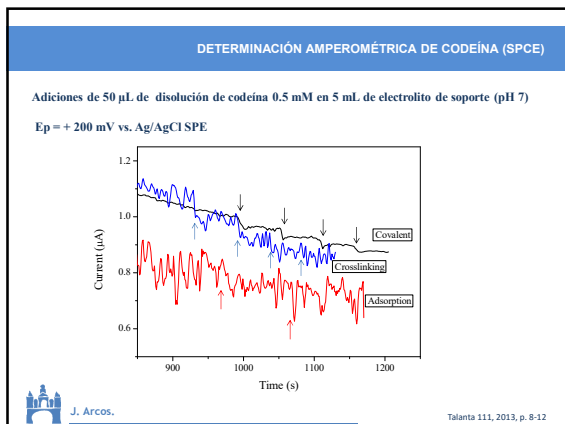
DETERMINACIÓN AMPEROMÉTRICA DE CODEÍNA (SPCE)

0.5 μ l de CYP2B6
 2 μ l de BSA (6% en PO4-3 10mM, pH=8)
 1 μ l de GA (2.5%)

Glutaraldehído

crosslink

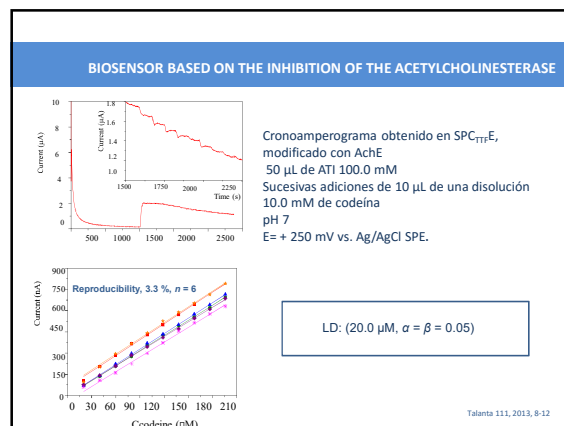
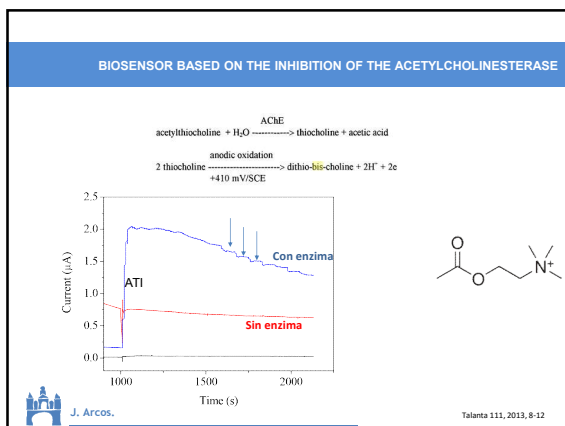
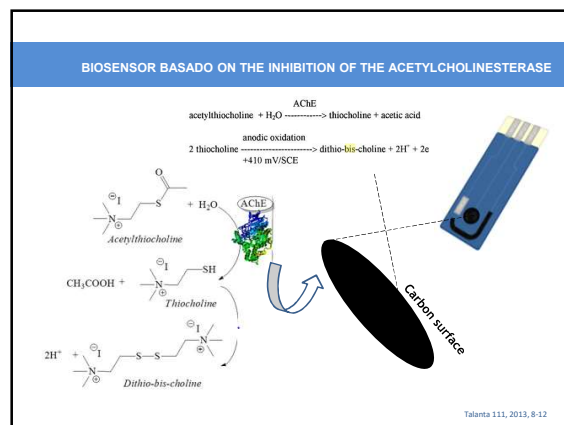
J. Arcos.

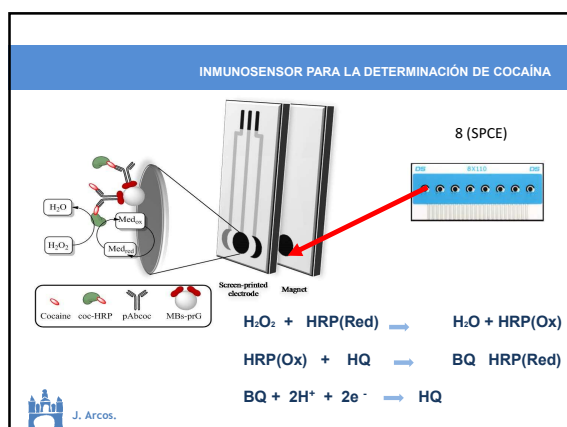
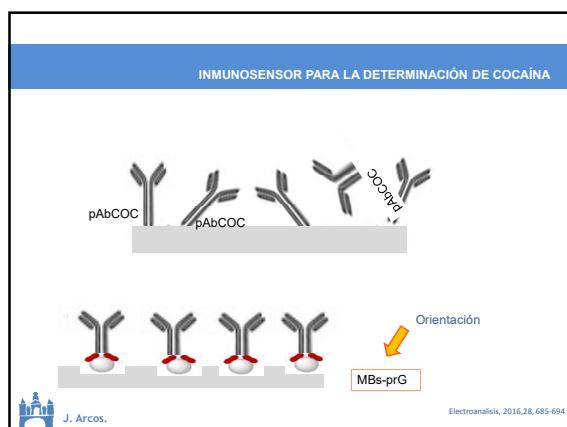
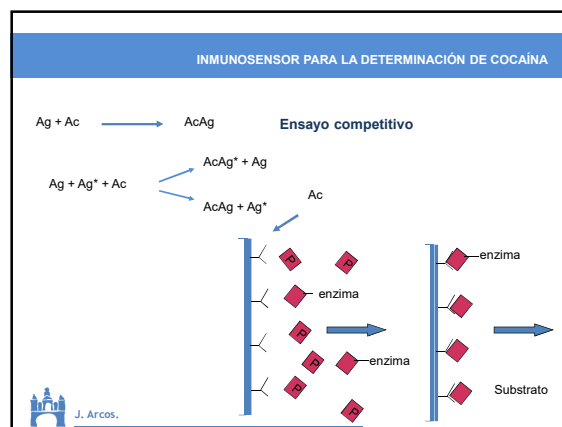
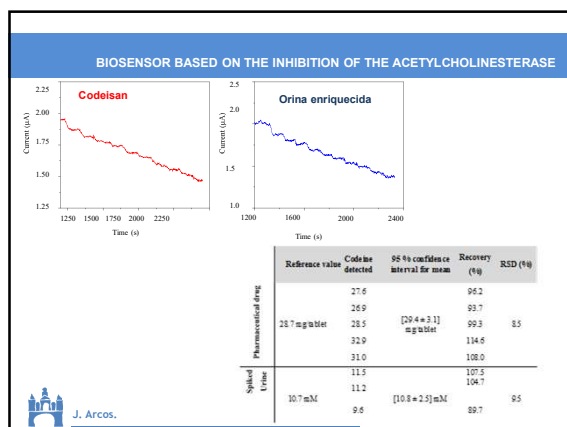


DETERMINACIÓN AMPEROMÉTRICA DE CODEÍNA (SPCE)

	Reference value	Codeine detected	95 % confidence interval for mean	Recovery (%)	RSD (%)
Pharmaceutical drug		28.6		99.7	5.4
		30.0		104.5	
	28.7 mg/tablet	32.4	[29.9 ± 2.0] mg/tablet	112.9	
		28.4		98.9	
		30.2		105.2	
Spiked Urine		10.8		108	9.6
		9.3		93	
	10.0 mM	10.6		106	
		12.2	[10.8 ± 1.3] mM	122	
		10.9		109	

J. Arcos. Talanta 111, 2013, p. 8-12





INMUNOSENSOR PARA LA DETERMINACIÓN DE COCAÍNA

	COC ng/mL	COC found, ng/mL	Recovery, %	% Error
Urine	-	0.13, 0.07	-	-
	10	11.4, 1.18	112.7	14.0
	50	58.50, 9.67	116.7 ± 1	7.0
	100	113.43, 21.68	113.3 ± 1	3.4
Saliva	-	0.21, 0.12		
	10	10.54, 1.97	103.3	5.4
	50	44.91, 8.81	89.4	10.2
	100	116.03, 19.19	115.8	16.0
Human serum	-	0.40, 0.14		
	10	9.37, 0.88	89.7	-6.3
	50	44.38, 8.74	88.0 ±	11.2
	100	111.05, 20.28	110.7	11.1

Electroanalysis, 2016,28, 685-694

