

Biosensores electroquímicos impresos por *inkjet* a base de nanotubos de carbono y nanopartículas cargadas con enzimas

M. Mass⁽¹⁾, L. Veiga⁽¹⁾, O. Garate⁽¹⁾, G. Longinotti⁽¹⁾, Eloi Ramón⁽²⁾, G. Gabriel⁽²⁾, G. Ybarra⁽¹⁾
mmass@inti.gov.ar

⁽¹⁾Dto. Prototipado Microelectrónico y Electrónica Impresa - DT Micro y Nanotecnologías-SOAC-GODTeI – INTI

⁽²⁾ Institut de Microelectrònica de Barcelona, IMB-CNM (CSIC), Campus Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Cerdanyola del Vallès, Barcelona, España

Palabras Clave: Biosensores; Detección Electroquímica; Impresión por inyección de tinta; Nanotubos de carbono.

INTRODUCCIÓN

La electrónica impresa tiene un gran impacto en la fabricación de dispositivos electrónicos, especialmente en el campo biomédico, donde la fabricación de sensores y biosensores de un solo uso (descartables) y bajo costo ha despertado un gran interés en aplicaciones como la medicina personalizada. La impresión *inkjet* es una de las tecnologías más utilizadas para la producción de biosensores en masa de bajo costo con la reproducibilidad deseada. Sin embargo, la impresión *inkjet* de biomoléculas presenta algunos desafíos, especialmente en lo que respecta a la estabilidad molecular, ya que el *stress* mecánico o térmico que sufren las biomoléculas durante la impresión puede conducir a su desnaturalización. En este trabajo, proponemos un enfoque general para aumentar la estabilidad de biomoléculas en tintas para "*Ink Jet Printing (IJP)*" mediante la inmovilización de enzimas en nanopartículas de sílice [1].

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo fue desarrollar biosensores enzimáticos fabricados con tecnología de IJP, sobre sustratos flexibles, a partir de la formulación de una tinta a base de nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) y enzimas peroxidasa de rábano picante (HRP) inmovilizadas sobre nanopartículas de sílice (SNP) para aumentar la estabilidad de las biomoléculas.

DESARROLLO

La fabricación de los electrodos se realizó siguiendo la secuencia de pasos que muestra la Figura 1. Se comienza con la impresión del contra electrodo (CE) y el camino conductor del electrodo de trabajo (WE), con una tinta de nanopartículas de Au. Luego se fabrica el electrodo de referencia (RE) de Ag/AgCl y por último la impresión del WE con la biotinta SWCNT-SNP-HRP.

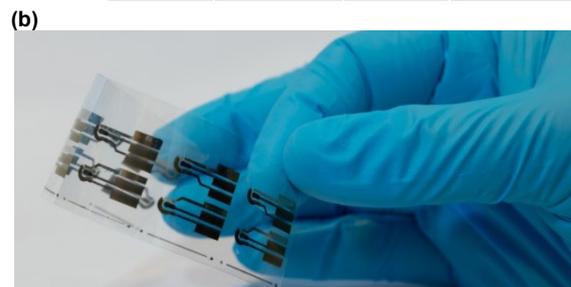
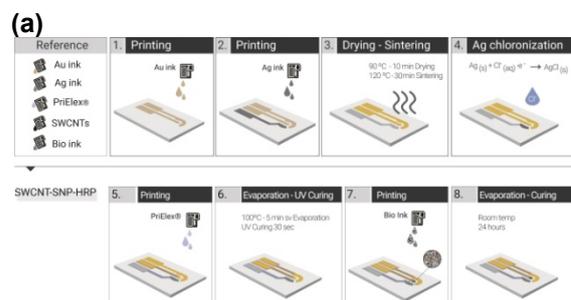


Figura 1. a) Etapas de fabricación de una celda electroquímica de tres electrodos mediante IJP: CE de Au y RE de Ag/AgCl (1-4), WE con la biotinta SWCNT-SNP-HRP (5-8). b) Fotografía de los biosensores electroquímicos impresos sobre un sustrato flexible.

RESULTADOS

La Figura 2.a muestra la imagen SEM de la superficie del electrodo impreso con la biotinta desarrollada. En ella se puede distinguir la estructura típica que forman los SWCNTs y las nanopartículas. En la Figura 2.b, se muestra la sección transversal de un electrodo impreso, donde las 2 capas de Au, resaltadas en tono naranja, presentaron un espesor de aprox. 900 nm, mientras que el espesor de la impresión de 6 capas de SWCNT-SNP-HRP, resaltadas en azul, fue de aprox. 220 nm (7,5 mg/ml de SWCNT y 1 mg/ml de SNP-HRP).

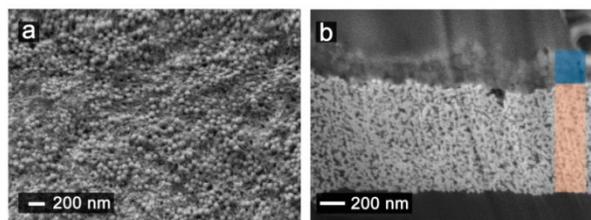


Figura 2. a) Micrografía SEM de la vista superior de un electrodo impreso con SWCNT-SNP-HRP. b) Sección transversal obtenida por FIB-SEM donde se observan las capas de oro (naranja) y de nanopartículas de sílice (azul).

Los electrodos con la biotinta se caracterizaron para la detección de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), utilizando hidroquinona como mediador redox. La reducción del peróxido de hidrógeno, catalizada por HRP, va acompañada de la oxidación de la hidroquinona, que actúa como donante de electrones. Las especies oxidadas formadas se detectan electroquímicamente cuando el potencial del electrodo se establece en un valor conveniente (Figura 3.a).

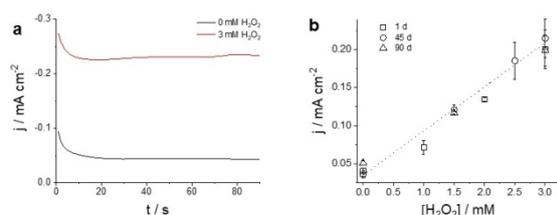


Figura 3. a) Curvas de densidad de corriente vs. tiempo antes y después del agregado de H_2O_2 hasta una concentración final de 3 mM. b) Dependencia de la densidad de corriente con la concentración de H_2O_2 para electrodos de SWCNT-SNP-HRP medidos a 1, 45 y 90 días después de haber sido fabricados.

La Figura 3.b muestra las curvas de densidad de corriente vs. concentración obtenidas para electrodos a 1, 45 y 90 días después de la impresión. La sensibilidad obtenida fue de aproximadamente $65 \mu\text{A cm}^{-2}\text{mM}^{-1}$, valor comparable a los obtenidos utilizando electrodos enzimáticos preparados por otros medios, como la oxidación con plasma de oxígeno de electrodos a base de carbono seguida de una inmovilización enzimática [2].

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los electrodos enzimáticos se imprimieron con éxito utilizando una biotinta formulada a base de SWCNT y nanopartículas de sílice con HRP inmovilizada. Dichos electrodos retuvieron la actividad catalítica durante al menos 3 meses. Hemos demostrado que las enzimas HRP inmovilizadas en nanopartículas de sílice se pueden utilizar en la formulación de tintas para

imprimir electrodos enzimáticos. La actividad catalítica permanece estable durante más tiempo, lo que permite una vida útil más larga. Los biosensores amperométricos fueron completamente impresos demostrando el gran potencial de este tipo de tecnología para el diseño, desarrollo y fabricación de biosensores desechables, gracias a su flexibilidad en el diseño, la escasa cantidad de material utilizado y la automatización del proceso de impresión multicapa. En combinación con una electrónica simple y accesible, este tipo de enfoque de fabricación digital es una opción muy atractiva para la producción en volumen de biosensores estables impresos.

AGRADECIMIENTOS

Parte de esta investigación ha sido financiada por el programa EMHE “Enhancing Mobility in Health and Environment” e i-COOP2019 financiado por la Agencia Estatal “Consejo Superior de Investigaciones Científicas” CSIC (EMHE-CSIC), referencias – MHE-200037 y COOPA20377.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Mass et al., “Fully Inkjet-Printed Biosensors Fabricated with a Highly Stable Ink Based on Carbon Nanotubes and Enzyme-Functionalized Nanoparticles”, *Nanomaterials* **2021**, 11(7), 1645.
- [2] Garate et al., “Waterborne carbon nanotube ink for the preparation of electrodes with applications in electrocatalysis and enzymatic biosensing” *Mat. Res. Bull.* **2018**, 106, 137-143.