



VITOR HUGO MARQUES BORTOLO

**DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO
PARA A DETERMINAÇÃO DE AMOXICILINA EM
AMOSTRAS CÁRNEAS**

**LAVRAS – MG
2023**

VITOR HUGO MARQUES BORTOLO

**DESENVOLVIMENTO DE UM SENSORES ELETROQUÍMICOS PARA A
DETERMINAÇÃO DE AMOXICILINA EM AMOSTRAS CÁRNEAS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do Curso de
Química, para obtenção do título de Bacharel.

Prof^a. Dr^a. Adelir Aparecida Saczk
Orientadora

Ms. Matheus Julien Ferreira Bazzana
Coorientador

LAVRAS – MG

2023

Resumo

A amoxicilina (AMX) é um antibiótico semissintético derivado da penicilina conhecido pela capacidade de penetrar rapidamente nas membranas celulares e inibir a acessão bacteriana. Classificado como um β lactâmico, é amplamente utilizado para tratar infecções causadas por bactérias gram-positivas e gram-negativas em seres humanos e animais. No entanto, a utilização indiscriminada da (AMX) em medicamentos veterinários tem levado ao acúmulo de resíduos em alimentos de origem animal, o que pode representar um sério risco à saúde humana. Quando esses alimentos são ingeridos, os resíduos de AMX podem causar reações alérgicas, distúrbios sanguíneos, endócrinos e nervosos, bem como efeitos tóxicos na flora intestinal. Neste sentido, justifica-se o desenvolvimento de métodos analíticos alternativos para monitorar a AMX em produtos alimentícios de origem animal. As técnicas tradicionais como eletroforese capilar e cromatografia possuem alto custo associado, demandam um longo tempo de análise e utilizam de grandes volumes de solventes. Sendo assim, técnicas voltamétricas podem ser uma alternativa para a identificação da AMX. O uso de eletrodo de pasta de carbono modificado com zeólita, pode aumentar a sensibilidade e resposta eletroanalítica do método, pois esse material possui propriedades adsorptivas e grande área superficial. Assim, este trabalho objetiva o desenvolvimento de um sensor eletroquímico de pasta de carbono modificado com zeólita desaluminada utilizando Voltametria Cíclica e Voltametria de Redissolução para o monitoramento de AMX em amostras cárneas. Para a otimização das melhores condições do método para analisar AMX, foi definida janela de potencial variando de 0,6 a 1,1. O pH da solução de pré-concentração e o pH do eletrólito de suporte foi 5. A proporção da pasta para o eletrodo de trabalho foi de 60% (m/m) de grafite em pó, 30% (m/m) de óleo mineral e para o modificador foi 10% (m/m) de zeólita. O melhor tempo de pré-concentração de AMX foi de 10 minutos. A velocidade de varredura foi a de 100 mVs^{-1} . O método desenvolvido para a determinação de AMX apresentou linearidade na faixa de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A curva analítica na ausência de matriz demonstrou um $R^2 = 0,998$, com limite de detecção (LOD) de $5,07 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de quantificação (LOQ) de $1,69 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A análise da AMX em amostra de carne foi realizada na concentração de $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e apresentou um valor de corrente considerável que ultrapassou os parâmetros da curva analítica. Sendo assim, o sensor desenvolvido apresenta potencial para determinação de AMX em voltametria de redissolução e voltametria cíclica em função de sua capacidade de adsorção.

Palavras-chave: Amoxicilina; Voltametria de Redissolução; Voltametria Cíclica; Zeólita.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
2	OBJETIVOS	7
3	REFERENCIAL TEÓRICO	8
	3.1 Segurança alimentar e resíduos de medicamentos de uso veterinário	8
	3.2 β -lactâmicos.....	8
	3.3 Amoxicilina (AMX)	10
	3.4 Legislação para ocorrência de amoxicilina em amostras cárneas	12
	3.5 Sensores eletroquímicos	13
	3.6 Sensores voltamétricos	13
	3.7 Voltametria de redissolução	14
	3.8 Modificadores eletroquímicos	15
4	METODOLOGIA.....	16
	4.1 Reagentes e soluções.....	16
	4.2 Equipamentos	16
	4.3 Construção dos eletrodos de pasta de carbono.....	17
	4.4 Determinação da amoxicilina	18
	4.5 Otimização dos parâmetros experimentais.....	18
	4.6 Preparo de amostras	19
	4.7 Determinação dos limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ).....	19
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
	5.1 Comportamento eletroquímico da amoxicilina frente ao EPCM/HZSM-5/AC	20
	5.2 pH de pré-concentração	21
	5.3 Estudo do Eletrólito de Suporte	23
	5.4 Tempo de pré-concentração	24
	5.5 Proporção de modificador	25
	5.6 Velocidade de Varredura.....	27
	5.7 Desempenho Analítico do EPCM/HZSM-5/AC.....	28
	5.8 Determinação do LOD e LOQ	29

5.9	Analises em Amostras Cárneas	29
6	CONSIDERAÇÕES GERAIS	30
	REFERENCIAS	31
	ANEXOS	35

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que para sustentar a vida e proporcionar uma boa saúde à população mundial é necessário que todos tenham acesso a uma alimentação segura e nutritiva. As doenças transmitidas por alimentos são frequentemente causadas por bactérias, vírus, parasitas ou produtos químicos, que são consumidos por meio de alimentos que podem causar danos à saúde humana. (FERRARI, 2021; SALIM *et al.*, 2022).

As rações e os medicamentos veterinários contendo antibióticos são de grande importância na pecuária para tratar doenças e para proteger a saúde dos animais. Isso promove o crescimento e o aumento do desempenho do rebanho (BARALLA, 2021; FERRARI, 2021; SALIM *et al.*, 2022). No entanto, a aplicação descontrolada e irresponsável desses fármacos, como anti-inflamatórios, analgésicos e antibióticos, pode acarretar no acúmulo de resíduos em alimentos de origem animal, que estão diretamente associados à causa de doenças alimentícias, o que pode ser motivo de reações alérgicas, de distúrbios sanguíneos, endócrinos e nervosos, de efeitos toxicológicos na flora intestinal, etc. (BARALLA, 2021; FERRARI, 2021; SALIM *et al.*, 2022; XIA *et al.*, 2023).

Um exemplo de resíduo de medicamentos em produtos alimentícios é a amoxicilina (AMX), um antibiótico muito utilizado em animais para tratar e para prevenir infestações microbianas, atuando também no fator de crescimento, como em gado e em peixes (DE SOUZA *et al.*, 2023).

Com os riscos de contaminação nos alimentos, principalmente por resíduos de AMX, métodos analíticos foram desenvolvidos para a detecção desses compostos, como cromatográficos, espectrofotométricos, eletroforese capilar, ensaio imunoenzimático (ELISA), entre outros. Contudo, as técnicas citadas incluem equipamentos de alto valor, que, embora sejam seletivos, necessitam de preparos de amostras complexos, que exigem um elevado gasto de solventes e que são trabalhosos por demandarem muito tempo. Dessa forma, métodos alternativos, como os eletroquímicos/eletroanalíticos, proporcionam baixo custo, alta sensibilidade, boa seletividade e que exigem pouca preparação de amostras e de análises rápidas (WANG *et al.*, 2020; FERRARI, 2021; SALIM *et al.*, 2022).

Entre as técnicas eletroanalíticas, a voltametria cíclica se mostra interessante, sendo uma técnica utilizada para adquirir informações qualitativas em processos eletroquímicos. Essa técnica possui diversas aplicações, podendo ser empregada na elucidação de mecanismos reacionais, na quantificação de analitos eletroativos, e na caracterização de processos físico-químicos (ADERYANI *et al.*, 2021; RYU *et al.*, 2020). Ela consiste em aplicar potencial controlado no sentido anódico e catódico transmitindo a resposta em forma de corrente, com

análises rápidas, uso de pequenos volumes de amostra, entre outros benefícios (WATWE; KULKARNI, 2021). Outra técnica eletroanalítica interessante para a determinação de antibióticos é a voltametria de redissolução. Também conhecida como *stripping*, essa técnica é bastante utilizada para determinar a concentração de traços metálicos em solução. Por meio dela é possível determinar analitos em baixas concentrações, devido a uma etapa de pré concentração do analito sobre a superfície do eletrodo de trabalho, aumentando a corrente faradaica. (BARD, 2001; SKOOG, 2006; ALEIXO, 2018).

Os sensores eletroquímicos, como os eletrodos de pasta de carbono (EPC), são amplamente utilizados na aplicação de técnicas voltamétricas. Isso se deve ao fato de que esses sensores possuem características vantajosas, como baixo custo, boa condutividade, baixa resistência elétrica e grande janela de potencial. Além disso, os EPCs podem ser facilmente modificados para se adequarem a diferentes aplicações (ALIZADEH; AMJADI, 2020; HRIOUA *et al.*, 2021). As modificações de EPC são utilizadas para aumentar a seletividade e para melhorar a sensibilidade desses eletrodos. Para isso, podem ser utilizados diversos materiais, como os de carbono, de nanomateriais e de polímeros (HRIOUA *et al.*, 2021). Entre os materiais utilizados nas modificações, destaca-se a zeólita. Com sua estrutura porosa e alta área superficial, ela é capaz de adsorver seletivamente íons específicos, o que pode aumentar significativamente a resposta eletroquímica de muitas substâncias analisadas (SILVA, 2015; VIEIRA *et al.*, 2015).

2 OBJETIVOS

Desenvolver um sensor eletroquímico à base de pasta de carbono modificado com zeólita desaluminada para o monitoramento de AMX em amostras de carne utilizando técnicas voltamétricas. A partir destas técnicas voltamétricas, estudar o comportamento eletroquímico da AMX e avaliar: janela de potencial, pH da solução de pré concentração, eletrólito de suporte, tempo de pré concentração, proporção de modificador eletroquímico, velocidade de varredura (v), desempenho analítico de trabalho modificado, determinar os limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) e assim, realizar o preparo das amostras de carne (musculo bovino) aplicando o método válido de AMX nessas amostras.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Segurança alimentar e resíduos de medicamentos de uso veterinário

Com os padrões de vida se desenvolvendo e a crescente economia, a qualidade de vida e preocupações com a saúde, são cada vez mais priorizados em todo o mundo. Os principais desafios para a segurança alimentar é conseguir elevar o nível de proteção à saúde devido a ocorrência frequente de compostos perigosos e indesejáveis nos alimentos (XIA *et al.*, 2023)

Os medicamentos veterinários são muito utilizados no tratamento, controle e prevenção de doenças, assim como para modificar as funções fisiológicas, promovendo a produtividade e o desenvolvimento de animais. Mesmo aplicando Boas Práticas Veterinárias, o seu uso pode resultar em resíduos nos alimentos de origem animal, como leite, ovos e carne (HRIOUA *et al.*, 2021;. XIA *et al.*, 2023).

Ao ingerir alimentos com resíduos de medicamentos veterinários (RMV) efeitos adversos à saúde humana podem ocorrer, tanto agudos quanto crônicos. As maiores preocupações são com os resíduos dos β -lactâmicos, que são uma classe de antibióticos, como a amoxicilina (AMX). Essa classe apresenta estrutura química estável, baixos níveis de toxicidade (com exceção do consumo exagerado do alimento que contenha esse produto) e taxas lentas de biodegradação que, quando presente, pode apresentar uma série de complicações para o ser humano, como reações alérgicas, distúrbios sanguíneos, distúrbios endócrinos, distúrbios nervosos, efeitos toxicológicos na flora intestinal, mutação, teratogênese, carcinogênese e resistência antimicrobiana (MOHAMMADZADEH *et al.*, 2022; XIA *et al.*, 2023).

Portanto, a regulamentação dos limites máximos de resíduos (LMRs) para medicamentos veterinários usados em espécies produtoras de alimentos é necessária para garantir que a exposição da população a essas substâncias esteja dentro de níveis admissíveis e os riscos relacionados à saúde sejam minimizados. Consequentemente, a fim de garantir um nível aceitável de risco de resíduos indesejáveis vindo da AMX e outros β -lactâmicos, estratégias para garantir a saúde humana foram desenvolvidas para detectar a presença desses contaminantes (ANVISA, 2018; XIA *et al.*, 2023).

3.2 β -lactâmicos

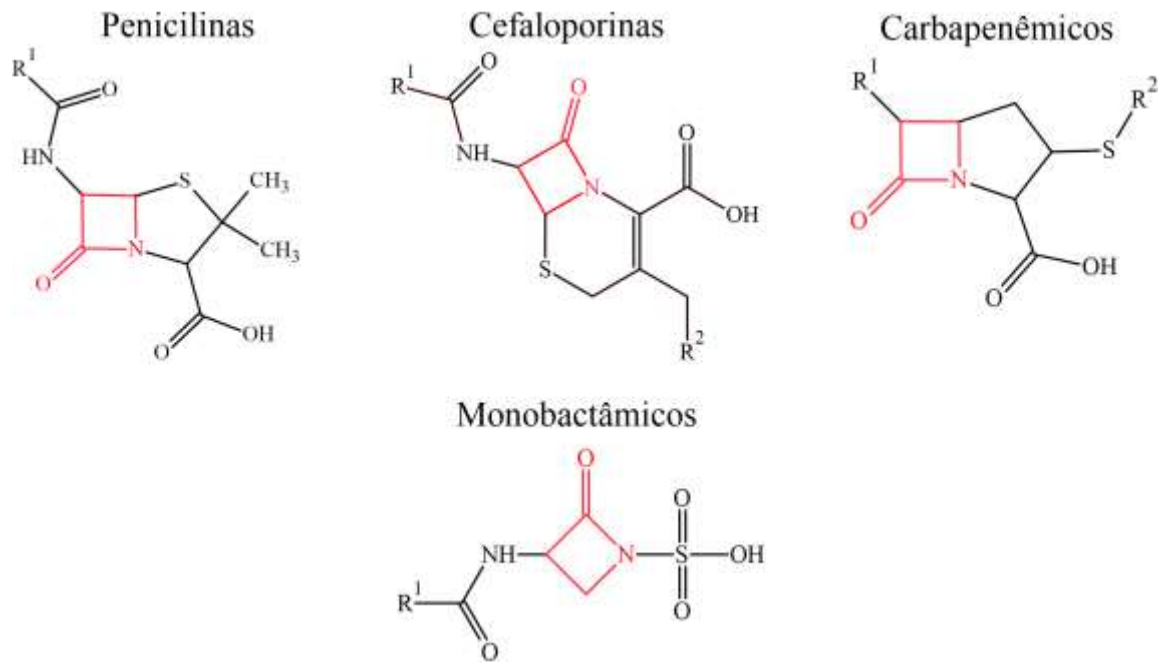
Os β -lactâmicos são agentes antibacterianos (antibióticos) que apresentam amplo espectro de atuação no combate a infecções e excelente perfil de segurança quando administrados corretamente. São clinicamente utilizados de forma oral ou parental, e sua interação medicamentosa com outras substâncias é relativamente rara (FATIMA *et al.*, 2021; NEUHAUSER; DANZIGER, 2001; WANG *et al.*, 2020). Esses compostos atuam na inibição

do crescimento bacteriano por meio do impedimento da biossíntese da parede celular desses microrganismos (LLARRULL *et al.*, 2010; RODRIGUEZ-HERRERA *et al.*, 2018; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017; WILKE; LOVERING; STRYNADKA, 2005). O mecanismo de atuação dos β -lactâmicos acontece por meio da inibição covalente das transpeptidases, por meio da acilação de um sítio ativo de serina que essas enzimas possuem, e que são essenciais para o crescimento e replicação das bactérias (DE ANGELIS *et al.*, 2020).

A penicilina foi o primeiro antibiótico β -lactâmico que se teve conhecimento. Sua descoberta casual ocorreu em 1928 por Alexander Fleming, e auxiliou no controle e eliminação de doenças infecciosas causadas por bactérias, até então sem tratamento efetivo (AMINOV, 2017; TAHLAN; JENSEN, 2013; YEN *et al.*, 2020). A partir da descoberta da penicilina, novos antibióticos de uso humano e animal foram desenvolvidos para contornar os mecanismos de resistência desenvolvidos pelas bactérias que compreende a diminuição da permeabilidade da membrana, alterações em sítios de ligação peptídica e inativação de fármacos por meio da produção de β -lactamases (CARCIONE *et al.*, 2021).

Os β -lactâmicos podem ser representados por quatro classes principais que compreende as penicilinas, as cefalosporinas, os carbapenêmicos e os monobactâmicos. Esses compostos são assim classificados de acordo com sua estrutura molecular característica, composta por um anel β -lactâmico ligado a uma estrutura cíclica secundária e uma estrutura lateral, com exceção dos monobactâmicos, que possuem como estrutura base somente o anel β -lactâmico (AMINOV, 2017; COJOCEL, 2008; RODRIGUEZ-HERRERA *et al.*, 2018; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017). A classe das penicilinas se caracteriza especificamente pela presença de um anel tiazolidina, a classe das cefalosporinas apresenta uma di-hidrotiazina de cinco membros e a classe dos carbapenêmicos apresenta uma pirrolina de membros, sendo essas estruturas fundidas ao anel β -lactâmico (DE ANGELIS *et al.*, 2020). As estruturas químicas das principais classes de β -lactâmico são apresentadas nas Figura 1.

Figura 1 – Estrutura química das principais classes de β -lactâmico



Fonte: Do autor (2023).

O principal responsável pelo mecanismo de ação desses antibióticos é o anel β -lactâmico (destacado em vermelho na Figura 1), no entanto, a estrutura lateral determina o espectro antibacteriano e suas propriedades farmacológicas (HRIOUA *et al.*, 2021).

Devido a versatilidade de uso e efetividade no combate de microrganismos patogênicos, os antibióticos β -lactâmicos são suplementados como aditivos à alimentação de rebanhos e aves, auxiliando no controle de mastite em vacas leiteiras, infecções respiratórias, doenças uretrais e gastrointestinais (WANG *et al.*, 2020). No entanto o uso veterinário inapropriado desses medicamentos representa um potencial perigo a saúde humana e a segurança alimentar, uma vez que, resíduos de antibióticos β -lactâmicos foram encontradas em produtos de origem animal destinados ao consumo humano (BAYNES *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2020). A lista das principais substâncias alvo inclui a AMX e outros medicamentos menos utilizados.

3.3 Amoxicilina (AMX)

A AMX é um antibiótico semissintético derivado da penicilina, que penetra rapidamente nas membranas celulares inibindo a acessão bacteriana, classificado como um β -lactâmico, sendo utilizado no tratamento de infecções causadas por bactérias gram-positivas e gram-negativas em humanos e animais (LÓPEZ *et al.*, 2021; PHAM *et al.*, 2021). Na medicina veterinária a AMX é globalmente utilizada principalmente pelos países em desenvolvimento devido a sua rápida absorção pelo organismo animal e boa distribuição em

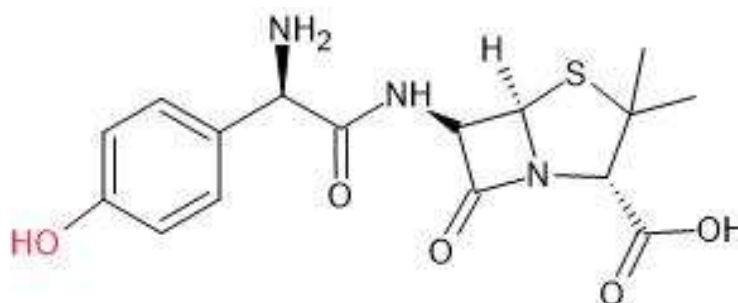
fluidos corporais quando administrada de forma oral. Assim, esse medicamento é suplementado à dieta de animais como: gados, cabras, cavalos, frangos, ovelhas e porcos, para auxiliar no crescimento e prevenir infecções bacterianas (FOTI; GIUFFRÈ, 2020; LÓPEZ *et al.*, 2021).

No entanto, apesar de sua efetiva ação medicamentosa e auxílio na redução de perdas econômicas, grande parte da AMX administrada é excretada pelo sistema urinário e a outra parte pode ser acumulada como resíduo em produtos de origem animal, causando reações alérgicas, disbiose intestinal e resistência microbiana aos indivíduos que o consumir. Portanto, a importância de políticas de saúde pública para monitorar tais compostos em produtos de origem animal, torna fundamental para evitar a resistência microbiana e contaminação nos alimentos (DE SOUZA *et al.*, 2023; OZDEMIR *et al.*, 2019; YASMEEN; RIYAZUDEEN; RABBANI, 2017).

Nesse sentido, há necessidade do desenvolvimento de metodologias alternativas para determinação de AMX em amostras de alimentos e urina de forma rápida e sensível (DE SOUZA *et al.*, 2023; OZDEMIR *et al.*, 2019; YASMEEN; RIYAZUDEEN; RABBANI, 2017).

As técnicas analíticas mais utilizadas para determinar AMX são as cromatográficas, espectrofotométricas e eletroforese capilar (HRIOUA *et al.*, 2021; PHAM *et al.*, 2021). Estudos recentes indicam a potencialidade da determinação desse contaminante por meio de técnicas eletroanalíticas, uma vez que a AMX é uma espécie eletroativa. A oxidação eletroquímica da AMX ocorre sobre o grupo hidroxila (-OH) ligado ao anel aromático da molécula (Figura 2), que doa um elétron para a formação de grupo cetona (C=O) (PHAM *et al.*, 2021). O desenvolvimento de sensores eletroquímicos é promissor devido a simplicidade de operação, alta repetibilidade, boa sensibilidade, custo relativamente baixo, além de ser potencialmente menos tóxico quando comparado aos métodos tradicionais de análise, que faz uso de grande quantidade de solventes orgânicos (DE SOUZA *et al.*, 2023).

Figura 2 – Estrutura molecular da amoxicilina (AMX)



Fonte: Do autor (2023)

3.4 Legislação para ocorrência de amoxicilina em amostras cárneas

Ainda que os países busquem alternativas para amenizar o acúmulo de resíduos na carne, a aplicação de antibióticos tanto para o crescimento e desenvolvimento animal, quanto para o tratamento de doenças, acabam gerando a contaminação no alimento de sua origem (SUÁREZ *et al.*, 2022).

Na União Europeia o uso de antibióticos como promotores de crescimento animal foi proibido pelo Regulamento (EC) N°. 1831/2003 (Comissão Européia 2003), no entanto, para o tratamento de doenças infecciosas ainda é adicionado antibióticos na ração dos animais como um método de prevenção e combate às doenças. Embora exista a regulamentação sob esse tipo de alimentação, registros de contaminação ainda são encontrados nos alimentos de origem animal, considerados potencialmente perigosos à saúde humana (SUÁREZ *et al.*, 2022). Na Tabela 1 estão apresentados os LMR determinados pela AVISA para a AMX em amostras cárneas.

Tabela 1– Limite Máximo de Resíduos (LMR) permitido para AMX em diferentes tecidos de animais destinado ao consumo humano

Antibiótico β -lactâmico	Espécie Animal	Tecido	LMR ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Referência
Amoxicilina	Bovino	Músculo	50	CA
		Fígado	50	
		Rim	50	
		Gordura	50	
	Suíno	Músculo	50	CA
		Fígado	50	
		Rim	50	
		Gordura/Pele	50	
	Aves	Músculo	50	UE
		Fígado	50	
		Rim	50	
		Gordura	50	

Fonte: adaptado de ANVISA (2018)

Mesmo com os LMR bem estabelecidos, definidos em instituições e regulamentações reconhecidas, as instituições do Brasil buscam métodos exclusivos, robustos e com alta sensibilidade para a determinação de AMX nessa matriz (ANVISA, 2018).

3.5 Sensores eletroquímicos

Os sensores eletroquímicos são dispositivos constituídos por um sistema que permite a coleta de dados e obtenção de informações com perturbação mínima do sistema. Assim, a abordagem eletroquímica tem características atraentes que os distinguem de métodos instrumentais de largo porte, os quais, destacam-se, excelente precisão, facilidade de uso, alta sensibilidade e seletividade. Outras vantagens desses sensores incluem seu baixo custo, tamanho compacto e portabilidade (FALL *et al.*, 2023; LOWINSOHN D.; BERTOTTI M., 2006).

A obtenção de informações analíticas desse sensor depende principalmente da capacidade da superfície do eletrodo de trabalho em reconhecer seletivamente as espécies de interesse. Existem diversas formas de imobilização desta superfície no sensor e um ponto relevante relacionado a este processo passa pela necessidade de acesso a alguns dos processos químicos, que permitem a transmissão do sinal para o detector. Por outro lado, o sinal transmitido deve ser maximizado em relação à informação da análise, ou seja, é desejável anular qualquer contribuição externa como, por exemplo, interferência, ruído eletrônico ou enganos experimentais. Nesse sentido, um aspecto importante na fabricação desses sensores para uso geral ou em larga escala, é a capacidade efetiva do dispositivo em discriminar o analito (LOWINSOHN D.; BERTOTTI M., 2006).

Os sensores químicos podem ser classificados de diversas maneiras, como por tamanho, tipo de aplicação ou mecanismo de transdução da resposta. Dentre os mecanismos de transdução, destacam-se a potenciometria, amperometria, piezoelectricidade, óptica, termometria e condutometria, entre outros. Esses sensores são amplamente utilizados em diversas áreas, como indústrias farmacêuticas, biomédica, alimentícia, ambiental, de saúde e processamento de produtos agrícolas. A capacidade dos sensores químicos de detectar e quantificar substâncias químicas em diversos tipos de amostras os torna uma ferramenta essencial em diversas áreas de pesquisa e indústria (LOWINSOHN; BERTOTTI., 2006)

3.6 Sensores voltamétricos

Os sensores voltamétricos estão relacionados entre os fenômenos de interface, eletrodo e solução, é na presença de corrente e potencial controlado que esses sensores funcionam. Os sensores voltamétricos são os mais sensíveis dentre essas técnicas eletroanalíticas para o estudo de espécies eletroativas, ou seja, que são facilmente oxidadas ou reduzidas (LOWINSOHN D.; BERTOTTI M., 2006).

O procedimento voltamétrico envolve o uso de uma célula contendo três eletrodos: trabalho onde a reação de oxidação ou redução ocorre; referência geralmente é constituído de Ag|AgCl e utilizado para monitoramento e definição do potencial do eletrodo de trabalho e o auxiliar é utilizado na passagem de corrente, completando o circuito elétrico e impedindo que ocorram variações nas propriedades do eletrodo de referência (PACHECO, 2013; YANG; CHENG, 2020).

Entre as técnicas voltamétricas mais comuns temos a voltametria cíclica (CV), uma técnica com o objetivo de obter informações qualitativas sobre processos eletroquímicos. A eficácia desta técnica decorre de sua característica de fornecer rapidamente informações sobre a termodinâmica dos processos redox. Em um experimento voltamétrico, começa-se aplicando um potencial que varia continuamente com o tempo, a medida que o potencial muda para uma região mais positiva (o ânodo), o composto em solução é oxidado, criando um pico de corrente proporcional à concentração desse composto. Quando o potencial já atingiu um valor no qual não ocorre nenhuma reação de oxidação, o potencial é varrido na direção oposta ao valor inicial. No caso de uma reação reversível, os produtos que foram gerados no sentido direto (e ainda estão próximos à superfície do eletrodo) irão reduzir, gerando um pico simétrico ao pico de oxidação. O tipo de mecanismo redox que o composto sofre na superfície do eletrodo de trabalho ditará o tipo de voltamograma produzido, o que torna a voltametria cíclica uma ótima ferramenta para estudos mecanísticos (PACHECO, 2013).

Em etapas que demandam detecção, as técnicas voltamétricas de pulso são as mais utilizadas devido a boa sensibilidade em relação a CV. Esse tipo de técnica também inclui a voltametria de pulso normal (VP), voltametria de pulso diferencial (DPV) e a voltametria de onda quadrada (SWV). Este procedimento de medição de tensão envolve, portanto, uma redução na contribuição da corrente capacitiva para a técnica de pulso durante a amostragem de corrente, devido a um aumento na relação corrente faradaica/corrente capacitiva (ARIÑO, 2017).

3.7 Voltametria de redissolução

A voltametria de redissolução foi desenvolvida com o objetivo de melhorar a detecção de espécies químicas em concentrações baixas e aumentar a magnitude da corrente medida. Nessa técnica, a reação eletroquímica entre o analito e a superfície do eletrodo de trabalho ocorre em uma fase anterior à varredura e ao início do sinal indicativo, permitindo uma análise mais sensível e precisa. Essa técnica é particularmente útil em estudos eletroanalíticos, nos

quais é necessária uma alta sensibilidade para detecção de baixas concentrações de espécies químicas (SKOOG, 2006; PACHECO, 2013; ALEIXO, 2018).

Esta etapa geralmente é realizada sob aplicação de um potencial controlado durante um tempo determinado sob agitação, onde o analito se deposita em um volume muito pequeno sobre a superfície do eletrodo ocorrendo a pré-concentração da substância (PACHECO, 2013).

Após a etapa de pré-concentração, é realizada uma varredura de potencial para a redissolução do analito (também conhecido como "stripping") para a sua volta à solução. Existem duas variantes da análise voltamétrica por redissolução: a catódica e a anódica. Na técnica de redissolução anódica, o analito é depositado na superfície do eletrodo durante a etapa de pré-concentração e, em seguida, submetido à aplicação de um potencial constante que, na etapa de redissolução, é oxidado de volta. Nesse processo, o eletrodo de trabalho atua primeiramente como cátodo (na fase de pré-concentração) e depois como ânodo (na redissolução) (HAN; PAN, 2021; PACHECO, 2013).

Na técnica de redissolução catódica, o analito também é depositado na superfície do eletrodo na etapa de pré-concentração e reduzido outra vez à solução na próxima etapa. Nesse processo, o eletrodo de trabalho se comporta de forma oposta ao método de redissolução anódico, iniciando como ânodo na fase de pré-concentração e finalizando como cátodo na redissolução (HAN; PAN, 2021; PACHECO, 2013). A Figura 4

3.8 Modificadores eletroquímicos

Os eletrodos de trabalho utilizados no desenvolvimento de métodos voltamétricos são geralmente modificados com materiais de carbono. Os eletrodos de pasta de carbono (EPC) são comumente construídos misturando pó de grafite com um aglutinante, como óleo mineral ou outros compostos. Esse eletrodo além de possuir um baixo custo e boa condutividade, pode ser facilmente modificado, melhorando a sua sensibilidade e seletividade (HRIOUA *et al*, 2021).

Os modificadores eletroquímicos foram introduzidos na eletroquímica por Murray e colaboradores, em 1975, para definir eletrodos contendo substâncias quimicamente ativas intencionalmente fixadas em sua superfície, com o objetivo de predeterminar e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução. A manipulação deliberada da superfície do eletrodo é um método de sobreposição e controle da reação e/ou seletividade. Isso possibilita o desenvolvimento de eletrodos para diversos fins e utilizações (SOUZA, 2009).

Um modificador químico interessante para identificar espécies químicas em amostras é a zeólita. Este material pode ser definido como aluminossilicatos cristalinos com uma estrutura identificada por um arranjo tridimensional de tetraedros, a cada um átomo central, ligado por

outros quatro átomos de oxigênio. Esses arranjos criam cavidades abertas na forma de canais e gaiolas, geralmente envolvidos por moléculas de água e cátions, que atuam como compensadores de carga da estrutura, geralmente trocáveis. Isso possibilita a determinação eletroquímica de substâncias orgânicas e inorgânicas, como cátions metálicos, drogas, proteínas, entre outros, elevando consideravelmente a resposta eletroquímica (SILVA, 2015; VIEIRA *et al.*, 2015).

Diversos estudos têm relatado a síntese de zeólitas e suas aplicações na detecção eletroquímica de biomoléculas e substâncias inorgânicas, como evidenciado por Kalambate *et al.* (2020) e Srivastava (2018). Em um estudo recente de Sakthinathan *et al.* (2020), um eletrodo de carbono vítreo foi modificado com platina e D-modernita (uma zeólita) para a determinação de Hg^{2+} . O limite de detecção encontrado para o sensor desenvolvido nas técnicas de CV e pulso diferencial (DPV) foi de $3,4 \text{ nmol L}^{-1}$ em uma faixa linear de $0,1 - 220 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, apresentando uma boa seletividade e repetibilidade (SAKTHINATHAN *et al.*, 2020).

Apesar da viabilidade do uso de zeólitas como modificador eletroquímico, nenhum trabalho na literatura foi encontrado com a utilização desse modificador na determinação de β lactâmicos. Sendo assim, este trabalho propõe a utilização de zeólita desaluminada com ácido cítrico como modificador eletroquímico para a determinação de AMX em amostras cárneas utilizando a técnica de voltametria cíclica com etapa de pré-concentração em circuito aberto. O material proposto apresenta grande área superficial e capacidade de adsorção física, resultante de sítios ácidos criados pelo processo de desaluminação e incorporação de ácido cítrico (SAKTHINATHAN *et al.*, 2020; VIEIRA *et al.*, 2015).

4 METODOLOGIA

4.1 Reagentes e soluções

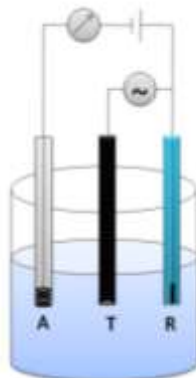
O padrão de AMX tri-hidratada, foi adquirido da Sigma Aldrich Chemicals (Zwijndrecht, Países baixos). Cloreto de potássio, fosfato de potássio, sulfato de sódio, cloreto de sódio, ácido bórico e ácido fosfórico foram adquiridos Sigma Aldrich (EUA). Ácido clorídrico, ácido acético, acetonitrila e álcool metílico foram adquiridos da Riedel-de Haen (Seelze, Alemanha). Já a zeólita desaluminada com ácido cítrico foi cedida pelo Laboratório de Catálise Ambiental (LACAB) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.2 Equipamentos

Os experimentos eletroquímicos foram conduzidos utilizando um potenciostato IviumVertex 100mA (Ivium Technologies, Netherlands) e a coleta dos dados foi realizada por meio do software Ivium Soft versão 2.403. As análises voltamétricas foram realizadas em uma

célula eletroquímica convencional com capacidade de 15 mL composta por um arranjo de três eletrodos conforme apresentado na Figura 3.

Figura 3 – Sensores eletroquímicos com configuração de três eletrodos. T representa eletrodo de trabalho, R o eletrodo de referência e A o contra-eleto (auxiliar).



Fonte: Do autor (2023)

O suporte do eletrodo de trabalho foi uma haste de teflon de 7,0 cm com orifício central de 0,250 mm de diâmetro e 0,300 mm de profundidade com contato elétrico de cobre. O eletrodo auxiliar foi o de fio de platina e o eletrodo de referência de Ag|AgCl (KCl_{sat}).

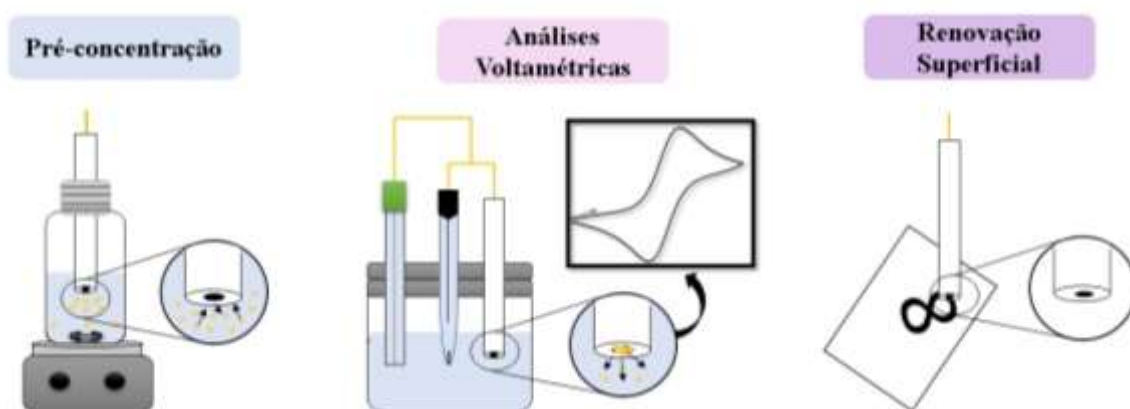
4.3 Construção dos eletrodos de pasta de carbono

A pasta de carbono modificada (PCM) foi preparada com a mistura da zeólita HZSM-5 desaluminada com ácido cítrico (HZSM-5/AC), óleo mineral e grafite em pó. A proporção dos componentes da PCM foi otimizada a fim de maximizar a resposta analítica, contendo 60,0% de grafite em pó, 30,0% de óleo mineral e 10,0% da zeólita HZSM-5 desaluminada com ácido. Os componentes foram homogeneizados com almofariz e pistilo e a pasta foi compactada no orifício do suporte do eletrodo de trabalho. Após a compactação da pasta, o eletrodo de pasta de carbono modificada (EPCM) com HZSM-5/AC foi submetido a um processo de polimento mecânico em uma folha de papel para a uniformizar a superfície do eletrodo. Também foi construído um eletrodo de pasta de carbono (EPC) na ausência de modificador. A pasta de carbono (PC) sem modificador foi preparada com a mistura de óleo mineral e grafite em pó, sendo de uma proporção de 70,0% para o grafite em pó e 30,0% para óleo mineral. Os componentes passaram pelos mesmos processos da PCM até a sua compactação no orifício do suporte do eletrodo de trabalho e polimento mecânico.

4.4 Determinação da amoxicilina

O EPCM com HZSM-5/AC (EPCM/HZSM-5/AC) foi submetido a testes de pré-concentração para verificar a interação espontânea da AMX com sua superfície. O procedimento de pré-concentração e as análises voltamétricas foram conduzidos conforme apresentado na Figura 4.

Figura 4 – Procedimento de pré-concentração e análises voltamétricas para determinação de amoxicilina



Fonte: Do autor (2023).

Pré-concentração: a etapa de pré-concentração da AMX sobre a superfície do EPCM/HZMS-5/AC foi realizada em uma solução tampão B-R em pH 5 contendo uma concentração conhecida do analito. O eletrodo ficou em condições de circuito aberto (sem a aplicação de potencial) por um período de 10 minutos sob agitação constante.

Análises Voltamétricas: o EPCM/HZMS-5/AC foi removido das condições em circuito aberto, lavado cuidadosamente com a solução eletrolítica de pré-concentração e transferido para a célula eletroquímica contendo a solução tampão B-R em pH 5 como eletrólito de suporte. A análise voltamétrica (CV) foi realizada e os voltamogramas referentes a oxidação da AMX foram obtidos.

Renovação superficial: o EPCM/HZMS-5/AC foi submetido a um processo de polimento mecânico em uma folha de papel em branco para a renovação de sua superfície.

4.5 Otimização dos parâmetros experimentais

A influência das variáveis experimentais da voltametria de redissolução com etapa de pré-concentração em circuito aberto e o comportamento eletroquímica da AMX foi investigada pela técnica de CV de acordo com os critérios apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Condições experimentais a serem avaliadas para realização do método de voltametria de redissolução com etapa de pré-concentração em circuito aberto pela técnica de CV.

	Variáveis
Voltametria Cíclica	Faixa de potencial de 0,6 a 1,1 V
	pH solução de pré-concentração de 2,0 a 7,0
	pH do eletrólito de suporte de 1,0 a 7,0
	Proporção de HZSM-5/AC na pasta de carbono variando o modificador de 0,0 a 15,0% (m/m)
	Tempo de pré-concentração de AMX de 1 a 30 minutos
	Velocidade de Varredura (v) de 10 – 200 mV s^{-1}

Fonte: Do autor (2023).

4.6 Preparo de amostras

O método desenvolvido por Diniz (2020) foi o utilizado para preparar as amostras de carne. Seu preparo foi iniciado com a pesagem de 5,0 g de carne moída e adicionado 25,0 mL de solução tampão BR 0,100 mol L⁻¹ em pH 5. Seguidamente, a mistura foi triturada em liquidificador e foi realizada a filtragem em papel filtro Quanty® com diâmetro de 9,0 cm e porosidade de 25,0 μm . As amostras de músculo bovino foram adquiridas no comércio local da cidade de Lavras (Minas Gerais, Brasil).

Após a filtragem foi pipetada a quantidade de 10 mL do extrato da amostra cárnea e enriquecida com 0,3 mmol L⁻¹ de AMX, em seguida, foi submetida ao processo de pré-concentração durante 10 minutos, sob o EPCM/HZSM-5/AC em um circuito aberto.

4.7 Determinação dos limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ)

Com base na relação entre o sinal analítico e a concentração do analito foi determinado: limite de detecção (*Limit of detection* – LOD) e limite de quantificação (*Limit of quantification* – LOQ). O LOD e o LOQ foram calculados segundo a Equação (1) e a Equação (2) respectivamente, onde SD corresponde ao desvio padrão do ponto de menor concentração da curva analítica e b corresponde ao coeficiente angular da curva analítica.

$$LOD = 3 \frac{SD}{b} \quad (1)$$

$$LOQ = 10 \frac{SD}{b} \quad (2)$$

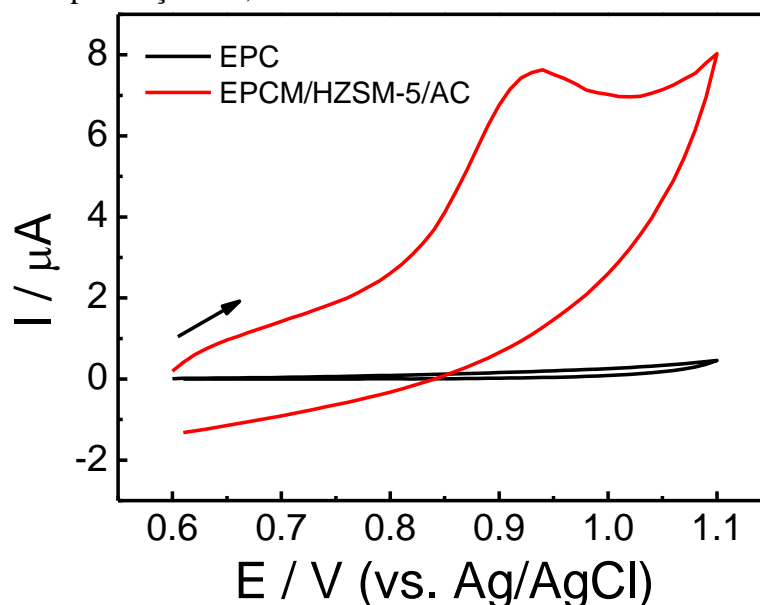
A curva analítica na técnica de CV foi construída na ausência de matriz (extrato da amostra cárnea).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Comportamento eletroquímico da amoxicilina frente ao EPCM/HZSM-5/AC

A avaliação do comportamento eletroquímico da AMX em relação ao EPCM/HZSM-5/AC foi feita após a pré-concentração na solução tampão B-R com pH = 5,0 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de AMX em circuito aberto. A Figura 5 compara os voltamogramas cíclicos obtidos por meio do EPCM/HZSM-5/AC (60 % de pó de grafite, 30% de óleo mineral e 10% de HZSM-5/AC) e do EPC (70% de pó de grafite e 30% de óleo mineral) em uma faixa de potencial de 0,6 a 1,1 V, com varredura de 100 mV s^{-1} .

Figura 5 - Voltamogramas cíclicos obtidos com o EPC (—) e EPCM/HZSM-5/AC (—) após pré-concentração na presença de $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de AMX



Fonte: Do autor (2023).

A capacidade de pré-concentração do analito na superfície do EPCM/HZSM-5/AC em circuito aberto é evidente nos resultados apresentados na Figura 5. O processo de oxidação observado no pico de potencial próximo a 0,92V em relação a um eletrodo de Ag|AgCl sat ocorre devido à AMX ser uma espécie eletroativa, com o grupo hidroxila (-OH) anexado ao

anel aromático (fenol) doando um elétron para formar um grupo cetona (C=O) de forma irreversível (PHAM *et al.*, 2021).

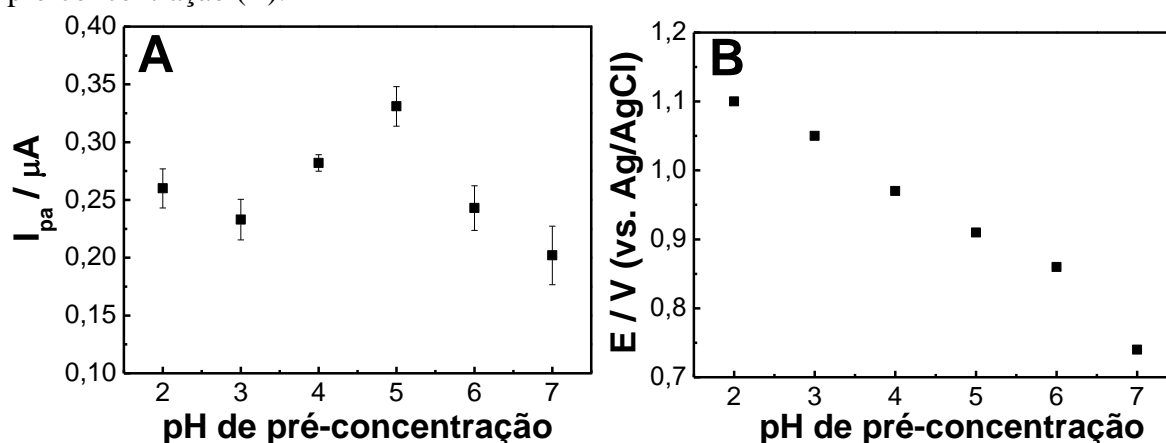
A comparação da intensidade da corrente de pico nos voltamogramas cíclicos da Figura 5 mostrou que o EPC não possui I_{pa} , indicando a falta de eficiência na pré-concentração do analito nos eletrodos sem modificador. O EPCM/HZSM-5/AC, por outro lado, apresentou a maior intensidade de I_{pa} . O aumento significativo do sinal analítico com o uso do EPCM/HZSM-5/AC pode ser atribuído à presença de mesoporos e microporos na estrutura do modificador.

A desaluminação da zeólita com ácido cítrico é importante para aumentar esses poros e a área superficial da zeólita, conferindo ao eletrodo modificado essas características. Além da ampla área superficial, a desaluminação da zeólita com ácido cítrico também proporciona ao modificador sítios ácidos de Brønsted e Lewis, que podem promover a adsorção química das moléculas de AMX na superfície do eletrodo de trabalho (VIEIRA *et al.*, 2015).

5.2 pH de pré-concentração

Para avaliar o impacto do pH da solução de pré-concentração no sinal analítico da AMX, medidas foram feitas através de CV usando tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) com diferentes pH, variando de 2,0 a 7,0. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 6.

Figura 6 – Relação entre as correntes de pico anódica (I_{pa}) obtidas para a AMX em função dos diferentes valores de pH da solução de pré-concentração (A). Correlação entre o potencial (E) de oxidação da AMX em função dos diferentes valores de pH da solução de pré-concentração (B).

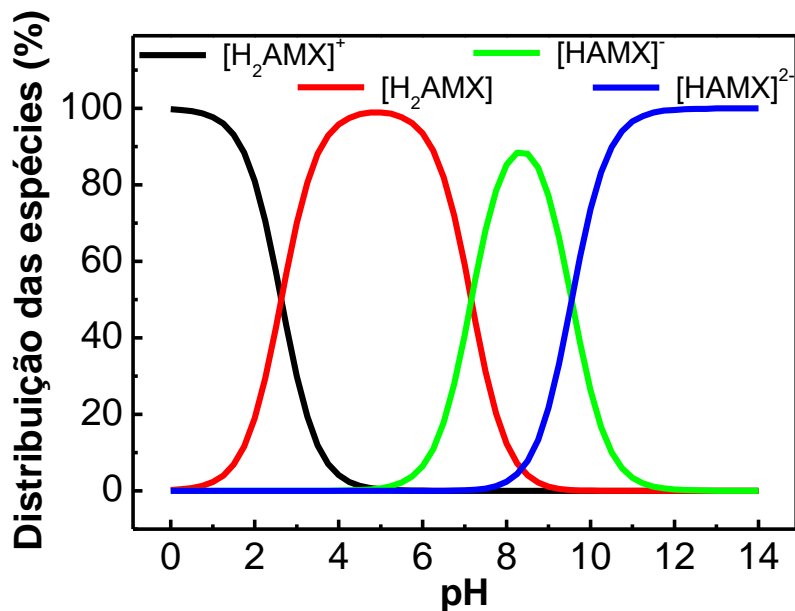


Fonte: Do autor (2023).

Por meio da análise da Figura 6 A, pode-se observar um aumento constante na I_{pa} na faixa de pH entre 3,0 e 5,0, atingindo o valor máximo do sinal analítico. Para valores de pH

superiores (6,0 - 7,0), houve uma diminuição na Ipa. Esse fenômeno pode ser explicado pelo gráfico de distribuição das espécies da AMX, conforme apresentado na Figura 7.

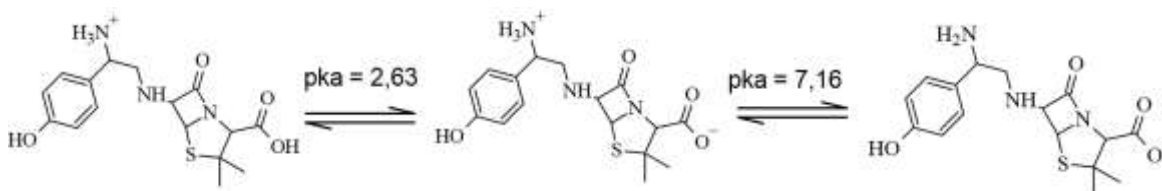
Figura 7 – Gráfico de distribuição das espécies de amoxicilina



Fonte: Do autor (2023).

Ao analisar a Figura 7, pode-se observar que em valores de pH entre 3,0 e 5,0, há um aumento constante na porcentagem de moléculas de AMX em sua forma neutra, e uma diminuição das moléculas carregadas positivamente. Embora a molécula de AMX apresente uma carga global neutra, nessa faixa de pH, há uma região com densidade de carga negativa devido ao grupo carboxílico ácido que perdeu um hidrogênio, conforme apresentado na Figura

Figura 8 – Estrutura da amoxicilina em diferentes valores de pka



Fonte: Do autor (2023).

Assim, é possível inferir que, quando mais de 99,0% das espécies de AMX em solução estão em sua forma neutra (pka entre 2,63 e 7,16), ocorre um favorecimento da pré-concentração do analito sobre a superfície do EPCM/HZSM-5/AC, levando a um aumento na

Ipa. Uma análise mais detalhada do Potencial Zeta pode ser necessária para entender melhor os possíveis motivos dessa observação.

A Figura 6 B mostra a relação entre a Ipa e o pH de pré-concentração, onde pode-se observar que o potencial de oxidação da AMX muda para valores menos positivos com o aumento do pH. Resultados semelhantes foram apresentados por Rezaei et al. (2009), em que a faixa de pH avaliada variou de 2,0 a 10,0, com a utilização de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AMX e uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , em análises realizadas em um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (REZAEI; DAMIRI, 2009).

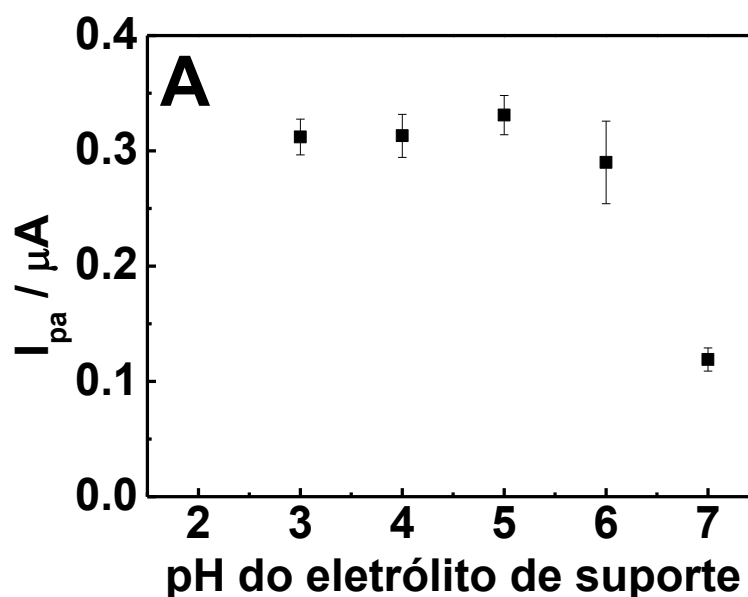
Ao relacionar os valores de Ipa apresentados na Figura 6A com os potenciais de oxidação apresentados na Figura 6B, é possível inferir que em pH 5,0 é obtida uma maior Ipa e um potencial de oxidação satisfatório para a análise de AMX. Por outro lado, em pH 6,0 e 7,0, o potencial de oxidação da AMX é menor em comparação ao pH 5,0, e as Ipa são significativamente menores, inviabilizando a realização das análises.

Portanto, a solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 5,0 foi selecionada por apresentar o melhor desempenho na pré-concentração de AMX na superfície do EPCM/HZSM-5/AC.

5.3 Estudo do Eletrólito de Suporte

Para avaliar a influência do eletrólito de suporte na determinação de AMX, uma faixa de pH de 1,0 a 7,0 foi realizada. Uma solução de tampão B-R na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi utilizada como eletrólito de suporte. As análises foram realizadas por CV a 100 mV s^{-1} com uma concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de AMX e um tempo de pré-concentração de 5 minutos. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 9.

Figura 9 - Relação entre as correntes de pico anódica obtidas para a AMX em função dos diferentes valores de pH do eletrólito de suporte.



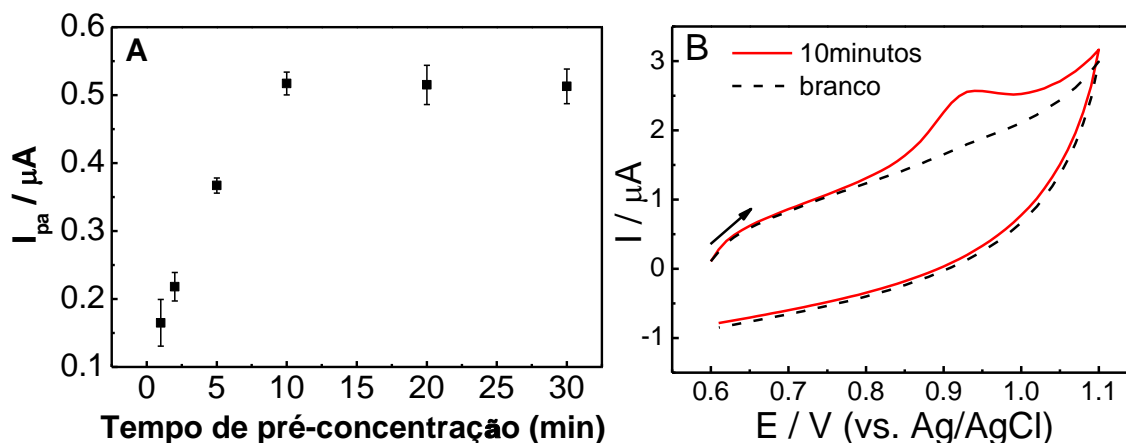
Fonte: Do autor (2023).

Os resultados apresentados na Figura 9 mostram que não houve variações bruscas na corrente de pico até pH 5,0, com baixo desvio padrão e boa repetibilidade. Quando o pH é superior a 5,0, há uma redução na corrente de pico e um aumento no desvio padrão das análises. Portanto, o pH 5,0 foi escolhido para as próximas análises devido ao maior valor de corrente de pico.

5.4 Tempo de pré-concentração

Foi avaliado o tempo necessário para máxima pré-concentração da AMX na superfície do EPCM/HZSM-5/AC. Neste estudo, o tempo de pré-concentração variou de 1 a 30 minutos (n=3). A pré-concentração do analito foi realizada em solução tampão BR ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) em pH = 5,0 com $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de AMX. Os resultados obtidos em função da intensidade de I_{pa} são apresentados na Figura 10.

Figura 10 - Relação entre a corrente de pico anódica para a amoxicilina e a variação do tempo de pré-concentração (A) e os voltamograma cíclicos obtidos para a análise realizada com 10 minutos de pré-concentração (B)



Fonte: Do autor (2023).

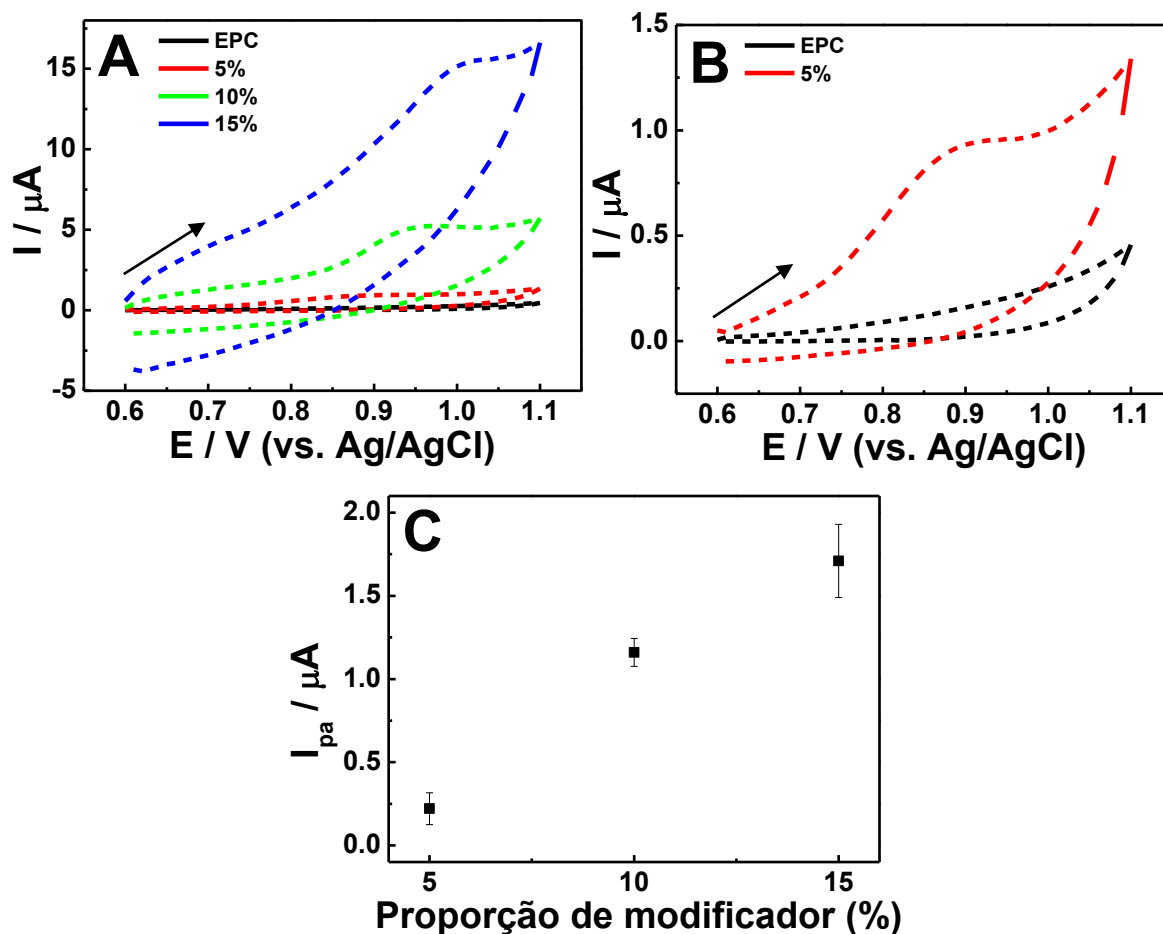
Os resultados apresentados na Figura 10 mostram um aumento na intensidade da I_{pa} direcionada à transmissão da AMX com o aumento do tempo de pré-concentração até 10 minutos, devido ao maior contato entre as espécies de AMX e a superfície do EPCM/HZSM-5/AC. Não houve variações significativas na intensidade da I_{pa} para tempos de pré-concentração superiores a 20-30 minutos. O comportamento observado é típico das técnicas de pré-concentração. Nestas, o AMX é acumulado na superfície do eletrodo até que se atinja o equilíbrio entre a solução de pré-concentração e a superfície do EPCM/HZSM-5/AC, o que resulta na máxima concentração das espécies químicas e um aumento na resposta analítica. A partir desse ponto, a resposta analítica se mantém constante, já que não há uma acumulação adicional do analito na superfície do eletrodo (DÓREA; GAUJAC; NAVICKIENE, 2008).

Assim o tempo de pré-concentração selecionado para a realização das análises foi de 10 minutos.

5.5 Proporção de modificador

A proporção de modificador (HZSM-5/AC) na pasta de carbono foi avaliada ao se construir eletrodos com proporções variadas de 0,0 a 15,0% (m/m) mantendo constantes as proporções de pó de grafite e aglutinante. As análises foram feitas com $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de AMX e 10 minutos de tempo de pré-concentração, com uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 11.

Figura 11 - Voltamogramas cíclicos obtido nas análises realizadas com 5,0 % (---), 10,0 % (- - -) e 15,0 % (- - -) de modificador (A e B) e relação da corrente de pico anódica para a amoxicilina com a variação da proporção do modificador (C).



Fonte: Do autor (2023).

As Figuras 11 A e B mostram que o aumento da proporção de modificador no eletrodo intensifica significativamente a I_{pa} . Quando há uma maior proporção de modificador na pasta de carbono, há um aumento na I_{pa} devido à disponibilidade de mais mesoporos, microporos, e sítios ácidos de Brønsted e Lewis para a adsorção física e interação eletrostática com as moléculas de AMX na solução (VIEIRA *et al.*, 2015).

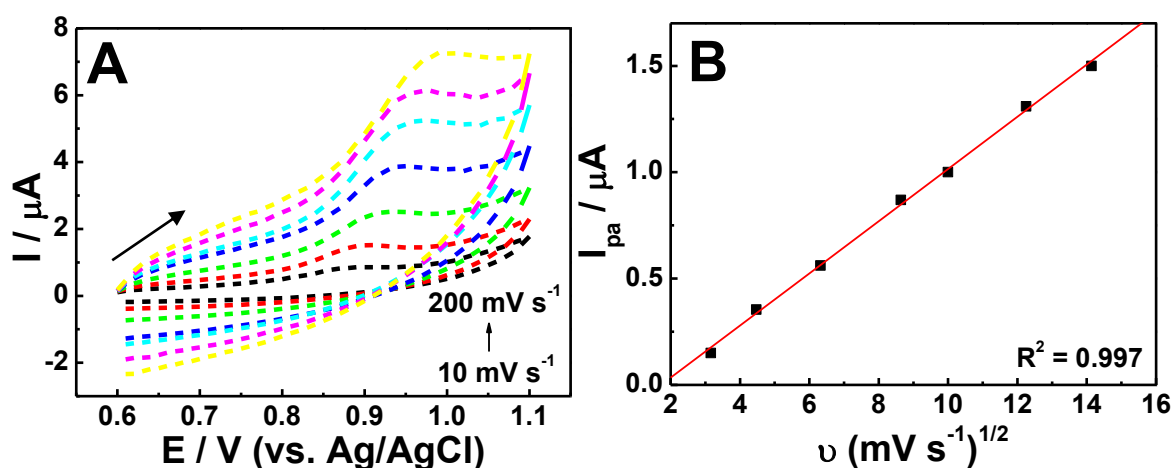
Porém, foi observado que os eletrodos com mais de 10% de modificador (15%, 20% e 25%) apresentam descompactação da pasta de carbono durante as análises. Isso é mostrado nas imagens no Anexo I. Esses resultados indicam que a descompactação da pasta de carbono modificada do eletrodo pode causar variações significativas nas análises. A Figura 11 C mostra que nas análises voltamétricas realizadas com o eletrodo construído com 15% de modificador, o desvio padrão aumenta significativamente em comparação com as análises triplicadas.

Assim, o eletrodo construído com 10,0% de modificador foi selecionado, uma vez que, não há indícios de descompactação da pasta de carbono modificada e o desvio padrão entre as análises foi baixo.

5.6 Velocidade de Varredura

A avaliação da oxidação da AMX em relação à superfície do eletrodo foi realizada com diferentes velocidades de varredura, que variaram de 10 a 200 mV s^{-1} . Antes disso, ocorreu o processo de pré-concentração (10 min) em um circuito aberto na solução tampão B-R com $\text{pH}=5,0$ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e presença de $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de AMX. Na Figura 12 são comparados os voltamogramas cíclicos obtidos por meio do EPCM/HZSM-5/AC em um faixa de potencial de 0,6 a 1,1 V.

Figura 12 – Voltamogramas cíclicos obtidos pelas análises em diferentes velocidades de varredura (10 mV a 200 mV) (A) e relação entre a corrente de pico anódica e a raiz quadrada da velocidade de varredura (B).



Fonte: Do autor (2023).

A Figura 12 A permite a observação do aumento da corrente de pico (I_{pa}) à medida que a velocidade de varredura aumenta, graças à sobreposição dos voltamogramas. A Figura 12 B claramente mostra que o aumento da I_{pa} é proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura (v). A relação linear encontrada pode ser vista na Equação 4.

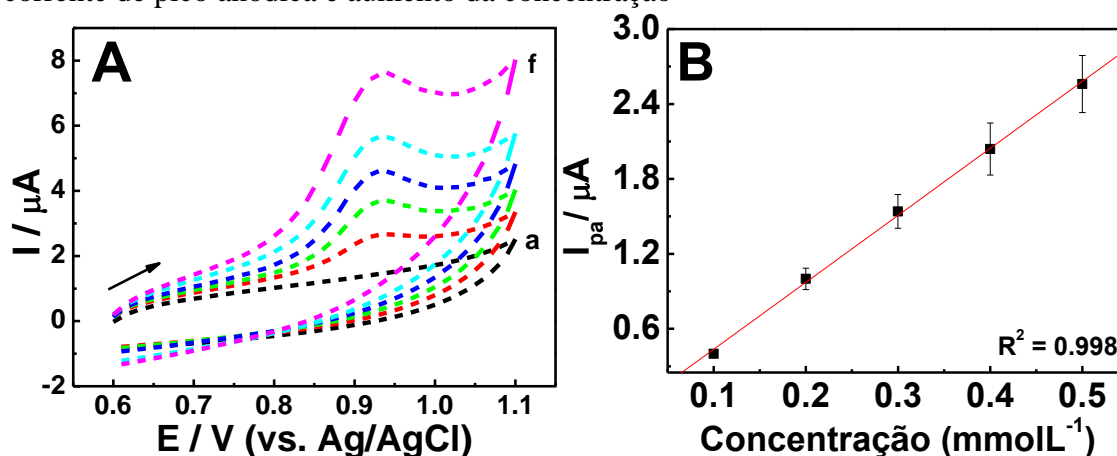
$$I_{pa} = -1.22655 \times 10^{-7} + 2.71037 \times 10^{-7} v^{1/2} \quad (4)$$

A linearidade encontrada ($R^2 = 0,997$) entre a relação de I_{pa} e a raiz quadrada da velocidade de varredura sugere que o processo de oxidação da AMX na superfície do eletrodo é controlado por difusão e é irreversível. Além disso, a Figura 12 mostra o deslocamento dos picos para potenciais mais positivos (sentido anódico) e o seu alargamento, comportamentos comuns em sistemas irreversíveis (NEGUT *et al.*, 2020).

5.7 Desempenho Analítico do EPCM/HZSM-5/AC

A eficiência do EPCM/HZSM-5/AC para determinar a concentração de AMX foi avaliada por meio de uma curva analítica construída com a técnica de voltametria cíclica. A solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) com $\text{pH}=5,0$ foi utilizada como eletrólito de suporte, houve um tempo de pré-concentração de 10 minutos e a velocidade de varredura foi de 100 mV s^{-1} . A Figura 13 apresenta os voltamogramas obtidos para uma concentração variando de $0,1$ a $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, e a relação entre a corrente de pico (I_{pa}) e o aumento da concentração.

Figura 13 – Voltamogramas cíclico obtidos pela análise de amoxicilina em uma faixa de concentração de $0,1 - 0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ (A) e curva analítica obtida pela relação linear entre a corrente de pico anódica e aumento da concentração



Fonte: Do autor (2023).

A curva analítica apresentou uma relação linear ($R^2 = 0,998$) entre a corrente de pico (I_{pa}) e a concentração de AMX na faixa de concentração avaliada. A relação linear estabelecida é apresentada na Equação 5.

$$I(\mu\text{A}) = -1,0 \times 10^{-7} + 0,00536 C_{AMX} \quad (5)$$

A partir da relação linear estabelecida, pôde-se inferir que o método desenvolvido possui uma sensibilidade de $0,00536 \mu\text{AL}/\text{mmol}$. A análise dos resultados indica que o método para determinar AMX utiliza uma técnica simples para construir o eletrodo de trabalho. A zeólita, usada como modificador eletroquímico devido à sua capacidade de adsorção e grande área superficial, permitiu uma pré-concentração efetiva do analito e a utilização da técnica de redissolução (stripping).

5.8 Determinação do LOD e LOQ

A partir da curva analítica foram calculados o LOD e o LOQ como mostra nas Equações 3 e 4, onde o valor de $9,07 \times 10^{-9}$ corresponde ao desvio padrão do primeiro ponto da curva analítica ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e 0,00536 o coeficiente angular da curva analítica.

$$LOD = 3 \left(\frac{9,07 \times 10^{-9}}{0,00536} \right) \quad (3)$$

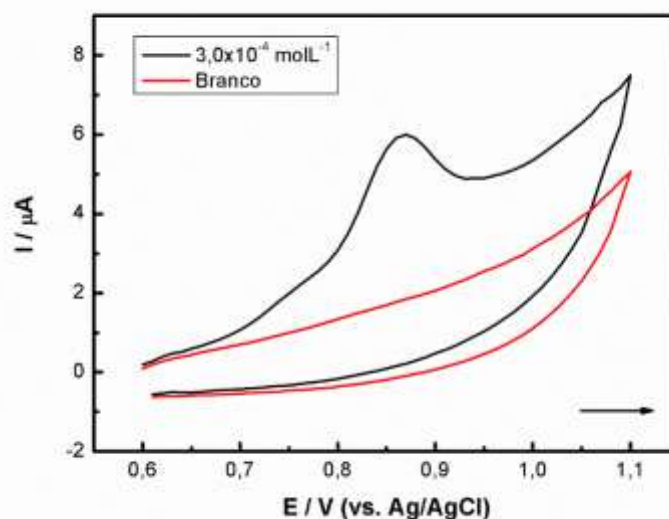
$$LOQ = 10 \left(\frac{9,07 \times 10^{-9}}{0,00536} \right) \quad (4)$$

Os valores obtidos de LOD foi de $5,07 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e o de LOQ foi de $1,69 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Por não ser encontrado nenhum trabalho que utilize a zeólita para determinar amoxicilina ou outros β -lactâmicos na literatura, pode-se inferir que os resultados obtidos com a zeólita indicam uma boa sensibilidade do eletrodo na detecção de amoxicilina.

5.9 Análises em Amostras Cárneas

A partir do preparo de amostra, foi realizado a etapa de pré concentração no tempo de 10 minutos, sob o EPCM/HZSM-5/AC na concentração de $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de AMX. A análise foi conduzida em um sistema de VC, com um potencial de varredura de 0,6 a 1,1 V e uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . A figura 14 apresenta o voltamograma cíclico obtido pela análise de amoxicilina em amostra de carne bovina.

Figura 14 – Voltamograma cíclico obtido pela análise de amoxicilina em concentração de $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em amostra real de carne bovina.



Fonte: Do autor (2023).

Analisando a curva analítica obtida na Figura 13 B pode-se observar que o voltamograma da amostra real (Figura 14) apresentou um aumento significativo na I_{pa} resultando em um sinal fora dos parâmetros da curva analítica.

Sendo assim, uma das possíveis causas dessa interferência em seu valor de corrente pode se dar ao efeito de matriz. Geralmente esse efeito de matriz refere-se a matrizes complexas, que geralmente possuem espécies em seu meio que afetam as propriedades da substância a ser determinada, o que significa que determinar a concentração por interpolação da corrente da amostra obtida na curva padrão pode levar a resultados incorretos. Isso ocorre porque a curva padrão é construída usando soluções padrão em condições de pureza e conhecimento das substâncias presentes, diferentes das condições da matriz onde a presença de diversas espécies é desconhecida e várias delas podem resultar em alterações nos parâmetros eletroanalíticos medidos. Em outras palavras, a matriz é composta por todas as espécies presentes na solução, incluindo a amostra de interesse e outros interferentes (ALEIXO, 2018).

6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

De acordo com os resultados obtidos, foi possível constatar que o EPCM/HZSM-5 apresenta potencial para determinação de AMX em função de sua capacidade de adsorção, sendo apreciável para aplicação da voltametria de redissolução com etapa de pré-concentração em circuito aberto. Os valores obtidos de LOD $5,07 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e o do LOQ $1,69 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ no ponto de menor concentração da curva analítica ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) também confirmam o potencial para determinação de AMX.

Como perspectiva futura para o projeto poderá ser avaliado uma curva matrizada com o intuito de melhorar os resultados das amostras reais e fazer com que o sinal fique dentro dos parâmetros da curva analítica e também a aplicação da metodologia desenvolvida em outras técnicas voltamétricas como Voltametria de Pulso Diferencial (DPV) e Voltametria de Onda Quadrada (SWV).

REFERENCIAS

- ADERYANE, S. et al. Simulation of cyclic voltammetry in structural supercapacitors with pseudocapacitance behavior. **Electrochimica Acta**, vol. 390, 2021.
- ALEIXO, L. M. Voltametria: conceitos e técnicas. **Revista Chemkeys**, n. 3, p. 1–21, 2018.
- ALIZADEH, T.; AMJADI, S. Determination of nicotinic acid by square wave voltammetry on a carbon paste electrode: The crucial effect of electrode composition and analytical conditions. **Analytical and Bioanalytical Electrochemistry**, vol. 12, no. 2, p. 250–262, 2020.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Limites Máximos de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal. Brasília, 2018. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5545276/Medicamentos+Veterin%C3%A1rios+++Documento+base_discussao_28_DEZ_2018.pdf/b061f443-b558-4545-88c9-9246b184e23b?version=1.0>. Acesso em: 02 de jan. 2022.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira. 6ª edição Brasília, 2019.
- AMINOV, R. History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact. **Biochemical Pharmacology**, v. 133, p. 4–19, 2017.
- ARIÑO C, SERRANO N, DÍAZ-CRUZ J. M, ESTEBAN M. Voltammetric determination of metal ions beyond mercury electrodes. A review. **Analytica Chimica Acta** vol. 990, p. 11-53, 2017.
- BARALLA, E et al. An overview of antibiotics as emerging contaminants: Occurrence in bivalves as biomonitoring organisms. **Animals**, v. 11, n. 11, p. 1–17, 2021.
- BARD, A. J.; Faulkner, L. R. (2001). *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. Editora **Wiley**.
- BAYNES, R E *et al.* Health concerns and management of select veterinary drug residues. **Food and Chemical Toxicology**, v. 88, p. 112–122, 2016.
- CARCIONE, D et al. Old and new beta-lactamase inhibitors: Molecular structure, mechanism of action and clinical use. **Antibiotics**, v. 10, n. 8, p. 1–14 2021.
- COJOCEL, C. *Beta-Lactam Antibiotics. Clinical Nephrotoxins*, Kluwer Academic Publishers. Printed in The Netherlands. 2nd Ed., p. 171-198, 2003.
- DE ANGELIS, G. et al. Molecular mechanisms, epidemiology, and clinical importance of β -lactam resistance in enterobacteriaceae. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 14, p. 1–22, 2020.
- DE SOUZA, C. C. et al. Simple strategy for the detection of the amoxicillin antibiotic in different matrices using a low-cost paper electrode. *Talanta*, v. 253, p. 124050, 2023.
- DÓREA, H S; GAUJAC, A; NAVICKIENE, S. Microextração em fase sólida: aspectos

termodinâmicos e cinéticos. **Scientia Plena** v. 4, p. 1–7, 2008.

FALL, B. et al. Highly Efficient Non-enzymatic Electrochemical Glucose Sensor Based on Carbon Nanotubes Functionalized by Molybdenum Disulfide and Decorated with Nickel Nanoparticles (GCE/CNT/MoS₂/NiNPs). **Sensors and Actuators Reports**, v. 5, p. 1-11, 2022.

FATIMA, H et al. Recent strategies for inhibiting multidrug-resistant and β -lactamase producing bacteria: A review. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 205, p. 1–11, 2021.

FERRARI, A. G.-M. et al. Electroanalytical Overview: Electrochemical Sensing Platforms for Food and Drink Safety. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 518-539, 2021.

FOTI, C; GIUFFRÈ, O. Interaction of ampicillin and amoxicillin with Mn²⁺: A speciation study in aqueous solution. **Molecules**, v. 25, n. 14, 2020.

GUIRONNET, A; WIEST, L; VULLIET, E. Improvement of the QuEChERS extraction step by matrix-dispersion effect and application on beta-lactams analysis in wastewater sludge by LC-MS/MS. **Talanta**, v. 237, p. 1–8, 2022.

HAN, H; PAN, D. Voltammetric methods for speciation analysis of trace metals in natural waters. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 29, p. 1-14, 2021.

HRIOUA, A *et al.* Recent advances in electrochemical sensors for amoxicillin detection in biological and environmental samples. **Bioelectrochemistry**, v. 137, p. 8350-8357, 2021.

DINIZ, J. A.; OKUMURA, L-L.; ALEIXO, H.; GURGEI, A.; SILVA, F-S. A voltammetric screening method to determine ronidazole in bovine meat. **Journal of Environmental Science and Health, PART B** 2020, vol. 55, n. 6, 583–591

KALAMBATE, P K *et al.* Electrochemical (bio) sensors go green. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 163, p. 112270, 2020.

LLARRULL, L I *et al.* The future of the β -lactams. **Current Opinion in Microbiology**, v. 13, n. 5, p. 551–557, 2010.

LÓPEZ, R et al. Development of a New Electrochemical Sensor Based on Mag-MIP Selective Toward Amoxicillin in Different Samples. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 1-9, 2021.

LOWINSOHN D.; BERTOTTI M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, vol. 29, no. 6, 1318-1325, 2006.

MOHAMMADZADEH, M et al. Antibiotic residues in poultry tissues in Iran: A systematic review and meta-analysis. **Environmental Research**, v. 204, p. 1-8, 2022.

NEGUT, C C *et al.* Rapidly renewable graphite paste electrode modified with 5,10,15,20-tetrakis(4-methoxyphenyl)-21H,23H-porphine cobalt(II) for electrochemical determination of nicotinic acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 863, p. 1-8, 2020.

NEUHAUSER, M. M.; DANZIGER, L. H. Beta-Lactam Antibiotics. In: PISCITELLI, STEPHEN C; RODVOLD, KEITH A (Eds.). **Drug Interactions in Infectious Diseases**. Totowa, NJ: Humana Press, p. 151–184, 2001.

OZDEMIR, Z. *et al.* Determination of milk/plasma ratio and milk and plasma pharmacokinetics of amoxicillin after intramuscular administration in lactating cows. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 42, n. 1, p. 45–51, 2019.

PACHECO, W. F.;* Semaan, F. S.; Almeida, V. G. K.; Ritta, A. G. S. L.; Aucélio, R. Q. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Revista Virtual Química**, 2013, v. 5, n. 4, 516-537.

PHAM, T H Y *et al.* Voltammetric Determination of Amoxicillin Using a Reduced Graphite Oxide Nanosheet Electrode. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2021, 2021.

REZAEI, B; DAMIRI, S. Electrochemistry and adsorptive stripping voltammetric determination of amoxicillin on a multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. **Electroanalysis**, v. 21, n. 14, p. 1577–1586, 2009.

RODRIGUEZ-HERRERA, *et al.* Chapter 36 - Enzymes in the Pharmaceutical Industry for β -Lactam Antibiotic Production, Editor(s): Mohammed Kuddus, Enzymes in Food Biotechnology, **Academic Press**, p. 627-643, 2018.

RYU, H. *et al.* Electrochemical sensors for nitrogen species: A review. **Sensors and Actuators Reports**, vol. 2, no.1, 2020.

SALIM, M. M. *et al.* Voltammetric estimation of residual nitroxynil in food products using carbon paste electrode. **Scientific Reports**, v. 12, p. 14289, 2022.

SAKTHINATHAN, S. *et al.* Platinum incorporated mordenite zeolite modified glassy carbon electrode used for selective electrochemical detection of mercury ions. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 292, p. 1-9, 2020.

SILVA, W. L. L.; OLIVEIRA, S. P.; VIANA, R. R. Síntese de zeólita A a partir de uma nova ocorrência de caulim da região de Bom Jardim de Goiás. **Scientia plena**, v. 8, n. 11, p. 1-8, 2012.

SINGH, S B; YOUNG, K; SILVER, L L. What is an “ideal” antibiotic? Discovery challenges and path forward. **Biochemical Pharmacology**, v. 133, p. 63–73, 2017.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, Fundamentos de Química Analítica, Tradução da 8ª Edição norte-americana, **Editores Thomson**, São Paulo-SP, 2006

SRIVASTAVA, R. Synthesis and applications of ordered and disordered mesoporous zeolites: Present and future prospective. **Catalysis Today**, 29, v. 309, p. 172–188, 2018.

SOUZA, M. F. B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 789-798, 2009.

SUÁREZ, C. S-S.; SANDERS P.; PERRIN-GUYOMARD, A.; HURTAUD-PESSEL, D.;

LAURENTIE M.; VIEL, A.; TAILLANDIER, J-F.; LAGREE, M-P.; GAUGAIN, M. Validation of a LC-MS/MS method for the quantitative analysis of four antibiotics in pig tissues and plasma to assess the risk of transfer of residues to edible matrices after exposure to cross-contaminated feed. **Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.** n. 39, v. 11, p. 1818-1827, 2022.

TAHLAN, K; JENSEN, S E. Origins of the β -lactam rings in natural products. **Journal of Antibiotics**, v. 66, n. 7, p. 401–410, 2013.

VIEIRA, S S *et al.* Use of HZSM-5 modified with citric acid as acid heterogeneous catalyst for biodiesel production via esterification of oleic acid. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 201, p. 160–168, 2015.

WANG, L *et al.* Construction of an electrochemical receptor sensor based on graphene/thionine for the sensitive determination of β -lactam antibiotics content in milk. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 9, 2020.

WATWE, V; KULKARNI, P. Evaluation of Cr (VI) adsorption on glutaraldehyde crosslinked chitosan beads using cyclic voltammetry employing gold electrode. **Journal of Analytical Science and Technology**, vol. 12, no. 37, 2021.

XIA, W. *et al.* Advances of stable isotope technology in food safety analysis and nutrient metabolism research. **Food Chemistry**, v. 408, p. 1-16, 2023.

WILKE, M S; LOVERING, A L; STRYNADKA, N C J. β -Lactam antibiotic resistance: A current structural perspective. **Current Opinion in Microbiology**, v. 8, n. 5, p. 525–533, 2005.

YANG, X.; CHENG, H. Recent Developments of Flexible and Stretchable Electrochemical Biosensors. **Micromachines**, vol. 11, no. 3, 2020.

YASMEEN, S; RIYAZUDEEN; RABBANI, G. Calorimetric and spectroscopic binding studies of amoxicillin with human serum albumin. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 2, p. 1445–1455, 2017.

YEN, P T H *et al.* Electrochemical properties of amoxicillin on an economical, simple graphite pencil electrode and the ability of the electrode in amoxicillin detection. **Vietnam Journal of Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 201–205, 2020.

ANEXOS

Anexo I – EPCM/HZSM-5/AC com diferentes proporções do modificador 5,0 % (a), 10,0 % (b), 15,0 % (c), 20,0 % (d) 25,0 % (e) e sua superfície após 3 análises consecutivas.

a)**b)****c)****d)****e)**

Fonte: Do autor (2023).