



Application Note AN-EC-040

Detección de fentanilo mediante ECL

Sistema sencillo para la detección de fentanilo mediante electroquimioluminiscencia.

La electroquimioluminiscencia (ECL) es una técnica analítica de alta sensibilidad que combina procesos electroquímicos con emisión de luz. Debido a su versatilidad, sensibilidad y compatibilidad con una amplia gama de luminóforos, se utiliza en análisis clínicos, detección ambiental e investigación bioanalítica.

El fentanilo es un opioide sintético que se utiliza por sus propiedades analgésicas y anestésicas. Es aproximadamente 100 veces más potente que la morfina y 50 veces más potente que la heroína. A

pesar de sus aplicaciones médicas, el fentanilo ilícito se encuentra habitualmente en el mercado negro, lo que contribuye a una creciente preocupación mundial por la salud pública.

La mayoría de los métodos actuales utilizados para detectar fentanilo son lentos, costosos o requieren instrumentación compleja. Esta nota de aplicación presenta un método ECL que ofrece una alternativa rápida, accesible y rentable para la detección de fentanilo.

INSTRUMENTACIÓN Y SOFTWARE

Los experimentos de ECL se realizaron utilizando el instrumento SpectroECL con una celda de microespectrómetro (Figura 1) o con una célula fotodiodo (ECLPHOTODIODECELL) como detector.

Para realizar los experimentos de electroquimioluminiscencia (ECL) se utilizaron electrodos serigrafiados de oro (SPE, 220AT).

La espectroscopia ECL se controló con el software DropView SPELEC, que permite la recopilación simultánea de la señal electroquímica y la señal de luz emitida. Además, el software incluye herramientas para el tratamiento y análisis de datos. **Tabla 1** Aquí se enumeran todos los componentes de hardware y software utilizados en este estudio.



Figure 1. Instrumento SpectroECL y celda de microespectrómetro.

Tabla 1. Descripción general del hardware y el software.

Equipo	Número de artículo
Instrumento	ESPECTROECL
Celda	Célula fotodiodo ECL
Oro SPE	220AT
Cable de conexión para SPEs	ELENCO
Software	DropView SPELEC

DETECCIÓN DE FENTANILO MEDIANTE ECL

El fentanilo CII (estándar de referencia USP), el tris(2,2'-bipiridilo)diclororutenio(II) hexahidratado (Rubpy, Sigma-Aldrich), el cloruro de sodio (Sigma-Aldrich), el cloruro de potasio (Sigma-Aldrich), el fosfato disódico (Sigma-Aldrich) y el fosfato monopotásico (Sigma-Aldrich) se utilizaron tal como se recibieron. Todos los productos químicos eran de grado analítico. Las soluciones acuosas se prepararon utilizando agua ultrapura (sistema Direct-QTM 5,

Millipore).

El sistema ECL consta de Rubpy como luminóforo y fentanilo como correactivo en un tampón acuoso de PBS 0,1 mol/L (pH 6). La oxidación electroquímica del Rubpy inicia una secuencia de reacciones químicas que produce emisión de luz a 620 nm. Esta emisión depende de la concentración de fentanilo, lo que permite la detección de este compuesto.

La evaluación inicial y la caracterización de la emisión de Rubpy en presencia de este opioide se realizaron utilizando la celda del microespectrómetro. Para optimizar la señal de electroquimioluminiscencia (ECL), se escaneó el potencial desde 0,40 V hasta 1,20 V utilizando un electrodo serigrafiado de oro y una solución tampón de PBS con pH 6. El detector microespectrómetro recoge espectros visibles, proporcionando información útil para la comprensión del sistema en estudio. **Figura 2** Esto confirma la emisión de Rubpy a 620 nm debido a la presencia de fentanilo como correactivo. El experimento de control sin fentanilo no muestra ninguna banda de ECL.

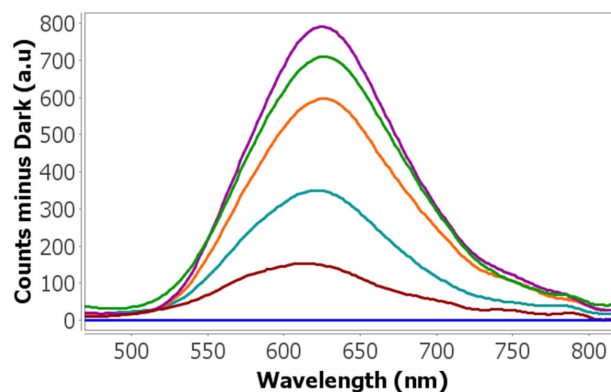


Figure 2. Se observó la emisión ECL característica de Rubpy mientras se barría el potencial de 0,40 V a 1,20 V para una solución de 0,0025 mol/L de Rubpy y 0,0001 mol/L de fentanilo en una solución de PBS 0,1 mol/L (pH 6).

Una vez confirmada la emisión de Rubpy, se utilizaron el espectrómetro ECL y la celda de fotodiodo para analizar concentraciones más bajas de fentanilo. Se utilizaron las mismas condiciones electroquímicas que en el experimento con la celda del microespectrómetro. La señal obtenida con la celda de fotodiodo consiste en la emisión ECL total (línea verde) **Figura 3**, en lugar de espectros de emisión en todo el rango visible. Simultáneamente, se registró la señal electroquímica (línea azul). **Figura 3**. Aunque este detector no diferencia las longitudes de onda, ofrece una alta sensibilidad. La ECL aumenta a potenciales superiores a 0,85 V, alcanzando el máximo alrededor de 1,00 V.

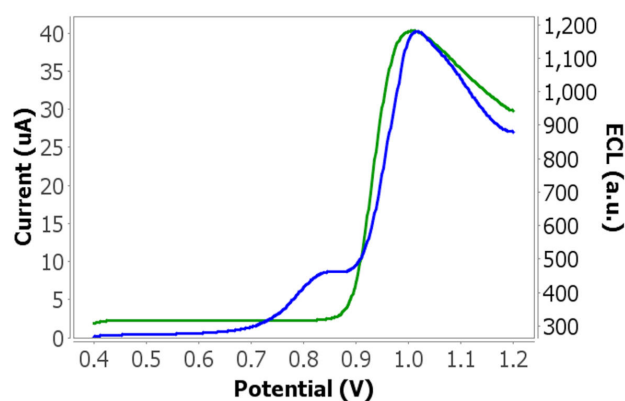


Figure 3. Voltametría de barrido lineal (línea azul) y emisión de ECL de Rubpy (línea verde) de 0,0025 mol/L de Rubpy y 0,001 mmol/L de fentanilo en una solución de PBS 0,1 mol/L (pH 6).

Se midió la altura de la señal ECL a 1,00 V y se trazó una curva de calibración desde 0,001 mmol/L hasta 0,01 mmol/L de fentanilo (**Figura 4**). El alto coeficiente de correlación ($R^2 = 0,998$) confirma la buena linealidad y sensibilidad del método ECL para detectar fentanilo en este rango de concentración.

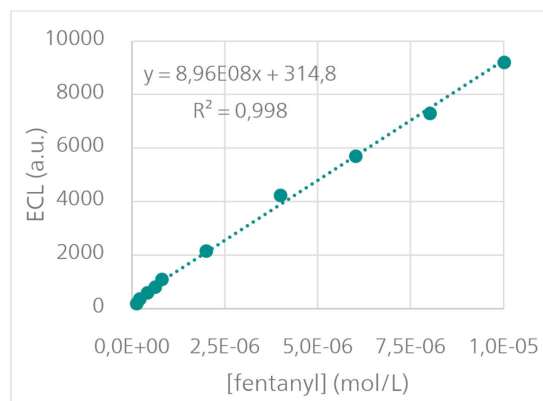


Figure 4. Curva de calibración de la intensidad de ECL a 1,00 V para diferentes concentraciones de fentanilo y 0,0025 mol/L de Rubpy en una solución de PBS 0,1 mol/L (pH 6).

CONCLUSIÓN

La ECL es una técnica potente que proporciona resultados fiables en el estudio de diversos luminóforos. La combinación de la celda del microespectrómetro para los espectros de emisión de ECL y el detector de fotodiodo para una mayor sensibilidad mediante la medición de la intensidad total de ECL, permite una comprensión clara del sistema analizado y facilita la cuantificación del analito objetivo.

Como prueba de concepto, esta nota de aplicación demuestra la detección de fentanilo basándose en la emisión de electroquimioluminiscencia característica de Rubpy en presencia de este compuesto. Dado que la señal ECL depende de la concentración de fentanilo en solución, los resultados obtenidos abren nuevas vías para el desarrollo de sensores ECL para la detección de opioides.

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es



Aparato de espectroelectroquimioluminiscencia para electrodos serigrafiados

SpectroECL combina en un solo equipo un bipotenciostato/galvanostato y un microespectrómetro integrado en una innovadora celda para electrodos serigrafiados. Esta alternativa miniaturizada y portátil es perfecta para realizar mediciones de quimioluminiscencia electrogenerada (ECL)



Celda de fotodiodo para medidas de electroquimioluminiscencia

Celda para electrodos serigrafiados para efectuar medidas de electroquimioluminiscencia. Esta celda de ABS incluye un fotodiodo de silicio con preamplificador y un rango de respuesta espectral de 340–1100 nm y longitud de onda de sensibilidad pico de 960 nm.

Esta celda debería usarse junto con aparatos de electroquimioluminiscencia μ Stat ECL o μ Stat SpectroECL.