



## IV-125 – DETERMINAÇÃO DA OXITETRACICLINA EM EFLUENTE DE ESGOTO DOMÉSTICO POR ANÁLISE DE INJEÇÃO SEQUENCIAL UTILIZANDO DETECTOR POTENCIOMÉTRICO COM ELETRODO SELETIVO

**Cláudia de Oliveira Cunha<sup>(1)</sup>**

Graduação em Engenharia Química pela Universidade Católica de Pernambuco. Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Pernambuco. Doutoranda em Química Fundamental pela Universidade Federal de Pernambuco.

**Rita de Cássia Rodrigues de Souza**

Engenharia Química pela Universidade Católica de Pernambuco. Mestre em Química dos Solos pela Universidade Federal Rural de Pernambuco. Doutoranda em Química Fundamental pela Universidade Federal de Pernambuco.

**Severino Alves Júnior**

Graduação em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Doutorado em Química pela Universidade Federal de Pernambuco. Atualmente é professor adjunto da Universidade Federal de Pernambuco. Pós-Doutorado pelo Cis Bio International Division In Vitro Technologies, França.

**Maria da Conceição Branco Montenegro**

Doutorado em Química Farmacêutica pela Universidade do Porto. Atualmente é funcionário da Universidade do Porto.

**Valdinete Lins da Silva**

Graduação em Química pela Universidade Católica de Pernambuco. Mestrado em Química pela Universidade Federal de Pernambuco. Doutorado em Química pela Universidade Estadual de Campinas. Atualmente é professor Associado I da Universidade Federal de Pernambuco.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Av. Professor Artur de Sá, s/n – Cidade Universitária – Recife - PE - CEP: 50740-521 - Brasil - Tel: +55 (81) 2126-7290 - Fax: +55 (81) 2126-7278 - e-mail: [leaq\\_val@yahoo.com.br](mailto:leaq_val@yahoo.com.br), [claudiacunha@ufpe.br](mailto:claudiacunha@ufpe.br)

### RESUMO

Os fármacos estão sendo utilizados cada vez mais indiscriminadamente, resultando em perigo na contaminação ambiental e nas condições de saúde das pessoas, tornando-as cada vez mais resistentes aos antibióticos. Neste sentido a comunidade científica tem se preocupado em controlar as dosagens destes medicamentos e também com os descartes de efluentes das indústrias farmacêuticas. O objetivo do trabalho foi avaliar a aplicabilidade de eletrodos sensíveis à oxitetraciclina utilizando sistema de análise por injeção sequencial (SIA) para monitoramento de amostras farmacêuticas. Visando obter melhores características de funcionamento, foram empregadas membranas sensoras variando suas composições, utilizando  $\beta$ -ciclodextrina, diferentes tipos de solventes, mediadores e plastificantes. Os eletrodos seletivos foram preparados e avaliados segundo sua constituição. Após o traçado dos correspondentes Diagramas de Reilley foram observados os resultados obtidos dos sinais analíticos dos melhores resultados de amplitude do sinal analítico para valores com pH 2,0. A determinação dos interferentes foi realizada através do método das soluções separadas, obtendo-se um coeficiente de seletividade inferior a 0,25. Os valores médios da concentração obtida pelo método proposto e o de referência (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE) mostram uma boa correlação, confirmada pelo erro relativo inferior a 4,5 %.

**PALAVRAS-CHAVE:** eletrodo íon-seletivo, oxitetraciclina, SIA, CLAE.

### INTRODUÇÃO

O crescente desenvolvimento da indústria farmacêutica tem conduzido a um esforço cada vez maior no sentido de assegurar métodos analíticos rigorosos, para o monitoramento de efluentes domésticos no que diz respeito a resíduos de fármacos com rapidez e custo reduzido.

A oxitetraciclina (OTC) é um dos contaminantes mais significativos na fauna e flora aquática, e seu uso indiscriminado têm contribuído para o aparecimento de resistência bacteriana com consequências graves à saúde humana.



A maioria dos métodos até então propostos são baseados em técnicas separativas por cromatografia gasosa e por cromatografia líquida de alta eficiência (Shariati *et al.*, 2001), espectrometria de massa (Karlicek, Solich, 1994), ou espectrofotometria por fluorescência (Gong, Zhang, 1997) ou quimiluminescência (Townshend *et al.*, 2005).

Dadas as características das técnicas utilizadas e a complexidade de algumas análises, essas metodologias são precedidas de métodos de preparação das amostras envolvendo várias etapas de preparação que utilizam solventes tóxicos, que são morosos e que muitas das vezes levam à perda do fármaco.

A potenciometria com elétrodos íon-seletivos (ISEs) é considerada uma técnica vantajosa, devido ao baixo custo, facilidade de manuseamento, rapidez de análise e facilidade de preparação das amostras.

O objetivo desse trabalho é desenvolver um sistema automático para determinação potenciométrica de fármacos contendo cloridrato de oxitetraciclina empregando eletrodo íon-seletivo de contato sólido.

Após a construção do eletrodo, este foi acoplado a um sistema de análises de injeção sequencial (SIA), permitindo assim, uma maior facilidade na manipulação de amostras e reagentes, obtendo uma maior taxa de amostragem e determinação de procedimentos mais limpos por trabalhar com volumes reduzidos (Pimenta *et al.*, 2006).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os reagentes utilizados foram de grau analítico p.a., sem qualquer tipo de tratamento ou purificação adicional. Todas as soluções foram preparadas com água deionizada de condutividade igual ou inferior a  $0,1 \text{ mS.cm}^{-1}$ .

As soluções estoque de oxitetraciclina, preparadas na forma de cloridratos, foram obtidas a partir da dissolução do tampão contendo  $I = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  de glicina com HCl, assim como as amostras comerciais de Terramicina Comprimido (500 mg de OTC.HCl) e Terramicina intra-muscular (50  $\text{mg.mL}^{-1}$  de OTC.HCl).

A amostra do efluente foi obtida na etapa final de tratamento da estação de tratamento de esgoto da COMPESA (Companhia Pernambucana de Saneamento) na unidade do Janga, cidade de Paulista/PE. Essa amostra foi fortificada com cloridrato de oxitetraciclina (Sigma) antes dos experimentos.

O trabalho foi realizado em duas etapas de trabalho serão descritas a seguir:

- 1) caracterização dos eletrodos seletivos
- 2) aplicação analítica em sistema automático

## PRIMEIRA ETAPA: CARACTERIZAÇÃO DOS ELETRODOS SELETIVOS

A construção dos eletrodos íon-seletivos foi baseada em uma metodologia simples e barata, que consistia na deposição da membrana, por gotejamento, em um suporte adequado (Lima *et al.*, 1986).

As características dos eletrodos íon-seletivos construídos contendo: 6,0mg da  $\beta$ -ciclodextrina, 0,408g de dibutil ftalato e 0,18g de PVC-COOH, foram determinadas a partir de calibrações sucessivas utilizando solução de OTC.Cl ( $0,001 \text{ mol.L}^{-1}$ ) com força iônica ajustada ( $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ) (Buck *et al.*, 1993).

## RESULTADOS DA PRIMEIRA ETAPA

As características obtidas através das unidades construídas foram avaliadas a partir da realização de calibrações sucessivas utilizando solução de OTC num intervalo de concentrações entre  $1,0 \times 10^{-6}$  e  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ , seguindo as normas e recomendações de reconhecimento e aceitação global da IUPAC.

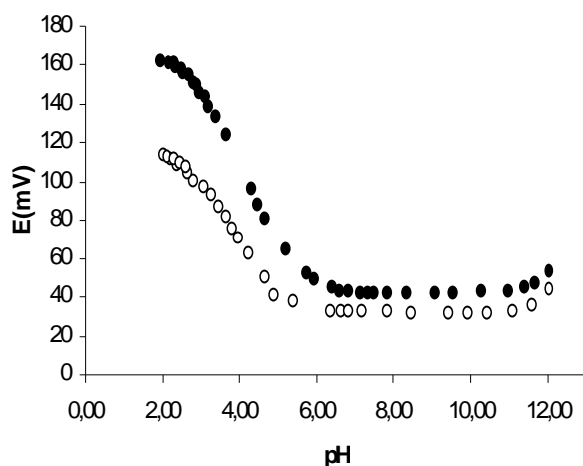
A partir de uma média ( $n=18$ ) foi obtido limite inferior de resposta linear (LIRL) igual a  $4,3 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ; limite prático de detecção (LPD) de  $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ; declive =  $54,5 \text{ mV.dec}^{-1}$ ;  $R^2 = 0,9995$ ; tempo de resposta = 20s e tempo de vida de 6 meses.



A partir das calibrações consecutivas utilizando o eletrodo seletivo foi possível determinar que o PVC-COOH mostrou-se ser aquele que apresenta uma maior estabilidade, visto que alcança maiores declives e melhor reprodutibilidade do sinal analítico.

Uma vez que os valores de pH das soluções alteram o grau de dissociação das espécies em solução podendo igualmente influenciar a seletividade do eletrodo, procedeu-se à avaliação da influência do pH na resposta potenciométrica das unidades construídas.

Após o traçado do diagrama de Reilley foi verificado que a determinação do analito é favorecida em meio ácido, pois para valores de pH superiores a 6 ocorre a precipitação do OTC.Cl, sob a forma de óxidos e hidróxidos (Bakker, 1996). Foram observados melhores resultados de amplitude do sinal analítico para valores com pH 2 (Figura 1).



**Figura 1 – Diagrama de Reilley para: ● 0,001 mol.L<sup>-1</sup> e ○ 0,0001 mol.L<sup>-1</sup>.**

A extensão da influência de algumas espécies iônicas no comportamento dos detectores foi avaliada através da determinação dos coeficientes de seletividade potenciométrica ( $K_{A,B}^{pot}$ ). Para a determinação dos  $K_{A,B}^{pot}$  recorreu-se ao método das soluções separadas com diferentes eletrólitos e em diferentes níveis de concentração dentro da zona de resposta linear dos eletrodos, efetuando a medição para o eletrodo ion-seletivo, na mesma concentração (atividade), quando imerso numa solução contendo o íon principal e numa solução contendo o íon interferente, seguindo a equação de Nicolski-Eisenman

Os resultados forneceram baixos valores de  $K_{A,B}^{pot}$  para as concentrações aplicadas, considerando, portanto, o eletrodo em questão seletivo em relação aos interferentes testados. Estas características de seletividade, associadas às boas características de funcionamento anterior registradas, contribuíram para a sua aplicação posterior na análise de formulações farmacêuticas.

Os coeficientes de seletividade potenciométricos ( $K_{A,B}^{pot}$ ) de algumas espécies iônicas ( $Ca^{2+}$ ,  $Na^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Li^{+}$ ,  $K^{+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Cu^{3+}$  e  $NH_4^{+}$ ) foram determinados através do método das soluções separadas (Guilbault, 1981) com  $1 \times 10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-4}$  e  $1 \times 10^{-4}$  mol.L<sup>-1</sup>, apresentando baixos valores, inferiores a 0,25, considerando, portanto, seletivos.

## SEGUNDA ETAPA: APLICAÇÃO ANALÍTICA EM SISTEMA AUTOMÁTICO

Foi empregado o método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector DAD-UV como método de referência utilizando em sua fase móvel ácido oxálico, acetonitrila e metanol, nas proporções de 75:14:11 (v/v/v), respectivamente.

No sistema SIA desenvolvido (Figura 2), as soluções foram propulsionadas por uma bomba peristáltica, onde as amostras foram inseridas com uma válvula rotatória de 8 portas. Por intermédio de um decimilivoltímetro foi avaliada a diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência de dupla junção Ag/AgCl Orion 90-00-02. A alça de amostragem entre a bomba peristáltica e a válvula rotatória foi de 100 cm.

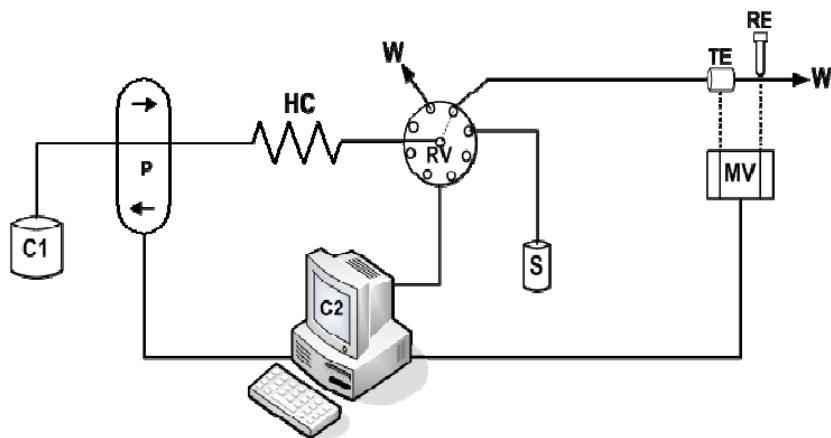


Figura 2 – Sistema de análise por injeção sequencial: (C<sub>1</sub>) Solução transportadora, (P) bomba peristáltica; (HC) holding coil; (RV) válvula rotatória; (S) amostras ou solução padrão; (W) lixo; (TE) eletrodo seletivo a oxitetraciclina; (RE) eletrodo de referência; (C<sub>2</sub>) computador; (MV) decimilivoltímetro.

## RESULTADOS DA SEGUNDA ETAPA

As amostras farmacêuticas foram preparadas de maneira que uma determinada quantidade das respectivas apresentações fossem diluídas, dentro da faixa linear de trabalho, para posterior detecção em SIA, obtendo uma frequência analítica de 36 amostras.h<sup>-1</sup>.

Os resultados obtidos por detecção potenciométrica foram comparados, com aqueles fornecidos pela análise das mesmas amostras, utilizando o método de referência por CLAE (Tabela 1).

Tabela 1 – Determinação do cloridrato de oxitetraciclina em formulações contendo OTC.Cl na presença do efluente de ETE com n = 3.

Amostras Farmacêuticas	Método SIA	Método CLAE	Erro Relativo (%)
Terramicina <sup>®</sup> Comprimido (500 mg)	508,2 ± 1,5	498,1 ± 1,2	2,1
Terramicina <sup>®</sup> Intra-muscular (50 mg.mL <sup>-1</sup> )	51,5 ± 1,7	49,3 ± 0,8	4,5

Os resultados obtidos, representados na Tabela 1, foram comparados com aqueles fornecidos pela análise das mesmas amostras utilizando o método de referência por CLAE. A qualidade dos resultados foi determinada a partir da porcentagem do erro relativo para todas as amostras. A avaliação da precisão analítica foi aplicada para o método proposto e para o método de referência, sendo efetuada pelo cálculo do desvio padrão.



Os valores do erro relativo, quando comparados, demonstram que mesmo utilizando matrizes diferentes não se observa uma diferença percentual significativa.

Estes resultados são muito expressivos, pois o processo sendo eficiente nessas matrizes pode ser utilizado para a sua detecção, uma vez que a OTC é encontrada principalmente em efluentes de tratamento de esgoto e em águas superficiais.

Esses bons resultados quando se utiliza o método proposto através de um sistema de análise por injeção sequencial, também são importantes, pois viabiliza economicamente a quantificação da oxitetraciclina e ainda facilita a sua execução, uma vez que o sistema desenvolvido for otimizado, torna-se a análise mais simples do que outro método de referência.

De acordo com a média dos valores ( $n=3$ ) da concentração pelos dois métodos, foi observada uma boa correlação, confirmada pelos baixos valores do desvio padrão e erro relativo.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos são muito expressivos, pois o processo sendo eficiente nessas matrizes pode ser utilizado para a sua detecção, uma vez que a OTC é encontrada principalmente em efluentes de tratamento de esgoto e em águas superficiais.

Esses bons resultados quando se utiliza o método proposto através de um sistema de análise por injeção sequencial, também são importantes, pois viabiliza economicamente a quantificação da oxitetraciclina e ainda facilita a sua execução, uma vez que o sistema desenvolvido for otimizado, torna-se a análise mais simples do que outro método de referência.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAKKER, E. Origin of anion response of solvent polymeric membrane based silver ion-selective electrodes. *Sensors and Actuators B*, v. 35, p. 20-25, sept. 1996.
2. BUCK, R. P., COSOFRET, V. V., LINDNER, E. Anion effects on Donnan failure of aminated-poly(vinyl chloride)-based and neutral-carrier-based pH sensors. *Analytica Chimica Acta*, v. 282, p. 273-281, oct. 1993.
3. GONG, Z., ZHANG Z. Determination of tetracyclines with a modified  $\beta$ -cyclodextrin based fluorosensor *Anal. Chim. Acta*, v. 351, p. 205-210, sept. 1997.
4. GUILBAULT, G.G. Recommendations for publishing manuscripts on ion-selective electrodes (IUPAC). *Pure Appl. Chem.* v. 53, p. 1907-1912, 1981.
5. KARLICEK, R., SOLICH, P. Flow-injection spectrophotometric determination of tetracycline antibiotics. *Anal. Chim. Acta*, v. 285, p. 9-12, jan. 1994.
6. LIMA, J. L. F. C., MACHADO, A. A. S. C. Procedure for the construction of all-solid state PVC membrane electrodes. *Analyst*, v. 111, p. 799-802, 1986.
7. PIMENTA, A. M., MONTENEGRO, M. C. B. S. M., ARAÚJO, A. N., CALATAYUD., M. J. Application of sequential injection analysis to pharmaceutical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 40, p. 16-34, dec. 2006.
8. SHARIATI, S., YAMINI, Y., ESRAFI, A. Carrier mediated hollow fiber liquid phase microextraction combined with HPLC-UV for preconcentration and determination of some tetracycline antibiotics. *Journal of Chromatography B*, v. 877, p. 393-400, dec. 2009.
9. TOWNSHEND, A., RUENGSIAGOON, W., THONGPOON, C., LIARUANGRATH, S. Flow injection chemiluminescence determination of tetracycline. *Anal. Chim. Acta*, v. 541, p. 103-109, jun. 2005.