**Optimización de matrices de hidrogel para la construcción de biosensores basados en la enzima Lacasa**

Zoratti M (1), Colombo L (2), Garay F (2)

(1) INQUISUR-CONICET, Universidad Nacional del Sur, Av. Alem 1253, Bahía Blanca, Bs. As, Argentina.

(2) INFIQC-CONICET, Departamento de Físico Química, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Pabellón Argentina, Ciudad Universitaria, Córdoba, Argentina.

marianela.zoratti@uns.edu.ar; fgaray@unc.edu.ar

El proceso de inmovilización tiene un fuerte impacto en la actividad catalítica de una enzima que se desea incorporar a un biosensor, ya que las especies utilizadas no sólo pueden funcionar como una barrera que protege la enzima, sino que también pueden producir cambios conformacionales en el elemento de reconocimiento e introducir interacciones electrostáticas con los reactivos y / o productos de la reacción enzimática. Como resultado, la matriz enzimática tiene gran influencia en la respuesta del biosensor. Los hidrogeles son materiales atractivos para la inmovilización ya que constituyen estructuras adecuadas para atrapar a la enzima y para acumular suficiente cantidad de agua tal que les permita emular el ambiente acuoso. En este trabajo se discute sobre las propiedades viscoelásticas y analíticas de matrices que forman hidrogeles preparadas con diferente composición de mucina (muc), albúmina (alb), quitosano (chit) y glutaraldehído (glut) para la cuantificación de antioxidantes fenólicos en diferentes bebidas.

Las medidas de cronoamperometría se realizaron a pH 5, a temperatura ambiente y a un potencial de trabajo de -0,2 V con agitación constante. Para esto se utilizó un sistema de 3 electrodos con un alambre de platino como electrodo auxiliar y Ag/AgCl (3M KCl) como electrodo de referencia. El electrodo de trabajo consistió en un carbono vítreo sobre el que se arma una estructura en forma de sándwich, donde el hidrogel con la enzima lacasa se encuentra entre dos membranas semipermeables de policarbonato.

El sensor de lacasa mostró un desempeño altamente satisfactorio, con una respuesta lineal de corriente, respecto a agregados de catecol, desde 0,2 μM hasta más de 100 μM de catecol. Este comportamiento supera a muchos de los sensores de fenoles reportados en bibliografía. El tiempo de respuesta se alcanza luego de (160±10) s y se observa una excelente reproducibilidad, con una variación en la sensibilidad < 5% de sensor a sensor.

La actividad enzimática, y por consiguiente la respuesta del sensor, se mantuvo en un 80% de su magnitud inicial por 50 días, mientras que el tiempo de respuesta mejoró con los ciclos de deshidratación – hidratación de la matriz. El uso de membranas semipermeables y el entrecruzamiento de la enzima en una matriz proteica posibilitan la buena sensibilidad y robustez del sensor, en comparación con sistemas donde la enzima está desprotegida o en solución.

**Palabras claves:** sensor, catecol, fenoles, vino, cronoamperometría