

Electrochemical behavior of dopamine in presence of Ascorbic Acid by using an electrochemical modified gold electrode and an electrochemical and chemical modified gold electrode with a thiol

Sabino Menolasina¹, Ricardo R. Contreras², Anfrelis Aguilar¹,
Olga Contreras¹ and Alexis Rodríguez²

¹Laboratorio de Análisis Instrumental, Departamento de Análisis y Control, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ²Laboratorio de Organometálicos, Departamento de Química, Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela

Abstract

This paper presents the results about the detection and quantification of dopamine (DA) in presence of ascorbic acid (AA) by using an electrochemical modified gold electrode and an electrochemical and chemical modified gold electrode with a self assembled monolayer of a novel compound, the *N*-methyl-1-cyclopenten-2-dithiocarboxylic acid. The cyclic voltammetry (CV) and Square Wave Voltammetry (SWV) techniques were using for these experiments.

Key words: Electrochemical and chemical modified gold electrodes.

Comportamiento electroquímico de la dopamina en presencia de ácido ascórbico utilizando un electrodo de oro modificado electroquímicamente y un electrodo de oro modificado electroquímicamente y químicamente con un tiol

Resumen

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos de la detección y cuantificación electroquímica de la dopamina (DA) en presencia de ácido ascórbico (AA) haciendo uso de un electrodo de oro modificado electroquímicamente y un electrodo de oro modificado electroquímicamente y químicamente con una película de un compuesto novel, el ácido 2-*N*-metil-1-ciclopenten-1-ditiocarboxílico utilizando las técnicas de Voltamperometría Cíclica (VC) y Voltamperometría de Onda Cuadrada (VOC).

Palabras clave: Electroodos de oro modificados electroquímicamente y químicamente.

Introducción

Existe una gran variedad de compuestos químicos llamados neurotransmisores que son liberados por las neuronas. Entre estos compuestos se tienen a las catecolaminas, serotonina y sus metabolitos que son fácilmente oxida-

bles y a la concentración en que se encuentran en el líquido extracelular permiten su detección electroquímica. Entre las catecolaminas, tenemos a la dopamina (DA), la cual es un neurotransmisor que juega un papel fisiológico muy importante como mensajero químico a nivel neuronal. La enfermedad de Parkinson es producto

de un desorden degenerativo crónico y lentamente progresivo a nivel cerebral, cuyos síntomas incluyen postura rígida, temblor de reposo, lentitud del movimiento voluntario; en esta enfermedad la principal anomalía bioquímica es la deficiencia de DA en el cuerpo estriado (núcleo caudado y putamen). Para avanzar sobre la patología y tratamiento de esta enfermedad y otras que se producen como consecuencia de la variación de la concentración de DA en ciertas regiones del cerebro se requiere el desarrollo de nuevos métodos para la detección y cuantificación de este neurotransmisor. Es por eso que el comportamiento electroquímico de la DA reviste tanto interés [1, 2]. La DA se oxida fácilmente en un intervalo de potencial donde el medio electrolítico no se descompone. Sin embargo la determinación electroquímica de la DA es complicada debido a la interferencia de varias sustancias presentes en el medio donde ésta se oxida. El ácido ascórbico (AA) es una de esas sustancias que se encuentran presente en grandes concentraciones y se oxida a potenciales cercanos al propio potencial de oxidación de la DA [3, 4].

Por otro lado, la oxidación de la DA puede ser electrocatalizada por el AA [5]. El AA es oxidado por el producto de la oxidación de DA, lo que hace que dicho producto se reduzca para dar origen nuevamente a DA.

Para incrementar la selectividad en la detección de DA se han desarrollado muchos métodos relacionados con el pretratamiento y modificación de la superficie del electrodo utilizado como sensor electroquímico [6-9]. El uso de electrodos de oro con monocapas catiónicas auto ensambladas de tioles ha permitido separar la señal electroquímica de DA y AA [10]. Estas monocapas catiónicas ejercen un efecto electrocatalítico respecto al potencial de oxidación del AA observado en un electrodo de oro sin modificar. La interacción electrostática entre la monocapa catiónica y las moléculas de AA cargadas negativamente desplazan el potencial de oxidación del AA hacia potenciales menos positivos, mientras que producen un efecto contrario sobre la oxidación de DA, debido a que en medio electrolítico de pH 7 las moléculas de DA se encuentran cargadas positivamente [10].

El uso de técnicas electroquímicas, tales como Voltamperometría Cíclica (VC) y Voltamperometría de Onda Cuadrada (VOC) permiten ca-

racterizar el comportamiento electroquímico de sustancias electroactivas como la DA y el AA. La técnica de VC permite investigar la reversibilidad del proceso electroquímico y la estabilidad del analito en los diferentes estados de oxidación que puede presentar dicho proceso electroquímico, permitiendo además evaluar el estado de limpieza de la superficie electródica, así como, los procesos de adsorción que se pueden originarse sobre dicha superficie [11].

La técnica de VOC permite el análisis de un sinnúmero de muestras de una manera más rápida con respecto al uso de otras técnicas electroquímicas y permite además determinar cambios en la respuesta voltamétrica a tiempos muy cortos, los cuales pueden ser causados por cambios cinéticos tanto homogéneos o heterogéneos, que se llevan a cabo en la superficie del electrodo [11].

Por otro lado, en el análisis de trazas, la reducción de oxígeno produce grandes corrientes de base, las cuales pueden afectar el estudio electroquímico, por lo que el uso de la técnica de VOC permite que dichas corrientes sean suprimidas completamente. Además la corriente registrada por esta técnica es insensible a la corriente producida por el transporte de masa por convección siempre y cuando, el tiempo de transporte de masa sea mayor al ancho de pulso voltamétrico [11].

En el presente trabajo el tratamiento electroquímico aplicado a la superficie del electrodo de oro permite distinguir entre la señal de oxidación de DA y de AA. Sin embargo no evita la contaminación del mismo por los productos de la oxidación de la DA y del AA. La modificación química de la superficie del electrodo de oro por adsorción de una película de ácido 2-*N*-metil-1-ciclopenten-1-ditiocarboxílico, un novedoso proligando organosulfurado sintetizado por el método de Contreras *et al.* [12], permite separar la señal de oxidación de la DA y el AA producida en medio electrolítico buffer acetato pH 5,1. Además impide la pasivación de la superficie del electrodo de oro por adsorción de especies que puedan originarse durante el proceso de oxidación de la DA en presencias de AA.

Parte Experimental

Los experimentos por VC y VOC se realizaron utilizando una celda de vidrio de un compar-

timiento y tres electrodos. Un electrodo de Ag/AgCl (sat) fue utilizado como electrodo de referencia y un alambre de platino como electrodo secundario. Como electrodo de trabajo se utilizaron dos tipos de electrodos de oro:

Un electrodo de oro modificado electroquímicamente. El electrodo de oro fue pulido con diferentes grados de alúmina (0,3 y 0,05 μm) provenientes de la Buehler usando agua desionizada como lubricante. Posterior a dicha limpieza mecánica, el electrodo de oro fue ciclado entre $-0,2\text{V}$ hasta $1,6\text{V}$ vs. Ag/AgCl (sat) en una solución $0,1\text{M}$ HClO_4 durante sesenta barridos por VC a 200 mV s^{-1} .

Un electrodo de oro modificado electroquímicamente y químicamente con un tiol novel. Una vez que el electrodo de oro fue tratado siguiendo el procedimiento descrito anteriormente se procedió a su modificación química sumergiendo dicho electrodo en una solución saturada de ácido 2-*N*-metil-1-ciclopenten-1-ditiocarboxílico ($\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NS}_2$) en cloroformo durante 10 min. La superficie del electrodo de oro es modificada químicamente por la adsorción de dicho tiol.

Los experimentos por VC y VOC se realizaron utilizando un analizador electroquímico $\mu\text{AUTOLAB}$. Todo el material de vidrio fue lavado inicialmente con detergente y abundante agua desionizada. Los reactivos fueron de grado analítico de la RDH y utilizados sin ningún tratamiento adicional de purificación.

Resultados y Discusión

La Figura 1.I muestra los voltamperogramas obtenidos por VC del comportamiento de la oxidación de DA y AA en una solución buffer acetato pH 5 cuando se utiliza un electrodo de oro modificado electroquímicamente. El voltamperograma presentado con una línea discontinua corresponde al obtenido en la solución buffer que contiene $640\text{ }\mu\text{M}$ de DA. En este voltamperograma se puede apreciar que la oxidación de DA un proceso cuasi reversible. El voltamperograma presentado con una línea continua corresponde al obtenido en la solución buffer que contiene $640\text{ }\mu\text{M}$ DA y $1000\text{ }\mu\text{M}$ AA. En este voltamperograma se pueden apreciar dos picos, un pico a $0,1\text{ V}$ correspondiente a la oxidación del AA y otro

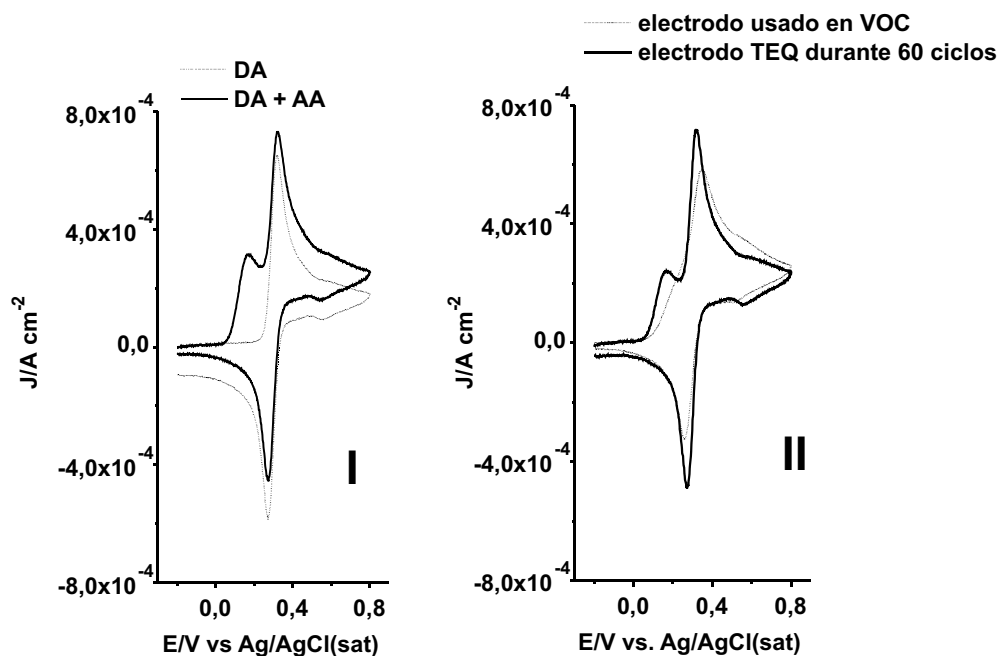


Figura 1. I) Voltamperogramas obtenidos en una solución buffer acetato pH 5,1 + $640\text{ }\mu\text{M}$ DA y una solución buffer acetato pH 5,1 + $640\text{ }\mu\text{M}$ DA + $1000\text{ }\mu\text{M}$ AA utilizando un electrodo de oro recién modificado electroquímicamente; II) Voltamperogramas obtenidos en una solución buffer acetato pH 5,1 + $640\text{ }\mu\text{M}$ DA + $800\text{ }\mu\text{M}$ AA con un electrodo de oro recién modificado electroquímicamente y después de haber utilizado dicho electrodo en una serie de experimentos por VOC; $\nu = 200\text{ mV s}^{-1}$.

a 0,3 V correspondiente a la oxidación de DA. Este resultado muestra que bajo las condiciones del tratamiento electroquímico aplicado al electrodo de oro pueden separarse las señales de oxidación de DA y AA en una mezcla de estos compuestos.

En la Figura 1.II se muestra los voltamperogramas obtenidos por VC de la oxidación de la DA y del AA en una solución buffer acetato pH 5,1 que contiene 640 μM de DA y 800 μM de AA cuando se utiliza un electrodo recién modificado electroquímicamente (voltamperograma representado en línea continua) y después de haber sido utilizado dicho electrodo en experimentos por VOC en soluciones donde se mantuvo constante la concentración del AA en 1000 μM y se cambió la concentración de DA (voltamperograma representado en línea discontinua). Se puede observar que en el voltamperograma de línea discontinua los picos de oxidación de DA y de AA no pueden ser diferenciados entre sí y que la señal de la corriente de oxidación que se observa se encuentra disminuida con respecto a la señal de oxidación de DA cuando se utiliza un electrodo recién modi-

ficado electroquímicamente. Estos resultados muestran que el electrodo de oro modificado electroquímicamente una vez utilizado por VOC en una serie de experimentos no permite diferenciar entre las señales de oxidación de AA y de DA y resulta menos sensible a la señal de oxidación de la DA debido a que los productos de la oxidación de AA y de DA, contaminan la superficie del electrodo de oro.

La Figura 2.I muestra la familia de voltamperogramas obtenidos por VOC manteniendo constante la concentración de AA en 1000 μM y variando la concentración de DA entre 30 a 640 μM . La Figura 2.II muestra el comportamiento de i_p vs. concentración de DA. Se observa en esta figura que el comportamiento no es lineal lo cual indica que el electrodo de oro es contaminado por los productos de la oxidación de la DA y del AA.

La Figura 3 muestra el comportamiento de la oxidación de DA en presencia de AA cuando se emplean, un electrodo de oro tratado electroquímicamente y un electrodo de oro que además de haber sido tratado electroquímicamente fue mo-

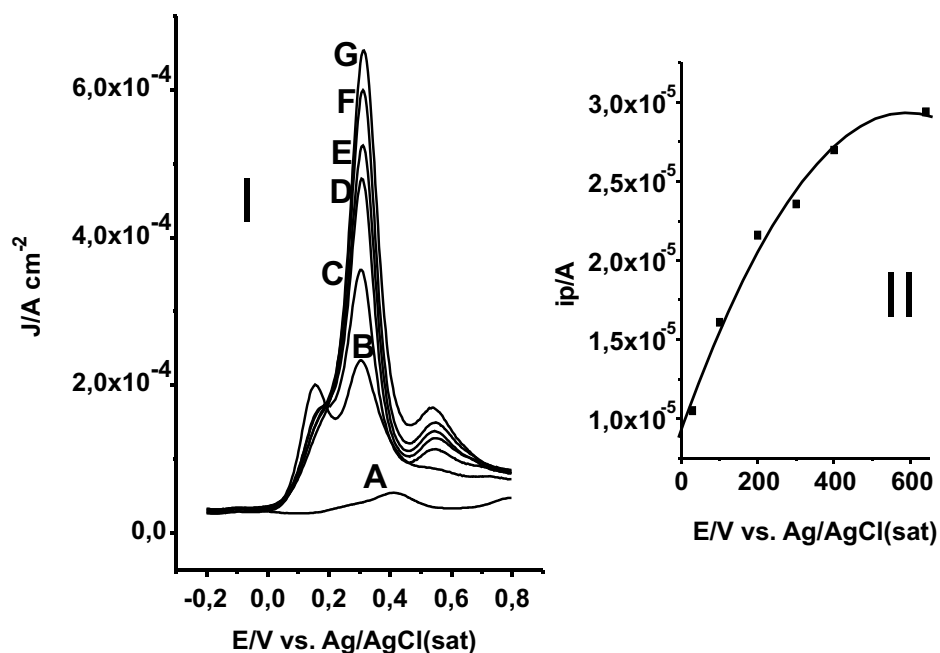


Figura 2. I) Voltamperogramas de onda cuadrada obtenidos en una solución buffer acetato pH 5,1 para un electrodo de oro modificado electroquímicamente: A) en ausencia de DA y AA; B....G) en presencia de 1000 μM AA y concentraciones variables de DA: 30; 100; 200; 300; 400 y 640 μM ; frecuencia: 60 Hz y amplitud: 25 mV. II) Comportamiento de la corriente de pico con la concentración de DA en presencia de 1000 mM AA (datos tomados de I).

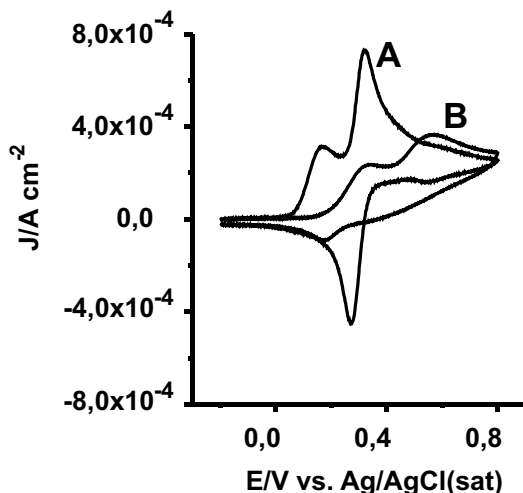


Figura 3. Voltamperogramas obtenidos en una solución buffer acetato pH 5,1 con A) un electrodo de oro tratado electroquímicamente y B) con un electrodo de oro modificado químicamente con ácido *N*-metil-1-ciclopenten-2-ditiocarboxílico en presencia de 640 μM DA + 1000 μM AA; $\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$.

dificado químicamente con una película de ácido 2-*N*-metil-1-ciclopenten-1-ditiocarboxílico. Se observa que la señal de oxidación de DA en el electrodo modificado con el tiol se ha desplazado 0,28 V y la de AA 0,15 V hacia valores más positivos con respecto a las señales de oxidación de estos compuestos en el electrodo sin modificar. Este comportamiento sugiere que la monocapa adsorbida del ácido 2-*N*-metil-1-ciclopenten-1-ditiocarboxílico, actúa como una barrera para la oxidación de DA en mayor proporción con respecto a la oxidación del AA. A pH 5,1 la dopamina se encuentra en su forma catiónica y el AA en su forma aniónica, lo que nos hace suponer que el efecto de bloqueo para la oxidación de DA es más pronunciado debido a que al pH de la solución buffer la monocapa adsorbida esta cargada positivamente ejerciendo una repulsión electrostática con las moléculas de DA.

La Figura 4.I muestra la familia de voltamperogramas obtenidos con un electrodo de oro modificado con ácido 2-*N*-metil-1-ciclopenten-1-ditiocarboxílico por VOC, al mantener

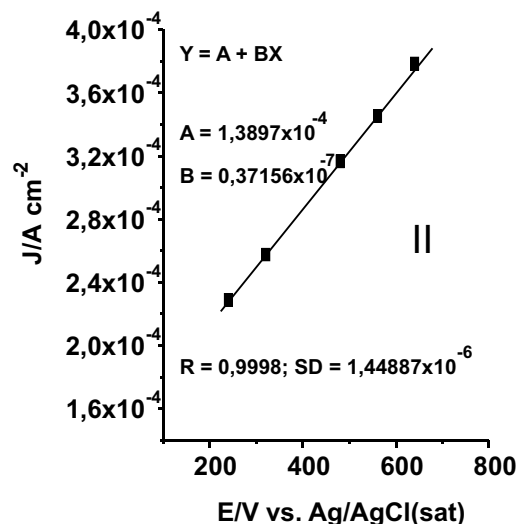
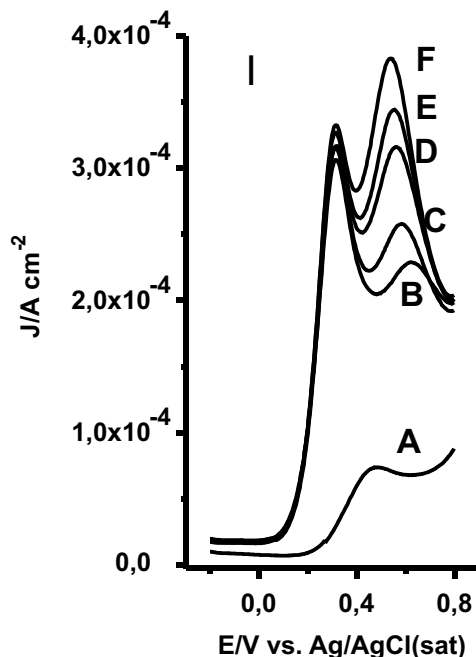


Figura 4. I) Voltamperogramas de onda cuadrada obtenidos en una solución buffer acetato pH 5,1 para un electrodo de oro modificado químicamente con ácido *N*-alquil-1-ciclopenten-2-ditiocarboxílico después de TEQ sobre el electrodo: A) en ausencia de DA y AA; B....F) en presencia de 1000 μM AA y concentraciones variables de DA: 240; 320; 480; 560 y 640 μM ; frecuencia: 60 Hz y amplitud: 25 mV. II) Comportamiento de la densidad de corriente de pico con la concentración de DA en presencia de 1000 μM AA (datos tomados de I).

constante la concentración de AA en 1000 μM y variar la concentración de DA entre 240 a 640 μM . La Figura 4.II muestra el comportamiento lineal de I_p vs. concentración de DA. Este comportamiento muestra que la modificación química del electrodo de oro con ácido 2-*N*-metil-1-ciclopenten-1-ditiocarboxílico permite la cuantificación de la DA en presencia de AA. El límite de detección de DA en presencia de AA es de 12 μM .

Conclusiones

La técnica de VC permite investigar la reversibilidad del proceso electrooxidación de DA, así como los procesos de adsorción producidos en la superficie del electrodo de oro modificado electroquímicamente.

El uso de VC y electrodos de oro modificados electroquímicamente permite separar las señales de oxidación de DA y de AA por VC.

La técnica de VOC en soluciones de DA y AA utilizando el electrodo de oro modificado electroquímicamente no permite cuantificar la concentración de DA debido al envenenamiento del electrodo de trabajo por productos de oxidación de ambas sustancias.

El uso de electrodos de oro modificados primero electroquímicamente y luego químicamente con ácido 2-*N*-metil-1-ciclopenten-1-ditiocarboxílico permite separar las señales de oxidación de DA y de AA y cuantificar mediante VOC la concentración de DA en presencia de AA en solución buffer de acetato pH 5,1 debido a que la monocapa de tiol adsorbida evita el envenenamiento de la superficie del electrodo con productos de la oxidación de la DA y del AA. El límite de detección es de 12 μM para DA.

Referencias Bibliográficas

- Adams R.N., Justice J.B., Jr., Editors: "Voltammetry in the Neurosciences: Principles Methods and Applications". The Humana Press, Clifton, NJ 1987.
- Stamford J.A., Justice J.B., Jr.: "Probing brain chemistry". *Anal. Chem.*, Vol. 69 (1996) 359A-363A.
- Boulton A., Baker G., Adams R.N.: "Voltammetric Methods and rain Systems". The Humana Press, Clifton, NJ 1995.
- Gonon F., Buda M., Pujol J.F.: "Measurements of Neurotransmitter Release in Vivo". En: Marsden C.A., Editor, Wiley, Chichester (1984) 153-167.
- Justice J.B., Jaramillo Jr.A.: "Selectivity and kinetics of catecholamine oxidation at modified carbon paste electrodes". *J. Electrochem. Soc.* Vol. 131 (1984) C106-C106.
- Zhao H., Zhang Y., Yuan Z.: "Determination of Dopamine in the Presence of Ascorbic Acid Using Poly (hippuric acid) Modified Glassy Carbon Electrode". *Electroanalysis* Vol. 14 (2002) 1031-1034.
- Ciszewski A., Milczarek G.: "Polyengonol-modified platinum electrode for selective detection of dopamine in the presence of ascorbic acid". *Anal. Chem.* Vol. 71 (1999) 1055-1061.
- Duong B., Arechavaleta R., Tao N.J.: "In situ AFM/STM characterization of porphyrin electrode films for electrochemical detection of neurotransmitters". *J. Electroanal. Chem.* Vol. 447 (1998) 63-69.
- Fragoso A., Almirall E., Cao R., Echegoyen L., González R.: "A supramolecular approach to the selective detection of dopamine in the presence of ascorbate". *Chemical Communications*, Vol. 2004, No. 19 (2004) 2230-2231.
- Raj C.R., Tozuda K., Osaka T.: "Electroanalytical applications of cationic self-assembled monolayers: square-wave voltammetric determination of dopamine and ascorbate"; *Bioelectrochemistry*, Vol 53, (2001) 183-191.
- Menolasina S., "Fundamentos y Aplicaciones de Electroquímica", Consejo de Publicaciones ULA, Mérida, 2004.
- Contreras R.R., Fontal B., Reyes M., Suárez T., Bellandi F., Rodríguez A., Cancines P.: "Síntesis y Caracterización de Nuevos Liganos Derivados del Ácido 2-amino-1-ciclopenten-1-ditiocarboxílico"; *Acta Cient. Venez.*, Vol. 55 (2004) 398.

Recibido el 12 de Junio de 2006

En forma revisada el 18 de Junio de 2007