



MICROELETRODO DE OURO NANOPOROSO PARA DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE TRICLOSAN EM SISTEMA BIA

Matheus B. Garcez¹; Gabrielly P. Silva¹; Lizandra N. Castro¹; Domingos R. dos S. Neto¹;
Gustavo C. Diniz²; Jessica S. Stefano¹; Luiz R. G. e Silva³; Iranaldo S. da Silva¹; Luiza M. F.
Dantas¹.

¹Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luís – MA

²Instituto Federal do Maranhão – IFMA, São Luís – MA

³Colégio Universitário – UFMA, São Luís – MA

matheus.garcez@discente.ufma.br

Palavras-Chave: Microeletrodo, Nanoestrutura, Contaminantes Emergentes.

Introdução

Os contaminantes emergentes (CEs) têm recebido crescente atenção nas últimas décadas, pois não são totalmente removidos nos sistemas convencionais de tratamento de água e esgoto e apresentam efeitos adversos para a biota e a saúde humana. [1] Dentre os CEs, o triclosan (TCS) destaca-se como um antimicrobiano de amplo espectro, incorporado em sabonetes, cremes dentais, enxaguantes bucais, tecidos e embalagens devido à sua ação bactericida e fungicida. [2] A exposição humana ocorre principalmente por meio da ingestão de água e alimentos contaminados, resultando em bioacumulação em células vivas. Isso pode comprometer o funcionamento correto das glândulas endócrinas, dependendo da concentração e do tempo de exposição. [3] Estudos indicam que o TCS afeta a expressão genética de diversas bactérias e se liga a repressões transcricionais, influenciando mecanismos de resistência. [4]

A absorção contínua do TCS pode desencadear efeitos adversos no organismo, como a diminuição do estrogênio na placenta durante a gravidez, redução dos espermatozoides e redução da sobrevivência das células tronco. [5] Muitos CE estão presentes em produtos de uso cotidiano, consequentemente podem ser encontrados não apenas em águas residuais domésticas, mas também em águas superficiais e subterrâneas, atingindo fontes de água potável e alimentos. Isso representa risco à saúde humana, com efeitos adversos já conhecidos e potenciais ainda não identificados. [6] Diante disso, é de suma importância desenvolver métodos analíticos confiáveis e sensíveis para a detecção de TCS.

As metodologias mais comuns para quantificação de TCS incluem técnicas cromatográficas acopladas a detectores, como HPLC-DAD [7], HPLC-UV [8] e GC-MS [9]. Apesar de oferecerem elevada sensibilidade e seletividade, esses métodos apresentam desvantagens associadas ao alto custo, necessidade de aparelhos sofisticados, preparo extensivo de amostra e elevado tempo de análise. Nesse contexto, a detecção eletroquímica do TCS tem se destacado, oferecendo alta sensibilidade, seletividade, fabricação simplificada e resposta rápida. [10]

Dentro desse campo, os microeletrodos modificados com nanoestruturas têm demonstrado grande potencial analítico, devido ao aumento da área eletroativa, maior transferência de carga e melhoria da sensibilidade. [11] Diante disso, métodos eletroquímicos de baixo custo surgem como alternativa promissora para monitoramento ambiental e controle em produtos de consumo.

A amperometria é uma técnica eletroquímica caracterizada pelo controle instrumental do potencial aplicado a um eletrodo sensor, enquanto a corrente resultante das reações de oxidação ou redução que ocorrem em sua superfície é monitorada como sinal analítico. Para que a análise seja eficaz, o potencial aplicado deve ser suficientemente alto para facilitar a oxidação ou a redução dos compostos alvo. [12] Essa metodologia ganha ainda mais destaque quando aplicada à Análise por Injeção em Batelada (BIA), uma técnica de análise rápida. [13] No sistema BIA, pequenas quantidades de soluções padrão ou amostras são introduzidas por meio de uma micropipeta e direcionadas ao eletrodo detector, que permanece submerso em uma solução eletrolítica de referência, sob agitação ou não. [14] Assim, este trabalho teve como objetivo desenvolver um microeletrodo de ouro nanoporoso (μAuNp) para a determinação eletroquímica de triclosan utilizando a análise por injeção em batelada com detecção amperométrica (BIA-AMP), visando oferecer uma alternativa acessível e eficaz para o monitoramento desse contaminante emergente em amostras reais.

Material e Métodos

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água deionizada usando o sistema Milli-Q (Millipore). As soluções padrão de TCS foram preparadas diariamente em etanol. Para o estudo da concentração hidrogeniônica, foi empregado como eletrólito suporte o tampão Britton-Robinson (BR). Nos estudos da natureza do eletrólito de suporte, foram usados os tampões BR, fosfato, McIlvaine e Sorensen.

Os ensaios eletroquímicos foram realizados em um potenciostato Autolab, utilizando uma célula eletroquímica construída por impressão 3D, com três eletrodos: o microeletrodo de ouro nanoporoso (μAuNp) como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência composto por $\text{Ag}|\text{AgCl}$ saturado em KCl e um fio de platina atuando como eletrodo auxiliar.

Os microeletrodos (μAu) foram confeccionados fixando aproximadamente 2 cm de fibra de ouro a um fio de Ni-Cr, com cola de prata, seguida de banho em ácido sulfúrico, secagem e inserção em pipeta de Pasteur. A extremidade da pipeta que envolvia a fibra foi selada com fogo. Para melhorar o contato elétrico, adicionou-se negro de fumo ao interior da pipeta, e a extremidade foi polida com lixa 1500 e lavada com água deionizada. A preparação da superfície nanoporosa consistia de uma sequência de procedimentos eletroquímicos em uma solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} . Inicialmente, foi aplicada uma varredura linear no sentido anódico de 0,0 a 2,0 V (20 mV s^{-1}), seguida pela aplicação de um potencial fixo de 2,0 V durante 10 minutos e posteriormente uma varredura no sentido catódico de 2,0 a 0,0 V (20 mV s^{-1}) para remover os óxidos e criar a superfície porosa do microeletrodo de ouro nanoporoso (μAuNp).

A amostra de enxaguante bucal foi diluída em solução tampão BR (1:100) antes da análise. Os parâmetros operacionais do sistema BIA (potencial, volume de injeção e velocidade de dispensa) foram otimizados visando maior sensibilidade e reprodutibilidade.

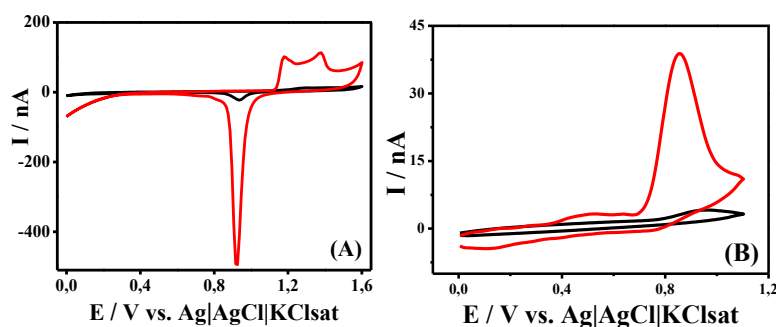
Resultados e Discussão

A avaliação eletroquímica dos eletrodos μAu e μAuNp foi realizada em uma solução de ácido sulfúrico a 0,5 mol L^{-1} . Os testes foram realizados em uma faixa de potencial de 0,0 a 1,6 V com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Os resultados, ilustrados na

Figura 1 (A), mostraram que o eletrodo μAuNp exibiu correntes significativamente maiores em comparação com o μAu . A corrente anódica aumentou aproximadamente 8 vezes e a corrente catódica 22 vezes, indicando que o processo de modificação criou estruturas nanoporosas no μAu . Na

Figura 1 (B) estão representados os voltamogramas cíclicos registrados sobre o μAu e μAuNp , em eletrólito suporte Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na presença de TCS. Foi registrado um processo de oxidação em aproximadamente $0,95 \text{ V}$ para o μAu . Para μAuNp o pico de oxidação do TCS deslocou para potenciais menos positivos, ocorrendo em $0,85 \text{ V}$. Além disso ocorre um aumento significativo da corrente de oxidação do TCS.

Figura 1. (A) Voltamogramas cíclicos registrados com μAu (—) e μAuNp (—) no eletrólito H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (B) Voltamogramas cíclicos registrados com μA (—) e μAuNp (—), em solução de TCS $299 \mu\text{mol L}^{-1}$ com Na_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$; pH $2,00$ (acidificada com 10 mmol L^{-1} de H_2SO_4) e 20% de etanol na célula de medição, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: Autor

Para compreender a influência do pH na resposta eletroquímica do TCS, foi realizada uma análise utilizando a técnica de voltametria de varredura linear. Os resultados indicaram que a melhor resposta para a detecção do TCS foi obtida em pH $8,00$, onde se verificou um pico de corrente anódica de $25,05 \text{ nA}$, acompanhado de um potencial de oxidação de $0,58 \text{ V}$. Além disso, o estudo do pH possibilitou a determinação da relação entre o número de elétrons e prótons envolvidos na reação de oxidação. De acordo com a teoria, a inclinação esperada para a relação linear entre potencial e pH, mostrado na

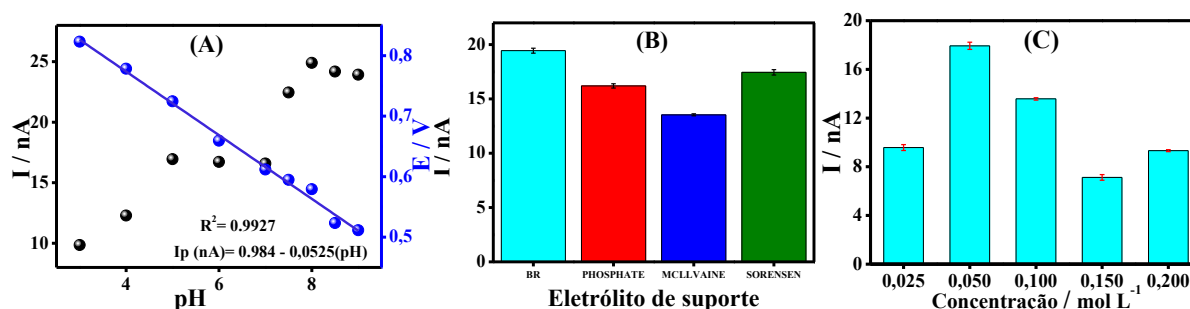
Figura 2 (A) é de $0,0592 \text{ V/pH}$, o que sugere uma participação equimolar de elétrons e prótons na reação eletroquímica. O valor experimental obtido, de $0,0525 \text{ V/pH}$, apresenta uma boa concordância com o valor teórico, reforçando a hipótese de que a oxidação do TCS envolve um número igual de elétrons e prótons.

Diferentes tampões em pH $8,00$ foram avaliados para identificar aquele que proporcionaria a melhor resposta eletroquímica do TCS. Foram testados os tampões fosfato, Britton-Robinson, McIlvaine e Sorensen, todos na concentração $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Dentre os avaliados, o tampão Britton-Robinson destacou-se por fornecer maior sinal de corrente, sendo então, definido como o eletrólito de suporte mais adequado para os experimentos subsequentes.

Além da escolha do tipo de tampão, a influência da sua concentração na resposta eletroquímica do TCS também foi investigada. A concentração de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ do tampão BR apresentou sinal de corrente mais intenso e reprodutível, sendo portanto definida como a mais adequada para os experimentos subsequentes.

Figura 2. (A) Correlação entre corrente (—) e potencial (—) em função do pH ($3,00 - 9,00$), em solução tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. (B) Gráfico de barras das correntes corrigidas em diferentes eletrólitos de concentração $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH $8,00$) e (C) Gráfico de barras das correntes corrigidas em solução tampão BR pH $8,00$ com diferentes valores concentração ($0,025 - 0,20 \text{ mol L}^{-1}$). Todos os voltamogramas

cíclicos foram realizados em eletrólito de suporte contendo 10% de etanol com μAuNp na presença de $299 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TCS, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, e o sinal sbtraído foi do branco ($n=3$).

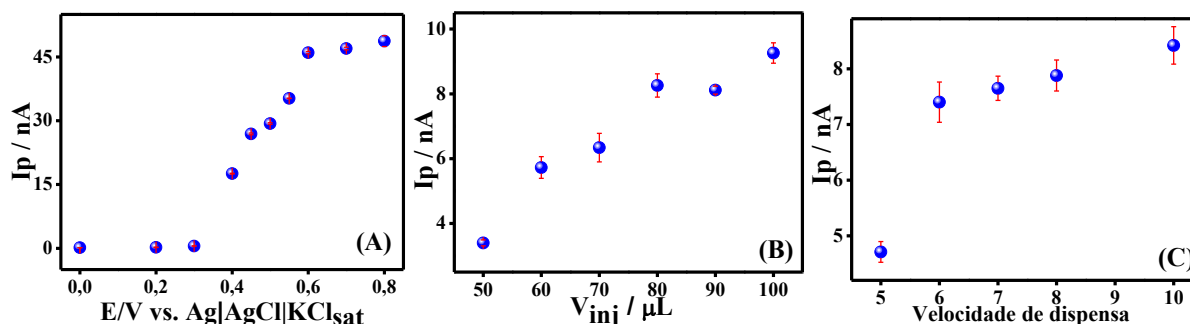


Fonte: autor

Para aprimorar a sensibilidade analítica do método BIA, diversos parâmetros operacionais foram ajustados, incluindo o potencial de oxidação aplicado, o volume de injeção e a taxa de dispensação.

A oxidação eletroquímica do TCS foi investigada sob condições hidrodinâmicas, variando-se o potencial de 0,0 V a 0,8 V. Conforme ilustrado na Figura 3 (A), observou-se um aumento da corrente a partir de 0,4 V. Embora o maior sinal tenha sido registrado em 0,8 V, o potencial de 0,6 V foi selecionado como o mais adequado para a análise. A Figura 3 (B) apresenta a variação de corrente em função do volume injetado, que foi ajustado entre 50 e 100 μL . Dentre os volumes testados, 100 μL proporcionou a maior intensidade de corrente, sendo, portanto, o volume escolhido para as análises subsequentes. A micropipeta utilizada nesse estudo possui 10 níveis de ajuste para a velocidade de dispensa, variando entre 1 e 10, o manual do fabricante não especifica a quantidade de volume dispensado por unidade tempo. A Figura 3 (C) demonstra a o estudo de variação de velocidade de dispensa. Entre os valores testados (5-10) o nível de velocidade escolhido foi o de 10 por apresentar uma maior corrente.

Figura 3. (A) Voltamograma hidrodinâmico do TCS obtidos a partir de valores de I_p em função dos potenciais aplicados (0,0 – 0,8 V) no sistema BIA. (B) Variação do volume de injeção de TCS e (C) Variação da velocidade de dispensa do TCS (5 – 10). Todas as medidas foram realizadas com μAuNp em tampão BR 0,05 mol L^{-1} , pH 8,00 e solução padrão de TCS 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$. ($n=3$)

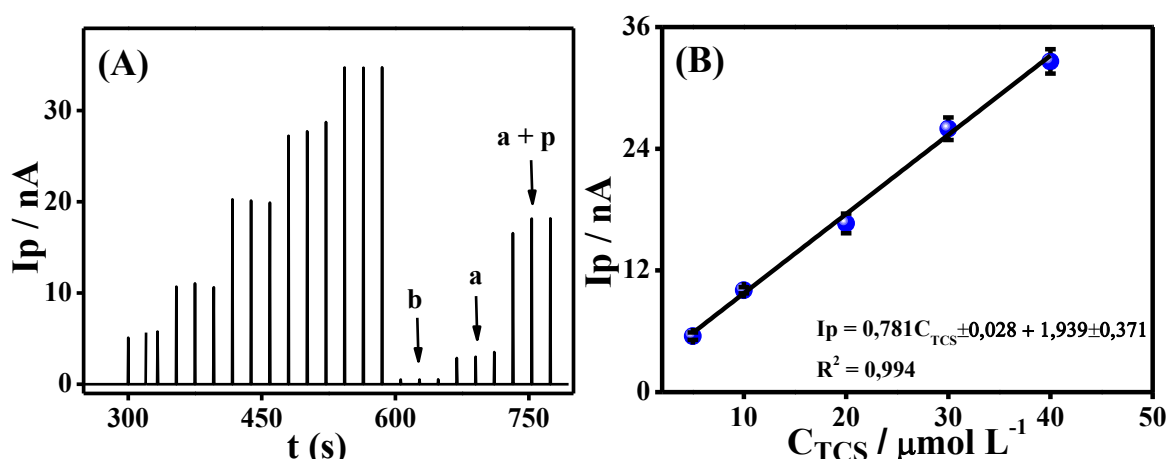


Fonte: autor

Utilizando a técnica de amperometria, foi determinada a faixa linear de trabalho, conforme ilustrado na Figura 4 (A e B). Observou-se que a linearidade foi mantida para as seguintes concentrações 5, 10, 20, 30, 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A relação linear foi descrita pela equação $I_p (nA) = 0,781C_{\text{TCS}} \pm 0,028 + 1,939 \pm 0,371$, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,994, indicando uma excelente correlação entre os dados. Além disso, foram estabelecidos os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), sendo $\text{LD} = 0,62 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $\text{LQ} = 2,07 \mu\text{mol L}^{-1}$. Esses limites foram calculados utilizando as equações $\text{LD} = 3 \cdot \text{Sb} / \alpha$ e $\text{LQ} = 10 \cdot \text{Sb} / \alpha$, onde

“Sb” representa o desvio padrão relativo ao branco e “ α ” o coeficiente angular da curva analítica.

Figura 4. (A) Amperograma obtido por meio de injeções em sistema BIA de soluções padrão de TCS em diferentes concentrações (5 - 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$), sendo (b) o branco: Tampão BR 0,05 mol L^{-1} ; pH 8,00, (a) amostra comercial de enxaguante bucal diluída 100x e (a+p) Diluição (100x) da amostra adicionado de 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TCS padrão. (B) Curva de calibração obtida a partir dos valores de I_p no sensor. ($n = 3$).



Fonte: autor

Os resultados obtidos para as determinações de TCS na amostra fortificada com padrão estão representados na Tabela 1, o que demonstra os resultados obtidos para os testes de adição e recuperação.

Tabela 1. Resultados da determinação de TCS em amostra de enxaguante bucal para o método proposto.

Amostra	TCS ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		Recuperação (%)
	Adicionado	Recuperado	
Enxaguante Bucal	15,00	14,62 \pm 0,89	97%

Fonte: autor

Com esse resultado observa-se que o valor de recuperação foi satisfatório apresentando uma recuperação de 97% o que demonstra a potencialidade do método proposto para a determinação de TCS em demais matrizes.

Conclusões

O presente estudo demonstrou a viabilidade do uso de microeletrodo de ouro nanoporoso para a determinação eletroquímica de Triclosan (TCS) utilizando análise por injeção em batelada com detecção amperométrica. Os resultados obtidos indicaram que o eletrodo modificado apresentou um aumento significativo na corrente de oxidação do TCS em relação ao microeletrodo de ouro convencional, evidenciando a eficácia da superfície nanoporosa na melhoria da resposta analítica. Dessa forma, foi possível construir uma curva analítica com uma faixa linear de 5 a 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e um limite de detecção igual a 0,62 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A eficiência do método foi confirmada por experimentos de recuperação, deixando evidente que este pode ser aplicado em mais amostras e para outros objetivos, por ter se demonstrado de baixo custo, rápido e fácil de operar.

Agradecimentos

Os autores agradecem às agências brasileiras: FAPEMA (00930/22); CNPq e CAPES (Finance Code 001) pelo apoio financeiro.

Referências

1. Hussain, S.; Motheo AJ; (2014) Comparação entre diferentes processos de degradação do antibiótico sulfametoxazol. Universidade de São Paulo
2. Zhang C, Kuang X, Zhou Y, et al (2019) A novel small molecule, ZY354, inhibits dental caries-associated oral biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 63:. <https://doi.org/10.1128/AAC.02414-18>
3. Amigun Taiwo A, Mustapha S, Jimoh Oladejo T, et al (2024) Occurrence, effects, detection, and photodegradation of triclosan and triclocarban in the environment: a review. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 104:4632–4650. <https://doi.org/10.1080/03067319.2022.2106860>
4. Jabłońska-Trypuć A (2023) A review on triclosan in wastewater: Mechanism of action, resistance phenomenon, environmental risks, and sustainable removal techniques. *Water Environment Research* 95:. <https://doi.org/10.1002/wer.10920>
5. Marques AC, Mariana M, Cairrao E (2022) Triclosan and Its Consequences on the Reproductive, Cardiovascular and Thyroid Levels. *International Journal of Molecular Sciences* 23:11427. <https://doi.org/10.3390/ijms231911427>
6. Morin-Crini N, Lichtfouse E, Fourmentin M, et al (2022) Removal of emerging contaminants from wastewater using advanced treatments. A review. *Environmental Chemistry Letters* 20:1333–1375. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01379-5>
7. Ceballos Magaña SG, Muñoz-Valencia R, Rodríguez-Pérez MA, et al (2023) EN PRENSA. High Performance Liquid Chromatography coupled Diode Array Detector (HPLC-DAD) method development and validation for the quantification of triclosan in toothpaste. *EN PRENSA. Revista Bio Ciencias* 10:. <https://doi.org/10.15741/revbio.10.e1410>
8. Pirogov A V., Staroverov SM (2024) Simultaneous Determination of Chlorhexidine, p-Chloroaniline, Triclosan, Dibutyl Phthalate, and Ionol in an Antibacterial Liquid by HPLC with Spectrophotometric Detection. *Moscow University Chemistry Bulletin* 79:41–49. <https://doi.org/10.3103/S0027131424010073>
9. Gallardo-Gómez Ú, Martín-Pozo L, Hidalgo F, et al (2024) Determination of endocrine disrupting chemicals in the body wall of *Holothuria tubulosa* by gas chromatography-tandem mass spectrometry. Use of this bioindicator for the study of marine pollution. *Microchemical Journal* 196:109589. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.109589>
10. Lowinsohn D, Bertotti M (2006) Electrochemical sensors: Fundamentals and applications in microenvironments. *Química Nova* 29:1318–1325. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422006000600029>
11. Jaramillo DXO, Sukeri A, Saravia LPH, et al (2017) Nanoporous Gold Microelectrode: A Novel Sensing Platform for Highly Sensitive and Selective Determination of Arsenic (III) using Anodic Stripping Voltammetry. *Electroanalysis* 29:2316–2322. <https://doi.org/10.1002/elan.201700301>
12. Roussel TJ, Jackson DJ, Baldwin RP, Keynton RS (2008) Amperometric Techniques. In: *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*. Springer US, Boston, MA, pp 39–47
13. Veloso WB, Almeida AT de FO, Ribeiro LK, et al (2022) Rapid and sensitivity determination of macrolides antibiotics using disposable electrochemical sensor based on Super P carbon black and chitosan composite. *Microchemical Journal* 172:106939. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106939>



14. Haššo M, Švorc L (2022) Batch injection analysis in tandem with electrochemical detection: the recent trends and an overview of the latest applications (2015–2020). *Monatshefte für Chemie* 153:985–1000. <https://doi.org/10.1007/s00706-022-02898-9>