

ULL

Universidad
de La Laguna



Detección de neurotransmisores por métodos electroquímicos

Joel Ogando Trujillo
Trabajo Fin de Grado

Tutoras:

Elena Pastor Tejera

M^a del Carmen Arévalo Morales

La Laguna, 15 de junio de 2018

Resumen

La dopamina es un neurotransmisor presente en nuestro sistema nervioso central. Controla la actividad motora, la regulación en la producción de leche y la intervención en el proceso de aprendizaje.

Una disminución en sus niveles, por destrucción de las neuronas productoras de la misma, produce la enfermedad de Parkinson y déficit de atención, mientras que un exceso causa delirios y esquizofrenia. El control de su contenido en medicamentos es necesario para garantizar su calidad, de ahí la búsqueda de nuevos métodos de detección rápidos, baratos y sensibles.

En este trabajo se presentan los resultados de aplicar métodos electroquímicos (como la voltamperometría cíclica) para la detección de dopamina, caracterizados por su bajo coste, fiabilidad y fácil manejo. Se emplearon electrodos serigrafados de diferente naturaleza: nanofibras de carbono, carbono y nanopartículas de Au soportadas sobre carbono. Esta técnica permitió elaborar curvas de calibrado en un intervalo de 2 a 30 μM de dopamina en disolución tampón Briton-Robinson ($\text{pH} = 3$). Los resultados muestran una buena respuesta lineal en el rango estudiado, siendo el electrodo de nanopartículas de Au soportadas sobre carbono el que presenta un mejor comportamiento. La aplicación para determinar su contenido en un medicamento confirma la bondad del método.

Abstract

Dopamine is a neurotransmitter present in our nervous system. It controls movements, milk production and learning.

A low concentration of dopamine causes Parkinson and attention deficit disorder, while a high concentration produces delusions and schizophrenia. It is important the control of dopamine content in medicines to ensure their safety. This is the reason for looking for new, fast, cheap and sensitive detection methods.

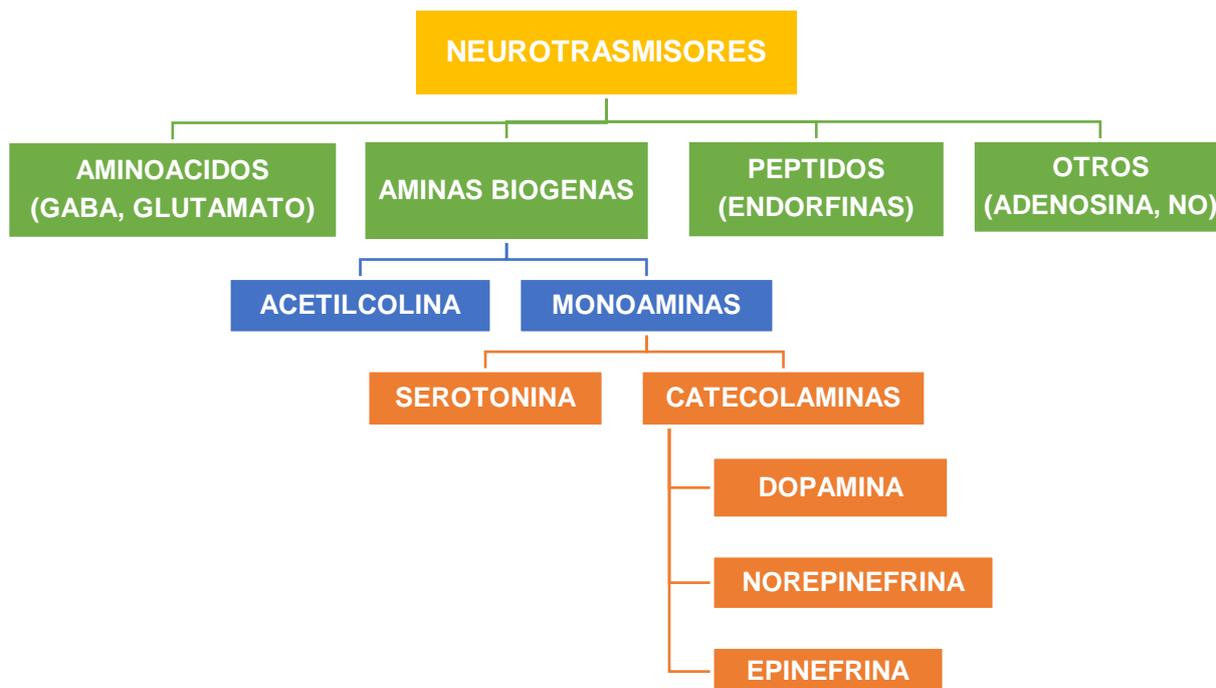
In this project the detection of dopamine was performed by electrochemical methods (cyclic voltammetry), characterized to be cheap, reliable and easy to use. Screen-printed electrodes of different nature were employed: carbon nanofibers, Au nanoparticles supported on carbon and carbon. Calibration curves were obtained in the 2-30 μM range in a de Briton-Robinson solution ($\text{pH} = 3$). Results show a linear response in the concentration range studied, being the Au nanoparticles supported on carbon the best electrode. Determination of the dopamine content in a medicine confirms the applicability of the method.

Índice

1. Introducción	3
2. Objetivos	5
3. Material y métodos	5
3.1 Disolventes y disoluciones.....	5
3.1.1 Agua ultra pura.....	5
3.1.2 Disolución tampón TBr-R.....	5
3.1.3 Disolución de hexacianoferrato (III) de potasio.....	5
3.1.4 Disoluciones de dopamina.....	5
3.1.5 Disoluciones de medicamento.....	6
3.2 Instrumental.....	6
3.2.1 pH-metro.....	6
3.2.2 Potenciostato y electrodos.....	6
3.3 Técnica experimental.....	7
3.4 Procedimiento experimental.....	7
3.4.1 Limpieza del material.....	7
3.4.2 Caracterización superficial de los electrodos. Cálculo del área.....	8
3.4.3 Caracterización electroquímica de la dopamina.....	8
3.4.4 Determinación de la dopamina en preparados farmacéuticos.....	8
4. Resultados y discusión	9
4.1 Cálculo del área electroactiva.....	9
4.2 Comportamiento electroquímico de la dopamina.....	11
4.2.1 Efecto del pH.....	11
4.2.3 Efecto de la velocidad de barrido.....	14
4.3 Método de detección de la dopamina.....	15
4.3.1 Estudio de la repetibilidad.....	15
4.3.2 Curvas de calibrado. Efecto de la concentración.....	16
4.4 Aplicación del método a un medicamento.....	19
5. Conclusiones	20
6. Bibliografía	22

1. Introducción

Los neurotransmisores son moléculas sintetizadas por nuestro organismo que se encargan de transmitir la información desde una neurona a otra neurona, un músculo o una glándula mediante una conexión conocida como sinapsis. Según su naturaleza se clasifican en [1]:



Esquema 1.1 Clasificación de los neurotransmisores según su naturaleza.

Un neurotransmisor debe cumplir los siguientes requisitos [1]:

- Ser sintetizado y almacenado en la neurona presináptica.
- Ser liberado por la neurona presináptica ante un estímulo apropiado y existir sistemas para su retirada de la sinapsis.
- Producir en la célula postsináptica los mismos efectos que se observan cuando se estimula la neurona presináptica.
- Sus efectos deben modificarse por la acción de un antagonista.

En este trabajo se ha estudiado la oxidación electroquímica de la dopamina (DA) en una disolución tampón Britton-Robinson ($\text{pH} = 3$) con el fin de establecer un método electroanalítico para su detección.

La DA es una feniletilamina que se obtiene por biosíntesis, en la sustancia negra del cerebro, a partir del aminoácido L-Tirosina (Figura 1.1) [2].

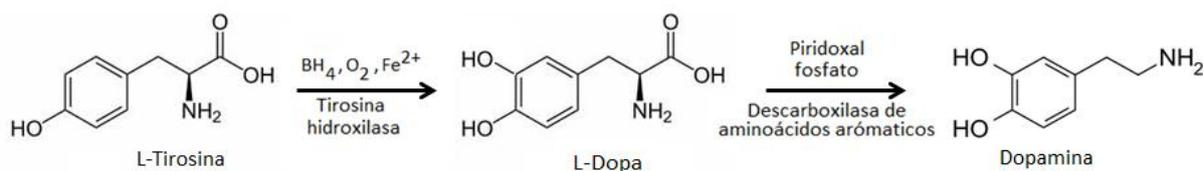


Figura 1.1 Obtención de la Dopamina.

Entre sus funciones destaca su papel en el control de la actividad motora, la regulación en la producción de leche y la intervención en el proceso de aprendizaje. Una disminución en sus niveles, por destrucción de las neuronas que la producen, origina la enfermedad de Parkinson y el déficit de atención, mientras que un exceso puede causar delirios y esquizofrenia.

Su uso como fármaco está limitado, ya que no es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, por lo que la vía de administración es la intravenosa. Se utiliza para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. Generalmente, se administra como levodopa junto a un inhibidor de la descarboxilasa llamado carbidopa, lo que le permite evitar su degradación en el plasma y atravesar dicha barrera. Ya que también posee capacidad inotrópica positiva, sus usos terapéuticos más frecuentes son [2]:

- shock debido a infartos de miocardio;
- shock por traumatismos;
- septicemias endotóxicas;
- insuficiencia renal.

El control de la dopamina presente en medicamentos es necesario para garantizar su calidad, de ahí la búsqueda de nuevos métodos de detección rápidos, baratos y sensibles. Dentro de estos métodos los electroquímicos son muy adecuados, especialmente cuando se aplican a electrodos serigrafados [3-14].

En este trabajo se ha usado como técnica electroquímica la voltamperometría cíclica (VC), empleando electrodos serigrafados en los que se cambia la naturaleza del electrodo de trabajo (WE): carbono (C), nanofibras de carbono (NC) y nanopartículas de Au soportadas en carbono (C-NpAu).

2. Objetivos

Los objetivos programados en el desarrollo de este TFG han sido:

- a) Emplear la técnica electroquímica de la voltamperometría cíclica con electrodos serigrafiados de diferente naturaleza carbonosa.
- b) Desarrollar un método electroanalítico para la detección de la DA y su aplicación a medicamentos.
- c) Familiarización con las rutinas y la labor experimental en un laboratorio de electroquímica, reforzando y poniendo en práctica algunas de las competencias adquiridas en el Grado en Farmacia, como la búsqueda bibliográfica, la planificación y ejecución de los experimentos de forma autónoma, y la aplicación de técnicas instrumentales, de análisis y síntesis, entre otras.

3. Material y métodos

3.1 Disolventes y disoluciones

3.1.1 Agua ultra pura

Agua Milli-Q Plus por purificación de agua Milli-RO.

3.1.2 Disolución tampón Britton-Robinson (TBr-R)

El electrolito de fondo ha sido siempre una disolución TBr-R. Se preparó a partir de ácido acético (Panreac, pureza 99,5-100,5 %) 0,1 M, ácido bórico (Panreac, pureza 99,8 %) 0,1 M y ácido fosfórico (Merck, pureza 85 %) 0,1 M (pH = 2.0).

Para los estudios realizados a otros valores de pH se ajustan los valores entre 2 y 8 añadiendo NaOH (Panreac, pureza 98 %) 1 M.

3.1.3 Disolución de hexacianoferrato (III) de potasio

Con el fin de caracterizar los electrodos y determinar su área electroactiva, se preparó una disolución 0,5 mM de $K_3Fe(CN)_6$ (Merck p.a.) en KNO_3 0,1 M.

3.1.4 Disoluciones de dopamina

Se prepararon, a partir de clorhidrato de dopamina (Sigma Aldrich, pureza > 98 %), disoluciones de 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25 y 30 μM en TBr-R a pH = 3. Para el estudio de la

influencia del pH se hizo una disolución 1 mM en TBr-R a pH = 2, ajustándose el pH desde este valor hasta 8 añadiendo NaOH.

3.1.5 Disoluciones de medicamento

El medicamento empleado ha sido *Dopamina Grifols*[®] 200 mg, solución inyectable. En el envase figura como principio activo “dopamina hidrocloreuro” con una concentración de 40 mg/mL. El excipiente declarado es el metabisulfito sódico (E-223). Teniendo en cuenta estas indicaciones, se preparó una disolución madre 0.5 mM tomando directamente de la ampolla el volumen calculado y diluyéndolo en TBr-R a pH = 3; de ella se elaboró una alícuota 25 μ M que se utilizó para las mediciones.

3.2 Instrumental

3.2.1 pH-metro

Se utilizó un pH-metro Mettler Toledo modelo Seven Easy para ajustar el pH de las disoluciones.

3.2.2 Potenciostato y electrodos

Las medidas electroquímicas se realizaron con un potenciostato DropSens modelo μ Stat 400 (Figura 3.1 A). Se utilizaron electrodos comerciales serigrafados (Figura 3.1 B) en los que se integran el electrodo de trabajo, el de referencia (Ag) y el contraelectrodo (carbono).

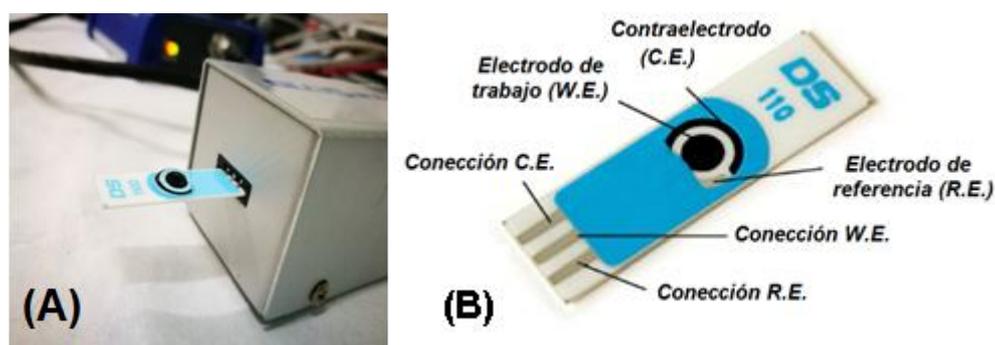


Figura 3.1. (A) Potenciostato y electrodo serigrafado. (B) Detalle del electrodo serigrafado de DropSens.

Estos electrodos presentan una serie de ventajas: bajo coste, son desechables, muy sensibles, y especialmente, se necesitan volúmenes de muestra muy pequeños para

trabajar (50 μL). Además, el que no necesiten limpieza ni una activación previa agiliza los tiempos de ejecución de los experimentos. En este trabajo se utilizaron tres tipos de electrodos de trabajo: de carbono (C), de nanofibras de carbono (NFC) y de carbono soportado con nanopartículas de Au (C-NpAu).

3.3 Técnica experimental

La técnica electroquímica empleada ha sido la voltamperometría cíclica (VC) [15]. El método consiste en aplicar una señal de potencial al electrodo de trabajo que varía linealmente con el tiempo, controlando la velocidad de barrido (v) y los límites de potencial. Se parte de un potencial inicial (E_i) en el que no ocurre el proceso electroquímico, llegando a un determinado valor de potencial (E_τ) en el que se invierte el sentido del barrido hasta un potencial final (E_f), que puede coincidir o no con E_i (Figura 3.2 A). La corriente se mide simultáneamente, registrándose curvas corriente-potencial, conocidas como ciclovoltamperogramas (CVs) (Figura 3.2 B). La dependencia de sus parámetros característicos, corriente y potencial de pico, con v y con la concentración del analito suministra información termodinámica y cinética sobre los procesos de reducción y oxidación. Como la corriente de pico es directamente proporcional a la concentración de la especie electroactiva, se usa además como método cuantitativo.

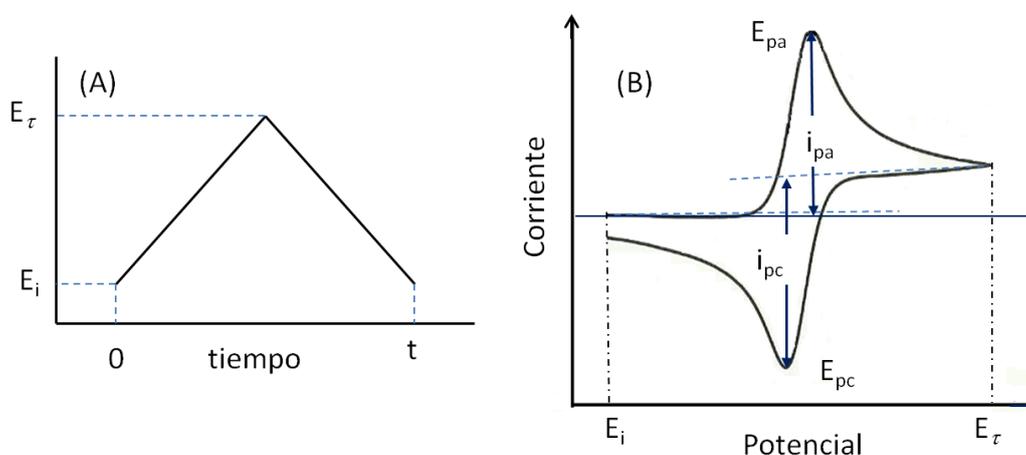


Figura 3.2. (A) Programa del potencial en función del tiempo. (B) Respuesta de la corriente en función del potencial (ciclovoltamperograma, CV).

3.4 Procedimiento experimental

3.4.1 Limpieza del material

En estos estudios es necesario llevar a cabo una limpieza exhaustiva del material de vidrio utilizado (matraces aforados, varillas de vidrio, buretas, pipetas, vasos de precipitado, Erlenmeyer, etc). Para ello deben enjuagarse con agua desionizada y se sumergen en una

disolución oxidante de KMnO_4 (1 % en peso en medio básico) durante toda una noche. Posteriormente, se recupera el permanganato, los restos de permanganato se eliminan con una disolución de agua oxigenada (30 % en volumen) en medio ácido, a continuación se enjuaga abundantemente con agua desionizada, y por último, con agua Milli-Q.

3.4.2 Caracterización superficial de los electrodos y cálculo del área electroactiva

La caracterización superficial de los electrodos se comprueba mediante la VC de una especie cuya respuesta es conocida, tal como ocurre con el hexacianoferrato (III) de potasio. Se trata de un sistema reversible ($E_{pa} - E_{pc} = \Delta E_p \sim 60 \text{ mV}$ y $i_{pc} / i_{pa} = 1$) reproducible en las condiciones de trabajo seleccionadas. Un estudio a diferentes v con este sistema permite, además, determinar el área electroactiva. Los ensayos se han realizado con disoluciones 0,5 mM de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en KNO_3 0,1 M empleando los tres electrodos: C, NFC y C-NpAu. La v se ha variado desde 0,025 a 0,250 V/s obteniéndose el área electroactiva (ver sección 4. *Resultados y discusión*). Todos los experimentos se han llevado a cabo a temperatura ambiente.

3.4.3 Caracterización electroquímica de la dopamina

Estudios previos sobre la oxidación de la DA [3, 4, 7] han puesto de manifiesto la dependencia de este proceso con el pH del medio. El primer ensayo consistió en realizar un estudio a diferentes pH.

Una vez seleccionado el pH, se procede al estudio mediante VC entre -0,3 y 0,7 V, a distintas v (de 0,010 a 0,250 V/s) y diferentes concentraciones de DA (de 2 a 30 μM), para obtener la recta de calibrado.

Con el fin de establecer el método electroanalítico de detección, se efectuaron con cada electrodo ensayos de repetibilidad intraelectródica (tres medidas sobre un mismo electrodo) e interelectródica (probando dos electrodos diferentes del mismo material).

Todas las medidas se repitieron al menos tres veces, comprobando su reproducibilidad. Los potenciales se refieren en todo el texto al electrodo de Ag.

3.4.4 Determinación de dopamina en preparados farmacéuticos

Solo se ha encontrado un medicamento que contiene DA como dopamina hidrocloreto, en la forma de ampollas inyectables de 5 mL y con un contenido declarado de 40 mg/mL (0,21 M). La determinación se ha realizado tomando una gota de las disoluciones preparadas, como se ha indicado en el apartado 3.1.6, colocándola sobre los electrodos y registrando los CVs a 0,020 y 0,100 V/s entre -0,3 y 0,7 V.

4. Resultados y discusión

4.1 Cálculo del área electroactiva

La determinación de las áreas electroactivas, como se ha indicado en el apartado 3.4.2 se ha hecho a partir del proceso redox del sistema $K_3(Fe(CN)_6)$ 0,5 mM en KNO_3 0,1 M, cuyo comportamiento voltamperométrico está bien definido y su coeficiente de difusión es conocido ($7,15 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$) [16].

En un proceso controlado por difusión, como es este caso, la corriente de pico viene dada por la ecuación [15]:

$$i_p = (2,69 \cdot 10^5) n^{3/2} \cdot A \cdot D_o^{1/2} \cdot C_o \cdot v^{1/2}$$

donde i_p corresponde a la intensidad de la corriente de pico (A), n es el número de electrones intercambiados, A el área superficial de electrodo (cm^2), D_o es el coeficiente de difusión de la especie electroactiva (cm^2/s), v la velocidad de barrido (V/s) y C_o corresponde a la concentración de la especie electroactiva (moles/mL). Esta ecuación permite calcular el área efectiva si se conocen determinados parámetros como n y D_o . Así, si en un estudio a diferentes v se determina la i_p a cada v , a partir de la representación de i_p vs $v^{1/2}$, se puede obtener el valor de A de la pendiente de la recta. Los resultados para cada electrodo se muestran en las Figuras 4.1, 4.2 y 4.3, en donde se representan los CVs a las v aplicadas y las i_p catódicas (i_p^c) frente a $v^{1/2}$. Se observa un comportamiento reversible con los tres electrodos.

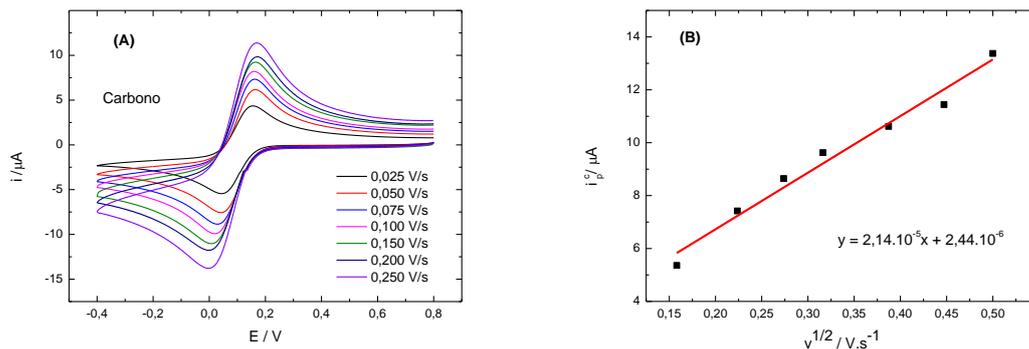


Figura 4.1 (A) CVs del sistema $K_3(Fe(CN)_6)$ 0,5 mM en KNO_3 0,1 M a diferentes v sobre C. (B) Variación de la i_p^c con $v^{1/2}$.

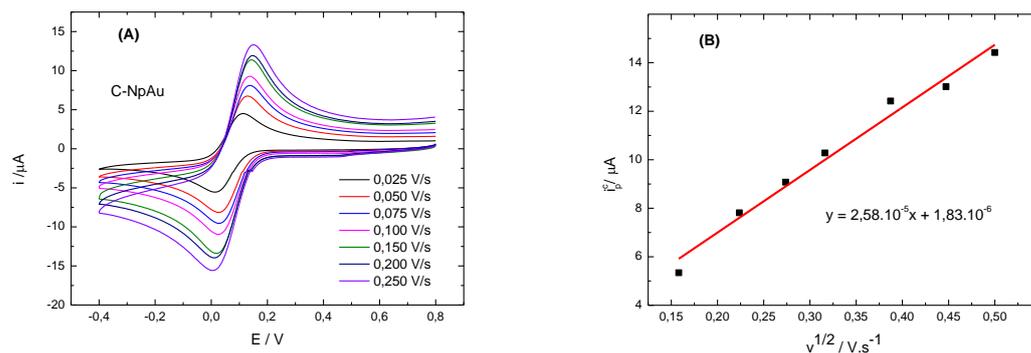


Figura 4.2 (A) CVs del sistema $K_3(Fe(CN)_6)$ 0,5 mM en KNO_3 0,1 M a diferentes v sobre C-NpAu. (B) Variación de la i_p^c con $v^{1/2}$.

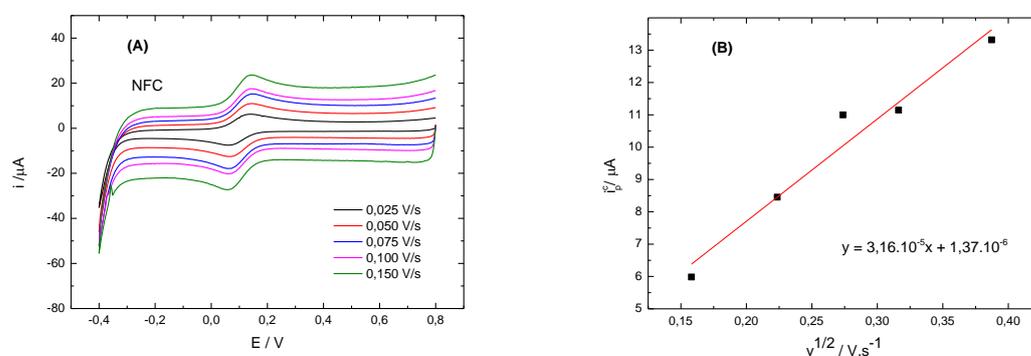


Figura 4.3 (A) CVs del sistema $K_3(Fe(CN)_6)$ 0,5 mM en KNO_3 0,1 M a diferentes v sobre NFC. (B) Variación de la i_p^c con $v^{1/2}$.

Los resultados obtenidos de las representaciones para cada electrodo se muestran en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1. Área electroactiva de los electrodos ensayados

Electrodos	C	C-NpAu	NFC
Pendiente ($A/\mu M$)	$2,14 \times 10^{-5}$	$2,58 \times 10^{-5}$	$3,16 \times 10^{-5}$
Área (cm^2)	0,060	0,072	0,088

4.2 Comportamiento electroquímico de la dopamina

4.2.1 Efecto del pH

Se realizaron estudios del comportamiento voltamperométrico de la DA en un rango de pH entre 2 y 8 (los existentes en el cuerpo humano). En la mayoría de las referencias bibliográficas [3-13] se usan valores de pH entre 2 y 6, ya que en este intervalo se encuentran bien definidos ambos picos de oxidación y de reducción. En las Figura 4.4 se muestran los CVs de la DA a los valores de pH ensayados en el electrodo de C-NpAu. Se observa una disminución de la i_p al aumentar el pH (Figura 4.5) y una variación lineal del E_p al variar el pH, con una pendiente de 56 mV/pH muy próximo al valor teórico (59 mV/pH), lo que indica que se transfiere el mismo número de protones que de electrones en el proceso electroquímico (Figura 4.6). A pH = 7, el pico anódico se ensancha y apenas se detecta el catódico, mientras que a pH = 8 prácticamente desaparecen ambos picos y se observa uno nuevo a potenciales mucho más positivos.

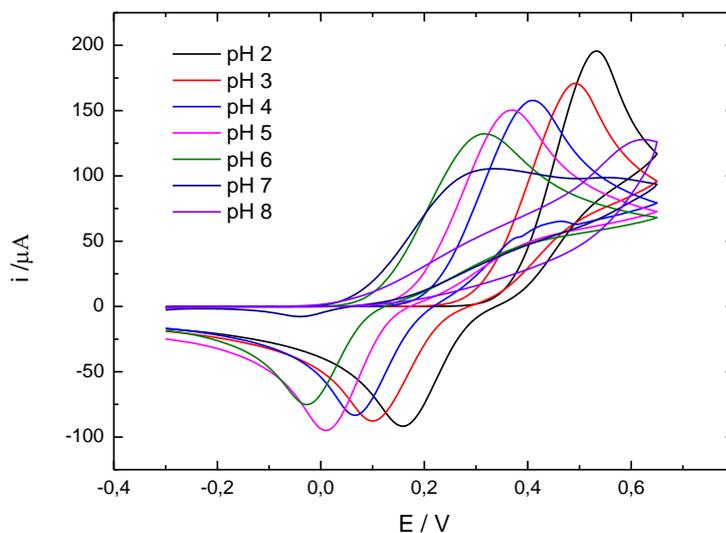


Figura 4.4. CVs de DA 0,1 mM en TBr-R a diferentes valores de pH. $v = 0,02$ V/s.

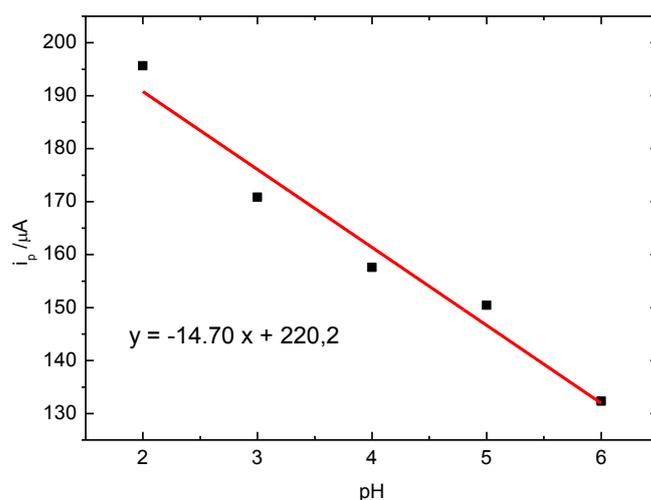


Figura 4.5. Variación de la corriente de pico anódica, i_p^a , con el pH

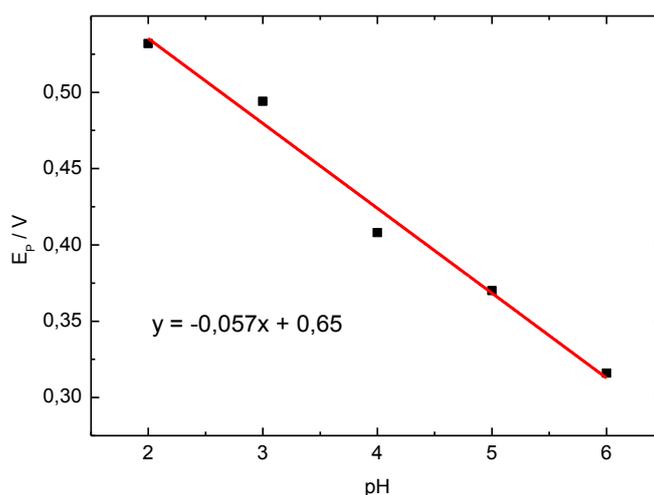


Figura 4.6. Variación del potencial de pico anódico, E_p^a , con el pH

El pH seleccionado fue 3 de acuerdo a la bibliografía [3, 4, 7]. Así, en la Figura 4.7 se representan los CVs a pH = 3 de los tres electrodos utilizados. En todos los casos se observa un pico anódico y otro catódico, cuyos E_p dependen de la naturaleza del electrodo: $\Delta E_p = 34$ mV para NFC, $\Delta E_p = 258$ mV para C-NpAu y $\Delta E_p = 426$ mV para C. El valor tan bajo que muestra el sistema de NFC indica que probablemente sobre este electrodo se produce la adsorción de la DA. Aunque los picos aparecen bien definidos con los tres electrodos, ha sido el de C-NpAu sobre el que se han hecho los estudios voltamperométricos más exhaustivos. Los siguientes estudios con DA se han llevado a cabo a pH = 3.

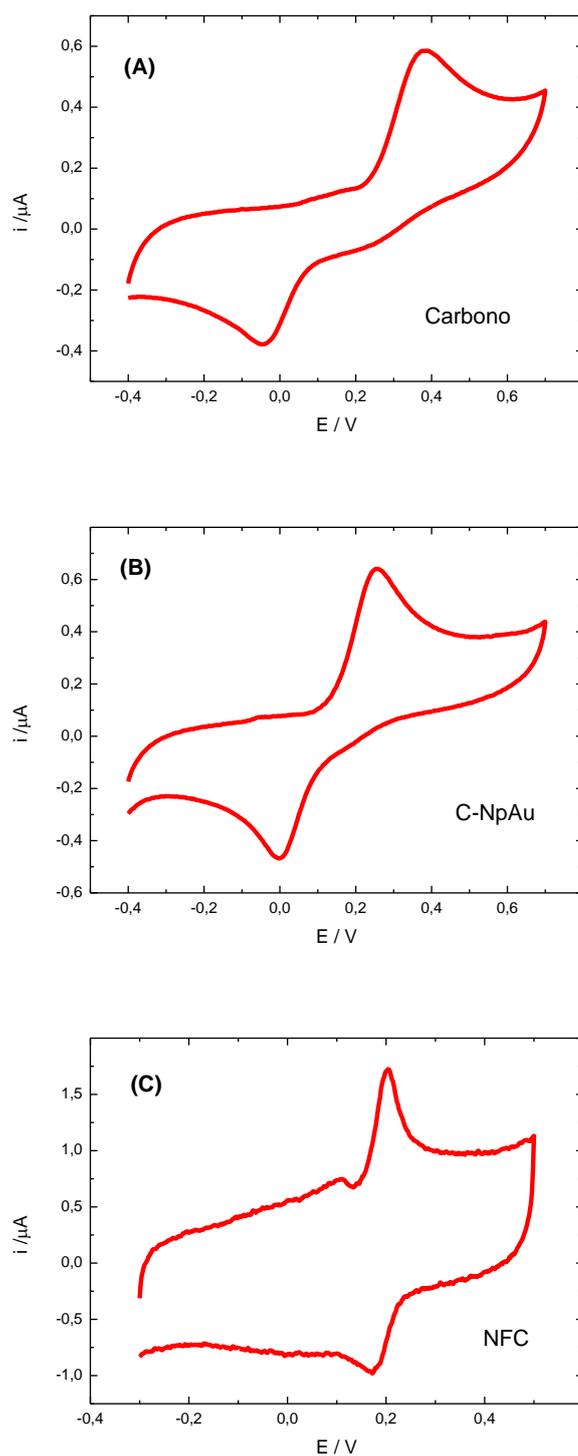


Figura 4.7 CVs de la DA (30 μM) en TBr-R pH=3 a $v = 0,020 \text{ V/s}$. (A) Electrodo de carbono. (B) Electrodo de C-NpAu. (C) Electrodo de NFC.

El mecanismo electroquímico propuesto en la literatura [3, 8, 14] se muestra en la Figura 4.8, en donde se transfieren dos electrones y dos protones, de ahí su dependencia con el pH del medio.

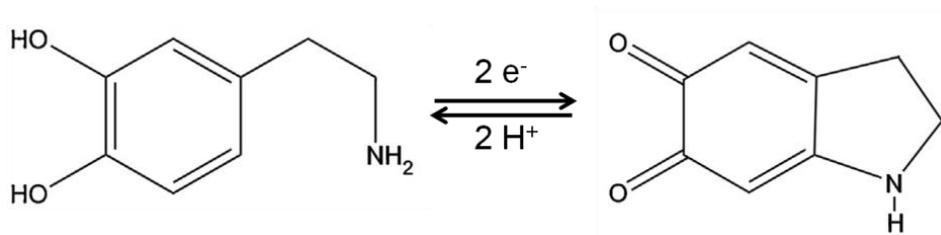


Figura 4.8 Mecanismo electroquímico propuesto.

4.2.3 Efecto de la velocidad de barrido

Los estudios a diferentes velocidades de barrido se han efectuado con el fin de comprobar si el proceso está controlado por difusión o por adsorción. Cuando existe una correlación lineal entre i_p y $v^{1/2}$, se trata de un proceso difusivo, mientras que si está controlado por adsorción la dependencia es con v . Dada que la mejor respuesta se obtuvo con el electrodo de C-NpAu, el estudio en función de v se llevó a cabo solo con este sistema. En la Figura 4.9 (A) se muestran los CVs a diferentes v y en la Figura 4.9 (B) la representación de las i_p vs $v^{1/2}$. Con ambas se obtiene una respuesta lineal con $v^{1/2}$ indicando que el proceso está controlado por difusión.

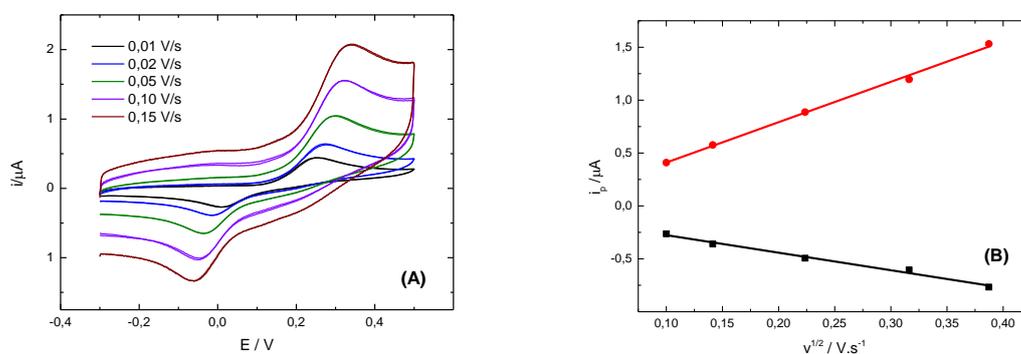


Figura 4.9. (A) CVs y (B) dependencia de las corrientes de pico con $v^{1/2}$ para la DA 30 μM en TBr-R pH=3, sobre el electrodo C-NpAu.

La variación del $\log i_p^a$ frente al $\log v$ proporciona un comportamiento lineal (Figura 4.10). El valor de la pendiente que se obtiene es de 0,48, muy cercano al valor esperado de 0,5 correspondiente a un proceso controlado por la transferencia de masa [3].

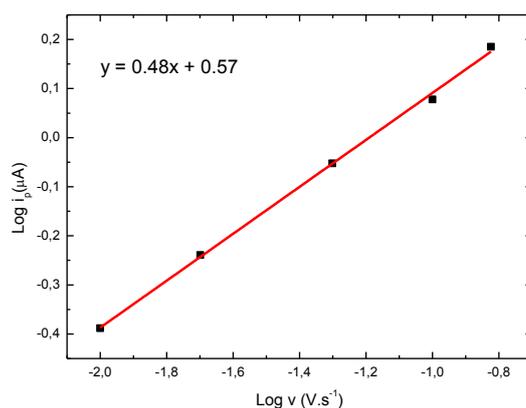


Figura 4.10. Variación de $\log i_p$ frente a $\log v$. A partir de los CVs de la Figura 4.9 A. DA 30 μ M en TBr-R pH=3, sobre el electrodo C-NpAu

4.3 Método de detección de la dopamina

Los resultados muestran la posibilidad de usar la VC y los electrodos serigrafados como un método electroanalítico para detectar DA. Para poner a punto este método hay que realizar una serie de pasos previos a la obtención de la curva de calibrado.

4.3.1 Estudios de repetibilidad

a) Repetibilidad intraelectrónica

Consiste en llevar a cabo una VC sobre un mismo electrodo, y se cambia dos o tres veces la disolución de la DA (30 μ M). Se han encontrado resultados bastante repetibles. Para cada electrodo se ha calculado el coeficiente de variación ($C_V = \sigma/|\bar{x}| \cdot 100$ siendo σ la desviación estándar y $|\bar{x}|$ el valor medio) obteniendo los siguientes valores: 0,83 %, 0,67 % y 4,28 % para los electrodos C-NpAu, C y NFC, respectivamente. Los resultados son muy repetibles especialmente en el caso de los electrodos de C y C-NpAu.

b) Repetibilidad interelectrónica

En esta prueba se usan electrodos diferentes del mismo material y con cada uno de ellos se realizan dos medidas. También en este caso se obtienen resultados muy reproducibles, con unos coeficientes de variación de 0,23 %, 2,1 % y 5,4 % para los electrodos C-NpAu, C y NFC, respectivamente. Es el C-NpAu el que presenta mejores resultados.

Estas dos pruebas indican que estos electrodos serigrafados pueden ser usados en la detección de la DA, siendo el de C-NpAu el que presenta mejor comportamiento.

4.3.2 Curvas de calibrado. Efecto de la concentración

Los estudios variando la concentración de DA desde 2 hasta 30 μM se han realizado a dos velocidades de barrido, 0,020 y 0,100 V/s. En las Figuras 4.11 a 4.16 se muestran los CVs registrados a cada concentración y la curva de calibrado a las v ensayadas. Se observa en todos los casos una dependencia lineal entre la i_p^a y la concentración de DA.

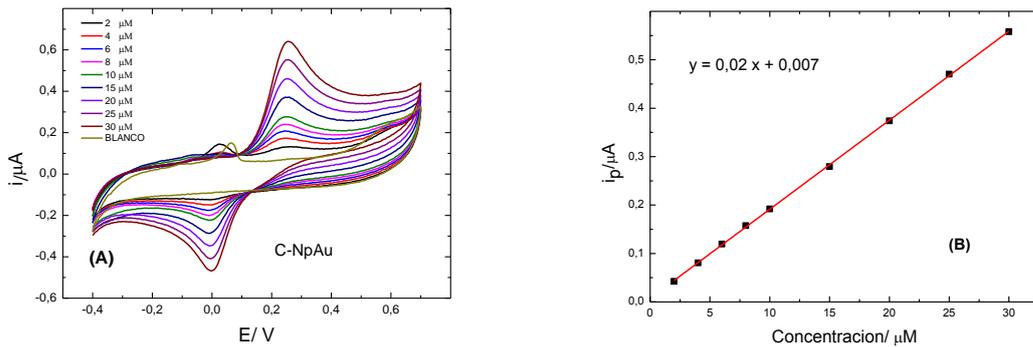


Figura 4.11 (A) CVs y (B) dependencia de la corriente de pico anódica con la concentración de DA en TBr-R pH=3, para el electrodo de C-NpAu, $v = 0,020$ V/s.

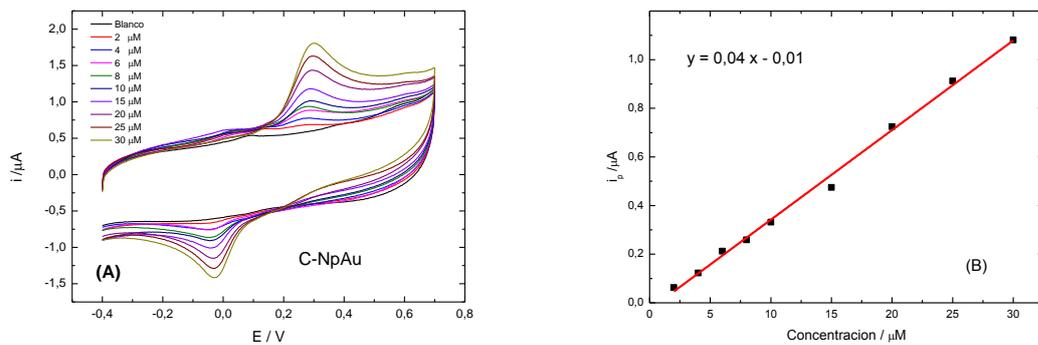


Figura 4.12 (A) CVs y (B) dependencia de la corriente de pico anódica con la concentración de DA en TBr-R pH=3, para el electrodo de C-NpAu, $v = 0,100$ V/s.

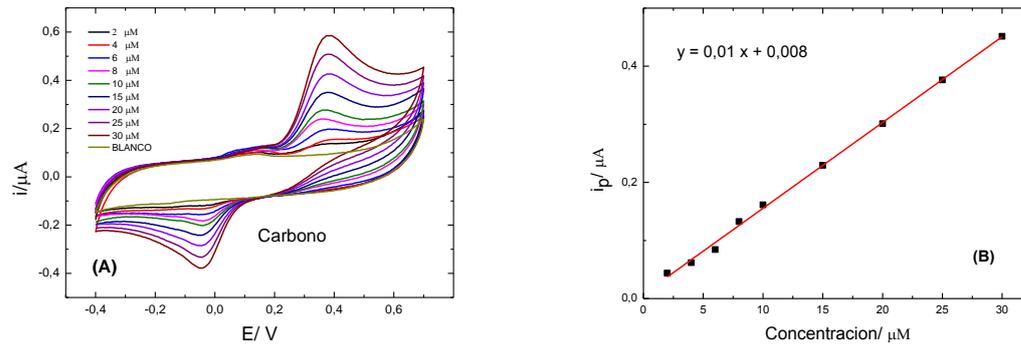


Figura 4.13 (A) CVs y (B) dependencia de la corriente de pico anódica con la concentración de DA en TBr-R pH=3, para el electrodo de carbono, $v = 0,020$ V/s.

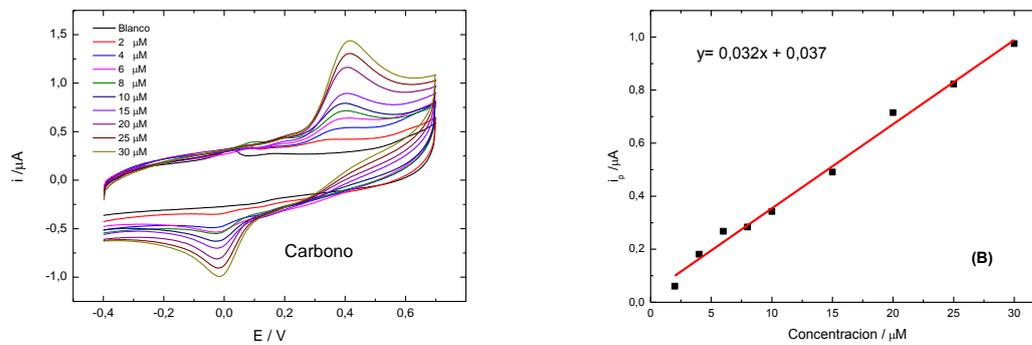


Figura 4.14 (A) CVs y (B) dependencia de la corriente de pico anódica con la concentración de DA en TBr-R pH=3, para el electrodo de carbono, $v = 0,100$ V/s.

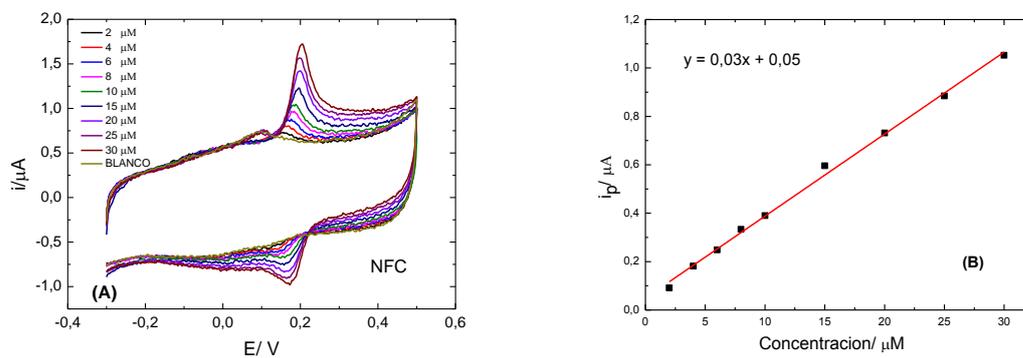


Figura 4.15 (A) CVs y (B) dependencia de la corriente de pico anódica con la concentración de DA en TBr-R pH=3, para el electrodo de NFC, $v = 0,020$ V/s.

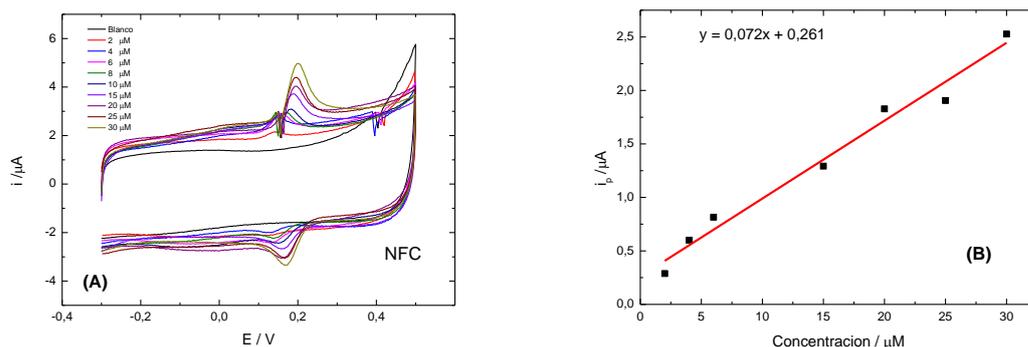


Figura 4.16 (A) CVs y (B) dependencia de la corriente de pico anódica con la concentración de DA en TBr-R pH=3, para el electrodo de NFC, $v = 0,100$ V/s.

Estos resultados nos permiten obtener la recta de calibrado para cada electrodo y los parámetros analíticos: límites de detección (LOD, calculado como $3\sigma/\text{pendiente}$, siendo σ la desviación estándar de la ordenada en el origen y la pendiente la correspondiente a la recta obtenida por regresión lineal en ese intervalo de concentraciones) y la sensibilidad. En la Tabla 4.2 se recogen estos parámetros para los tres electrodos usados. Puede observarse como es el electrodo de C-NpAu el que presenta un menor LOD y el de NFC el que muestra una mayor sensibilidad.

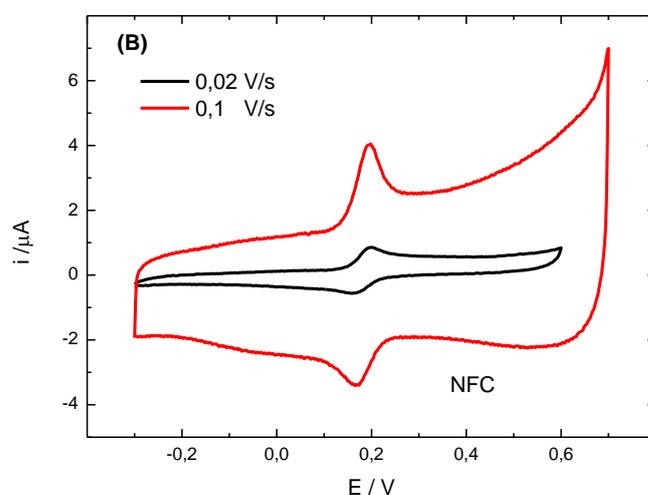
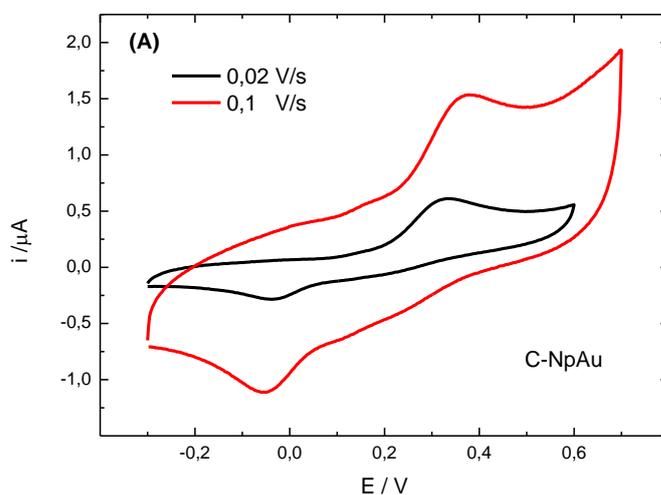
Tabla 4.2. Parámetros de calidad del método

Electrodo	C-NpAu	C	NFC
Sensibilidad ($\mu\text{A}/\mu\text{M cm}^2$)	0,25	0,25	0,38
Límite detección (μM)	0,25	0,78	1,01

Los valores obtenidos son comparables, e incluso mejores en algunos casos, que los encontrados en la bibliografía [3, 6, 8, 10-13]. En la mayor parte de las referencias bibliográficas, los electrodos serigrafados usados han sido de carbono modificados mediante diferentes métodos y materiales, por lo que hay que destacar lo logrado en este trabajo, que se han usado directamente electrodos suministrados por la casa comercial DropSens. Aunque las mejores respuestas se han logrado con C-NpAu, los conseguidos con C (más económicos) están dentro de los valores citados en muchas referencias. También hay que señalar que la técnica de VC es menos sensible que otras técnicas electroquímicas, tales como la voltamperometría de onda cuadrada (SWV) o la de pulso diferencial (DPV), y a pesar de ello, los resultados presentados son comparables a los que se obtienen por esas técnicas.

4.4 Aplicación del método a un medicamento

Haciendo uso de las rectas de calibrado establecidas para cada electrodo, se ha determinado el contenido de DA en el preparado farmacéutico *Dopamina Grifols*[®] 200 mg solución inyectable. A partir de una disolución diluida del medicamento (en torno a 25 μM), se registraron los CVs a 0,020 y 0,100 V/s, se midió directamente el valor de la i_p^a y se substituyó en la curva de calibrado. En las Figura 4.17 se recogen, para cada electrodo, los CVs de la disolución del medicamento a las dos velocidades usadas. La mejor respuesta la ha ofrecido el electrodo de C-NpAu, en donde se obtiene solo un error del 5% sobre el valor declarado de DA. Estos resultados confirman la posible aplicación de este método para la determinación de DA en medicamentos.



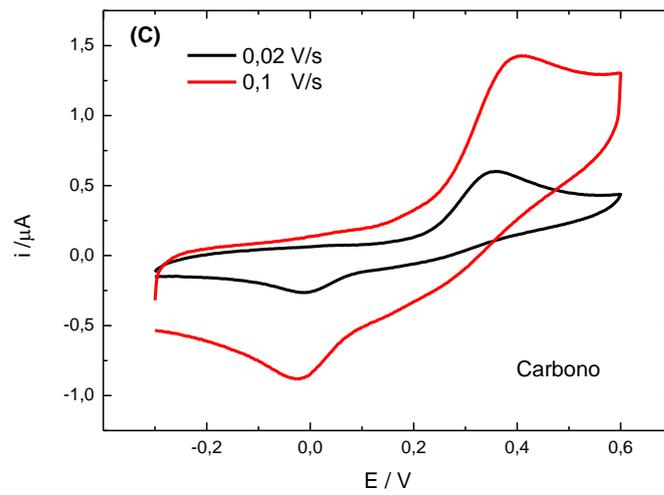


Figura 4.17 CVs del medicamento en TBr-R pH=3 sobre los electrodos ensayados a dos v 0,020 y 0,100 V/s (A) Electrodo de C-NpAu (B) Electrodo NFC y (C) Electrodo de carbono.

5. Conclusiones

A partir de los resultados de este trabajo se pueden sacar las siguientes conclusiones:

- a) La técnica de la voltamperometría cíclica resulta un método adecuado para la determinación electroquímica de la dopamina, ofreciendo información cuantitativa reproducible.
- b) El uso de electrodos serigrafados comerciales, sin posteriores modificaciones, ha dado resultados comparables e incluso mejores que los encontrados en la bibliografía con sistemas más sofisticados y empleando técnicas electroquímicas más sensibles.
- c) Los tres materiales electródicos empleados, C, NFC y C-NpAu, responden de forma cuantitativa a la determinación de dopamina, siendo el electrodo de C-NpAu el que tiene un LOD menor y el de NFC el que presenta una mayor sensibilidad.
- d) La reproducibilidad de las medidas y los límites de detección obtenidos permiten considerar el uso de estos electrodos como posibles electrosensores amperométricos para la determinación de la dopamina en medicamentos, especialmente el de C-NpAu.

6. Bibliografía

- [1] Lorenzo Fernández, P.; Moreno González, A.; Leza Cerro, J.C.; Lizasoain Hernández, I.; Moro Sánchez, M.A.; Portolés Pérez, A. "Velázquez: Manual de Farmacología Básica y Clínica". Editorial Médica Panamericana (2013)
- [2] Ricardo Bahena-Trujillo, R; Flores, G; Arias-Montaño, J.A. "Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central". *Revista Biomédica* (2000), 11, 39–60.
- [3] Ramírez, C; del Valle, M.A.; Isaacs, M; Armijo, F. "Electrochemical oxidation of catecholamines on fluorine-doped SnO₂ substrates. Square-wave voltammetric method for methyl dopa determination in pharmaceutical dosage forms". *Electrochimica Acta* (2016), 199, 227-233.
- [4] Nagles, E; Ibarra, L; Penagos Llanos, J; Hurtado, J; García-Beltrán, O. "Development of a novel electrochemical sensor based on cobalt(II) complex useful in the detection of dopamine in presence of ascorbic acid and uric acid" *Journal of Electroanalytical Chemistry* (2017), 788, 38–43.
- [5] Raja, M.; Gupta, P; Goyala, R.N.; Shimb, Y.B. "Graphene/conducting polymer nanocomposite loaded screen printed carbon sensor for simultaneous determination of dopamine and 5-hydroxytryptamine". *Sensors and Actuators B* (2017) 239, 993–1002.
- [6] Zhang, Y.M.; Xua, P.L.; Zeng, Q.; Liu, Y.M.; Liao, X.; Hou, M.F. "Magnetism-assisted modification of screen printed electrode with magnetic multi-walled carbon nanotubes for electrochemical determination of dopamine". *Materials Science and Engineering C* (2017) 74, 62–69
- [7] Palanisamy, S.; Yi-Fan, P.; Chen, S.M.; Velusamy, V.; Hall, J.M. "Facile preparation of a cellulose microfibrils-exfoliated graphite composite: a robust sensor for determining dopamine in biological samples". *Cellulose* (2017) 24, 4291–4302.
- [8] Aoun, S.A. "Nanostructured carbon electrode modified with N-doped graphene quantum dots-chitosan nanocomposite: a sensitive electrochemical dopamine sensor". *Royal Society Open Science*. 4: 171199 (2017)
- [9] Sakthivel, K; Govindasamy, M; Chen, S.M.; Muthumariappan, A.; Mani, V; Chen, T.W; Selvaraj, S. "MWCNTs/MoS₂ Decorated Cobalt Oxide Polyhedrons Composite Film Modified Electrode for Electrochemical Determination of Dopamine in Rat Brain and Human Blood Serum Samples". *International Journal of Electrochemical Science* (2017) 12, 7435–7445.
- [10] Beitollahi, H; Nejad, F.G.; Shakeric, S. "GO/Fe₃O₄@SiO₂ core-shell nanocomposite modified graphite screen-printed electrode for sensitive and selective electrochemical sensing of dopamine and uric acid". *Analytical Methods* (2017) 9, 5541–5549.
- [11] Khan, A.F.; Brownson, D.A.C.; Foster, C.W.; Smith, G.C.; Banks, C.E. "Surfactant exfoliated 2D hexagonal Boron Nitride (2D-hBN) explored as a potential electrochemical sensor for dopamine: surfactants significantly influence sensor capabilities". *Analyst* (2017) 142, 1756–1764.
- [12] Ganjali, M.R.; Beitollahi, H.; Zaimbashi, R.; Tajik, S.; Rezapour, M.; Larijani, B. "Voltammetric Determination of Dopamine Using Glassy Carbon Electrode Modified with ZnO/Al₂O₃ Nanocomposite". *International Journal of Electrochemical Science* (2018) 13, 2519 – 2529.

[13] Figueredo, F.; González-Pabón, M.J.; Cortón, E. “Low Cost Layer by Layer Construction of CNT/Chitosan Flexible Paper-Based Electrodes: A Versatile Electrochemical Platform for Point of Care and Point of Need Testing”. *Electroanalysis* (2018) 30, 1–13.

[14] Fazio, E.; Spadaro, S.; Bonsignore, M; Lavanya, N.; Sekar, C; S.G. Leonardi, S.G.; Neric, G.; Neria, F. “Molybdenum oxide nanoparticles for the sensitive and selective detection of dopamine”. *Journal of Electroanalytical Chemistry* (2018) 814, 91–96.

[15] Bard, A.J.; Faulkner, L.R. *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications*. 2nd ed. John Wiley & Sons; (2001).

[16] Konopka, S. J.; McDuffie B. “Diffusion coefficients of ferri- and ferrocyanide ions in aqueous media, using twin-electrode thin-layer electrochemistry”. *Analytical Chemistry* (1970) 42 (14), 1741–1746.