

## BIOSENSORES ELECTROQUÍMICOS PARA LA DETERMINACIÓN INDIVIDUAL O SIMULTÁNEA DE LAS PROTEÍNAS ALERGÉNICAS DEL CACAHUETE (ARA H 1 Y ARA H 2) EN EXTRACTOS ALIMENTARIOS Y SALIVA

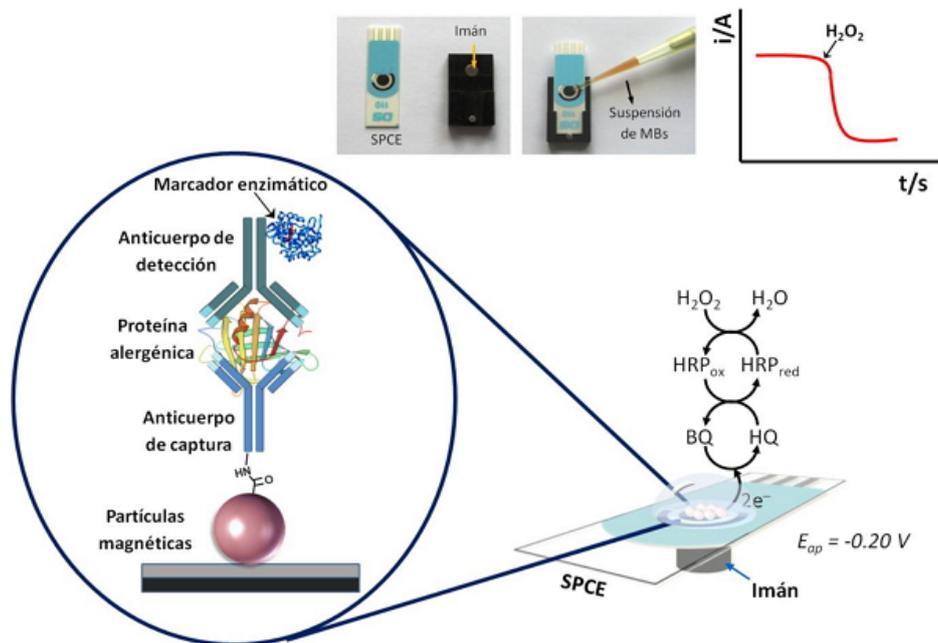
### Descripción

La tecnología propuesta consiste en el desarrollo de inmunosensores amperométricos basados en el empleo de partículas magnéticas como microsoportes sólidos para llevar a cabo las reacciones de reconocimiento acopladas a electrodos de carbono desechables para realizar la transducción amperométrica. Dichos inmunosensores permiten la determinación de las principales proteínas alergénicas del cacahuete (Ara h 1 y Ara h 2), a un nivel de concentración del orden de ng/mL y han demostrado aplicabilidad a la determinación de trazas de cacahuete (1 ppm) en extractos alimentarios y muestras de saliva humana sin diluir ni pretratar.

### Cómo funciona

Las plataformas inmunosensoras desarrolladas están basadas en formatos de ensayo tipo "sandwich" implementados sobre partículas micromagnéticas con anticuerpos selectivos (de captura y detección) y marcadores enzimáticos. Tras su modificación con los inmunocomplejos tipo sándwich marcados enzimáticamente con peroxidasa (HRP), las partículas magnéticas se capturan magnéticamente sobre la superficie de electrodos serigrafados desechables que permiten llevar a cabo una detección individual, dual o multiplexada, dependiendo de su configuración. Dichos dispositivos se emplean como transductores amperométricos para monitorizar la variación de la corriente catódica correspondiente a la reducción enzimática del  $H_2O_2$  mediada por la hidroquinona. La magnitud de la corriente catódica obtenida será proporcional a la concentración de proteína alergénica y por tanto de cacahuete en la muestra. El fundamento de los biosensores desarrollados se muestra en la figura 1.

Esta tecnología está orientada hacia el desarrollo de biosensores sensibles y selectivos para el análisis sencillo y rápido de biomarcadores de sensibilización, gracias al empleo de materiales y biomoléculas comerciales. Por sus características esta tecnología puede implementarse fácilmente en dispositivos sencillos, de bajo coste y fácilmente automatizables y miniaturizables.



Formato general de las plataformas biosensoras amperométricas desarrolladas para la determinación de proteínas alergénicas de cacahuete (Ara h 1 y Ara h 2).



## Universidad Complutense de Madrid

Vicerrectorado de Transferencia del Conocimiento y Emprendimiento

Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI)

Estos biosensores han sido aplicados al análisis, tras la extracción previa de las proteínas hidrosolubles presentes, de diversos extractos alimentarios, entre los que se encuentran: frutos secos; harinas; barras de cereales; cremas y mantequillas; frutos recubiertos con chocolate y galletas. El protocolo de pretratamiento de muestra está basado en una simple etapa de extracción de las proteínas en una disolución acuosa salina a 60 °C y el posterior aislamiento de la fase acuosa mediante centrifugación. Además, estas plataformas biosensoras han sido probadas de manera exitosa en el análisis de extractos crudos o muestras turbias, demostrando su selectividad, robustez y fiabilidad en el análisis en matrices complejas. Gracias a las características analíticas que presentan y a las aplicaciones demostradas, además de para determinar cacahuete en muestras alimentarias, estos biosensores pueden encontrar aplicabilidad en el control del potencial alergénico tras el procesado de los alimentos y en la prevención de reacciones alérgicas tras el contacto con fluidos biológicos o utensilios de cocina.

### Ventajas

Las principales ventajas de estas plataformas biosensoras son:

- Determinación **sensible, selectiva, rápida** y con **capacidad para multianálisis**.
- Instrumentación **sencilla** y de **bajo coste**, fácilmente **implementable en laboratorios no especializados**.
- Detección y cuantificación de **cacahuete** en muestras **a niveles traza**.
- **Ausencia de efecto matriz** en extractos alimentarios de distinta naturaleza.
- **Determinación directa en muestras complejas**: saliva cruda sin procesar o muestras turbias.
- **Versatilidad para la determinación de otras proteínas alergénicas de interés en alimentos**.

### ¿Dónde se ha desarrollado?

Estas plataformas biosensoras se han desarrollado en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, en el grupo de Electroanálisis y (Bio)sensores Electroquímicos liderado por el Prof. José Manuel Pingarrón. El grupo de investigación posee una amplia experiencia en el desarrollo de biosensores electroquímicos, siendo una de sus líneas de investigación el desarrollo de plataformas biosensoras electroquímicas desechables atractivas para la determinación de biomarcadores, tanto de naturaleza proteica como genética, asociados a procesos de sensibilización y fraude alimentario.

### Y además

Las metodologías implementadas permiten alcanzar límites de detección inferiores a los obtenidos empleando kits ELISAs espectrofotométricos comerciales y la detección simultánea de diferentes proteínas alergénicas (como Ara h 1 y Ara h 2) empleando una misma metodología. La sencillez y portabilidad requerida y el bajo coste y reducido tiempo de ensayo en comparación con las metodologías ELISAs individuales también son ventajas competitivas de las plataformas biosensoras electroquímicas desarrolladas.

Actualmente, uno de los focos de investigación y desarrollo principales, dentro del área clínica, está dirigido hacia el combate de este alérgeno mediante la reducción de su potencial alergénico con diversos tratamientos. Por todo ello, es de vital importancia posibilitar en dichos tratamientos la monitorización del contenido de estas proteínas directamente en el proceso de extracción, ya sea a nivel de laboratorio, llevando a cabo el control en muestras biológicas como son la saliva o los fluidos digestivos, o en biosistemas que imiten los procesos de digestión o absorción de nuestro aparato digestivo.

Así, las metodologías implementadas, gracias a la elevada selectividad y sensibilidad que presentan y a las características inherentes de la instrumentación requerida para la detección, pueden resultar potencialmente atractivas para llevar a cabo este tipo de determinaciones de forma rutinaria empleando protocolos sencillos y de bajo coste.

### Investigadores responsables

Nombre: José Manuel Pingarrón Carrazón: [pingarro@quim.ucm.es](mailto:pingarro@quim.ucm.es)

Ángel Julio Reviejo García: [reviejo@quim.ucm.es](mailto:reviejo@quim.ucm.es)

Susana Campuzano Ruiz: [susanacr@quim.ucm.es](mailto:susanacr@quim.ucm.es)

Departamento: Química Analítica

Facultad: CC. Químicas

