



EMPREGO DE ELETRODO DE GRAFITE DE LÁPIS PARA DETECÇÃO DE ETINILESTRADIOL EM ÁGUA

Lívia C. Mouzinhos¹; Denise D. de Sousa¹; José R. N. dos Santos; Andre S. Freires¹; Jemmla M. T. Moreira¹; Lorena C. M. de Azevedo¹; Aldalea L. B. Marques; Joacy B. de Lima¹; Janyeid K. C. Sousa¹.

¹ Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís - MA, Brasil
Email: livia.correia@discente.ufma.br

Palavras-Chave: Desreguladores endócrinos; Voltametria; Sensores eletroquímicos.

Introdução

Ao longo dos anos, a descarga de poluentes no meio ambiente tem se intensificado, tal fenômeno pode ser justificado pelo crescimento desordenado das cidades e ao aumento populacional, resultando em maior consumo de produtos químicos e, na contaminação dos corpos hídricos, pois os sistemas de saneamento não garantem a remoção desses compostos em água (Alves *et al.*, 2023). Ademais, a ausência de uma legislação específica para o controle desses poluentes dificulta a mitigação de seus efeitos graves a biota (Dos Santos Fernandes *et al.*, 2022).

Os contaminantes de origem antrópica lançados nos corpos d'água, conhecidos como micropoluentes emergentes, apresentam-se em concentrações na ordem de $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ a $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Apesar de estarem presentes em níveis traço, são capazes de causar perturbações significativas no ambiente aquático (Santos *et al.*, 2023). Entre os contaminantes, destacam-se os desreguladores endócrinos (EDCs), substâncias que podem imitar ou interferir na ação hormonal das espécies expostas, provocando alterações no sistema endócrino (USEPA, 2024). Essa classe engloba diferentes compostos, como fármacos, produtos de higiene e limpeza, além de anticoncepcionais e hormônios naturais ou sintéticos (Soares; Souza E Souza, 2020).

O 17 α -etinilestradiol (EE2) é um hormônio sintético classificado como um dos principais desreguladores endócrinos (EDCs), devido ao seu elevado potencial de interferência nos sistemas endócrino de diferentes organismos. O EE2 é derivado do 17 β -estradiol (E2) e apresenta maior estabilidade estrutural pela inserção de um grupo etinil, o que lhe confere resistência à degradação e favorece a bioacumulação no ambiente (Cunha *et al.*, 2019). Seu uso é predominante em contraceptivos orais, mas também é empregado em terapias hormonais para distúrbios menstruais, sangramentos uterinos e no tratamento de doenças como câncer de mama e de próstata (Lucena, 2013).

A principal via de entrada do etinilestradiol no ambiente aquático ocorre por meio das excreções, especialmente pela urina, tanto de animais quanto de humanos. Em regiões de intensa atividade pecuária, onde o hormônio pode ser empregado em tratamentos veterinários, as concentrações detectadas podem se igualar ou até superar as de origem humana. No caso dos humanos, a excreção está associada a fatores como sexo, estado hormonal e uso de anticoncepcionais. Embora o EE2 sofra processos metabólicos antes da eliminação, sua estrutura central permanece intacta, podendo ser reativada por bactérias presentes nos corpos d'água (Aris; Shamsuddin; Praveena, 2014; Grosseli, 2016).

O 17 α -etinilestradiol representa um risco preocupante ao meio ambiente, sobretudo aos ecossistemas aquáticos. Esse composto pode induzir a feminização de peixes, comprometendo sua reprodução e ameaçando a sobrevivência das espécies. Adicionalmente, ao acumular-se na cadeia alimentar, alcança também os seres humanos, estando associado à redução da contagem de espermatozoides e ao aumento da incidência de cânceres, como mama, próstata, ovário e testículo (Grzegorzek; Wartalska; Kowalik, 2024). Tais impactos evidenciam a necessidade urgente de monitorar sua presença nas águas, visando proteger tanto a biota quanto a saúde humana.

O monitoramento do 17 α -etinilestradiol é desafiador devido às baixas concentrações presentes no ambiente. Embora técnicas como cromatografia, espectrometria, dentre outras, sejam empregadas, os altos custos e a complexidade limitam seu uso. Nesse cenário, os métodos eletroquímicos destacam-se como alternativa viável e economicamente acessível para a detecção do EE2 em águas (Lima; Bergamasco, 2017).

Na eletroquímica, o 17 α -etinilestradiol tem sido detectado por técnicas voltamétricas, como a cíclica, de onda quadrada e de pulso diferencial, associadas a sensores específicos e de baixo custo, com aplicação em amostras reais de água (Perez; Simões; Codognoto, 2016). Entre esses sensores, destacam-se os eletrodos de grafite de lápis (PGE), que oferecem simplicidade, baixo custo, disponibilidade e possibilidade de reutilização, configurando-se como alternativa promissora para o monitoramento de contaminantes emergentes (Srinivas; Senthil Kumar, 2023). Neste estudo, utilizou-se lápis do tipo B, que possui maior teor de grafite e menor dureza em relação ao tipo H (Gong; Sujari; Ab Ghani, 2012). Além disso, a morfologia irregular desses eletrodos aumenta a área superficial ativa e o número de sítios reativos, tornando-os eficazes na detecção de contaminantes em amostras ambientais complexas (Kawde; Baig; Sajid, 2016).

Dessa forma, considerando a relevância da detecção do etinilestradiol em ambientes aquáticos sob a perspectiva ecotoxicológica, bem como as vantagens da eletroanálise, destacando-se sua elevada sensibilidade, baixo custo e versatilidade, este trabalho propõe o desenvolvimento de um procedimento eletroanalítico utilizando eletrodos de grafite de lápis, como eletrodo de trabalho, para a determinação de etinilestradiol em águas superficiais.

Material e Métodos

As análises foram realizadas no Laboratório de Pesquisas em Química Analítica (LPQA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Reagentes

Para a preparação dos eletrólitos de suporte, foram utilizados: ácido acético (C₂H₄O₂, Sigma-Aldrich), ácido bórico (H₃BO₃, Sigma-Aldrich), ácido fosfórico (H₃PO₄, CRQ), fosfato de sódio monobásico anidro (NaH₂PO₄, CRQ) e fosfato de sódio dibásico anidro (Na₂HPO₄, Isofar), empregados na preparação das soluções tampão Britton–Robinson e fosfato salino (PBS, Phosphate-Buffered Saline). A correção do pH foi realizada com hidróxido de sódio (NaOH, Sigma-Aldrich). Todas as soluções foram preparadas a 0,1 mol L⁻¹.

A solução estoque de 17 α -etinilestradiol (C₂₀H₂₄O₂, Sigma-Aldrich) foi obtida por dissolução em etanol absoluto (C₂H₅OH, Isofar). Todas as soluções aquosas foram preparadas

com água deionizada (resistividade $\leq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$), obtida em sistema Milli-Q (Millipore Inc., EUA).

Instrumentação

As massas dos reagentes foram determinadas em balança analítica digital ED224S (Sartorius). As análises eletroquímicas foram realizadas em potenciostato portátil $\mu\text{Start-i 400s}$ (Metrohm-Autolab), acoplado ao software DropView 8400. Os experimentos foram conduzidos em célula de vidro (10,0 mL) com configuração de três eletrodos: grafite de lápis (PGE) como eletrodo de trabalho, platina como contraeletrodo e Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) como referência. A limpeza do eletrodo envolveu polimento com suspensão de alumina e papel camurça. O pH foi monitorado em pHmetro digital de bolso Ion pH-280.

Preparação do eletrodo de trabalho

O eletrodo de trabalho foi confeccionado a partir do grafite de lápis Faber-Castell® 2B, cortado em 15 mm de comprimento e 2 mm de diâmetro (Figura 1). O grafite foi conectado a uma barra de cobre, fixada com Parafilm M®, mantendo apenas a extremidade do grafite exposta à solução eletrolítica. Essa configuração proporcionou superfície condutora estável, de baixo custo e reproduzível, adequada para os ensaios voltamétricos.

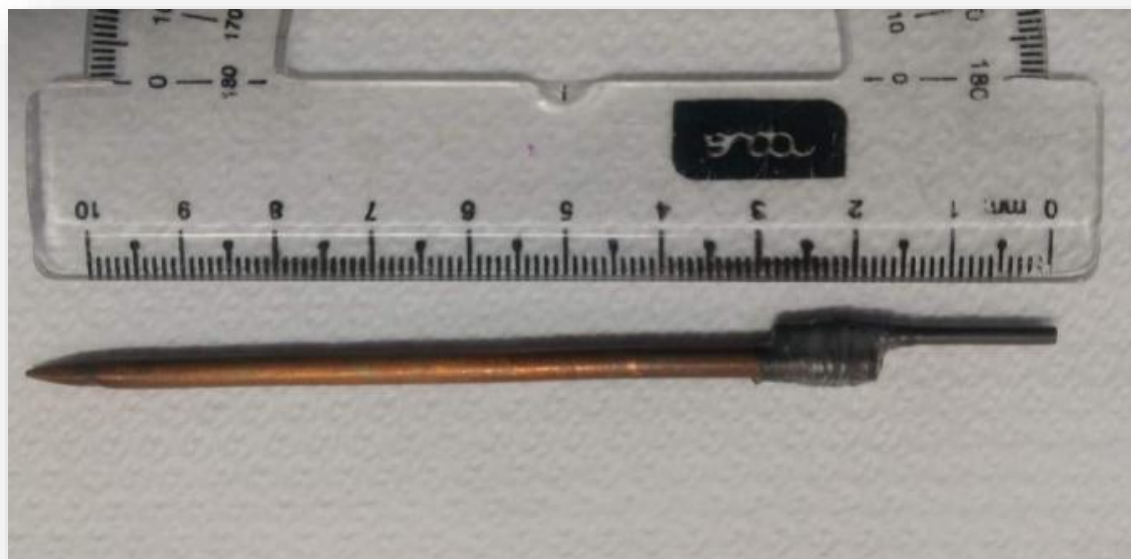


Figura 1. Eletrodo de grafite de lápis – PGE.

Coleta de amostras

As amostras de água bruta foram coletadas no Reservatório Batatã, para posterior tratamento na Estação de Tratamento de Água do Sacavém, São Luís-MA. Após a coleta, foram acondicionadas em caixas térmicas até a realização das análises.

Limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ)

Foram determinados utilizando as equações 1 e 2 (Skoog *et al*, 2005).

$$\text{Eq. 1: } LD = 3 \times \frac{Sb}{m}$$

$$\text{Eq. 2: } LQ = 10 \times \frac{Sb}{m}$$

Onde Sb é o desvio padrão do branco e a sensibilidade analítica (m) foi obtida a partir da curva de calibração.

Resultados e Discussão

Comportamento eletroquímico do EE2

A figura 2, a voltametria cíclica foi empregada para avaliar a oxidação do 17 α -etinilestradiol (EE2). No eletrodo PGE em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0), não foram observados picos redox na ausência do analito (curva preta). Entretanto, na presença de 40,0 μ mol L⁻¹ de EE2 (curva vermelha), verificou-se um pico de oxidação irreversível iniciado em 0,50 V, com máximo em 0,60 V e corrente de 3,04 μ A.

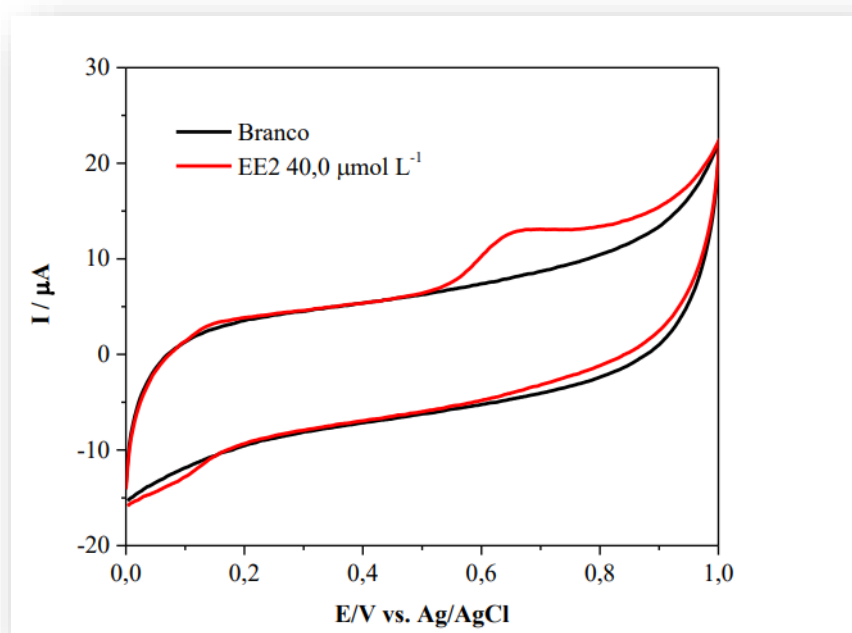


Figura 2. Voltamogramas cíclicos obtidos para o PGE na ausência e presença de EE2 40,0 μ mol L⁻¹. Experimentos realizados em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0), $v = 0,03$ V s⁻¹.

Estudo de pH

A influência do pH na resposta eletroquímica do EE2 foi investigada em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5–9). Observou-se na figura 3(b) o deslocamento dos potenciais de oxidação para valores mais negativos com o aumento do pH, evidenciando a participação de prótons no processo. A relação E_p vs. pH apresentou inclinação de 58,7 mV, próxima ao valor teórico de 59 mV, indicando mecanismo envolvendo a transferência de um próton por elétron (Nodehi *et al.*, 2020). Assim, adotou-se pH 7 como condição de trabalho por melhor representar as matrizes ambientais e proporcionar maior intensidade de oxidação.

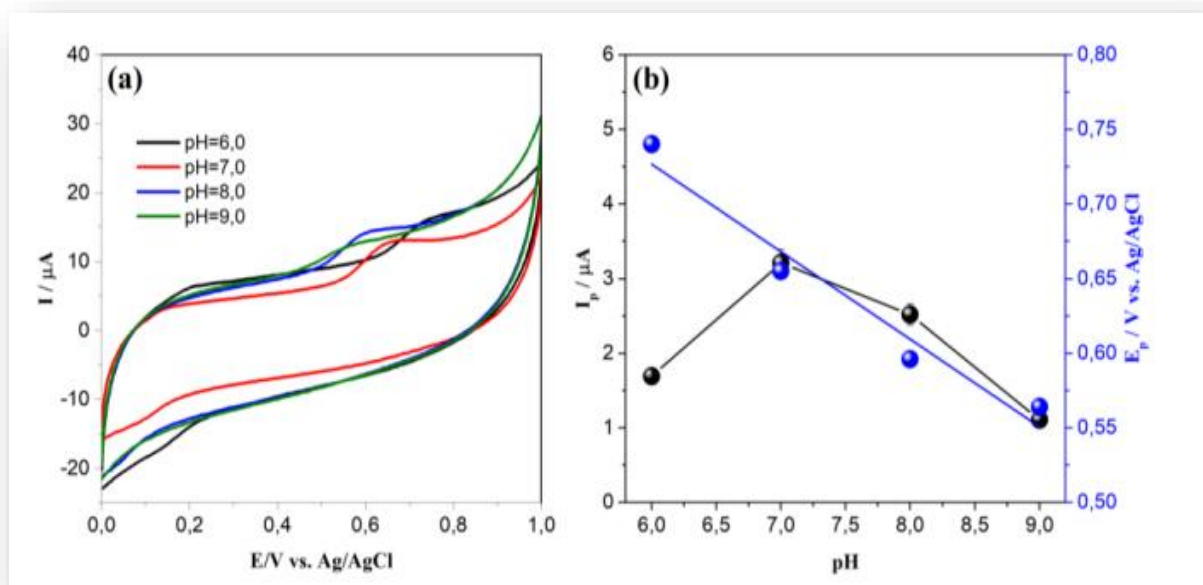


Figura 3. (a) Voltamogramas cíclicos do EE2 ($40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) em PGE com diferentes pH. (b) Relação de I_p e E_p em função do pH.

Estudo do eletrólito

A Figura 4 apresenta a avaliação de três sistemas tampão (fosfato, Britton-Robinson e McIlvaine), todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ajustados para pH 7, utilizados na otimização do eletrólito.

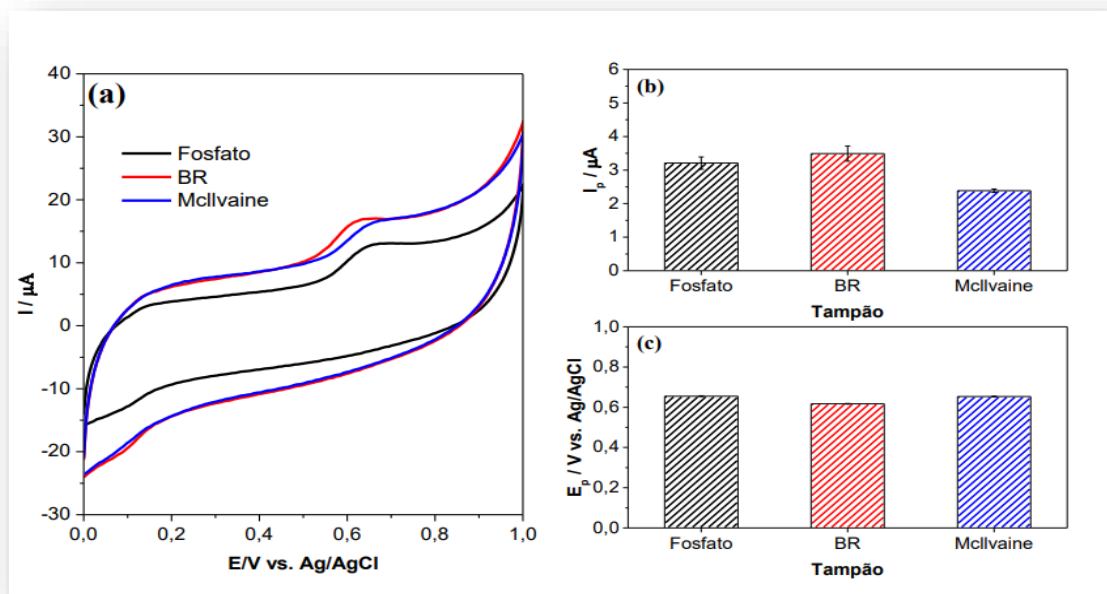


Figura 4. Voltamogramas cíclicos do PGE em diferentes tampões ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0) na presença de EE2 ($40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 0,03 \text{ V s}^{-1}$), com destaque para (b) correntes de pico e (c) potenciais de pico.

Conforme mostrado na Figura 4, o tampão BR apresentou maior intensidade de corrente, enquanto o fosfato (PBS) destacou-se pela estabilidade e menor suscetibilidade a erros de repetibilidade. Esses resultados justificam a escolha do PBS como eletrólito de trabalho.

Otimização da Técnica de DPV

A voltametria de pulso diferencial (DPV) foi otimizada para a detecção do EE2, a partir de parâmetros previamente avaliados pela voltametria cíclica. Ajustes em potencial, amplitude de pulso, tempo de modulação, potencial e tempo de deposição permitiram aprimorar o pico analítico e aumentar a intensidade do sinal, conforme detalhado na Tabela 1.

Parâmetros	Faixa investigada	Valor otimizado
pH	5,0 - 9,0	7,0
Potencial inicial e final	0,0 – 1,0 V	0,3 – 0,9 V
Amplitude de Modulação	10 - 45 mV	35 mV
Tempo de Modulação	40 - 100 ms	50 ms
Potencial de passos	3,0 – 8,0 mV	5 mV
Potencial de deposição	0,4 – 0,8 V	0,5
Tempo de deposição	5 – 20 s	10 s

Tabela 1. Parâmetros eletroquímicos e condições experimentais utilizados nos estudos de definição do eletrólito.

Curva de Calibração

Foi construída a curva de calibração do EE2 em PBS (pH 7,0) na faixa de 2,5–20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando voltametria de pulso diferencial. O analito apresentou oxidação próxima de 0,55 V, com corrente de pico proporcional à concentração, conforme ilustrado nas Figura 5.

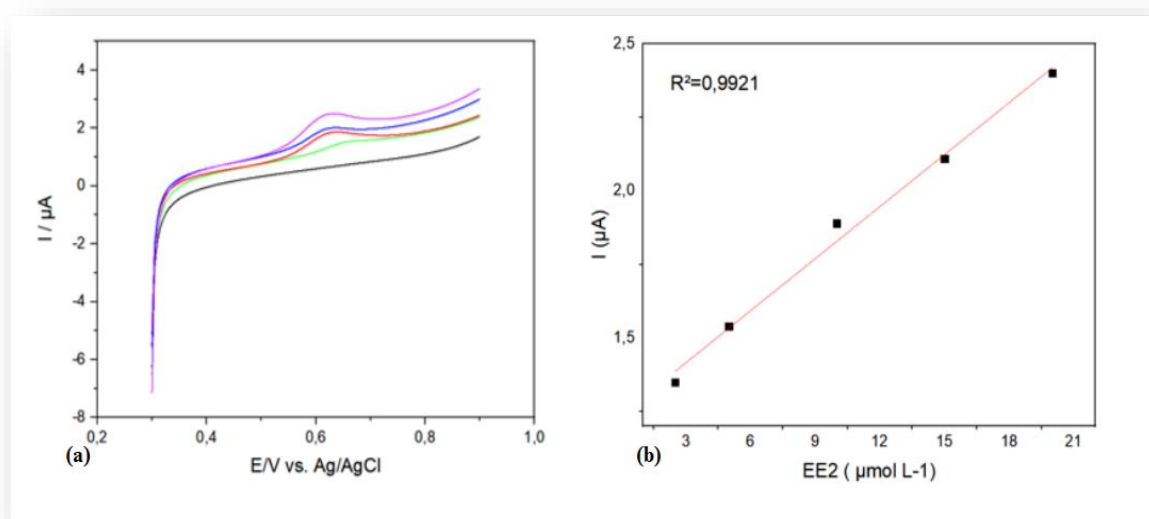


Figura 5. (a) Voltamogramas de EE2 em PBS (pH 7) obtidos por VPD. (b) Curva analítica para detecção de EE2 (2,5–20 $\mu\text{mol L}^{-1}$) usando eletrodo de grafite de lápis.

De acordo com a Figura 5, os limites de detecção e quantificação, foram de 1,83 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente. A curva analítica, construída na faixa de 2,5 a 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, apresentou boa linearidade, elevado coeficiente de correlação e conformidade com os parâmetros da RDC nº 166/2017 da Anvisa.

O método desenvolvido para a determinação de EE2 em água, empregando o PGE como eletrodo de trabalho, foi comparado a outros procedimentos descritos na literatura (Tabela 2), considerando a faixa linear e o limite de detecção, e apresentou desempenho satisfatório. A análise dos parâmetros, como o tipo de eletrodo, a técnica eletroquímica aplicada, o limite de detecção e a faixa linear, evidencia que o método proposto oferece resultados comparáveis ou superiores aos já reportados, pois trata-se de um eletrodo rápida fabricação e de baixo custo econômico.

Técnica	Eletrodo	Limite de detecção	Faixa linear	Referência
SWV	Eletrodo de Diamante Dopado com Boro (BDD)	0,24 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,99 a 5,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Perez; Simões; Codognoto, 2016)
SWV	FTO modificado com Chi/MWCNT (3 bicamadas)	0,09 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,05 – 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Pavinatto et al., 2015)
SWV	GCE-MWCNT-CoPc	2,20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	2,5 – 90,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Coelho; Silva; Pereira, 2019)

SWV	Eletrodo de Carbono Vítreo (GCE)/ Eletrodo de Diamante Dopado com Boro (BDDE)	0,57 $\mu\text{mol L}^{-1}$	1,72 – 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Klikarová; Chromá; Sýs, 2023)
SWV	GQDs-CB-DHP/GCE	0,998 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,998 a 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Da Silva Araujo et al., 2025)
VPD	Eletrodo de Grafite de Lápiz	1,83 $\mu\text{mol L}^{-1}$	2,5 a 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Este trabalho

Tabela 2. Limites de detecção para o EE2 em comparação com outros métodos eletroanalíticos, sendo eles DPV (Voltametria de pulso Diferencial) SWV (Voltametria de onda quadrada) e eletrodos de trabalho.

Aplicação em amostras reais

O eletrodo de grafite de lápis, foi aplicado na detecção de EE2 em água bruta do reservatório Batatã, utilizando diluição em tampão PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 7) na proporção 4:3 (tampão:água).

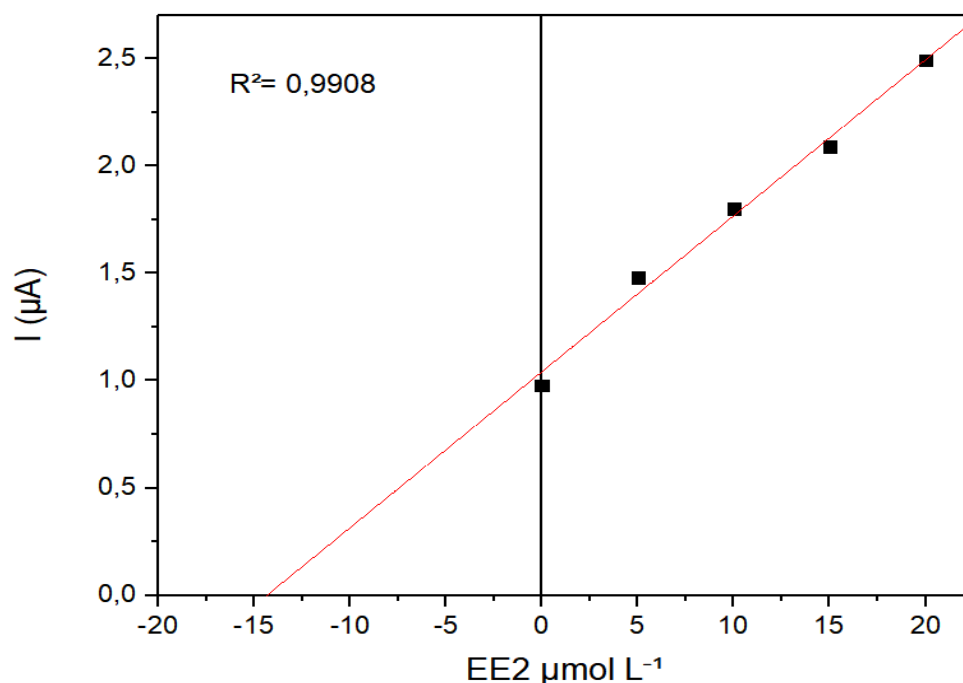


Figura 6. Curva de adição de padrão do EE2 por VPD, evidenciando a relação linear entre corrente de pico e concentração do analito.

A solução foi enriquecida com EE2 ($5\text{--}20\ \mu\text{mol L}^{-1}$) e a partir dos valores obtidos na equação da reta, gerada pela curva analítica (Figura 6), foi possível obter a seguinte expressão (Ribani *et al.*, 2004):

$$\text{Eq. 3 } [EE2, \mu\text{mol L}^{-1}]_{\text{Amostra}} = \frac{-b}{a}$$

A análise da amostra enriquecida por adição padrão de EE2 resultou em $14,29\ \mu\text{mol L}^{-1}$. Valores semelhantes já foram relatados na literatura (Cordeiro *et al.*, 2020), possivelmente devido à alta presença de matéria orgânica. Ressalta-se que estudos futuros serão conduzidos para aplicar o método de adição e recuperação e avaliar potenciais interferentes.

Conclusões

Os resultados deste estudo mostram que o eletrodo de grafite de lápis é uma ferramenta promissora para a detecção eletroquímica do 17α -etinilestradiol (EE2) em água. Os voltamogramas apresentaram picos bem definidos, indicando a boa sensibilidade do material, com limites de detecção e quantificação próximos aos relatados na literatura. A aplicação da curva de adição de padrão possibilitou determinar a concentração real de EE2 em uma amostra de reservatório de São Luís, confirmando o potencial do método para análises ambientais. Assim, o uso do sensor de grafite de lápis surge como uma alternativa acessível, de baixo custo e eficiente para o monitoramento de contaminantes emergentes em ambientes aquáticos.

Agradecimentos

À UFMA e ao Laboratório de Pesquisa em Química Analítica (LPQA), pelo apoio institucional e científico.

Referências

ALVES, Mariana Corrêa Pessato *et al.* Ocorrência de fármacos e desreguladores endócrinos em mananciais de abastecimento de água no Brasil. **Cadernos Técnicos Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 3, n. 3, p. 95–103, 2023.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2017.

ARIS, Ahmad Zaharin; SHAMSUDDIN, Aida Soraya; PRAVEENA, Sarva Mangala. Occurrence of 17α -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. **Environment International**, v. 69, p. 104–119, 2014.

COELHO, Karla Lombello; Malena; NUNES DA SILVA, Daniela; CÉSAR PEREIRA, Arnaldo. Development of Electrochemical Sensor Based on Carbonaceal and Metal Phthalocyanines Materials for Determination of Ethinyl Estradiol. **Chemosensors**, v. 7, n. 3, p. 32, 24 jul. 2019.

CORDEIRO, Letícia Darlla *et al.* Análise de hormônios em águas residuárias e naturais, derivada da extração com ponteiras descartáveis e detecção por HPLC-FL. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 12, n. 1, p. 520–530, 2020.

CUNHA, Gustavo Dos Santos *et al.* Insights into estrogenic activity removal using carbon nanotube electrochemical filter. **Science of The Total Environment**, v. 678, p. 448–456, 2019.



DA SILVA ARAUJO, Mayara *et al.* Electrochemical Determination of 17- α -Ethinylestradiol on a Graphene Quantum Dots and Carbon-Black-Modified Glassy Carbon Electrode. **Electroanalysis**, v. 37, n. 1, p. e202400269, jan. 2025.

DOS SANTOS FERNANDES, Juliana *et al.* A New Electrochemical Sensor Based on Carbon Black Modified With Palladium Nanoparticles for Direct Determination of 17 α -Ethinylestradiol in Real Samples. **Electroanalysis**, v. 34, n. 5, p. 863–871, 2022.

GONG, Zhu Qing; SUJARI, Amat Ngilmi Ahmad; AB GHANI, Sulaiman. Electrochemical fabrication, characterization and application of carboxylic multi-walled carbon nanotube modified composite pencil graphite electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 65, p. 257–265, 2012.

GROSSELI, G.M. Contaminantes emergentes em estações de tratamento de esgoto aeróbia e anaeróbia. Tese de doutorado. Universidade Federal de São Carlos, 2016.

GRZEGORZEK, Martyna; WARTALSKA, Katarzyna; KOWALIK, Robert. Occurrence and sources of hormones in water resources—environmental and health impact. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 26, p. 37907–37922, 2024.

KAWDE, Abdel-Nasser; BAIG, Nadeem; SAJID, Muhammad. Graphite pencil electrodes as electrochemical sensors for environmental analysis: a review of features, developments, and applications. **RSC Advances**, v. 6, n. 94, p. 91325–91340, 2016.

KLIKAROVÁ, Jitka; CHROMÁ, Martina; SÝS, Milan. Simultaneous voltammetric determination of female hormones using different carbonaceous electrodes in a non-aqueous environment. **Microchemical Journal**, v. 193, p. 109219, out. 2023.

LIMA, Paulo Renato; BERGAMASCO, Rosangela. Efeitos da contaminação da água pelo fármaco 17 α -etinilestradiol, detecção e tipos de tratamento. **Evidência - Ciência e Biotecnologia**, v. 17, n. 2, p. 119–134, 2017.

LUCENA, W. S. O fármaco 17 alfa etinilestradiol: seus possíveis efeitos à saúde humana e animal por exposições ambientais. Rio de Janeiro, 2013. 68 p. Monografia (Pós-graduação em tecnologias farmacêuticas), Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, 2013.

NODEHI, M.; BAGHAYERI, M.; ANSARI, R.; VEISI, H. Electrochemical quantification of 17 α -Ethinylestradiol in biological samples using a Au/Fe₃O₄@TA/MWNT/GCE sensor. **Materials Chemistry and Physics**, 244, 122687, 2020.

PAVINATTO, A.; MERCANTE, L. A.; LEANDRO, C. S.; MATTOSO, L. H. C.; CORREA, D. S. Development of nanostructured electrochemical sensor for the detection of 17 α -ethinylestradiol in aquaculture. In: WORLD CONGRESS ON NEW TECHNOLOGIES, 2015, Barcelona. Proceedings of the World Congress on New Technologies. Barcelona: NewTech, Paper n. 326, 2015.

PEREZ, Caroline; SIMÕES, Fábio Ruiz; CODOGNOTO, Lúcia. Voltammetric determination of 17 α -ethinylestradiol hormone in supply dam using BDD electrode. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 20, n. 9, p. 2471–2478, set. 2016.



RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em Métodos Cromato-gráficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

SANTOS, Renatha Michelly Sabino Dos et al. Contaminação dos recursos hídricos por micropoluentes emergentes e os possíveis métodos de tratamento para sua remoção. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 8, n. 2, p. 070–085, 2023

SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Fundamentals of Analytical Chemistry**. 8. ed. Belmont: Thomson Brooks/Cole, 2005

SOARES, Alexandra Fátima Saraiva; SOUZA E SOUZA, Luís Paulo. Contaminação das águas de abastecimento público por poluentes emergentes e o direito à saúde. **Revista de Direito Sanitário**, v. 20, n. 2, p. 100–133, 12 maio 2020.

SRINIVAS, Sakthivel; SENTHIL KUMAR, Annamalai. Surface-Activated Pencil Graphite Electrode for Dopamine Sensor Applications: **A Critical Review**. **Biosensors**, v. 13, n. 3, p. 353, 2023.

USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (2024). How Chemicals Can Disrupt the Endocrine System. Disponível em: <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/overview-endocrine-disruption#chemicals>.