

UTILIZAÇÃO DE ELETRODOS DE OURO MODIFICADOS POR SAM NO ESTUDO ELETROQUÍMICO DE EPINEFRINA E NOREPINEFRINA

Lucia Codognoto¹, Eduardo Winter², Susanne Rath³

¹Universidade do Vale do Paraíba / Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, CEP: 12244-000, São José dos Campos – SP, Brasil, codognoto@univap.br

²Universidade Estadual de Campinas / Instituto de Química, Caixa Postal 6154, CEP 13084-971, Campinas - SP, Brasil, ewinter@iqm.unicamp.br

³Universidade Estadual de Campinas / Instituto de Química, Caixa Postal 6154, CEP 13084-971, Campinas - SP, Brasil, raths@iqm.unicamp.br

Resumo- A utilização de eletrodos modificados por SAM vem ganhando grande aplicação devido às suas propriedades, como redução da corrente capacitiva e de acúmulo de espécies indesejadas na superfície do eletrodo. Desta forma a potencialidade do eletrodo de ouro modificado com monocamadas auto-organizadas de ácido ditiodipropiônico (AuDTDPA) foi avaliada no estudo eletroquímico das aminas biogênicas epinefrina e norepinefrina. Pôde-se observar comparando-se os resultados obtidos que a NE apresenta sistema reversível controlado por adsorção, enquanto que a EP apresenta um sistema *quasi-reversível* controlado por difusão. As curvas analíticas obtidas indicaram que a sensibilidade é maior para a NE do que para a EP. Estes resultados provavelmente estão relacionados com a estrutura química de cada composto, indicando que a presença do grupo catecol e uma amina primária pode facilitar a interação com os carboxilatos imobilizados na superfície do eletrodo.

Palavras-chave: self assembled monolayers, epinefrina, norepinefrina, eletroanalítica, eletrodos de ouro.

Área do Conhecimento: Química

Introdução

A utilização de eletrodos de ouro modificados por monocamadas auto-organizadas (SAM – do inglês, *Self-Assembled Monolayers*), em eletroanalítica oferece grandes vantagens em função de suas propriedades, como por exemplo, a possibilidade de se obter uma estrutura molecular ordenada especificamente orientada, faz com que seja possível otimizar processos de complexação e/ou transferência de elétrons que são fundamentais no desenvolvimento de sensores químicos. Adicionalmente, a alta organização das monocamadas assegura um comportamento homogêneo em toda a superfície do eletrodo, contribuindo para a obtenção de resultados com maior sensibilidade e repetibilidade. Além disto, a dimensão da monocamada, que se situa em escala molecular, evita uma difusão lenta das espécies eletroativas para a superfície, principalmente quando comparada com a cinética apresentada pelos eletrodos modificados com filmes poliméricos finos ou por compósitos (MIRSKY, 2002).

O interesse na química redox das catecolaminas deve-se ao fato de muitos desses compostos estarem envolvidos diretamente em processos de neurotransmissão e, conseqüentemente, relacionados com doenças neurodegenerativas, como o Mal de Parkinson e Alzheimer (GROSSMAN et al., 2001).

No entanto, a determinação eletroquímica de compostos fenólicos, como a epinefrina e norepinefrina, empregando eletrodos sólidos apresenta problemas devido à perda da atividade dos eletrodos durante o processo de oxidação. A inativação dos eletrodos é atribuída à formação de produtos poliméricos sobre a superfície dos eletrodos durante processo eletroquímico.

Nesta direção, os eletrodos modificados por SAM têm sido empregados na determinação de dopamina e outros neurotransmissores com sucesso, principalmente com relação a seletividade, uma vez que as monocamadas presentes na superfície do eletrodo podem eventualmente deslocar os potenciais de pico ou mesmo inibir a passivação da superfície eletródica. Recentemente, Codognoto et al., demonstraram a possibilidade para determinação eletroanalítica de dopamina sobre eletrodos de ouro modificados com monocamadas auto-organizadas, sem que ocorresse a passivação da superfície do eletrodo (CODOGNOTO et al., 2007).

Desta forma o objetivo deste trabalho é avaliar a potencialidade de um eletrodo de ouro modificado com monocamadas auto-organizadas do ácido ditiodipropiônico (DTDPA) no estudo eletroanalítico de epinefrina (EP) e norepinefrina (NE) (Figura 1).

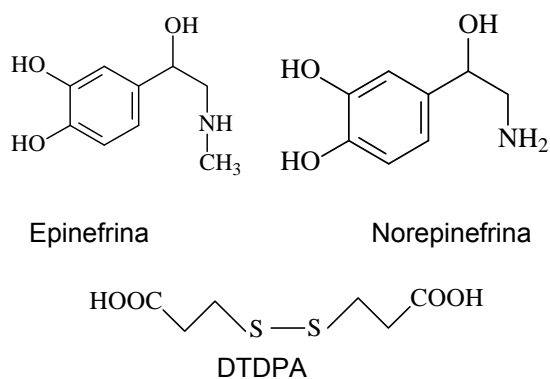


Figura 1: Estrutura química da EP, da NE e do DTDPA.

Materiais e Métodos

Para as medidas eletroquímicas foi utilizado o potenciostato/galvanostato AUTOLAB® PGSTAT 30 (ECO CHEMIE, Holanda). A aquisição dos dados e o gerenciamento do potenciostato foram realizados por um microcomputador (Dell) e mediante programa computacional GPES.

O eletrodo de referência utilizado nos experimentos, constituiu-se de um fio de prata imerso em uma solução saturada de AgCl e KCl 3 mol L⁻¹ em meio aquoso, cujo o valor de potencial é de 0,222 V em relação ao eletrodo reversível de hidrogênio. Como eletrodo auxiliar ou contra eletrodo, utilizou-se uma placa de platina.

As monocamadas auto-organizadas foram obtidas após a limpeza e caracterização dos eletrodos de ouro. Para limpeza os eletrodos de ouro foram polidos com alumina de 0,5 μm e sonicados em etanol e água Milli-Q por 10 minutos. Posteriormente foram submetidos ao tratamento eletroquímico por meio de varreduras sucessivas no intervalo de 0 a 1,55 V com velocidades de varredura de 1,0; 0,5; 0,25; 0,1 e 0,05 V em H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ até a obtenção do perfil voltamétrico característico do ouro.

Para a obtenção das SAM o eletrodo de ouro tratado foi imerso em uma solução 10 10⁻³ mol L⁻¹ do tiól (ácido ditiodipropiônico) em etanol, sendo que o tempo necessário para o recobrimento da superfície com a SAM foi monitorado pela voltametria cíclica do par redox [Fe(CN)₆]^{3-/4-} em H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹. Posteriormente, o eletrodo foi lavado com etanol e água, fornecendo o eletrodo modificado (AuDTDPA), que foi caracterizado por voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica. O tempo para um recobrimento de cerca de 50 % da superfície do eletrodo foi de 17 horas (CODOGNOTO et al., 2007).

O tampão fosfato pH 7,0 foi preparado com ácido fosfórico e monohidrogenofosfato dissódico na concentração de 0,10 mol L⁻¹. O pH foi ajustado conforme necessário com NaOH 1 mol L⁻¹ ou com H₃PO₄ 1 mol L⁻¹.

As soluções estoque das aminas biogênicas foram preparadas na concentração de 1,0 10⁻³ mol L⁻¹ em meio aquoso.

Todas as soluções foram preparadas com água purificada, em sistema Milli-Q, procedência Millipore Corporation (EUA).

Resultados e discussão

A resposta voltamétrica da epinefrina e norepinefrina sobre o eletrodo AuDTDPA foi avaliada utilizando-se a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV). Os voltamogramas de onda quadrada para a EP e NE são apresentados na Figura 2.

A EP e a NE sobre o eletrodo AuDTDPA apresentam um único pico de oxidação em torno de 0,20 V vs Ag/AgCl. No entanto, pode se observar que a EP apresenta características de processos *quasi-reversíveis*, enquanto a NE de processos *reversíveis*.

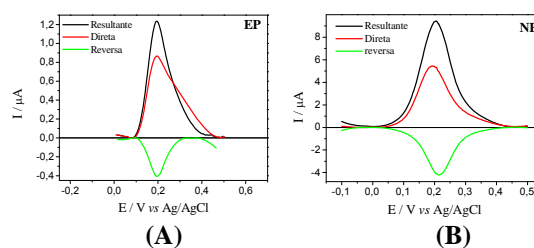


Figura 2 - Voltamogramas de onda quadrada em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 da: **(A)** EP (8,0 10⁻⁵ mol L⁻¹, $a = 40$ mV, $f = 150$ s⁻¹, $\Delta E_s = 2$ mV) **(B)** NE (8,0 10⁻⁵ mol L⁻¹, $a = 50$ mV, $f = 120$ s⁻¹, $\Delta E_s = 2$ mV) com as suas componentes de correntes.

Após a otimização dos parâmetros que envolvem a SWV pode-se verificar que o comportamento eletroquímico das aminas biogênicas NE e EP é diferente não somente com relação à reversibilidade do sistema. A variação da frequência da onda quadrada para a EP mostrou que a corrente de pico varia linearmente com a raiz quadrada da frequência indicando que o processo é controlado por difusão das espécies do seio da solução até a superfície do eletrodo. Adicionalmente, para a NE foi observado que o processo é controlado por adsorção, uma vez que apresentou uma relação linear da intensidade da corrente de pico com a frequência da onda quadrada.

Assim, pode-se observar que as aminas biogênicas estudadas apresentam o pico de oxidação no mesmo intervalo de potencial, mas com comportamento eletroquímico diferente sobre o eletrodo de AuDTDPA. Desta forma, os parâmetros da SWV otimizados para estes compostos apresentaram valores diferentes e encontram-se reunidos na Tabela 1, juntamente

com os dados calculados das curvas analíticas, que foram obtidas para a EP e NE, após a otimização dos parâmetros voltamétricos.

Para a determinação do limite de detecção (LOD) da EP e NE na célula eletroquímica, foi utilizada a relação entre o desvio padrão da resposta (S_B) e a inclinação da curva analítica (b), conforme a equação (1).

$$LOD = \frac{3S_B}{b} \quad (1)$$

Pode-se verificar (Tabela 1) que maior sensibilidade foi obtida para a NE, isto se deve provavelmente a interação destas com os carboxilatos livres do DTDPa presente na superfície do eletrodo. E, também ao fato da oxidação da NE ser um processo com características reversíveis, uma vez que a corrente resultante é dada por: $\Delta I = I_{\text{direta}} - I_{\text{reversa}}$.

Tabela 1 - Parâmetros voltamétricos otimizados e dados obtidos das curvas analíticas da EP e NE.

Parâmetros	EP	NE
Frequência (f) (s^{-1})	150	120
Amplitude (a) (mV)	40	50
Incremento (ΔE_s) (mV)	2	2
Faixa linear ($10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$)	0,45 a 2,55	0,40 a 5,0
Linearidade (r)	0,999	0,998
Sensibilidade (b) ($A / \text{mol L}^{-1}$)	0,018	0,095
LOD ($10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$)	2,5	1,5

Estes resultados estão de acordo com os observados na literatura (WINTER et al., 2007) para as aminas biogênicas com os carboxilatos em solução, que mostraram que a interação de carboxilatos com alguns neurotransmissores evita o fenômeno de passivação de eletrodos sólidos e ainda possibilita a determinação destes em eletrodo de mercúrio. No entanto, estes resultados são dependentes da estrutura do neurotransmissor e do número de carboxilatos desprotonados. Para a dopamina (DA) na presença de citrato observou-se a formação de um par redox com potencial formal de aproximadamente $-0,30 \text{ V}$, possibilitando o estudo eletroquímico de DA sobre o eletrodo de mercúrio (WINTER et al., 2003). O produto de oxidação da DA responsável por este par redox é atribuído ao leucodopaminocromo, o qual é estabilizado pelo citrato, retardando o processo de eletropolimerização, evitando desta forma a passivação da superfície do eletrodo sólido. No

entanto, a EP quando sujeita ao mesmo procedimento, não apresentou par redox em potenciais negativos, indicando que não ocorre interação com o carboxilato. Assim, após estudos com alguns neurotransmissores, foi verificado que para que ocorra a interação com os carboxilatos presentes, é necessário que o neurotransmissor apresente em sua estrutura um grupo catecol e uma amina primária no grupo etileno amino e que os carboxilatos presentes estejam totalmente desprotonados (WINTER et al., 2006).

Desta forma, nas condições em que foram realizadas os estudos com a EP e NE sobre o eletrodo AuDTDPa, onde os carboxilatos presentes no DTDPa, que está imobilizado na superfície do eletrodo, encontra-se na forma desprotonada, pode-se esperar uma maior interação da NE, que apresenta o grupo catecol e a amina primária, do que a EP que apresenta uma amina secundária.

Adicionalmente, verificou-se que a passivação da superfície do eletrodo de ouro liso, observada para a NE, foi evitada quando o eletrodo AuDTDPa foi utilizado (Figura 3).

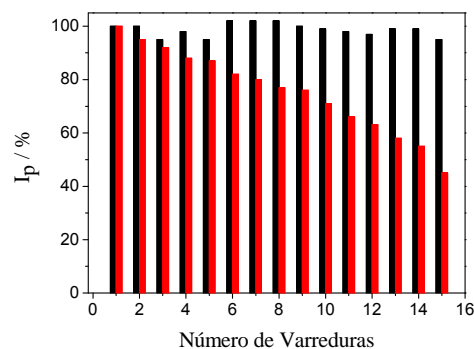


Figura 3 - Avaliação da resposta voltamétrica da NE em termos de intensidade de corrente em função do número de varreduras sobre os eletrodos AuDTDPa (■) e Au (■).

Estes estudos indicam a potencialidade do eletrodo AuDTDPa para a determinação de compostos fenólicos evitando a passivação da superfície do eletrodo, permitindo a obtenção de resultados com maior repetibilidade.

Conclusão

Pode-se observar comparando-se os resultados obtidos que a EP e a NE apresentaram sistema *quasi-reversível* controlado por difusão e reversível controlado adsorção, respectivamente. As curvas analíticas obtidas indicaram que a sensibilidade é maior para a NE do que para a EP. Estes resultados podem estar relacionados com a estrutura química de cada composto, indicando que a presença do grupo catecol em uma amina primária pode facilitar a interação com os

carboxilatos imobilizados por SAM na superfície do eletrodo. Adicionalmente, os valores de detectabilidade encontrados (10^{-6} mol L⁻¹) permitem a utilização da metodologia desenvolvida para a determinação de NE e EP em formulações farmacêuticas.

Desta forma o eletrodo de AuDTDPA e a SWV podem ser uma alternativa viável para a na determinação de EP e NE, apresentando as vantagens de não promover a passivação da superfície do eletrodo e exigir instrumentação de baixo custo

Agradecimentos:

Os autores agradecem à Fapesp e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Referências

- CODOGNOTO L, WINTER E, PASCHOAL J.A.R, SUFFREDINI H.B, CABRAL M.F, MACHADO S.A.S, RATH S. Electrochemical behavior of dopamine at a 3,3 '-dithiodipropionic acid self-assembled monolayers. **Talanta**, v. 72, n. 2, p. 427-433, 2007.

- GROSSMAN, M.; GLOSSER, G.; KALMANSON, J.; MORRIS, J.; STERN, M.B.; HURTIG, H.I. Dopamine supports sentence comprehension in Parkinson's Disease. **J. Neurol. Sci.**, v. 184, n. 2, p. 123 – 130, 2001.

- MIRSKY, V. M. New electroanalytical applications of self-assembled monolayers. **Trends in Anal. Chem.**, v. 21, n. 6-7, p. 439-450, 2002.

- WINTER E, DE CARVALHO R.M, KUBOTA L.T, RATH S. Effect of carboxylate compounds on the electrochemical behavior of dopamine at a mercury electrode. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 4, p. 564-569, 2003.

-WINTER E, CODOGNOTO L, RATH S. Electrochemical behavior of dopamine in the presence of citrate: Reaction mechanism. **Electrochem. Acta**, v. 51, n. 7, p. 1282-1288, 2006.