

XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS
21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016

DETERMINAÇÃO ELETROQUÍMICA DO METRONIDAZOL UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM NANOTUBOS DE CARBONO

Andressa Giombelli Rosenberger⁽¹⁾; Lianne Mayara Pezenti Crespão⁽²⁾; Douglas Cardoso Dragunski⁽³⁾; Roberta Antigo Medeiros⁽⁴⁾; Roberto Matos⁽⁵⁾; Rodrigo Schneider⁽⁶⁾; Josiane Caetano⁽⁷⁾

⁽¹⁾ Departamento de Engenharias e Ciências Exatas; Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE); Toledo-PR; andressa_rosenberger@hotmail.com;

⁽²⁾ Departamento de Engenharias e Ciências Exatas; Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE); Toledo-PR; laiannemayara@hotmail.com;

⁽³⁾ Departamento de Engenharias e Ciências Exatas; Universidade Estadual do Oeste do Paraná–UNIOESTE; Toledo-Paraná; dcdragunski@gmail.com;

⁽⁴⁾ Centro de Ciências Exatas; Universidade Estadual de Londrina-UEL; Londrina-Paraná; ramedeiros@uel.br;

⁽⁵⁾ Centro de Ciências Exatas; Universidade Estadual de Londrina-UEL; Londrina-Paraná; rmatos@uel.br;

⁽⁶⁾ Universidade Federal de São Carlos-UFSCAR; São Carlos-São Paulo; rodrigo.18@outlook.com;

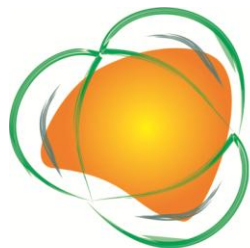
⁽⁷⁾ Departamento de Engenharias e Ciências Exatas; Universidade Estadual do Oeste do Paraná–UNIOESTE; Toledo-Paraná; caetanojosi@gmail.com.

Saúde, Segurança e Meio Ambiente

RESUMO – O presente trabalho descreve o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para a determinação do fármaco metronidazol (MTZ) em água superficial, utilizando o eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono e a voltametria de onda quadrada (VOQ). O fármaco apresenta um pico de redução em -0,60 V vs Ag/AgCl em fosfato de sódio pH 7,0. A curva analítica mostrou linearidade de 0,9865 com limite de detecção de 31,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$. As medidas de recuperação em águas superficiais mostraram uma média de recuperação de 110,98%, permanecendo dentro do preconizado pela ANVISA. Estes resultados indicam que a metodologia é promissora para determinação de MTZ em amostras ambientais.

Palavras-chave: Poluentes Emergentes. Eletroquímica. Fármacos. Monitoramento Ambiental.

ABSTRACT – This work describes the development of an electroanalytical procedure for the determination of metronidazole drug in river water using glassy carbon electrode modified with carbon nanotubes and square wave voltammetry (SWV). The drug shows a reduction peak at -0.60 V vs. Ag / AgCl in sodium phosphate pH 7.0. The calibration curve showed linearity of 0,9865 limit of detection of 31,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Recovery measures in river water showed an average recovery of 110.98%, being within the recommended by ANVISA. These results indicate that the method is promising for determination of MTZ in environmental samples.



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS

21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016

Keywords: Emerging pollutants. Electrochemistry. Drugs. Environmental monitoring.

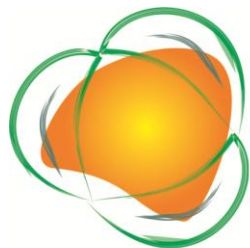
Introdução

A vulnerabilidade ambiental decorrente de ações antrópicas exige que as ferramentas e as rotinas de monitoramento ambiental desenvolvam-se rapidamente, visto que, constantemente são produzidos novos produtos químicos e materiais para as mais diversas aplicações, cujos efeitos deletérios ao ambiente são desconhecidos (FERREIRA, 2014; COLAÇO; GOMES; PERALTA-ZAMORA, 2015).

Dentre estes, a disseminação hídrica de produtos farmacêuticos como os antibióticos, que tem como principal fonte poluidora as indústrias farmacêuticas, são dispensados no meio ambiente mantendo muitas vezes suas propriedades terapêuticas, além disso, são amplamente utilizados no tratamento veterinário e humano constituindo assim um elevado potencial poluente (BILA, DEZOTTI, 2003). Desta forma, estas moléculas vêm sendo reportadas como poluidores ambientais, devido a grande variabilidade, elevado consumo, complexidade estrutural, persistência no ambiente e resistência ao tratamento convencional aplicado aos esgotos domésticos. Um exemplo desses poluentes é o metronidazol, um antibiótico utilizado para tratar infecções causadas por protozoários e bactérias anaeróbias (CHIANEH e PARSA, 2015; AMMAR et al., 2016). Sua presença tem sido detectada em estações de tratamento de água e águas superficiais (YU e ZHANG, 2012; GÜRCÜ, et al., 2016; MUÑOZ, et al., 2010; KASPRZYK-HORDERN; DINSDALE; GUWY, 2007). A presença deste fármaco em ambientes aquáticos vem causando preocupação, pois vários são os estudos que salientam seus efeitos deletérios sobre a saúde humana e o meio ambiente, como elevada toxicidade, baixa biodegradabilidade, efeitos carcinogênico e mutagênico, potencial bioacumulação, bem como elevada solubilidade em água (GÜRCÜ, et al., 2016; CHIANEH e PARSA, 2015; AMMAR et al., 2016; CARRALES-ALVARADO et al., 2014; HAN, et al., 2014; CHEN, et al., 2013).

Desta forma, é de extrema importância monitorar tal poluente, visando garantir a saúde humana e proteger o meio ambiente. Os métodos analíticos reportados na literatura para quantificar o metronidazol são principalmente os métodos cromatográficos, espectrofotométricos e eletroquímicos (CHEN, et al., 2013; XIAO, et al., 2016; WAGIL, et al., 2015; HAN et al., 2014; MEENAKSHI, et al., 2016; AMMAR et al., 2016). Em meio a estes, os métodos eletroquímicos destacam-se por serem simples e acessíveis, além disso, possuem elevada sensibilidade e seletividade, constituindo uma alternativa simples e acessível para a determinação de poluentes emergentes como o metronidazol (XIAO, et al., 2016; CHEN, et al., 2013).

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver um procedimento eletroanalítico para a determinação de metronidazol em águas



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS

21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016

superficiais, empregando para isto um eletrodo de carbono vítreo modificado com uma suspensão de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT's) e quitosana.

Material e Métodos

Todas as soluções foram preparadas usando água destilada, purificada por um sistema de resina de troca iônica (marca ADAMO). Uma solução estoque do fármaco metronidazol (grau HPLC da Sigma-Aldrich) foi preparada na concentração de $9,93 \text{ mmol L}^{-1}$ em 25% de etanol. Para a determinação da espécie em análise foram testados diferentes eletrólitos suportes em pH 7,0. Os meios testados foram ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e por fim, tampão Britton-Robinson (BR).

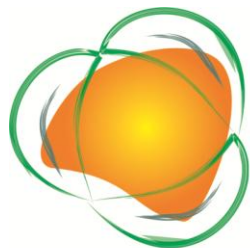
A célula eletroquímica utilizada foi a convencional de compartimento único com orifícios para encaixe dos eletrodos. O eletrodo de referencia utilizado foi o Ag/AgCl/KCl $3,00 \text{ mol L}^{-1}$, o auxiliar foi a placa de platina e como eletrodo de trabalho utilizou-se o eletrodo de carbono vítreo modificado com uma suspensão de MWCNT's (1% m/v) em quitosana (1% m/m), proposto por PAULIUKAITE, et al. (2010). Para o preparo deste eletrodo, dissolveu-se inicialmente 100 mg de quitosana (Mv 220000 da Sigma Aldrich) em pó em 10 mL de uma solução de ácido acético 1% (v/v) sob agitação constante por 3 horas. Após preparou-se uma dispersão de 1,0% (m/v) de MWCNT's funcionalizados em 1,0% (m/m) da solução de quitosana previamente preparada. Para a construção do eletrodo de trabalho, depositou-se 10 μL da dispersão de MWCNT's funcionalizados, em quitosana sobre o eletrodo de carbono vítreo, deixando-o secar por uma hora antes de sua utilização. Os voltamogramas cíclicos e de onda quadrada foram obtidos a partir de um potenciostato PalmSens interfaciado a um microcomputador e gerenciado pelo programa computacional PalmSensPC 4.7.

Para os experimentos de recuperação, foi coletada água superficial da bacia hidrográfica Paraná III na região de Toledo– PR, próximo à área urbana deste município situado nas coordenadas geográficas $24^{\circ}44'38''\text{S}$; $53^{\circ}41'12''\text{O}$.

Para os experimentos de recuperação o eletrólito fosfato de sódio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparado com a amostra de água proveniente do rio, onde as amostras foram inicialmente dopadas e posteriormente realizou-se a adição de padrão. Todas as medidas foram realizadas em triplicata. A eficiência de recuperação (R%) para os diferentes pontos de coleta das águas foram calculados utilizando a equação 1, onde o valor de [MTZ]obtido, refere-se à concentração obtida pela reta da curva de adição de padrão para a amostra enriquecida.

$$\%R = 100 \frac{[\text{MTZ}]_{\text{obtido}}}{[\text{MTZ}]_{\text{adicionado}}} \quad (1)$$

A quantificação do MTZ em água de rio foi realizada sem um pré-tratamento da amostra.



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS

21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016

Resultados e Discussão

Inicialmente foi avaliada a resposta eletroquímica da MTZ utilizando a voltametria cíclica (Figura 1).

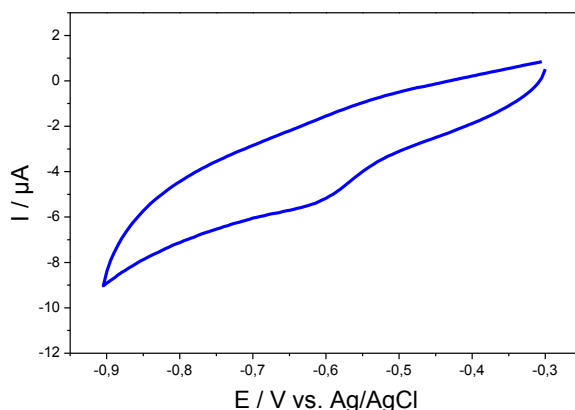
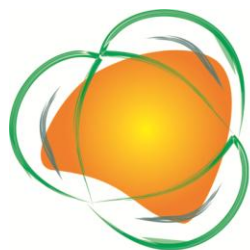


Figura 01. Voltamograma cíclico obtido com o eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono em meio de Na_2HPO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0.

O voltamograma obtido mostra que o MTZ apresenta resposta eletroativa no sentido negativo de varredura, em aproximadamente $-0,60 \text{ V}$, indicando, portanto que ocorre um processo de redução irreversível deste analito. O eletrólito suporte que apresentou perfil voltamétrico mais definido e com maior intensidade de corrente de pico foi o fosfato de sódio, desta forma, as medidas de VOQ, foram realizados em meio de fosfato de sódio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7,0, este pH foi escolhido, pois a quitosana se solubiliza em pH mais ácido. Após definido o eletrólito e o pH, realizou-se a otimização para os parâmetros para a voltametria de onda quadrada para obtenção de maior definição e intensidade de pico. Foram avaliadas: frequência de aplicação do pulso (f), amplitude do pulso (a) e incremento de varredura (ΔE_s). Os melhores parâmetros encontram-se na Tabela 01.



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS

21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016

Tabela 01. Parâmetros experimentais otimizados para a determinação de MTZ por VOQ.

Parâmetros	Valores Estudados	Valor selecionado
f (s^{-1})	10 - 200	70
a (mV)	10 - 200	50
ΔE_s	02 - 07	4

Definidos os melhores parâmetros foi construída a curva analítica para o MTZ, como pode ser visto na Figura 02.

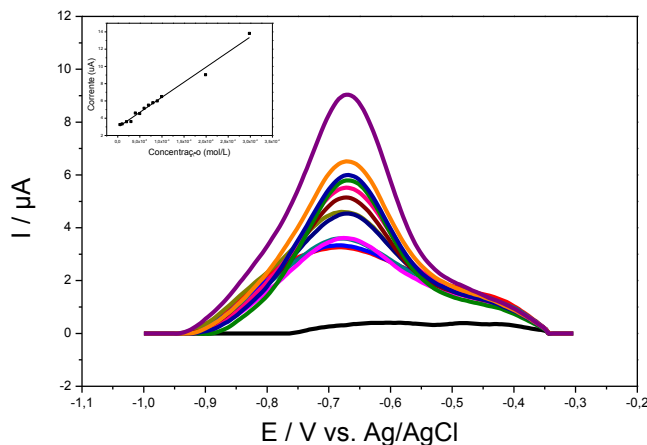
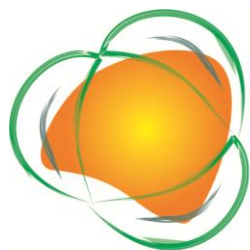


Figura 03. Voltamogramas obtidos em meio de tampão Na_2HPO_4 , pH 7,0 para as concentrações de MTZ: (0-13) . (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 79, 89, 99, 199, 298 $\mu mol L^{-1}$) Inserção: Curva Analítica obtida para o MTZ.

Esta curva apresentou linearidade em uma faixa de concentração de $4,97 \times 10^{-6}$ a $2,98 \times 10^{-4} mol.L^{-1}$ e está representada pela equação $I_p = 2,93 + 34920,63[MTZ]$ com um coeficiente de correlação de 0,9865 e um limite de detecção de $3,19 \times 10^{-5} mol L^{-1}$

Para avaliar a precisão da metodologia, foram realizadas análises intra-dias essas análises foram realizadas por meio de dez medidas sucessivas em duas concentrações diferentes de MTZ. Para a repetitividade realizou-se medidas entre-dias, utilizaram-se as mesmas concentrações de MTZ em cinco dias diferentes. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 02.



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS

21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016

Tabela 02. Precisão da metodologia intra- e entre-dias.

[MTZ] (mol L ⁻¹) ¹⁾	Intra-dias σ^a	Entre-dias σ^b
$6,95 \times 10^{-5}$	0,22	0,04
$1,99 \times 10^{-4}$	0,08	0,25

^a(n = 10); ^b(n = 5)

As curvas de recuperação para a determinação de MTZ em amostras de água superficial do Rio Toledo foram realizadas em triplicata para avaliar a potencialidade da metodologia proposta. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 03.

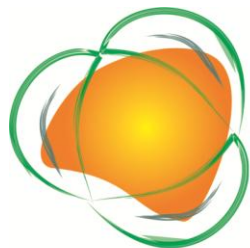
Tabela 03. Valores de recuperação obtidos para o MTZ em amostras de água provenientes do Rio Toledo.

Amostras	r	Método eletroanalítico proposto		
		Equação da reta	SD	Recuperação (%) $\pm CV$ (n=4)
A	0,997	$I_p = 2,76 + 51720,74[MTZ]$	0,07	$107,46 \pm 1,31\%$
B	0,988	$I_p = 2,91 + 50775,46[MTZ]$	0,13	$114,49 \pm 2,64\%$
C	0,995	$I_p = 2,27 + 41159,14[MTZ]$	0,07	$110,98 \pm 1,31\%$

As taxas de recuperação de MTZ observadas mostraram-se satisfatórias, indicando que não há interferências significativas da matriz para a quantificação deste fármaco, com os valores de recuperação ficando dentro dos limites aceitáveis de recuperação que é de 80 a 120%. Além disso, as porcentagens obtidas evidenciam que o método pode ser considerado preciso, com valores de coeficiente de variação (CV) inferiores a 5%, como preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2003). Portanto, a metodologia eletroanalítica proposta é promissora para ser utilizada por estações de tratamento de água e até mesmo por órgãos ambientais.

Conclusão

O sensor proposto mostrou-se promissor para análises prévias na determinação de MTZ, permite monitorar este poluente emergente de forma simples, acessível e rápida, além disso, mostrou-se sensível, seletivo, e com precisão satisfatórias quando aplicado em águas superficiais, indicando assim, ausência de interferência significativa dos componentes da matriz.



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS
21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016

Referências Bibliográficas

AMMAR, H.B.; BRAHIM, M.B.; ABDELHÉDI, R.; SAMET, Y. Green electrochemical process for metronidazole degradation at BDD anode in aqueous solutions via direct and indirect oxidation. **Separation and Purification Technology**, v. 157, p. 9-16, 2016.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.

CARRALES-ALVARADO, D.H.; OCAMPO-PÉREZ, R.; LEYVA-RAMOS, R.; RIVERA-UTRILLA, J. Removal of the antibiotic metronidazole by adsorption on various carbon materials from aqueous phase. **Journal of colloid and interface science**, v. 436, p. 276-285, 2014.

CHEN, D.; DENG, J.; LIANG, J.; XIE, J.; HU, C.; HUANG, K. A core-shell molecularly imprinted polymer grafted onto a magnetic glassy carbon electrode as a selective sensor for the determination of metronidazole. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 183, p. 594-600, 2013.

CHIANEH, F. N.; PARSA, J. B. Electrochemical degradation of metronidazole from aqueous solutions using stainless steel anode coated with SnO₂ nanoparticles: experimental design. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, 2015.

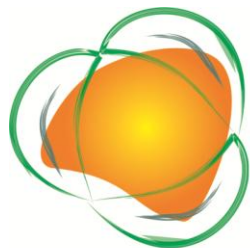
GÜRCÜ, B.; KOCA, Y. B.; ÖZKUT, M.; TUĞLU, M. İ. Matrix changes due to the toxic effects of metronidazole in intestinal tissue of fish (*Onchorhynchus mykiss*). **Chemosphere**, v. 144, p. 1605-1610, 2016.

HAN, C.; CHEN, J.; WU, X.; HUANG, Y. W.; ZHAO, Y. Detection of metronidazole and ronidazole from environmental Samples by surface enhanced Raman spectroscopy. **Talanta**, v. 128, p. 293-298, 2014.

HIANEH, F. N.; PARSA, J. B. Electrochemical degradation of metronidazole from aqueous solutions using stainless steel anode coated with SnO₂ nanoparticles: experimental design. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, 2015.

KASPRZYK-HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography a**, v. 1161, n. 1, p. 132-145, 2007.

MEENAKSHI, S.; PANDIAN, K.; JAYAKUMARI, L. S.; INBASEKARAN, S. Enhanced amperometric detection of metronidazole in drug formulations and urine samples based on chitosan protected tetrasulfonated copper phthalocyanine thin-film modified glassy carbon electrode. **Materials Science and Engineering: C**, v. 59, p. 136-144, 2016.



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS
21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016

Muñoz, I.; Bueno, M. J. M.; Agüera, A.; Fernández-Alba, A. R. Environmental and human health risk assessment of organic micro-pollutants occurring in a Spanish marine fish farm. **Environmental pollution**, v. 158, n. 5, p. 1809-1816, 2010.

PAULIUKAITE, R.; GHICA, M. E.; FATIBELLO-FILHO, O.; BRETT, C. M. Electrochemical impedance studies of chitosan-modified electrodes for application in electrochemical sensors and biosensors. **Electrochimica Acta**, v. 55, n. 21, p. 6239-6247, 2010.

WAGIL, M.; MASZKOWSKA, J.; BIAŁK-BIELIŃSKA, A.; CABAN, M.; STEPNOWSKI, P.; KUMIRSKA, J. Determination of metronidazole residues in water, sediment and fish tissue samples. **Chemosphere**, v. 119, p. S28-S34, 2015.

XIAO, N.; DENG, J.; CHENG, J.; JU, S.; ZHAO, H.; XIE, J.; QIAN, D.; HE, J. Carbon paste electrode modified with duplex molecularly imprinted polymer hybrid film for metronidazole detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 81, p. 54-60, 2016.

YU, K.; LI, B.; ZHANG, T. Direct rapid analysis of multiple PPCPs in municipal wastewater using ultrahigh performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry without SPE pre-concentration. **Analytica chimica acta**, v. 738, p. 59-68, 2012.