

## Efecto de las nanopartículas de ZnO en la sensibilidad de detección de colesterol mediante voltamperometría cíclica

Effect of ZnO nanoparticles on the sensitivity of cholesterol detection by cyclic voltammetry

Lisnaida del Rosario Rojas Barreto<sup>1\*</sup> ; Luis Manuel Angelats Silva<sup>2,3</sup> 

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antenor Orrego, Av. América Sur 3145, Trujillo, Perú.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Físicas, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú. [langelats@unitru.edu.pe](mailto:langelats@unitru.edu.pe)

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antenor Orrego, Av. América Sur 3145, Trujillo, Perú.

\* Autor correspondiente: [lisrojasbarreto@gmail.com](mailto:lisrojasbarreto@gmail.com) (L. Rojas)

DOI: [10.17268/rev.cyt.2025.01.09](https://doi.org/10.17268/rev.cyt.2025.01.09)

### RESUMEN

En el presente trabajo se reporta la respuesta voltamperométrica cíclica del biosensor enzimático de carbono con nanopartículas de ZnO (NPs ZnO) sintetizadas por la ruta sol-gel, para determinar la sensibilidad de detección de colesterol. Se obtuvieron Nps ZnO de estructura hexagonal tipo wurtzita con diámetro hidrodinámico de 11.5 nm, presentando absorbancia en la región UV a 347 nm debido a la formación del excitón y con una banda prohibida de 3.57 eV. El biosensor enzimático de carbono con NPs ZnO: COX/NPs ZnO/C, detectó un aumento de corriente respuesta pico con el incremento de concentración de colesterol así mismo un incremento en la corriente pico Faradaica al aumentar la concentración de colesterol debido a la transferencia electrónica en la reacción redox que se da en la interfaz biosensor-solución hacia el electrodo mediante su mediador, mostrando linealidad directa entre ambas variables desde 25 mg/dL a 180 mg/dL, lo cual no fue detectado sin nanopartículas de ZnO. Se determinó la sensibilidad del biosensor, obteniéndose un valor alto de  $30.8 \mu\text{AmM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ . Las nanopartículas de ZnO mejora la sensibilidad de detección de colesterol del biosensor de carbono ya que inmoviliza a las enzimas por adsorción física para una mejor interacción con el colesterol mejorando la transferencia electrónica con el potencial aplicado.

**Palabras clave:** Biosensor enzimático de carbono; nanopartículas de ZnO; colesterol; voltamperometría cíclica; sensibilidad.

### ABSTRACT

In this work, the cyclic voltammetric response of the enzymatic carbon biosensor with ZnO nanoparticles (ZnO NPs) synthesized by the sol-gel route is reported, to determine the sensitivity of cholesterol detection. ZnO NPs with a wurtzite-type hexagonal structure with a hydrodynamic diameter of 11.5 nm were obtained, presenting absorbance in the UV region at 347 nm due to the formation of the exciton and with a band gap of 3.57 eV. The enzymatic carbon biosensor with ZnO NPs: COX / ZnO NPs / C, detected an increase in peak response current with increasing cholesterol concentration as well as an increase in Faradaic peak current with increasing cholesterol concentration due to the electronic transfer in the redox reaction that occurs at the biosensor-solution interface towards the electrode through its mediator, showing direct linearity between both variables from 25 mg/dL to 180 mg/dL, which was not detected without ZnO nanoparticles. The sensitivity of the biosensor was determined, obtaining a high value of  $30.8 \mu\text{AmM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ . ZnO nanoparticles improve the cholesterol detection sensitivity of the carbon biosensor since it immobilizes the enzymes by physical adsorption for a better interaction with cholesterol, improving the electronic transfer with the applied potential.

**Keywords:** Enzymatic carbon biosensor; ZnO nanoparticles; cholesterol; cyclic voltammetry; sensitivity.

### 1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de los biosensores dentro de la industria biomédica ha permitido detectar procesos biológicos, químicos o físicos que sufre el cuerpo del ser humano; de forma rápida, selectiva y con elevada sensibilidad. Estos dispositivos que incorporan un elemento biológico asociado al transductor físico-químico, presentan un enorme potencial para la detección de muchos analitos. Debido a la necesidad por aumentar la eficiencia de



estos dispositivos para la detección de diversos analitos biológicos, en los últimos años se ha venido investigando nuevas técnicas de acoplamiento molecular y desarrollando diferentes tipos de biosensores, incorporando enzimas, anticuerpos, ácidos nucleicos, receptores celulares, diferentes mediadores y nanoestructuras como plataformas inmovilizadoras, orientados a detectar presencia de glucosa, peróxido de hidrógeno, fenol, colesterol, ácido úrico y urea (Zhao et al., 2010; Maigler, 2020; González et al., 2021; Intisar et al., 2023; Ortiz et al., 2023). Estos dispositivos electrónicos convierten la señal biológica o química en señales eléctricas las cuales se transmiten, se amplifican y se reportan en el software, son diseñados en diversas formas y tamaños; por lo tanto, se pueden adaptar a diferentes sistemas de detección, pueden ser de un solo uso o de uso múltiple y proporcionar información puntual o continua (Valdés et al., 2025). La función de los biosensores es el de monitorear las condiciones de salud de los seres humanos para poder tomar decisiones acertadas sobre un posible tratamiento, por lo que en este trabajo se ha escogido como analito el colesterol, el cual es un lípido, que se encuentra en los tejidos corporales y en el plasma sanguíneo de los vertebrados, no obstante, cuando se excede su nivel normal en sangre 3.5-6.5 mM, se pueden producir enfermedades cardíacas y renales (Tudela, 2002).

Por lo que, para mejorar la sensibilidad del biosensor enzimático y los límites de detección del colesterol en este trabajo; se ha creído conveniente modificar la superficie del electrodo de carbono con nanopartículas de ZnO para inmovilizar al coctel enzimático y obtener un mejor monitoreo del colesterol utilizando el potenciostato portátil DROPSSENS y mediante la técnica de voltamperometría cíclica a fin de evaluar la corriente respuesta pico con el aumento de concentración de colesterol.

## 2. METODOLOGÍA

El objeto de estudio es un biosensor compuesto por un biorreceptor de coctel enzimático COX soportado sobre nanopartículas de ZnO depositadas en un electrodo serigrafiado de carbono (DROPSSEN 150): (COX/Nps ZnO/C). El coctel enzimático COX estuvo compuesto de suspensiones de 300 U/mL de lipasa fungal (LF), 3 U/mL de colesterol oxidasa (ChOX) y 20 U/mL de peroxidasa (POX).

Los electrodos impresos, los cuales constan de un electrodo de trabajo de carbono de 4mm de diámetro, un electrodo auxiliar de platino y un electrodo de referencia de plata, fueron limpiados con acetona seguido de agua ultrapura y secados en una estufa a 100 °C durante 30 minutos.

**Síntesis de nanopartículas de ZnO:** Las nanopartículas fueron sintetizadas a partir de soluciones precursoras de acetato de Zn di-hidratado a 0.1 M a 200 °C durante 1 hora y de NaOH a 0.14 M a temperatura ambiente durante 2 h, ambas en etanol.

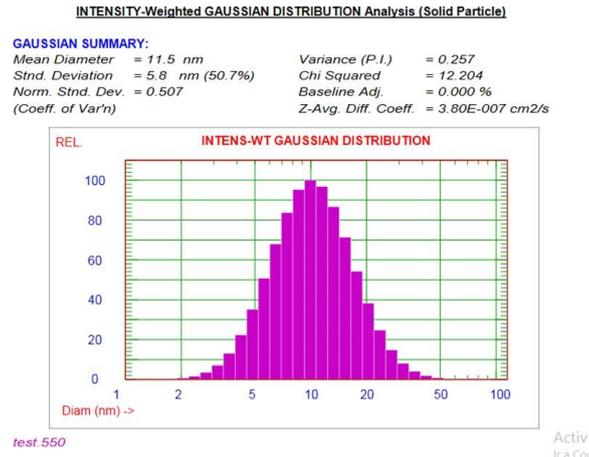
**Construcción del biosensor:** En la elaboración del biosensor COX/Nps ZnO/C, previamente se depositaron las nanopartículas de ZnO (NPs ZnO) sobre el electrodo de carbono del serigrafiado DROPSSEN 150 sumergiéndolas en una solución coloidal de NPs ZnO bajo agitación magnética a 80 °C durante 60 minutos, secadas a 100 °C por 20 min sobre una plancha caliente y posteriormente, al vacío durante 3 horas, para una mejor evaporación del solvente. A continuación, se agregaron 5 µL del biorreceptor coctel enzimático COX (COLESTAT ENZIMATICO, Wiener Lab) preparado con su mediador en solución de 25% de ferrocianuro potásico a 4mM ( $K_4 Fe (CN)_6$ ) en 100mM de KCl y secados al vacío durante 30 minutos, quedando el sistema descrito como COX/NpsZnO)/C. La solución conteniendo el analito de colesterol fue preparada a partir de una solución estándar 2g/L (COLESTAT ENZIMÁTICO, Wiener Lab.) en buffer fosfato a pH 7.13, con concentraciones entre 25 y 200 mg/dL.

**Voltamperometría cíclica:** Los ensayos electroquímicos fueron realizados mediante la técnica de voltamperometría cíclica DC a una velocidad de barrido de 100 mV/s utilizando el Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB y el Potenciostato portátil DROPSSENS con el programa NOVA 2.10. La sensibilidad de detección del colesterol y su rango de respuesta lineal, para este biosensor enzimático amperométrico con NPs de ZnO, se determinó utilizando la relación entre intensidad de corriente respuesta pico vs concentración de colesterol.

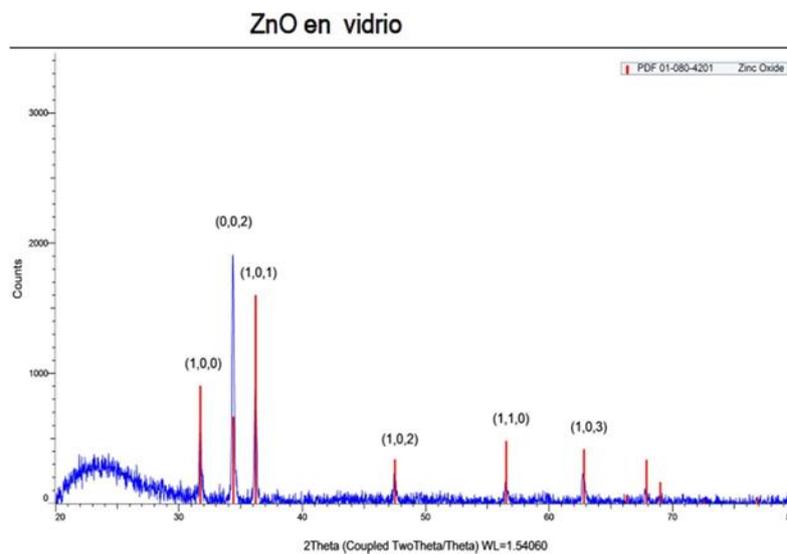
## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización de Nanopartículas de ZnO:

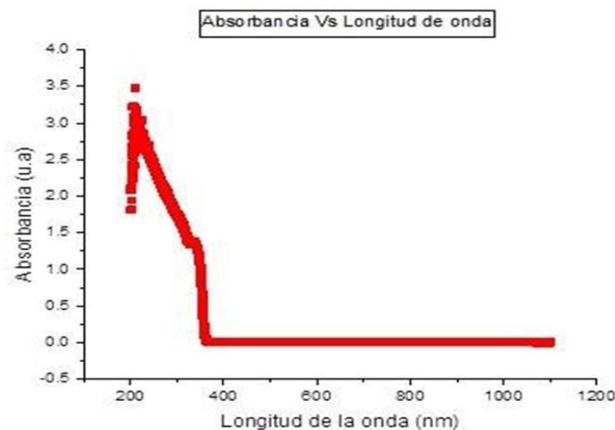
En la Figura 1, se muestran los resultados obtenidos en el análisis de Espectroscopía dinámica de luz (DLS) obteniéndose nanopartículas de diámetro hidrodinámico de 11.5 nm en promedio. En la figura 2 se presenta el patrón de difracción de Rayos X (DRX) mostrando picos característicos de la estructura hexagonal wurtzita con parámetros de celda unitaria de  $a = b = 3.25300 \text{ \AA}$  y  $c = 5.20700 \text{ \AA}$ , tamaño de cristalito de 20.7 nm calculado con la fórmula de Debye-Scherrer. En la figura 3 se muestra el espectro del FTIR con bandas de absorción características y referidas al movimiento de vibración de la molécula de ZnO. La figura 4 muestra una absorbancia en la región UV desde 361.2 nm a una longitud de onda máxima debido a la transición de energía del excitón de 347 nm con una band gap de 3.57 eV debido a su confinamiento cuántico. La morfología del sustrato de carbono se presentan en la figura 5 y su rugosidad promedio tomada con el Microscopio de Fuerza Atómica en la figura 6, siendo de 0.154 µm, se observa picos superficiales, lo cual favorece al anclaje e inmovilización de la enzima.



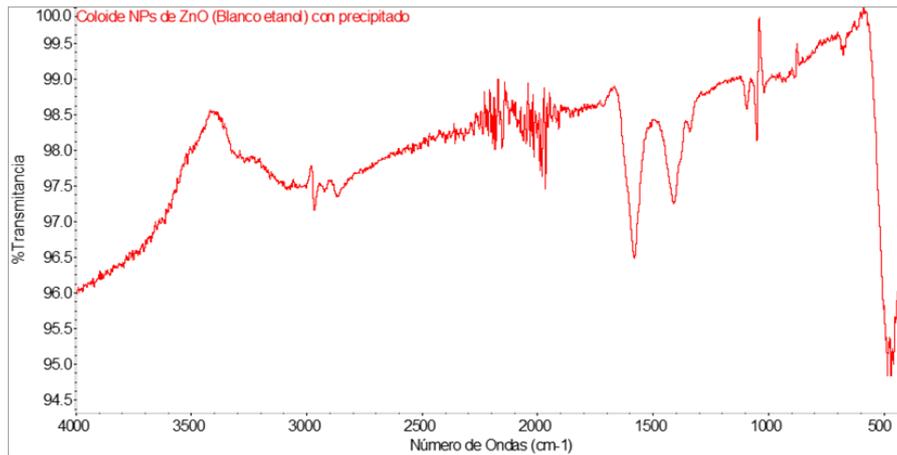
**Figura 1.** Curva de distribución Gaussiana medida con el analizador de tamaño de nanopartículas por Espectroscopia dinámica de luz (DLS).



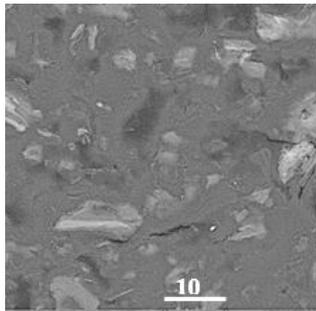
**Figura 2.** Patrones de DRX de nanopartículas de ZnO por el método de Sol-Gel, tomado con el Difractómetro de Rayos X con ánodo de cobre ( $\lambda= 1.54 \text{ \AA}$  Cu  $\alpha$ ) de la marca ECO D8 ADVANCE –BRUKER (RX).



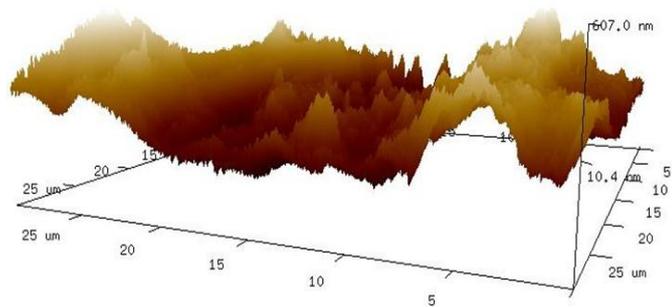
**Figura 3.** Absorbancia Vs Longitud de onda de las nanopartículas de ZnO registrado con el Espectrofotómetro UV-VIS-NIR (180-1100 nm).



**Figura 4.** Transmitancia del coloide de Nps ZnO encontrada por Espectroscopia de Transformada de Fourier del Infrarrojo (FTIR). El análisis fue realizado utilizando el espectrofotómetro Lambda 7600 con un rango de barrido entre 500-4000 cm<sup>-1</sup>.



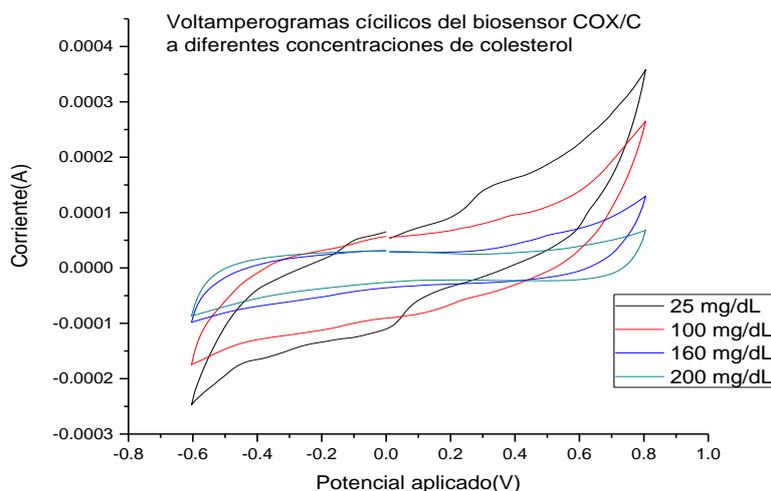
**Figura 5.** Microestructura de la superficie del electrodo de carbono, utilizando el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) - TESCAN VEGA 3-LMU.



**Figura 6.** Imagen tomada con el Microscopio de Fuerza Atómica (AFM ) de marca Edge Dimension- Bruker, presentando una rugosidad promedio de 0.154 μm para el electrodo de carbono.

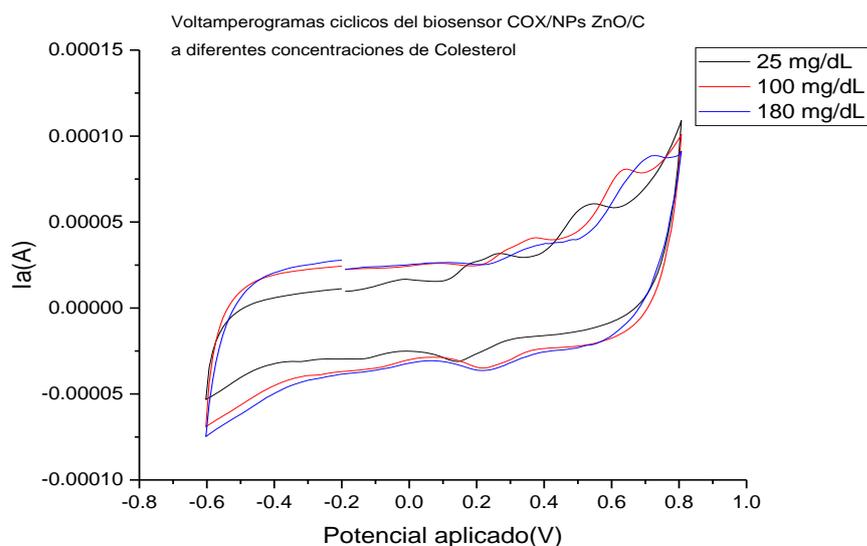
#### **Voltamperometría cíclica:**

En la figura 7 se presentan los voltamperogramas cíclicos de los biosensores enzimáticos de carbono: COX/C (sin nanopartículas) , a diferentes concentraciones de colesterol diluidos en buffer fosfato a pH=7.13, en donde se aprecia que solo para 25 mg/dL se da un proceso redox, para las demás concentraciones no se aprecian picos anódicos ni catódicos, no se aprecia comunicación electroquímica entre el biosensor -colesterol.

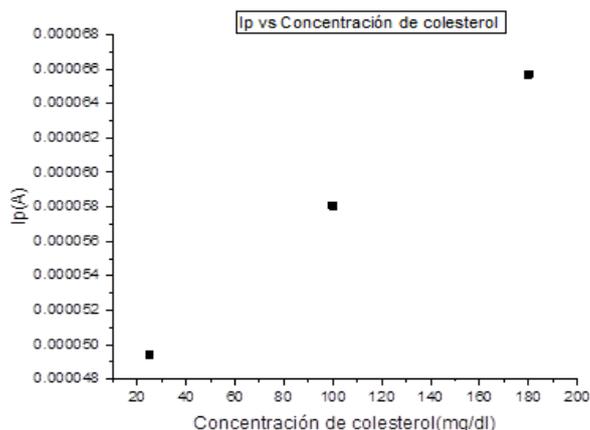


**Figura 7.** Voltamperogramas cíclicos del biosensor enzimático de carbono : COX/C para diferentes concentraciones de colesterol.

En la figura 8 se muestran los voltamperogramas del biosensor enzimático de carbono con nanopartículas de ZnO: COX/NPs ZnO/C a diferentes concentraciones de colesterol diluido en buffer fosfato a pH=7.13 de 25mg/dL, 100mg/dL y 180mg/dL, en donde para este sistema ya se observa un aumento de la corriente respuesta pico con el aumento de concentración de colesterol debido a la incorporación de las nanopartículas al sistema, que inmovilizan a las enzimas para que estas puedan interactuar con la muestra de colesterol. En la figura 9 se presenta la gráfica entre la intensidad de corriente pico Faradaica (A) en función de la concentración de colesterol (mg/dL) en donde se observa que al aumentar la concentración de colesterol en la muestra también aumenta la intensidad de corriente pico Faradaica. Se observan picos de oxidación y reducción bien definidos que no se aprecian sin las nanopartículas. Por lo tanto, las enzimas, como biorreceptores en el biosensor, contribuyen a una gran innovación en el campo médico y en la industria alimentaria (Anjum et al., 2023) y que soportadas en nanopartículas de ZnO como plataforma inmovilizadora y de transferencia electrónica, mejora las propiedades catalíticas del biosensor.



**Figura 8.** Voltamperogramas cíclicos del biosensor enzimático COX/Nps ZnO/C para diferentes concentraciones de colesterol a 25 mg/dL, 100 mg/dL, 180 mg/dL. Se observa un aumento de corriente pico respuesta a un aumento de potencial entre 0.5 V- 0.7 V. Se aprecia una corriente de carga no Faradaica y una Faradaica.



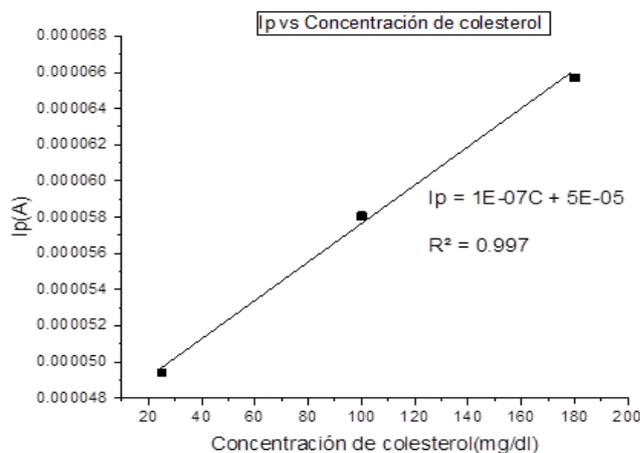
**Figura 9.** Corriente Faradaica vs Concentración de colesterol del biosensor COX/Nps ZnO/C , para concentraciones de colesterol de 25 mg/dL, 100 mg/dL, 180 mg/dL.

En la figura 10 se presenta la gráfica con su respectiva ecuación que relaciona la intensidad de corriente pico Faradaica vs concentración de colesterol para el biosensor: COX/NPs ZnO/C. Se obtuvo una relación lineal directa con una sensibilidad de  $30.8 \mu\text{A mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ , con un coeficiente de correlación de 0.997 y con un intervalo de detección entre 25 mg/dL a 180 mg/dL. Por lo que se concluye que al aplicar el barrido de potencial sobre el electrodo de trabajo COX/Nps ZnO/C y al aumentar la concentración de colesterol se obtiene mayor corriente Faradaica pico a través de su mediador debido a los electrones liberados en la reacción con el coctel enzimático.

Según las investigaciones de Pratima et al. (2009) la respuesta electroquímica de un bioelectrodo compuesto por ChOx/nano-ZnO/ITO muestra un aumento en la corriente al aumentar la concentración de colesterol, lo cual se le atribuye a una red empaquetada cerrada y bien alineada de nano-ZnO, actuando como un eficiente aceptador de electrones generados durante la reoxidación de la enzima colesterol oxidasa (ChOx) y transferidos al electrodo a través de la conversión Fe(III) /Fe(IV), quedando como resultado una mayor respuesta de corriente electroquímica.

Hernández et al. (2011) afirma que el peróxido de hidrógeno producto de la reacción enzimática es oxidado posteriormente cuando se aplica un potencial adecuado sobre el transductor, generando así una corriente eléctrica proporcional a la concentración de colesterol.

Al aumentar la concentración de colesterol aumenta el peróxido de hidrogeno y por lo tanto mayor corriente respuesta (Derina et al., 2014; Ortiz et al., 2023).



**Figura 10.** Respuesta electroquímica del biosensor: COX / Nps ZnO/ C con respecto a las concentraciones de colesterol, para 25 mg/dL, 100 mg/dL y 180 mg/dL a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

Los resultados obtenidos de la voltamperometría cíclica nos reporta que este biosensor enzimático de colesterol de carbono con NPs ZnO sintetizadas por la ruta sol-gel de estructura hexagonal tipo wurtzita, 11.5nm de diámetro hidrodinámico promedio con una desviación estándar de 5.8 nm, tamaño de cristalito de 20.7 nm, presentando absorbancia en la región UV desde 361.2 a 347 nm con un band gap de 3.57 eV; inmoviliza el coctel enzimático utilizado en este trabajo de forma eficiente para una mejor interacción entre los centros activos de las enzimas con el analito lo que incrementa la corriente pico Faradaica de los voltamperogramas con el incremento de concentración de colesterol mejorando la transferencia electrónica con picos de oxidación y reducción bien definidos, lo que no se obtuvo para el biosensor sin nanopartículas. Además, se detectaron corrientes picos, desde pequeñas trazas de colesterol de 25 a 180mg/dL, lo cual no fue detectado sin ellas, convirtiéndose en un biosensor mediador conductor y catalizador.

#### 4. CONCLUSIONES

El biosensor enzimático de carbono con nanopartículas de ZnO: COX/NPs ZnO/C aumenta la corriente pico Faradaica de los voltamperogramas cíclicos con el incremento de la concentración de colesterol a través de su mediador redox ferrocianuro potásico/ferricianuro potásico a un potencial entre 0.5-0.7V. Presenta proporcionalidad lineal directa entre la intensidad de corriente Faradaica pico (A) y la concentración de colesterol (mg/dL) resultando:  $I_p = 0.1 \mu \%C + 5 \times 10^{-5}$  con un rango lineal de 25 mg/dL a 180 mg/dL. Se obtuvo una sensibilidad de detección de colesterol alta, con un valor de de  $30.8 \mu\text{AmM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ . Las nanopartículas de óxido de zinc mejoran la respuesta electroquímica, transferencia electrónica y sensibilidad de detección de colesterol, debido a su alta área superficial activa, a su pequeña energía de banda prohibida, al confinamiento cuántico de los electrones en un espacio muy reducido, lo que lo convierte en un conductor con el potencial aplicado.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo de la UNT otorgado para los estudios de doctorado, así como también el permiso brindado a los Jefes de los laboratorios de investigación de la Universidad Nacional de Trujillo y de la Universidad Particular Antenor Orrego, para realizar las mediciones en los equipos, sin ello no se hubiera concretado este trabajo de investigación.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anjum T., Hussain N., Bilal M., Iqbal H. M. (2023). Enzymatic biosensors. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91317-1.00006-2>
- Intisar A., Haider M., Imran Din M., Hussain N., Bilal M., Iqbal H. (2023). Inmovilización de enzimas sobre nanomateriales y soportes nanoestructurados. Fundamentos y aplicaciones. Fundamentos y fronteras en enzimología. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91317-1.00002-5>
- Derina K., Korotkova E., Dorozhkoa E., Voronova O., Vishenkova D. (2014). Voltammetric sensor for total cholesterol determination. National Research Tomsk Polytechnic University, Lenin avenue 43a, Tomsk, 634050, Russia. *Procedia Chemistry* 10 (2014) 513 – 518
- González L. E., Galán V. C. A., Rodríguez Á. J. A., Mendoza H. L. H., Páez Hernández M. E., (2021). Biosensores multienzimáticos para el análisis multiparamétrico con un solo dispositivo. *Publicación Semestral Pädi* Vol. 8 No. 16 (2021) 42-47
- Hernandez M., Galán C. A., Avarez G.A., Paez M.E. (2011). Desarrollo de um biosensor amperométrico com configuración plana para la cuantificación de colesterol. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Area Académica de Química. Vol 22(6),25-32. Doi: 10.4067/S0718-07642011000600004
- Maigler L. M. (2020). Aplicación de técnicas computacionales de acoplamiento molecular en desarrollo enzimático. Tesis de licenciatura, Universidad Complutense de Madrid, España. <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/d7be6209-06c6-47ab-9cd2-b7276285bea2/content>
- Ortiz S. E., Serratos Á. I. N., Galicia L. L. (2023). Estudio de la interacción entre la enzima ChOx y colesterol a través de cálculos de acoplamiento molecular y voltamperometría cíclica, para su aplicación a biosensores electroquímicos. *Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química*. <https://revistatediq.azc.uam.mx>
- Pratima R. S., Ajeet K., Anees A. A., Malhotrab B. D. (2009). Nanostructured zinc oxide platform for cholesterol sensor. Department of Science and Technology Center on Biomolecular Electronics, National Physi-

cal Laboratory, Dr. K. S. Krishnan Marg, New Delhi 110012, India. APPLIED PHYSICS LETTERS 94, 143901. DOI: 10.1063/1.3111429

Tudela V. (2002). El colesterol: lo bueno y lo malo, 3era edición fondo de cultura económica, Cd de México.

Valdés R., G.; Hernández R. F., Galicia L. (2025). Contribution to the Electrochemical Sensors and Biosensors field by the Electrochemical and Analytical Chemistry research areas at UAM-I. Chemistry Department, Laboratory of Electrochemistry. DOI: <http://dx.doi.org/10.29356/jmcs.v69i1.2300>

Zhao Z., Lei W., Zhang X., Wang B. y Jiang H. (2010). ZnO – Based Amperometric Enzyme Biosensores. School of Electronic Science and Engineering, Southeast University, Nanjing 210096, China. 10,1216-1231; doi:10.3390/s100201216.