

“MICROMOTORES CATALÍTICOS: UNA APROXIMACIÓN VANGUARDISTA
PARA APLICACIONES ANALÍTICAS DE (BIO)SENSADO”

Alberto Escarpa

Departamento de Química Analítica, Química Física e Ingeniería Química.

Facultad de Ciencias. Universidad de Alcalá.

Ctra. Madrid-Barcelona km 33,600

28802 Alcalá de Henares. Madrid.

Los micromotores sintéticos (MM) son partículas de tamaño micrométrico con capacidad de movimiento autónomo tras aplicarles un estímulo fisicoquímico. Por una parte, los MM atendiendo a su morfología se pueden clasificar en dos tipos principales: tubulares y Janus. Por otra parte, los MM se pueden clasificar también en dos grandes grupos acorde a su modo de propulsión: aquellos cuyo movimiento se basa en la formación de un gas que se desprende de su interior como producto de una reacción catalítica (MM catalíticos propulsados por reacción química) y aquellos cuyo movimiento es debido a un estímulo llevado a cabo mediante la aplicación de una energía externa (ultrasonidos, magnética o fototérmica, entre otras) [1].

Dentro de ellos, los MM catalíticos, tanto tubulares como Janus autopropulsados por reacción química, son la clase de MM más utilizada con fines analíticos. Asimismo, el control preciso de estos MM puede llevarse a cabo mediante la incorporación de elementos magnéticos (Ni, Fe) pudiendo así ser guiados mediante la aplicación de campos magnéticos externos. La **Figura 1** muestra un esquema de la estructura de las capas de un micromotor tubular catalítico y magnético: capa externa de (bio)sensado, capa intermedia magnética para su guiado y capa interna catalítica para su propulsión, generalmente empleando la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno sobre Pt en oxígeno gaseoso el cual permite la propulsión del MM mediante su liberación por eyección.

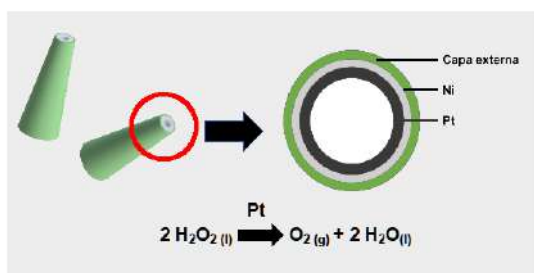


Figura 1. Esquema de un micromotor tubular catalítico y magnético y reacción de propulsión

Las capacidades de propulsión y de funcionalización de su capa externa, han abierto nuevas oportunidades para el (bio)sensado basadas en el movimiento de estos MM, lo que ha venido a denominarse (bio)sensado *on the move*.

En esta conferencia plenaria se muestran los aspectos más relevantes de la tecnología de los MM catalíticos y magnéticos para aplicaciones analíticas de (bio)sensado.

Se parte de la base conceptual de dicha aproximación como nueva herramienta de biosensado y su dimensión vanguardista, la cual se basa en el potencial analítico de actuación que los MM presentan en microvolúmenes de muestra, debido al fenómeno colectivo y convectivo que su movimiento genera. Seguidamente se aborda su síntesis y caracterización, así como sus prestaciones analíticas y, principalmente, se ilustran aplicaciones de interés, en los ámbitos del diagnóstico clínico y la seguridad alimentaria. Finalmente, se dibuja una perspectiva del impacto de estas microtecnologías en un horizonte razonable a medio plazo.

De especial interés son los MM que incorporan nanomateriales de carbono en su capa externa. En efecto, estos MM permiten explorar sinérgicamente su movimiento inherente colectivo y autónomo junto con las propiedades superficiales y eléctricas, así como la capacidad de (bio)-funcionalización que presentan los nanomateriales de carbono. Nuestro grupo de investigación ha realizado estudios pioneros sintetizando MM tubulares catalíticos basados en nanomateriales de carbono (grafeno y nanotubos de carbono, principalmente). En estos trabajos, se ha encontrado que los MM ofrecen una elevada velocidad con capacidad para autopropulsarse en medios y matrices complejas (plasma, orina) debido al Pt nanoparticulado de la capa catalítica y que dichos MM presentan diferentes perfiles de rugosidad que gobiernan su velocidad, identificándose MM rápidos con baja rugosidad y lentos con elevada rugosidad, en función del nanomaterial de carbono empleado [2].

Estos MM con capa externa constituida por un nanomaterial de carbono (o funcionalizada con elementos biológicos de reconocimiento molecular) se han empleado en un elenco de aplicaciones analíticas de elevado interés.

En efecto, se han diseñado MM de grafeno catalíticos y magnéticos con nanopartículas de Pt como capa catalítica para la determinación simultánea de micotoxinas (fumonisinas y ocratoxina A) en muestras de alimentos (ver **Figura 2**) [3]. En estas aproximaciones, el grafeno de la capa externa de los MM amortigua la fluorescencia del aptámero libre remanente tras su interacción específica con la micotoxina diana, midiéndose la fluorescencia del complejo formado aptámero-micotoxina.

Una de las aplicaciones de mayor relevancia en el campo de la salud es el diagnóstico de la sepsis (neonatal). En

este ámbito se necesitan métodos rápidos y fiables, que precisen de volúmenes de muestra muy pequeños, especialmente en el caso de los neonatos. En este sentido, se han explorado las posibilidades analíticas de los MM funcionalizados con anticuerpos en su capa externa constituida por nanomateriales de carbono o polímeros de elevado grado de carboxilación para llevar a cabo la detección de biomarcadores sugerentes de sepsis (proteína C-reactiva [4] y procalcitonina [5]) tanto en formato de sensado en gota como a través de su integración en un dispositivo microfluídico [6], empleando microscopia de fluorescencia y aproximaciones electroquímicas de detección, tal y como se ilustra en la **Figura 3**

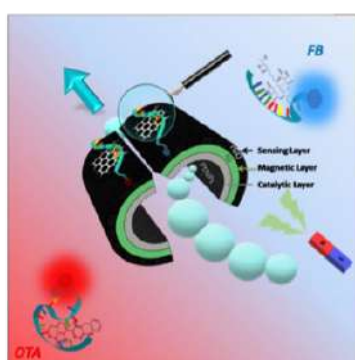


Figura 2. Micromotores tubulares catalíticos y magnéticos para la determinación simultánea de micotoxinas

La validación analítica de estas aproximaciones ha sido posible mediante el análisis de muestras clínicas donadas y previamente diagnosticadas por el Hospital Clínico San Carlos de Madrid.

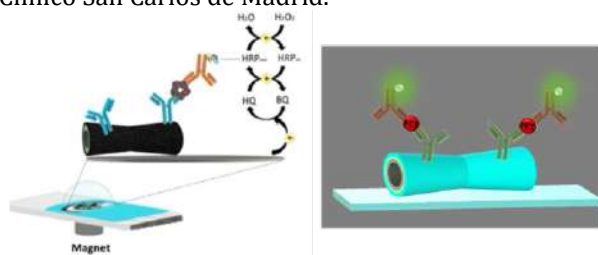


Figura 3. Inmunoensayos basados en micromotores tubulares catalíticos y magnéticos para la determinación electroquímica de proteína C reactiva y de procalcitonina por fluorescencia.

Por otra parte, nuestro grupo de investigación ha desarrollado diferentes MM tipo Janus para la determinación de endotoxinas bacterianas de elevado interés en los ámbitos del diagnóstico clínico y de la seguridad alimentaria. Los MM Janus son esferas micrométricas que presentan una asimetría que se aprovecha para llevar a cabo al menos dos funcionalidades: la propulsiva y la de (bio)sensado. En este sentido, hemos desarrollado MM Janus integrando puntos cuánticos de grafeno (funcionalizados con el ácido p-aminofenil borónico) como elemento sensor empleando también aproximaciones de amortiguación

de la fluorescencia y nano partículas de Pt y de Fe para dotarles de asimetría y con capacidad propulsiva y magnética, respectivamente. La **Figura 4** ilustra y recoge todos estos elementos. Estos micromotores se han aplicado a la detección de endotoxinas de *Escherichia Coli* [7] y de *Salmonella entérica* [8]. Más recientemente, se han diseñado MM tipo Janus con capacidad de movimiento en medios biológicos empleando mecanismos de propulsión híbridos catalíticos e inducidos por radiación electromagnética con potencial analítico [9].

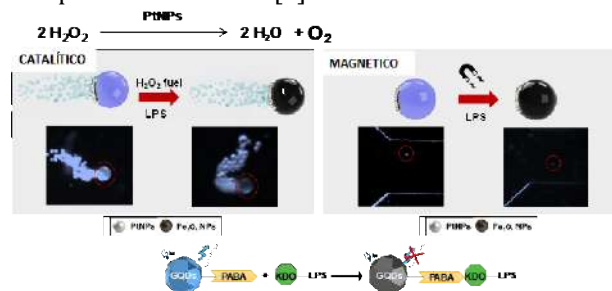


Figura 4. Micromotores Janus catalíticos y magnéticos basados en puntos cuánticos de grafeno para la determinación de endotoxinas bacterianas.

Además del empleo de nanomateriales de carbono, nuestro grupo de investigación ha explorado las prestaciones analíticas de otros nanomateriales de baja dimensionalidad tipo 2D tales como WS₂ y MoS₂. Se han diseñado y desarrollado MM catalíticos tanto tubulares [10] como Janus [11] integrando estos nanomateriales como elemento sensor y nanopartículas de Pt y de Fe para su propulsión catalítica y guiado magnético respectivamente. En estos trabajos los MM se funcionalizaron mediante una química adsortiva no covalente con péptidos de afinidad para la determinación selectiva de endotoxinas bacterianas. Mediante aproximaciones de amortiguación de la fluorescencia (OFF) y restauración de esta (ON) una vez que se produce la reacción de afinidad se ha podido determinar endotoxinas bacterianas de *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* y toxina de Cólera B con selectividad y sensibilidad en muestras complejas. En la **Figura 5** se esquematiza esta aproximación empleando MM tipo Janus.

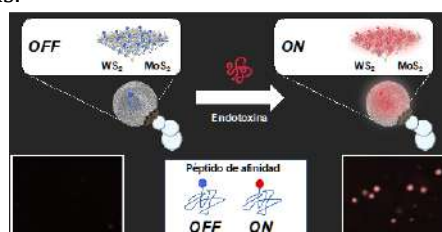


Figura 5. Micromotores Janus catalíticos de WS₂ y MoS₂ para la determinación de endotoxinas bacterianas.

La versatilidad de estas microtecnologías nos ha permitido también desarrollar recientemente MM basados en Azul de Prusia como elemento sensor, catalítico y magnético simultáneamente [12]. Los MM se

sintetizan por la técnica de electrodeposición en membrana empleando un hidrogel como elemento constructivo el cual permite la incorporación del Azul de Prusia, así como la funcionalización con la enzima acetil colinesterasa. Estos MM se han utilizado para la determinación de neostigmina, un veneno habitual, mediante un proceso de inhibición enzimática por parte del analito. Con este desarrollo, se ha explorado también el potencial analítico de los MM en el ámbito forense, sobre todo con el objetivo de desarrollar *tests* presuntivos para su aplicación en la escena del crimen.

Finalmente, en esta conferencia se recoge una aproximación de sensado que integra a los MM en terminales portátiles tipo *Smartphone* en aras de explorar su potencial en el futuro desarrollo de dispositivos para el punto de atención. En este trabajo, se proponen MM catalíticos Janus constituidos por grafeno y nanopartículas de Pt para la determinación de glutatión [13]. El principio de detección (visual) se basa en la disminución de la velocidad de los MM debido al envenenamiento que induce el glutatión sobre el Pt en el área catalítica, la cual es proporcional a su concentración. La **Figura 6** muestra este principio de detección junto a un esquema que permite la visualización de los MM Janus en la pantalla del *Smartphone*.

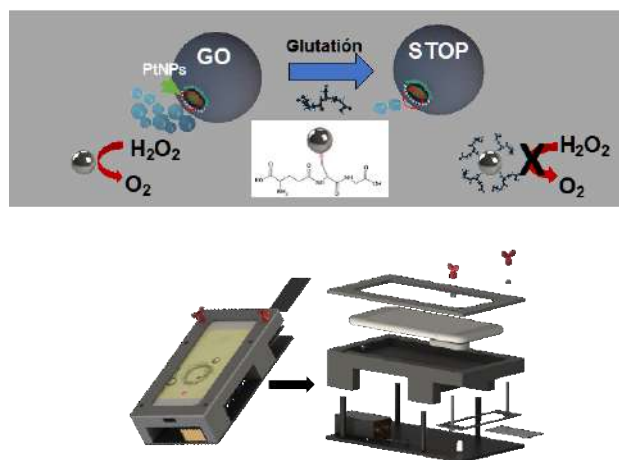


Figura 6. Detección de glutatión basada en la disminución de la velocidad de micromotores Janus catalíticos integrados en un *Smartphone*.

De todo ello, puede inferirse, que los hallazgos encontrados en el diseño, desarrollo y aplicación de estas micro y nanotecnologías analíticas de vanguardia basadas en MM podrían favorecer un avance conceptual importante en el diagnóstico clínico *in vitro* y en la seguridad alimentaria permitiendo actuaciones más rápidas, menos invasivas y más eficientes al servicio de la salud y del bienestar de nuestra sociedad. Sin duda alguna, se está evolucionando hacia un cambio paradigmático en el diagnóstico, y en esta transición la Química (Bio) Analítica tiene un papel relevante y primordial.

Referencias

- [1] M. Pacheco, M.A. López, B. Jurado, A. Escarpa. Self-propelled micromachines for analytical sensing: a critical review. *Anal. Bioanal. Chem.* 411 (2019) 6561.
- [2] R. María-Hormigos, B. Jurado-Sánchez, L. Vázquez, A. Escarpa. Carbon allotrope nanomaterials based catalytic micromotors. *Chem. Mat.* 28 (2016) 8962.
- [3] Á. Molinero, M. Moreno, M.A. López, A. Escarpa. Biosensing strategy for simultaneous and accurate quantitative analysis of mycotoxins in food samples using unmodi-fied graphene micromotors *Anal. Chem.* 89 (2017) 10850.
- [4] A. Molinero-Fernandez, L. Arruza, M. A. Lopez, A. Escarpa. *On-the-fly* rapid immunoassay for neonatal sepsis diagnosis: C-reactive protein accurate determination using magnetic graphene-based micromotors. *Biosens. Bioelectron.* 158 (2020) 112156.
- [5] Á. Molinero-Fernández, M. Moreno-Guzmán, L. Arruza, M. Á. López, A. Escarpa. Polymer-based micromotors fluorescence immunoassay for on the move sensitive prolactin determination in very low birth weight infants' plasma. *ACS Sensors* 5 (2020) 1336.
- [6] A. Molinero-Fernandez, M. A. Lopez, A. Escarpa. Electrochemical Microfluidic Micromotors-Based Immunoassay for C-Reactive Protein Determination in Preterm Neonatal Samples with Sepsis Suspicion. *Anal. Chem* 92 (2020) 5048.
- [7] B. Jurado-Sánchez, M. Pacheco, J. Rojo, A. Escarpa. Magnetocatalytic graphene quantum dots Janus micromotors for bacterial endotoxin detection. *Angew. Chem. Int. Ed.* 56 (2017) 6957.
- [8] M. Pacheco, B. Jurado Sánchez, A. Escarpa. Sensitive monitoring of enterobacterial contamination of food using self-propelled Janus microsensors. *Anal. Chem* 90 (2018) 2912.
- [9] M. Pacheco, B. Jurado-Sánchez, A. Escarpa. Visible light driven Janus microvehicles in biological media. *Angew. Chem. Int. Ed.* 58 (2019) 18017.
- [10] V. de la Asunción-Nadal, M. Pacheco, B. Jurado-Sánchez, A. Escarpa. Chalcogenides-based tubular micromotors in fluorescent assays. *Anal. Chem.* 92 (2020) 9188.
- [11] M. Pacheco, V. de la Asunción-Nadal, B. Jurado-Sánchez, A. Escarpa. Engineering Janus micromotors with WS₂ and affinity peptides for turn-on fluorescent sensing of bacterial lipopolysaccharides. *Biosens. Bioelectron.* 165 (2020) 112286.
- [12] R. María-Hormigos, A. Molinero-Fernández, M. A. López, B. Jurado-Sánchez, A. Escarpa. Prussian Blue/Chitosan Micromotors with Intrinsic Enzyme-like Activity for (bio)-Sensing Assays. *Anal. Chem.* 94 (2022) 5575.
- [13] K. Yuan, C. Cuntín-Abal, B. Jurado-Sánchez, A. Escarpa. Smartphone-based Janus micromotors strategy for motion-based detection of glutathione. *Anal. Chem.* 93 (2021) 1638