

Trabajo completo

Detección de residuos de quinolonas sobre electrodos modificados con bismuto en muestras ambientales mediante voltametría de redisolución anódica

RECIBIDO: 26/07/2016

REVISION: 10/09/2016

ACEPTADO: 19/09/2016

Laurenti, R. B. • Silvia Raquel, Hernández, S. R. • Kergaravat, S. V.

Laboratorio de Sensores y Biosensores (LSB). Química Analítica I. Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas (FBCB). Universidad Nacional del Litoral (UNL). Santa Fe. Argentina. Ciudad Universitaria. Paraje el Pozo. 3000. Tel: 0342-4575206 (int 187).

E-mail: skergaravat@fbc.unl.edu.ar

RESUMEN: La ciprofloxacina, es la quinolona de segunda generación más utilizada, a nivel nacional y mundial, en medicina humana y veterinaria. Esta al ser absorbida, es excretada casi sin metabolizar, en leche, orina y otras muestras biológicas, pudiendo así ingresar al medio ambiente. La presencia de residuos de quinolonas, en aguas de consumo humano puede ocasionar problemas de resistencia a dichos fármacos. Las técnicas de detección utilizadas para su determinación incluyen cromatografía, espectrofotometría, fluorimetría y electroquímica. Dentro de esta última, la voltametría de redisolución anódica, utilizando electrodos modificados con mercurio, ha permitido la detección de trazas de quinolonas en muestras alimenticias. El presente trabajo consistió en el desarrollo de un

método electroquímico para la detección sensible, simple y rápida de residuos de ciprofloxacina en muestras ambientales basado en la voltametría de redisolución anódica, utilizando electrodos modificados con bismuto en lugar de mercurio, con la finalidad de disminuir el costo y la toxicidad.

PALABRAS CLAVES: ciprofloxacina, electroquímica, voltametría de redisolución anódica, bismuto.

SUMMARY: *Detection of quinolone residues on bismuth modified electrodes in environmental samples by anodic stripping voltammetry.*

Ciprofloxacin is second-generation quinolone most used at national and global levels in human and veterinary medicine.

When is absorbed, it is excreted without being metabolized in milk, urine and other biological samples, thus has the possibility of entering in the environment. The presence of quinolone residues in water for human consumption can cause problems of resistance to these drugs. The detection techniques used for its determination include chromatography, spectrophotometry, fluorimetry and electrochemistry. Within the latter, the anodic stripping voltammetry, using

mercury modified electrodes, has allowed the sensitive detection of quinolones at trace levels in food samples. In this work, electrochemical method for the sensitive, simple and rapid detection of residues of ciprofloxacin in environmental samples was developed based on anodic stripping voltammetry with bismuth modified electrodes for decreasing cost and toxicity.

KEY WORDS: ciprofloxacin, electrochemistry, anodic stripping voltammetry, bismuth.

Introducción

Las quinolonas son antibióticos sintéticos ampliamente disponibles en el mercado, utilizados en medicina veterinaria y humana (1). En Argentina, ciprofloxacin, norfloxacin, danofloxacin y enrofloxacin son las más utilizadas en animales (2); mientras que a nivel mundial, ciprofloxacin es la quinolona mayoritariamente prescrita, seguida por ofloxacin, levofloxacin, lomefloxacin, norfloxacin, sparfloxacin, clinafloxacin, entre otras (3). Debido a la amplia disponibilidad y utilización tanto en medicina humana como veterinaria, ciprofloxacin se seleccionó como quinolona modelo para el desarrollo del presente trabajo.

Los fármacos activos o emergentes, junto con los productos de cuidado personal y cosméticos, debido a su uso intensivo y ampliamente extensivo, ingresan al ambiente cada año en una cantidad, que se estima es similar al total de plaguicidas utilizados durante el mismo período (4). Entre las fuentes de contaminación más significativas se encuentran: los antibióticos y las sustancias empleadas como aditivos alimentarios para incrementar el crecimiento

de animales (por ejemplo, en las piscifactorías); los residuos que generan los humanos, ya sea a través de su excreción o por su indebido uso y desecho; los vertidos de residuos hospitalarios en las redes urbanas o de alcantarillado; los vertidos de las industrias farmacéuticas al medio ambiente (5), pudiéndose así, acumular y llegar a las aguas superficiales y subterráneas, produciendo impactos principalmente sobre hidrósfera, geósfera y atmósfera, y generando consecuencias sobre los seres vivos. Este hecho junto con las otras fuentes de contaminación señaladas, pueden dar lugar a concentraciones locales altas que podrían afectar a los organismos vivos y ecosistemas. Estas sustancias se encuentran en los ambientes generalmente en el orden de los ng L^{-1} (ppt) y $\mu\text{g L}^{-1}$ (ppb) (3,6,7). Por todas estas razones, algunos fármacos, dentro de los cuales se encuentra la ciprofloxacin, son considerados "Contaminantes emergentes" (8), cuyas descargas no son cuantificables, pero su impacto sobre los ecosistemas es crónico y de grave repercusiones para la salud pública mundial (6). Lamentablemente, aún falta información sobre la

presencia, destino, impacto y efectos tóxicos que podrían generar estos fármacos, así como también, es escaso el conocimiento sobre métodos de detección a niveles trazas y remoción de los mismos en el ambiente.

Dentro de los métodos clásicos de detección de quinolonas en muestras alimentarias y ambientales se encuentran: cromatografía líquida, electroforesis capilar, fluorescencia, espectrometría de masa, inmunosensores y biosensores (3). Los métodos cromatográficos tienen inconvenientes relacionados con sus costos de implementación (equipamiento, capacitación técnica, infraestructura de laboratorios, costo por análisis, tiempo entre la recolección y el resultado); destacando la dificultad de analizar grandes volúmenes de muestras en tiempos reducidos, indispensable para llevar a cabo programas de vigilancia y controles efectivos, o el requerimiento de tratamientos de muestra laboriosos y equipos costosos (9). En los últimos años, las características de los métodos electroquímicos han sido ampliamente estudiadas, siendo la voltametría de redisolución una técnica rápida, económica, sencilla y más sensible que otras técnicas electroquímicas. Dentro de las aplicaciones de dichas técnicas, se han encontrado desarrollos destinados a la detección de quinolonas en muestras de sangre (10), alimentos (11), orina y tabletas comerciales (12). Con una mínima preparación de las muestras, la voltametría de redisolución es capaz de identificar y cuantificar componentes traza desde 10^{-5} hasta 10^{-9} mol L^{-1} con una excelente selectividad y sensibilidad (13,14). Convencionalmente, estas técnicas voltamétricas se realizan utilizando electrodos de mercurio, los cuales implican un grave riesgo tanto para la salud humana

como para el medioambiente debido a su alta toxicidad. En este sentido, el reemplazo de mercurio por bismuto ofrece las mismas ventajas analíticas para la voltametría, pero con menor costo y menor toxicidad, lo cual permite el desarrollo de metodologías amigables con el medio ambiente, siguiendo la tendencia de los principios de la "química verde" (15). Varios autores señalan las ventajas del uso de electrodos modificados con bismuto para la detección de metales pesados (16), aunque no se han encontrado aplicaciones de dichos electrodos en la determinación de quinolonas.

Considerando lo anterior, la tendencia en el desarrollo de nuevos sensores y biosensores electroquímicos en el monitoreo ambiental, es economizar el número de pasos en un protocolo de análisis y buscar técnicas que ofrezcan una rápida obtención de la señal analítica. Además estos dispositivos requieren de un instrumental económico, con posibilidades de miniaturización y traslado de los mismos para análisis de las muestras en tiempo real.

El objetivo del presente trabajo fue el desarrollo de un método electroquímico para detectar residuos de quinolonas en muestras ambientales, basado en una técnica de voltametría de redisolución anódica (VRA) sobre electrodos modificados con bismuto.

Materiales y Métodos

Instrumentación: Para las lecturas electroquímicas se utilizó un analizador voltamétrico Epsilon BAS, Bioanalytical Systems Inc. (West Lafayette Indiana, USA), en una celda electroquímica constituida de tres electrodos: compósito grafito: barniz serigráfico (50:50) como electrodo de trabajo (GBC); platino como electrodo auxiliar y

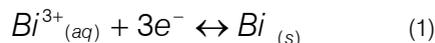
Ag/AgCl en solución saturada de KCl como electrodo de referencia (Orion 92-02-00). Para la preparación de las soluciones reguladoras se utilizó un Potenciómetro ORION modelo 710 con electrodo de vidrio. Para la determinación de la turbidez en la muestra de agua superficial se utilizó un Espectrofotómetro UV-VIS Lambda 20 de Perkin-Elmer.

Reactivos: Todos los reactivos utilizados en el presente trabajo fueron de grado analítico. Como reactivos específicos se requirió: nitrato de bismuto: $(\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$ cristalizado en caliente, provisto por Sigma-Aldrich y ciprofloxacina como clorhidrato: ciprofloxacina HCl, provisto por Chemo Group - Romikin S.A. Como medio de reacción se utilizó una solución reguladora de ácido acético/ acetato de sodio (NaAc/HAc) 0,1 M con NaCl 0,1 M a pH = 5,0 y pH = 3,81.

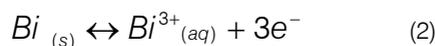
Caracterización electroquímica de la interacción bismuto-ciprofloxacina: Se evaluó el comportamiento electroquímico de la interacción bismuto-ciprofloxacina, para lo cual, se analizó 1 mM de ciprofloxacina en la celda electroquímica de 5 ml, sobre los electrodos GBC con un film de bismuto electrodepositado. Las lecturas se realizaron mediante la técnica de voltametría cíclica, en un rango de potencial desde -1000 a 1200 mV a una velocidad de 100 mV s⁻¹.

Determinación electroquímica de ciprofloxacina: La técnica electroanalítica utilizada fue la VRA sobre electrodos GBC modificados con bismuto. En la primer etapa, para la electrodeposición de bismuto sobre los GBC se aplicaron las siguientes condiciones: potencial aplicado (Ed): -1278 mV y tiempo de deposición (Td): 265 s. La concentración de bismuto a depositar fue de 1 ppm y el medio de reacción fue la solución reguladora a pH = 3,81, cuyo poten-

cial de bibliografía es $E^\circ = 0,308 \text{ V}$ (17), siguiendo la siguiente semireacción indicada en la Ecuación (1):



En la segunda etapa, basada en la etapa de redisolución (coincidentemente con la detección) se realizó mediante la técnica de voltametría de onda cuadrada (VOC), en donde se produjo la reacción indicada en la siguiente semireacción de la Ecuación (2):



Se registraron los voltamogramas de redisolución en presencia y ausencia de ciprofloxacina a diferentes concentraciones. La diferencia de ambas respuestas, fue la señal analítica utilizada para relacionar con la concentración de ciprofloxacina en las muestras analizadas. Es importante aclarar que debido a que las corrientes medidas son de oxidación, tienen signo negativo por nomenclatura, por lo que a mayor concentración de ciprofloxacina se obtuvo menor señal analítica, pero una mayor magnitud en términos absolutos.

Curva de calibración de ciprofloxacina: Se elaboró experimentalmente una curva de calibración para ciprofloxacina, evaluando por triplicado seis concentraciones de la quinolona. Las cifras de mérito se calcularon a partir de los datos obtenidos en la curva de calibración siguiendo los protocolos que indica IUPAC (18). El límite de detección (LD) es tres veces la desviación estándar del blanco de la reacción

Precisión: La repetividad intra e inter-ensayo se evaluó mediante el análisis de la variabilidad de la respuesta obtenida en un día y en tres días, respectivamente. La repetividad intra-ensayo se realizó sobre la

respuesta de bismuto y sobre la de la diferencia bismuto y bismuto-ciprofloxacina a cuatro niveles de concentración (0,2, 0,4, 9 y 92,5 ppt); mientras que la repetitividad interensayo se evaluó para la respuesta de bismuto y de bismuto-ciprofloxacina al nivel de 1 ppt (zona central de la curva de calibración).

Efecto matriz: Para evaluar el efecto matriz, se recolectó una muestra de una fuente de agua superficial del Lago artificial del Parque de la Agricultura, en la ciudad de Esperanza (31°26'57,83" Sur; 60°55'10" Oeste) siguiendo el "Protocolo de Muestreo, Transporte y Conservación de Muestras de Agua con Fines Múltiples" del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (19) y un "Diseño de muestreo no probabilístico por conveniencia" según la clasificación de Sampieri Hernández y col. (20). Posteriormente, se acondicionó la muestra para lograr un pH y fuerza iónica similar a la de la solución reguladora de pH = 3,81 y se realizaron 4 diluciones seriadas en la misma, a partir de la muestra original, considerada como dilución 1 o sin diluir (M1): dilución 0,8 o 1/1,25 (M2); dilución 0,5 o 1/2 (M3); dilución 0,25 o 1/4 (M4); dilución 0,1 o 1/10 (M5). A cada una de estas soluciones (M1-5), se le estimó la turbidez mediante la determinación espectrofotométrica de la absorbancia a la longitud de onda de 254 nm (21). Finalmente, se procedió a evaluar la recuperación de ciprofloxacina (1 ppt), a partir de cada muestra (M1-5), en las condiciones optimizadas. Cada concentración del analito se evaluó por triplicado.

Exactitud: Se realizaron estudios de recuperación de ciprofloxacina a 1 ppt a partir de la matriz acuosa (M1), cuyas características fueron descritas anteriormente en "Efecto matriz", con un valor de absorbancia a 254 nm de 2,0. Se calcularon los valores de % de recuperación individuales, % de recuperación promedio y se aplicó como prueba de significancia t de Student ($\alpha = 0,05$) (22).

Resultados y Discusión

Caracterización electroquímica de la interacción bismuto-ciprofloxacina: En un ensayo preliminar, la voltametría cíclica (VC) permitió estudiar el electrodo con film de bismuto, y de su interacción con la ciprofloxacina. A partir de la Figura 1, se observa que el blanco de reacción (solución reguladora a pH = 5,0) no presenta picos de oxidación ni reducción en los rangos de potenciales evaluados. Mientras que, el electrodo con film de bismuto (1 mM) y la interacción bismuto-ciprofloxacina (1 mM) presentaron un pico de oxidación a potencial (E) = -149 mV y un pico de reducción a E = -629 mV. Estos valores sirvieron para definir el rango de barrido de potencial de la VRA (ver la sección siguiente). Las respuestas obtenidas fueron: intensidad de corriente (IC) oxidación de -12,3 y -22,2 μA para bismuto y bismuto-ciprofloxacina, respectivamente; e IC reducción de 9,5 y 19,4 μA , para bismuto y bismuto-ciprofloxacina, respectivamente.

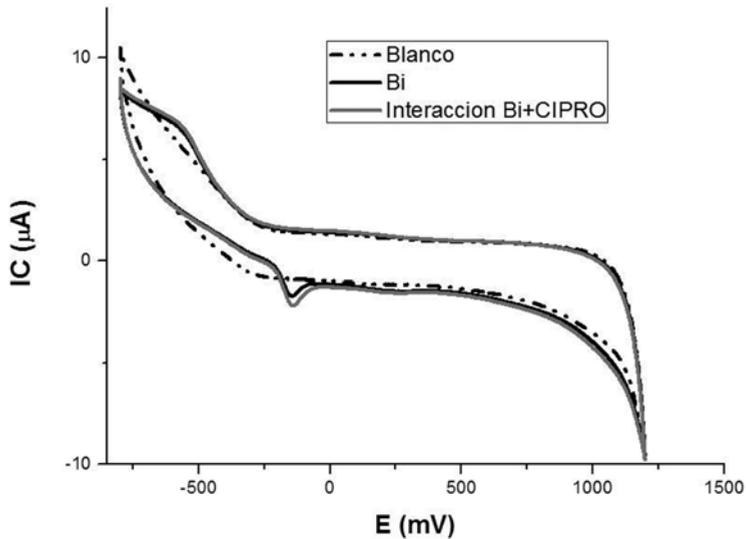


Figura 1. Voltametría cíclica del blanco (línea punteada negra), bismuto (línea sólida negra) e interacción bismuto–ciprofloxacina (línea sólida gris). Todas las lecturas se realizaron en solución reguladora a pH=5,0.

Técnica electroquímica para la determinación de ciprofloxacina: La VRA se seleccionó como técnica electroquímica para la detección de ciprofloxacina sobre los electrodos GBC modificados con bismuto debido a que es una técnica capaz de cuantificar componentes a nivel traza, con excelente sensibilidad y selectividad, y con una mínima preparación de la muestra (14). En una instancia preliminar, en la VRA se aplicaron los parámetros de la técnica (tales como potenciales y tiempos de electrodeposición) sugeridos por la bibliografía. La Figura 2 muestra los voltamogramas del blanco de reacción (solución reguladora a

pH = 5,0) sobre electrodos GBC desnudo y con el film de bismuto, y la interacción bismuto-ciprofloxacina (1 ppb). Analizando los voltamogramas, se puede observar que el blanco no presenta pico de oxidación, mientras que el bismuto y la interacción bismuto-ciprofloxacina, presentan un pico en el mismo potencial (-150 mV). Debido a que, la presencia de ciprofloxacina genera una mayor corriente de oxidación que la de bismuto de manera individual, se deduce a partir de la evidencia que la interacción bismuto-ciprofloxacina favorece la oxidación desde Bi^0 a Bi^{+3} , aumentando la diferencia de señal electroquímica.

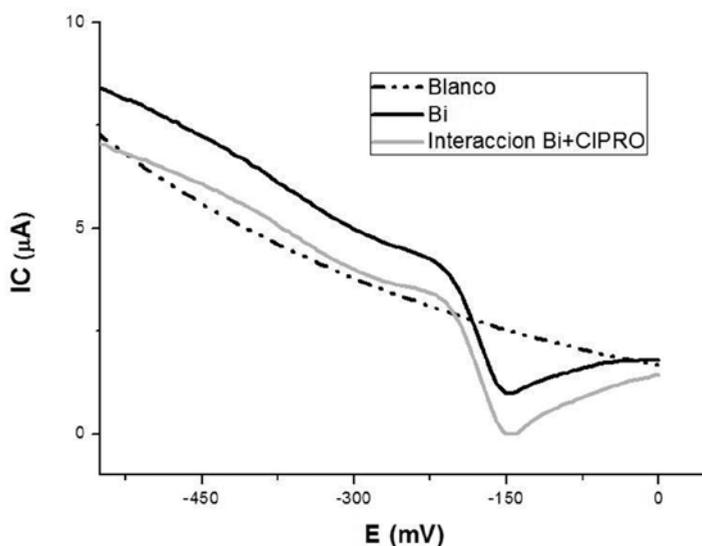
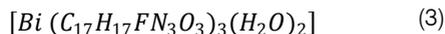


Figura 2. Voltametría de redisolución del blanco (línea punteada negra), bismuto (línea sólida negra) e interacción bismuto-ciprofloxacina (línea sólida gris). Todas las lecturas se realizaron en solución reguladora a pH=5,0.

Esta técnica, entonces, permitió la detección de la diferencia de señal electroquímica del electrodo con film de bismuto en presencia y ausencia de ciprofloxacina (ΔIC). La presencia de la quinolona produce un aumento de la diferencia de señal analítica, evidenciando que existe una interacción. Esto podría deberse a que tal como lo mencionan algunos trabajos (23,24) el bismuto forma un complejo neutro con la ciprofloxacina. Según estos trabajos, las quinolonas pueden formar complejos con los metales, actuando como ligandos bidentados, unidentados o como ligandos puentes, por lo tanto estabilizando la especie oxidada y desplazando la reacción electródica en este sentido. La mayor estequiometría se encuentra en los complejos formados por el bismuto, formando una estructura estable y más potente, con una relación 1: 3 de bismuto: ciprofloxacina respectivamente, como se muestra en la siguiente Ecuación (3):



Curva de calibración de ciprofloxacina: Previamente, las condiciones experimentales aplicadas se optimizaron mediante herramientas quimiométricas (datos no mostrados). Como resultado de este análisis, se obtuvieron las siguientes condiciones experimentales optimizadas: E_d de -1278 mV, T_d de 265 s, concentración de bismuto de 1 ppm, técnica de detección VOC y pH de la solución reguladora de 3,81. En estas condiciones, se elaboró una curva de calibración de la diferencia ΔIC en función del logaritmo de la concentración (expresada en molaridad) de ciprofloxacina, analizando seis niveles de concentración (Figura 3). El ajuste de la curva permitió obtener la siguiente regresión:

$$\Delta IC = -285 (\pm 22) - 20 (\pm 1) \log [CIPRO]_{(M)} \quad (n = 18).$$

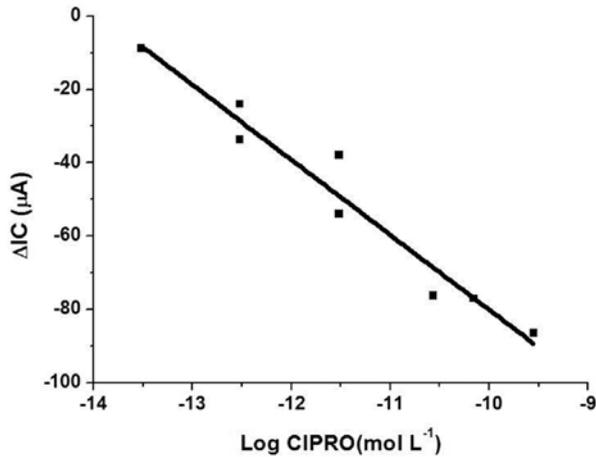


Figura 3. Curva de calibración. Respuesta (ΔIC) en función del logaritmo de las concentración de ciprofloxacina. cada concecntración se realizó por triplicado.

Las cifras de mérito representan una medida de la eficiencia o efectividad de la metodología estudiada. A través del análisis de la curva de calibración se obtuvieron los resultados que se exponen en la Tabla 1.

Tabla 1. Cifras de mérito obtenidas a partir de la curva de calibración de ciprofloxacina.

| Cifras de mérito | Resultado |
|---|-----------|
| Sensibilidad [μA (década concentración ¹) ⁻¹] | -20,49 |
| LD ² (ppt) | 0,2 |
| Rango Dinámico (ppt) | 0,2 a 92 |
| R ² | 0,94 |

¹ La concentración expresada en mol L⁻¹

² LD = 3 x DEBlanco, donde DEBlanco es la desviación estándar del blanco de la reacción

Las cifras de mérito muestran que la metodología posee una alta sensibilidad, con un LD en el orden traza (0,2 ppt), lo cual es muy beneficioso, debido a que, los antibióticos, entre los que se encuentra la ciprofloxacina, pertenecen a los contaminantes emergentes, los cuales se encuentran en el ambiente en muy bajos niveles (3,7). Comparando este LD con otros trabajos en donde se utiliza voltametría de redisolución como técnica electroquímica de detección, se obtiene que nuestro LD fue

menor que los obtenidos para la determinación de quinolonas en alimentos (10) y de enrofloxacin en fármacos y plasma (11), mediante voltametría de redisolución adsorptiva utilizando electrodos de mercurio; y del mismo orden de magnitud que el obtenido para 17 β -estradiol utilizando VRA y electrodos modificados con bismuto (25).

Precisión: Los resultados de repetividad intra-ensayo e inter-ensayo se observan en las Tablas 2 y 3.

Tabla 2. Repetividad intra-ensayo del método desarrollado

| Estadísticos | | Bismuto (n = 12) | Bismuto-ciprofloxacina (1 ppt) (n = 9) |
|--------------|-----------------------------------|---------------------|---|
| Intra-ensayo | Promedio (μA) | -75 ¹ | -131 ² |
| | DE ² (μA) | 11 | 33 |
| | %CV (n = 3) | 14 | 25 |

¹ Respuesta neta de bismuto. ² Respuesta de la diferencia de bismuto en presencia y ausencia de ciprofloxacina (ΔIC).

² DE = Desviación estándar

Tabla 3. Repetividad inter-ensayo del método desarrollado

| Estadísticos | | Bismuto (n = 4) | | | Bismuto-ciprofloxacina (n = 3) | | | | |
|--------------|-----------------------------------|------------------------|------------------|------------------|--------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|------|
| | | [ciprofloxacina] (ppt) | | | | | | | |
| | | Días | 1 | 2 | 3 | 0,2 | 0,4 | 9,0 | 92,5 |
| Inter-ensayo | Promedio (μA) | -73 ¹ | -72 ¹ | -80 ¹ | -20 ² | -36 ² | -145 ² | -166 ² | |
| | DE ² (μA) | 12 | 7 | 14 | 6 | 8 | 24 | 38 | |
| | %CV | 16 | 10 | 17 | 29 | 21 | 16 | 23 | |

¹ Respuesta neta de bismuto. ² Respuesta de la diferencia de bismuto en presencia y ausencia de ciprofloxacina (ΔIC).

² DE = Desviación estándar

La repetividad del método fue aceptable, debido a que los porcentajes de coeficiente de variación (%CV) obtenidos fueron menores al 30%, valor máximo sugerido por la normativa AOAC (26), para concentraciones de analito de 1 ppb.

Efecto matriz: Para evaluar el efecto matriz de una muestra de agua, se procedió a determinar el porcentaje de recuperación de ciprofloxacina, adicionando una

concentración a nivel medio de la curva de calibrado obtenida en la sección anterior (1 ppt), en las diferentes soluciones preparadas a partir de la muestra. Además a cada solución se le estimó la turbidez a través de la medida de absorbancia a 254 nm. La Figura 4 representa el porcentaje de recuperación de ciprofloxacina y el valor de absorbancia obtenido para cada solución muestra (M1-5).

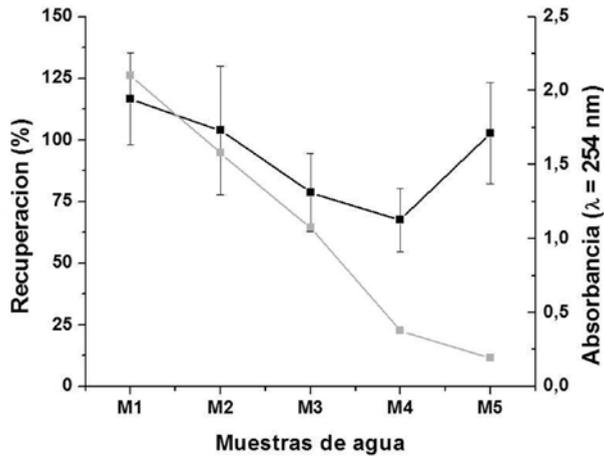


Figura 4. Recuperación de ciprofloxacina (negro) y absorbancia (gris) en cada solución de muestra ensayada. Cada punto se evaluó por triplicado.

Se logró determinar exitosamente a través del estudio de estos dos parámetros, que el método desarrollado no tiene efecto matriz a partir de la muestra de agua analizada, debido a que los % de recuperación de ciprofloxacina en una concentración de 1 ppt estuvieron en el rango entre 75 y 100 %, valores mayores a los mínimos permitidos por la normativa AOAC (26) para una concentración de analito de 1 ppb (concentración mayor a la estudiada). Esto indica que la muestra de agua puede analizarse directamente, sin la necesidad de pretratamiento al menos para muestras con una absorbancia de 2,0. Además, a partir de estos resultados, se puede estimar que la

metodología tiene buena selectividad por la quinolona evaluada, ya que no se ve interferida su detección por los otros componentes de la compleja matriz.

Exactitud: La Tabla 4 muestra que el porcentaje de recuperación fue superior al 96,9% e inferior al 116,7%. Para la prueba *t* de Student se puede apreciar que el valor calculado es menor que el tabulado. No se rechaza, entonces, la hipótesis nula ($H_0: t_{\text{experimental}} < t_{\text{tabla}}$); es decir, no existe diferencia estadísticamente significativa entre los datos y el valor esperado de 100%, lo que indica una aceptable exactitud de la metodología desarrollada.

Tabla 4. Porcentajes de recuperación y prueba t de Student para la exactitud

| [Ciprofloxacina] (ppt) ¹ | Número de réplicas | Recuperación (%) |
|-------------------------------------|--------------------|------------------|
| 1 | 1 | 116,7 |
| | 2 | 103,9 |
| | 3 | 104,9 |
| | 4 | 112,2 |
| | 5 | 96,9 |
| Promedio | | 106,9 |
| Desviación estándar | | 7,7 |
| t experimental | | 2,009 |
| t tabla | | 2,78 |

¹Concentración de ciprofloxacina en la matriz acuosa M1

Conclusión

En este trabajo se logró desarrollar una metodología electroquímica para la detección de ciprofloxacina, utilizada como quinolona modelo y considerada un contaminante emergente, en muestras ambientales, mediante la técnica de VRA, sobre electrodos de trabajo modificados con film de bismuto. El reemplazo de mercurio, convencionalmente utilizado, por bismuto permitió desarrollar una metodología más amigable con el ambiente, es decir, tender a cumplir con los principios de la “Química Verde”.

En primer lugar, se evidenció un aumento de la diferencia de señal electroquímica (ΔI_C) entre la interacción bismuto-ciprofloxacina y la respuesta individual de bismuto; comprobando una relación directa de la diferencia de la señal electroquímica con la concentración de ciprofloxacina en las muestras analizadas. A partir de los resultados obtenidos con la curva de calibración para ciprofloxacina, se pudo concluir que la metodología presentó alta sensibilidad [$-20,49 \mu A$ (década $\text{mol L}^{-1})^{-1}$] y alto poder de detección de ciprofloxacina (0,2

ppt), lo cual es favorable debido a que los contaminantes emergentes generalmente se encuentran presentes en el ambiente en el orden de traza o ultra-traza. Además se obtuvieron resultados aceptables de precisión, exactitud y se comprobó la ausencia de efecto matriz en la muestra analizada.

Si bien, esta técnica se aplicó para ciprofloxacina, podría ser utilizada para la detección de otras quinolonas de estructura química similar. Esto representa una limitación, debido a que el dispositivo puede cuantificar a todas las quinolonas presentes en la matriz acuosa y no permite detectar a cada una de manera individual. Sin embargo, se presenta como un método útil de vigilancia de estos contaminantes emergentes en matrices ambientales. Además, esta metodología presenta también la posibilidad de transferir el desarrollo logrado a un sistema sencillo, miniaturizable y fácilmente transportable, lo que permitiría que sea utilizado, por un operario con una mínima capacitación, para determinaciones en tiempo real.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado por la Universidad Nacional del Litoral a través del Proyecto CAID 2011 501 201101 00042. Además los autores agradecen a Mario Delfino y Emiliano Chaves por el desarrollo de los electrodos de trabajo.

Referencias Bibliográficas

- Serra, H.A., 2008. Separata 2008. Vol.16.nº3. Disponible en: <http://www.montpellier.com.ar/separatas/sepQuinolonasFarmacologiaM.pdf>.
- Rubio, M.R.; Boggio, J.C., 2009. Farmacología veterinaria. 2º ed. Editorial de la Universidad Católica de Córdoba. Argentina.
- Andreu, V.; Blasco, C.; Picó, Y., 2007. Analytical strategies to determine quinolone residues in food and the environment. Trends Anal. Chem. **26**: 534-556.
- Filho, R.W.R.; Barreiro, J.C.; Vieira, E.M.; Cass, Q.B., 2007. Fármacos, ETEs e corpos hídricos. Revista Ambiente y Agua- An International Journal of Applied Science. **2**: 54-6.
- Martinez Carballo, E.; Gonzales Barreiro, C.; Sharf S.; Gans O., 2007. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. Environ. Pollut. **148**: 570-579.
- Jimenez Cartajena, C., 2011. Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmacéuticos. Revista Lasallista de investigación. **2**: 143-150.
- Seifrtová, M.; Naváková, L.; Lino, C.; Pena, A.; Solich, P., 2009. An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. Anal. Chim. Acta. **649**: 158- 179.
- Lombardo – Aguí, M.; Cruces- Blanco, C.; García- Campaña, A.M.; Gámiz – Gracia, L., 2014. Multiresidue analysis of quinolones in water by ultrahigh performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry using a simple and effective sample treatment. J. Sep. Sci. **37**: 2145-2152.
- Talero Pérez, V. Y.; Medina O. J.; Roza Nuñez W., 2014. Técnicas Analíticas contemporáneas para la identificación de residuos de sulfonamidas, quinolonas y cloranfenicol. Universitas Scientiarum. **19**: 11-29.
- Ensaifi A.A.; Khayamian T.; Tai M., 2009. Determination of ultra trace amount of enrofloxacin by adsorptive cathodic stripping voltammetry using cooper (II) as an intermediate. Talanta **78**: 942-948.
- Zhong, Y. S.; Yong, N. N.; Kokot S., 2012. Application of differential pulse stripping voltammetry and chemometrics for the determination of three antibiotic drugs in food samples. Chinese Chem. Let. **23**: 339-342.
- Furlanetto S.; Gratteri P.; Pinzauti S.; Leardi R.; Dreassi E.; Santoni G., 1995. Design and optimization of the variables in the adsorptive stripping voltametric determination of rufloxacin in tablets, human plasma and urine. J. Pharmaceut. Biomed. **13**: 431-438.
- Batley, G. E.; Florence, T. M., 1974. An evaluation and comparison of some techniques of anodic stripping voltammetry. J. Electroanal. Chem. **55**: 23-43.
- Wang, J., 2001. Analytical Electrochemistry, 2nd ed. Wiley-VCH, New York, E.E.U.U.
- Tobiszewski, M.; Tsakovski, S.; Simenov, B.; Namiesnik, J., 2013. Application of multivariate statistics in assessment of green analytical chemistry parameters of analytical methodologies. Green Chem. **15**: 1615-1623.
- Kokkinos, C.; Economou, A., 2011. Disposable nafion-modified microfabricated bismuth-film sensors for voltammetric stripping analysis of trace metals in the presence of surfactants. Talanta. **84**: 696-701.
- Harris, D.C., (2001). Análisis Químico Cuantitativo. 2nd ed. Editorial Reverté S.A. Barcelona, España.
- Thompson, M.; Ellison, S.L.R.; Wood, R., 2002. Harmonized Guidelines for Single-Labora-

tory Validation of Methods of Analysis. Pure Appl. Chem. **74**: 835–855.

19. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), 2011. Protocolo de Muestreo, Transporte y Conservación de Muestras de Agua con Fines Múltiples (consume humano, abrevado animal y riego).

20. Sampieri Hernandez, C.; Fernandez Collado, C.; Baptista Lucio, P., 1997. Metodología de la investigación. Mc Graw Hill interamericana. México.

21. He, K.; Blaney, L., 2015. Systematic optimization of an SPE with HPLC-FLD method for fluoroquinolone detection in wastewater. J. Hazard. Mater. **282**: 96-105.

22. Miller, J.C. y Miller, J.N. (1993) *Estadística para Química Analítica*, 2nd ed, Addison-Wesley Iberoamericana, Delaware, Estados Unidos.

23. Shaikh, A.R.; Giridhar, R.; Megraud, F.; Ram Yadav, M., 2009. Metalloantibiotics: Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of bismuthfluoroquinolone complexes against *Helicobacter pylori*. Acta Pharm. **59**: 259–27.

24. Uivarosi V., 2013. Metal complexes of Quinolone antibiotics and their applications: An update. Molecules. **18**: 11153-11197.

25. Chaisuwan, N.; Xu, H.; Wu, G.; Liu, J., 2013. A highly sensitive differential pulse anodic stripping voltammetry for determination of 17 β -estradiol (E2) using CdSe quantum dots based on indirect competitive immunoassay. Biosens Bioelectron. **46**: 150-154.

26. AOAC., 1993. Method validation. Disponible en: http://www.labcompliance.com/methods/meth_val.htm