



Encuentro  
de JÓVENES  
INVESTIGADORES

## ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE FILMS NANOESTRUCTURADOS PARA EL RECONOCIMIENTO SELECTIVO DE HORMONAS TIROIDES

**Chiarvetti, Julieta**

*Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química*

Director: Casis, Natalia

Co-Director: Fookes, Federico A.

Área: Ingeniería

Palabras claves: biosensores, levotiroxina, polímeros molecularmente impresos.

### INTRODUCCIÓN

La medición de la hormona levotiroxina (T4) es importante para dar una explicación a síndromes y síntomas, los cuales pueden presentarse por el mal funcionamiento de la glándula tiroides. En un adulto sano se encuentra en concentraciones entre 100 y 200 ng/dL, y estas bajas concentraciones limitan la elección de los métodos de medición (Andersen y col., 2002). Los polímeros por impresión molecular (MIPs) reproducen el mecanismo de reconocimiento de los sistemas biológicos (anticuerpo-antígeno) ya que poseen sitios altamente específicos formados durante su síntesis, además, han mostrado tener numerosas ventajas sobre sus contrapartes biológicas, incluyendo mejoras en cuanto a su estabilidad, simple preparación, excelente capacidad para capturar moléculas pequeñas, reutilización, y tiempo de vida útil más prolongado, entre otras. Estos materiales se han empleado en numerosas aplicaciones que incluyen la liberación de fármacos, la separación cromatográfica de moléculas, la purificación de reactivos biológicos y químicos y el desarrollo de sensores (Chiappini y col., 2020). En este trabajo se estudia la combinación de la tecnología de impresión molecular en películas nanoestructuradas, para la detección selectiva de la hormona T4 a bajas concentraciones.

### OBJETIVOS

- Investigar la combinación de la tecnología de impresión molecular en películas nanoestructuradas para la detección de la hormona T4.
- Estudiar los parámetros morfológicos de los materiales desarrollados y su capacidad de adsorción de T4.
- Analizar la estabilidad de la levotiroxina.

Título del Proyecto: Monómeros y Polímeros Biobasados para Aplicaciones en Materiales, Energía y Agroquímicos  
Instrumento: PIP 11220200100947CO  
Año convocatoria: 2021  
Organismo financiador: CONICET  
Directora: Natalia Casis



## METODOLOGÍA

El procedimiento consta, en primer lugar, de la preparación de la solución de polimerización, en la cual se incluye una determinada concentración de T4, un monómero funcional (ác. acrílico, AA ó ác. metacrílico, MAA), un agente entrecruzante (dimetacrilato de etilen glicol, EGDMA), una mezcla de solventes y AIBN como iniciador. A continuación, para la síntesis de las películas nanoestructuradas se añaden gotas de la solución a depósitos coloidales de partículas de SiO<sub>2</sub>. Luego de llevarse a cabo la reacción de polimerización pasa a las etapas de lavado, con el objetivo de disolver las nanopartículas y posteriormente remover la T4. Además, fueron sintetizados films sin la incorporación de la hormona a la solución de polimerización, denominados polímeros no impresos (NIP).

Se caracterizaron los materiales por microscopía electrónica de barrido, obteniéndose el diámetro de las partículas y la morfología de los materiales sintetizados. Se determinó, además, la relación de hinchamiento de las películas por gravimetría, sumergiendo los materiales obtenidos en tampones de fosfato de diferentes pH durante 24 hs y en distintas concentraciones de T4. Se estudio de la estabilidad de soluciones T4, utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo Lambda 25. Se midió la concentración de la hormona para el día cero, la cual se toma como referencia. Luego se realizó la medición para el día 2, 8 y 16. Para el análisis de adsorción se incubó el MIP y el NIP en una solución con la hormona por 24 horas. Se estudió la selectividad del sensor a través del análisis de adsorción con una solución de T3 y T4. Por último, se analizó la respuesta óptica de los MIPs nanoestructurados luego de ser expuestos al analito.

## RESULTADOS

Con la microscopía electrónica de barrido, se obtuvo la distribución de tamaño de las nanopartículas ( $266 \pm 14$  nm). Así mismo, se puede observar que su disposición espacial consiste en la formación de depósitos coloidales de varias capas. Los materiales obtenidos mostraron una estructura altamente interconectada con poros de aproximadamente 270 nm (Fig. 1).

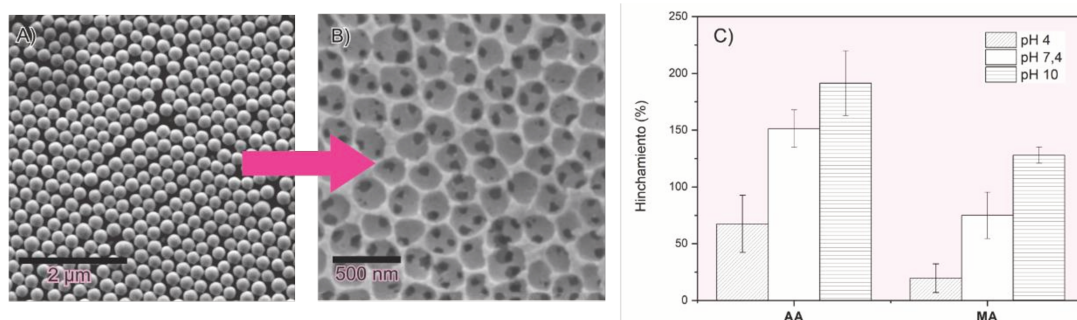


Figura 1: (A) Micrografía SEM de depósitos coloidales de las nanopartículas (B) y de la película nanoestructurada obtenida. (C) Hinchamiento en función al pH.

El porcentaje de hinchamiento aumenta al aumentar el pH, lo cual puede observarse en la Figura 1c. Además, este parámetro varía según el monómero empleado obteniéndose una mayor respuesta para el ácido acrílico, es por esto que se emplea este material para la formulación de los MIPs. El ensayo de estabilidad de la T4, mostró que la hormona es estable en una solución acuosa por al menos 16 días.

En los ensayos de adsorción se observa que los MIPs tienen una capacidad de reconocimiento 3,4 veces mayor a los NIPs. En cuanto a la selectividad, la capacidad de

adsorción de los polímeros impresos fue 2,74 veces mayor frente a la T4 que a la T3. Por otro lado, los MIPs mostraron un grado de hinchamiento mayor que los NIPs luego de ser incubados en un medio con presencia de la hormona objetivo (224 vs. 138 %, respectivamente).

El estudio de la respuesta óptica de los materiales elaborados mostró que los depósitos coloidales presentaban un pico de reflectancia angosto centrado en 533 nm, mientras que los films obtenidos presentaban este pico a 408 nm. Por otro lado, se observó que el pico de reflectancia sufrió un corrimiento de aproximadamente 20 nm luego de ser expuestos a una solución de 20 ppb de la hormona.

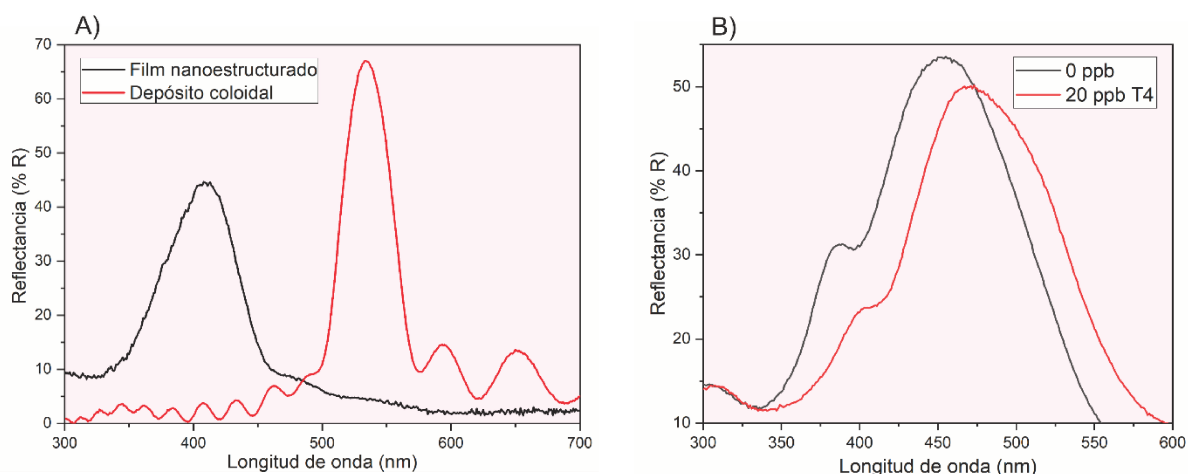


Figura 2: (A) Reflectancia del film nanoestructurado y del depósito coloidal (B) Reflectancia para concentraciones de la hormona de 0 ppm y 20 ppm.

## CONCLUSIONES

Los resultados evidencian un proceso de impresión molecular eficiente, similares a los reportados en bibliografía para otras hormonas (Casis y col., 2015). Los films obtenidos mostraron tener una respuesta óptica (corrimiento del pico de reflectancia) luego de ser expuestos a una solución de T4. Por lo tanto, estos materiales se muestran como excelentes candidatos para la elaboración de sensores para la determinación de hormonas tiroideas.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

**Andersen, S; Pedersen, K.M; Bruun, N.H y Laurberg, P.** 2002. Narrow individual variations in serum T4 and T3 in normal subjects: A clue to the understanding of subclinical thyroid disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(3), 1068-1072.

**Casis, N; Busatto, C; Fidalgo, M.M; Ravaine, S y Estenez, D.A.** 2015. Molecularly imprinted hydrogels from colloidal crystals for the detection of progesterone. *Polymer International*, 64(6), 773-779.

**Chiappini, A; Pasquardini, L y Bossi A.M.** 2020. Molecular Imprinted Polymers Coupled to Photonic Structures in Biosensors: The State of Art. *Sensors*, 20(18), 5069.