



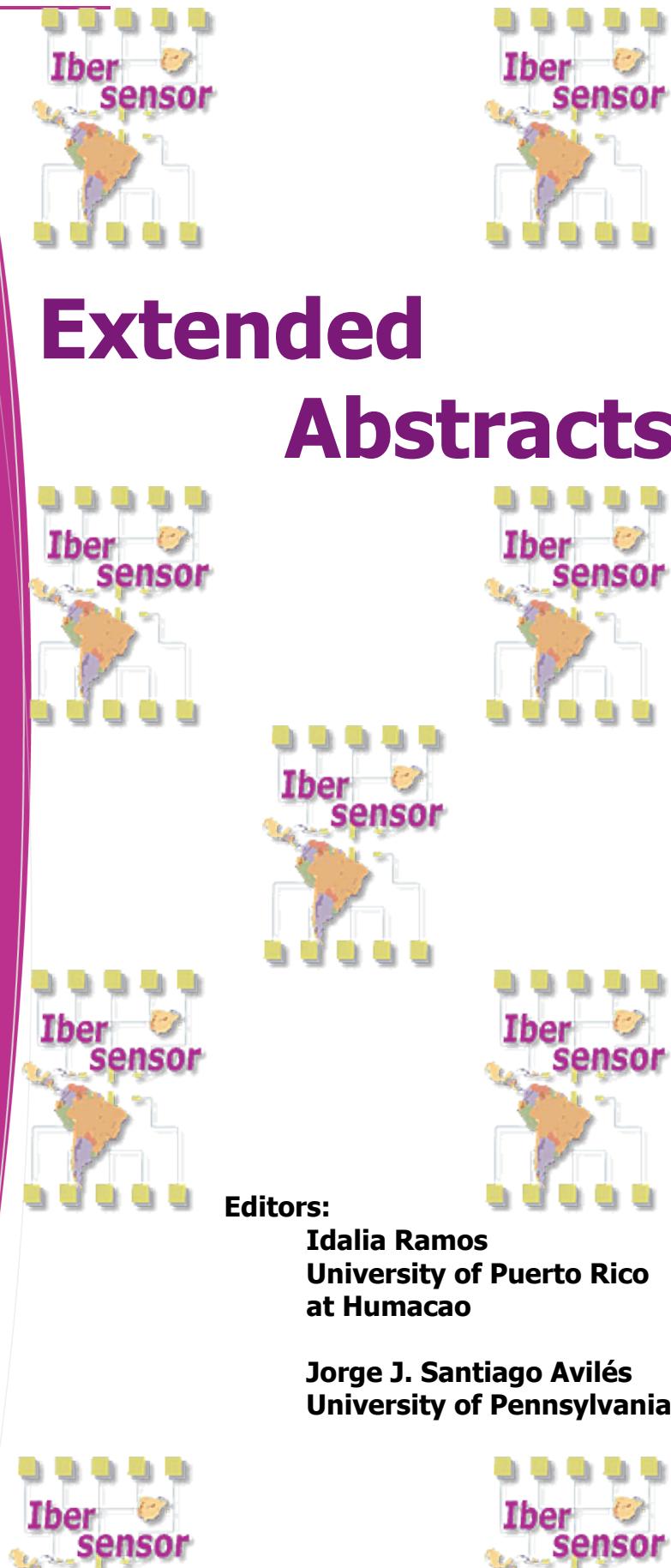
Puerto  
Rico  
2012

# Extended Abstracts

Editors:

**Idalia Ramos**  
**University of Puerto Rico**  
**at Humacao**

**Jorge J. Santiago Avilés**  
**University of Pennsylvania**



# Un nuevo concepto de Imunosensor Piezoeléctrico (QCM) para plaguicidas, basado en la detección de cambios de fase a alta frecuencia

A. Montoya<sup>1</sup> \*, J.V. García-Narbón<sup>2</sup>, A. Sánchez<sup>1</sup>, A. Arnau<sup>2</sup>, Y. Jiménez<sup>2</sup>, C. March<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Interuniversitario de Investigación en Bioingeniería y Tecnología Orientada al Ser Humano (I<sup>3</sup>BH) and <sup>2</sup>Grupo de Fenómenos Ondulatorios (GFO)  
Universitat Politècnica de València.  
46022 Valencia, España.

[amontoya@ginmuno.i3bh.es](mailto:amontoya@ginmuno.i3bh.es)

## Resumen

Para resolver las limitaciones de sensibilidad asociadas a los biosensores QCM basados en la detección de pequeños cambios de frecuencia, se propone un nuevo concepto de biosensor piezoeléctrico. El nuevo biosensor se basa en la detección de cambios de fase, trabajando a frecuencia alta y constante. Sobre esta base, se ha desarrollado un inmunosensor QCM de 50 MHz para la determinación de plaguicidas con alta sensibilidad.

**Palabras clave:** Inmunosensor piezoeléctrico. Detección de fase. Alta frecuencia. Plaguicidas.

La detección de cambios de masa muy pequeños mediante la Microbalanza de Cristal de Cuarzo (Quartz Crystal Microbalance, QCM) es una de las técnicas de transducción más ampliamente utilizadas en el diseño de sensores y biosensores para aplicaciones bioquímicas en medio líquido. Así, recientemente se ha descrito su utilización en el desarrollo de inmunosensores para la determinación de plaguicidas en frutas y productos derivados [1]. A pesar de las indudables prestaciones analíticas de los biosensores basados en QCM, existen todavía aspectos mejorables, tales como el aumento de la sensibilidad y la disminución de los límites de detección, que permitirían extender la utilización de estos inmunosensores a aplicaciones más exigentes, tales como el análisis de plaguicidas en aguas potables.

El aumento de la frecuencia de vibración fundamental del sensor piezoeléctrico se traduce en un aumento efectivo de la sensibilidad (relación frecuencia/masa), tal como predice la ecuación de Sauerbrey [2]. Sin embargo, este aumento de sensibilidad no se ha podido transferir en la misma medida a una mejora en los límites de detección. La progresiva desestabilización de la frecuencia como consecuencia del aumento del ruido de fase, particularmente en los dispositivos osciladores, parece ser la causa más probable que impide alcanzar la resolución deseada a concentraciones de analito muy bajas.

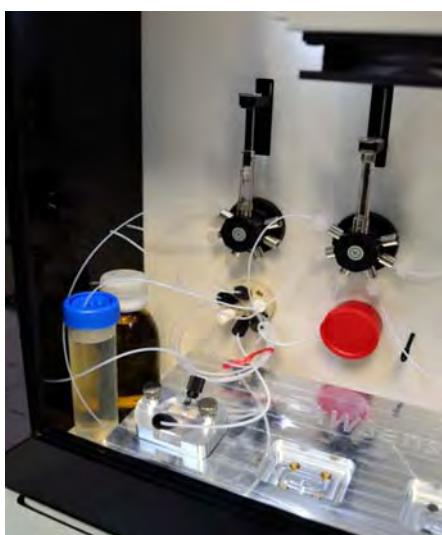
Para intentar resolver estas limitaciones, se propone un nuevo concepto de biosensor

piezoeléctrico. A diferencia del QCM clásico, en el cual de detectan cambios de frecuencia asociados a pequeños cambios de masa, el nuevo biosensor se basa en la **detección de cambios de fase, trabajando a frecuencia alta y constante**. Sobre esta base, se ha desarrollado un **inmunosensor QCM de 50 MHz para la determinación de plaguicidas**. Con el objetivo de asegurar la estabilidad mecánica, facilidad de manipulación y robustez del dispositivo, los cristales de alta frecuencia fundamental (High Fundamental Frequency, HFF) se anclaron permanentemente a un soporte de chips PEEK (Fig. 1) diseñado y construido expresamente. Se ha desarrollado también el sistema automático de inyección de flujo (Fig. 2), que consta de: la celda de flujo para el chip sensor, el circuito de flujo con bombas de jeringa y válvulas de distribución e inyección automáticas, y el sistema de caracterización electrónica, basado en la medida de fase/masa a frecuencia constante [3,4].

El plaguicida modelo escogido para el desarrollo del inmunosensor fue el insecticida carbaryl, para el cual ya se había desarrollado un biosensor QCM clásico [1]. Como molécula de biorreconocimiento se utilizaron anticuerpos monoclonales específicos de carbaryl, en un inmunoensayo competitivo en el formato de conjugado inmovilizado. El conjugado hapténico de carbaryl se unió covalentemente a la superficie de oro del electrodo del sensor, mediante monocapas autoensambladas (SAM) de ácido mercaptohexadecanoico.

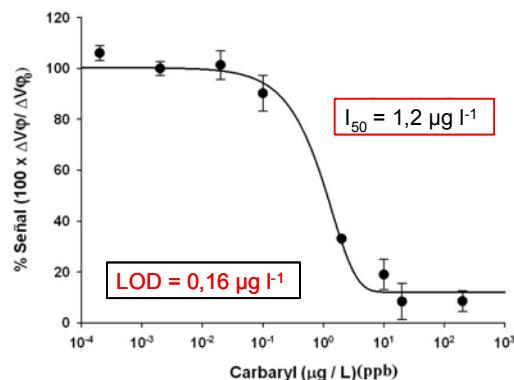


**Figura 1.** Chips y celda de flujo del sensor HFF-QCM



**Figura 2.** Sistema automatizado de medida para el inmunosensor de alta frecuencia

En la Fig. 3 se muestra la curva patrón de carbaryl obtenida con el nuevo inmunosensor. El análisis automatizado permitió alcanzar una excelente reproducibilidad. Se obtuvo una mejora de más de un orden de magnitud en la sensibilidad ( $I_{50} = 1,2 \mu\text{g l}^{-1}$ ) y de dos órdenes de magnitud en el límite de detección ( $\text{LOD} = 0,16 \mu\text{g l}^{-1}$ ), comparados con los resultados previamente obtenidos con el biosensor QCM clásico de 10 MHz [1,4]. Además, se disminuyó el consumo de inmunorreactivos entre 5 veces (anticuerpo) y 1000 veces (conjugado de ensayo).



**Figura 3.** Curva patrón de carbaryl obtenida con el inmunosensor de detección de fase a 50 MHz

La sensibilidad alcanzada por este inmunosensor permite la determinación del plaguicida a concentraciones cercanas a los límites máximos de residuos (LMR) establecidos por la regulación europea para aguas potables. Todavía pueden esperarse mayores aumentos de la sensibilidad mediante la utilización de sensores de más alta frecuencia fundamental (100-150 MHz).

## Referencias

- [1] C. March, J. J. Manclús, Y. Jiménez, A. Arnau, A. Montoya. A piezoelectric immunosensor for the determination of pesticide residues and metabolites in fruit juices. *Talanta*, 78 (3), 827-833, 2009.
- [2] G. Sauerbrey. Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung. *Zeitschrift für Physik*, 155 (2), 206-222, 1959.
- [3] A. Arnau, Y. Montagut, J. V. García, Y. Jiménez. A different point of view on the sensitivity of quartz crystal microbalance sensors. *Measurement Science and Technology*, 20 (12) 124004, 2009.
- [4] Y. Montagut, J. V. García, Y. Jiménez, C. March, A. Montoya, A. Arnau. Validation of a Phase-Mass Characterization Concept and Interface for Acoustic Biosensors. *Sensors*, 11 (5), 4702-4720, 2011.