

**DETECÇÃO DE ANTIBIÓTICOS UTILIZANDO LÍNGUA ELETRÔNICA À BASE DE ÓXIDO DE GRAFENO E DISSULFETO DE MOLIBDÊNIO**

M. H. M. Facure<sup>1,2,\*</sup>, R. Schneider<sup>1,2</sup>, R. S. Andre<sup>1</sup>, D. M. dos Santos<sup>1</sup>, D. S. Corrêa<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP*

<sup>2</sup> *Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ), Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Rod. Washington Luis, km 235, 13565-905, São Carlos, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: murilohmfacure@gmail.com*

**Resumo:** A grande utilização de antibióticos e seu inadequado descarte têm levado à acumulação destes medicamentos no meio ambiente, bem como ao desenvolvimento de bactérias super-resistentes à antibióticos. Para minimizar este problema, é de fundamental importância a utilização de técnicas capazes de fazer a detecção e determinação de antibióticos em amostras de águas. Neste trabalho, a detecção de dois antibióticos em meios aquosos foi realizada por um sensor do tipo língua eletrônica (LE). A LE foi composta de cinco unidades sensoriais à base de óxido de grafeno (OG) e dissulfeto de molibdênio (MoS<sub>2</sub>). As soluções dos nanomateriais foram preparadas e utilizadas para realizar a modificação dos eletrodos interdigitados de ouro através da técnica de drop-casting. Medidas de espectroscopia de impedância foram realizadas utilizando as soluções de antibióticos com diferentes concentrações, coletando-se valores de resistência e capacitância. O tratamento dos dados foi realizado pelo método de análise de componentes principais e a LE foi capaz de discriminar os diferentes tipos de antibióticos, bem como diferenciar as concentrações de cada solução analisada. Os resultados obtidos mostram que o sistema de língua eletrônica foi capaz de identificar traços de antibióticos investigados em soluções aquosas, se apresentando como alternativa em análises químicas ambientais.

**Palavras-chave:** antibióticos, língua eletrônica, dissulfeto de molibdênio, grafeno.

***DETECTION OF ANTIBIOTICS USING ELECTRONIC TONGUE BASED ON GRAPHENE OXIDE AND MOLYBDENUM DISULFIDE***

**Abstract:** The widespread use of antibiotics and their improper disposal have caused the accumulation of this type of drug medication in the environment, as well as the development of antibiotic-resistant bacteria. The use of techniques capable of detecting and determining antibiotics in water samples is of fundamental importance to avoid or minimize such a problem. In this work, an electronic tongue (e-tongue) was employed for the detection of two antibiotics in aqueous media. The e-tongue was composed of sensing units based on graphene oxide and molybdenum disulfide. Nanomaterials solutions were prepared and used to modify the gold interdigitated electrodes by the drop-casting technique. Impedance spectroscopy measurements were performed using antibiotic solutions with different concentrations, collecting resistance and capacitance data. The data treatment was performed by the principal component analysis and the e-tongue was able to discriminate the different types of antibiotics, as well as to differentiate the concentrations of each solution analyzed. The results show that the system is able to identify traces of antibiotics in aqueous solutions, representing an alternative in chemical environmental analyses.

**Keywords:** antibiotics, electronic tongue, molybdenum disulfide, graphene.

## 1. Introdução

A produção e a utilização de antibióticos pelos humanos vêm crescendo a cada ano. Tais medicamentos têm papel fundamental no controle da saúde pública, tratando infecções e até mesmo evitando a morte de pacientes infectados por bactérias. Porém, estudos recentes têm identificado quantidade excessiva de antibióticos na natureza, acima de níveis considerados seguros. Após serem utilizados pelos seres humanos, esses medicamentos, que ainda possuem atividade, chegam ao meio ambiente onde acabam se acumulando. Como consequência, é possível ocorrer o desenvolvimento de cepas bacterianas com maior resistência a antibióticos. As bactérias se adaptam e evoluem, conseguindo resistir aos efeitos de alguns antibióticos que antes se mostravam efetivos (LI et al., 2016; SEIFRTOVÁ et al., 2009). Desta forma, a ausência de antibióticos capazes de tratar infecções causadas por bactérias resistentes poderá representar uma das maiores causas de morte em todo o mundo. Neste contexto, o desenvolvimento de técnicas viáveis e robustas para a detecção de resíduos de antibióticos é altamente desejado (QIAO et al., 2018).

Materiais bidimensionais (2D) têm sido cada vez mais estudados desde a obtenção do grafeno, ensejando sua exploração em diversas áreas (CHENG et al., 2017; NOVOSELOV et al., 2004). Dentro dessa classe, materiais à base de grafeno e do dissulfeto de molibdênio têm sido combinados, resultando em materiais híbridos que apresentam melhores propriedades devido à efeitos sinérgicos (SUN et al., 2019). Pelo fato de apresentarem uma alta razão área superficial/volume e propriedades de condutividade elétrica, além de sítios ativos e características morfológicas para reconhecimento de analitos específicos, tais compostos têm resultado em excelentes performances quando utilizados em plataformas sensoriais (KUMAR et al., 2015).

A língua eletrônica (LE) é um instrumento analítico usualmente composto por unidades sensoriais não específicas, de baixa seletividade, mas que utilizam o conceito de seletividade global na identificação e classificação de líquidos de composição complexa. A LE pode ser utilizada para o reconhecimento e detecção de diferentes espécies em solução através de métodos quimiométricos adequados (VLASOV et al., 2005). Neste trabalho, uma LE foi desenvolvida para análise de antibióticos em soluções. Óxido de grafeno (OG) e dissulfeto de molibdênio ( $\text{MoS}_2$ ) foram utilizados na obtenção das unidades sensoriais da LE para detectar e diferenciar antibióticos em soluções de concentrações nanomolares.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Língua Eletrônica

O OG foi sintetizado através do método de Hummers modificado (CHEN et al., 2013). O  $\text{MoS}_2$  foi obtido da Sigma-Aldrich. Soluções aquosas de partida ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) de OG e  $\text{MoS}_2$  foram obtidas esfoliando os materiais em pó em água ultrapura. Eletrodos interdigitados de ouro fabricados por fotolitografia foram utilizados para a obtenção das unidades sensoriais. Cinco soluções foram preparadas para modificação dos eletrodos através da técnica de drop-casting:  $\text{MoS}_2$  ( $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ ), OG ( $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ ),  $\text{MoS}_2$ -OG (1:3) ( $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ : $0,75 \text{ mg mL}^{-1}$ ),  $\text{MoS}_2$ -OG (1:1) ( $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$ : $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e  $\text{MoS}_2$ -OG (3:1) ( $0,75 \text{ mg mL}^{-1}$ : $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ ). Todas as soluções foram preparadas diluindo-se as soluções de partidas até as concentrações desejadas. Após o preparo, as soluções foram colocadas em ultrassom de banho por 15 minutos. Em seguida, foi realizada a modificação dos eletrodos.

Dois antibióticos foram analisados: cloxacilina benzatina e eritromicina. Foram preparadas soluções de  $0,5 \text{ nmol L}^{-1}$ ,  $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$  e  $5,0 \text{ nmol L}^{-1}$  de cada antibiótico em tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,5). As medidas foram realizadas em triplicadas e coletadas após o tempo de estabilização das unidades sensoriais com as soluções analisadas.

Medidas de espectroscopia de impedância foram realizadas utilizando um analisador de impedância (Solartron 1260 A). A frequência foi varrida de 1 Hz a 1 MHz aplicando-se um potencial constante de 50 mV. Dados de capacitância e resistência foram coletados e o tratamento dos dados foi realizado pela análise de componentes principais.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Caracterização físico-química

A obtenção das soluções utilizadas na modificação dos eletrodos foi confirmada pela espectroscopia na região de UV-vis. Na Fig. 1 são apresentados os espectros de cada solução.

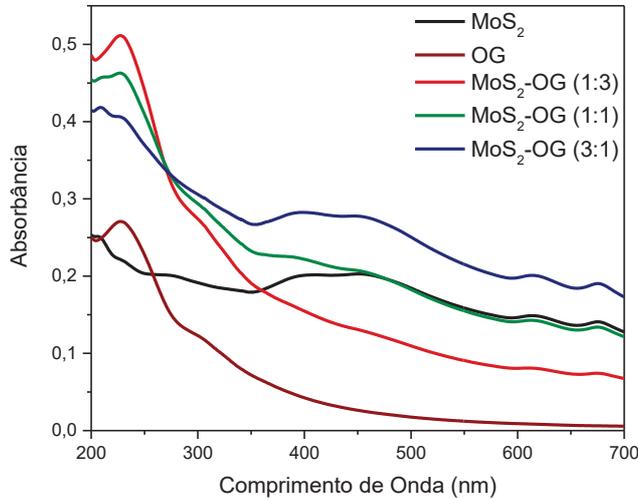


Figura 1. Espectroscopia de UV-vis das soluções de MoS<sub>2</sub>, OG e dos nanocompósitos de MoS<sub>2</sub>-OG.

No espectro da solução de MoS<sub>2</sub>, é possível observar dois picos em 618 nm e 676 nm. A absorção de luz na região de radiação visível indica o aparecimento de um gap direto de energia e, conseqüentemente, do sucesso na esfoliação do material em água (LIU et al., 2013; WU et al., 2017). O espectro da solução de OG apresenta uma banda por volta de 300 nm e um pico em 230 nm referentes respectivamente às transições n-π\* das ligações C = O e π-π\* das ligações C = C dos anéis aromáticos características do óxido de grafeno (TRUSOVAS et al., 2016). Os espectros das soluções dos compósitos apresentam os picos característicos de ambos os materiais. É possível perceber ainda que a intensidade da absorbância referente a cada um dos materiais (OG e MoS<sub>2</sub>) é proporcional à quantidade presente desse material na solução do nanocompósito.

#### 3.2. Medidas na Língua Eletrônica

Os antibióticos cloxacilina benzatina e eritromicina foram analisados na LE. Foram feitas soluções de 0,5 nmol L<sup>-1</sup>, 1,0 nmol L<sup>-1</sup> e 5,0 nmol L<sup>-1</sup> de cada antibiótico. A Fig. 2 mostra o gráfico obtido pela análise de componentes principais utilizando os dados de capacitância medidos na frequência de 1 kHz.

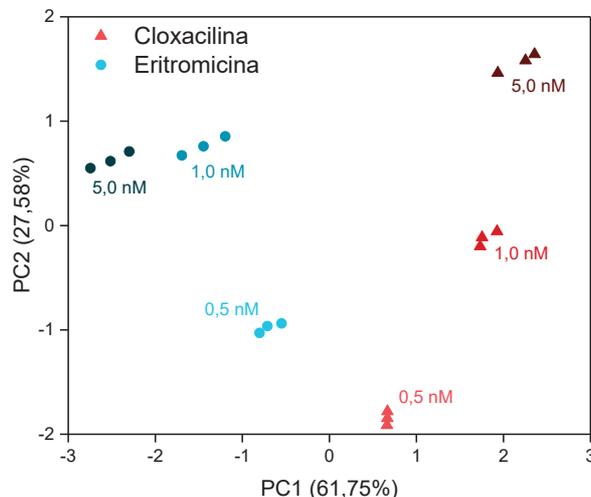


Figura 2. Gráfico da análise das soluções de antibióticos para as respostas de capacitância coletadas em 1 kHz.

A partir dos tratamentos dos dados, é possível perceber que a LE proposta foi capaz de diferenciar os tipos de antibióticos, além de discriminar soluções do mesmo antibiótico com concentrações distintas, na faixa de nanomolar. O gráfico reúne 89,33% (PC1+PC2) da variância total coletada pela LE, e a proximidade dos pontos referentes à mesma solução indica uma alta reprodutibilidade das medidas.

A performance da LE proposta pode ser atribuída a escolha dos materiais empregados na composição das unidades sensoriais. Os materiais 2D escolhidos possuem afinidade com a estrutura dos antibióticos analisados, além de possuírem sítios ativos (funcionalidades de oxigênio em sua superfície) que auxiliam na interação dos materiais com o analito. Os compósitos também apresentaram propriedades elétricas adequadas para medidas capacitivas.

#### 4. Conclusões

Óxido de grafeno e dissulfeto de molibdênio foram utilizados na composição das unidades sensoriais de uma língua eletrônica. A LE foi utilizada na análise de soluções aquosas de dois antibióticos, sendo capaz de diferenciá-los e distinguir concentrações nanomolares dos mesmos antibióticos. A LE proposta representa uma alternativa na análise de fármacos em soluções aquosas.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (processos: 2017/10582-8, 2018/18468-2, 2016/23793-4 e 2017/20973-4), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao MCTI-SisNano e à Embrapa.

#### Referências

- CHEN, J. et al. An improved Hummers method for eco-friendly synthesis of graphene oxide. **Carbon**, v. 64, n. 1, p. 225–229, 2013.
- CHENG, M. et al. A facile electrochemical sensor based on well-dispersed graphene-molybdenum disulfide modified electrode for highly sensitive detection of dopamine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 786, p. 1–7, 2017.
- KUMAR, N. A. et al. Graphene and molybdenum disulfide hybrids: synthesis and applications. **Materials Today**, v. 18, n. 5, p. 286–298, 2015.
- LI, J. et al. Occurrence and removal of antibiotics and the corresponding resistance genes in wastewater treatment plants: effluents' influence to downstream water environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 6826–6835, 2016.
- LIU, Y. D. et al. Preparation, characterization and photoelectrochemical property of ultrathin MoS<sub>2</sub> nanosheets via hydrothermal intercalation and exfoliation route. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 571, p. 37–42, 2013.
- NOVOSELOV, K. S. et al. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. **Science**, v. 306, p. 666–669, 2004.
- QIAO, L. et al. Carbon-Dots-Based Lab-On-a-Nanoparticle Approach for the Detection and Differentiation of Antibiotics. **Chemistry: A European Journal**, v. 24, p. 4703–4709, 2018.
- SEIFRTOVÁ, M. et al. An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 649, p. 158–179, 2009.
- SUN, T. et al. Electrochemical sensor sensitive detection of chloramphenicol based on ionic-liquid-assisted synthesis of de-layered molybdenum disulfide / graphene oxide nanocomposites. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 49, n. 3, p. 261–270, 2019.
- TRUSOVAS, R. et al. Recent Advances in Laser Utilization in the Chemical Modification of Graphene Oxide and Its Applications. **Advanced Optical Materials**, v. 4, n. 1, p. 37–65, 2016.
- VLASOV, Y. et al. Nonspecific sensor arrays (“electronic tongue”) for chemical analysis of liquids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 77, n. 11, p. 1965–1983, 2005.
- WU, S. et al. High visible light sensitive MoS<sub>2</sub> ultrathin nanosheets for photoelectrochemical biosensing. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 92, p. 646–653, 2017.