



# Fabricação de um sensor voltamétrico baseado em filme de *carbon black* e quitosana para determinação do antibiótico veterinário enrofloxacin em amostras de água de rio, leite e mel com avaliação do perfil verde do método

Aline M. de Oliveira<sup>1</sup> (PG), Garbas A. dos Santos Jr.<sup>1</sup> (PQ), Tiago Almeida Silva<sup>1</sup> (PQ)\*

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs  
Campus Universitário, 36570-900, Viçosa, MG, Brasil

\*E-mail: [tiago.a.silva@ufv.br](mailto:tiago.a.silva@ufv.br)

## RESUMO

O trabalho proposto envolveu o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para a determinação do antibiótico veterinário enrofloxacin (ENR) pela modificação de um eletrodo com filme de quitosana contendo nanopartículas de *carbon black* (CB). As características eletroquímicas do eletrodo modificado foram examinadas por voltametria cíclica (CV) com sonda redox e com o analito de interesse, nas quais o aumento no sinal analítico e a melhora na cinética de transferência de elétrons foram observadas. Duas faixas lineares foram obtidas por Voltametria de Varredura Linear (LSV), de 2,5 a 57  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 57 a 920  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com limite de detecção de 2,05  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Em amostras de água de rio, leite e mel, o sensor exibiu porcentagens de recuperação de ENR entre 94 e 105%. A adequação do sensor aos princípios da Química Analítica Verde foi verificada com base em métricas das ferramentas *Analytical Eco-Scale* e *Analytical GREENness Calculator*.

**Palavras-chave:** Alimentos, Águas naturais, Determinação eletroquímica, Eletrodo de carbono vítreo, Contaminantes emergentes.

## Introdução

A descoberta e o desenvolvimento de substâncias com atividade antimicrobiana contribuíram significativamente para o aumento da expectativa de vida de seres humanos e animais. A ENR é um antibiótico amplamente utilizado na medicina veterinária para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Contudo, o uso indiscriminado ou excessivo desse fármaco pode acarretar diversos problemas, como o surgimento de cepas bacterianas resistentes, a contaminação de ecossistemas e a presença de resíduos em alimentos de origem animal, representando riscos à saúde pública e ao meio ambiente (1,2). Dentre os métodos disponíveis para a determinação de ENR, os sensores eletroquímicos destacam-se por apresentarem vantagens como simplicidade de uso, baixo custo, monitoramento em tempo real e elevada sensibilidade (3). Neste estudo, foi desenvolvido um sensor eletroquímico baseado em eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês *glassy carbon electrode*) modificado com um filme de CB para a determinação voltamétrica de ENR em amostras de água de rio, leite e mel.

## Experimental

### Preparo da dispersão de CB

Uma dispersão de CB em solução de quitosana reticulada foi preparada para ser usada na modificação da superfície do GCE, utilizando epícloridrina (ECH) como agente de reticulação para quitosana, a matriz polimérica do filme modificador. Para isso, 1 mg

de CB, 400  $\mu\text{L}$  de solução estoque de quitosana (0,2% m/v preparada em ácido acético 1,0% m/v) e 400  $\mu\text{L}$  de solução estoque de ECH (2,5% m/v preparada em NaOH 0,01  $\text{mol L}^{-1}$ ) foram adicionados a um microtubo de 2 mL juntamente com 200  $\mu\text{L}$  de água ultrapura. A mistura foi então submetida a 60 minutos de ultrassonicação para obtenção de uma dispersão homogênea.

### Modificação do eletrodo

A modificação do GCE foi realizada utilizando um método de recobrimento por gotejamento (*drop coating*), com limpeza e polimento prévios da superfície eletródica. Após 15 minutos de ultrassonicação, 6  $\mu\text{L}$  da dispersão de CB foram cuidadosamente gotejados sobre a superfície do eletrodo, que foi mantida sob aquecimento suave de uma lâmpada de luz infravermelha por 40 minutos para secagem completa e uso imediato. O eletrodo modificado com o filme de CB foi denominado CB/GCE.

### Ensaios eletroquímicos

Uma célula eletroquímica composta por três eletrodos foi montada: um eletrodo de trabalho GCE não-modificado ou modificado; um contra eletrodo de platina; e um eletrodo de referência de Ag/AgCl (3,0  $\text{mol L}^{-1}$  de KCl). A caracterização eletroquímica dos eletrodos de trabalho (GCE e CB/GCE) foi realizada por CV, utilizando como sonda redox 1,0  $\times 10^{-3}$   $\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  em solução de KCl 0,1  $\text{mol L}^{-1}$ .

### Preparo das amostras

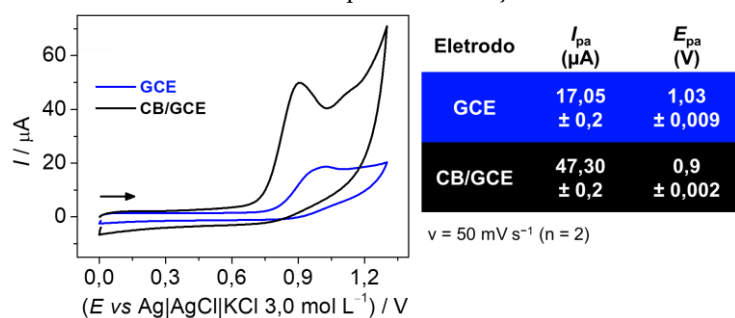
Para os ensaios de recuperação de ENR, as amostras, em sua



forma como recebida, foram diluídas na solução de eletrólitos [suporte] na proporção de 1:9 (v/v, leite) e de 1:20 (m/v, mel). Para os ensaios com água de rio, a amostra foi utilizada na preparação da solução de eletrólito suporte.

## Resultados e Discussões

A caracterização eletroquímica realizada com sonda redox mostrou que o eletrodo modificado apresentou área eletroativa três vezes maior e constante de transferência de elétrons heterogênea dez vezes maior, em comparação ao eletrodo sem modificação. Em seguida, verificou-se que houve um aumento significativo na corrente de pico da oxidação irreversível da ENR no CB/GCE em comparação ao GCE (Figura 1). Após estudos de otimização do pH da solução de eletrólito suporte, foram definidos pH = 7,0 e voltametria de varredura linear para a construção da curva analítica.



**Figura 1.** Voltamogramas cíclicos obtidos com GCE e CB/GCE em solução de tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH = 7,0) contendo ENR 0,5 mmol L<sup>-1</sup>.  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

A partir da relação entre a corrente de pico anódica ( $I_{pa}$ ) e a raiz quadrada da velocidade de varredura ( $v^{1/2}$ ), verificou-se que o processo redox da ENR na superfície de CB/GCE foi governado por difusão. Assim, o sensor proposto foi capaz de determinar a ENR em amostras de água de rio, leite e mel com LOD de 2,05 μmol L<sup>-1</sup>, 5,20 μmol L<sup>-1</sup> e 1,92 μmol L<sup>-1</sup>, respectivamente, em duas faixas lineares de concentração. A Tabela 1 apresenta os valores de duas concentrações de ENR recuperadas em cada matriz.

**Tabela 1.** Resultados obtidos por LSV com o eletrodo CB/GCE para a determinação de ENR em diferentes amostras fortificadas.

| Amostra     | c(ENR) / mol L <sup>-1</sup> |                                  | Recuperação (%) |
|-------------|------------------------------|----------------------------------|-----------------|
|             | Adicionada                   | Encontrada                       |                 |
| Água de rio | $4,76 \times 10^{-5}$        | $(4,50 \pm 0,2) \times 10^{-5}$  | 94,45           |
|             | $5,22 \times 10^{-4}$        | $(5,24 \pm 0,9) \times 10^{-4}$  | 100,43          |
| Leite       | $4,76 \times 10^{-5}$        | $(5,00 \pm 0,3) \times 10^{-5}$  | 105,02          |
|             | $5,22 \times 10^{-4}$        | $(5,42 \pm 0,03) \times 10^{-4}$ | 103,93          |
| Mel         | $4,76 \times 10^{-5}$        | $(4,86 \pm 1,0) \times 10^{-5}$  | 102,01          |
|             | $5,22 \times 10^{-4}$        | $(5,34 \pm 0,4) \times 10^{-4}$  | 102,30          |

Com base nos 12 princípios da Química Analítica Verde, as ferramentas utilizadas para análise do perfil do sensor sugeriram que o método foi considerado verde excelente pela *Analytical Eco-Scale* (>78 pontos) em relação aos impactos ambientais e a *Analytical GREENness Calculator* apontou que mudanças relacionadas à miniaturização, análise *in situ* e quantidade de amostra podem aprimorar o sensor (Figura 2).



**Figura 2.** Avaliação do perfil verde obtida com a ferramenta de análise *Analytical GREENness Calculator*.

## Conclusões

Os resultados indicaram que o sensor proposto apresentou melhora considerável na determinação da ENR, mesmo com uma modificação relativamente simples. As vantagens incluíram a fabricação simples e rápida do filme e a adoção de material condutor de baixo custo, utilizado em fração mínima na composição da dispersão. Além disso, não gerou gastos energéticos adicionais na síntese do material modificador, uma vez que o CB já é fabricado em escala industrial e facilmente disponível para compra. Ressalta-se também que as análises foram realizadas com as amostras como recebidas e apenas diluídas, sem tratamento prévio com solventes orgânicos de extração.

## Agradecimentos

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 401977/2023-4); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, APQ-03113-22); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Universidade Federal de Viçosa (UFV) e Laboratório de Pesquisas em Eletroanalítica e Nanomateriais (LAPEN).

## Referências

1. L. Grabowski et al., *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23, 3648.
2. S. Bhatt; S. Chatterjee. *Environ. Pollut.* **2022**, 315, 120440.
3. O. Fatibello-Filho et al. *Eletroanálises: aspectos teóricos e práticos*, EdUFSCar, São Carlos, **2022**.