



Application Note AN-EC-040

Detecção de fentanil por ECL

Sistema simples para a detecção de fentanil usando eletroquimioluminescência

A eletroquimioluminescência (ECL) é uma técnica analítica altamente sensível que combina processos eletroquímicos com emissão de luz. Devido à sua versatilidade, sensibilidade e compatibilidade com uma ampla gama de luminóforos, é usada em análise clínica, detecção ambiental e pesquisa bioanalítica.

O fentanil é um opioide sintético usado por suas propriedades analgésicas e anestésicas. É aproximadamente 100 vezes mais potente que a morfina e 50 vezes mais potente que a heroína.

Apesar de suas aplicações médicas, o fentanil ilícito é regularmente encontrado no mercado negro, contribuindo para uma preocupação de saúde global crescente.

A maioria dos métodos atuais usados para detectar fentanil consome muito tempo, é cara, ou exige instrumentação complexa. Esta Nota de Aplicação apresenta um método de ECL que oferece uma alternativa rápida, acessível e de baixo custo para a detecção de fentanil.

INSTRUMENTAÇÃO E SOFTWARE

Os experimentos de ECL foram realizados usando o instrumento SpectroECL, com uma célula microespectrômetro (Figura 1) ou com uma célula fotodiodo (ECLPHOTODIODECELL) como detector.

Eletrodos serigrafados de ouro (SPEs, 220AT) foram usados para realizar os experimentos de ECL.

O SpectroECL foi controlado com o software DropView SPELEC, que permite a coleta simultânea do sinal eletroquímico e do sinal de luz emitida. Além disso, o software inclui ferramentas para tratamento e análise de dados. A Tabela 1 lista todo o hardware e software usados neste estudo.



Figura 1. Instrumento SpectroECL e célula microespectrômetro.

Tabela 1. Visão geral dos equipamentos de hardware e software.

Equipamento	Número do artigo
Instrumento	SPECTROECL
Célula	ECLPHOTODIODECELL
SPE de ouro	220AT
Cabo de conexão para SPEs	CAST
Software	DropView SPELEC

DETECÇÃO DO FÁRMACO FENTANIL POR ECL

Fentanil CII (padrão de referência USP), tris(2,2'-bipiridil)dicloro-rutênio(II) hexahidratado (Rubpy, Sigma-Aldrich), cloreto de sódio (Sigma-Aldrich), cloreto de potássio (Sigma-Aldrich), fosfato de sódio dibásico (Sigma-Aldrich) e fosfato de potássio monobásico (Sigma-Aldrich) foram usados como recebidos. Todos os reagentes eram de grau analítico. As soluções aquosas foram preparadas usando água

ultrapura (sistema Direct-QTM 5, Millipore).

O sistema de ECL consiste em Rubpy como luminóforo e fentanil como co-reagente em tampão aquoso PBS 0,1 mol/L (pH 6). A oxidação eletroquímica do Rubpy inicia uma sequência de reações químicas que produz emissão de luz a 620 nm. Essa emissão depende da concentração de fentanil, permitindo a detecção desse composto.

A avaliação inicial e a caracterização da emissão de Rubpy na presença desse opioide foram realizadas usando a célula microespectrômetro. Para otimizar o sinal de ECL, o potencial foi varrido de 0,40 V a 1,20 V, usando um SPE de ouro e solução tampão PBS pH 6. O detector microespectrômetro coleta espectros visíveis, fornecendo informações úteis para a compreensão do sistema em estudo. A **Figura 2** confirma a emissão de Rubpy a 620 nm devido à presença de fentanil como co-reagente. O experimento em branco, sem fentanil, não mostra nenhuma banda de ECL.

Uma vez confirmada a emissão do Rubpy, o SpectroECL e a célula fotodiodo foram usados para analisar concentrações mais baixas de fentanil. Foram usadas as mesmas condições eletroquímicas do experimento com a célula microespectrômetro. O sinal obtido com a célula fotodiodo consiste na emissão total de ECL (linha verde, **Figura 3**), em vez de espectros de emissão ao longo da faixa visível. Simultaneamente, o sinal eletroquímico foi registrado (linha azul, **Figura 3**). Embora esse detector não diferencie comprimentos de onda, ele oferece alta sensibilidade. A ECL aumenta em potenciais superiores a 0,85 V, atingindo o máximo em torno de 1,00 V.

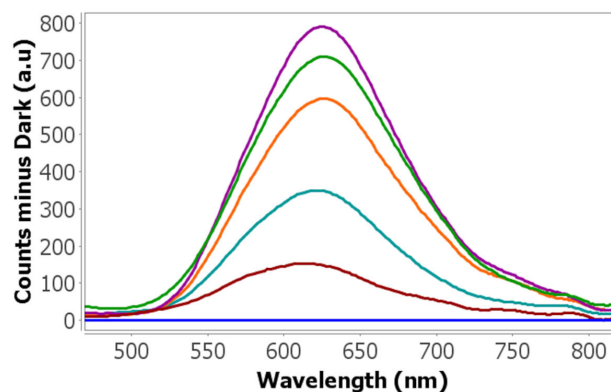


Figura 2. Emissão característica de ECL do Rubpy observada enquanto o potencial foi varrido de 0,40 V a 1,20 V, para uma solução de 0,0025 mol/L de Rubpy e 0,0001 mol/L de fentanil em PBS 0,1 mol/L (pH 6).

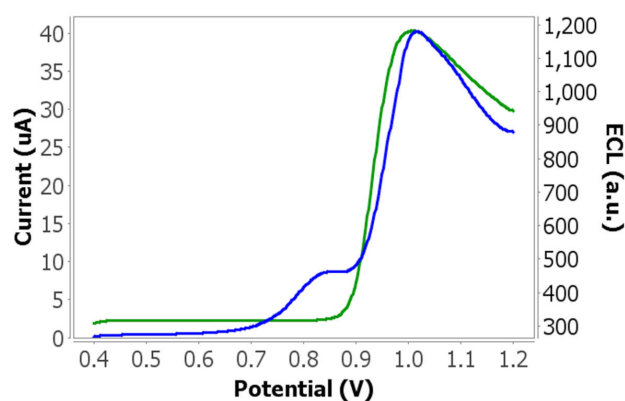


Figura 3. Voltametria de varredura linear (linha azul) e emissão de ECL do Rubpy (linha verde) de uma solução de 0,0025 mol/L de Rubpy e 0,001 mmol/L de fentanil em PBS 0,1 mol/L (pH 6).

A altura do sinal de ECL a 1,00 V foi medida, e uma curva de calibração de 0,001 mmol/L a 0,01 mmol/L de fentanil foi construída (**Figura 4**). O alto coeficiente de correlação ($R^2 = 0,998$) confirma a boa linearidade e sensibilidade do método de ECL para a detecção de fentanil nessa faixa de concentração.

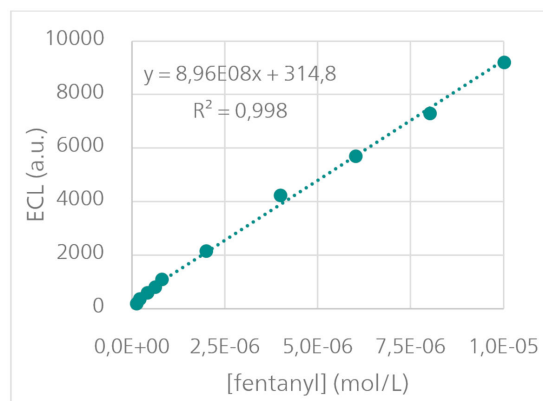


Figura 4. Curva de calibração da intensidade de ECL a 1,00 V para diferentes concentrações de fentanil e 0,0025 mol/L de Rubpy em PBS 0,1 mol/L (pH 6).

CONCLUSÃO

A ECL é uma técnica poderosa que fornece resultados confiáveis no estudo de uma variedade de luminóforos. A combinação da célula microespectrômetro para os espectros de emissão de ECL com o detector fotodiodo, que melhora a sensibilidade ao medir a intensidade total de ECL, permite uma compreensão clara do sistema analisado e apoia a quantificação do analito alvo.

Como prova de conceito, esta Nota de Aplicação demonstra a detecção de fentanil com base na emissão característica de ECL do Rubpy na presença desse composto. Como o sinal de ECL depende da concentração de fentanil na solução, os resultados obtidos abrem novos caminhos para o desenvolvimento de sensores de ECL para a detecção de opioides.

CONTACT

Metrohm Portugal
R. Frei Luis de Granada 14G
1500-680 Lisboa

vendas@metrohm.pt



SpectroElectrochemiluminescence instrument for Screen-Printed Electrodes

SpectroECL combines in one equipment a biopotentiostat/galvanostat and a microspectrometer integrated in an innovative cell for Screen-Printed Electrodes. This miniaturized and portable alternative is perfect for performing Electrogenerated ChemiLuminescence (ECL) measurements



Photodiode cell for electrochemiluminescence measurements

Cell for screen-printed electrodes to perform electrochemiluminescence measurements. This ABS cell includes a Silicon photodiode with preamp with a spectral response range 340 - 1100 nm and peak sensitivity wavelength of 960nm.

This cell should be used in combination with μ Stat ECL or μ Stat SpectroECL electrochemiluminescence instruments.