

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

ESTUDOS VOLTAMÉTRICOS DE ÁCIDO ÚRICO E EPINEFRINA EM ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM POLI-L-CISTEÍNA

Lília Togneri Marconsini¹, Lucas Destefani Paquini², Bruno Regis Lyrio Ferraz¹, Livia Francisca Araújo Dias¹, Luciene Paula Roberto Profeti¹, Josimar Ribeiro², Demetrius Profeti¹.

¹ Universidade Federal do Espírito Santo. Alto Universitário s/n – Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, brunoferraz96@hotmail.com, liliatogneri@hotmail.com, livia.f.dias@edu.ufes.br, luciene.profeti@ufes, demetrius.profeti@ufes.br.

² Universidade Federal do Espírito Santo, Avenida Fernando Ferrari - 29075-910 - Vitória - ES, Brasil, lucasdestefanip@hotmail.com, labpdeletoq@gmail.com.

Resumo

Com o avanço das tecnologias, faz-se necessário o melhoramento de sensores e biossensores que apresentem uma boa correlação custo-benefício-sensibilidade na determinação de Epinefrina (EPI) em condições de interferência com o Ácido Úrico (AU) no organismo humano. Nesse sentido, metodologias eletroquímicas revelam-se como ideais para a realização da identificação e quantificação dessas substâncias, podendo auxiliar no diagnóstico das mais diversas doenças no futuro. Portanto, visando melhor compreensão dessas espécies, o presente trabalho buscou desenvolver estudos voltamétricos sobre um eletrodo de carbono vítreo baseado na incorporação de um filme eletropolimerizado de poli-L-Cisteína para a determinação de EPI e UA em um tampão fosfato. As moléculas apresentaram um aumento na intensidade da corrente de pico anódico com a velocidade de varredura. Além disso, verificou-se que o processo tem natureza irreversível e é controlado por difusão. A variação de pH elucidou que os valores de potencial de pico anódico são deslocados no sentido negativo da faixa de potencial de varredura.

Palavras-chave: Ácido Úrico. Epinefrina. ECV. L-Cisteína. Eletropolimerização.

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra – Química.

Introdução

Nos últimos anos, a avaliação e o desenvolvimento de sensores e biossensores, rápidos e sensíveis, têm ganhado cada vez mais relevância, especialmente aqueles baseados na determinação da quantidade de Ácido Úrico (2, 6, 8 – trihidroxipurina, AU) e Epinefrina (EPI), auxiliando tanto no diagnóstico de diversas doenças a partir de fluídos biológicos, quanto nas demais preparações farmacêuticas. A epinefrina é um importante neurotransmissor de catecolaminas no sistema nervoso central, hormonal e cardiovascular de mamíferos, sendo que as três principais representantes dessa categoria, são a dopamina, a adrenalina e a noradrenalina (ENSAFI et al., 2010b). Desse modo, muitos fenômenos fisiológicos estão correlacionados aos níveis de EPI no corpo, sendo utilizada, principalmente, para o tratamento de infarto do miocárdio, hipertensão, asma brônquica, parada cardíaca e cirurgia cardíaca em clínicas (ENSAFI; TAEI; KHAYAMIAN, 2010).

O Ácido Úrico, por sua vez, é o produto final da metabolização de purinas no fígado, estando presente no soro, sangue e urina (KAUR; HALLIWELL, 1990). Para uma pessoa saudável, os níveis séricos de AU variam de cerca de 41 a 88 mg mL⁻¹, já na excreção urinária, a concentração varia de 250 a 750 mg por dia (ZHENG et al., 2001). Todavia, a sua produção em excesso ou por efeito de algum distúrbio renal e urinário, levam a um aumento no teor de AU no corpo humano, o que está associado a ocorrência de diversas doenças, como hipertensão, diabetes, gota, a Síndrome de Lesch-Nyhan e imunodeficiências. Para tanto, um grande obstáculo encontrado no reconhecimento dessas anormalidades, é a própria detecção da EPI no organismo pela interferência da presença de AU em grandes concentrações, que pode ser oxidado em um potencial muito próximo ao da EPI (ENSAFI et

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

al., 2010a). Assim, suas determinações sempre foram consideradas como um desafio nos estudos no campo da medicina.

Existem alguns métodos aplicados para a determinação dessas espécies, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (SANCHEZ et al., 2004), eletroforese capilar (GUO et al., 2005), análise por injeção em fluxo (GARCIA MATEO; KOJLO, 1997), quimioluminescência (DONG et al., 2016) e espectrofotometria (EFREMOV; ARIESE; GOOIJER, 2008). Por outro lado, essas técnicas têm um custo significativo e um fator de complexidade alto. Muitas vezes, exigindo o acoplamento de outros métodos de detecção para produzir resultados mais refinados. Felizmente, essas substâncias exibem propriedades eletroativas, tornando-as passíveis de investigação por meio de algumas técnicas eletroquímicas (KOÇAK; DURSUN, 2013).

Por isso, vários métodos eletroanalíticos têm sido amplamente utilizados para determinar a concentração de AU na presença de EPI (MAJER; FINŠGAR, 2023), utilizando diferentes tipos de eletrodos, especialmente, eletrodos de carbono vítreo modificados com filmes poliméricos, por serem de simples preparação e de baixo custo (SUKANYA et al., 2023). Esses eletrodos modificados possuem propriedades eletroanalíticas muito favoráveis para serem usadas como sensores, pois possuem boa sensibilidade, alta capacidade catalítica, estabilidade e ampla janela de potencial e, além disso, podem facilmente permitir a incorporação de muitas moléculas em sua superfície (MANJUNATHA et al., 2018). Portanto, nesse presente trabalho, propõe-se um estudo sobre um eletrodo de carbono vítreo baseado na eletropolimerização de poli-L-Cisteína e a sua resposta na determinação analítica de AU e EPI.

Metodologia

Estudos a fim de averiguar o comportamento voltamétrico dos analitos foram conduzidos empregando um potenciostato PGSTAT 128N (Metrohm Autolab B.V., Utrecht, and The Netherlands), e uma célula eletroquímica de três eletrodos – um eletrodo de carbono vítreo (ECV) com diâmetro de 3,00 mm como eletrodo de trabalho, modificado com um filme eletropolimerizado de poli-L-Cisteína, na concentração de $5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ preparada em KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e pH = 7,00. O filme de poli-L-Cisteína foi produzido por meio da aplicação de um voltametria cíclica (CV) em 12 ciclos de varredura, em uma janela de potencial de -0,200 V a +0,800 V vs Ag/AgCl_{sat}. Além disso, um fio de platina foi utilizado como contra-eletrodo e um eletrodo de Ag/AgCl_{sat} em meio a KCl ($3,00 \text{ mol L}^{-1}$) como referência.

Os estudos voltamétricos empregaram a técnica de CV em duas amostras distintas, Epinefrina (EPI) e Ácido Úrico (AU), na concentração de $8,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ preparada em um tampão fosfato (HAc, H₃PO₄, H₃BO₃ e NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$) e pH = 5,00. A velocidade de varredura aplicada nos experimentos de CV variou de $0,010 \text{ V s}^{-1}$ a $0,100 \text{ V s}^{-1}$, no intervalo de -0,200 V a +1,40 V vs Ag/AgCl_{sat}.

O efeito do pH foi avaliado por CV (faixa de 2 – 12), sob uma velocidade de varredura de $0,100 \text{ V s}^{-1}$ e os analitos foram preparados na mesma condição anterior. Os dados obtidos foram ajustados à equação de Nernst modificada em função da concentração hidrogeniônica do meio, conforme a Eq. 1.

$$E_p = -\frac{2,303RT}{nF} \cdot \log[H^+] \quad \text{Eq. 1}$$

Onde E_p é o potencial de pico anódico (V); R é a constante universal dos gases ($\text{J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$); T é a temperatura do sistema (K); n é o número de mols de elétrons transferidos na reação e F é a constante de Faraday (96500 C mol^{-1}). Considerando a linearidade do modelo, a interpolação de valores de E_p contra pH deverá resultar em uma reta com inclinação em $-2,303RT/nF$.

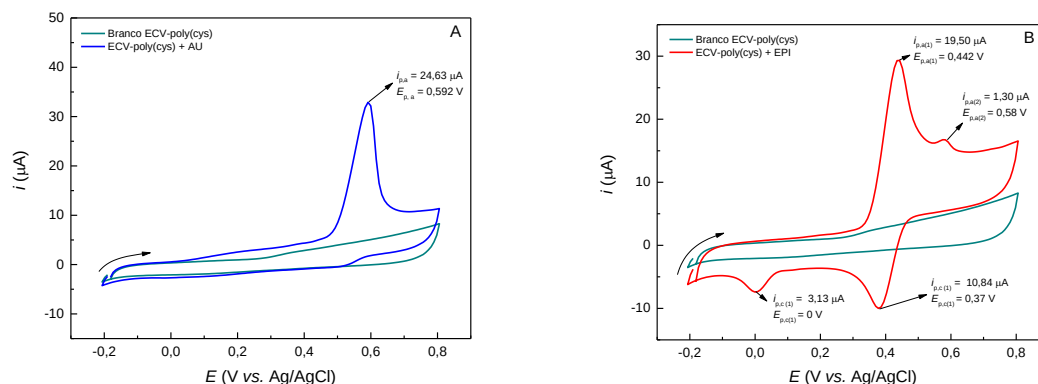
Todos os reagentes usados foram de grau analítico e a água ultrapura foi obtida pelo sistema de purificação Mili Q®. Bem como, no intervalo entre duas análises, polimentos no ECV foram realizados utilizando uma suspensão de alumina de $0,050 \mu\text{m}$.

Resultados

Considerando a metodologia descrita, foi possível obter os dados referentes aos procedimentos eletroquímicos de CV. A Figura 1 indica o comportamento ciclovoltagemétrico do sistema em presença e ausência de AU e EPI, respectivamente.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

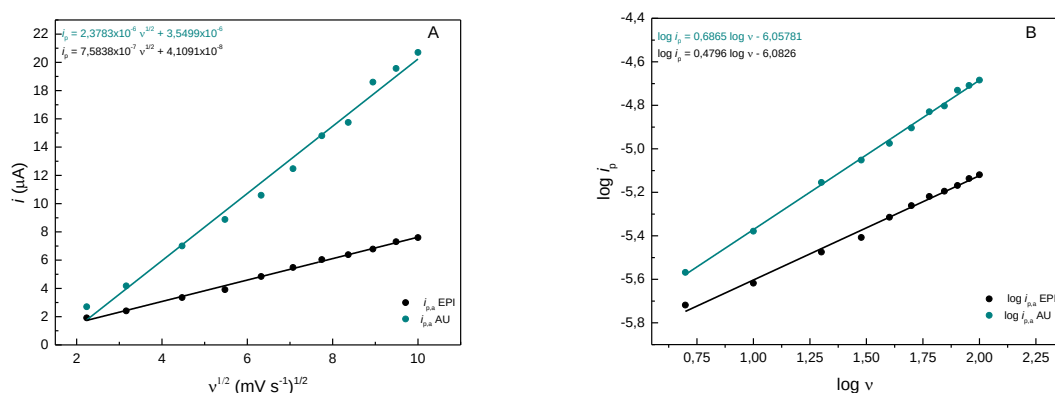
Figura 1 - (A) Comportamento ciclovoltamétrico de (---) AU ($8,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) + ECV-poly(cys) ($0,005 \text{ mol L}^{-1}$) e (—) apenas ECV-poly(cys) ($0,005 \text{ mol L}^{-1}$), (B) Comportamento ciclovoltamétrico de (---) EPI ($8,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) + ECV-poly(cys) ($0,005 \text{ mol L}^{-1}$) e (—) apenas ECV-poly(cys) ($0,005 \text{ mol L}^{-1}$). Condições experimentais: $\nu = 0,100 \text{ V s}^{-1}$; pH = 5,00; Faixa de potencial = $-0,200 \text{ V} - 1,40 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$; $C_{\text{ECV-poly(cys)}} = 5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.



Fonte: O autor (2023).

Além do perfil ciclovoltamétrico dos analitos, bem como, do ECV modificado, ainda é possível identificar a relação entre picos de oxidação e de redução. Com isso, pode-se relacionar as correntes de pico com a raiz quadrática da velocidade de varredura, e entre o logaritmo de i_p contra o logaritmo da velocidade de varredura (BARD; FAULKNER, 2001). Para tanto, os dados experimentais de CV foram ajustados ao modelo linear de Randles-Sevcik, para verificar a reversibilidade/irreversibilidade do processo redox do AU e da EPI na superfície do ECV modificado. A Figura 2 apresenta os gráficos relacionados as interpolações de i_p contra $\nu^{1/2}$, e $\log i_p$ contra $\log \nu$.

Figura 2 - (A) Gráfico de corrente de pico anódico contra a raiz quadrada das velocidades de varredura e (B) Gráfico de $\log i_p$ contra $\log \nu$ para os voltamogramas obtidos. Inserção: Equação da reta e coeficiente de determinação pertinente a regressão. Condições experimentais: $\nu = 0,01 \text{ V s}^{-1} - 0,100 \text{ V s}^{-1}$; pH = 5,00; Faixa de potencial = $-0,200 \text{ V} - 1,40 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$; $C_{\text{ECV-poly(cys)}} = 5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

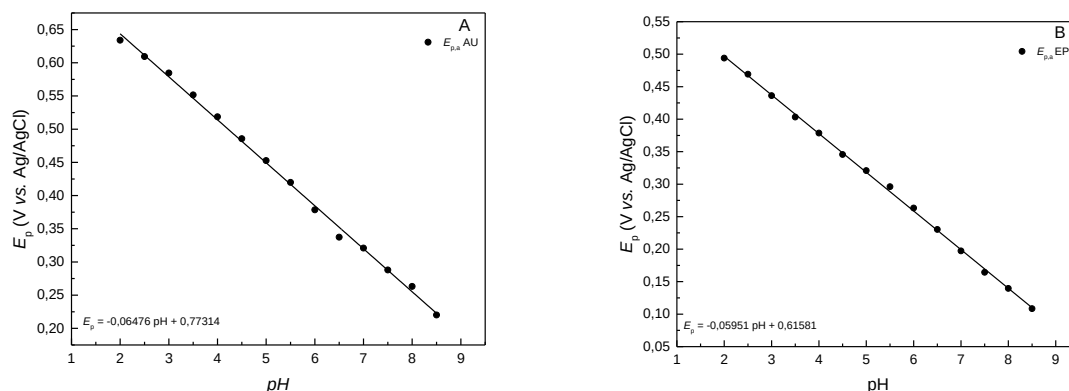


Fonte: O autor (2023).

Estudos acerca do efeito do pH no potencial de pico anódico do AU e da EPI, na superfície do ECV modificado, também foram conduzidos pelo ajuste dos dados experimentais à equação linear de Nernst, como evidencia a Figura 3.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Figura 3 - (A) Gráfico do efeito do pH sobre o comportamento do potencial de pico anódico da AU em ECV-poly(cys), (B) Gráfico do efeito do pH sobre o comportamento do potencial de pico anódico da EPI em ECV-poly(cys) (equação de Nernst). Inserção: Equação da reta e coeficiente de determinação intrínsecos a regressão. Condições experimentais: $\Delta pH = 2 - 12$; Faixa de potencial = $-0,200 \text{ V} - 1,40 \text{ V}$ vs. $\text{Ag/AgCl}_{\text{sat.}}$; $C_{\text{ECV-poly(cys)}} = 5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.



Fonte: O autor (2023).

Discussão

O comportamento eletroquímico das moléculas de AU e EPI foi investigado por meio da técnica de CV dentro de uma faixa de $-0,200 \text{ V}$ a $+1,40 \text{ V}$, sob uma velocidade de varredura de $0,100 \text{ V s}^{-1}$. Esse procedimento permitiu elucidar o comportamento presente na Figura 1A, a qual permite verificar uma única região de oxidação durante a varredura de potencial no sentido direto, localizada em $E_p = +0,592 \text{ V}$. De modo geral, o processo oxidativo observado para a molécula de AU pode ser atribuído a transferência eletrônica direta entre a superfície do ECV e a molécula, possivelmente devido a área da superfície fornecida pelo filme polimérico (KOÇAK; DURSUN, 2013). Na figura 1B, é possível verificar 2 regiões de oxidação com potenciais de pico de $+0,442 \text{ V}$ e $+0,580 \text{ V}$, e um processo de redução no potencial de $+0,37 \text{ V}$ e 0 V , quando a varredura de potenciais foi revertida, correspondente com o estudo de El Bouhouti et al (2009).

O efeito da variação de velocidade de varredura de potenciais sobre o potencial e corrente de pico foi investigado. Conforme mostrado na Figura 2A, a variação da corrente do pico anódico possui uma relação linear com a raiz quadrada da velocidade de varredura, acompanhado ainda de um deslocamento positivo do valor do potencial. Esse comportamento indica que o processo de oxidação possui caráter irreversível. Ainda, a interpolação de pontos de $\log i_p$ contra $\log v$ (Figura 2B), permitiu determinar a natureza do transporte de massa envolvido no processo. Com isso, a regressão linear intrínseca a curva gerada para EPI apresentou um ajuste de $R^2 = 0,99824$ e a seguinte equação da reta:

$$\log i_p = 0,6865 \log v - 6,05781 \quad \text{Eq.2}$$

Já a regressão linear intrínseca a curva gerada para AU apresentou um ajuste de $R^2 = 0,99333$ e a seguinte equação da reta:

$$\log i_p = 0,4796 \log v - 6,08260 \quad \text{Eq.3}$$

Na literatura, Bard e Faulkner (2001), salientam que em um gráfico $\log i_p$ contra $\log v$ terá caráter linear e com inclinação igual a $0,500$ em processos controlados majoritariamente por difusão. Por outro lado, os autores salientam também que caso a inclinação apresente valor igual a $1,0$, o processo de transferência de massa será governado por adsorção. Já em casos intermediários, valores entre $0,500$ e $1,00$ sugerem que o processo apresente natureza mista, controlados por difusão e adsorção simultaneamente. Portanto, no presente trabalho constata-se que a inclinação foi de $0,6865$ para a EPI, assim, por se referir a um valor intermediário, mais próximo a $0,7$, o processo é de caráter

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

misto, com a ocorrência simultânea de adsorção e difusão, no intervalo de velocidades de varredura estudado. Por outro lado, pode-se analisar o voltamograma do AU, na qual obteve-se uma inclinação de 0,4796, próximo do valor teórico de 0,5, corroborando com o esperado para reação de espécies em solução, indicando ainda que o processo é predominantemente controlado por difusão no eletrodo modificado.

O efeito da variação do pH sobre as medidas de CV foi estudado e os resultados apresentados na Figura 3 (A-B). Os potenciais de pico anódico de EPI e AU foram deslocados de forma linear de acordo com a alcalinização da solução sob uma inclinação de 0,05961 V e 0,06476 V, respectivamente. Desse modo, os dados obtidos com as varreduras concordam diretamente com o trabalho desenvolvido por Ensafi et al., (2010b) os quais evidenciaram um súbito deslocamento nos valores de E_p para o sentido negativo à medida que o pH do meio aumentava, utilizando um ECV com a superfície modificado por eletropolimerização de 3,3'-bis[N,N-bis(carboximetil)aminometil]-o-cresolftaleína. Além do comportamento de E_p , os estudos de variação de pH também permitiram determinar o comportamento eletroquímico dos analitos frente a equação de Nernst modificada (equação 1). Com isso, como a Figura 3 evidencia dois comportamentos lineares distintos para os dados de E_p contra pH, fazendo-se uso de tratamentos de parametrização, verifica-se que o número de prótons transferidos no processo redox é igual a 1 e aproximadamente igual ao número de elétrons, ou seja, $nH^+ = ne^- = 1,0$. De acordo com Bard e Faulkner (2001), em processos com características similares ao obtido, infere-se que a reação apresenta um comportamento Nernstiano, ou seja, segue um comportamento eletroquímico previsto pela equação de Nernst. As equações referentes a cada reta estão presentes na área de plotagem do gráfico.

Conclusão

No presente estudo, um ECV foi preparado baseado na incorporação de um filme eletropolimerizado de poli-L-Cisteína. O eletrodo modificado apresentou um comportamento apropriado, resposta eletrocatalítica, resolução e seletividade do sinal do EPI e do AU, individualmente, apropriados quando comparado com outros valores de detecção similar relatados na literatura. Constatou-se, então, que os valores de corrente de pico anódico (i_p) tendem a aumentar à medida que a velocidade de varredura cresce. Ademais, observou-se uma relação linear entre i_p e velocidade de varredura, logo o processo redox na superfície do ECV tem caráter irreversível. Ainda, por meio da regressão linear dos dados de $\log i_p$ contra $\log v$, foi possível esclarecer a natureza do processo de transferência de massa, e a reação redox do EPI e da AU em $C_{ECV-poly(cys)}$ é controlada por difusão, com uma inclinação de 0,6865 e 0,4796, respectivamente. Por último, com o efeito da variação do pH, observa-se que à medida que o sistema é alcalinizado, os valores de potencial de pico anódico são deslocados no sentido negativo da faixa de potencial de varredura.

Referências

- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. Fundamentals and applications. **Electrochemical methods**, v. 2, n. 482, p. 580–632, 2001.
- DONG, Y.-P. et al. Electrogenenerated chemiluminescence resonance energy transfer between lucigenin and CdSe quantum dots in the presence of bromide and its sensing application. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 226, p. 444–449, abr. 2016.
- EFREMOV, E. V.; ARIESE, F.; GOOIJER, C. Achievements in resonance Raman spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 606, n. 2, p. 119–134, jan. 2008.
- EL BOUHOUTI, H. et al. Electrochemical behaviour of epinephrine and uric acid at a Sonogel–Carbon I-Cysteine modified electrode. **Talanta**, v. 79, n. 1, p. 22–26, 30 jun. 2009.
- ENSAFI, A. A. et al. Highly selective determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid by differential pulse voltammetry using poly(sulfonazo III) modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 147, n. 1, p. 213–221, 18 maio 2010a.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

ENSAFI, A. A. et al. Simultaneous determination of ascorbic acid, epinephrine, and uric acid by differential pulse voltammetry using poly(3,3'-bis[N,N-bis(carboxymethyl)aminomethyl]-o-cresolsulfonephthalein) modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 150, n. 1, p. 321–329, set. 2010b.

ENSAFI, A. A.; TAEI, M.; KHAYAMIAN, T. Simultaneous determination of ascorbic acid, epinephrine, and uric acid by differential pulse voltammetry using poly(p-xyleneolsulfonephthalein) modified glassy carbon electrode. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, n. 2, p. 480–487, set. 2010.

GARCIA MATEO, J. V.; KOJLO, A. Flow-injection biampereometric determination of epinephrine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, n. 12, p. 1821–1828, ago. 1997.

GUO, B.-Y. et al. Separation and determination of phospholipids in plant seeds by nonaqueous capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 1074, n. 1–2, p. 205–213, maio 2005.

KAUR, H.; HALLIWELL, B. Action of biologically-relevant oxidizing species upon uric acid. Identification of uric acid oxidation products. **Chemico-Biological Interactions**, v. 73, n. 2–3, p. 235–247, 1990.

KOÇAK, Ç. C.; DURSUN, Z. Simultaneous determination of ascorbic acid, epinephrine and uric acid at over-oxidized poly(p-aminophenol) film modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 694, p. 94–103, abr. 2013.

MAJER, D.; FINŠGAR, M. The development, validation, and optimization of a SWAdSV method for the simultaneous determination of epinephrine and uric acid in real samples using a poly(L-cysteine) modified SPCE sensor. **Microchemical Journal**, v. 193, p. 109142, out. 2023.

MANJUNATHA, J. G. et al. Fabrication of poly (Solid Red A) modified carbon nano tube paste electrode and its application for simultaneous determination of epinephrine, uric acid and ascorbic acid. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, n. 2, p. 149–158, fev. 2018.

SANCHEZ, A. et al. A simple high-performance liquid chromatography assay for on-line determination of catecholamines in adrenal gland by direct injection on an ISRP column. **Pharmacological Research**, v. 50, n. 5, p. 481–485, nov. 2004.

SUKANYA, S. D. et al. A novel, extreme low-cost poly (Erythrosine) modified pencil graphite electrode for determination of Adrenaline. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 4523, 20 mar. 2023.

ZHENG, L. et al. Selective Determination of Uric Acid by Using a β -Cyclodextrin Modified Electrode. **Electroanalysis**, v. 13, n. 16, p. 1351–1354, nov. 2001.

Agradecimentos

Agradecemos à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), a CAPES, FAPES e ao CNPq.