



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Farmacia - Programa de Ciencias Farmacéuticas

**DESARROLLO DE SUPERFICIES ELECTRÓDICAS DE ÚLTIMA
GENERACIÓN PARA EL DISEÑO DE BIOSENSORES
ELECTROQUÍMICOS NANOESTRUCTURADOS PARA LA
DETERMINACIÓN DE MOLÉCULAS BIOACTIVAS DE
RELEVANCIA ACTUAL EN EL ÁREA FARMACÉUTICA Y CLÍNICA**

RODOLFO ANDRÉS MUNDACA URIBE

CONCEPCIÓN-CHILE

2012

Profesor Guía: Dr. Carlos Peña Farfal

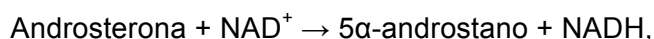
Dpto. de Análisis Instrumental, Facultad de Farmacia

Universidad de Concepción

RESUMEN

Androsterona es un esteroide anabólico androgénico, y es considerado una sustancia de dopaje por el Comité Olímpico Internacional (COI). Por esta razón la detección de andrógenos y esteroides anabólicos se ha convertido en el mayor objetivo del análisis en dopaje, desarrollándose distintas metodologías para la determinación de sustancias dopantes en muestras biológicas, siendo éste el principal objetivo del trabajo. En este trabajo se ha desarrollado un biosensor enzimático basado en la enzima 3 α -hidroxiesteroide deshidrogenasa de *Pseudomona testosteroni* H1506 (Sigma), con una matriz compósita compuesta por líquido iónico n-octilpiridinio hexafluorofosfato (Io-Li-Tec), NAD⁺ (Gerbu) y Nanotubos de carbono de multipared (Nanolab). Las determinaciones se han realizado por medio de amperometría usando un detector amperométrico InBea Biosensores SL.

Para el desarrollo del biosensor se llevó a cabo la inmovilización de la enzima 3 α -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 α -HSD) en una superficie electródica compósita, constituida por una mezcla de nanotubos de carbono de multipared (MWCNTs), líquido iónico octilpiridinio hexafluorofosfato (OPPF₆) y NAD⁺ como cofactor enzimático. Esta configuración permitió la determinación electroquímica rápida, sensible y estable del NADH generado en la siguiente reacción enzimática:



catalizada por la enzima mencionada. Todas las variables involucradas en el desarrollo de la metodología fueron optimizadas. Se realizó amperometría a E = 0,4 V en agitación y se obtuvieron curvas de calibrado lineales para androsterona, en el rango de concentración de 0,5 a 10 μM , con un valor de pendiente doscientas veces mayor que otros métodos previamente reportados (2, 3). El límite de detección obtenido fue de 0,15 μM .

El biosensor desarrollado puede ser aplicado en la determinación de androsterona en suero humano, obteniéndose resultados adecuados, concluyendo que es un método válido para la determinación de androsterona en el control anti dopaje.