

Detección electroquímica de adrenalina empleando electrodos modificados con nafi3n-tms

Aguilar Sánchez Rocío*, Durán Tlachino Dora Andrea, Cabrera Hilerio Sandra Luz, Gárate Morales José Luis, Cerna Cortez Jorge Raúl

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas. Av San Claudio y 22 Sur, CU, San Manuel, Puebla, C.P. 72570. México.

*Autor para correspondencia: ras747698@gmail.com

Recibido:

11/mayo/2018

Aceptado:

12/julio/2018

Palabras clave:

Adrenalina,
Nafión-TMS,
carbón vítreo

Keywords:

Adrenaline,
Nafion-TMS,
Glassy carbon

RESUMEN

La modificación de superficies de electrodo proporciona una oportunidad única de inmovilizar catalizadores, membranas poliméricas o especies químicas en general, y por lo tanto extender la metodología electroquímica de sistemas donde se requiere un incremento de la velocidad de transferencia electrónica de reacciones redox. Diversos neurotransmisores como dopamina (DA), adrenalina (AD) y serotonina han sido estudiados empleando electrodos modificados con polímeros. En el presente trabajo estudiamos la detección de AD empleando electrodos modificados con Nafión-Trimetilsililado (Naf-TMS) el cual presenta una respuesta rápida y sensible para su posible aplicación como sensor de adrenalina en soluciones estándar. La respuesta analítica depende fuertemente del pH y los límites de detección encontrados están en el orden de concentración nanomolar en medio ácido.

ABSTRACT

The modification of electrode surfaces provides a unique opportunity to immobilize catalyst, polymeric membranes or other chemical entities, and thereby extends the electrochemical methodology to systems where promotion of charge transfer is required. Several neurotransmitters such as dopamine (DA), adrenaline (AD) and serotonin for instance, have been studied with polymer modified electrodes. In this work, we show the electrochemical properties and analytical capabilities of Nafion-trimethylsilyl (Naf-TMS) modified glassy carbon electrodes for the detection of AD in standard solutions. Detection limits in the order of nanomolar have been achieved with working ranges extending over three decades in concentration in acidic media and the analytical response strongly correlates with pH.

Introducción

Una gran variedad de fenómenos físicos y químicos involucran procesos de transferencia electrónica. Estudios experimentales y teóricos han demostrado que la transferencia electrónica puede verse afectada por el uso de superficies de electrodo modificadas (Murray, 1984). La modificación de superficies de electrodo proporciona una oportunidad única de inmovilizar catalizadores, membranas poliméricas o especies químicas en general, y por lo tanto extender la metodología electroquímica de sistemas donde se requiere un incremento de la velocidad de transferencia electrónica de reacciones redox.

Los electrodos modificados superficialmente por especies químicas inmovilizadas son diseñados deliberadamente para que la superficie despliegue, en un futuro, las propiedades químicas, electroquímicas, ópticas y/o eléctricas de la entidad química con la cual fue modificado. Es decir, el electrodo puede ser diseñado a la medida de la necesidad de alguna propiedad química o física específica. La funcionalización de una superficie de electrodo, frecuentemente proporciona mejores características de transferencia electrónica. Este fenómeno es muy atractivo desde el punto de vista de diversas aplicaciones. Un método muy versátil para modificar electrodos es a través del uso de capas poliméricas, entre las cuales el Nafión® ha sido ampliamente utilizado para insertar grandes cantidades de catalizadores y actuar como *preconcentrador* de analitos (Moore y Martin, 1986; Nagy et al., 1985). Las ventajas ofrecidas por el fenómeno de preconcentración, mediante interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas, pueden ser observadas solo al establecerse un equilibrio, el cual depende de factores como; el tamaño, carga, concentración y fuerza iónica del analito. Diversos neurotransmisores como dopamina (DA), adrenalina (AD) y serotonina han sido estudiados empleando electrodos modificados con Nafión (Özel et al., 2015). Sin embargo, la preconcentración de estas sustancias puede alcanzar el equilibrio en un periodo de tiempo de minutos. Esto puede tornarse en una desventaja cuando se requieren tiempos de respuesta muy rápidos del electrodo y el proceso de difusión lento de las especies a la matriz del Nafión, dificulta las posibles aplicaciones analíticas.

Por otro lado, los neurotransmisores son sustancias muy importantes que regulan el metabolismo en el cuerpo humano. La adrenalina AD (o epinefrina) es un neurotransmisor, producido por las glándulas suprarrenales, que regula la presión sanguínea, el ritmo cardíaco y el metabolismo de glucógeno. A pesar de regular estas funciones positivas en el cuerpo humano,

su presencia también puede significar un serio problema con impactos negativos en la salud. Previamente se ha reportado que puede jugar un papel nocivo en la terapia de diversos cánceres cuando se encuentra en concentraciones tan bajas como 5 nanomol/L (Pu et al., 2012). También se han encontrado bajas concentraciones de adrenalina en enfermos de Parkinson y Alzheimer (Xu Y. et al., 2012).

Varios métodos analíticos se han reportado para la determinación de adrenalina como HPLC, electroforesis capilar y técnicas espectrofotométricas (Jenner et al., 1981; Xu X. et al., 2012), los cuales pueden presentar desventajas como: alto costo, tiempo prolongado de análisis y pretratamiento de la muestra. A este respecto, en el presente trabajo proponemos la detección de AD a partir de la modificación de electrodos con Nafión-Trimetilsililado (Murata y Noyori, 1980) (Figura 1) el cual presenta una respuesta rápida y sensible en la detección electroquímica.

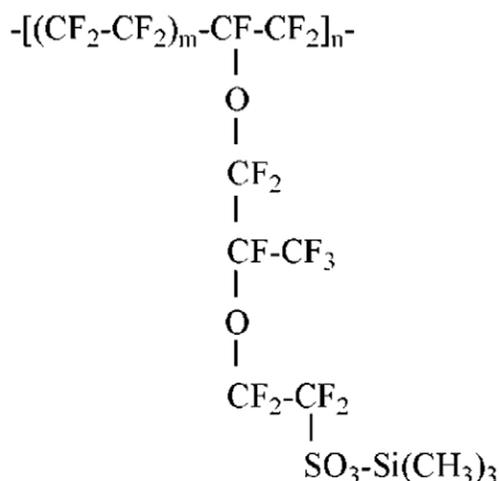


Figura 1. Estructura química del polímero Naf-TMS (Murata y Noyori, 1980).

En este trabajo empleamos el polímero Naf-TMS para modificar electrodos de carbón vítreo y estudiamos sus características electroquímicas para su posible aplicación como sensor de adrenalina en soluciones estándar.

Metodología

Reactivos y sustancias

Las sustancias Naf-TMS (sigma-aldrich), adrenalina (sigma), etanol (Baker), H₂SO₄ (Merck), H₂NaPO₄·H₂O (Merck) y HNa₂PO₄·12H₂O (Merck) fueron grado reactivo y se usaron sin mayor purificación. Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada (Milli-Q, 18.2 MΩ) antes

de cada experimento. Las diferentes concentraciones del analito fueron preparadas por dilución. El Naf-TMS se compró como una resina en forma de perlas, las cuales fueron disueltas según se describe abajo.

Disolución de Nafión-TMS

El Naf-TMS es una resina polimérica muy resistente al ataque químico, incluso oxidantes fuertes y solventes orgánicos. Los polímeros perfluoronados interactúan muy fuertemente con sistemas binarios de solventes (Moore y Martin, 1986) a alta temperatura. En este trabajo, disolvimos el Naf-TMS en una mezcla etanol-agua (1:1) colocando la cantidad necesaria de Naf-TMS en un reactor resistente a alta presión. El reactor fue purgado con Ar y calentado a 250 °C por 2 horas. La solución obtenida fue ligeramente viscosa y transparente.

Preparación de electrodos

Se usó un electrodo de carbón vítreo (GC) como sustrato para depositar el polímero Naf-TMS. Previo a la deposición, el electrodo se pulió con alúmina de 0.1 y 0.04 μm de diámetro, sucesivamente. Posteriormente se lavó con acetona y agua desionizada. Una vez limpio se depositó una alícuota de la solución del polímero Naf-TMS sobre el electrodo, el cual se dejó secar 15 h a temperatura ambiente.

Estudios electroquímicos

Los estudios electroquímicos se realizaron en una celda electroquímica de tres electrodos. Como electrodos de trabajo se emplearon: GC desnudo, GC/Naf-TMS. Como contraelectrodo se empleó un alambre de platino y como electrodo de referencia Ag/AgCl saturado. Los estudios se realizaron con un potencióstato-galvanostato Epsilon (Bioanalytical Systems) y se empleó el software BASi-Epsilon EC (v. 2.13.77) para la adquisición y control de datos.

Resultados y discusión

Oxidación electroquímica de adrenalina (AD) en electrodos de carbón vítreo modificados con Naf-TMS

Las propiedades analíticas de electrodos modificados con Naf-TMS, se evaluaron midiendo la corriente como una función de la concentración de adrenalina como sonda redox. La Figura 2 muestra el primer barrido de una serie de voltamperogramas diferenciales de pulso en GC/Naf-TMS obtenidos para un intervalo de concentraciones de AD entre 20 nanomol/L y 0.2 milimol/L en ácido

sulfúrico 0.1 M. Se puede observar una señal aguda a aproximadamente 580 mV correspondiente a la oxidación de adrenalina la cual sufre una oxidación cuasi-reversible que involucra la transferencia de dos electrones y la participación de dos protones para formar la adrenalinaquinona como se observa en el Figura 3.

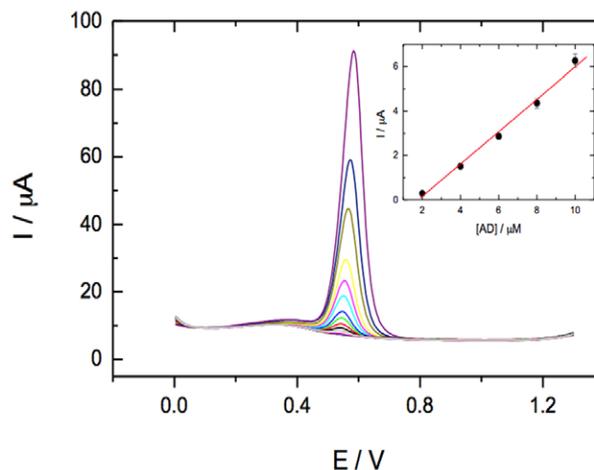


Figura 2. Voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos a diversas concentraciones de adrenalina en 0.1 M H_2SO_4 registrados en electrodos GC/Naf-TMS (2×10^{-8} – 2×10^{-4} M [AD]). **Recuadro:** Curva de calibración mostrada en el intervalo de concentraciones de micromoles por litro. Velocidad de barrido: 20 mV s^{-1} , amplitud de pulso: 50 mV, duración del pulso: 200 ms.

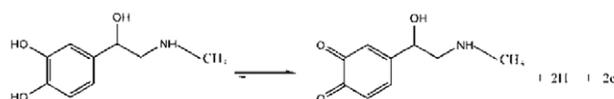


Figura 3. Reacción de oxidación electroquímica de adrenalina (Sochr et al., 2014).

En el recuadro de la Fig. 2, se muestra la respuesta lineal de la corriente de pico con la concentración de AD. La sensibilidad obtenida a partir de la pendiente fue $0.74 \pm 0.03 \mu\text{A}/\mu\text{M}$, y considerando una razón señal-ruido ($3 \times \text{ruido}/\text{sensibilidad}$), el límite de detección fue de $0.04 \pm 0.01 \mu\text{M}$, el cual es similar a electrodos modificados con Nafion después de la preconcentración de un analito (Nagy, 1985). El mecanismo por el cual el Naf-TMS oxida fácilmente a la AD, aún no está definido. Puesto que el Naf-TMS no es una resina de intercambio catiónico, suponemos que ésta no es la razón para facilitar la reacción de oxidación de la AD. Podemos considerar que el incremento en la sensibilidad puede ser debido a interacciones de tipo hidrofóbico. Se ha demostrado (Kumar, 2005) que las interacciones hidrofóbicas son suficientemente fuertes como para compensar repulsiones electrostáticas de especies catiónicas con

polímeros cargados positivamente. Las interacciones de éste tipo han sido muy bien documentadas (Kumar, 2005) y se ha encontrado que la adsorción de catecolaminas está favorecida en las regiones hidrofóbicas de los polímeros incrementando la corriente de oxidación. Además sí consideramos que la introducción del grupo trimetilsilil incrementa la hidrofobicidad de la película, es de esperarse que un ambiente hidrofóbico facilite aún más la oxidación de la adrenalina. Sin embargo, es importante señalar que no se puede descartar la posible existencia de interacciones de tipo electrostático, puesto que el grupo altamente ácido del grupo sulfónico del Naf-TMS podría alojar parte de la AD catiónica a éste pH. Esta suposición la demostraremos más adelante con un estudio a diferentes valores de pH.

El paso determinante de la velocidad de reacción electroquímica se puede obtener a partir de la relación de Randles-Sevcik, para esto se investigó el efecto de la velocidad de barrido en la corriente de oxidación-reducción de AD como se puede observar en la Figura 4.

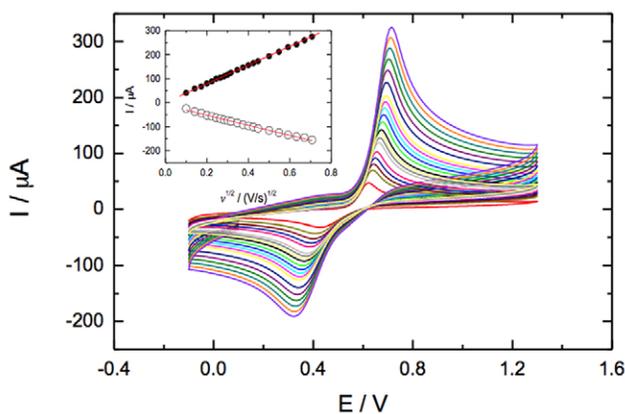


Figura 4. Voltamperogramas cíclicos a velocidades de barrido de 10 a 500 mV s^{-1} registrados para 0.2 mM AD en 0.1 M H_2SO_4 empleando un electrodo GC/Naf-TMS. Recuadro: Dependencia lineal de la corriente anódica y catódica con la velocidad de barrido.

Las corrientes de oxidación y reducción en presencia de 0.2 mM de AD, se incrementan linealmente con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, lo que sugiere que el paso determinante de la reacción redox es la difusión.

Dependencia del pH en el comportamiento analítico de adrenalina en electrodos modificados con Naf-TMS

Las características electroquímicas de sondas redox del tipo catecolamina dependen del pH, de modo que para encontrar el medio apropiado de reacción para la oxidación de adrenalina, estudiamos el efecto del pH en

la respuesta electroquímica. A partir de pH 3 en solución buffer de fosfatos, se encontraron dos picos de oxidación uno en 0.2 V y otro en 1.230 V los cuales a un pH de 11 desaparecen completamente. El primero se recorre hacia valores más negativos de potencial con la disminución del pH presentando una dependencia lineal del potencial de pico con respecto al pH mostrando una pendiente de $-62 \pm 2 \text{ mV}$ por unidad de pH. Lo que implica que la transferencia de electrones está acompañada por la transferencia de protones en el mecanismo de oxidación. Este fenómeno surge de condiciones puramente termodinámicas y también refleja el tipo de interacciones involucradas en la oxidación de AD.

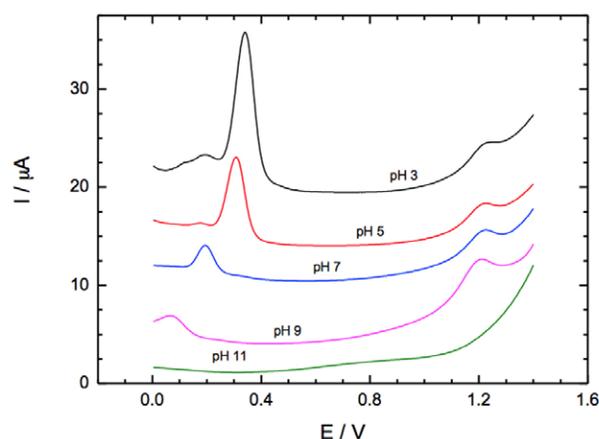


Figura 5. Voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos a una concentración de 20 μM AD y registrados a varios valores de pH (3-11) usando electrodos de carbón vítreo modificados con Naf-TMS. Velocidad de barrido: 20 mV s^{-1} , amplitud de pulso: 50 mV, duración del pulso: 200 ms.

El pico en 1.230 V, se hace visible a partir de una concentración de 4 $\mu\text{mol/L}$ AD y casi no varía en su posición. Este fenómeno se observó en un intervalo de pH de 3 a 9 siendo más importante a un pH de 7 correspondiendo muy bien con los datos reportados en la literatura cuando la forma no protonada de la adrenalinaquinona se presenta (usualmente arriba de un pH 3) y permite la reacción de ciclización para formar el adrenocromo (Ghica y Brett, 2013). Se encontró que a valores extremos de pH (muy ácidos o muy básicos) el pico a potenciales de 1.230 V, desaparece completamente.

Conclusiones

Los resultados muestran algunas generalizaciones del comportamiento electroquímico de electrodos de carbón modificados con Naf-TMS. Se encontró que el polímero Naf-TMS puede mejorar el proceso de transferencia de carga y disminuir la barrera de energía para la detección de adrenalina. El proceso de transferencia de carga puede

involucrar interacciones hidrofóbicas y electrostáticas lo que permitiría modular las propiedades de las membranas para posibles aplicaciones analíticas. Estos resultados podrían contribuir a un mayor uso del Naf-TMS como modificador de electrodos en aplicaciones electroquímicas y, de algún modo, ampliar nuestro conocimiento acerca de interacciones no-covalentes de especies orgánicas e híbridas dentro de películas poliméricas. Como trabajo a futuro se planea investigar las propiedades de Naf-TMS para detectar adrenalina en presencia de sustancias interferentes.

Agradecimientos

Los autores agradecen a CONACYT (CB-2014/243030) y VIEP-BUAP (2018/284) por el financiamiento para la realización de este proyecto. D. A. Durán Tlachino agradece la beca otorgada mediante el proyecto CONACYT (CB-2013/220624).

Referencias

Ghica M. E., Brett C. M. A. (2013). A glucose biosensor using methyl viologen redox mediator on carbon film electrodes, *Anal. Lett.* 46: 1379-1393.

Jenner D.A., Brown M.J., Lhoste F.J.M. (1981). Determination of α -methyl dopa, α -methyl noradrenaline, noradrenaline and adrenaline in plasma using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, *J. Chromatogr. B.* 224: 507-512.

Khramov A. N., Collinson M. M. (2002). Electrogenerated Chemiluminescence of Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) Ion-Exchanged in Nafion-Silica Composite Films, *Anal. Chem.*, 72: 2943-2948.

Kumar S.S., Mathiyarasu J., Phani K.L. (2005). Simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid on poly (3,4-ethylenedioxythiophene) modified glassy carbon electrode, *J. Electroanal. Chem.* 578: 95-103.

Moore R. B. and Martin C. R. (1986). Procedure for Preparing Solution-Cast Perfluorosulfonate Ionomer Films and Membranes. *Anal. Chem.* 58: 2569-2570.

Murata S., Noyori R. (1980). Silylation with a per fluorinated resin sulfonic acid trimethylsilyl ester, *Tetrahedron Lett.* 21: 767-768.

Murray R.W. (1984). Chemically modified electrodes. Molecular design for electroanalysis, *Electroanalytical Chemistry. A series of advances.* Vol. 13. Pp 191-368.

Nagy G., Oke GAG, Rice M. E., Adams R. N., Moore R. B., Szentirmay M. N., Martin C. R. (1985). The effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol on potassium-evoked release of dopamine in the rat caudate nucleus: an in vivo electrochemical and in vivo microdialysis study, *J. Electroanal. Chem.* 188: 85-94.

Özel R. E., Hayat A., Andreescu S. (2015). Recent developments in electrochemical sensors for the detection of neurotransmitters for applications in biomedicine, *Anal. Lett.* 48: 1044-1069.

Pu J., Bai D., Yang X., Lu X., Xu L., Lu J. (2012). Adrenaline proliferation and increases chemoresistance in colon cancer through induction of miR-155. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 428: 210-215.

Sochr J., Švorc L., Rievaj M., Bustin D. (2014). Sensitive electrochemical determination of yohimbine in primary bark of natural aphrodisiacs using boron-doped diamond electrode, *Diamond Rel. Mater.* 43: 5-11.

Xu X., Zhang H., Shi H., Ma C., Cong B., Kang W. (2012). Determination of three major catecholamines in human urine by capillary zone electrophoresis with chemiluminescence detection. *Anal. Biochem.* 427: 10-17.

Xu Y., Yan J., Zhou P., Li J., Gao H., Xia Y., Wang Q. (2012). Neurotransmitter receptors and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease and Parkinson's disease, *Prog. Neurobiol.* 97: 1-13.