**Biosensor amperométrico para determinación de compuestos fenólicos en infusiones**

Zoratti M (1), 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

La determinación de especies fenólicas es muy importante en alimentos, en medicina y en medio ambiente. Existen numerosos métodos analíticos para la determinación de compuestos fenólicos (como cromatografía liquida y de gases, espectrofotometría UV, electroforesis capilar) que requieren de mayor tiempo de análisis y en algunos casos, pretratamiento de las muestras, por lo que no resultan convenientes para un monitoreo *in situ*. Los electrodos enzimáticos presentan grandes ventajas para detectar especies en muestras complejas, ya que las enzimas oxidan selectivamente al analito estudiado sin requerir la purificación de la muestra. El objetivo de este trabajo es el estudio y optimización de un biosensor amperométrico tipo sándwich para cuantificar fenoles totales en matrices complejas alimentarias como infusiones (té negro, té verde y mate cocido) utilizando la enzima tirosinasa (Tir) como elemento de bioreconocimiento. Se trabajó sobre un electrodo de carbono vítreo y una matriz donde la enzima tirosinasa se incorpora a una mezcla de quitosano y mucina para luego entrecruzarlos con glutaraldehído y formar un hidrogel. El biosensor se construye en forma de sándwich, estructura en la que el hidrogel se forma sobre una membrana semipermeable de policarbonato que luego se cubre con otra de características similares. Se utiliza una celda electroquímica de 20,0 mL con un electrodo de carbono vítreo como electrodo de trabajo, un alambre de platino como electrodo auxiliar y Ag/AgCl (3M KCl) como electrodo de referencia. Se optimizó la concentración de glutaraldehído y la relación entre la cantidad de quitosano y mucina que componen la matriz, en función de la sensibilidad del sensor, su tiempo de respuesta y su rango de respuesta lineal. Las medidas cronoamperométricas se llevaron a cabo a pH 5, a temperatura ambiente y a un potencial de trabajo de -0,1 V con agitación constante. El biosensor mostró un rango de linealidad de 0,05 µM a 20 µM, un límite de detección de 0,2 µM y un tiempo de respuesta menor a 1 minuto. El tiempo de vida del biosensor fue de 10 días (15 usos), guardado en solución buffer BR 0,4M pH 5 a 4°C. Si bien la repetibilidad y la reproducibilidad del método fueron muy buenas y respectivamente de 4,3% y 9,0%, se trabajó por el método de adición de estándar para minimizar efectos de matriz. Como conclusión, el biosensor electroquímico desarrollado mostró buena estabilidad operacional, así como fácil fabricación con un gran potencial para la determinación de fenoles en muestras de infusiones.

**Palabras claves:** sensor, catecol, fenoles, tirosinasa, té, cronoamperometría.