



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
GRUPO DE ELETROQUÍMICA E CORROSÃO



Luisa Célia Melo Pacheco

***DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA
PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM
AMOSTRAS DE ALIMENTOS E DE ÁGUAS NATURAIS***

Tese de Doutorado apresentada à
Comissão Julgadora do Programa de
Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal do Ceará, como
um dos requisitos para a obtenção do
título de Doutor em Química Analítica.

Orientadora: Prof. Dra. Adriana Nunes Correia

Co-Orientadora: Dra. Djenaine de Souza

Fortaleza – CE

Novembro de 2010

Luisa Célia Melo Pacheco

***DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA
PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM
AMOSTRAS DE ALIMENTOS E DE ÁGUAS NATURAIS***

Tese de Doutorado apresentada à Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química Analítica.

Orientadora: Prof. Dra. Adriana Nunes Correia

Co-Orientadora: Dra. Djenaine de Souza

Fortaleza – CE

Novembro de 2010

A 115167

T540
P12d

R 14013621

(CATIVO)

P12d Pacheco, Luísa Célia Melo

Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de resíduos de pesticidas em amostras de alimentos e de águas naturais / Luísa Célia Melo Pacheco. – Fortaleza. 2010.

173 f. ; il. color. enc.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Nunes Correia

Área de concentração: Química Analítica

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Depto. de Química Analítica e Físico-Química, Fortaleza, 2010.

Esta Tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química Analítica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

Luisa Célia Melo Pacheco

Tese aprovada em: 19/11/2010

Dra. Adriana Nunes Correia.
(Orientadora-UFC)

Dr. Gilberto Maia
(UFMS)

Dr. Pedro de Lima Neto
(UFC)

Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento
(UFC)

Dr. Sérgio Antonio Spínola Machado
(USP)

*À todas as pessoas que ousam sonhar. E
a Deus por permitir a concretização
destes sonhos...*

AGRADECIMENTOS

À Deus, minha fonte de fé e meu porto seguro na caminhada pela vida, pela saúde, força, perseverança, fé e esperança frente aos obstáculos diários enfrentados.

À UFC, ao Programa de Pós Graduação em Química e ao GELCORR, pela possibilidade da realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro concedido (processo: 473470/2006-3).

À Profa. Dra. Adriana Nunes Correia, pela orientação, pela participação e pela atenção a mim dedicada e também pelo crescimento profissional que me proporcionou durante esses seis anos de convivência. Obrigada por me ensinar que a perseverança e o trabalho dedicado são características básicas em um pesquisador. A você minha admiração e respeito.

À Dra. Djenaine de Souza, pela valiosa participação neste trabalho, como minha Co-Orientadora. Seus ensinamentos, além dos conhecimentos adquiridos, me possibilitaram um amadurecimento profissional e uma visão mais crítica da vida. Não posso deixar de citar meu agradecimento ao seu esposo, Roberto Pires, pela atenção com que me recebeu em São Carlos.

Ao Prof. Dr. Pedro de Lima Neto, sempre presente nessa minha caminhada, contribuindo sempre com valiosas discussões e sugestões.

Aos Prof. Dr. Sandro Thomaz Gouveia, Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento, Profa. Dra. Elisane Longhinotti, Prof. Dr. Gilberto Maia e Prof. Dr. Sergio A. S. Machado pelas valiosas discussões e sugestões.

Ao Prof. Dr. Sérgio Antonio Spinola Machado do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo em São Carlos – SP, por ter me recebido e me acolhido como um participante de seu grupo - Grupo de Materiais Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos (GMEME) - onde desenvolvi parte desse trabalho.

Ao GMEME e ao Dr. Giancarlo Salazar-Banda pelas análises de CLAE-UV.

Ao Laboratório de Análises para Certificação de Produtos do Cajú - LABCAJU/NUTEQ, especialmente à doutoranda Maria Aparecida L. Milhome e ao Prof. Ronaldo Ferreira do Nascimento, pelas análises de CG e amostras de águas a mim fornecidas.

À família GELCORR: Sandelir, Cristiane, Sâmeque, Wirley, Gustavo, Amanda, Fernandes, Gerson, Gustavo, Josenir, Júnior, Leandro, Luanna, Nathalie, Othon, Naftali, Rafael, Regilany, Alexandro, Régis, Roger, Thisiania, Allan, Vanessa, Thiago, Lemoel, pela convivência harmoniosa e alegre. Aos eletroanalíticos do GELCORR, Rafael, Wirley, Sâmeque, Cristiane, pela amizade e constante troca de informações e colaborações. E em especial aos amigos, Sanderlir e Rafael, pelo companheirismo, pelo incentivo e principalmente pela presença constante nas horas mais difíceis durante esses seis anos de Pós-Graduação.

À minha família, pela presença em todos os momentos de minha vida, pelo apoio incondicional, por acreditarem em mim, sempre me incentivando, estimulando, mas principalmente pela compreensão por todo meu stress nessa fase...

A todos que, mesmo não sendo citados, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

“Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha, pois cada pessoa é única para nós e nenhuma substitui a outra. Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, mas não se vai só, nem nos deixa só, leva um pouco de nós e deixa um pouco de si mesma. Essa é a mais bela responsabilidade de nossas vidas e a prova tremenda de que as almas não se aproximam por acaso”.

Charles Chaplin.

"Nada digno de valor pode ser conquistado com pouco interesse, com um coração fraco ou um esforço pela metade".

Isaac Barrow

RESUMO

Neste trabalho, foram desenvolvidas metodologias eletroanalíticas para, diquat, paraquat e clorpirifós, sobre diferentes superfícies eletródicas utilizando VOQ. Para diquat sobre AgSAE, observou-se a presença de dois picos de redução, em -0,56 V e em -1,00 V. Nas condições otimizadas, as melhores respostas foram observadas em $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹, com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. Considerando-se o pico em -0,56 V, curvas analíticas foram levantadas, e foram calculados LD = 9,98 µg L⁻¹ e LQ = 33,28 µg L⁻¹. A eficiência foi avaliada pela recuperação em eletrólito, obtendo-se valor de 99,78%. A precisão em termos de precisão intermediária apresentou RSD de 1,71%. A metodologia foi aplicada em água de rio e de batata, obtendo-se recuperação de 80,00 e 115,00%, respectivamente. Para diquat sobre EDDB, verificou-se a presença de dois picos de redução, em -0,6 V e em -1,0 V. As condições otimizadas foram observadas em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,05 mol L⁻¹, $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. Foram obtidos LD = 0,08 µg L⁻¹ e LQ = 0,19 µg L⁻¹, bem como recuperação de 88,30% em eletrólito de suporte. A precisão foi testada e expressa pela precisão intermediária com RSD = 2,24%. O método foi aplicado em amostras de sucos *in natura* de limão, laranja, tangerina e de abacaxi, em amostras de batata e de caldo de cana, com valores de recuperação entre 70,00 e 110,00%. Para Paraquat sobre EDDB, visualizou-se a presença de dois picos de redução, em -0,68 V e em -1,00 V. Após a otimização dos parâmetros, as melhores respostas foram observadas em $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹, $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$. Foram construídas curvas analíticas para o pico em -0,68 V e foram calculados LD = 0,04 µg L⁻¹ e LQ = 0,13 µg L⁻¹. A eficiência foi avaliada obtendo-se recuperação de 99,42%. A precisão em termos de precisão intermediária apresentou RSD 4,91%. O método foi aplicado em água de coco e em acerola, obtendo-se recuperação de 96,60% e 95,08%, respectivamente. Para clorpirifós sobre HMDE, observou-se a presença de um pico de redução em -1,10 V. Após otimização dos parâmetros, os melhores resultados foram obtidos em tampão BR 0,1 mol L⁻¹ pH 2, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{\text{acu}} = -0,4 \text{ V}$ e $t_{\text{acu}} = 60 \text{ s}$. Foram construídas curvas analíticas, e LD = 0,155 µg L⁻¹ e LQ = 0,518 µg L⁻¹ foram determinados, bem como recuperação em eletrólito de 91,57%. Para precisão intermediária, obteve-se RSD = 4,03%. A metodologia foi aplicada em água de rio e em suco de laranja, com recuperação de 91,87 % e de 77,51 % respectivamente. Em todas as metodologias desenvolvidas, foram obtidos baixos valores de LD e de LQ, recuperação entre 70,00-110,00% e precisão intermediária com RSD < 5,00%, mostrando que estas metodologias apresentam ótimas, sensibilidade, eficiência e precisão.

Palavras Chaves: Diquat, paraquat, clorpirifós, VOQ, AgSAE, EDDB, HMDE.

ABSTRACT

The objective of this work was the development of analytical procedures for three pesticides, diquat, paraquat and chlorpyrifos on different surfaces using SWV. When diquat was detected on AgSAE, it was observed the presence of two reduction peaks at -0.56 V and -1.00 V. Under optimized conditions, the optimized results were obtained in $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0.01 mol L⁻¹, with $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ and $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. Considering the peak at -0.56 V, analytical curves were constructed and were calculated with LOD = 9.98 $\mu\text{g L}^{-1}$ and LOQ = 33.28 $\mu\text{g L}^{-1}$. The methodology efficiency was evaluated obtaining a recovery in electrolyte of 99.78%, and the accuracy in terms of reproducibility showed a RSD of 1.71%. The methodology was applied in river water and potato samples, obtaining recovery values between 80.00 and 115.00% respectively. Using BDDE, it was verified the presence of two reduction peaks at -0.6 V and -1.0 V. The optimized conditions were obtained in $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0.05 mol L⁻¹ medium using $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ and $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. The analytical curves were obtained with LOD = 0.08 $\mu\text{g L}^{-1}$, LOQ = 0.19 $\mu\text{g L}^{-1}$ and recovery equals to 88.30%. The accuracy was tested and expressed with RSD = 2.24% of reproducibility. The methodology was applied in lemon, orange, tangerine and pineapple fresh juices, potato and sugar cane juice samples, with recovery values between 70.00 and 110.00%. When paraquat was detected on BDDE, it was observed two reduction peaks at -0.68 V and -1.00 V. After optimizing the experimental parameters, the results were obtained in $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0.01 mol L⁻¹ medium, using $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ and $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$. The analytical curves were constructed in the -0.68 V peak and the LOD and LOQ were calculated, such as 0.04 $\mu\text{g L}^{-1}$ and 0.13 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The methodology had an efficiency of 99.42%, and the accuracy in terms of reproducibility showed RSD of 4.91%. The method was applied to coconut water and acerola fresh juice, obtaining recovery values of 96.60% and 95.08%, respectively. When Chlorpyrifos was detected on HMDE, it was observed the presence of a reduction peak at -1.10 V. After optimization of the parameters, the results were obtained in BR buffer 0.1 mol L⁻¹ pH 2, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ and $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{\text{accu}} = -0.4 \text{ V}$ and $t_{\text{accu}} = 60 \text{ s}$. Analytical curves were constructed and calculated with LOD = 0.155 $\mu\text{g L}^{-1}$, LOQ = 0.518 $\mu\text{g L}^{-1}$, recovery of 91.57% and RSD = 4.03%. The methodology was applied in river water and orange juice samples with recovery of 91.87% and 77.51% respectively. In all developed methodologies, we obtained low values of LOD and LOQ, recovery between 70.00 to 110.00% and reproducibility below 5.00%, showing that, those methods had excellent sensitivity, precision and efficiency.

Keywords: Diquat, paraquat, chlorpyrifos, SWV, AgSAE, BDDE, HMDE.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xxi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Aspectos Gerais	1
2.2. Metodologias Empregadas em Análises de Pesticidas	4
1.3. Pesticidas	6
1.3.1. Bipiridílios:.....	7
1.3.1.1. Diquat.....	9
1.3.1.2. Paraquat.....	13
1.3.2. Organofosforados.....	19
1.3.2.1. Clorpirifós.....	20
1.4. Objetivos	24
1.4.1. Objetivo geral.....	24
1.4.2. Objetivos específicos.....	24
2. MATERIAIS E MÉTODOS	26
2.1. Célula Eletroquímica	26
2.2. Eletrodos	26
2.2.1. Eletrodos de trabalho.....	26
2.2.2. Eletrodo auxiliar.....	27
2.2.3. Eletrodo de referência.....	27
2.2.4. Eletrodo Sólido de Amálgama de Prata (AgSAE).....	27
2.2.4.1. Preparação.....	27
2.2.4.2. Caracterização.....	27
2.2.4.3. Ativação do AgSAE.....	28
2.2.5. Eletrodo de Diamante Dobado com Boro (EDDB).....	28
2.2.5.1. Dopagem.....	28
2.2.5.2. Ativação do EDDB.....	29
2.2.5.3. Estimativa da área eletroativa para EDDB.....	29
2.3. Reagentes e Soluções	30
2.3.1. Reagentes.....	30
2.3.2. Soluções.....	31

2.4. Instrumentação	31
2.5. Metodologia de trabalho.....	32
2.5.1. Diquat	33
2.5.1.1. Avaliação dos parâmetros experimentais e voltamétricos	33
2.5.1.2. Desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de diquat sobre AgSAE	34
2.5.1.3. Aplicação da metodologia desenvolvida para determinação de diquat sobre AgSAE.....	36
2.5.1.3.1. Determinação de diquat em amostras de águas naturais.....	36
2.5.1.3.2. Determinação de diquat em amostras de batatas	37
2.5.1.4. Desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de diquat sobre EDDB.....	37
2.5.1.5. Aplicação da metodologia desenvolvida para determinação de diquat sobre EDDB	37
2.5.1.5.1. Determinação de diquat em amostras de batatas	37
2.5.1.5.2. Determinação de diquat em amostras de limão, laranja, tangerina, abacaxi e caldo de cana	38
2.5.1.6. Determinação de diquat por cromatografia líquida de alta eficiência.....	38
2.5.2. Paraquat sobre superfície de EDDB	39
2.5.2.1. Avaliação dos parâmetros experimentais e voltamétricos	39
2.5.2.2. Desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de paraquat	39
2.5.2.3. Aplicação da metodologia para a determinação de paraquat	40
2.5.2.3.1. Determinação de paraquat em amostras de água de coco.....	40
2.5.2.3.2. Determinação de paraquat em suco de acerola.....	40
2.5.2.4. Determinação de paraquat por cromatografia líquida de alta eficiência	40
2.5.3. Clorpirifós sobre superfície de HMDE	41
2.5.3.1. Avaliação dos parâmetros experimentais e voltamétricos	41
2.5.3.2. Desenvolvimento da metodologia para a determinação de clorpirifós	42
2.5.3.3. Aplicação da metodologia para a determinação de clorpirifós	42
2.5.3.2.1. Determinação de clorpirifós em amostra de laranja	42
2.5.3.2.2. Determinação de clorpirifós em águas naturais.....	42
2.5.3.4. Determinação de clorpirifós por cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo.....	42
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.1. HERBICIDA DIQUAT	44
3.3.1. Diquat sobre superfície de AgSAE.....	44
3.1.1.1. AgSAE – Caracterização e ativação	44
3.1.1.2. Otimização dos parâmetros experimentais para determinação de diquat por VOQ.....	47
3.1.1.3. Avaliação dos parâmetros voltamétricos para determinação de diquat por VOQ.....	49
3.1.1.4. Estudos complementares por voltametria cíclica.....	56
3.1.1.5. Curvas analíticas	58
3.1.1.6. Avaliação da precisão da metodologia por ensaios de Repetibilidade e Precisão intermediária	63
3.1.1.7. Estudo de seletividade e eficiência da metodologia por curvas de recuperação em eletrólito de suporte	64
3.1.1.8. Efeito de interferentes em formulações comerciais	66
3.1.1.9. Aplicação da metodologia proposta para a determinação de diquat em amostras reais.....	67
3.1.2. Diquat sobre superfície de EDDB.....	73

3.1.2.1. Sobre o EDDB	73
3.1.2.2. Otimização dos parâmetros experimentais para determinação de diquat sobre EDDB por VOQ	75
3.1.2.3. Avaliação dos parâmetros voltamétricos da VOQ para determinação de diquat sobre EDDB	78
3.1.2.4. Estudos complementares por voltametria cíclica	82
3.1.2.5. Curvas analíticas para diquat sobre superfície de EDDB	84
3.1.2.6. Avaliação da precisão da metodologia por ensaios de repetibilidade e precisão intermediária	87
3.1.2.7. Estudo de seletividade e eficiência da metodologia por curvas de recuperação em eletrólito de suporte	88
3.1.2.8. Aplicação da metodologia proposta para a determinação de diquat em amostras reais	89
3.1.2.9. Estudo de interferentes para diquat sobre EDDB	91
3.1.3. Comparação entre metodologia eletroanalítica e cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta (CLAE-UV)	92
3.2. HERBICIDA PARAQUAT	97
3.2.1. Sobre EDDB	97
3.2.2. Otimização dos parâmetros experimentais para determinação de paraquat por VOQ	97
3.2.3. Avaliação dos parâmetros voltamétricos da VOQ para determinação de paraquat	100
3.2.4. Estudos complementares por voltametria cíclica	103
3.2.5. Curvas analíticas	105
3.2.6. Avaliação da precisão da metodologia por ensaios de Repetibilidade e Precisão intermediária	107
3.2.7. Estudo de seletividade e eficiência da metodologia por curvas de recuperação em eletrólito de suporte..	108
3.2.8. Comparação entre a metodologia eletroanalítica e cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV	109
3.2.9. Aplicação da metodologia proposta para a determinação de paraquat em amostras reais	112
3.3. INSETICIDA CLORPIRIFÓS	115
3.3.1. Otimização dos parâmetros experimentais para determinação de clorpirifós sobre HMDE por VOQ	115
3.3.2. Avaliação dos parâmetros voltamétricos da VOQ para determinação de clorpirifós	119
3.3.3. Estudos complementares por voltametria cíclica	123
3.3.4. Curvas analíticas	127
3.3.5. Avaliação da precisão da metodologia por ensaios de repetibilidade e precisão intermediária	130
3.3.6. Estudo de seletividade e eficiência da metodologia por curvas de recuperação em eletrólito de suporte..	131
3.3.7. Comparação entre a metodologia eletroanalítica e cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo	132
3.3.8. Aplicação da metodologia proposta para a determinação de clorpirifós em amostras reais	135
4. CONCLUSÕES	142
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	144

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. 2: Fórmula estrutural do herbicida Diquat.....</i>	10
<i>Figura 1. 3: Fórmula estrutural do herbicida Paraquat.....</i>	14
<i>Figura 1. 4: Fórmula estrutural para o inseticida Clorpirifós.....</i>	21
<i>Figura 2. 1: Célula eletroquímica: (1) eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo, (2) eletrodo de trabalho, (3) eletrodo de referência (Ag/AgCl/Cl⁻ 3,0 mol L⁻¹), (4) solução eletrolítica, (5) entrada de gases.</i>	26
<i>Figura 2. 2: Desenho esquemático do AgSAE.....</i>	27
<i>Figura 2. 3: (A): Representação esquemática do EDDDB, filme de diamante procedência LAS-INPE. (B): Fotografia do EDDDB procedência Centre Suisse d'Eletronique et d'Microtechnique</i>	28
<i>Figura 3. 1: Micrografias para AgSAE 50:50 (Ag:Hg) em diferentes ampliações, após polimento mecânico.</i>	44
<i>Figura 3. 2: Espectro de EDX para AgSAE 50:50, em que são mostrados picos característicos para identificação de Ag e Hg.</i>	45
<i>Figura 3. 3: Voltamograma cíclico mostrando o perfil voltamétrico de AgSAE em KCl 0,2 mol L⁻¹ a 500 mV s⁻¹, após condicionamento.....</i>	46
<i>Figura 3. 4: Voltamogramas de onda quadrada para diquat 1,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ sobre AgSAE em meio de tampão BR (pH 6), Na₂SO₄, NaClO₄ todos a 0,1 mol L⁻¹ e Na₂B₄O₇ a 0,05 mol L⁻¹. f = 100 s⁻¹, a = 50 mV e ΔE_s = 2 mV.</i>	47
<i>Figura 3. 5: Voltamogramas de onda quadrada para diquat 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ sobre AgSAE em diferentes concentrações de Na₂B₄O₇. f = 100 s⁻¹, a = 50 mV e ΔE_s = 2 mV.....</i>	48
<i>Figura 3. 6: Voltamograma de onda quadrada para diquat 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ sobre AgSAE, em diferentes frequências de aplicação de pulsos em meio de Na₂B₄O₇ 0,01 mol L⁻¹. a = 50 mV, ΔE_s = 2 mV.....</i>	49
<i>Figura 3. 7: Relações entre corrente de pico e frequência aplicação dos pulsos para diquat 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ sobre AgSAE, obtidas a partir dos voltamogramas da Figura 3.6 (A): I_p vs. f, (B): I_p vs. f^{1/2}.....</i>	50
<i>Figura 3. 8: (A): Voltamogramas de onda quadrada para diquat 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ sobre AgSAE, em meio de Na₂B₄O₇ 0,01 mol L⁻¹, em diferentes amplitudes de pulso de potencial. (B): Relações entre corrente de pico vs. amplitude de pulsos. f = 100 s⁻¹, ΔE_s = 2mV.....</i>	52
<i>Figura 3. 9: (A): Voltamogramas de onda quadrada para diquat 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ sobre AgSAE em meio de Na₂B₄O₇ 0,01 mol L⁻¹, em diferentes incrementos de varredura. (B): Relação entre I_p vs. ΔE_s. f = 100 s⁻¹, a = 50 mV.....</i>	53
<i>Figura 3. 10: Componentes de corrente para diquat 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ sobre AgSAE, em meio de Na₂B₄O₇ 0,01 mol L⁻¹. f = 100 s⁻¹, a = 30 mV, ΔE_s = 2 mV.</i>	54

- Figura 3. 11: Componentes de corrente para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. (A) $f = 10 \text{ s}^{-1}$, (B) $f = 400 \text{ s}^{-1}$ 55
- Figura 3. 12: Voltamograma cíclico de diquat $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, a 50 mV s^{-1} 56
- Figura 3. 13: Voltamogramas cíclicos de diquat $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura. 57
- Figura 3. 14: Relação entre corrente de pico e velocidade de varredura para diquat $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE. (A): I_p vs. $v^{1/2}$ (B): $\log I_p$ vs. $\log v$ 58
- Figura 3. 15: Voltamogramas de onda quadrada de diquat sobre AgSAE em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $10,890 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 59
- Figura 3. 16: Curva analítica para diquat sobre AgSAE, obtida a partir dos valores médios ($n = 3$) das correntes de pico com concentração, com suas respectivas barras de desvio padrão, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 60
- Figura 3. 17: Voltamogramas de onda quadrada de diquat sobre AgSAE em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $4,975 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ até $5,660 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 62
- Figura 3. 18: Curva analítica para diquat sobre AgSAE em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, obtida a partir dos valores médios das correntes de pico com a concentração de diquat ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, $I_p = 1,08 \times 10^{-7} \text{ A} + 0,6585 [\text{diquat}]$, $r = 0,9993$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 62
- Figura 3. 19: Curva de recuperação em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$) para diquat sobre AgSAE, obtida a partir dos valores médios de corrente de pico ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, com $r = 0,9980$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 65
- Figura 3. 20: Relação entre corrente de pico vs. concentração de diquat comercial e analítico, sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 67
- Figura 3. 21: Voltamogramas de onda quadrada para diquat sobre AgSAE em meio de 1 mL de água do rio Jacaré + 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $4,975 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ até $3,382 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 68
- Figura 3. 22: Curva analítica obtida a partir dos valores médios das correntes de pico vs. concentração de diquat com suas respectivas barras de desvio padrão ($n = 3$), $r = 0,9976$, em meio de 1 mL de água do Rio Jacaré + 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 69
- Figura 3. 23: Curvas analíticas para diquat sobre AgSAE, em eletrólito de suporte preparado com água Milli-Q e em água de rio (1 mL de água do Rio Jacaré + 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$), nas condições otimizadas. 70
- Figura 3. 24: Curva de recuperação para diquat sobre AgSAE, obtida a partir dos valores médios de corrente de pico ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, com $r = 0,9998$, em meio de 1 mL de água do Rio Jacaré + 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 71

Figura 3. 25: (A): Voltamogramas de onda quadrada de diquat sobre AgSAE, em meio de 1 mL de batata contaminada artificialmente com diquat + 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, com concentração de variando de $4,926 \times 10^{-7}$ a $1,972 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. (B): Curva de recuperação obtida a partir dos valores médios das correntes de pico ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, com $r = 0,9998$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 72

Figura 3. 26: Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (25 mV s^{-1} a 500 mV s^{-1}), registrados em $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio aquoso de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB. Condições experimentais: $E_{\text{inicial}} = -0,7 \text{ V}$, $E_{\text{inversão}} = 1,0 \text{ V}$ e $E_{\text{final}} = -0,7 \text{ V}$. (B): Relação entre I_p vs. $(v^{1/2})$, cuja equação da reta é: $I_p = 3,05 \times 10^{-6} A + 9,001 \times 10^{-5} v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, com $r = 0,9998$ 74

Figura 3. 27: Voltamogramas de onda quadrada de diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em diferentes eletrólitos de suporte, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, Na_2SO_4 , NaClO_4 , Tampão BR (pH 7) todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 76

Figura 3. 28: Voltamogramas de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em diferentes concentrações de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 76

Figura 3. 29: Componentes de corrente para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 77

Figura 3. 30: Voltamogramas de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB, em diferentes frequências de aplicação de pulsos de potencial em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 79

Figura 3. 31: (A): Estudo entre corrente de pico e a variação da frequência de aplicação de pulso (B): Relação entre corrente de pico e a raiz quadrada da frequência de aplicação de pulso. Diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 79

Figura 3. 32: (A): Voltamograma de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre de EDDB, em diferentes amplitudes de pulsos em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. (B): Relações entre corrente de pico e a variação da amplitude de potencial. $I_p = 7,852 \times 10^{-7} A + 6,725 \times 10^{-7} a (\text{mV})$, $r = 0,9990$ 80

Figura 3. 33: (A): Voltamograma de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB, em diferentes incrementos de varredura, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$. (B): Relação entre a corrente de pico e a variação do incremento de varredura. . 81

Figura 3. 34: Voltamogramas cíclicos para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura na faixa de potencial de $-0,0 \text{ V}$ até $-1,5 \text{ V}$ 82

Figura 3. 35: Relação ente corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $I_p = 7,192 \times 10^{-6} A + 2,058 \times 10^{-6} v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, $r = 0,9996$ 83

Figura 3. 36: Voltamogramas cíclicos para diquat sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes concentrações a 100 mV s^{-1} 83

Figura 3. 37: Voltamogramas de onda quadrada de diquat sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $9,990 \times 10^{-8}$ até $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 85

- Figura 3. 38: Curva Analítica para diquat sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, obtidas a partir dos valores médios das correntes de pico vs. concentração de diquat ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, $I_p = -5,213 \times 10^{-7} \text{ A} + 6,493[\text{diquat}]$, $r = 0,9940$. $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 85
- Figura 3. 39: Curva de recuperação em eletrólito de suporte para diquat sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, obtidas a partir dos valores médios de corrente de pico vs. concentração do herbicida ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, com $r = 0,9992$. $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 88
- Figura 3. 40: (A): Voltamogramas de onda quadrada de diquat sobre EDDB em suco de limão contaminado artificialmente, com adições de diquat variando de $9,930 \times 10^{-8}$ a $3,960 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (B): Curva de recuperação em suco de limão, obtidas a partir dos valores médios ($n = 3$) com suas respectivas barras de desvio padrão, $r = 0,9996$. $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. .. 90
- Figura 3. 41: Sinal de corrente (I%) para diquat e diquat + adição de interferentes em concentrações variando de $9,990 \times 10^{-8}$ a $7,237 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sob condições otimizadas. 92
- Figura 3. 42: Cromatogramas obtidos para diquat, comprimento de onda de 310 nm , com concentrações variando de $4,975 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ até $4,762 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. A fase móvel foi NaCl $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,2)/acetonitrila (60:40 v/v), com um fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, tempo de retenção de $2,4 \text{ min}$ 93
- Figura 3. 43: Curva analítica com a dependência da área de pico cromatográfico e a concentração para o herbicida diquat. Equação da reta: $A = -0,002 \text{ ua} + 0,012 [\text{diquat}]$, $r = 0,9993$ 94
- Figura 3. 44: Voltamogramas de onda quadrada para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB em diferentes eletrólitos de suporte: Na_2SO_4 , tampão BR (pH = 7), KClO_4 todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 98
- Figura 3. 45: Voltamogramas de onda quadrada de paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em diferentes concentrações de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 98
- Figura 3. 46: Componentes de corrente para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 99
- Figura 3. 47: Voltamogramas de onda quadrada para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em diferentes frequências de aplicação dos pulsos, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 100
- Figura 3. 48: Estudo entre corrente de pico e frequência de aplicação dos pulsos para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. (A): I_p vs. f . (B): I_p vs. $f^{1/2}$ 101
- Figura 3. 49: (A) Voltamogramas de onda quadrada para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em diferentes amplitudes de pulsos, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. (B) Relações entre corrente de pico e amplitude de pulsos. $I_p = 1,09 \times 10^{-6} \text{ A} + 1,279 \times 10^{-6} a \text{ (mV)}$, $r = 0,9998$ 102
- Figura 3. 50: (A) Voltamogramas de onda quadrada para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em diferentes incrementos de varreduras, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$. (B) Relação entre corrente de pico e incremento de varredura. 103

- Figura 3. 51: Voltamogramas cíclicos para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes velocidades de varredura..... 103
- Figura 3. 52: Relação entre corrente de pico e velocidade de varredura, para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. (A): I_p vs. $v^{1/2}$, $I_p = 3,04 \times 10^{-6} \text{ A} + 6,80 \times 10^{-6} v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, $r = 0,9997$ (B): $\log I_p$ vs. $\log v$, $I_p = -5,100 \mu\text{A} + 0,478 v (\text{mV s}^{-1})$, $r = 0,9999$ 103
- Figura 3. 53: Voltamogramas de onda quadrada de paraquat sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $2,488 \times 10^{-9}$ até $2,381 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ 104
- Figura 3. 54: Curva analítica para paraquat sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, obtida a partir dos valores médios ($n = 3$) com suas respectivas barras de desvio padrão, $I_p = -5,007 \times 10^{-7} \text{ A} + 375,03 [\text{paraquat}]$, $r = 0,9993$. $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ 105
- Figura 3. 55: Curva de recuperação para paraquat sobre EDDB em eletrólito de suporte, obtidas a partir dos valores médios de I_p vs. concentração ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, $r = 0,9998$, em $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$. . 107
- Figura 3. 56: Cromatograma obtido por CLAE-UV para uma solução padrão de Paraquat, comprimento de onda de 256 nm , fase móvel foi $50 \% \text{ acetoneitrila} : 50 \% \text{ ácido acético } 1\% (\text{v:v})$, tempo de retenção de $2,8 \text{ min}$ 108
- Figura 3. 57: Curva analítica com a dependência da área do pico cromatográfico, com a concentração do paraquat. $A = 426,62 \text{ ua} + 1,165 \times 10^8 [\text{Paraquat}]$, $r = 0,9991$ 109
- Figura 3. 58: (A): Voltamogramas de onda quadrada para paraquat sobre EDDB, em meio de 1 mL de água de coco e 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$, com concentração variando de $7,389 \times 10^{-9}$ a $1,691 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. (B): Curvas de recuperação obtidas a partir de valores médios ($n = 3$), de I_p vs. [paraquat], com suas respectivas barras de desvio padrão, $r = 0,9999$. $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ 112
- Figura 3. 59: Voltamogramas de onda quadrada para clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes eletrólitos de suporte: Na_2SO_4 , tampão BR, KCl , todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH } 2$), contendo 25% de etanol (v/v), sobre HMDE. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 114
- Figura 3. 60: Voltamogramas de onda quadrada para clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, contendo 25% de etanol (v/v), em diferentes valores de pH , sobre HMDE. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 115
- Figura 3. 61: clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 25% de etanol (v/v) sobre HMDE. (A) Dependência entre I_p vs. pH (B) Dependência entre E_p vs. pH , $-E_p(\text{V}) = 0,975 \text{ V} + 0,058 \text{ pH}$, $r = 0,9907$ 116
- Figura 3. 62: Componentes de corrente para clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sobre HMDE, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH } 2$), contendo 25% de etanol (v/v). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 117
- Figura 3. 63: Avaliação do potencial e do tempo de acumulação para clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH } 2$), contendo 25% de etanol (v/v), sobre HMDE. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$ 118

Figura 3. 64: Voltamograma de onda quadrada para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes frequências de aplicação dos pulsos, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), sobre superfície de HMDE. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$. 120

Figura 3. 65: Estudo entre corrente de pico e frequência de aplicação de pulsos para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre HMDE em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v). $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$. (A): I_p vs. f , $I_p = -5,880 \times 10^{-8} A + 3,700 \times 10^{-9} f (\text{s}^{-1})$ $r = 0,9990$ até $f = 300 \text{ s}^{-1}$. (B): I_p vs. $f^{1/2}$ 121

Figura 3. 66: Voltamograma de onda quadrada para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes amplitudes de pulsos de potenciais em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), sobre HMDE. $f = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$ 121

Figura 3. 67: Clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), sobre HMDE, $f = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$. (A) Relações entre potencial de pico e amplitude de pulsos, com $-E_p = 1,116 \text{ V} + 0,821 a (\text{V})$, $r = 0,9955$. (B) Relação entre corrente de pico e amplitude de pulsos, $r = 0,9976$ 122

Figura 3. 68: (A) Voltamograma de onda quadrada para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes incrementos de varreduras, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% etanol (v/v), sobre HMDE. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$. (B) Dependência entre I_p vs. ΔE_s , $r = 0,9993$ 123

Figura 3. 69: Voltamogramas cíclicos para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% etanol (v/v), com e sem etapas de pré-concentração, a 100 mV s^{-1} , sobre HMDE. $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$ 124

Figura 3. 70: Voltamogramas cíclicos para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% etanol (v/v), em diferentes velocidades de varredura, sobre HMDE. $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$ 124

Figura 3. 71: Relação entre corrente de pico e velocidade de varredura para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% etanol (v/v), sobre HMDE. (A): I_p vs. v , $r = 0,9990$, $I_p = 1,640 \times 10^{-8} A + 6,970 \times 10^{-9} v (\text{mV s}^{-1})$ (B): $\log I_p$ vs. $\log v$, $r = 0,9980$, $I_p = -8,260 A + 1,050 A (\text{mV s}^{-1})$ 125

Figura 3. 72: Relação entre potencial de pico e logaritmo da velocidade de varredura para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% etanol (v/v), sobre HMDE, $E_p = 0,970 \text{ V} + 0,060 \log v (\text{mV s}^{-1})$, $r = 0,9970$ 126

Figura 3. 73: Proposta de mecanismo para a reação de redução do clorpirifós 127

Figura 3. 74: Voltamogramas de onda quadrada sobre HMDE, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), com concentrações de clorpirifós variando de $2,494 \times 10^{-8}$ a $2,913 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$. 128

Figura 3. 75: Curva analítica para clorpirifós sobre HMDE, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), obtida dos valores médios ($n = 3$), para I_p vs. [clorpirifós], com suas respectivas barras de desvio padrão. $I_p = 2,058 \times 10^{-9} A + 0,441 [\text{clorpirifós}]$, $r = 0,9993$. $a = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$ 129

- Figura 3. 76: Curva de recuperação para clorpirifós sobre HMDE em eletrólito de suporte, obtidas a partir dos valores médios ($n = 3$) de I_p vs. [clorpirifós], com suas respectivas barras de desvio padrão, $r = 0,9986$, em meio de Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v). 131
- Figura 3. 77: Cromatogramas de clorpirifós, com concentrações variando de $1,426 \times 10^{-7}$ a $2,852 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, tempo de retenção de 13,3 min. 132
- Figura 3. 78: Curva analítica com a dependência da área do pico cromatográfico e a concentração do inseticida clorpirifós. $A = -0,169 \text{ ua} + 0,155 [\text{clorpirifós}]$, $r = 0,9987$ 133
- Figura 3. 79: Voltamogramas de onda quadrada de clorpirifós sobre HMDE, em meio de 2 mL de água natural + 18 mL de tampão BR (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), com concentração variando de $4,975 \times 10^{-8}$ até $2,676 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 5 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$ 136
- Figura 3. 80: Curva analítica obtida a partir dos valores médios de I_p vs. [clorpirifós], com suas respectivas barras de desvio padrão ($n = 3$), em meio de 2 mL de água natural + 18 mL de Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$. $I_p = 2,006 \times 10^{-9} \text{ A} + 0,380 [\text{clorpirifós}]$, $r = 0,9997$ 137
- Figura 3. 81: Curvas analíticas para clorpirifós sobre HMDE, em eletrólito de suporte e em água natural (2 mL água da Barragem Pedrinha + 18 mL Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) contendo 25% de etanol), nas condições otimizadas. 138
- Figura 3. 82: Curva de recuperação para clorpirifós sobre HMDE, obtida a partir dos valores médios I_p vs. [clorpirifós], com suas respectivas barras de desvio padrão ($n = 3$), com $r = 0,9997$, em meio de 2 mL de água natural + 18 mL de Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$. . 139

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 2. 1: Procedência e pureza dos reagentes utilizados.</i>	30
<i>Tabela 2. 2: Procedência e pureza dos pesticidas utilizados.</i>	30
<i>Tabela 3.1: Resultados obtidos a partir das curvas analíticas para Diquat sobre AgSAE em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹). A varredura se deu na faixa de potencial de -0,3 V até -1,3V. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.</i>	61
<i>Tabela 3.2: Parâmetros obtidos das curvas analíticas para Diquat sobre AgSAE em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹), para o pico (-0,3 V até -0,9 V). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.</i>	63
<i>Tabela 3.3: Estudos de repetibilidade para Diquat a $9,901 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ sobre AgSAE em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.</i>	64
<i>Tabela 3.4: Estudos de precisão intermediária para Diquat a $9,901 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ sobre AgSAE em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.</i>	64
<i>Tabela 3.5: Resultados obtidos para curvas de recuperação do Diquat sobre AgSAE em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹), $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.</i>	66
<i>Tabela 3.6: Resultados obtidos a partir de curvas de recuperação de Diquat sobre AgSAE em eletrólito de suporte, água do Rio Jacaré e batata. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.</i>	73
<i>Tabela 3. 7: Parâmetros analíticos determinados por VOQ para determinação de Diquat sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,05 mol L⁻¹. $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.</i>	86
<i>Tabela 3. 8: Estudos de repetibilidade para análises de Diquat $2,991 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ sobre EDDB em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,05 mol L⁻¹). $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.</i>	87
<i>Tabela 3. 9: Estudos de precisão intermediária para análises do Diquat $2,991 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ sobre EDDB em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,05 mol L⁻¹). $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.</i>	87
<i>Tabela 3. 10: Resultados obtidos para curvas de recuperação de Diquat sobre EDDB em eletrólito de suporte, batata, cana-de-açúcar, limão, laranja, tangerina, abacaxi. $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.</i>	90
<i>Tabela 3. 11: Parâmetros analíticos para determinação de Diquat utilizando voltametria de onda quadrada e cromatografia líquida de alta eficiência.</i>	95
<i>Tabela 3. 12: Parâmetros analíticos obtidos para determinação eletroanalítica de Diquat usando diferentes superfícies eletródicas.</i>	96
<i>Tabela 3. 13: Parâmetros analíticos determinados por VOQ para detecção de Paraquat sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹, $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.</i>	106
<i>Tabela 3. 14: Estudos de repetibilidade para Paraquat $7,389 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹, $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.</i>	107
<i>Tabela 3. 15: Estudos de precisão intermediária para Paraquat $7,389 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹, $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.</i>	107

<i>Tabela 3. 16: Parâmetros analíticos para determinação de Paraquat por CLAE-UV e Voltametria de Onda Quadrada sobre superfície de EDDB.</i>	111
<i>Tabela 3. 17: Parâmetros analíticos obtidos para determinação eletroanalítica de Paraquat, usando diferentes superfícies eletródica.</i>	112
<i>Tabela 3. 18: Resultados obtidos para curvas de recuperação de Paraquat sobre EDDB, em eletrólito de suporte, água de coco e acerola. $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.</i>	114
<i>Tabela 3. 19: Parâmetros analíticos para determinação de Clorpirifós sobre de HMDE, em meio de Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), nas condições otimizadas.</i>	129
<i>Tabela 3. 20: Estudos de repetibilidade para Clorpirifós $7,444 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, sobre HMDE em meio de Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v),</i>	130
<i>Tabela 3. 21: Estudos de precisão intermediária para Clorpirifós $7,444 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, sobre HMDE em meio de Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH2), contendo 25% de etanol (v/v).</i>	130
<i>Tabela 3. 22: Parâmetros analíticos para quantificação de Clorpirifós por CG-DNP e VOQ/HMDE.</i>	134
<i>Tabela 3. 23: Parâmetros analíticos obtidos para determinação eletroanalítica de Clorpirifós usando diferentes superfícies eletródicas.</i>	135
<i>Tabela 3. 24: Resultados obtidos a partir de curvas de recuperação de Clorpirifós sobre HMDE, em eletrólito de suporte, água natural e laranja, nas condições otimizadas.</i>	140

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a – amplitude de potencial

Adic – Adicionada

AgSAE – Eletrodo sólido de amálgama de prata

ANVISA – Agência de Vigilância Sanitária

BP – Bupropiônio

CLAE-UV – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de ultravioleta

CG-DNP – Cromatografia Gasosa com detector de Nitrogênio e Fósforo

EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América

EDX – Energia dispersiva de raios-X

EDDB – Eletrodo de Diamante Dopado com Boro

E_{acu} – Potencial de acumulação

f – frequência de aplicação dos pulsos

HMDE – Eletrodo de gota suspensa de mercúrio

IDA – Ingestão diária aceitável

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

LMR – Limite Máximo de Resíduos

MV – Metil-viológeno

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

RSD – Desvio padrão relativo

Recup – Recuperação

rpm – Rotação por minuto

SEAGRI – Secretaria de Agricultura e Pecuária do Ceará

Sd – Desvio padrão

t_{acu} – tempo de acumulação

VOQ – Voltametria de Onda Quadrada

VC – Voltametria Cíclica

VPD – Voltametria de Pulso Diferencial

vs. – Versus

ΔE_s – Incremento de varredura

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos Gerais

Devido ao grande crescimento populacional, visando a atender a demanda alimentícia, os pesticidas vêm sendo cada vez mais utilizados na agricultura. Atualmente, é difícil imaginar a produção de alimentos sem o seu uso, pois tais produtos são responsáveis pelo controle de pragas e de doenças que afetam a produção, o processamento, o armazenamento, o transporte e a estocagem de alimentos e de produtos agrícolas em geral. Pesticidas são todas as substâncias de origem natural ou sintética utilizadas no controle e/ou eliminação/diminuição de pragas (insetos, ervas daninhas, etc.), as quais acarretam prejuízos na produção de alimentos ou transferem enfermidades aos seres humanos¹. A terminologia "agrotóxicos" também é usada na designação destas substâncias, enfatizando seu caráter tóxico.

O uso de pesticidas iniciou-se com a descoberta do poder inseticida do DDT [1,1,1-tricloro-2-bis (p-clorofenila)-etanol], ocorrida por volta de 1940. Desde então, inúmeros outros pesticidas têm sido intensamente utilizados. Eles compreendem uma larga variedade de substâncias químicas, com diferentes grupos funcionais (organoclorados, carbamatos, organofosforados, piretróides, derivados de amônio quartenário, triazinas e clorofenóis), e, conseqüentemente, com diferentes modos de ação, de biotransformação e de eliminação. A maior parte destes compostos pode causar riscos à saúde e ao ambiente, que, na maioria das vezes, não são imediatamente aparentes ou conhecidos².

Segundo o Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos³, os agrotóxicos podem ser classificados quanto ao organismo que controlam (inseticidas, herbicidas, fungicidas, raticidas, bactericidas, nematocidas, larvicidas, cupinicidas, formicidas, pulguicidas, piolhidas, carrapaticidas, acaricidas, molusquicidas, acaricidas e columbicidas) e quanto à toxicidade.

A toxicidade permite a distinção do potencial de risco dos agrotóxicos e baseia-se na dose letal 50 (DL 50), que é um valor estatístico que determina a quantidade de veneno em mg/kg de peso corporal necessária para matar, por intoxicações agudas, 50% da amostra populacional em estudo³. Os valores são determinados em cobaias e extrapolados para humanos a partir do peso. A toxicidade pode ser classificada em quatro tipos, a saber: Classe I (rótulo vermelho) – abrange os compostos considerados extremamente tóxicos para seres humanos; Classe II (rótulo amarelo) – a essa classe pertencem os compostos altamente

tóxicos; Classe III (rótulo azul) – moderadamente tóxicos; Classe IV (rótulo verde) – pouco tóxicos para seres humanos. É importante ressaltar que, entre as substâncias da Classe I, encontram-se aquelas comprovadamente carcinogênicas e mutagênicas⁴.

Quando utilizados nas plantações agrícolas, em diferentes culturas, os pesticidas são levados para o solo pela água da chuva ou da irrigação. No solo, estes poluentes seguem diferentes destinos: podem ser degradados por luz solar, calor, interação com partículas do solo, bactérias, etc., gerando produtos inofensivos ou não; podem ser absorvidos pelo solo, podem ser levados pelas enxurradas para rios e reservatórios de águas naturais ou artificiais; e, também, podem atingir lençóis de água, contaminando-os e comprometendo seu uso.

Contudo, a contaminação por pesticidas não fica restrita apenas a águas e a solos. Em consequência da utilização de alimentos ou da ingestão de água contaminada, vários casos são relatados sobre a presença de resíduos de pesticidas em amostras de sangue, urina e, até mesmo, no leite materno. A contaminação do homem também ocorre com frequência durante o processo de pulverização nas inúmeras culturas e, ainda, por acidentes ambientais ocasionados pela utilização ou armazenamento incorretos de resíduos⁵. Alergias, disfunções no fígado, alterações neurológicas e até câncer são algumas das doenças associadas ao consumo excessivo de agrotóxicos, aplicados no cultivo da maioria das frutas, verduras e legumes vendidos no país.

O Brasil é um dos líderes mundiais na produção e na exportação de vários produtos agropecuários, sendo o primeiro produtor e exportador de café, de açúcar, de álcool e de sucos de frutas. O agronegócio é responsável por 33% do Produto Interno Bruto (PIB), por 42% das exportações totais e por 37% dos empregos brasileiros⁶.

Toda essa produção agropecuária tornou o Brasil, em 2008, o maior consumidor mundial de agrotóxicos, posição antes ocupada pelos Estados Unidos⁷. Neste mesmo ano, as vendas destas substâncias, comparadas com as do ano anterior, apresentaram um crescimento acumulado de 24%, totalizando um mercado de R\$ 12.706 milhões de reais⁸. Conseqüentemente, esse crescimento elevado trouxe também um correspondente aumento no nível de contaminação de alimentos, de águas e de solos por resíduos destes pesticidas, resultando, muitas vezes, em efeitos indesejáveis à saúde humana e ao meio ambiente. Os agrotóxicos estão entre os mais importantes fatores de risco para a saúde da população em geral, especialmente para a saúde dos trabalhadores agrícolas⁹. Em função do exposto, existe um vasto mercado de agrotóxicos: aproximadamente trezentos princípios ativos, aplicados em duas mil fórmulas diferentes. Deste total, somente 10% das substâncias químicas foram

efetivamente submetidas a uma avaliação completa de riscos e 38% jamais sofreram qualquer avaliação¹⁰.

Atualmente, o Estado do Ceará ocupa o segundo lugar no ranking nacional de exportação de frutas, assumindo o posto antes ocupado por Pernambuco, só perdendo agora para a Bahia¹¹. De acordo com dados fornecidos pela Secretaria de Agricultura e Pecuária do Ceará (SEAGRI)¹², o Estado do Ceará se destaca na produção das seguintes frutas: abacaxi, banana, uva, manga, melão, mamão, coco, acerola, laranja, limão, goiaba e abacate.

A consolidação de pólos de fruticultura irrigada está transformando o agronegócio cearense em um dos segmentos mais importantes para o crescimento econômico do Estado. Nesse contexto, um aumento da produção agrícola também gera um crescimento no consumo de agrotóxicos das mais variadas classes químicas, visto a diversidade de fruticulturas plantadas. Como consequência, pode ocorrer um aumento no nível de contaminação de alimentos, de águas e de solos por resíduos destes pesticidas.

Sobre as questões de contaminações ambientais por agrotóxicos, estudos recentes divulgaram que alguns municípios da Chapada do Apodi, CE, estão sofrendo com este tipo de problema. Entre eles se destaca a localidade de Santa Fé, cuja análise de água de uma residência foi submetida a exames laboratoriais e foi constatada a presença dos fungicidas Fosetil e Procimidona, dos herbicidas tetraloxidim e flumioxacin e do inseticida carbaril. Esses pesticidas, altamente tóxicos, são usados nas plantações de abacaxi, melão e banana. No tanque que abastece a comunidade de Cabeça Preta, foram encontrados sete princípios ativos, entre fungicidas, herbicidas, acaricidas e inseticidas. Estudos realizados pela Companhia de Gestão de Recursos Hídricos (COGERH) do Estado do Ceará relataram que, de dez poços subterrâneos analisados, em seis foram encontrados princípios ativos de agrotóxicos. A COGERH confirma a contaminação do aquífero Jandaíra, o segundo maior do Nordeste e que está localizado justamente no subsolo da Chapada do Apodi, entre Ceará e Rio Grande do Norte¹³.

Em 10 de setembro de 2010 aconteceu o “Seminário Estadual de Agrotóxicos”, realizado em Fortaleza-CE e contando com a participação de especialistas de diversas áreas, focando as questões do combate abusivo de pesticidas. Especialistas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que acompanham a problemática no Ceará, sinalizam à proibição da pulverização aérea nas lavouras como uma forma de combate ao uso abusivo de agrotóxicos. Esse encontro reuniu o maior número de representantes de órgãos estaduais e nacionais da saúde e do meio ambiente, desde que a contaminação por agrotóxicos ganhou

novas proporções no Estado. Ao final do evento foi elaborada a "Carta do Ceará: compromisso com a terra, a saúde e a vida", assinada pelos participantes. Entretanto, a "carta" mais aguardada é o Plano Estadual de Ação Conjunta contra os Agrotóxicos, que só acontecerá em 2011, de acordo com representantes do Conselho de Políticas de gestão do Meio Ambiente (CONPAM)¹⁴.

Vale ressaltar que a ANVISA é o órgão brasileiro responsável pela qualidade da produção agrícola e avalia continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos em alimentos *in natura* por meio do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). Este programa foi criado em 2001 e fortaleceu a capacidade do Governo de atender a segurança alimentar, evitando, assim, possíveis agravos à saúde da população¹⁵.

2.2. Metodologias Empregadas em Análises de Pesticidas

A preocupação com o uso abusivo de pesticidas é tão antiga quanto a introdução destes no controle de pragas e de doenças que afetam a produção agrícola em geral. Assim, o avanço do conhecimento científico, aliado ao desenvolvimento tecnológico – que tem possibilitado o desenvolvimento de técnicas capazes de detectar ultratraços destes compostos em diferentes amostras – tornou possível aos órgãos governamentais a implementação de legislação específica e de determinação de limites máximos de resíduos permitidos de cada um destes compostos em diferentes amostras de alimentos e de águas naturais.

Em função de todos os problemas de saúde e/ou ambientais gerados pelo uso indiscriminado de agrotóxicos, o desenvolvimento de metodologias rápidas, baratas e eficientes para a quantificação de seus resíduos em diferentes tipos de amostras são alvo de inúmeros projetos de pesquisa.

As técnicas tradicionais para a determinação de pesticidas são as cromatográficas (líquida, gasosa e eletroforese capilar) e as espectroscópicas (de massa, infravermelho e ultravioleta). Fazer a análise cromatográfica isoladamente é um processo relativamente rápido; no entanto, na maioria das vezes, é necessária a utilização de algumas etapas de preparação de amostra antes que ela possa ser analisada, evitando, assim, os interferentes durante a análise e, principalmente, a contaminação da coluna cromatográfica. Esta etapa de preparação da amostra é frequentemente longa e complexa, o que faz com que o tempo de análise aumente muito, assim como os custos. Além do mais, ela não é uma técnica qualitativamente eficiente, necessitando, assim, de técnicas auxiliares para a segurança na identificação das espécies presentes na amostra¹⁶. Estas técnicas acopladas às

espectroscópicas são muito precisas e sensíveis, mas, para sua aplicação, é necessário um laboratório dotado de uma dispendiosa infraestrutura.

Como uma opção mais prática, mais rápida, mais barata e tão sensível quanto as tradicionais técnicas cromatográficas, as técnicas eletroanalíticas vêm sendo bastante utilizadas em pesquisas de novas metodologias alternativas. Estas técnicas compreendem um grupo de métodos analíticos quantitativos, onde informações sobre o analito podem ser obtidas a partir das propriedades elétricas da solução. Elas podem ser resumidas como sendo a resposta obtida em termos de variação de corrente elétrica em função de uma dada variação de potenciais aplicados ao eletrodo de trabalho¹⁷.

Estas técnicas são bastante precisas e sensíveis, e isto, aliado ao curto tempo da realização das medidas, ao baixo custo da instrumentação e a materiais utilizados, em comparação aos métodos cromatográficos e, principalmente, à sensibilidade que estas técnicas apresentam à presença de interferentes, tem intensificado seu uso.

O desenvolvimento tecnológico e o conseqüente crescimento e melhoria dos equipamentos eletrônicos contribuíram intensamente na melhoria da sensibilidade dos métodos eletroanalíticos, com a utilização de técnicas que envolvem a aplicação de pulsos de potencial. Um exemplo é a técnica de voltametria de onda quadrada, que possibilita a aquisição de dados com sensibilidade comparável às técnicas cromatográficas, permitindo a análise de pesticidas em água, solo, alimentos e até mesmo em fluidos biológicos¹⁸⁻²³.

Essa técnica fundamenta-se na aplicação de pulso em forma de escada, em que a forma da curva de corrente-potencial é proveniente da aplicação de potencial de altura ΔE_s (incremento de varredura), que varia de acordo com uma escada de potencial com largura a (amplitude de pulso de potencial) e duração τ (período). Na curva de potencial-tempo, a largura do pulso ($\tau/2$) é chamada de t , e a frequência de aplicação dos pulsos é dada por $1/t$ e é chamada de f ^{24,25}. Na voltametria de onda quadrada (VOQ), as curvas de corrente-potencial, em geral, apresentam perfil bem definido e são, geralmente, simétricas. Isso porque as correntes são medidas somente no final dos pulsos diretos (no sentido da varredura direta) e reversos (no sentido oposto ao da varredura), e o sinal obtido, após derivação, é dado como a intensidade da corrente resultante, apresentando elevada sensibilidade e alta rejeição às correntes capacitivas. Como as medidas de corrente são realizadas após a corrente capacitiva ter se tornado desprezível, isso resulta em uma melhora na resolução dos dados experimentais, originando pico simétrico com posição, largura e altura característicos do sistema redox avaliado²⁶.

A VOQ tem sido amplamente utilizada, apresentando, como principal vantagem, a possibilidade da utilização de amostras sem etapas de pré-tratamento, tornando as análises rápidas e com sensibilidade comparada às técnicas cromatográficas. Assim, essa técnica foi escolhida para o desenvolvimento deste trabalho.

A sensibilidade e a seletividade analítica de um método voltamétrico são bastante influenciadas pela superfície eletródica utilizada. O eletrodo de trabalho deve apresentar alta razão sinal-ruído e boa precisão intermediária. A importância da escolha do material do eletrodo de trabalho deve-se ao fato de que as respostas eletroquímicas são relacionadas com as reações de oxidação/redução que ocorrem na superfície eletródica, uma vez que a espécie de interesse deve interagir com o eletrodo de trabalho, para que ocorra a transferência eletrônica.

Devem-se considerar, ainda, alguns fatores na escolha do eletrodo de trabalho, tais como: intervalo de potencial, propriedades mecânicas, precisão intermediária da superfície e custo de fabricação. Dentro deste contexto, os eletrodos de gota suspensa de mercúrio (HMDE, do inglês *Hanging Mercury Drop Electrode*), sólido de amálgama de prata (AgSAE, do inglês *Silver Solid Amalgam Electrode*) e de diamante dopado com boro (EDDB) foram escolhidos para desenvolvimento deste trabalho.

Assim, as vantagens do uso da técnica de VOQ, juntamente com a possibilidade de uso de diferentes materiais eletródicos para construção de eletrodos de trabalho, tornaram possível o desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para determinação de diferentes tipos de pesticidas em amostras complexas, tais como amostras de águas naturais e de alimentos *in natura*.

1.3. Pesticidas

Garrido et al.²⁷ realizaram uma revisão sobre determinação de pesticidas em culturas de alimentos e em amostras ambientais, empregando técnicas voltamétricas, discutindo as vantagens, as desvantagens e as tendências destes métodos na determinação de vários grupos de pesticidas, destacando-se as triazinas, os organofosforados, os organoclorados, os nitrocompostos, os carbamatos, os tiocarbamatos, os sulfoniluréias e os compostos bipyridílios. É sabido que, nos métodos eletroanalíticos para a determinação de pesticidas, o desempenho da detecção eletroquímica é fortemente influenciado pelo material do eletrodo de trabalho, dependente do comportamento redox do analito de interesse e do intervalo de potencial aplicado. Por um longo tempo, eletrodos de mercúrio foram os mais populares, em

primeiro lugar, o eletrodo gotejante de mercúrio e depois o eletrodo de gota suspensa de mercúrio. Nesta revisão, os autores citam vários exemplos do uso destes materiais eletródicos no estudo do comportamento eletroquímico de pesticidas e na sua determinação em diferentes matrizes, tais como: solo, água e produtos agrícolas, para pesticidas dos diferentes grupos funcionais citados inicialmente. Os eletrodos sólidos, como prata, platina, ouro e carbono vítreo, também foram citados, e poucos estudos têm relatado a utilização destes materiais eletródicos para investigar o comportamento eletroquímico de pesticidas diretamente sobre a sua superfície. Além dos sensores comumente utilizados em voltametria – mercúrio, platina, ouro, carbono vítreo, eletrodos de pasta de carbono e vários tipos de eletrodos modificados – os ultramicroeletrodos (menores que 10 μm) abrem caminho para estudos em vários sistemas de proteção do ambiente, despertando interesse. A maioria dos trabalhos encontrados na literatura tem como objetivo a determinação quantitativa de pesticidas em uma ampla variedade de tipos de amostras e, nesta área, já foi demonstrado que os métodos voltamétricos são muito úteis, devido à sua seletividade.

Galli et al.²⁸ realizaram uma revisão sobre determinação eletroanalítica de pesticidas em amostras de alimentos. Foram citados pesticidas dos grupos químicos triazínicos, nitropesticidas, organofosforados, organoclorados, bupiridílios, carbamatos, piretróides e sulfoniluréias. Esses autores mostraram trabalhos da literatura utilizando eletrodo gotejante de mercúrio e de gota suspensa, carbono vítreo, eletrodos modificados, ultramicroeletrodos e biossensores. Os pesticidas organofosforados e carbamatos são compostos de difícil determinação eletroquímica e estudos sobre sua determinação foram reportados sobre eletrodos de mercúrio ou sobre biossensores.

1.3.1. Bupiridílios:

Características gerais

Os pesticidas do grupo dos bupiridílios são compostos diquartenários nitrogenados, cátions bivalentes bastante solúveis em água e são estáveis na presença de luz e de calor. Os principais representantes desta classe são diquat e paraquat, mas também fazem parte dessa classe difenzoquat e benzoquat²⁸. Diquat e paraquat são extremamente tóxicos à saúde humana e ao meio ambiente, mas, ainda assim, são utilizados em, aproximadamente, 130 países²⁹.

Os pesticidas bupiridílios são muito utilizados na agricultura para controle de ervas daninhas e gramíneas de folhas largas, apresentando ação dessecante e desfolhante, também

são utilizados no controle de uma variedade de plantas, principalmente nos pomares, nas lavouras e nos arbustos ornamentais^{30,31}. A ocorrência de chuvas cerca de trinta minutos após a aplicação desses herbicidas não interfere em sua eficiência, uma vez que estes são rapidamente absorvidos pelas folhas das plantas³².

O mecanismo de ação do diquat e do paraquat se dá por inibição do fotossistema I (conjunto de pigmentos da planta onde há absorção de luz para produção de pigmentos fotossintéticos - clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides). As moléculas dos bipyridílios desviam os elétrons dos centros de ferro-enxofre do fotossistema I do cloroplasto e são reduzidas. O bipyridílio reduzido reage com o oxigênio, formando superóxido (O_2^-), que, por sua vez, gera peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e este ataca as membranas celulares da planta, levando à sua desidratação completa, causando degradação das membranas, ocasionando vazamento do suco celular e morte do tecido³³.

O mecanismo bioquímico do Paraquat responsável pela toxicidade em mamíferos ainda não é totalmente esclarecido. Supõe-se que os danos nos tecidos devem-se ao aumento de formação de radicais livres e de espécies reativas de oxigênio, tais como: radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^-)³⁴. Esses radicais são instáveis, causam danos às membranas, às proteínas e ao DNA³⁵, levando à falência dos sistemas antioxidantes, como superoxidismutase, catalase e vitaminas C e E³⁶. O diquat produz efeitos tóxicos similares aos observados para o paraquat, exceto pelos danos pulmonares e pela fibrose progressiva³⁷, presentes somente neste último. Até o presente, não existe antídoto ou tratamento eficiente para amenizar os efeitos tóxicos destes herbicidas³⁸.

diquat e paraquat podem ser aplicados em culturas como pós-emergentes, com o limite máximo de resíduo (LMR) diário para diquat varia de 0,02 a 0,5 mg/kg e para o paraquat varia de 0,05 a 0,2 mg/kg, com intervalos de segurança que variam de 1 a 16 dias para o diquat e de 1 a 7 dias para paraquat. A ingestão diária aceitável (IDA) é de 0,002 mg/kg para diquat e 0,004 mg/kg para paraquat³⁹.

Mecanismo eletroquímico

Walcarius e Lamberts⁴⁰ estudaram o comportamento eletroquímico de paraquat e de diquat, por experimentos de voltametria cíclica (VC), em meio de NaCl 0,05 mol L⁻¹, usando um referência Ag/ AgCl/ KCl (Sat). Cátions-radicaís foram formados a partir da redução de um elétron do(s) analito(s) adsorvido(s) na superfície do eletrodo de mercúrio, pelo qual foi proposto um modelo de mecanismo eletroquímico. Para os bipyridílios (BP) em questão, observaram que para o pico 1 ocorre uma redução totalmente reversível envolvendo um

elétron e formando um cátion radical $BP^{+2} + e^- \rightleftharpoons BP^+$ (em solução). Para o pico 2 o cátion radical é reduzido formando uma molécula neutra $BP^+ + e^- \rightleftharpoons BP^0$ (adsorvido). O processo de redução da molécula neutra é menos reversível porque pode ocorrer processo de comproporcionamento (ou seja, uma combinação proporcional que leva em consideração a combinação dos dois BP em estados de oxidação diferentes).

O paraquat e o diquat são usualmente chamados de metil-viologeno (MV), porque na forma reduzida origina um composto de cor azul ou violeta^{41,27}. Monk et al.⁴² investigaram a incorporação do MV em papel como meio eletrolítico e avaliaram os efeitos e as reações de transferência eletrônica, utilizando VC sobre superfície de platina, observando, assim, por eletrocromismo, a coloração azul no papel, proveniente da redução do MV. A análise do comportamento eletroquímico foi realizada em meio aquoso, e observou-se a presença de três picos voltamétricos no sentido de varredura negativa e dois picos na varredura positiva de potenciais. O primeiro par redox (-0,6 V e -0,70 V vs. ECS – eletrodo de calomelano saturado) está associado ao processo de redução, com formação do íon MV ($MV^{+2} + e^- \rightleftharpoons MV^+$), e o segundo (-1,0 e -0,9 V), ao processo reversível envolvendo adsorção, correspondendo ao processo de formação da molécula neutra em solução ($MV^+ + e^- \rightleftharpoons MV^0$). O pico em -0,75 V é relacionado a um processo de nucleação e à conseqüente formação de um dímero ($MV^0 + MV^{2+} \rightleftharpoons (MV)_2^{2+}$).

Xiao et al.⁴³ realizaram experimentos de VC, em uma solução aquosa de MV, sobre uma variedade de superfícies eletródicas, tais como ouro, eletrodos de carbono (carbono vítreo, EBDD e eletrodo de grafite pirolítico). Mecanismos relatados sobre o comportamento eletroquímico desse analito foram criteriosamente observados e avaliados, e foi apresentada uma interpretação mecanística alternativa para o comportamento redox do MV, envolvendo adsorção de espécies intermediárias à superfície eletródica. O mecanismo proposto envolve uma etapa de redissolução e de remoção do MV^0 adsorvido na superfície do eletrodo, com formação do dímero.

1.3.1.1. Diquat

Diquat (brometo de 1,1'-etileno-2,2'-bipiridílio) é um herbicida do grupo químico bipiridílio, com classe toxicológica II³⁹.

Segundo uma linha do tempo apresentada pela Syngenta⁴⁴, um grupo de produtos químicos, originalmente descoberto em 1947, foi reavaliado, levando à síntese do diquat e do paraquat em 1954 pelo Laboratório Zeneca. A formulação comercial mais conhecida do diquat é o Reglone[®], disponível como solução do herbicida a 20% (p/v)⁴⁵.

Diquat é empregado em aplicação pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de beterraba, de café, de cebola, de citros, de feijão e de pêssego. Também é usado como dessecante das culturas de arroz, de batata, de citros, de feijão, de soja, etc. Sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 1.1.

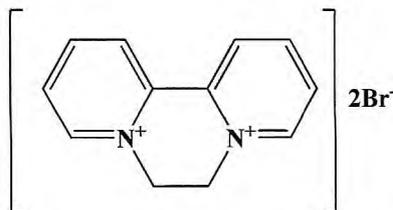


Figura 1. 1: Fórmula estrutural do herbicida diquat.

Lu e Sun⁴⁶ empregaram eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion[®] (NFGCE, do inglês *Nafion[®] film coated glassy carbon electrode*) para uso em determinação de diquat. Os resultados mostraram que a aplicação do NFGCE para a acumulação de diquat, seguida de voltametria de pulso diferencial (VPD) na presença de MnO_4^- , é um modo simples e efetivo para determinação desse herbicida em amostras de água. Foi estudada a influência do tempo de acumulação, sendo selecionado o tempo de quatro minutos. Foi construída curva analítica, em que foi observado o comportamento linear entre corrente de pico e concentração de diquat, de $3,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ a $4,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, com um coeficiente de correlação de 0,9930 e um limite de detecção de $0,21 \mu\text{g L}^{-1}$. A metodologia proposta foi aplicada em análises de água subterrânea, com taxa de recuperação de 100,6%, e em água de rio, com recuperação de 97,8%.

Prasad e Arora⁴⁷ usaram HMDE modificado com polímeros (ácido p-aminobenzóico e 1,2-dicloroetano) na determinação do diquat por VPD, com etapa de pré-concentração. Após a avaliação dos parâmetros experimentais e voltamétricos, foram escolhidos o potencial de acumulação de $-0,8 \text{ V}$ (vs. $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$ (sat)) por 120 s, em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0, amplitude de pulso de 25 mV e velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} . Diquat foi adicionado diretamente nas amostras, sem nenhuma etapa de pré-tratamento. Nessas condições, foram levantadas curvas analíticas com concentração de diquat variando de $3,4 \times 10^{-7}$ a $7,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Foi encontrado um limite de detecção de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, com RSD de 2,0%. O método foi aplicado em amostras complexas (água e suspensão de solos agrícolas).

El Mhammedia et al.⁴⁸ investigaram o comportamento eletroquímico de diquat sobre pasta de carbono modificada por fluorapatita (FAP-CPE, do inglês *carbon paste electrode modified by fluoroapatite*) em meio de K_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando VC e VOQ. O herbicida diquat apresentou dois picos de redução, sendo o primeiro em $-0,69 \text{ V}$ e o segundo em $-0,97$

V (vs. ECS), com o perfil do processo redox totalmente reversível. Foi investigada a influência de diversos parâmetros experimentais sobre a resposta do FAP-CPE, ou seja: pH do eletrólito (K_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 8), composição da pasta de carbono (37,5% fluoropatita) e tempo de acumulação (10 minutos). Foi observado para os dois picos de redução que as correntes de pico foram diretamente proporcionais à concentração do herbicida de $5,0 \times 10^{-7}$ até $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com LD de $3,1 \times 10^{-8}$ e $7,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, para os picos 1 e 2, respectivamente. Além disso, a metodologia proposta foi aplicada em amostras de água de rio contaminadas por diquat, sem qualquer etapa de pré-tratamento.

El Mhammedi et al.⁴⁹ desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com caulim para determinação de diquat por VOQ. Os picos de redução deste herbicida foram observados em $-0,69 \text{ V}$ e $-0,97 \text{ V}$, respectivamente, para os picos 1 e 2 (vs. ECS), em meio de K_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Foram realizados estudos de pré-concentração e de otimização dos parâmetros. Os melhores resultados foram obtidos para tempo de acumulação de 5 minutos, amplitude de pulso de 5 mV e velocidade de varredura de 1 mV s^{-1} . Nas condições otimizadas, considerando o pico 1 ($-0,69 \text{ V}$), foram calculados LD e LQ equivalentes a $4,21 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e a $3,55 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ($1,52 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $12,85 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente. A precisão foi avaliada por ensaios de repetibilidade ($n = 5$), com RSD de 1,9%. A metodologia foi aplicada em amostras de água de rio, com resultados satisfatórios.

Fuke et al.⁵⁰ desenvolveram uma metodologia para determinação de paraquat, diquat e de dois metabólitos do diquat em material biológico utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detectores de ultravioleta (UV) e de fluorescência. Paraquat e diquat foram determinados pelo detector de UV. Diquat-monopiridona e diquat-dipiridona foram monitorados pelo detector de fluorescência, usando um cartucho Sep-Pak C18. O intervalo de concentração para paraquat e diquat foi de $0,1$ - $10 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ e para diquat-monopiridona e diquat-dipiridona, de $0,01$ a $1,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Nesses intervalos de concentração foi observada uma relação linear entre a corrente de pico e a concentração, e os valores de LD foram calculados. Para paraquat, diquat, diquat-monopiridona e diquat-dipiridona, os valores de LD foram $1,0$; $1,0$; $0,02$ e $0,02 \text{ ng mL}^{-1}$, respectivamente.

Vidal et al.⁵¹ desenvolveram um método para determinação simultânea de paraquat e diquat em amostras de água por cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massas com ionização por aspensão. A separação foi realizada em uma coluna C8 Xterra, utilizando como fase móvel 95% do ácido heptafluorobutírico $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e 5% metanol, em modo isocrático. A extração em fase sólida foi aplicada com cartuchos de sílica para pré-concentração dos compostos em água. O tempo de retenção foram de 6 e 7 min para diquat e

paraquat, respectivamente. Os valores de LD ficaram na faixa de 0,02 a 0,40 $\mu\text{g L}^{-1}$. A recuperação variou entre 89,00 e 99,50% com valores de RSD inferiores a 6%. O método foi aplicado com sucesso em amostras de águas superficiais e subterrâneas das áreas agrícolas da Andaluzia (Espanha).

Ito et al.⁵² estabeleceram um método simples e rápido de análise, para separação e quantificação de paraquat e diquat por CLAE-UV, utilizando uma coluna ODS. Uma amostra de soro desproteinizado foi introduzida diretamente no cromatógrafo. O tempo de retenção foi de 11 e 12 min para diquat e paraquat, respectivamente, utilizando eluição por gradiente. Foram construídas curvas analíticas para os herbicidas, em torno de 290 nm, observando-se boa linearidade quando a concentração da amostra injetada era de 0,1 a 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O limite de detecção obtido para ambos os herbicidas foi de 0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e as taxas de recuperações em soro apresentaram valores de 87,5% e 89,1%, com RSD 4,52% e 3,85%, para paraquat e diquat, respectivamente. O tempo de análise foi inferior a 30 min e possibilitou o emprego deste método na análise de quatro casos de intoxicação aguda, tornando possível decidir rapidamente sobre abordagens de tratamento em tempo hábil.

Aramendía et al.⁵³ desenvolveram uma metodologia para determinação dos herbicidas diquat e paraquat em azeite de oliva, utilizando cromatografia líquida com espectrometria de massa. O n-hexano e o ácido heptafluorbutírico $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} foram empregados para extração do azeite. A separação foi realizada em uma coluna C8 Xterra (10x21 mm, 3 μm), utilizando eluição gradiente. O tempo de retenção foi de 6 e 7 min para diquat e paraquat, respectivamente. O LD encontrado para ambos diquat e paraquat foi 4,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Tais limites são inferiores aos LMR comumente aplicados ao azeite como critérios de referência. O método permitiu verificar que, apesar de resíduos destes herbicidas terem sido detectados em solos das plantações de olivais, não estavam presentes no azeite.

Whitehead et al.⁵⁴ desenvolveram um método analítico sensível e altamente seletivo para quantificar paraquat e diquat por CLAE acoplada a um espectrômetro de massa. A amostra foi preparada por extração em fase sólida utilizando cartuchos de troca catiônica. Os herbicidas foram separados utilizando uma coluna HILIC (do inglês, *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography* – coluna de fase normal). A detecção foi realizada com um triplo espectrômetro de massa quadrupolar com uma sonda de ionização por aspensão. Os analitos foram separados por eluição isocrática usando 60% de formiato de amônio 0,25 mol L^{-1} pH 3,7 e 40% acetonitrila. O método foi aplicado em amostras de urina humana, com concentrações dos analitos variando entre 5 ng mL^{-1} a 30 ng mL^{-1} . Os LDs ficaram na faixa de 1 ng mL^{-1} . As eficiências de recuperação variaram entre 77,70% a 94,20% com RSD = 9%.

Florêncio et al.⁵⁵ investigaram a fotodegradação de soluções dos herbicidas diquat e paraquat utilizando TiO₂ como fotocatalizador e luz UV como fonte de radiação. As reações de degradação foram acompanhadas por espectroscopia na região do UV e os intermediários e produtos da reação foram caracterizados por espectrometria de massa por ionização por aspersão combinada com a dissociação induzida por colisão e espectrometria de massa. O estudo mostrou que a degradação fotocatalítica das soluções dos herbicidas diquat e paraquat foi mais eficiente em meio alcalino, sendo mais sensível em pH 9, promovendo uma degradação total após 12 horas de radiação.

1.3.1.2. Paraquat

O paraquat (dicloreto de 1,1'- dimetil - 4,4'- bipyridínio) é um herbicida pertencente à classe toxicológica I, na qual são agrupados produtos extremamente tóxicos à saúde humana e ao meio ambiente³⁹. A formulação comercial mais conhecida é o Gramoxone[®], disponível como solução de paraquat a 20% (p/v). Este herbicida apresenta grande eficácia e ausência de efeitos poluentes acumulativos para os solos, além de ser relativamente barato, o que o leva a ser largamente utilizado³⁵.

O paraquat foi sintetizado em 1882 por Weidel e Russo, mas suas propriedades herbicidas só foram descobertas em 1959⁵⁶. É um herbicida de contato, não seletivo, sendo um dos mais específicos agentes tóxicos pulmonares conhecidos, e apresentando uma alta taxa de mortalidade em casos de intoxicação, o que o torna alvo de muitos estudos. Sua fórmula estrutural é mostrada na Figura 1.2:

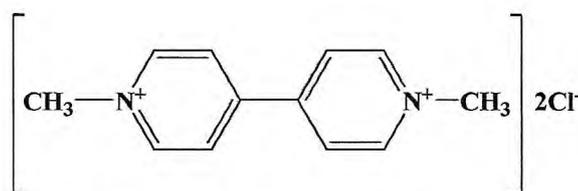


Figura 1. 2: Fórmula estrutural do herbicida paraquat.

Lu e Sun⁵⁷ utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion[®] (NFGCE) para determinação de paraquat por Voltametria de Pulso Diferencial Catódica em amostras de água, utilizado Ag/AgCl/Cl⁻ (sat) como eletrodo de referência. Paraquat foi acumulado sobre NFGCE por troca catiônica, sobre agitação, em meio de NaClO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo íons permanganato (catalisadores do processo de redução do paraquat), no potencial de circuito aberto (ou seja, na ausência de sobrepotencial). Após 3 minutos de acumulação, o sinal analítico em função da concentração foi linear no intervalo de 1,0 a 100 µg L⁻¹, com LD

igual a $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$. O método foi aplicado em água de rio apresentado boa taxa de recuperação. Adicionou-se o agente quelante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA, do inglês *Ethylenediamine tetraacetic acid*) à solução de análise, para reduzir possíveis interferências de íons metálicos, tais como: Cd, Cu, Pb e Zn.

De Souza e Machado²¹ desenvolveram um procedimento eletroanalítico para detecção de paraquat em águas naturais e em amostras de sucos de frutas cítricas, por VOQ, usando microeletrodo de ouro em altas frequências de aplicação de pulsos. Os resultados obtidos mostraram dois picos reversíveis para a redução deste herbicida (Ag/AgCl/Cl^- $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ como referência). As análises de variação do pH e dos parâmetros de VOQ indicaram que as melhores condições sob as quais o paraquat pode ser reduzido foram: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0, $f = 1000 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $a = 50 \text{ mV}$. Nestas condições, a corrente de pico apresentou relação linear com o aumento da concentração de paraquat de $1,0 \times 10^{-6}$ a $1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Foram calculados, para o pico 1, LD de $4,51 \mu\text{g L}^{-1}$ e LQ de $15,05 \mu\text{g L}^{-1}$, com fator de recuperação de 99,50%. O procedimento proposto foi aplicado em amostras de águas naturais, apresentando fatores de recuperação de 95,00%, 89,50% e 92,5%, em três amostras de água coletadas em um riacho urbano. Em amostras de sucos de limão e de laranja que foram contaminados artificialmente com $5,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat, os fatores de recuperação obtidos foram 94,30% e 92,70%, respectivamente.

De Souza et al.⁵⁸ descreveram a aplicação de eletrodos de ouro construídos a partir de discos compactos graváveis para a determinação analítica do herbicida paraquat em amostras de águas naturais, por VOQ, utilizado Ag/AgCl/Cl^- $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ como referência. Os parâmetros experimentais e voltamétricos foram investigados, e as melhores respostas foram obtidas em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. Nas condições otimizadas para o pico 1, foram construídas curvas analíticas com concentração de paraquat variando de $1,4 \times 10^{-7}$ até $2,8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Adicionalmente, foram determinados LD de $21,00 \mu\text{g L}^{-1}$ e LQ de $73,00 \mu\text{g L}^{-1}$. Em amostras de água de efluentes poluídos, o LD subiu para $76,40 \mu\text{g L}^{-1}$ e mostrou-se dependente de valores da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e da demanda química de oxigênio (DQO). Foram realizadas medidas de recuperação em amostras e de águas naturais, com valores de, aproximadamente, 95%, o que indica que a metodologia proposta pode ser empregada para analisar paraquat em tais matrizes.

De Souza e Machado⁵⁹, utilizaram a múltipla voltametria de onda quadrada (MSWV) (MVOQ), aliada a microeletrodo de ouro, para estabelecer um procedimento eletroanalítico para a determinação dos bipyridílios diquat e paraquat em amostras de sedimentos de rios. Para ambos os herbicidas foi observado dois picos de reduções, em torno de $-0,7 \text{ V}$ (pico 1) e

de -1,0 V (pico 2) vs. Ag/AgCl 3,0 mol L⁻¹, com perfil de processo redox totalmente reversível. Condições experimentais e voltamétricas mostraram que as melhores condições para redução eletroquímica de paraquat e diquat foi em meio de Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ pH 6,0, para $f = 250 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, utilizando quatro pares de pulsos dentro do mesmo degrau da escada de potencial. Sob estas condições, foram obtidos os limites de detecção de 0,044 µg L⁻¹ e de 0,360 µg L⁻¹, para os picos 1 e 2 do paraquat, e de 0,159 µg L⁻¹ e de 0,533 µg L⁻¹, para os picos 1 e 2 do diquat, respectivamente. Adicionalmente, o procedimento eletroanalítico proposto foi aplicado para a determinação de isotérmica adsorção de pesticidas em amostras de sedimentos de rio, coletadas do rio Mogi-Guaçu, em São Paulo.

De Souza et al.⁶⁰ investigaram o uso da múltipla voltametria de onda quadrada (MVOQ) para a determinação analítica do herbicida paraquat, sobre microeletrodo de ouro (Au-ME), em diferentes amostras. O intervalo de potencial avaliado foi de 0,0 V a -1,2 V vs. Ag/AgCl/Cl⁻ 3,0 mol L⁻¹. O paraquat apresentou dois picos de redução, sendo um em -0,69 V e o outro em -0,99 V, com perfil de processo redox totalmente reversível. Foram construídas curvas analíticas para $f = 250 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, utilizando quatro pares de pulsos dentro do mesmo degrau da escada de potencial. Os dois picos de redução indicaram que as correntes de pico foram proporcionais à concentração do herbicida, no intervalo de $5,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Desse modo, foi possível determinar os valores de LD, que resultaram em 0,044 µg L⁻¹ e 0,146 µg L⁻¹, para os picos 1 e 2, respectivamente. Adicionalmente, a metodologia proposta foi aplicada em diferentes amostras de águas naturais, de alimentos e de bebidas sem pré-tratamento ou etapa de pré-concentração, e o fator de recuperação indicou que a metodologia pode ser aplicada para analisar tais matrizes.

Lopes et al.⁶¹ descreveram a aplicação, aliada à VOQ, do eletrodo de grafite pirolítico modificado por metalofalocianinas, a fim de estudar o comportamento eletroquímico do herbicida paraquat e de desenvolver uma metodologia para sua determinação analítica em amostras de água natural. Experimentos preliminares indicaram que as melhores respostas, considerando intensidades e perfil voltamétrico para o processo de redução do paraquat, foram obtidas quando foi empregado o eletrodo modificado com ftalocianina de cobalto, se comparado com o eletrodo não modificado ou modificado com outras formas de ftalocianinas. Foi utilizado Ag/AgCl/Cl⁻ 3,0 mol L⁻¹ como referência. Estudos sobre a concentração da ftalocianina de cobalto e o tempo de adsorção mostraram que $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ desta solução, com o tempo de 10 minutos, foram suficientes para obter confiabilidade e estabilidade na modificação. A variação do pH para a solução tampão Britton-Robbinson (BR) 0,1 mol L⁻¹ e os parâmetros de onda quadrada indicaram que as melhores condições para redução de

paraquat foram em pH 7,0, com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $a = 50 \text{ mV}$. Sob tais condições, as correntes de pico aumentaram linearmente com a variação de concentração de $5,00 \times 10^{-7}$ a $2,91 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, e foram determinados LD e LQ de 26,53 e 88,23 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

El Mhammedi et al.³¹ desenvolveram uma metodologia utilizando VOQ para a determinação de resíduos de paraquat sobre eletrodo de pasta de carbono modificado com fosfato natural (NP-CPE, do inglês *electrode modified with natural phosphate*) em amostras de águas naturais. Foram observados picos de redução do herbicida entre -0,7 V e -1,0 V (vs. ECS). Paraquat foi acumulado sobre NP-CPE por potencial de circuito aberto, em meio de K_2SO_4 0,1 mol L^{-1} pH 5 no tempo de acumulação de 10 minutos. Observou-se um aumento linear das correntes de pico com o aumento da concentração de paraquat no intervalo de $2,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $300 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Para o pico 1 (-0,7 V) em meio de eletrólito de suporte, foi calculado LD de $7,80 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ e LQ de $2,59 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, com RDS de 1,8% ($n = 7$). O método proposto foi aplicado em amostras de águas com resultados satisfatórios.

El Mhammedi et al.⁶² utilizaram um eletrodo de pasta de carbono modificado com fluoroapatita (FAP-CPE, do inglês *paste electrode impregnated with fluoroapatite*) para aplicação em amostras de águas naturais. O paraquat foi acumulado na superfície do eletrodo modificado por adsorção, em seguida foi reduzido por VOQ em meio de K_2SO_4 0,1 mol L^{-1} pH 8, sendo visualizados dois picos de redução, sendo o primeiro em -0,7 V e o segundo em -1,0 V (vs. ECS). Assim, foi otimizado o tempo de acumulação de 15 minutos no potencial de circuito aberto, e curvas analíticas foram construídas com concentrações variando de $5,000 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Foram determinados valores de LD de $3,50 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e de $7,40 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, para os picos 1 e 2, respectivamente. Da mesma forma, determinaram valores de LQ de $1,16 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e de $2,46 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, para os picos 1 e 2, respectivamente. A precisão intermediária foi avaliada com RSD 1,40%, possibilitando a aplicação da metodologia proposta na determinação de paraquat.

El Mhammedi et al.⁶³ trabalharam com pasta de carbono modificado por caulim para utilização na determinação de pesticidas em amostras de água de rio. O procedimento foi realizado pela utilização de VC e de VOQ. Condições experimentais foram otimizadas por meio da variação do tempo de acumulação no potencial de circuito aberto, porcentagem de caulim e medição do pH da solução. As melhores resposta de correntes foram obtidas com 25,00% de caulim e com tempo de acumulação de 5 minutos em meio de K_2SO_4 0,1 mol L^{-1} pH 8. A resposta de corrente de pico em função da concentração na curva analítica foi linear, no intervalo de $3,9 \times 10^{-9}$ a $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com LD de $2,0 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$, considerando o pico 1 (-0,7 V). A precisão foi avaliada por ensaios de repetibilidade ($n = 5$), com RSD de 1,90%.

O método proposto foi aplicado em amostras de água de rio, em cinco pontos diferentes, obtendo-se boas taxas recuperação (92,00 a 99,00%), exceto para o terceiro ponto de coleta, que apresentou uma taxa de recuperação de 60,00%.

Figueiredo-Filho et al.⁶⁴ investigaram a aplicação do eletrodo de filme de bismuto (BIFE, do inglês *Bismuth-Film Electrode*) na determinação de paraquat. BIFE foi depositado eletroquimicamente *ex situ* (ou seja, separadamente) em substrato de cobre pela aplicação de um potencial de 0,18 V vs. Ag/AgCl/Cl⁻ 3,0 mol L⁻¹ por 200 s em meio de ácido clorídrico 1,5 mol L⁻¹ e de citrato de sódio a 0,15 mol L⁻¹. Este herbicida foi determinado por VPD em meio de tampão acetato (pH 4,5), aplicando amplitude de 50 mV, largura de pulso de 20 ms e velocidade de 7,5 mV s⁻¹, com uma varredura catódica de -0,5 V a -1,1 V. Na seqüência, foram construídas curvas analíticas e foi observada relação linear entre a corrente de pico e a concentração de paraquat de 6,6x10⁻⁷ mol L⁻¹ a 4,8x10⁻⁵ mol L⁻¹, obtendo-se LD = 9,3x10⁻⁸ e LQ = 3,1x10⁻⁷ mol L⁻¹. A metodologia foi aplicada em água de rio, com resultados satisfatórios.

Castro et al.⁶⁵ criaram um método para determinação direta de paraquat, diquat, difenzoquat em amostras de água, usando extração em fase sólida, por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa *online*. Nenhuma preparação da amostra foi necessária, e a separação dos herbicidas foi realizada utilizando uma coluna C₈ Xterra MS, por eluição gradiente. Os valores de LD calculados apresentaram valores entre 0,04 e 0,05 µg L⁻¹ e recuperação entre 90,10 e 96,10%. A precisão foi avaliada por experimentos de precisão intermediária com RSD entre 8,00 e 9,00%.

Paixão et al.⁶⁶ desenvolveram um método simples e rápido utilizando um sistema CLAE-UV para quantificar paraquat em plasma e soro humano, usando coluna C₁₈. O procedimento foi realizado em condições isocráticas, e a fase móvel foi composta de 10% acetonitrila (v/v) e 90% da mistura de octanossulfonato de sódio 3,0x10⁻³ mol L⁻¹ e ácido fosfórico 0,1 mol L⁻¹ com pH 3 ajustado com dietilamina. O tratamento de amostras foi feito apenas pela precipitação das proteínas por 6% ácido perclórico em metanol (v/v). O método foi linear até 10 µg mL⁻¹ e apresentou LD de 0,1 µg mL⁻¹. A recuperação em plasma foi 98,8% e, em soro 100,06%. Foram analisados o soro e o plasma de quatro pacientes com intoxicação, com identificação positiva.

Brunetto et al.⁶⁷ descreveram um método de determinação de paraquat em amostras de plasma de sangue humano por injeção direta, usando o método de pareamento iônico e cromatografia de fase reversa. O sangue filtrado do plasma foi injetado diretamente na pré-

coluna LiChrospher[®] RP-18 sílica alquil-diol em um sistema de comutação utilizando uma mistura de 3%, de 2-propanol e octanossulfonato de sódio 0,01 mol L⁻¹ em tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ (pH 2,8 ajustado com trietilamina). Após a lavagem com esta fase, a pré-coluna nivelou-se com a coluna analítica C₁₈, e a separação do paraquat foi detectada em condições isocráticas por UV em 258 nm, cuja fase móvel foi composta de 40% de metanol e 60% da mistura de octanossulfonato de sódio 0,01 mol L⁻¹ e tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ (pH 2,8) a um fluxo de 1,0 mL min⁻¹. As taxas de recuperação para esse herbicida, a partir de amostras de plasma de sangue humano variaram entre 95,00 e 99,50% em nove diferentes concentrações (de 0,05 a 3,00 µg mL⁻¹). O valor de LD foi de 0,005 µg mL⁻¹, com um volume de injeção de 200 µL. A precisão apresentou RSD de 3,5% e 4,3% para repetibilidade e precisão intermediária, respectivamente. O método proposto mostrou-se promissor para identificação e quantificação de paraquat em baixos níveis de concentração em amostras de plasma de sangue humano.

Posecion et al.⁶⁸ criaram um procedimento para determinação de paraquat em mecônio (fezes de recém nascidos) como biomarcador de exposição fetal, por ensaios de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG-EM). O método compreendeu a redução do tetrahidroborato de sódio e do cloreto de níquel por extração líquido-líquido do analito, seguidos por ensaios de CG-EM. Empregou-se coluna capilar DB5-MS (5% fenilmetilpolisiloxona com 0,25 mm DI (diâmetro interno e 1 µm espessura do filme) na separação cromatográfica do paraquat, injetou-se 2 µL da amostra no modo *splitless* a 250 °C. O método demonstrou recuperação de 102,56%, com RSD inferior a 13,00% e um LD = 0,0156 µg g⁻¹. Análise de amostras de mecônio em uma população de estudo no Brasil (n = 70) mostrou uma prevalência de 2,8% de exposição fetal ao paraquat.

Cantavenera et al.⁶⁹ investigaram a degradação fotocatalítica de soluções aquosas de paraquat na presença TiO₂ irradiada por luz UV. O substrato e as concentrações de carbono orgânico total foram monitorados por medidas espectroscopia na região do UV e de TOC (do inglês *Total Organic Carbon*), respectivamente. A completa mineralização fotocatalítica do herbicida (20 mg L⁻¹) foi conseguida após três horas de irradiação, utilizando 0,4 g L⁻¹ do catalisador em pH natural (5,8). Para avaliar a genotoxicidade do paraquat e seus intermediários produzidos durante o tratamento fotocatalítico heterogêneo em ensaios *in vitro*, foi utilizado o teste de Ames. Os resultados obtidos com *Salmonella typhimurium* mostraram que paraquat e produtos fotocatalíticos não foram capazes de induzir mutações genéticas quando a fotocatalise foi usada na presença da quantidade ideal de TiO₂, ou seja, 0,4 g L⁻¹.

1.3.2. Organofosforados

Os organofosforados são substâncias químicas formadas por ésteres do ácido fosfórico ou por seus derivados e são, em sua maioria, muito tóxicos. Essa classe química de inseticidas apresenta elevada lipossolubilidade, sendo absorvido pelo organismo humano: pela pele, especialmente pelas membranas mucosas, e pela via respiratória⁷⁰.

Esses inseticidas foram introduzidos no mercado por apresentar baixa persistência no meio ambiente. Entretanto, eles apresentam elevada toxicidade e vasta gama de atividades biológicas⁷¹. Além disso, é difícil observar a poluição de solos e de cursos de água por esses produtos químicos, exceto quando há um acidente grave ou um derrame intencional. Nestes casos, podem ser detectados a mortandade de peixes e de outras espécies marinhas⁷².

Os organofosforados são os principais responsáveis por intoxicação ocupacional no campo, causando impacto na saúde do trabalhador rural, principalmente pela exposição no momento de preparo da calda, na aplicação na lavoura e durante a colheita⁷³. A absorção destes inseticidas ocorre pelo trato gastrointestinal. Há grande incidência de intoxicação por razões acidentais, por suicídios e por homicídios.

Estes inseticidas agem como inibidores da colinesterase, ligando-se ao centro esterásico da molécula de acetilcolinesterase (AChE). Essa inibição ocorre porque os inseticidas deste grupo químico fosforilam a enzima, formando um complexo estável e, geralmente, irreversível⁷⁴. Seus efeitos tóxicos estão associados à inibição dessa enzima. A função da AChE é hidrolisar a acetilcolina, com esta sendo sintetizada nos neurônios a partir da acetilcoenzima e da colina. A acetilcolina é inativada por hidrólise sob ação da AChE, com formação de colina e de ácido acético, que, por sua vez, são reutilizados para formação da acetilcolina⁷⁵. A acetilcolina é o mediador químico necessário para a transmissão do impulso nervoso em todas as fibras pré-ganglionares do sistema nervoso autônomo (SNA), presentes em insetos e animais⁷⁶.

As manifestações de intoxicação por organofosforados estão associadas com o aumento da concentração de acetilcolina (neurotransmissor tóxico) nas fendas sinápticas. O excesso de acetilcolina gera efeitos periféricos e centrais, decorrentes da estimulação dos receptores muscarínicos e nicotínicos e no Sistema Nervoso Central (SNC)^{77,78}.

Os principais sintomas de intoxicações em mamíferos são caracterizados por lacrimejamento, salivação, sudorese, diarreia, tremores e distúrbios cardiorrespiratórios. Estes últimos são decorrentes de broncoconstrição, aumento das secreções brônquicas e bradicardia, bem como da depressão do SNC, sendo as principais causas de morbidade e da mortalidade.

O tratamento das intoxicações por organofosforados é realizado pelo uso do sulfato de atropina, um antídoto sintomático, e também são indicadas, com uma frequência menor, as oximas, que são antídotos específicos que agem reativando as colinesterases^{79,80}.

1.3.2.1. Clorpirifós

Clorpirifós (O,O-dietil, O-3,5,6-tricloro-2-piridilfosforotionato) é um inseticida e acaricida do grupo químico organofosforado, que foi inicialmente fabricado e comercializado em 1965 pela Dow Chemical Company, nos Estados Unidos, e, atualmente, é um dos cinco inseticidas mais vendidos, com mais de novecentas formulações⁷⁶. A formulação comercial mais conhecida do clorpirifós é Lorsban^{®74}, disponível como solução de clorpirifós a 48% (p/v)⁸¹. De acordo com registros estatísticos, são consumidos em torno de 50.000 kg deste inseticida por ano, a nível mundial⁷¹.

Clorpirifós pertence à classe toxicológica II, ou seja, é altamente tóxico aos seres vivos e ao meio ambiente, tendo ação inseticida, formicida e acaricida³⁹ e sendo empregado nas culturas de algodão, de batata, de café, de cevada, de citros, de feijão, de maçã, de milho, de soja, de tomate e de trigo. Sua fórmula estrutural é exibida na Figura 1.3:

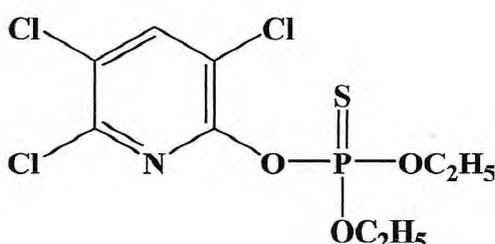


Figura 1. 3: Fórmula estrutural para o inseticida clorpirifós

Al-Meqbali et al.⁸² estudaram o comportamento do clorpirifós sobre HMDE por VPD e investigaram a influência do pH na faixa de 2 a 10, em meio de Tampão BR 0,01 mol L⁻¹, observando um pico de redução bem definido em -1,2 V (vs. Ag/AgCl/Cl⁻ sat.). Foi construída curva analítica para clorpirifós, na faixa de concentração de 9,70x10⁻⁷ mol L⁻¹ até 6,92x10⁻⁶ mol L⁻¹, sendo encontrando LD de 8,70x10⁻⁷ mol L⁻¹. O percentual de recuperação foi de 96,6%, com RSD de 0,12%. Foram realizadas determinações analíticas para amostras de água pura (amostras de laboratório), com recuperação de 99,7%, para amostras de águas subterrâneas e águas residuárias com recuperação de 97,3 % e 101,0%, respectivamente.

Manisankar et al.⁸³ investigaram o comportamento do clorpirifós sobre um eletrodo de carbono vítreo modificado com 3,4-etilenodioxitiofeno (PEDOT/GCE do inglês *poly 3,4-ethylenedioxythiophene modified glassy carbon electrode*). Eles desenvolveram um método

para determinação deste pesticida utilizando um sistema de análise em fluxo. Baseando-se em seu comportamento redox, foi aplicado um potencial de acumulação em um tempo pré-estabelecido e após esse período o fluxo foi interrompido, sendo iniciada a redissolução por VOQ. Foram variados o potencial e o tempo de acumulação, bem como o incremento de varredura, a amplitude de pulso e a frequência de aplicação de pulsos para a otimização das condições de redissolução. As melhores respostas foram obtidas em $E_{acu} = 0,3 \text{ V}$, $t_{acu} = 90 \text{ s}$, $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 50 \text{ mV}$ e razão do fluxo de 8 mL min^{-1} . O valor de LD obtido foi de $0,29 \mu\text{g L}^{-1}$. O método foi aplicado em amostras de solo e foi obtido um fator de recuperação de 93,5 %, com RSD 4,9%.

Prabhakar et al.⁷¹ investigaram um biossensor de DNA (do inglês, *deoxyribonucleic acid*) baseado no sulfato polianilina-polivinil, preso à fita dupla de DNA. Este biossensor foi utilizado na determinação de clorpirifós, e foi determinado um LD de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Os biossensores foram caracterizados usando VOQ, espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier, microscopia eletrônica de varredura e técnicas de impedância eletroquímica, apresentando estabilidade de, aproximadamente, seis meses.

Hildebrandt et al.⁸⁴ criaram um protótipo de biossensor para determinação de pesticidas neurotóxicos em amostras de água e de alimento. O biossensor amperométrico foi baseado em um eletrodo impresso com camada da enzima acetilcolinesterase. Foram testados parâmetros de qualidade, usando um metabólito do clorpirifós, o clorpirifós-oxon, como composto de referência. A taxa de concentração mais baixa detectada foi de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e a repetibilidade de 4,7% ($n = 5$). O método proposto foi aplicado em amostras de águas, de bebidas e de extratos vegetais, e a resposta foi comparada com cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa (CLAE-MS). Nessas amostras, o biossensor foi capaz de detectar concentrações do pesticida na ordem de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$.

Viswanathan et al.⁸⁵ trabalharam com um biossensor eletroquímico para determinação de clorpirifós, um dos inseticidas organofosforados mais comumente usados em culturas de vegetais. Monocamadas auto-organizadas de nanotubos de carbono de parede única, ligados a oligonucleotídeos de fita simples com terminações tiol sobre ouro, foram utilizadas para imobilização da enzima acetilcolinesterase. A utilização do biossensor foi baseada na reação enzimática da acetilcolina, que causou pequenas mudanças no pH nas proximidades da superfície do eletrodo. O clorpirifós foi determinado por meio da inibição da reação enzimática. O valor do LD calculado para Clorpirifós foi de $0,0004 \mu\text{g L}^{-1}$.

Guardino et al.⁸⁶ determinaram clorpirifós em amostras de ar, folhas e solo, presentes em uma estufa com plantação de tomates, e estabeleceram diferenças de desempenho entre os métodos de cromatografia em fase gasosa com detecção de nitrogênio e fósforo, (CG-DNP), CLAE e eletroforese capilar (EC), com o objetivo de avaliar o risco dos trabalhadores agrícolas à super exposição, devido à exposição ao ar e/ou contato com a pele com este inseticida. Os resultados obtidos mostraram que as três técnicas de análise podem ser utilizadas, embora apenas CG-DNP possa prever um limite operacional de detecção no ar. Os níveis de clorpirifós no ar são dependentes do tempo e da ventilação na estufa, enquanto que ele permanece por muito tempo nas superfícies das folhas e do solo. As amostras de ar foram analisadas pelas três técnicas instrumentais, apresentando valores de LD de 0,01, 0,2 e 1,0 mg m⁻³ para CG, CLAE e EC, respectivamente. Clorpirifós foi detectado por CG em todas as amostras de ar em até 24 h após a aplicação, e só foi detectado até 8 horas após a aplicação por CLAE e após 3 horas por EC. Por esses resultados, CG foi a técnica mais apropriada para determinação deste inseticida em níveis baixos de concentração.

Abu-Qare et al.⁸⁷ desenvolveram um método para separação e quantificação do inseticida clorpirifós, os seus metabólitos clorpirifó-oxon (O, O-dietil-O [fosfato] 3,5,6-tricloro-2-piridinil) e TCP (3,5,6-tricloro-2-piridinol). O método baseia-se no uso de extração em fase sólida e CLAE-UV com coluna de fase reversa C₁₈ com comprimento de onda variando entre 210 e 280 nm. Os compostos foram separados por eluição gradiente com uma taxa de fluxo variando de 1 mL a 1,7 mL min⁻¹ durante um período de 15 min. Os tempos de retenção variou 5,4-13,2 min. A relação entre as áreas dos picos e concentração foi linear num intervalo entre 0,2 e 2,0 µg mL⁻¹. Os limites de detecção variaram entre 0,02 e 0,15 µg mL⁻¹, enquanto que os limites de quantificação foram entre 0,15 e 0,20 µg mL⁻¹. A recuperação média nas amostras de plasma variou de 74,9% a 81,7%, e para amostras de urina foi de 77,8% a 83,3%.

Salm et al.⁸⁸ desenvolveram uma técnica de determinação simultânea de resíduos dos pesticidas organofosforados dimetoato, fention, diazinon e clorpirifós por CLAE com detector de espectrometria de massa, em amostras de sangue humano. Os pesticidas foram extraídos por um processo de precipitação de proteínas. Utilizou-se uma coluna Luna C₁₈ (30 mm x 2,0 mm, 3µm), com eluição gradiente, e fluxo de 0,4 mL⁻¹. O Tempo de retenção para clorpirifós foi de 5,30 minutos. A área do pico cromatográfico e a concentração dos pesticidas foram linear na faixa de concentração de 5,0x10⁻⁴ a 0,10 µg mL⁻¹ (r = 0,9920, n = 24). A exatidão e precisão do método foram avaliadas com resultados entre 96,6-106,1% e RSD < 10% respectivamente. O LQ determinado foi de 5,0x10⁻⁴ µg mL⁻¹ para todos os

pesticidas analisados. Em conclusão, o método descrito apresentou características de desempenho analítico, adequado para a quantificação destes pesticidas.

Samet et al.⁸⁹ investigaram a cinética da degradação eletroquímica de soluções aquosas contendo clorpirifós como compostos modelo de pesticidas organofosforados. O processo foi estudado no modo de polarização galvanostática em meio ácido usando diamante dopado com boro (BDD) como ânodo, e uma barra de carbono grafite como cátodo. A demanda química de oxigênio (DQO) medida durante o processamento permitiu a avaliação da cinética de decomposição da matéria orgânica e eficiência de corrente. Os resultados mostraram que a degradação deste pesticida depende da sua concentração inicial, densidade de corrente e temperatura. A taxa de remoção de DQO aumentou com a aplicação de densidade de corrente de até 20 mA cm^{-2} e diminuiu para valores mais elevados. As melhores condições obtidas para remoção de DQO sobre ânodo de DDB para degradar soluções de clorpirifós ($\text{DQO}_{\text{ini}} = 456 \text{ mgL}^{-1}$) foram observadas em 20 mA cm^{-2} e $70 \text{ }^\circ\text{C}$. Nestas condições o inseticida foi degradado em apenas 6 h de eletrólise. O ânodo de DDB, comparado com PbO_2 , mostrou uma taxa de oxidação e de eficiência de corrente superior as obtidas por PbO_2 nas mesmas condições operacionais, sugerindo que a oxidação anódica com BDD constitui um método viável para o tratamento de efluentes contaminados com clorpirifós e pesticidas relacionados.

Samet et al.⁹⁰ utilizaram um processo eletroquímico para a mineralização total das águas contaminadas com pesticidas organofosforados como clorpirifós. O processo foi estudado sobre polarização galvanostática usando ânodos de grafite de carbono e Nb/PbO_2 como cátodo. A cinética de decomposição da matéria orgânica e a eficiência de mineralização foram avaliadas por meio de medição da DQO. Foi investigada a influência dos parâmetros experimentais como a concentração inicial de clorpirifós, a densidade de corrente e temperatura no desempenho do processo eletroquímico. A taxa de degradação aumentou significativamente com o aumento da densidade de corrente e da temperatura e diminuiu com o aumento da concentração inicial dos poluentes. A melhor remoção de DQO foi de 76%, obtida com uma densidade de corrente de 50 mA cm^{-2} , $\text{DQO}_{\text{ini}} = 450 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ e a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ em 10 h de eletrólise.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo geral

Utilização da voltametria de onda quadrada como ferramenta para o desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas na determinação de resíduos dos herbicidas diquat e paraquat e do inseticida clorpirifós, em amostras ambientais (águas naturais) e em amostras de alimentos (batata, abacaxi, laranja, tangerina, limão, etc.) produzidos e/ou comercializados pelo Estado do Ceará, utilizando diferentes superfícies eletródicas (eletrodos sólidos de amálgama de prata, diamante dopado com boro e eletrodo de gota suspensa de mercúrio).

1.4.2. Objetivos específicos

1. Construção dos eletrodos sólidos de amálgama de prata (AgSAE);
2. Caracterização física da superfície eletródica e a determinação das áreas geométricas dos AgSAE;
3. Montagem do eletrodo de diamante dopado com boro e determinação de sua área eletroativa;
4. Otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos, onde se obtém uma melhor resposta voltamétrica, tanto em intensidade de corrente de pico quanto em perfil voltamétrico, para o desenvolvimento de procedimentos analíticos para determinação dos pesticidas em eletrólito de suporte;
5. Construção de curvas analíticas e cálculos dos limites de detecção, de quantificação e eficiência dos procedimentos;
6. Aplicação dos procedimentos otimizados em amostras de alimentos produzidos e comercializados em larga escala pelo Estado do Ceará;
7. Aplicação dos procedimentos otimizados em amostras ambientais (águas naturais).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Célula Eletroquímica

Para a realização dos experimentos foram utilizadas duas células eletroquímicas: uma para ativação e condicionamento dos eletrodos de trabalho e outra para os experimentos voltamétricos, ambas feitas em vidro de borossilicato, com capacidade de 40 mL e com tampas em Teflon[®] dotadas de orifícios para entrada dos eletrodos, como representada na Figura 2.1.

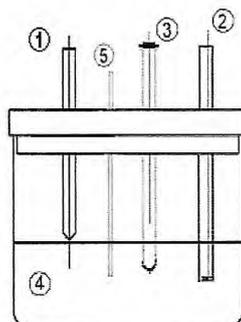


Figura 2. 1: Célula eletroquímica: (1) eletrodo auxiliar ou contra-eleto, (2) eletrodo de trabalho, (3) eletrodo de referência (Ag/AgCl/Cl 3,0 mol L⁻¹), (4) solução eletrolítica, (5) entrada de gases.

2.2. Eletrodos

2.2.1. Eletrodos de trabalho

Os eletrodos de trabalho empregados foram:

- ✓ Eletrodo sólido de amálgama de prata (AgSAE), de área geométrica de 0,062 cm².
- ✓ Eletrodos de Diamante Dopado com Boro, um de procedência LAS-INPE (Laboratório Associado de Sensores e Materiais (LAS) – Instituto de Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) em São José dos Campos – SP), com teor de boro de 20.000 ppm, área ativa de ≈0,4 cm². O outro fabricado pelo *Centre Suisse d'Electronique et d'Microtechnique*, Neuchâtel, Suíça, com teor de boro de 8.000 ppm, com área ativa de ≈0,71 cm².
- ✓ Eletrodo de mercúrio modelo VA Stand 663 (Metrohm), operado no modo de gota pendente de mercúrio (HMDE), do inglês "*Hanging Mercury Drop Electrode*", com área geométrica 0,52 mm².

2.2.2. Eletrodo auxiliar

- ✓ Para os experimentos utilizando os eletrodos de diamante e de amálgama, o eletrodo auxiliar foi constituído de um fio de platina (procedência Heraeus Vectra com pureza de 99,5%), confeccionado no próprio laboratório.
- ✓ No sistema HMDE foi usado um eletrodo de carbono vítreo na forma de cilindro com 65 mm de comprimento e diâmetro de 2 mm da Metrohm⁹¹ como eletrodo auxiliar.

2.2.3. Eletrodo de referência

Em todos os experimentos o eletrodo de referência empregado foi o eletrodo de Ag/AgCl/Cl⁻ 3,0 mol L⁻¹, confeccionado no próprio laboratório.

2.2.4. Eletrodo Sólido de Amálgama de Prata (AgSAE)

2.2.4.1. Preparação

Os AgSAEs foram construídos com uma mistura de mercúrio líquido e pó de prata (Merck, pureza 99,9%), na proporção 1:1. O pó de prata e o mercúrio foram amalgamados de forma mecânica, pela maceração de ambos, em um cadinho de vidro (usado em consultório odontológico), até formação de uma massa com características de massa plástica. Após o processo de homogeneização, a massa final foi inserida e compactada em um capilar de vidro^{92,93}. O contato elétrico foi realizado utilizando-se cola prata e um fio de cobre. Uma representação gráfica do AgSAE é mostrado na Figura 2.2.

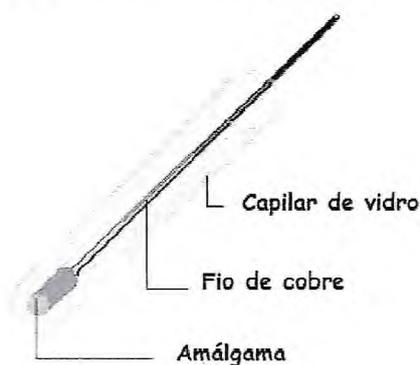


Figura 2. 2: Desenho esquemático do AgSAE.

2.2.4.2. Caracterização

A superfície eletródica foi caracterizada, em relação à sua morfologia e composição química, utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) e energia dispersiva de raios-X (EDX), onde foram avaliadas as composições e a proporção dos elementos presentes na amálgama preparada.

2.2.4.3. Ativação do AgSAE

Antes da utilização do AgSAE, ou após pausas superiores a uma hora, o AgSAE foi submetido a um pré-tratamento para a ativação e/ou renovação da superfície eletródica. Este pré-tratamento consistiu na aplicação de um potencial fixo de -2,2 V em uma solução contendo KCl 0,2 mol L⁻¹, para remoção de óxidos superficiais e ou a remoção de espécies adsorvidas à superfície eletródica.

2.2.5. Eletrodo de Diamante Dobado com Boro (EDDB)

2.2.5.1. Dopagem

Os filmes de diamante dopado com boro, produzidos no LAS-INPE, foram crescidos sobre substrato de silício por deposição química em fase de vapor em um reator de filamento quente⁹⁴. Na montagem dos EDDBs, os filmes foram embutidos em substrato de Teflon[®] de forma que apenas a face superior do filme ficasse exposta (Figura 2.3.(A)). O contato elétrico foi feito com um fio de cobre, em contato com a face inferior da base de silício e aderida por meio de cola condutora de prata. Em seguida, o eletrodo foi coberto por resina epóxi, com o intuito de isolar o filme, permitindo que apenas a superfície do EDDB ficasse exposta.

O eletrodo com filme de diamante dopado com boro, fabricado pelo *Centre Suisse d'Electronique et d'Microtechnique*", Neuchâtel, Suíça, foi montado como mostrado na Figura 2.3.(B), onde uma placa de DDB foi cortada e aderida por meio de cola condutora de prata a uma placa de cobre, similar àquelas empregadas em circuito eletrônico, a qual foi isolada do meio utilizando-se resina epóxi, deixando exposta apenas a superfície ativa do diamante.

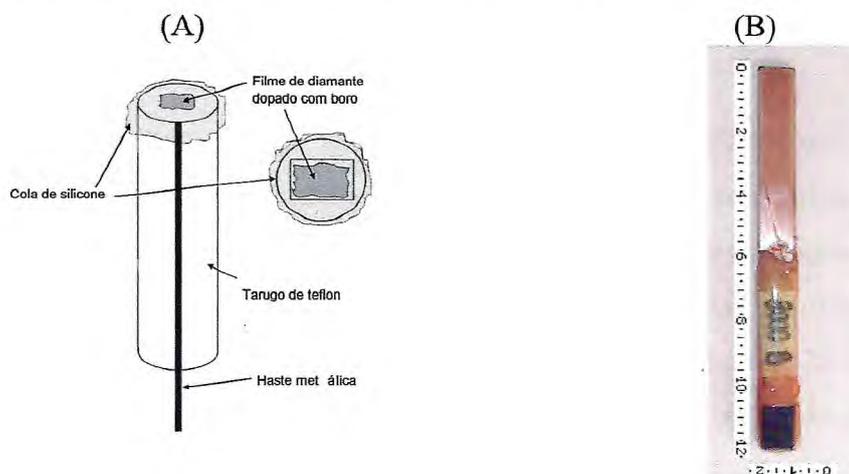


Figura 2. 3: (A): Representação esquemática do EDDB, filme de diamante procedência LAS-INPE. (B): Fotografia do EDDB procedência *Centre Suisse d'Electronique et d'Microtechnique*⁹⁵.

2.2.5.2. Ativação do EDDB

LAS-INPE

As terminações de hidrogênio na superfície do eletrodo de diamante dopado com boro determinam muito de suas características, como hidrofobicidade e a condutividade, características importantes para sua aplicação em eletroquímica e eletroanalítica. Em contrapartida, terminações de oxigênio tornam a superfície hidrofílica e com baixa condutividade, o que dificulta a etapa de transferência de carga⁹⁶.

Por isto, inicialmente, o EDDB passou por um tratamento de ativação da superfície eletródica⁹⁷, onde foi submetido a uma polarização anódica durante 3 minutos, seguida por uma polarização catódica durante 10 minutos, ambos a 500 mA cm^{-2} em solução renovada de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Antes de cada série de experimentos, voltametrias cíclicas a 100 mV s^{-1} por 20 ciclos, foram realizadas entre $1,0 \text{ V}$ a $-1,3 \text{ V}$, também em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para promover a estabilização da superfície eletródica e uma melhor definição dos perfis voltamétricos do analito de interesse⁹⁸.

Centre Suisse d'Electronique et d'Microtechnique

Para a realização dos experimentos, o EDDB foi submetido a um pré-tratamento de condicionamento e limpeza, antes das medidas. Este pré-tratamento também foi realizado em duas etapas: (a) o EDDB foi polarizado anodicamente em meio de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ em potencial de $3,0 \text{ V}$, durante 15 s , (b) em seguida foi polarizado catodicamente em solução renovada de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a um potencial de $-3,0 \text{ V}$, durante 30 s ⁹⁹.

2.2.5.3. Estimativa da área eletroativa para EDDB

A estimativa da área eletroativa do EDDB foi realizada utilizando-se uma solução contendo $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito de suporte. A esta solução foi borbulhado N_2 por 5 minutos antes das medidas eletroquímicas para remoção de oxigênio. Em seguida, experimentos de Voltametria Cíclica, no intervalo de potencial de $-0,10 \text{ V}$ a $0,7 \text{ V}$, foram realizados em velocidades de varredura de 25 a 500 mV s^{-1} . Antes de cada medida, a solução era submetida à agitação magnética, a fim de promover a remoção de espécies adsorvidas à superfície eletródica.

2.3. Reagentes e Soluções

2.3.1. Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de pureza analítica (PA). A Tabela 2.1 apresenta os reagentes utilizados com as suas respectivas procedências e grau de pureza. Os pesticidas utilizados neste trabalho são apresentados na Tabela 2.2.

Tabela 2. 1: Procedência e pureza dos reagentes utilizados.

Reagente	Fórmula química	Procedência	Pureza%
Pó de prata	Ag (partículas de 5 a 8 μm de diâmetro)	MERCK®	99,9
Mercúrio	Hg	VETEC®	99,9
Sulfato de sódio	Na_2SO_4	VETEC®	99,0
Ácido Bórico	H_3BO_3	VETEC®	99,5
Ácido Fosfórico	H_3PO_4	SYNTH®	85,0
Ácido Acético	CH_3COOH	VETEC®	99,7
Ácido Clorídrico	HCl	SYNTH®	37,0
Ácido Nítrico	HNO_3	VETEC®	65,0
Etanol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	VETEC®	99,8
Hidróxido de sódio	NaOH	SYNTH®	97,0
Ácido sulfúrico	H_2SO_4	SYNTH®	95,0
Cloreto de Potássio	KCl	VETEC®	99,0
Ferrocianeto de potássio	$\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	VETEC®	98,5
Tetraborato de sódio	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$	VETEC®	99,0
Perclorato de sódio	NaClO_4	VETEC®	98,0

Tabela 2. 2: Procedência e pureza dos pesticidas utilizados.

Características	Diquat*	Paraquat	Clorpirifós
Nomenclatura (IUPAC)	brometo de 1,1'-etilen-2,2'-bipiridílio	1,1'-dimetil-4,4'-dicloreto de dipiridílio	O,O-dietil, O-3,5,6-tricloro-2-piridilfosforotionato
Nome comercial	Reglone®	Gramoxone®	Lorsban®
Formula química	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{N}_2\text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2$	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2$
Massa molar (g mol^{-1})	362,06	257,16	350,60
Grupo químico	Bipiridílio	Bipiridílio	Organofosforado
Fornecedor	Riedel-de Haën®	Sigma Aldrich®	Riedel-de Haën®
Pureza (%)	99,4	98,0	99,9

* Uso de amostra comercial de diquat ($\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{N}_2$ 344,1 g mol^{-1} , $d = 1,27 \text{ g mL}^{-1}$, $T = 21,7\%$), gentilmente cedida pela Syngenta.

O gás nitrogênio utilizado nos experimentos era de procedência da White Martins de pureza 4.6 (99,996%).

2.3.2. Soluções

As soluções foram preparadas em água purificada por um sistema Milli-Q (Millipore, Inc.), apresentando condutividade $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$, exceto as soluções estoque do inseticida clorpirifós que foram solubilizadas com etanol absoluto (99,8%). Todo o material utilizado foi cuidadosamente lavado com água/detergente/água, depois imerso em solução sulfonítrica ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_3$ 1:1) e posterior lavagem com água destilada e purificada.

A solução tampão Britton-Robbinson (BR) foi preparada pela mistura dos ácidos bórico, acético e fosfórico, todos com concentração de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$. Considerando a soma das concentrações dos componentes do Tampão BR, estimou-se uma concentração total para esse eletrólito de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O pH foi ajustado com solução de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

Para o herbicida diquat, foram preparadas soluções estoque solubilizadas em água nas concentrações de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, para otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos, com diluições para $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, para construção das curvas analíticas, por adições sucessivas de alíquotas de $100 \mu\text{L}$ na construção das curvas na faixa de potencial de $-0,3 \text{ V}$ a $-0,12 \text{ V}$ e adições sucessivas de alíquota de $50 \mu\text{L}$, na construção das curvas na faixa de potencial de $-0,3 \text{ V}$ a $-0,9 \text{ V}$.

Para o herbicida paraquat foram preparadas soluções estoque solubilizadas em água nas concentrações de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos, com diluições para $5,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para construção das curvas analíticas, por adições sucessivas de $50 \mu\text{L}$ para as medidas por VOQ.

Para o inseticida clorpirifós foram preparadas soluções estoque solubilizadas em etanol absoluto nas concentrações de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos, com diluição em etanol para $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para construção das curvas analíticas, por adições sucessivas de $50 \mu\text{L}$ para as medidas por VOQ.

2.4. Instrumentação

Os estudos eletroquímicos foram realizados utilizando-se um potenciostato/galvanostato AUTOLAB modelo PGSTAT30 (Eco Chemie) acoplado a um microcomputador, usando o programa GPES versão 4.9 como programa de aquisição e tratamento de dados.

Todas as pesagens foram realizadas em uma balança analítica Kern[®], modelo 410 com precisão de $\pm 0,1$ mg.

Na preparação das amostras de alimentos foi usada uma centrífuga Centribio, modelo 80-2B.

As análises morfológicas e de elementos, na caracterização do processo de amalgamação do AgSAE, foram realizadas pelas técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e energia dispersiva de raios-X (EDX), respectivamente, utilizando microscópio eletrônico modelo 440 (LEO) com detector de SiLi acoplado a microanalisador de raios-X.

As micropipetas usadas na adição de padrões para construção das curvas analíticas foram da marca Kacil e Digipet, de volumes variáveis com capacidade de 5 a 40 μL , 20 a 200 μL e de 100 a 1000 μL .

Foi utilizado pHmetro modelo B474 (Micronal) para ajuste do pH das soluções eletrolíticas.

Os ensaios cromatográficos foram realizados em:

1. Um sistema CLAE Shimadzu modelo SCL-10 AVP com detector espectrofotométrico UV/Vis modelo SPD-10 AVP. A coluna cromatográfica utilizada foi STR ODS-II LC-18 (250 x 4,6 mm, com tamanho de partícula de 5 μm).
2. Um sistema de cromatografia gasosa (GC - Trace- Thermo Finnigan) equipado com um injetor split/splitless e detector de fósforo e nitrogênio (DNP). Foi utilizada uma coluna OV-5 (5% difenil, 95 % dimetilpolisiloxano) de 30 m x 0,25 mm DI (diâmetro interno) x 0,25 μm de espessura do filme.

2.5. Metodologia de trabalho

A VOQ foi estabelecida para o desenvolvimento deste trabalho em função da sensibilidade que proporciona para o desenvolvimento de procedimentos eletroanalíticos. Assim para todos os pesticidas estudados foram inicialmente determinados os parâmetros experimentais e voltamétricos, buscando encontrar as melhores condições experimentais para as construções das curvas analíticas e desenvolvimento de uma metodologia precisa e eficiente. Durante o desenvolvimento de uma metodologia para determinação eletroanalítica de quaisquer espécies orgânicas, devem-se avaliar condições experimentais (eletroatividade, eletrólito de suporte, concentração hidrogeniônica do meio) e voltamétricas (amplitude de aplicação de pulsos de potenciais (a), frequência de aplicação dos pulsos (f) e incremento de

varredura (ΔE_s), onde é possível obter a melhor resposta, em termos de intensidade de corrente e perfil voltamétrico.

2.5.1. Diquat

2.5.1.1. Avaliação dos parâmetros experimentais e voltamétricos

Voltametria cíclica

Inicialmente foram realizadas varreduras de potenciais por voltametria cíclica (VC), a fim de se observar a presença de processos referentes à redução e ou oxidação de diquat sobre superfície de AgSAE e EDDB. A eletroatividade para este herbicida foi testada utilizando $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito de suporte. Um dos motivos pelos quais esse sal foi testado foi o fato de este apresentar ótimos resultados em estudos realizados com eletrodos de amálgama. Os ensaios foram realizados em uma faixa de potencial de $-0,3 \text{ V}$ a $-1,3 \text{ V}$, utilizando-se diferentes velocidades de varreduras ($10, 25, 50, 100, 150$ e 200 mV s^{-1}). As respostas voltamétricas foram utilizadas para especulações sobre o comportamento do diquat, permitindo avaliar o tipo de transporte de massa no processo de redução deste herbicida e o tipo de processo redox.

Para experimentos sobre superfície de AgSAE, foi borbulhado gás nitrogênio por 5 minutos após cada medida eletroquímica, para remoção de oxigênio dissolvido na solução e limpeza da superfície eletródica. Para experimentos sobre superfície de EDDB a limpeza da superfície eletródica foi realizada pela agitação magnética por 30 s entre as medidas eletroquímicas.

Voltametria de onda quadrada

A VOQ foi utilizada para estudos da reação de redução eletroquímica do diquat. Inicialmente, foram realizados experimentos nos seguintes eletrólitos de suporte: Tampão BR (Britton-Robinson) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 6,0, Na_2SO_4 , NaClO_4 todos em uma concentração de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com concentração de diquat de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os experimentos foram realizados no mesmo intervalo de potencial usado para os experimentos de VC.

Nos estudos iniciais utilizando VOQ, em que é realizada a investigação dos parâmetros experimentais e voltamétricos, são, usualmente, utilizados os parâmetros $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ como condições experimentais da técnica, por serem essas as condições que fornecem melhores perfis voltamétricos baseados em simulações

teóricas¹⁰⁰. Assim, no estudo de variação de frequência de aplicação de pulsos, mantém-se constante a amplitude de potencial de 50 mV e o incremento de varredura de 2 mV. Adicionalmente, para variação da amplitude de potencial, utiliza-se a frequência de aplicação de pulsos de 100 s⁻¹ e o incremento de varredura de 2 mV. Da mesma forma, para variação deste último, aplica-se frequência de aplicação de pulsos de 100 s⁻¹ e amplitude de pulso de 50 mV. Essas condições foram aplicadas nos três pesticidas estudados.

No desenvolvimento de uma metodologia para análise de pesticidas, inicialmente é realizada a escolha do eletrólito de suporte, onde a intensidade de corrente de pico seja a máxima possível e que os picos de redução apresentem perfil voltamétrico bem definidos. Em seguida, a próxima etapa é variar o pH do eletrólito a fim de se obter o valor no qual a corrente elétrica apresente valor máximo e ainda obter informações acerca de possíveis protonações envolvidas no sistema. Diquat apresentou melhor resposta voltamétrica em meio de Na₂B₄O₇. Não foi realizada variação de pH, nesse eletrólito, mas variou-se sua concentração no meio. Assim, foram utilizadas soluções de Na₂B₄O₇ nas concentrações 0,01; 0,025 e 0,05 mol L⁻¹. Nesse estudo, utilizou-se diquat 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹. Assim, foram utilizadas soluções de Na₂B₄O₇ nas concentrações 0,01; 0,025 e 0,05 mol L⁻¹.

Os parâmetros voltamétricos foram investigados, com frequências de aplicação de pulsos variando de 10 a 400 s⁻¹. Para a amplitude de pulsos, variou-se de 10 a 70 mV. De forma semelhante, o incremento de varredura foi variado de 2 a 10 mV.

2.5.1.2. Desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de diquat sobre AgSAE

Após a otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos foram construídas duas curvas analíticas com regiões de varredura de potenciais diferentes. Todas as curvas analíticas e de recuperação foram construídas utilizou-se uma solução estoque com 1,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ de diquat.

A primeira curva analítica foi construída na região de potenciais onde se observa a presença dos dois picos de redução, de -0,3 V a -1,3 V, com adições sucessivas de alíquotas de 100 µL, variando-se a concentração de 9,901x10⁻⁷ mol L⁻¹ até 10,890x10⁻⁶ mol L⁻¹ em meio de Na₂B₄O₇ 0,01 mol L⁻¹.

A segunda curva foi construída na região de potencial do pico com maior intensidade, de -0,3 V a -0,9 V, também chamado de pico 1, com adições sucessivas de alíquotas de 50 µL, com concentração variando de 4,975x10⁻⁷ mol L⁻¹ até 5,660x10⁻⁶ mol L⁻¹. Com as curvas

analíticas estabelecidas, foram determinados os valores de limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) e os percentuais de recuperação em eletrólito de suporte preparado com água Milli-Q. As curvas de recuperação foram construídas pelo método da adição de padrões numa faixa de concentração intermediária à das curvas analíticas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Os limites de detecção e de quantificação, testes de repetibilidade e de precisão intermediária, bem como os fatores de recuperação, foram calculados da mesma forma para todos os pesticidas estudados e os procedimentos são descritos abaixo.

Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Após a construção das curvas analíticas, foi possível avaliar o grau de linearidade entre corrente de pico e concentração adicionada e, calcular os valores de limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) do equipamento, seguindo-se os critérios definidos pela IUPAC¹⁰¹. O LD é a menor concentração de um analito que dará um sinal igual a três vezes o nível de ruído da linha de base. Para todos os pesticidas estudados o LD foi calculado segundo a Equação 2.1.

$$LD = \frac{3S_b}{s} \quad \text{Equação 2. 1}$$

onde S_b é o desvio padrão da média de medidas do branco (neste caso utilizou-se a média de 10 brancos) e s é a inclinação da reta da curva analítica. Nestas condições, a confiabilidade de LD é de 95 %. As medidas das soluções do eletrólito de suporte avaliam a resposta da metodologia para impurezas ou espécies interferentes e a corrente capacitiva do sistema.

O limite de quantificação (LQ) também foi calculado, representando a menor concentração do analito que pode ser determinada com nível aceitável de precisão e veracidade, utilizando determinado procedimento experimental¹⁰², sendo dado por:

$$LQ = \frac{10S_b}{s} \quad \text{Equação 2. 2}$$

Precisão

Para avaliar a precisão da metodologia, experimentos de repetibilidade e precisão intermediária foram realizados. A precisão das correntes de pico foi avaliada, e o desvio padrão relativo (RSD do inglês *relative standard deviation*) foi calculado pela equação 2.3.

$$RSD = \frac{S_b}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{Equação 2. 3}$$

onde \bar{X} é a média dos valores das correntes de pico e S_b é o desvio padrão das médias.

Recuperação

Para avaliar a seletividade e eficiência da metodologia desenvolvida foram realizados testes de recuperação, onde é possível se avaliar como a presença de quaisquer interferentes pode provocar alterações nos resultados experimentais (efeito de matriz). Neste método quantidades conhecidas do analito são adicionadas a uma amostra desconhecida e do aumento do sinal analítico é deduzido quanto do constituinte estava presente na amostra original¹⁰³.

Assim uma concentração conhecida do pesticida foi adicionada à solução do eletrólito puro e então analisada. A taxa de recuperação foi avaliada utilizando-se o método gráfico, onde o eixo x fornece a concentração de padrão adicionado ao eletrólito de suporte e a extrapolação neste eixo mostra a concentração desconhecida. A taxa de recuperação é calculada como a relação percentual entre as quantidades recuperadas e adicionadas, de acordo com a relação¹⁰⁴.

$$Re\ c = \frac{[recuperada]}{[adicionada]} \times 100 \quad \text{Equação 2. 4}$$

2.5.1.3. Aplicação da metodologia desenvolvida para determinação de diquat sobre AgSAE

2.5.1.3.1. Determinação de diquat em amostras de águas naturais

Parte deste trabalho foi desenvolvida no Grupo de Materiais Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos (GMEME) do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo. Nesta ocasião avaliou-se a aplicabilidade da metodologia proposta, analisando os efeitos de interferentes usando amostras de água coletada no Rio Jacaré, localizado na cidade de Brotas - SP. O ponto em que foi coletada a amostra fica fora da cidade de Brotas e é relativamente livre de poluição urbana ou industrial, porém é próximo à região agrícola.

Após a coleta, as amostras foram armazenadas em geladeira para conservação até a realização das análises. Foram construídas curvas analíticas e de recuperação, com adições sucessivas de 50 μL de solução estoque de diquat $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e, como meio eletrolítico utilizou-se 9 mL $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e 1 mL da água de rio na célula eletroquímica.

2.5.1.3.2. Determinação de diquat em amostras de batatas

Amostras de batata foram obtidas em comércio local na cidade de Fortaleza-CE e foram guardadas na geladeira até utilização. No preparo da amostra, foram pesadas 10 g de batata e acrescentados 20 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Esta solução foi transferida para um funil de decantação no qual foram adicionados 20 μL de diquat $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, obtendo-se uma concentração de diquat em torno de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A “solução de batata contaminada” (10 g batata + 20 mL $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ + 20 μL diquat) foi mecanicamente agitada por 30 minutos. Após este tempo, foram retirados 30 mL da parte líquida e colocados em tubos de Falcon[®] e centrifugada por 15 minutos a 1500 rotações por minuto (rpm). Após centrifugação, 1 mL do sobrenadante foi adicionado à célula eletroquímica, juntamente com 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, para a realização dos experimentos de VOQ. Em seguida, foram construídas curvas de recuperação pelo método da adição de padrão, com concentração de diquat variando de $9,901 \times 10^{-7}$ até $2,913 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em que foram realizadas adições sucessivas de alíquotas de 50 μL de estoque de diquat $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

2.5.1.4. Desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de diquat sobre EDDB

A otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos seguiu a mesma seqüência descrita no item 2.5.1.1..

Após a otimização experimental e voltamétrica para determinação analítica de diquat sobre superfície de EDDB, curvas analíticas foram construídas usando-se adições sucessivas de alíquotas de 10 μL de uma solução estoque $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de diquat, com varreduras de potenciais entre -0,3 V até -0,9 V. Assim, o intervalo de concentração foi avaliado de $9,990 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Foram determinados os valores de LD, LQ e o percentual de recuperação em eletrólito de suporte preparado com água Milli-Q, conforme procedimento descrito em 2.5.1.2.. Todas as curvas foram construídas em triplicata.

2.5.1.5. Aplicação da metodologia desenvolvida para determinação de diquat sobre EDDB

2.5.1.5.1. Determinação de diquat em amostras de batatas

A metodologia aplicada para a determinação analítica de diquat utilizando-se EDDB foi aplicada em amostras de batata. As amostras utilizadas foram preparadas de maneira

similar ao procedimento empregado na quantificação de batata utilizando-se a superfície de AgSAE, descrito no item 2.5.1.3.2.. As curvas foram preparadas em triplicata.

2.5.1.5.2. Determinação de diquat em amostras de limão, laranja, tangerina, abacaxi e caldo de cana

Todas as amostras empregadas foram obtidas comercialmente na cidade de Fortaleza-CE.

Para as amostras de limão, de laranja e de tangerina, o suco foi obtido usando um espremedor de frutas manual. Para o abacaxi, o suco foi obtido cortando-se pedaços da fruta, que foram posteriormente triturados até obtenção do suco. O caldo da cana de açúcar foi obtido usando uma máquina extratora de caldo, usada em lanchonete. Todas as amostras foram filtradas em papel de filtro quantitativo, faixa preta (porosidade 28 μm , permeabilidade 55 L/s m^2). Após filtração, 30 mL dos sucos (puros, ou seja, sem adição de água) foram transferidos para um tubo de Falcon[®] e centrifugadas por 10 minutos a 4000 rpm. Individualmente, 4 mL de cada sobrenadante foram transferidos para um tubo de Falcon[®] e artificialmente contaminados com 80 μL de diquat $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ($2,941 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e submetido a agitação por mais 30 minutos. Uma alíquota de 15 μL de cada amostra artificialmente contaminada foi adicionada à célula eletroquímica contendo 10 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Curvas de recuperação para todas as amostras foram construídas utilizando-se adições sucessivas de 10 μL de diquat $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Todas as curvas foram construídas em triplicata e a concentração recuperada foi calculada de acordo com procedimento descrito em 2.5.1.2..

2.5.1.6. Determinação de diquat por cromatografia líquida de alta eficiência

Os experimentos por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta (CLAE-UV) foram baseados em trabalhos de Chichila e Walter¹⁰⁵. A fase móvel utilizada foi 40% acetonitrila e 60% de NaCl $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,2 ajustado com HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. O fluxo da fase móvel foi de 1 mL min^{-1} e o volume de injeção de amostra foi de 20 μL . Foram construídas curvas analíticas variando-se a concentração de diquat de $4,975 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $4,762 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

2.5.2. Paraquat sobre superfície de EDDB

2.5.2.1. Avaliação dos parâmetros experimentais e voltamétricos

Voltametria cíclica

Nos experimentos iniciais utilizou-se a técnica de voltametria cíclica para observação dos processos redox do paraquat em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Os ensaios foram realizados em uma faixa de potencial de $-0,3 \text{ V}$ até $-1,3 \text{ V}$, utilizando-se velocidades de varreduras de 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 e 250 mV s^{-1} .

Voltametria de onda quadrada

A VOQ foi utilizada para estudos da reação de redução deste herbicida, utilizando-se inicialmente os seguintes eletrólitos de suporte: Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7), Na_2SO_4 , Na_2ClO_4 todos na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (esses sais são derivados de ácidos e bases forte, por isso devem ter pH próximo da neutralidade) e $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com pH em torno de 9. Na avaliação dos parâmetros usou-se uma concentração de paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ na célula eletroquímica. Os experimentos de VOQ foram realizados no mesmo intervalo de potencial empregado pela técnica de VC.

Também para paraquat, o meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ foi o melhor eletrólito de suporte, por apresentar a maior intensidade de corrente e melhor perfil voltamétrico. Assim, variou-se a força iônica do meio utilizando-se concentrações 0,01; 0,025 e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$.

Para estudos dos parâmetros voltamétricos também foi usada uma concentração de paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ na célula eletroquímica e estes foram avaliados como descrito no item 2.5.1.1.

2.5.2.2. Desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de paraquat

Após a otimização dos parâmetros, curvas analíticas foram construídas no intervalo de potencial de $-0,3 \text{ V}$ a $-0,9 \text{ V}$, usando-se uma solução estoque de paraquat a $5,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ com dez adições sucessivas de alíquotas de $50 \mu\text{L}$ com concentração variado de $2,488 \times 10^{-9}$ a $2,381 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Foram determinados os valores de LD, de LQ e do percentual de recuperação em eletrólito de suporte, como descrito no item 2.5.1.2. Todas as curvas foram construídas em triplicata.

2.5.2.3. Aplicação da metodologia para a determinação de paraquat

2.5.2.3.1. Determinação de paraquat em amostras de água de coco

Para determinação de paraquat em água de coco, utilizou-se procedimento semelhante ao aplicado em determinação de diquat sobre AgSAE para análise de água de rio (item 2.5.1.3.1.). Assim, na célula eletroquímica foram adicionados 9 mL $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ + 1 mL de água de coco previamente filtrados em papel de filtro quantitativo faixa preta (porosidade 28 μm , permeabilidade 55 L/s m^2). O procedimento utilizado foi semelhante ao empregado na recuperação em eletrólito de suporte preparado com água Milli-Q, com adições sucessivas de 50 μL de paraquat $5,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. As curvas foram construídas em triplicata e a concentração recuperada, bem como o fator de recuperação, foi calculada como descrito no item 2.5.1.2..

2.5.2.3.2. Determinação de paraquat em suco de acerola

As acerolas utilizadas foram obtidas comercialmente na cidade de Fortaleza-CE. Para obtenção do suco, estas foram cortadas e trituradas até sua obtenção. O suco obtido foi diluído na proporção de 1:1 com água, depois foi filtrado em papel de filtro quantitativo faixa preta (porosidade 28 μm , permeabilidade 55 L/s m^2) e 30 mL do filtrado foi transferido para um tubo de Falcon[®] e centrifugado por 10 minutos a 4.000 rpm. Foram retirados 4 mL do sobrenadante e transferidos para um tubo de Falcon[®] que foi dopado pela adição de 80 μL de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de uma solução estoque de paraquat e submetidos à agitação por 30 minutos. Do suco contaminado artificialmente (dopado), foi retirada uma alíquota de 15 μL e adicionado à célula eletroquímica contendo 10 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, o que corresponderia à concentração de paraquat na célula eletroquímica de $2,941 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, curvas de recuperação foram construídas em triplicata e a concentração recuperada foi calculada como descrito no item 2.5.1.2..

2.5.2.4. Determinação de paraquat por cromatografia líquida de alta eficiência

Os ensaios por CLAE-UV para quantificação de paraquat foram baseados nos trabalhos de Nagayama et. al.¹⁰⁶ e Ibanez et al.¹⁰⁷. Nesses experimentos, utilizou-se como fase móvel 50% de acetonitrila e 50% de uma solução com concentração de 1% de ácido acético com fluxo de 1 mL min^{-1} . Curvas analíticas foram construídas, variando-se a concentração de paraquat de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ até $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

2.5.3. Clorpirifós sobre superfície de HMDE

2.5.3.1. Avaliação dos parâmetros experimentais e voltamétricos

Antes da realização dos ensaios eletroquímicos, borbulhou-se gás nitrogênio por oito minutos para remoção de oxigênio dissolvido na solução.

Voltametria cíclica

Foram realizados experimentos de voltametria cíclica para observação dos processos redox do clorpirifós em Tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 2). Os experimentos foram realizados utilizando-se uma concentração de clorpirifós de 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ em um intervalo de potencial de -0,80 V até -1,25 V, em velocidades de varreduras variando de 10 a 300 mV s⁻¹.

Voltametria de onda quadrada

A VOQ foi utilizada inicialmente para estudos do comportamento redox deste inseticida pela avaliação das componentes de correntes da reação de redução do clorpirifós e para a otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos. Os experimentos foram realizados na mesmo intervalo de potencial usado para os experimentos de VC, sendo aplicado $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. Na sequência, foi avaliada a eletroatividade deste inseticida nos seguintes eletrólitos de suporte: Tampão BR 0,1 mol L⁻¹, Na₂SO₄ e KCl, a 0,1 mol L⁻¹, todos contendo 25% de etanol (v/v). Os eletrólitos utilizados tiveram seu pH adequadamente ajustado com o ácido ou base correspondente para pH 2. As análises foram realizadas também com clorpirifós 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹.

Após a escolha do eletrólito de suporte [Tampão BR 0,1 mol L⁻¹ + 25% de etanol (v/v)], variou-se o pH entre 2 e 10. O pH 2 apresentou a maior corrente de pico e o melhor perfil voltamétrico, sendo, portanto, o escolhido para o desenvolvimento da metodologia. Assim, em pH 2 foi realizado um estudo de avaliação do potencial e do tempo de acumulação. Variou-se potenciais no intervalo de 0,0 a -1,0 V. Nesta perspectiva, foi analisado também o tempo de acumulação de 15 a 120 s.

Para estudo dos parâmetros voltamétricos foi usada uma concentração de clorpirifós 1,0x10⁻⁶ mol L⁻¹ na célula eletroquímica e estes foram avaliados como descrito no item 2.5.1.1..

2.5.3.2. Desenvolvimento da metodologia para a determinação de clorpirifós

Após otimização dos parâmetros, curvas analíticas foram levantadas, usando-se doze adições de 50 µL de solução estoque de clorpirifós $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Assim, o intervalo de concentração avaliado foi de $2,494 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ a $2,513 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. LD, LQ e percentuais de recuperação em eletrólito de suporte preparado com água Milli-Q foram calculados como descrito no item 2.5.1.2.. Todas as curvas foram construídas em triplicata.

2.5.3.3. Aplicação da metodologia para a determinação de clorpirifós

2.5.3.2.1. Determinação de clorpirifós em amostra de laranja

As amostras de laranja foram obtidas comercialmente na cidade de Fortaleza-CE. As amostras foram preparadas de maneira semelhante ao procedimento já apresentado no item 2.5.1.5.2.. Assim, o suco de laranja foi filtrado em papel de filtro quantitativo faixa preta (porosidade 28 µm, permeabilidade 55 L/s m²) e em seguida, 30 mL foram transferidos para um tubo Falcon[®], que foi centrifugado por 10 minutos, a 4000 rpm. 4 mL do sobrenadante foram transferidos para um tubo de Falcon[®] e artificialmente contaminados com 134 µL de clorpirifós $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ ($9,680 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹), submetidos a agitação por 30 minutos. Foi adicionado uma alíquota de 17 µL do suco de laranja contaminado na célula eletroquímica, resultando em uma concentração de clorpirifós de $7,980 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. As curvas foram construídas em triplicata.

2.5.3.2.2. Determinação de clorpirifós em águas naturais

As amostras de águas naturais foram coletadas na estação de bombeamento principal da Barragem Pedrinha em Limoeiro do Norte - CE. Essa água é usada para abastecimento de comunidades e também para irrigação de culturas agrícolas da região do Jaguaribe-Apodí.

Para determinação de clorpirifós em águas naturais, foi utilizado o mesmo procedimento empregado na determinação de diquat descrito no item 2.5.1.3.1.. Todas as curvas foram construídas em triplicata e LD e LQ, bem como a concentração recuperada, foram calculados como descrito no item 2.5.1.2..

2.5.3.4. Determinação de clorpirifós por cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo

As análises cromatográficas para clorpirifós foram realizadas na Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial do Ceará (NUTEC), especificamente no Laboratório de Análises para

Certificação de Produtos do Cajú - LABCAJU. Esses ensaios foram baseando no Method 507 - *Determination of Nitrogen and Phosphorus-Containing Pesticides in Water by Gas Chromatography with a Nitrogen-Phosphorus Detector*, estabelecido pela EPA¹⁰⁸. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C e 300 °C, respectivamente. A rampa de temperatura teve início a 100 °C, aumentando para 150 °C, a uma taxa de 15 °C min⁻¹, em seguida para 230 °C, a 6 °C min⁻¹, e até 290 °C, a 30 °C min⁻¹. Nessas condições, foram injetados 2 µL de amostra de clorpirifós (solubilizados em acetato de etila) no modo *splitless*, utilizando hidrogênio como gás de arraste, com fluxo de 1 mL min⁻¹.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No desenvolvimento deste trabalho, foram desenvolvidas metodologias eletroanalíticas, utilizando a voltametria de onda quadrada para a determinação de resíduos dos pesticidas do grupo dos biperidílios (diquat, paraquat) e do grupo dos organofosforados (clorpirifós) em amostras de águas naturais e de alimentos. Inicialmente, estudou-se o diquat sobre duas superfícies eletródicas (AgSAE e EDDB); na sequência, trabalhou-se com o paraquat sobre EDDB e, por fim, o clorpirifós sobre HMDE.

3.1. HERBICIDA DIQUAT

3.3.1. Diquat sobre superfície de AgSAE

3.3.1.1. AgSAE – Caracterização e ativação

Caracterização

O processo de amalgamação dos eletrodos sólidos de amalgama de prata (AgSAE) foi avaliado por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e energia dispersiva de raios-X (EDX).

Após polimento mecânico (com lixas de carvão de silício, de granulometria 1200), a superfície do AgSAE foi avaliada por medidas de MEV com ampliações de 1000 e 5000 x, e foi observado que esta apresenta morfologia globular, formada por glóbulos individuais de diferentes tamanhos, distribuídos aleatoriamente, como pode ser visto na Figura 3.1. Esses dados são similares aos obtidos Fadrná¹⁰⁹ para eletrodos sólidos de amalgama de prata.

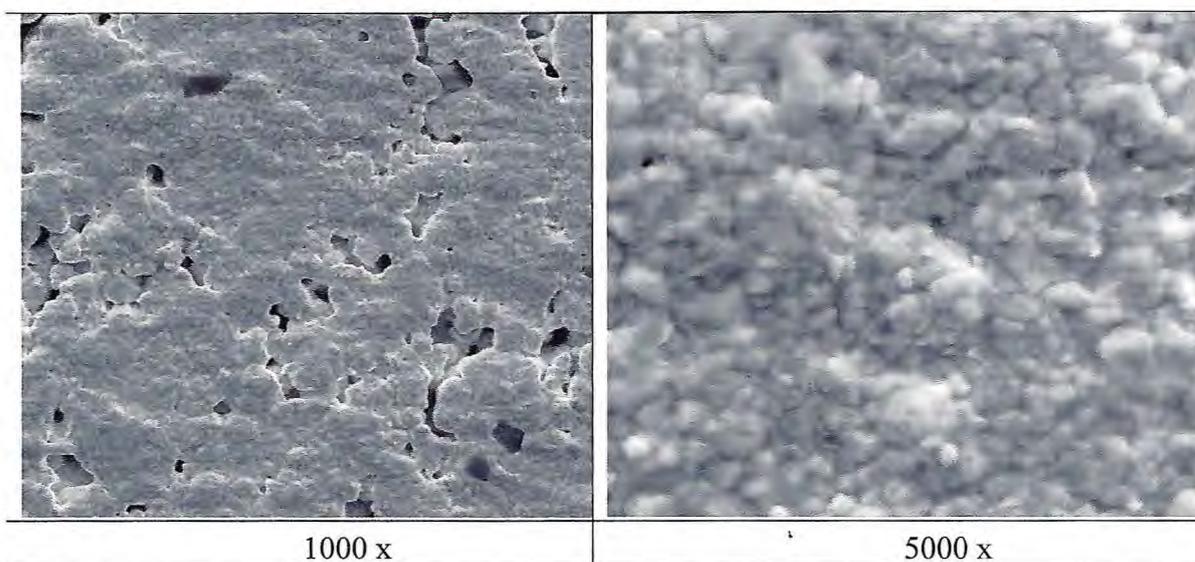


Figura 3. 1: Micrografias para AgSAE 50:50 (Ag:Hg) em diferentes ampliações, após polimento mecânico.

A análise de EDX obtida para AgSAE foi realizada com ampliação de 100 x, e está apresentada na Figura 3.2, onde é possível observar os picos característicos para identificação dos metais.

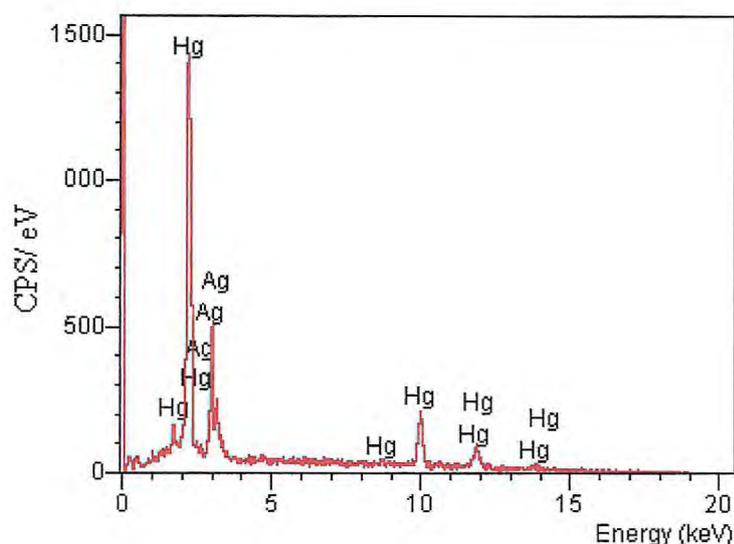


Figura 3. 2: Espectro de EDX para AgSAE 50:50, em que são mostrados picos característicos para identificação de Ag e Hg.

A proporção Ag:Hg presente no AgSAE foi avaliada e comparada com a composição nominal. Para a composição determinada por EDX, foi encontrada uma proporção Prata:Mercúrio de 43%:57%, respectivamente, em percentual atômico, mostrando a presença dos dois metais na superfície eletródica em proporções bem próximas da composição nominal. Embora não tenha sido observada a formação de óxidos na composição do eletrodo, é provável que exista. Os valores observados representam um valor médio de quatro pontos em diferentes posições do eletrodo. Adicionalmente, os experimentos de EDX demonstraram que a superfície é homogênea em relação à distribuição dos metais.

Ativação

Foi realizado um pré-tratamento de ativação eletroquímica na superfície eletródica. Essa etapa é realizada preliminarmente, com o objetivo de preparar a superfície do eletrodo para as reações que envolvem transferência de carga. Consiste na aplicação de saltos cronoamperométricos de -2,2 V, por 900 s, -1,9 V, por 240 s e -0,4 V, por 240 s, sobre AgSAE, em meio de KCl 0,2 mol L⁻¹, seguidos de Voltametria Cíclica em altas velocidades de varredura (500 mV s⁻¹), varrendo em uma janela de potencial de 0,0 V a -2,2 V, por 100 ciclos ou até estabilizar a resposta de corrente sobre o eletrodo, de acordo com procedimentos estabelecidos e publicados^{110,111}. A ativação usando KCl 0,2 mol L⁻¹ como eletrólito de

suporte é proposta pela literatura, sem, no entanto, apresentar discussão esclarecendo o porquê desse meio. Após a estabilização da corrente nas sucessivas varreduras cíclicas, foi obtido um perfil voltamétrico semelhante ao apresentado na Figura 3.3.

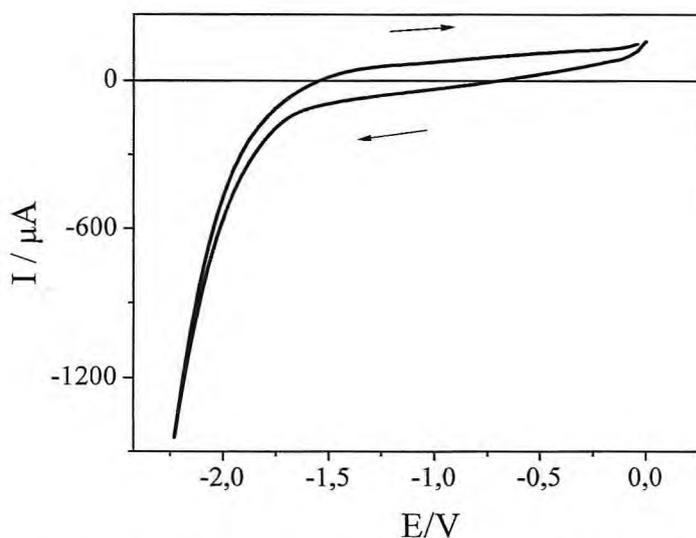


Figura 3. 3: Voltamograma cíclico mostrando o perfil voltamétrico de AgSAE em KCl 0,2 mol L⁻¹ a 500 mV s⁻¹, após condicionamento.

Este perfil voltamétrico foi utilizado como referência para ativações posteriores. Assim, depois de cada ativação da superfície eletródica, o voltamograma obtido após a estabilização da corrente era comparado com este voltamograma, tendo como objetivo alcançar área ativa semelhante e, conseqüentemente, precisão intermediária nos experimentos realizados. O tratamento de ativação foi sempre realizado sob borbulhamento constante de N₂. O gás nitrogênio aplicado durante a etapa de ativação tinha duas funções: desaerar a solução de KCl removendo o oxigênio dissolvido em solução e remover o hidrogênio formado na varredura direta, gerado a partir das reações de eletrólise da água.

No voltamograma cíclico de ativação do AgSAE, nenhum processo eletroquímico foi visualizado, observando-se, entretanto, reações de desprendimento de hidrogênio (*rdh*), que são favorecidas pelo alto sobrepotencial aplicado, e identificadas pela formação do ramo catódico característico dessas reações. A *rdh* permite completa remoção de quaisquer camadas de óxidos superficiais, reagente e/ou produtos adsorvidos na superfície eletródica, melhorando significativamente a precisão intermediária nas respostas voltamétricas^{110,112,113}.

O tratamento de ativação da superfície eletródica foi efetuado após a construção do AgSAE, no início de cada dia de experimentos ou depois de pausas nas medidas voltamétricas superiores a uma hora ou, ainda, após o processo de polimento mecânico.

3.1.1.2. Otimização dos parâmetros experimentais para determinação de diquat por VOQ

A escolha dos parâmetros experimentais adequados é a etapa inicial e fundamental para o desenvolvimento de metodologias de análise. Dentre os parâmetros experimentais, o eletrólito de suporte e a concentração hidrogeniônica são os primeiros a serem investigados.

Escolha do eletrólito de suporte

Os eletrólitos de suporte avaliados foram: Tampão BR (pH 6,0), Na_2SO_4 e NaClO_4 , todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, e $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Estima-se que o Na_2SO_4 e NaClO_4 , como sais derivados de ácidos e de bases fortes, tenham um pH próximo ao da neutralidade, enquanto o $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ apresenta um pH em torno de 8.

Experimentos foram realizados em cada um dos eletrólitos de suporte citados, com uma concentração de diquat de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, por VOQ, com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$. Os resultados mostraram a existência de dois picos característicos do processo de redução do herbicida em análise, apresentando perfil voltamétrico bem definido em todos os eletrólitos utilizados, com o pico 1 em torno de $-0,56 \text{ V}$ e o 2 em torno de $-0,97 \text{ V}$.

Analisando os quatro eletrólitos utilizados na etapa investigativa, observou-se um pequeno deslocamento de potencial de pico (E_p) para o tampão BR, principalmente para o pico 2, e os demais eletrólitos não apresentaram mudanças significativas nesse parâmetro. Em relação às correntes de pico (I_p), uma maior intensidade de corrente foi obtida quando o $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ foi empregado. Os resultados obtidos neste estudo são apresentados na Figura 3.4.

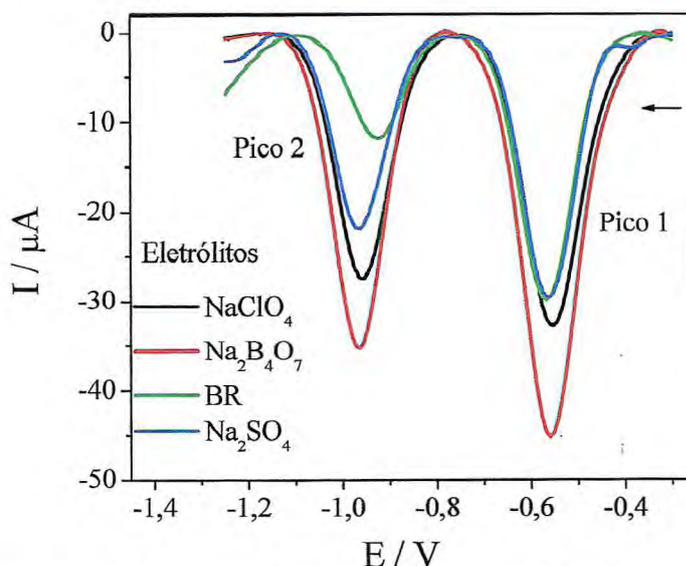


Figura 3. 4: Voltamogramas de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE em meio de tampão BR (pH 6), Na_2SO_4 , NaClO_4 todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ a $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Pelos resultados apresentados, as melhores respostas, em termos de maior sinal analítico e de melhor repetibilidade, foram obtidas em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, a $0,050 \text{ mol L}^{-1}$, sendo este o eletrólito de suporte selecionado para o desenvolvimento do presente trabalho.

Variação da concentração do eletrólito de suporte

Com a escolha do $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ como eletrólito de suporte para desenvolvimento da metodologia para determinação de diquat, não foi possível realizar a variação da concentração hidrogeniônica do meio, por não ter um ácido adequado para ser usado com esse sal. Então foi realizado um estudo da variação da concentração de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, e, na seqüência, as respostas voltamétricas foram avaliadas, conforme o apresentado pela Figura 3.5.

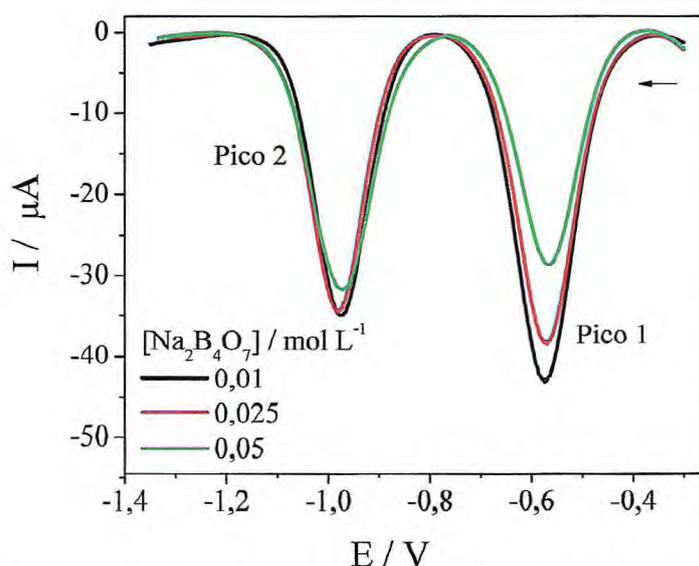


Figura 3. 5: Voltamogramas de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE em diferentes concentrações de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A variação da concentração do $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ promoveu uma aumento nas correntes de pico para o pico 1, enquanto que, para o pico 2, as correntes se mantiveram praticamente constantes, independentemente da concentração do $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ empregada. Isso, provavelmente, ocorreu porque, em baixas concentrações, existe uma maior possibilidade da influência das correntes de migração, que devem ter se somado as correntes de difusão, aumentando assim as respostas voltamétricas em concentrações menores. Dessa forma, na concentração mais baixa, ou seja, em $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, uma maior influência das correntes de migração foram observadas, apresentando uma maior intensidade na corrente de pico, principalmente para o pico 1, e esta foi a concentração utilizada no desenvolvimento da metodologia para determinação de diquat.

3.1.1.3. Avaliação dos parâmetros voltamétricos para determinação de diquat por VOQ

São parâmetros da VOQ, a frequência de aplicação dos pulsos (f), a amplitude de pulsos (a) e o incremento de varredura (ΔE_s). Esses parâmetros podem ser utilizados para avaliação do tipo de processo redox envolvido, influenciando diretamente nas respostas voltamétrica do sistema avaliado. Ou seja, por meio da otimização destes parâmetros, é possível obter melhor sinal analítico e melhor perfil voltamétrico do sistema em estudo.

Frequência de aplicação de pulsos

A frequência de aplicação dos pulsos é uma das mais importantes variáveis na VOQ, pois pode fornecer informações importantes sobre o grau de reversibilidade do sistema, tais como: número de elétrons envolvidos (sistemas reversíveis) e valor de αn (sistemas irreversíveis). Essas informações fornecem dados importantes para estudos mecanísticos¹¹⁴.

No processo de redução do diquat, a variação da frequência sobre as quais os pulsos de potencial foram aplicados provocou um aumento na intensidade de corrente de pico em ambos os picos voltamétricos. Analisando o potencial de pico, não se observou mudanças significativas deste em nenhum dos picos. A Figura 3.6 mostra os voltamogramas de onda quadrada registrados para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com frequência de aplicação de pulso variando entre 10 s^{-1} e 400 s^{-1} , mantendo-se constante a amplitude de pulso em 50 mV e incremento de varredura em 2 mV .

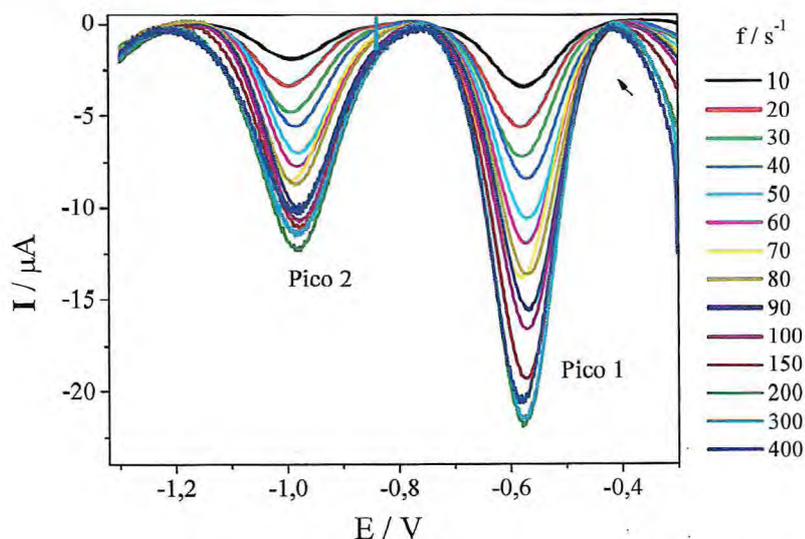


Figura 3. 6: Voltamograma de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE, em diferentes frequências de aplicação de pulsos em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A relação entre intensidade de corrente e variação da frequência de aplicação de pulso foi avaliada. Observou-se um aumento nas correntes de pico até a frequência de 200 s^{-1} . Em frequências maiores, a corrente de pico apresentou um leve decaimento. Isso possivelmente aconteceu porque a constante de tempo do processo estudado é relativamente lenta, dificultando, assim, a observação deste em frequências maiores que 200 s^{-1} . Deste modo, em frequências maiores que 200 s^{-1} , ou seja, em altas velocidades de varredura, as espécies eletroativas não conseguem chegar à superfície eletródica, provocando uma queda na corrente de pico, uma vez que menos espécies estão sofrendo o processo de redução na superfície do eletrodo.

De acordo com a teoria proposta por Osteryoung e O'dea²⁵ para sistemas com processos envolvendo a adsorção das espécies eletroativas na superfície do eletrodo, a intensidade da corrente de pico varia linearmente com a frequência de aplicação de pulso. Pelos resultados expostos na Figura 3.7 (A), observou-se um comportamento contrário, em que as intensidades de corrente não são proporcionais à frequência de aplicação de pulso, mostrando que o processo de redução de diquat não envolve adsorção significativa de reagentes e/ou produtos.

Na seqüência, a Figura 3.7 (B) mostra a relação de linearidade entre corrente de pico e raiz quadrada da frequência de aplicação de pulso, em que se observou que a resposta de corrente foi diretamente proporcional à raiz quadrada da frequência de aplicação de pulso até $f = 100 \text{ s}^{-1}$, apresentando coeficiente de correlação $r = 0,9962$ para o pico 1 e $r = 0,9970$, para o 2. Essa relação de linearidade é um indicativo de que o sistema é controlado por transporte de massa, envolvendo difusão das espécies eletroativas.

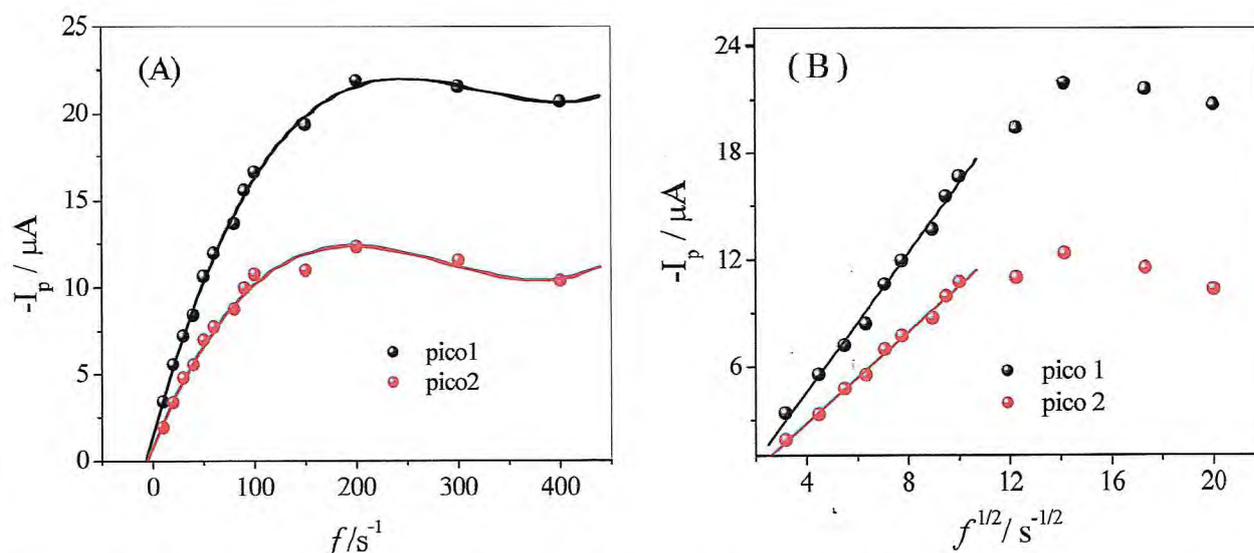


Figura 3. 7: Relações entre corrente de pico e frequência aplicação dos pulsos para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE, obtidas a partir dos voltamogramas da Figura 3.6 (A): I_p vs. f , (B): I_p vs. $f^{1/2}$.

Observou-se, ainda, que, para valores de frequências de aplicação de pulso acima de 100 s^{-1} , a relação perde a linearidade. Isto ocorre, porque, na prática, a relação da corrente de pico e da frequência é dada por:

$$I_p = k f^{1/2} \quad \text{Equação 3.1}$$

onde k é a constante cinética, que depende da concentração do reagente, da área do eletrodo, do coeficiente de difusão da espécie redox, do coeficiente de transferência de eletrônica, da amplitude de pulsos e do incremento de varredura^{24, 115}. De modo que, em condições limites, processos reversíveis podem tornar-se quase reversíveis, com o aumento da frequência de pulsos de potencial aplicado¹⁰⁰ e, conseqüentemente, verifica-se a perda da linearidade de I_p com $f^{1/2}$.

A frequência de 100 s^{-1} foi escolhida como otimizada para desenvolvimento da metodologia analítica, pois apresentou melhor sinal analítico e perfil voltamétrico.

Amplitude de pulso

A variação da amplitude de pulsos de potencial aplicado também pode ser utilizada para avaliar o tipo de processo redox envolvido. Em sistemas totalmente irreversíveis, ocorre deslocamento do potencial de pico com o aumento da amplitude, e, para processos reversíveis ou quase reversíveis, o potencial de pico praticamente não sofre deslocamento.

As correntes de pico são dependentes da amplitude de pulsos. Para reações reversíveis com leve adsorção de produto, a altura de pico aumenta proporcionalmente para valores de amplitude de pulsos menores que 60 mV. Outro ponto importante é que a amplitude de pulsos está diretamente relacionada com a largura da onda voltamétrica. Assim, altos valores de amplitude de pulsos provocam mudanças na largura do pico (largura de meia-altura ($\Delta E_{p/2}$)), diminuindo a seletividade das análises²⁴. A variação da amplitude de pulsos foi avaliada no intervalo de 5 mV a 50 mV, para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, mantendo-se constante a frequência de aplicação de pulso em 100 s^{-1} e o incremento de varredura em 2 mV. Os voltamogramas registrados são exibidos na Figura 3.8 (A).

As correntes de pico aumentaram linearmente até 30 mV, apresentando $r = 0,9934$, para o pico 1, e $r = 0,9994$, para o pico 2. Para valores de amplitudes maiores, o aumento não foi linear, e, acima de 40 mV, a corrente se manteve praticamente constante, como pode ser observado na Figura 3.8 (B). Em relação aos potenciais de pico, não se observou mudanças significativas, como previsto para sistemas reversíveis e/ou quase reversíveis¹¹⁵. Erro! Indicador

Por esses resultados, a amplitude de pulso de 30 mV foi escolhida para desenvolvimento deste estudo.

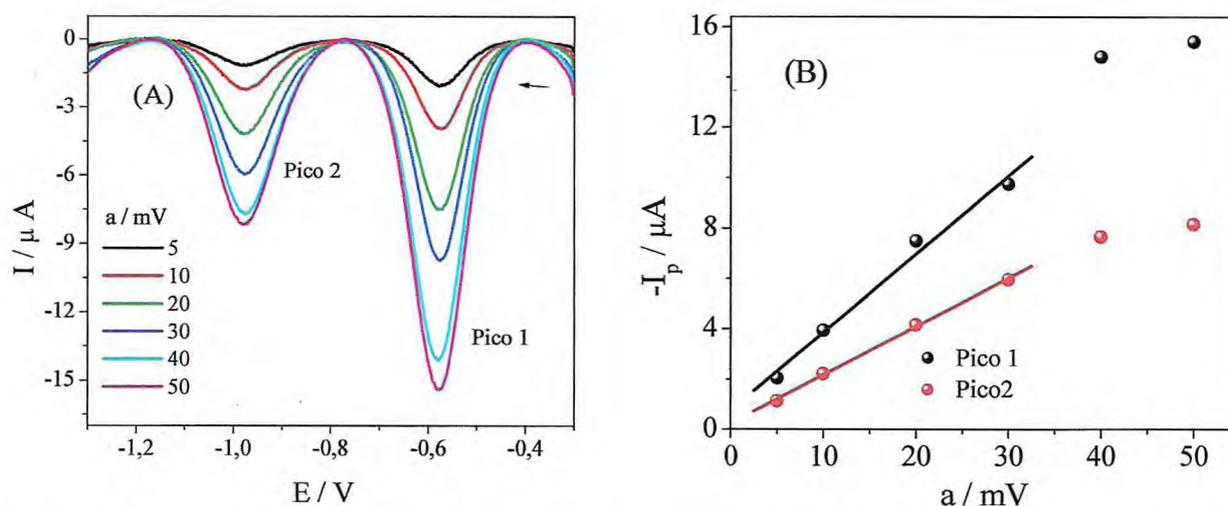


Figura 3. 8: (A): Voltamogramas de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes amplitudes de pulso de potencial. (B): Relações entre corrente de pico vs. amplitude de pulsos. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Incremento de varredura

O incremento de varredura de potencial (ΔE_s) pré-determina o modo pelo qual o potencial é aplicado e é considerado como sendo a diferença de altura entre um degrau de potencial e o degrau seguinte, em uma rampa de potenciais na forma de escada, aplicada ao eletrodo de trabalho. Na VOQ, a velocidade de varredura é definida em função da frequência dos pulsos de potenciais e do incremento de varredura de potencial ($v = f \Delta E_s$)¹¹⁶.

Incremento de varredura maior pode aumentar o sinal obtido e melhorar a sensibilidade do método. No entanto, pode ocasionar alargamento dos picos, e a resolução dos voltamogramas pode ser comprometida, acarretando perda de sensibilidade na medida. Isso porque muitos pontos da curva voltamétrica serão omitidos e o voltamograma original ficará deformado¹¹⁷.

O incremento de varredura foi avaliado no intervalo de 2 mV à 10 mV, para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, mantendo-se constante a frequência de aplicação de pulso em 100 s^{-1} e a amplitude de pulso em 50 mV. Os voltamogramas registrados são exibidos na Figura 3.9 (A). Analisando-se esses resultados, observou-se que o aumento de incremento de potencial promoveu um ligeiro acréscimo nos valores de corrente de pico para o pico 1 e uma leve diminuição das respostas para o pico 2, como mostrado na Figura 3.9 (B). Isso, possivelmente, ocorre porque a cinética de difusão das espécies eletroativas do pico 2 é mais lenta que a velocidade de varredura em incrementos de varreduras maiores, e, em velocidades

altas, menos espécies conseguem chegar à superfície do eletrodo para reagir, ocasionando uma diminuição na corrente de pico. Além disso, pode ocorrer adsorção de produtos e/ou reagentes, e, em varreduras muito rápidas, não há tempo para renovação da superfície eletródica.

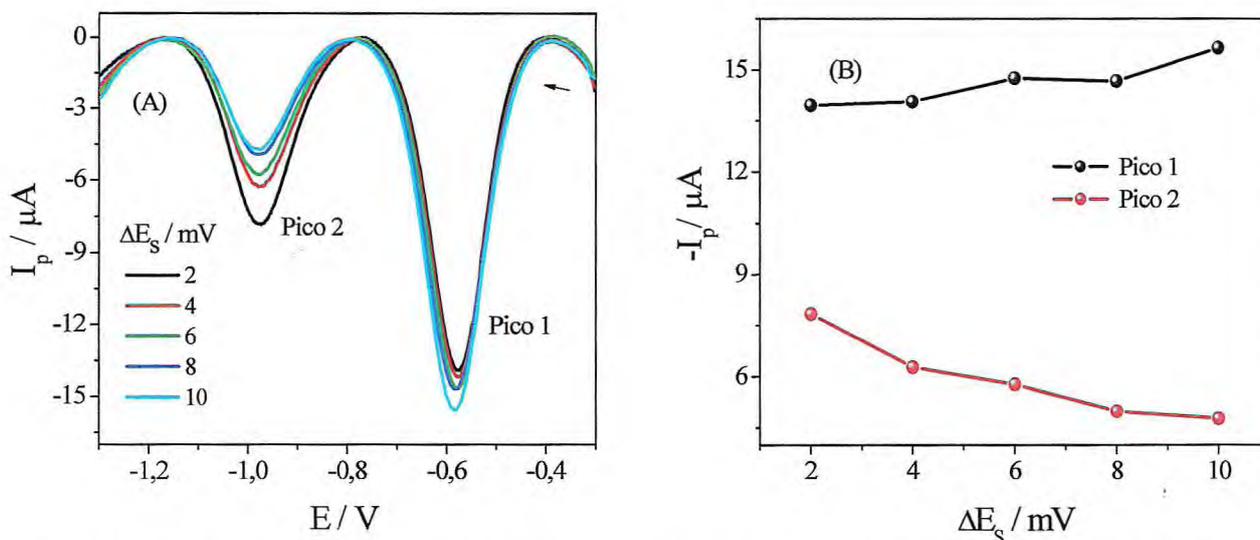


Figura 3. 9: (A): Voltamogramas de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes incrementos de varredura. (B): Relação entre I_p vs. ΔE_s . $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$.

Componentes de corrente

Estabelecidos os parâmetros voltamétricos, foram realizados experimentos sobre as condições otimizadas para analisar as componentes de corrente. As componentes de corrente direta e reversa podem ser usadas para determinar a reversibilidade do processo redox em estudo. Com esse propósito, experimentos foram realizados com diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, aplicando frequência de 100 s^{-1} , amplitude de pulso de 30 mV e incremento de varredura de 2 mV .

Nas respostas de corrente obtidas por VOQ, a corrente medida é uma resultante entre as correntes de varredura no sentido direto (varredura catódica) e no sentido reverso (varredura anódica) de aplicação de pulsos de potencial²⁴.

$$I_{\text{resultante}} = I_{\text{direta}} - I_{\text{reversa}} \quad \text{Equação 3.2}$$

A separação e a demonstração dessas correntes podem ser utilizadas para se observar a presença de picos no sentido da varredura direta e no sentido reverso e, assim, realizar uma avaliação prévia do tipo de reação redox que ocorre no sistema em estudo. Quanto maior a reversibilidade da reação, maior é a contribuição da corrente reversa, aumentando

significativamente a corrente resultante e, conseqüentemente, a resposta em termos de intensidade de corrente.

Os experimentos de VOQ mostrados na Figura 3.10 exibem as componentes de corrente para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. As componentes de corrente registram os pulsos no sentido direto (varredura catódica) e no reverso (varredura anódica). A corrente resultante é a contribuição dessas duas componentes.

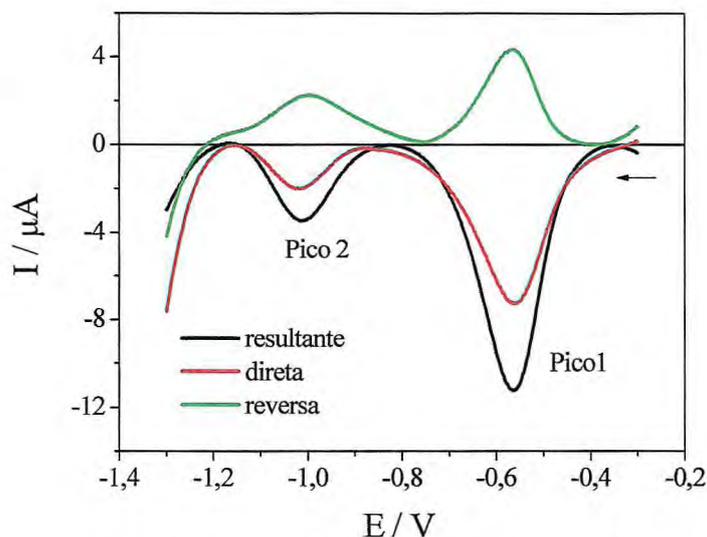


Figura 3. 10: Componentes de corrente para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Para diquat sobre superfície de AgSAE, a componente resultante obtida mostra que esse herbicida exibe dois picos de redução na direção da varredura negativa: o primeiro, em torno de $-0,56 \text{ V}$, e o segundo, em, aproximadamente, $-1,0 \text{ V}$. Estes valores de potencial de pico apresentaram potenciais concordantes com os obtidos utilizando outras superfícies eletródicas, tais como HMDE ou ultramicroeletrodo de ouro, indicando que, muito provavelmente, o processo redox independe da superfície eletródica utilizada^{29,40}.

Analisando as componentes de correntes apresentadas na Figura 3.10, foi possível observar que o pico 1 apresentou comportamento eletroquímico quase reversível, indicado pela presença das componentes direta e reversa, em que a segunda apresenta valores mais baixos que a primeira. A presença de picos diretos e reversos com diferentes intensidades de correntes são características de processos redox quase reversíveis¹¹⁵.

Entretanto, o potencial de pico apresentou valores praticamente constantes para as componentes direta e reversa, indicando que o processo redox pode ser totalmente reversível, com o processo de adsorção de diquat à superfície, como foi demonstrado por experimentos

de voltametria cíclica, anteriormente. De acordo com Mirceski et al.¹⁰⁰, as características quase reversíveis são devidas à aparente reversibilidade do processo redox, que pode ser alterada pela variação da frequência de aplicação de pulso empregada, como pode ser visualizado na Figura 3.11.

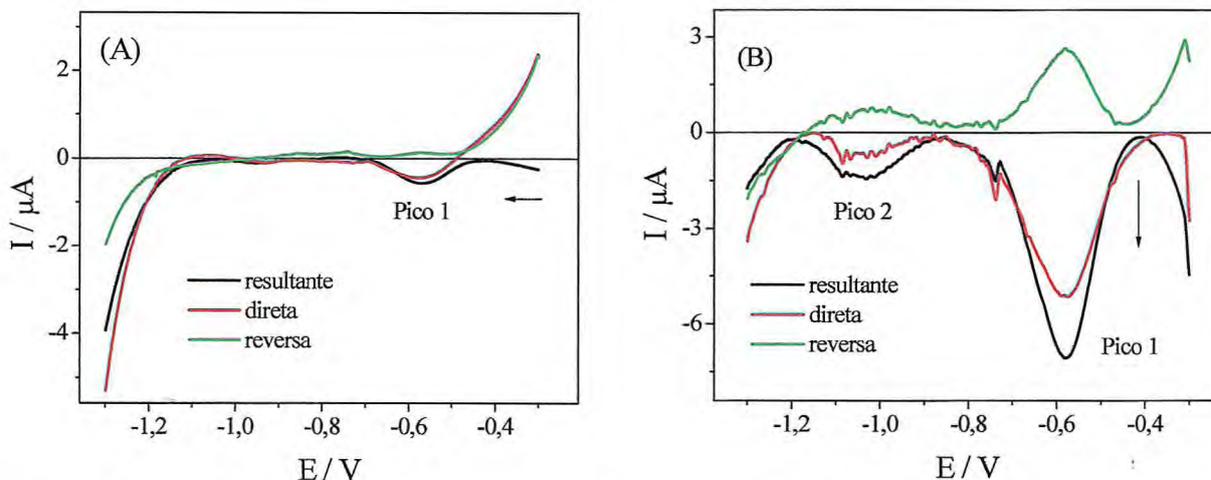


Figura 3. 11: Componentes de corrente para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. (A) $f = 10 \text{ s}^{-1}$, (B) $f = 400 \text{ s}^{-1}$.

Na frequência de aplicação de pulsos de 10 s^{-1} [Figura 3.11 (A)], observou-se apenas um pico de redução proveniente da componente direta, em torno de $-0,6 \text{ V}$, não sendo observados processos na componente reversa. Em frequência de 400 s^{-1} [Figura 3.11 (B)], as componentes de corrente apresentam comportamento semelhante ao de 100 s^{-1} , apresentado anteriormente.

Analisando esses resultados, verificou-se que, na frequência de 10 s^{-1} , a corrente resultante é função apenas da componente direta, uma vez que se observou ausência de processos na componente reversa. Nessa situação, têm-se componentes características de um sistema irreversível. Isso, possivelmente, porque, como a velocidade de varredura é lenta, as espécies reduzidas na superfície do eletrodo desorvem-se antes de serem oxidadas. Com o aumento da frequência de aplicação de pulso, aumenta-se, também, a velocidade de varredura, alcançando velocidades relativamente altas, possibilitando a oxidação das espécies adsorvidas na superfície do eletrodo, antes de ocorrer a desorção. Entretanto, até a frequência de aplicação de pulsos de 400 s^{-1} , ainda não foi atingida a velocidade de varredura suficiente para oxidar o produto de redução antes que o mesmo desorva. Sendo assim, a corrente reversa nas condições estudadas apresentou sempre um valor inferior à corrente direta, ressaltando a característica de quase-reversibilidade do sistema em estudo.

3.1.1.4. Estudos complementares por voltametria cíclica

Estudos complementares usando voltametria cíclica foram realizados. Assim, voltamogramas cíclicos foram registrados no intervalo de potencial de -0,2 V a -1,3 V, utilizando-se $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito de suporte e o herbicida diquat $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, a uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . As respostas voltamétricas mostraram a presença de quatro picos bem definidos, sendo dois deles na varredura direta (redução): o primeiro, em -0,61 V (pico 1) e o segundo em -1,04 V (pico 2); bem como dois picos na varredura reversa (oxidação), com valores de potencial de -0,9 V (pico 3) e de -0,45 V (pico 4), tal como apresentado na Figura 3.12.

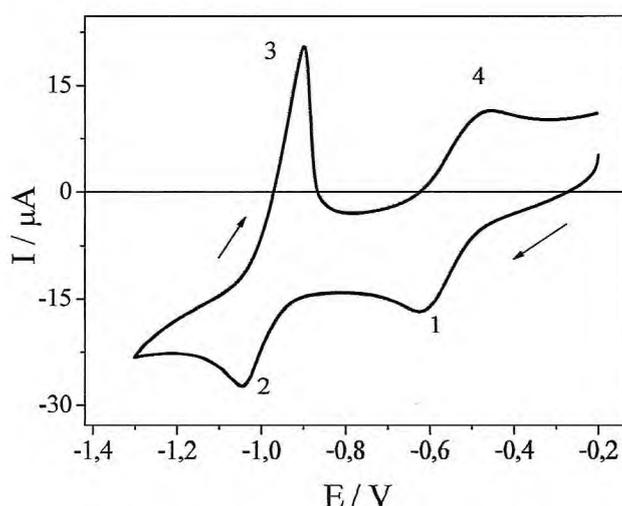


Figura 3. 12: Voltamograma cíclico de diquat $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, a 50 mV s^{-1} .

Analisando as correntes de pico, observou-se que o par redox dos picos 1 e 4 apresentam intensidade de corrente semelhante. Adicionalmente, isso muda para o par redox de picos 2 e 3, sendo que este último apresenta maior intensidade de corrente.

Essas respostas de correntes são similares a trabalhos anteriores já publicados, usando outras superfícies eletródicas e outros compostos bipyridílicos (BP)^{21,40,43}, cujos picos 1 e 4 são caracterizados pelo par redox $(\text{BP})^{2+} + e^- \rightleftharpoons (\text{BP})^+$, e os picos 2 e 3 correspondem ao processo controlado por adsorção, gerando uma molécula neutra $(\text{BP})^+ + e^- \rightleftharpoons (\text{BP})^0$.

A influência da velocidade de varredura foi analisada no intervalo de 10 mV s^{-1} a 200 mV s^{-1} . O potencial -1,3 V foi utilizado como potencial de inversão em todas as varreduras, como exibido na Figura 3.13.

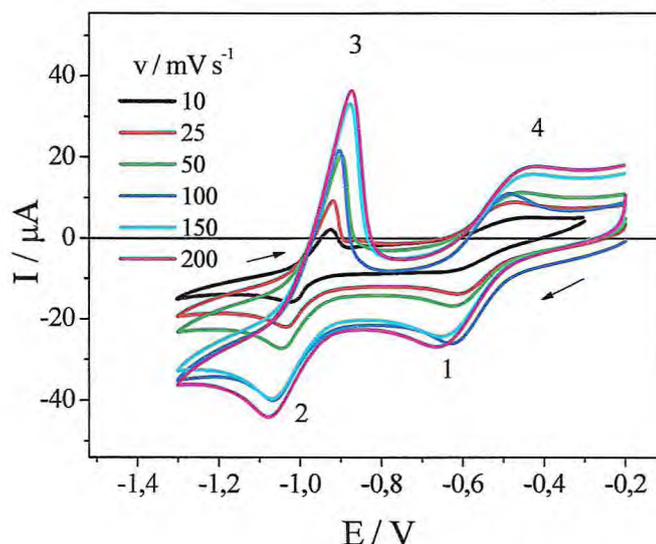


Figura 3. 13: Voltamogramas cíclicos de diquat $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura.

Foi analisada a relação entre corrente de pico catódico (I_p) para os dois picos de redução e a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), encontrando-se uma relação linear até a velocidade de 100 mV s^{-1} , com $r = 0,9920$ e $r = 0,9940$, para os picos de redução 1 e 2, respectivamente, o que, segundo os critérios teóricos para Voltametria Cíclica, pode indicar que o transporte de massa se dá por difusão das espécies eletroativas. Esses resultados são apresentados na Figura 3.14 (A).

Os picos de oxidação também foram analisados. Para o pico 4, encontrou-se uma relação linear entre corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura, com $r = 0,9960$. Para o pico 3, nenhuma relação linear foi observada, indicando, dessa forma, que o referido pico é caracterizado como uma combinação entre o transporte de massa e o processo de adsorção de superfície, em que a espécie $(\text{diquat})^+$ é oxidada a $(\text{diquat})^{2+}$, semelhante ao observado em trabalho reportado usando eletrodo de diamante dopado com boro⁴³.

Foi investigada a relação entre logaritmo da corrente de pico vs. logaritmo da velocidade de varredura, e foram encontrados, para os picos 1 e 2, coeficientes angulares com valores de 0,4 e 0,5, respectivamente, como exibidos na Figura 3.14 (B), como o esperado para processos controlados por difusão¹¹⁸. Esses resultados ratificam os observados em estudos anteriores por VOQ para os processos de redução de diquat.

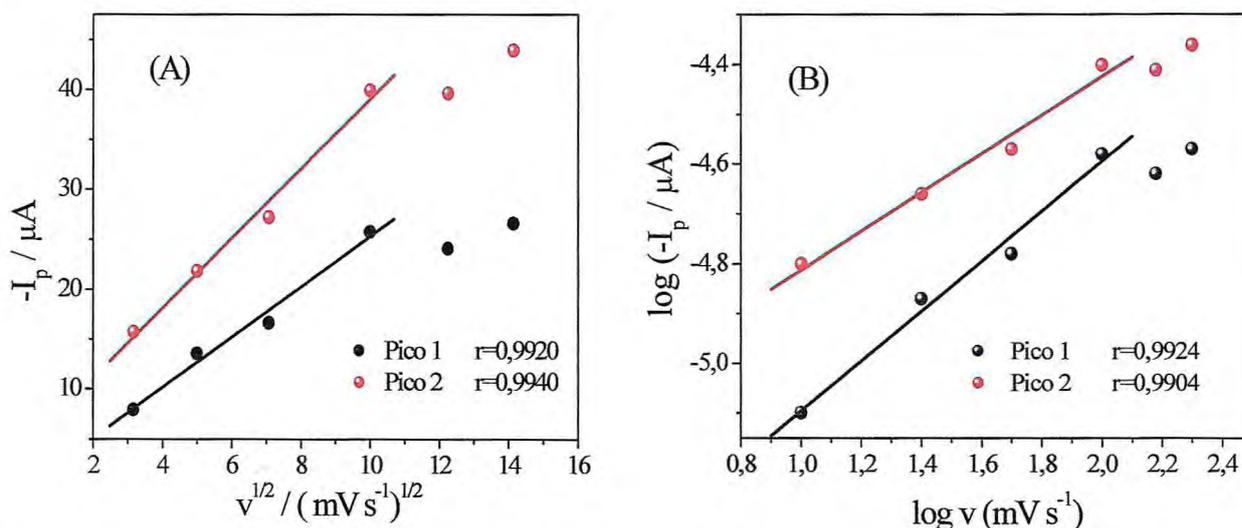


Figura 3. 14: Relação entre corrente de pico e velocidade de varredura para diquat $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE. (A): I_p vs. $v^{1/2}$ (B): $\log I_p$ vs. $\log v$.

Para transporte de massa controlado por difusão das espécies eletroativas, a equação de Randles-Ševcik (equação 3.3) prediz que a relação linear entre I_p e $v^{1/2}$ é dada por¹¹⁹:

$$I_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} D^{1/2} C A v^{1/2} \quad \text{Equação 3.3}$$

onde n é o número de elétrons envolvidos; v é a velocidade de varredura (V s^{-1}); D_0 é o coeficiente de difusão da espécie ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$); A é a área do eletrodo (cm^2) e C é a concentração do analito (mol cm^{-3}).

3.1.1.5. Curvas analíticas

Após a otimização das condições experimentais ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, como melhor eletrólito de suporte) e voltamétricas ($f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$), curvas analíticas foram construídas.

Em paralelo, buscando encontrar uma situação de melhor repetibilidade entre as medidas eletroquímicas, foram realizados vários testes para limpeza da superfície eletródica, tais como: aplicação de $-2,2 \text{ V}$ na solução de análise, em diferentes tempos (15 s, 30 s, 45 s e 60 s); retirada e lavagem do eletrodo de trabalho com um jato d'água entre uma medida e outra e borbulhamento de N_2 . Observou-se, então, que, após 5 minutos de borbulhamento com N_2 , todas as substâncias adsorvidas na superfície do eletrodo eram arrastadas, promovendo uma completa renovação da superfície eletródica, proporcionando uma ótima repetibilidade entre as medidas. Então, esse foi o procedimento adotado para limpeza e renovação da

superfície eletrodica, após cada medida eletroquímica, durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Usando uma célula eletroquímica contendo 10 mL do eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$), foram adicionadas sucessivas alíquotas de $100 \mu\text{L}$ de solução estoque de diquat $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 3.15 mostra os voltamogramas da VOQ obtidos na construção das curvas analíticas, em que foi observado um aumento proporcional nos valores de corrente de pico, com o crescimento da concentração do herbicida, em uma faixa de concentração de $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (1ª adição) até $10,890 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (12ª adição). A varredura deu-se em uma janela de potencial de $-0,3 \text{ V}$ até $-1,3 \text{ V}$, em que foi possível visualizar o surgimento dos dois picos de redução, já identificados anteriormente.

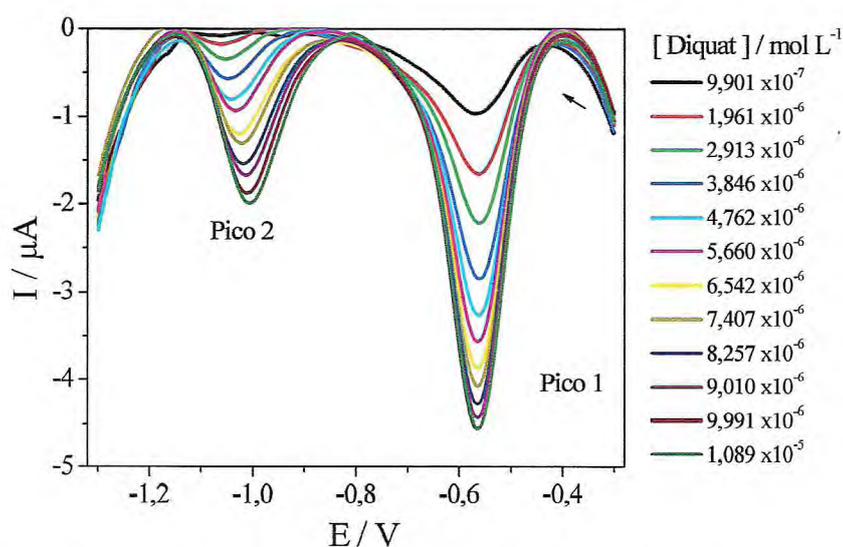


Figura 3. 15: Voltamogramas de onda quadrada de diquat sobre AgSAE em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $10,890 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Também pela Figura 3.15, observou-se que, para o pico 1 (pico principal, visto que apresenta maior sinal analítico), o aumento da concentração não influenciou o potencial de pico, permanecendo praticamente o mesmo em todas as concentrações adicionadas; porém, no pico 2 (pico secundário), houve um pequeno deslocamento do potencial de pico para valores mais positivos com o aumento da concentração, caracterizando adsorção das espécies eletroativas.

A dependência linear entre corrente de pico e concentração de diquat nas curvas analíticas foi avaliada e é mostrada na Figura 3.16.

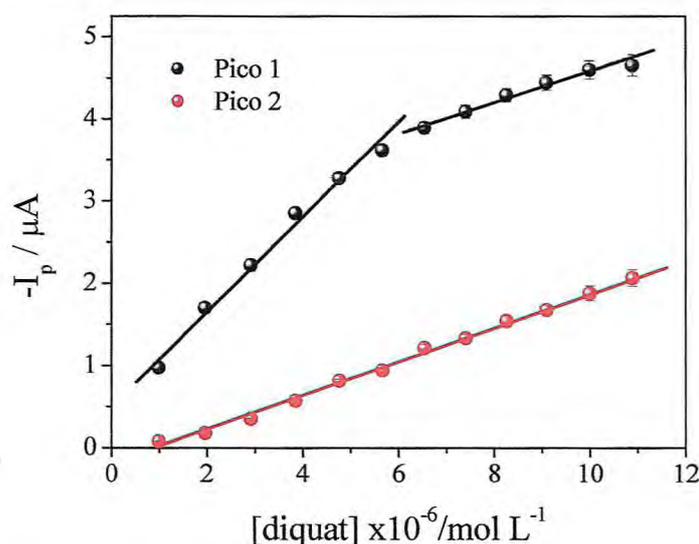


Figura 3. 16: Curva analítica para diquat sobre AgSAE, obtida a partir dos valores médios ($n = 3$) das correntes de pico com concentração, com suas respectivas barras de desvio padrão, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\alpha = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Analisando as correntes de pico em função da concentração, verificou-se um aumento proporcional em ambos os picos voltamétricos, sendo que, para o pico 1, obteve-se uma reta com duas inclinações. A primeira inclinação foi da 1ª a 6ª adição de diquat, que corresponde às concentrações do herbicida de $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,660 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com um coeficiente angular de $0,5650 \text{ A/mol L}^{-1}$ e um coeficiente de correlação $r = 0,9935$. A segunda inclinação foi entre a 7ª e 12ª adição de diquat, que corresponde à concentração de $6,542 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,089 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com inclinação de $0,1452 \text{ A/mol L}^{-1}$ e $r = 0,9799$. Essa mudança de inclinação da curva analítica pode estar associada à mudança de mecanismo ou à isoterma de adsorção que não envolva interação lateral. Para o pico 2, obteve-se uma linearidade, com uma inclinação da curva de $0,2056 \text{ A/mol L}^{-1}$ e o coeficiente de correlação de $0,9923$.

A partir desses resultados, foi possível calcular o limite de detecção e de Quantificação, segundo os critérios da IUPAC, apresentados no capítulo II. Assim, as equações da reta, os coeficientes de correlação (r) das curvas analíticas, o desvio padrão da média aritmética de dez brancos (S_b), a inclinação da curva analítica (s), bem como o valor do limite de detecção (LD) e do limite de quantificação (LQ), são exibidos na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Resultados obtidos a partir das curvas analíticas para diquat sobre AgSAE em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$). A varredura se deu na faixa de potencial de $-0,3 \text{ V}$ até $-1,3 \text{ V}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Linearidade	$9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,089 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	
Parâmetros	Pico 1 (1ª Inclinação)	Pico 2
Equação	$I_p = -0,521 \times 10^{-6} \text{ A} + 0,565 [\text{diquat}]$	$I_p = -0,177 \times 10^{-6} \text{ A} + 0,205 [\text{diquat}]$
r	0,9932	0,9923
S_b (A)	$6,340 \times 10^{-9}$	$2,460 \times 10^{-8}$
s (A/mol L^{-1})	0,5650	0,2056
LD (mol L^{-1})	$3,366 \times 10^{-8}$ ($11,58 \mu\text{g L}^{-1}$)	$3,599 \times 10^{-7}$ ($123,8 \mu\text{g L}^{-1}$)
LQ (mol L^{-1})	$1,122 \times 10^{-7}$ ($36,60 \mu\text{g L}^{-1}$)	$1,199 \times 10^{-6}$ ($412,8 \mu\text{g L}^{-1}$)

Pelos valores do limites de detecção e de quantificação apresentados na tabela, observa-se que os resultados são bem elevados para o pico 2, o que pode ser explicado pela adsorção do herbicida nessa região de potencial.

Analisando o limite de detecção obtido para diquat nestas condições e comparando com o da literatura, observou-se que, para o pico 1, na primeira inclinação da reta ($9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,660 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), o LD encontrado apresenta valores próximos ao determinado por Walcarius e Lamber⁴⁰.

Visando minimizar os efeitos de possíveis processos de adsorção na redução de diquat sobre AgSAE e a melhorar LD e LQ, a janela de potencial de trabalho foi alterada para $-0,3 \text{ V}$ até $-0,9 \text{ V}$, com o objetivo de estudar apenas a região de redução do pico 1, visto que ele apresentou uma sensibilidade maior, com resposta de corrente bem mais sensível a concentrações menores. Assim, novas curvas analíticas foram construídas por adições sucessivas de alíquotas de $50 \mu\text{L}$ de diquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Trabalhou-se em uma faixa de concentração de $4,975 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (1ª adição) até $5,660 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (12ª adição), e os voltamogramas registrados estão apresentados na Figura 3.17.

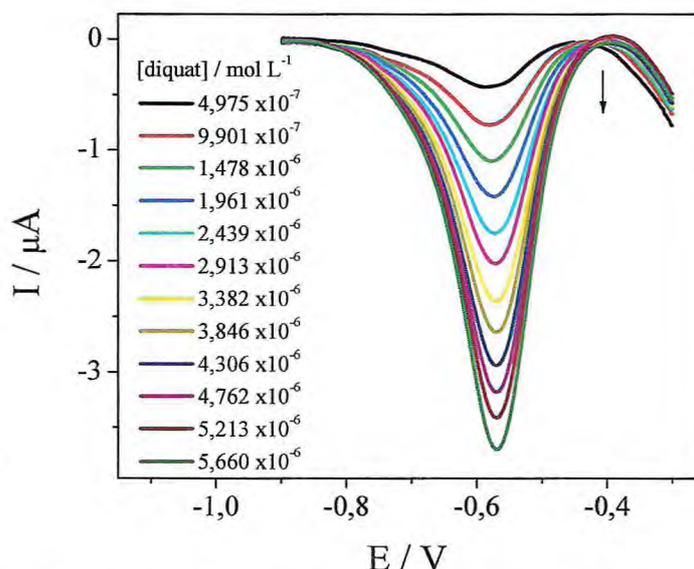


Figura 3. 17: Voltamogramas de onda quadrada de diquat sobre AgSAE em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $4,975 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ até $5,660 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Novamente, vê-se aumento de corrente de pico proporcional ao aumento da concentração, observando-se linearidade em todo o intervalo de concentração estudado, conforme representação da Figura 3.18.

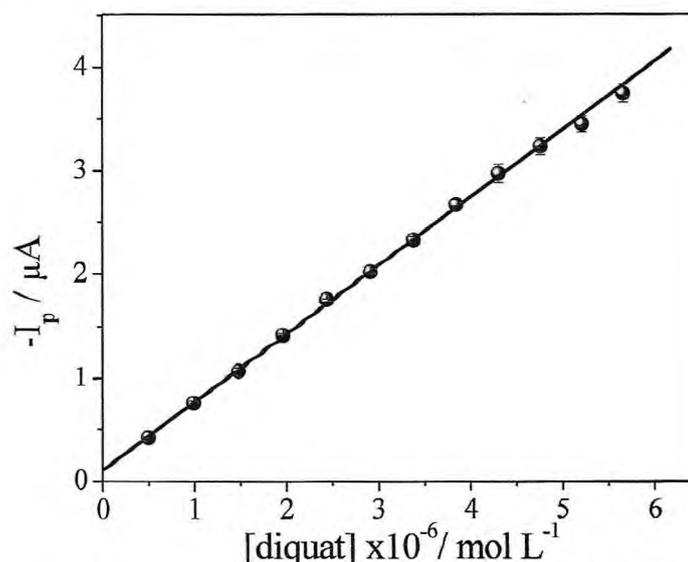


Figura 3. 18: Curva analítica para diquat sobre AgSAE em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, obtida a partir dos valores médios das correntes de pico com a concentração de diquat ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, $I_p = 1,08 \times 10^{-7} \text{ A} + 0,6585 [\text{diquat}]$, $r = 0,9993$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Foram calculados novos valores para LD e LQ, e os resultados estão apresentados na Tabela 3.2. Pelas novas curvas analíticas, observou-se que o processo do pico 1 é mais sensível, apresentando uma maior inclinação da curva analítica ($0,6307 \text{ A/mol L}^{-1}$), com um

ótimo coeficiente de correlação, bem como valores de LD e de LQ bem mais baixos que os apresentados na curva analítica anterior.

Tabela 3.2: Parâmetros obtidos das curvas analíticas para diquat sobre AgSAE em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$), para o pico ($-0,3 \text{ V}$ até $-0,9 \text{ V}$). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Parâmetros	Pico 1
Linearidade	$4,975 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,660 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Equação	$I_p = 1,080 \times 10^{-7} A + 0,658$ [diquat]
r	0,9993
Sb (A)	$6,100 \times 10^{-9}$
S (A/mol L ⁻¹)	0,6307
LD (mol L ⁻¹)	$2,901 \times 10^{-8}$ ($9,980 \mu\text{g L}^{-1}$)
LQ (mol L ⁻¹)	$9,672 \times 10^{-8}$ ($33,280 \mu\text{g L}^{-1}$)

Esses novos valores de LD e de LQ estão bastante satisfatórios e são similares aos padrões de sensibilidade da técnica utilizada, empregando, também, MeSAEs como superfícies eletrodicas^{112,113,120}. Portanto, para estudos posteriores, serão considerados como referência os resultados apresentados para as curvas analíticas referentes ao pico 1.

3.1.1.6. Avaliação da precisão da metodologia por ensaios de Repetibilidade e Precisão intermediária

A **precisão** representa o grau de concordância de resultados de ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, sob condições definidas, sendo expressa pela estimativa do desvio padrão relativo (%RSD), avaliada pela análise de repetibilidade e precisão intermediária do sistema em estudo¹²¹.

A **repetibilidade** ou precisão intra-corrída é o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo analito na mesma solução, efetuadas sob as mesmas condições, com repetições em curto espaço de tempo¹²². Assim, a repetibilidade foi avaliada considerando dez medidas sucessivas realizadas em uma mesma solução, contendo diquat $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, nas condições otimizadas.

A Tabela 3.3 mostra os valores das correntes de pico encontradas para essas análises, sendo, também, avaliado o desvio padrão relativo (RSD), calculado de acordo com Equação 2.3 (item 2.5.12. Capítulo II). Esses ensaios apresentaram $-1,36 \mu\text{A}$ como valor médio das correntes de pico, com RSD de 1,93 %.

Tabela 3.3: Estudos de repetibilidade para diquat a $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Replicatas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$-I_p / \mu\text{A}$	1,33	1,34	1,36	1,36	1,38	1,40	1,33	1,40	1,36	1,34

A **precisão intermediária** ou precisão inter-corrída avalia o grau de concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes¹²³. Neste contexto, a precisão intermediária foi avaliada considerando-se cinco medidas diferentes, em soluções e em dias distintos, e após nova ativação e condicionamento da superfície do AgSAE, realizadas em soluções contendo diquat $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. As correntes de pico foram avaliadas, e os resultados são exibidos na Tabela 3.4.

Tabela 3.4: Estudos de precisão intermediária para diquat a $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ sobre AgSAE em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Replicatas	1	2	3	4	5
$-I_p / \mu\text{A}$	1,36	1,31	1,35	1,37	1,34

Pelos valores de corrente de pico apresentados, obteve-se o valor médio de $-1,35 \mu\text{A}$, com RSD de 1,71%, para $n = 5$. Os testes de repetibilidade e de precisão intermediária estão bem abaixo dos parâmetros aceitáveis para metodologia analítica (5,0%¹²³), indicando que essa metodologia apresenta uma ótima precisão analítica.

3.1.1.7. Estudo de seletividade e eficiência da metodologia por curvas de recuperação em eletrólito de suporte

Curvas de recuperação em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ preparado com água Milli-Q) foram construídas para analisar a seletividade e eficiência da metodologia. O cálculo de recuperação é realizado a fim de se observar quanto da amostra adicionada pode ser realmente detectada, mostrando, desta maneira, a viabilidade da utilização da metodologia para amostras complexas, tais como águas naturais e amostras de alimentos.

Por meio das curvas de recuperação, é possível avaliar o efeito de interferentes presentes na amostra, bem como as perdas durante os processos analíticos, informações de fundamental importância na aplicação em amostras mais complexas que o eletrólito de

suporte. A utilização da percentagem de recuperação mostra os resultados analíticos como sendo o mais próximo possível da realidade.

Cálculo da recuperação

As curvas de recuperação devem ser construídas em um intervalo de concentração intermediário ao utilizado na curva analítica. A percentagem de recuperação foi identificada graficamente com o eixo-x, que indica a concentração recuperada de diquat na célula eletroquímica. Assim, uma concentração conhecida de diquat foi adicionada à solução do eletrólito de suporte e, posteriormente, analisada. Neste trabalho, a concentração conhecida foi de $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (referente à segunda adição da curva analítica). Na seqüência, foram realizadas quatro adições de alíquotas de $50 \mu\text{L}$ de solução estoque de diquat $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, e curvas de recuperação foram construídas. A relação entre corrente de pico e concentração é apresentada na Figura 3.19, onde se obteve uma relação linear entre corrente de pico e aumento da concentração, com um coeficiente de correlação de 0,9980, mostrando a seletividade do método, na faixa de concentração analisada.

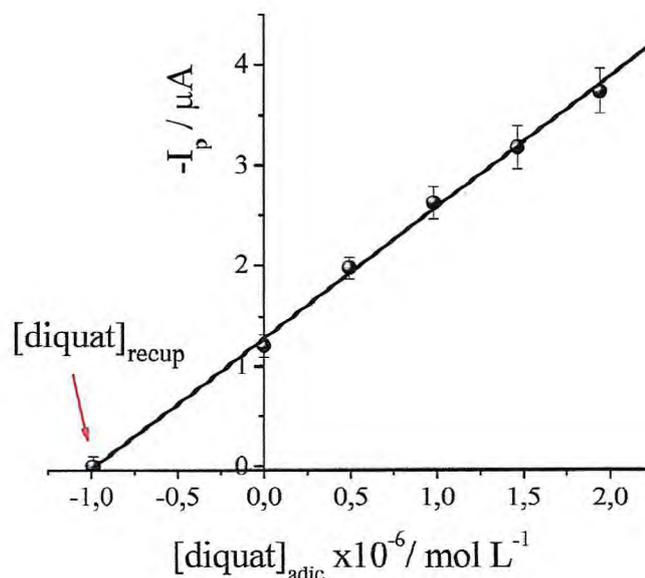


Figura 3. 19: Curva de recuperação em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$) para diquat sobre AgSAE, obtida a partir dos valores médios de corrente de pico ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, com $r = 0,9980$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\alpha = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

As curvas de recuperação em eletrólito de suporte foram realizadas em triplicata, e os resultados, apresentados na Tabela 3.5. Os percentuais de recuperação foram avaliados por meio de parâmetros estatísticos, com concentração média recuperada de $9,881 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e percentual médio de recuperação de 99,78%, com desvio padrão relativo (RSD) de 1,90%, para $n = 3$.

Tabela 3.5: Resultados obtidos para curvas de recuperação do diquat sobre AgSAE em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$), $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Replicatas	[diquat] _{adic} (mol L^{-1})	[diquat] _{recup} (mol L^{-1})	Recuperação (%)
1	$9,901 \times 10^{-7}$	$9,699 \times 10^{-7}$	97,97
2		$9,864 \times 10^{-7}$	99,62
3		$1,008 \times 10^{-6}$	101,80

O fator médio de recuperação calculado (99,78%) está bem próximo do valor teórico (100%) e dentro dos padrões aceitáveis para metodologias analíticas (70,00% a 130,00%, com RSD abaixo de 5%¹⁰⁴), comprovando a eficiência da metodologia proposta para determinação de diquat, possibilitando a utilização desse procedimento em amostras complexas.

3.1.1.8. Efeito de interferentes em formulações comerciais

A fim de comparar os efeitos dos componentes presentes nas formulações comerciais com o padrão analítico, curvas analíticas foram construídas, utilizando a solução comercial do herbicida em análise. Para isso, foi empregada uma solução comercial a 21,70%, com densidade de $1,27 \text{ g mL}^{-1}$, gentilmente cedida pela Syngenta, para preparar uma solução estoque de diquat $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Assim, foram construídas curvas analíticas para um intervalo de concentração de $4,975 \times 10^{-7}$ a $1,961 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, usando procedimento similar ao efetuado pelo uso da solução do padrão analítico deste herbicida (pureza de 99,98%), descrito anteriormente no item 3.1.1.5. A curva resultante é mostrada na Figura 3.20, onde pode ser observado que a corrente de pico também é diretamente proporcional à concentração da solução deste herbicida, com valores similares para as respostas de corrente, tanto para a solução do padrão analítico, como para a solução comercial.

Um leve aumento na inclinação foi observado quando a solução padrão foi utilizada, com um coeficiente angular de $0,8496 \text{ A/mol L}^{-1}$. A solução comercial apresentou um coeficiente angular de $0,6814 \text{ A/mol L}^{-1}$. Entretanto, para concentrações intermediárias da curva analítica, a inclinação foi semelhante para ambas as soluções. Pelos valores dos coeficientes angulares, observou-se uma diferença no valor da tangente da curva analítica dos dois reagentes de aproximadamente 20%, caracterizando a presença do efeito de matriz na

formulação comercial, possivelmente devido à presença de corante ou outras substâncias presentes além do princípio ativo (diquat) em sua formulação.

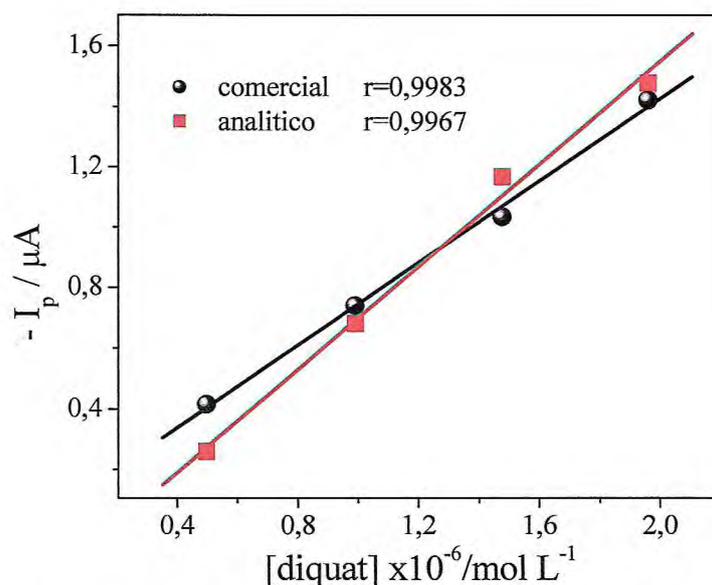


Figura 3. 20: Relação entre corrente de pico vs. concentração de diquat comercial e analítico, sobre AgSAE, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Mesmo sendo observada a presença do efeito de matriz, optou-se por trabalhar com a formulação comercial na parte de aplicação da metodologia, com o objetivo de criar condições as mais próximas possível das reais, recriando condições semelhantes às encontradas nas plantações agrícolas.

3.1.1.9. Aplicação da metodologia proposta para a determinação de diquat em amostras reais

A Agência de Proteção Ambiental (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*) estabeleceu o Máximo de Resíduos Permitidos (MRLs, do inglês *Maximum Residue Limits*), que consiste no estabelecimento de uma quantidade máxima para consumo de cada tipo de agrotóxico, baseando-se, para a sua criação, no potencial de risco (efeitos toxicológico) destes na saúde humana¹²⁴. Para água potável¹²⁵, o nível de diquat permitido é de $20 \mu\text{g L}^{-1}$. A União Européia não tem uma legislação regulamentada para níveis de agrotóxicos específicos para água potável e aplica os valores de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ para pesticidas individuais e $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para níveis totais de pesticidas¹²⁶. No Brasil, o limite máximo de resíduos permitido (LMR) para águas potáveis é estabelecido pelo Ministério da Saúde, por meio das Portarias 1.469/2000¹²⁷ e MS N° 518/2004¹²⁸. Entretanto, diquat não está incluído na lista de agrotóxicos apresentados nas referidas portarias. A Embrapa reconhece como LMR para diquat o mesmo estabelecido

pela EPA¹²⁹. Na cultura de batata, diquat é utilizado como dessecante, e o LMR é de 0,2 mg/Kg³⁹.

Aplicação em águas naturais – Rio Jacaré

A metodologia proposta foi aplicada às amostras de águas naturais coletadas do Rio Jacaré, localizado na cidade de Brotas – SP. O ponto em que foi coletada a amostra fica fora da cidade e é relativamente livre de poluição urbana ou industrial, porém é próximo à região agrícola, com predominância de culturas de cana-de-açúcar. No Brasil, o uso do herbicida diquat é autorizado pelo governo para uso em culturas de cana-de-açúcar, batata, citros, etc³⁹. Após a coleta as amostras foram armazenadas em geladeira, até a realização das análises. Curvas analíticas foram construídas, utilizando os parâmetros otimizados para diquat, em eletrólito de suporte preparado em água Milli-Q. Os valores de percentual de recuperação e de RSD foram calculados, com o objetivo de se observar interferência de possíveis componentes das amostras na metodologia proposta.

As curvas analíticas também foram construídas para diquat usando água do Rio Jacaré pelo método da adição de padrão. Assim, sucessivas alíquotas de 50 μL de diquat $1,0 \times 10^{-4}$, foram adicionadas ao meio eletrolítico, composto de 1 mL de água do Rio Jacaré e 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas registrados estão exibidos na Figura 3.21.

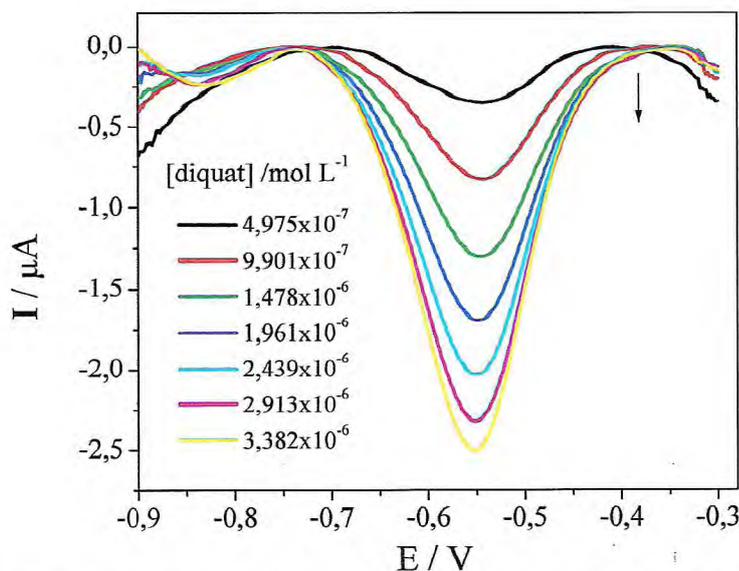


Figura 3. 21: Voltamogramas de onda quadrada para diquat sobre AgSAE em meio de 1 mL de água do rio Jacaré + 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $4,975 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ até $3,382 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Nesses ensaios, observou-se um aumento de corrente proporcional ao aumento de concentração, em um intervalo de $4,975 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $3,382 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Para valores de concentrações mais altas, foi observada perda de linearidade. A Figura 3.22 mostra a curva analítica para água do rio Jacaré.

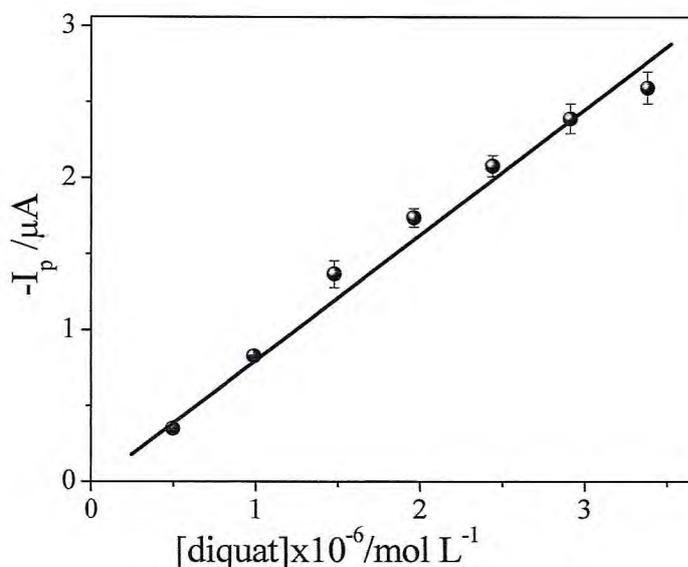


Figura 3. 22: Curva analítica obtida a partir dos valores médios das correntes de pico vs. concentração de diquat com suas respectivas barras de desvio padrão ($n = 3$), $r=0,9976$, em meio de 1 mL de água do Rio Jacaré + 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Adicionalmente, foram realizadas comparações entre os resultados das curvas analíticas feitas em eletrólito de suporte e em água de rio. As respostas obtidas mostraram que não houve mudança significativa no potencial de pico, indicando que a metodologia desenvolvida não tem tendência à adsorção de interferentes. Para renovação da superfície eletródica, utilizou-se procedimento semelhante ao utilizado nos experimentos usando eletrólito de suporte preparado com água Milli-Q. Assim, entre cada experimento, a solução de trabalho foi agitada vigorosamente por 5 minutos, com borbulhamento de nitrogênio para remoção de possíveis produtos adsorvidos na superfície do eletrodo de trabalho.

A relação de linearidade entre as correntes de pico e o aumento da concentração das curvas analíticas – uma em eletrólito de suporte e a outra em água de rio – é descrita abaixo, nas equações 3.4 e 3.5, respectivamente.

$$I_p(\text{A}) = 1,080 \times 10^{-7} (\text{A}) + 0,658 [\text{diquat}] (\text{A mol L}^{-1}) - \text{eletrólito de suporte} \quad \text{Equação 3.4}$$

$$I_p(\text{A}) = 1,174 \times 10^{-7} (\text{A}) + 0,951 [\text{diquat}] (\text{A mol L}^{-1}) - \text{água do Rio Jacaré} \quad \text{Equação 3.5}$$

A equação 3.4 apresentou um coeficiente de correlação de 0,9976, e a equação 3.5, 0,9993. Comparando as curvas analíticas das duas amostras em questão, observaram-se mudanças nas respostas voltamétricas, possivelmente por causa da influência dos componentes orgânicos e inorgânicos presentes nas amostras de águas de rio, caracterizadas por um pequeno aumento nas correntes de pico. Esses resultados são melhores observados na Figura 3.23.

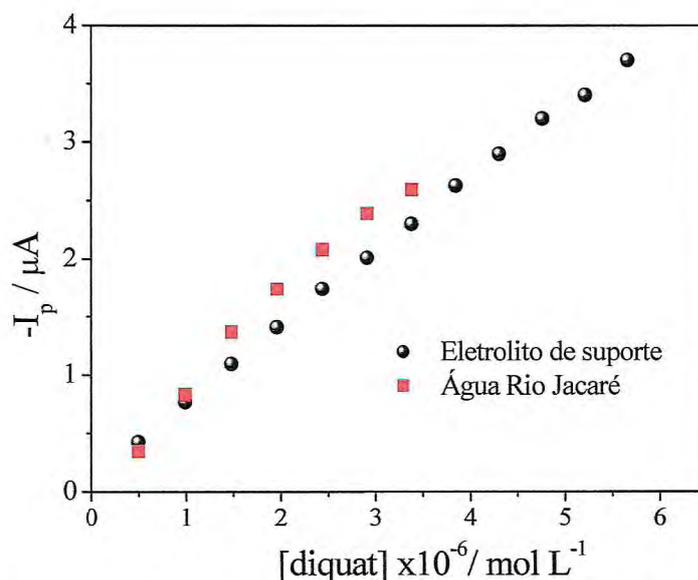


Figura 3. 23: Curvas analíticas para diquat sobre AgSAE, em eletrólito de suporte preparado com água Milli-Q e em água de rio (1 mL de água do Rio Jacaré + 9 mL de Na₂B₄O₇ 0,01 mol L⁻¹), nas condições otimizadas.

Analisando estes resultados, observou-se que, em concentrações mais baixas, as correntes de pico são praticamente iguais para ambas as curvas analíticas. Em concentrações mais altas, verifica-se um pequeno aumento de corrente de pico para curva analítica em água de rio. Esse aumento de corrente é caracterizado, possivelmente, pela interferência das espécies orgânicas e inorgânicas presentes nesta água, que devem ter reagido simultaneamente com as espécies eletroativas de diquat.

Também por esses resultados foi possível fazer uma comparação entre os métodos de padrão externo (curva em eletrólito de suporte) caracterizado pela ausência de interferentes, uma vez que essa curva foi contruída em eletrólito de suporte preparado com água purificada, e o método da adição de padrão, que é um método indicado para ser utilizado em amostras complexas (neste caso, água do Rio Jacaré). Assim, para a curva analítica construída com amostra de água do Rio Jacaré, observou-se a influência do efeito de matriz, pela variação do coeficiente angular (tangente) ao longo da faixa de concentração analisada.

Adicionalmente, curvas de recuperação foram construídas pelo método da adição de padrão, a fim de avaliar o efeito dos interferentes orgânicos e inorgânicos presentes nas amostras de água do Rio Jacaré, e são apresentadas na Figura 3.24.

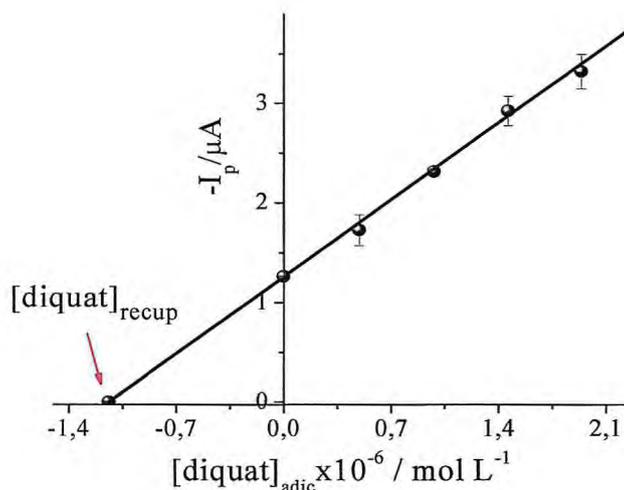


Figura 3. 24: Curva de recuperação para diquat sobre AgSAE, obtida a partir dos valores médios de corrente de pico ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, com $r = 0,9998$, em meio de 1 mL de água do Rio Jacaré + 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L⁻¹. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Essas curvas foram construídas pelo método da adição de padrões, e a quantidade adicionada de diquat foi de $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. A concentração média detectada foi de $1,141 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Obteve-se um valor médio para o percentual de recuperação de 115,2 %, com RSD de 2,47%, para $n = 3$.

Esses resultados são ligeiramente superiores aos reportados na literatura. De Souza e Machado²⁹ encontraram um fator de recuperação de 97,00%, utilizando microeletrodo de ouro na determinação de diquat em águas naturais. Para sistema semelhante, Lu e Sun⁴⁶ obtiveram um fator de recuperação de 100,60%, utilizando eletrodo de carbono vítreo, modificado com filme polimérico de Nafion[®]. A diferença entre o fator médio de recuperação determinado com os reportados pela literatura deve ser devida à diferença na composição química da água natural analisada. A amostra de água natural utilizada neste trabalho foi coletada de um rio localizado em uma área rural, caracterizado por uma grande quantidade de matéria orgânica, como substâncias húmicas (ácidos húmicos e fúlvicos), que podem ter interagido com o analito, promovendo aumento nas respostas de corrente.

Aplicação em alimentos – Amostras de batata

A metodologia proposta foi aplicada em amostras de batata, adquiridas no comércio local de Fortaleza, com armazenamento delas em geladeira até o uso. As curvas de

recuperação foram construídas, utilizando parâmetros otimizados para diquat em eletrólito de suporte.

Adicionalmente, curvas de recuperação para amostras de batata foram construídas, a fim de se avaliar o efeito dos interferentes presentes. Para o procedimento, foram adicionados na célula eletroquímica 9 mL de eletrólito de suporte e, após registros de medidas de branco, 1 mL da “solução de batata contaminada artificialmente” (cujo procedimento de preparação foi descrito no Capítulo II), representando uma concentração de diquat adicionada de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Em seguida, foram levantadas curvas de recuperação, utilizando o método da adição de padrão. Entre cada medida, a solução foi borbulhada com N₂ por 5 minutos, a fim de remover espécies adsorvidas à superfície do eletrodo, promovendo uma completa renovação da superfície eletródica e possibilitando obtenção de precisão intermediária nas medidas eletroquímicas. Os voltamogramas registrados são exibidos na Figura 3.25 (A).

A Figura 3.25(B) mostra a relação de proporcionalidade, para as curvas de recuperação de batata contaminada artificialmente, entre corrente de pico e concentração adicionada de diquat, com coeficiente de correlação de 0,9998.

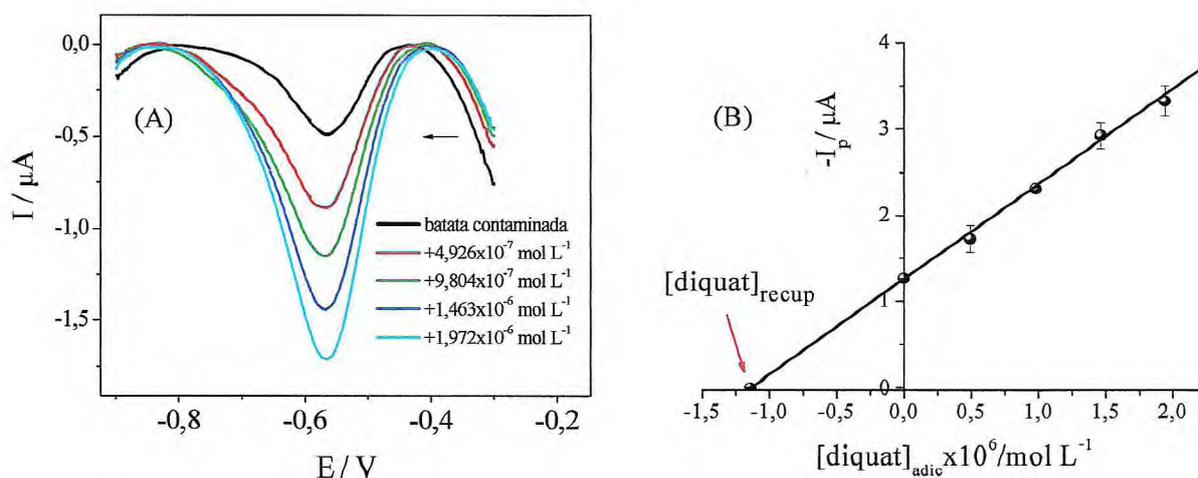


Figura 3. 25: (A): Voltamogramas de onda quadrada de diquat sobre AgSAE, em meio de 1 mL de batata contaminada artificialmente com diquat + 9 mL de Na₂B₄O₇ 0,01 mol L⁻¹, com concentração de variando de $4,926 \times 10^{-7}$ a $1,972 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. (B): Curva de recuperação obtida a partir dos valores médios das correntes de pico ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, com $r = 0,9998$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A concentração média recuperada foi de $8,610 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, apresentando fator médio de recuperação de 86,10%, com RSD de 3,36%.

Na seqüência, uma comparação entre os fatores médios de recuperação para eletrólito de suporte, para água de rio e para amostras de batata foi realizada, como mostrado na Tabela 3.6.

Tabela 3.6: Resultados obtidos a partir de curvas de recuperação de diquat sobre AgSAE em eletrólito de suporte, água do Rio Jacaré e batata. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Amostras	[diquat] _{adic} (mol L ⁻¹)	[diquat] _{recup} (mol L ⁻¹)	Recuperação (%)
Eletrólito de suporte	$9,901 \times 10^{-7}$	$9,880 \times 10^{-7}$	99,78±1,90
Água de rio	$9,901 \times 10^{-7}$	$1,141 \times 10^{-6}$	115,24±2,47
Batata	$1,000 \times 10^{-6}$	$8,610 \times 10^{-7}$	86,10±3,36

A Tabela 3.6 mostra que, para amostras de água de rio, observou-se um aumento na concentração recuperada, promovendo um aumento no fator médio de recuperação em relação aos valores observados para eletrólito de suporte. Esse aumento deu-se, possivelmente, pela interferência das espécies orgânicas, que devem ter reagido simultaneamente com as espécies eletroativas de diquat, como já comentado anteriormente.

Analisando os resultados para as amostras de batata, verificou-se que a concentração média recuperada é menor, levando uma redução no fator médio de recuperação em comparação com os valores observados para eletrólito de suporte. Isso, possivelmente, ocorreu pela interferência dos constituintes da batata, especialmente o amido, que é uma das principais substâncias presentes. Desta forma, substâncias constituintes devem ter interagido com o analito (diquat), provocando uma mudança de comportamento deste herbicida e causando uma diminuição no fator de recuperação.

Pelos resultados mostrados na tabela, é possível afirmar que os valores de recuperação obtidos neste trabalho para eletrólito de suporte, para água de rio e para batata estão em uma escala adequada para aplicações analíticas (70 % a 130 %), indicando que o procedimento proposto provou ser aplicável em amostras complexas.

3.1.2. Diquat sobre superfície de EDDB

O eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB) utilizado neste trabalho foi de procedência do LAS-INPE (teor de boro de 20.000 ppm), montado no próprio laboratório, como já descrito no item 2.2.5 do Capítulo II.

3.1.2.1. Sobre o EDDB

Estimativa da área ativa

O eletrodo de filme de diamante tem uma vida útil limitada, devido, principalmente, à ação das soluções de trabalho, tanto de ativação (H₂SO₄), quanto do eletrólito de suporte

usado nas determinações analíticas, que atacam a resina isolante do eletrodo, provocando problemas de infiltração e, conseqüentemente, a necessidade de montar novamente o eletrodo.

Por causa desse problema, a determinação da área eletroativa do EDDB foi realizada após cada ativação. A área foi calculada a partir dos dados obtidos nos voltamogramas cíclicos obtidos para o processo reversível $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. Este sistema foi utilizado por ter condições estabelecidas pela literatura¹³⁰, apresentando o número de elétrons envolvido (n) igual a 1 e o coeficiente de difusão da espécie eletroativa (D_0) igual $6,50 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

Na Figura 3.26(A) são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos para $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio aquoso de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre superfície de EDDB, em velocidades de varredura de 25 mV s^{-1} a 500 mV s^{-1} . Entre as medidas voltamétricas, o eletrodo foi submetido à agitação magnética por 30 s para limpeza e renovação da superfície eletródica. Esse procedimento foi repetido durante a realização de todo o trabalho.

A partir dos voltamogramas cíclicos obtidos, as correntes de pico anódica (I_p) foram avaliadas em relação à raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), obtendo-se uma relação linear, apresentada na Figura 3.26(B), entre essas duas variáveis, avaliadas a partir dos dados mostrados na Figura 3.26(A).

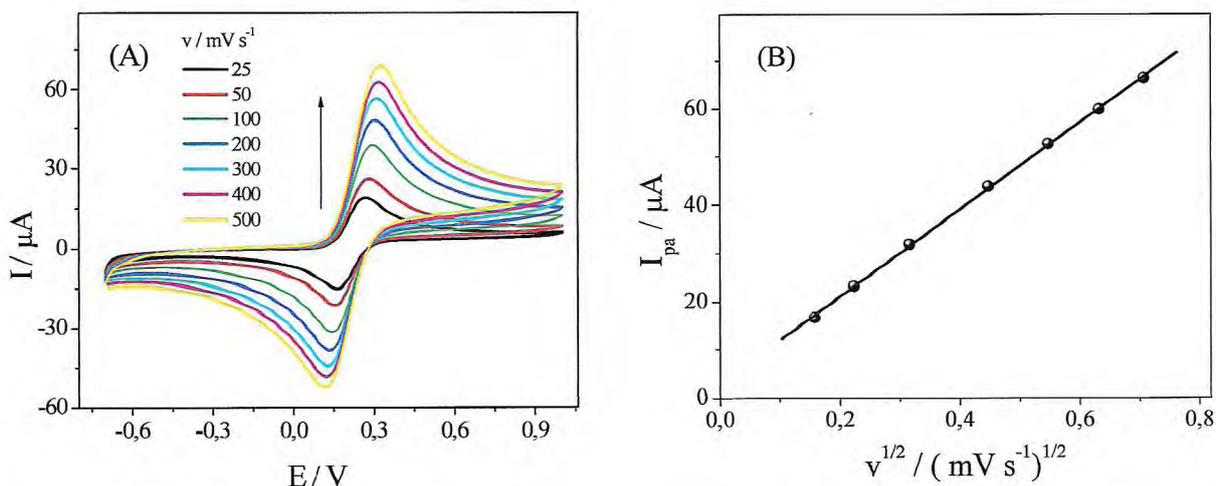


Figura 3. 26: Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (25 mV s^{-1} a 500 mV s^{-1}), registrados em $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio aquoso de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB. Condições experimentais: $E_{\text{inicial}} = -0,7 \text{ V}$, $E_{\text{inversão}} = 1,0 \text{ V}$ e $E_{\text{final}} = -0,7 \text{ V}$. **(B):** Relação entre I_p vs. $(v^{1/2})$, cuja equação da reta é: $I_p = 3,05 \times 10^{-6} A + 9,001 \times 10^{-5} v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, com $r = 0,9998$.

De acordo com a teoria desenvolvida para voltametria cíclica, a relação de proporcionalidade obtida entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura caracteriza um processo controlado por difusão da espécie eletroativa até a superfície do eletrodo de trabalho, como prediz a equação de Randles-Ševcik (Equação 3.3), já apresentada anteriormente.

Também por essa equação, foi possível calcular a área ativa do EDDB, usando o coeficiente angular da reta, obtido pela relação I_p vs. $v^{1/2}$ (Figura 3.26 B), que foi igual a $9,001 \times 10^{-5} \text{ A } v^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$. Assim, os respectivos valores foram substituídos na Equação 3.3 e foi calculada, uma área de $0,4 \text{ cm}^2$.

Tratamento de ativação aplicada ao EDDB

Antes da construção das curvas analíticas, curvas de recuperação em eletrólito de suporte e em amostras de alimentos, a superfície do EDDB passou por um procedimento de ativação da superfície eletródica como descrito no Capítulo II, item: **2.2.5.2.** Este tratamento renova a superfície eletródica, bem como regenera as ligações de hidrogênio do filme de diamante, melhorando significativamente a precisão intermediária entre as medidas voltamétricas. Sempre, após a realização deste procedimento, uma nova área do EDDB era calculada.

Suffredini et al.⁹⁹ realizaram um estudo sobre os efeitos da ativação aplicada sobre o EDDB, em que relatam que, ao realizar uma polarização catódica sobre o eletrodo, um aumento significativo de corrente de pico, bem como precisão intermediária entre as medidas, foram observados, quando usaram clorofenóis. Também pequenas variações de potências de pico foram visualizadas. Girard et al.¹³¹ comentam sobre ativação de EBDD, por pré-tratamentos catódicos, em que obtiveram resultados semelhantes aos comentados por Suffredini et al.⁹⁹.

3.1.2.2. Otimização dos parâmetros experimentais para determinação de diquat sobre EDDB por VOQ

Escolha do Eletrólito de suporte

Na avaliação da escolha do eletrólito de suporte, foram investigados: Na_2SO_4 , NaClO_4 , Tampão BR (pH 7), todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, e $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. O $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ foi escolhido como o melhor eletrólito, por apresentar uma maior intensidade de corrente e melhor perfil voltamétrico, como pode ser observado na Figura 3.27.

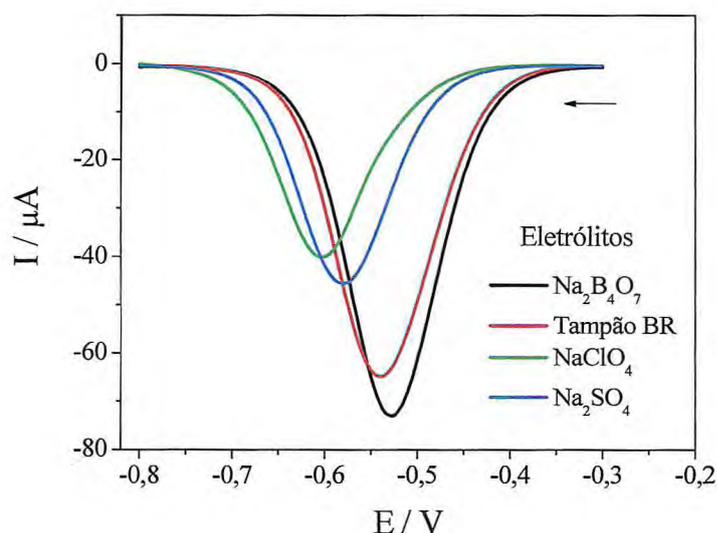


Figura 3. 27: Voltamogramas de onda quadrada de diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em diferentes eletrólitos de suporte, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, Na_2SO_4 , NaClO_4 , Tampão BR (pH 7) todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Variação da concentração do eletrólito de suporte

Analisou-se a variação da concentração do $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ para observar a influência deste parâmetro no processo de redução do herbicida em análise, quando o EDDB foi utilizado como superfície eletródica. Na concentração de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, observou-se uma maior intensidade de corrente de pico, bem como um perfil voltamétrico bem mais definido com uma menor largura de meia altura, indicando que, em concentração mais alta do eletrólito de suporte, uma melhor resposta voltamétrica foi obtida no processo de redução do diquat, como pode ser visto na Figura 3.28.

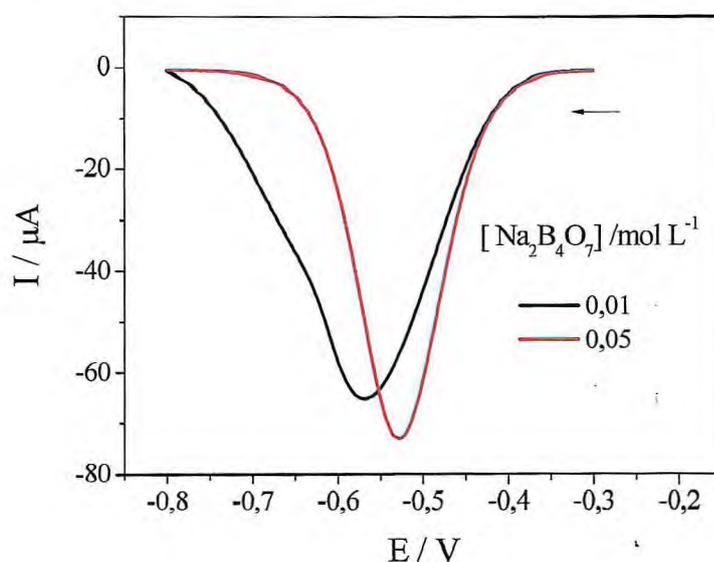


Figura 3. 28: Voltamogramas de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em diferentes concentrações de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$.

Partindo desses resultados, o $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ foi utilizado no desenvolvimento da metodologia analítica.

Componentes de correntes

As componentes de corrente foram avaliadas e a corrente resultante obtida apresentou dois picos de redução. O primeiro pico apresentou perfil voltamétrico bem definido e potencial de pico em aproximadamente $-0,6 \text{ V}$. O segundo pico exibiu baixa intensidade de corrente com potencial de pico em aproximadamente em $-1,1 \text{ V}$, como mostrado na Figura 3.29.

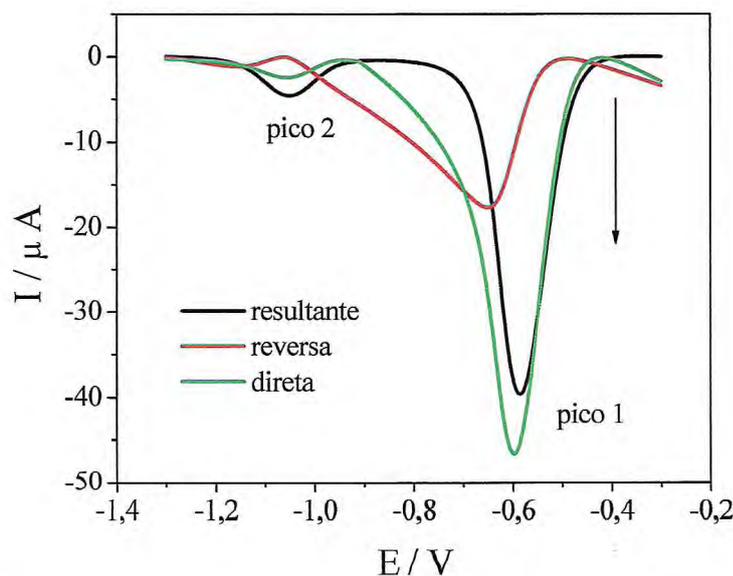


Figura 3. 29: Componentes de corrente para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\alpha = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A análise das componentes de corrente direta (relacionada ao pulso direto ou processo de redução) e corrente reversa (relacionada ao pulso inverso ou processo de oxidação), mostrou a presença de dois picos de redução no sentido do pulso direto e dois picos no pulso reverso. Entretanto, observou-se que os picos de corrente no pulso reverso estão no mesmo sentido do pulso direto.

De acordo com os critérios de diagnóstico da VOQ, os picos reversos no mesmo sentido dos pulsos diretos ocorrem somente quando a difusão das espécies reduzidas é muito lenta. Assim, quando o pulso reverso é aplicado, ainda ocorre a redução de reagentes. Além disso, como a intensidade das correntes direta e reversa é diferente e somente ocorrem processos de redução tanto no pulso direto quanto no pulso reverso, o processo redox do diquat sobre EDDB é irreversível¹⁰⁰ nas condições estudadas.

Adicionalmente, os resultados apresentados na Figura 3.29 mostraram que a corrente de pico resultante, considerando o pico 1, é localizada em aproximadamente -0,6 V e, também apresenta um perfil gaussiano bem definido, sendo o mais indicado para fins analíticos, visto que quanto mais estreito for o pico voltamétrico, maior a seletividade. Assim, a otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos para desenvolvimento da metodologia para determinação de diquat sobre EDDB foi realizada, considerando-se apenas o pico 1.

A literatura cita que diquat apresenta dois picos de redução na direção da varredura negativa, com comportamento totalmente reversível, indicado pela presença das componentes de correntes direta e reversa em sentidos diferentes, com valores similares de corrente de pico²⁹. O mecanismo eletroquímico associado ao pico reversível envolve a formação de espécies adsorvidas sobre a superfície do eletrodo⁴³. O EDDB minimiza o processo de adsorção¹³² e, possivelmente por isso, quando este foi usado como superfície eletródica, o mecanismo redox para o diquat foi modificado.

3.1.2.3. Avaliação dos parâmetros voltamétricos da VOQ para determinação de diquat sobre EDDB

Frequência de aplicação dos pulsos

A frequência de aplicação dos pulsos foi avaliada, variando de 10 s^{-1} a 300 s^{-1} . Nesse estudo manteve-se constante a amplitude de pulso de 50 mV e o incremento de varredura de 2 mV. A Figura 3.30 apresenta os voltamogramas de onda quadrada para diquat sobre superfície de EDDB, em diferentes frequências de aplicação de pulsos de potencial.

As variações nos valores de frequência mostraram que seu aumento promoveu um pequeno crescimento nas correntes de pico e um considerável deslocamento de potencial de pico para valores mais negativos, comportamento característico de processos irreversíveis²⁵. À medida que a frequência de aplicação de pulsos foi aumentada, observou-se um aumento na largura de meia altura, demonstrando perda de seletividade.

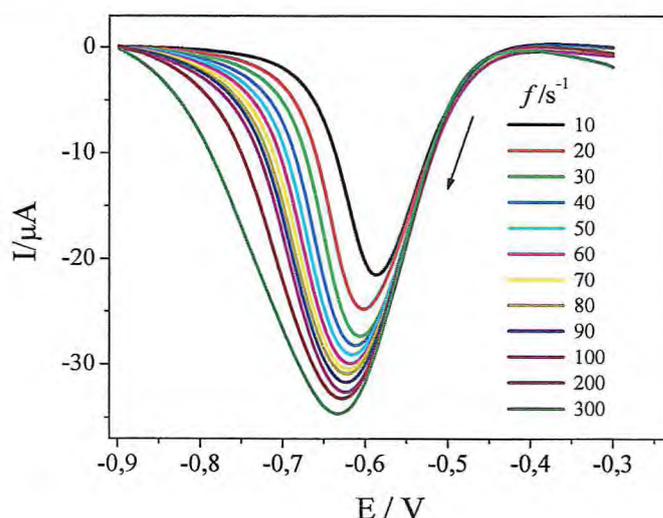


Figura 3. 30: Voltamogramas de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB, em diferentes frequências de aplicação de pulsos de potencial em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

As relações entre corrente de pico (I_p) e frequência de aplicação de pulsos (f) e entre corrente de pico e raiz quadrada da frequência de aplicação de pulsos ($f^{1/2}$) foram avaliadas e são exibidas nas Figura 3.31(A) e 3.31 (B) respectivamente.

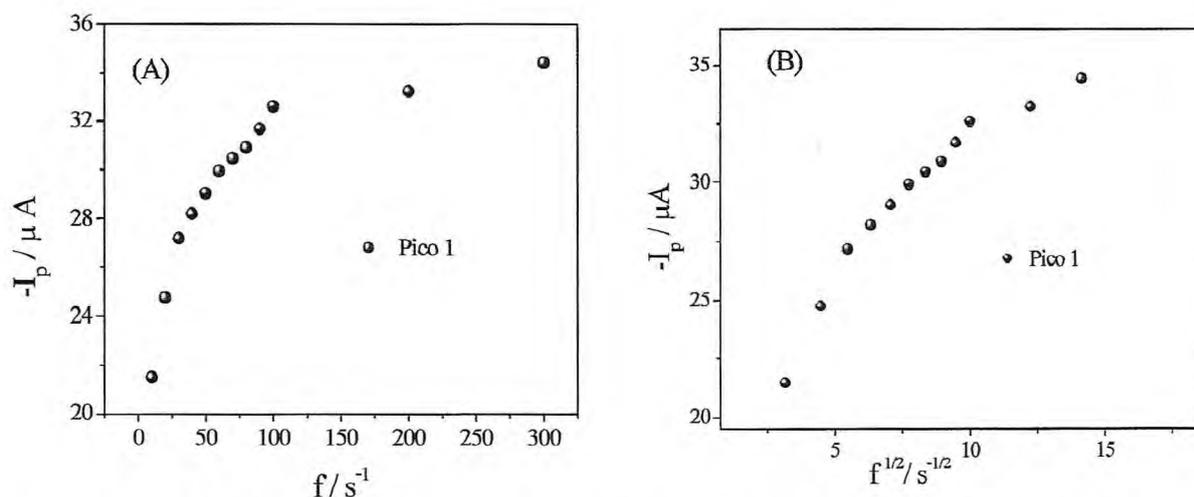


Figura 3. 31: (A): Estudo entre corrente de pico e a variação da frequência de aplicação de pulso (B): Relação entre corrente de pico e a raiz quadrada da frequência de aplicação de pulso. Diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Analisando esses resultados observou-se que as relações entre I_p e f e entre I_p e $f^{1/2}$ não apresentaram tendência linear. Segundo os critérios de diagnósticos da VOQ a relação linear entre I_p vs. f é um indicativo de processos irreversíveis controlados por adsorção, e uma relação linear entre I_p vs. $f^{1/2}$ é um indicativo de processos reversíveis controlado por difusão.

Adicionalmente processos em que não são encontradas linearidade entre as relações de I_p com frequência e raiz quadrada da frequência é um indicativo de processos quase-

reversíveis. Outra relação pode ser utilizada para avaliar os critérios de reversibilidade desse sistema, é a caracterização do “Máximo Quase Reversível”. Esta relação é estabelecida pela avaliação de I_p/f vs. f . O aparecimento de um máximo caracteriza o processo como quase-reversível. Para diquat sobre EDDB, não foi observado a formação do “Máximo Quase Reversível”. Assim, no intervalo de frequência estudado (10 a 300 s^{-1}), não se obteve nenhuma informação adicional sobre a reversibilidade deste sistema.

Como foi verificado na análise das componentes de corrente, o processo de redução deste herbicida é caracterizado pela difusão lenta das espécies eletroativas em solução. Assim foi escolhida a frequência de 40 s^{-1} , por ser uma frequência baixa, bem como por apresentar um perfil voltamérico bem definido.

Amplitude de pulsos

Na seqüência, a amplitude de potencial foi analisada, variando-se de 5 mV a 70 mV , mantendo-se constante a frequência de aplicação dos pulsos em 100 s^{-1} e o incremento de varredura em 2 mV . A Figura 3.32(A) mostra os voltamogramas de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ em diferentes amplitudes de pulso. A relação entre corrente de pico e variação da amplitude é exibida na Figura 3.32(B). A variação da amplitude de pulsos promoveu um aumento linear nas correntes de pico, no intervalo de 5 mV a 50 mV , com $r = 0,9990$, enquanto que, para o potencial de pico, não foi observada nenhuma variação. Assim, a amplitude de 50 mV foi escolhida para dar continuidade ao desenvolvimento da metodologia.

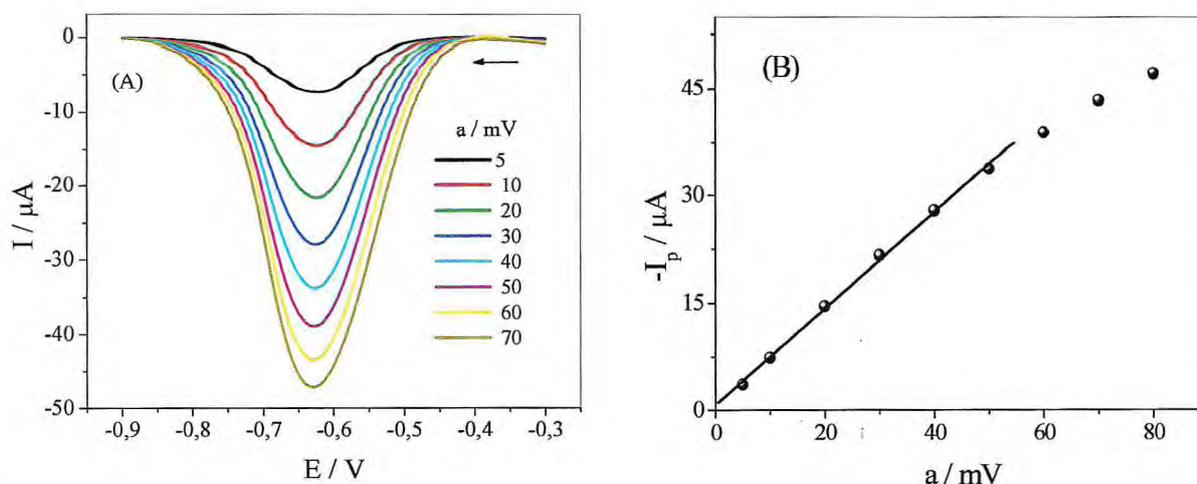


Figura 3. 32: (A): Voltamograma de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ sobre de EDDB, em diferentes amplitudes de pulsos em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05\text{ mol L}^{-1}$. $f = 100\text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2\text{ mV}$. (B): Relações entre corrente de pico e a variação da amplitude de potencial. $I_p = 7,852 \times 10^{-7} A + 6,725 \times 10^{-7} a (\text{mV})$, $r = 0,9990$.

Incremento de varredura

O incremento de varredura de potencial foi avaliado no intervalo de 2 mV a 7 mV e mantendo-se constante a frequência de aplicação dos pulsos em 100 s^{-1} e a amplitude de pulso em 50 mV. Observou-se um pequeno aumento das correntes de pico, com o aumento desse parâmetro, como pode ser vistos nos voltamogramas da Figura 3.33(A).

A relação entre corrente de pico e variação do incremento de varredura é apresentada na Figura 3.33(B). Esses resultados mostraram que a variação deste parâmetro não exerceu muita influência no processo de redução do diquat sobre superfície de EDDB, uma vez que não foram observadas variação significativa nas correntes de pico nem relação de linearidade. Analisando as correntes de pico apresentadas nessa figura para o incremento de 2 mV, teve-se $I_p = -33,84 \mu\text{A}$, enquanto que, no incremento de 7 mV, obteve-se $I_p = -36,65 \mu\text{A}$, valores de incrementos diferentes apresentado correntes de pico semelhantes.

Em função da pequena diferença de corrente de pico, optou-se por trabalhar com 2 mV, pois este apresentou um perfil voltamétrico mais bem definido e um potencial de pico em -0,61 V, bem como uma menor largura de meia altura. Nos demais, observou-se um leve deslocamento dos potenciais de pico para valores mais negativos, comportamento típico de sistemas irreversíveis¹³³, e também foi visualizado um aumento na largura de meia altura, caracterizando perda de seletividade em incrementos maiores.

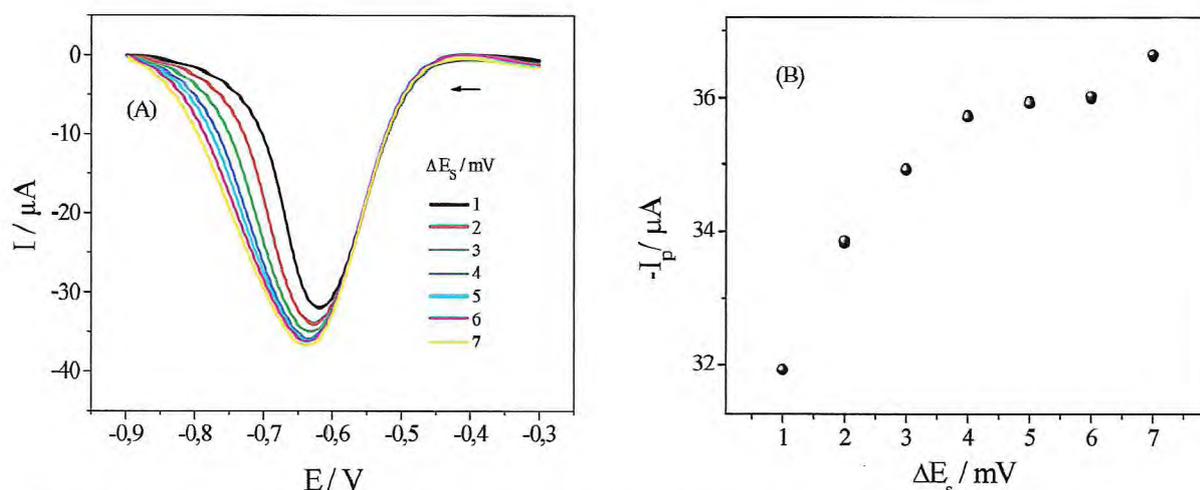


Figura 3. 33: (A): Voltamograma de onda quadrada para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB, em diferentes incrementos de varredura, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$. (B): Relação entre a corrente de pico e a variação do incremento de varredura.

Após a análise dos parâmetros voltamétricos da VOQ, ficaram definidas como condições otimizadas: $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

3.1.2.4. Estudos complementares por voltametria cíclica

Experimentos aplicando a técnica de voltametria cíclica foram realizados, buscando avaliar o comportamento redox do diquat sobre EDDB. Usou-se diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. A varredura de potencial se deu no intervalo de potencial de 0,0 a -1,5 V e observou-se a presença de um único pico de redução, bem definido em torno de -0,63 V, não sendo visualizado nenhum pico de oxidação, caracterizando o sistema como processo redox totalmente irreversível. Na seqüência, experimentos para a análise da variação da velocidade de varredura foram realizados no intervalo de 10 mV s^{-1} a 250 mV s^{-1} , e os voltamogramas cíclicos registrados são exibidos na Figura 3.34.

Os voltamogramas mostraram que o potencial de pico apresentou um deslocamento para valores mais negativos, com o aumento da velocidade de varredura, confirmando o comportamento irreversível¹³⁴ do processo de redução do diquat sobre EDDB.

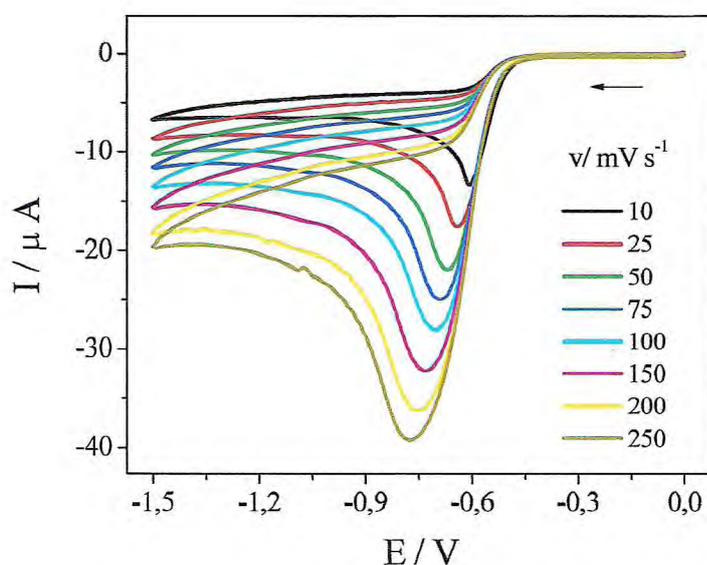


Figura 3. 34: Voltamogramas cíclicos para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura na faixa de potencial de -0,0 V até -1,5 V.

Adicionalmente, foi investigada a relação entre corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura, encontrando-se uma relação linear com um coeficiente de correlação de 0,9996, caracterizando o sistema como difusional¹³⁴, como mostrado na Figura 3.35.

O controle difusional ou transporte de massa estão associados às leis de Fick, sendo válido quando a concentração das espécies eletroativas no meio é baixa (o coeficiente de difusão da espécie pode variar em concentrações elevadas)¹³⁵. Assim, o transporte de massa por difusão é preferível em determinações voltamétricas, porque torna possível estudar o mecanismo envolvido no processo de transferência de carga (processo de oxidação e redução que ocorre na superfície eletródica).

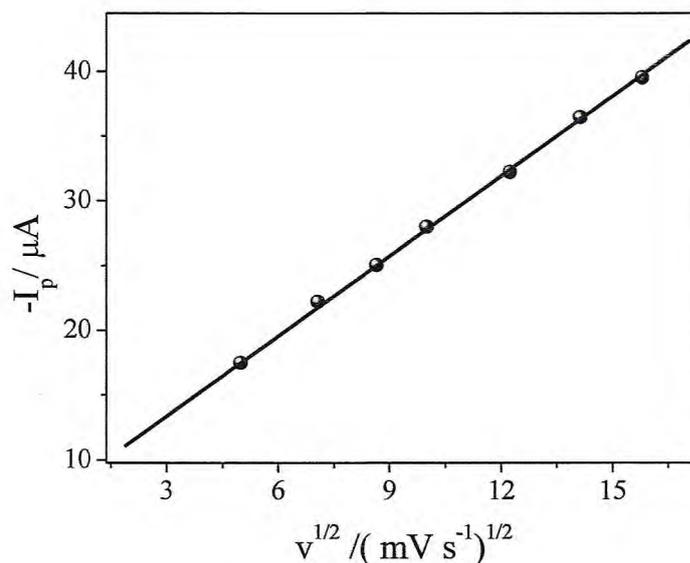


Figura 3. 35: Relação ente corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura para diquat $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $I_p = 7,192 \times 10^{-6} A + 2,058 \times 10^{-6} v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, $r = 0,9996$.

Voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 3.36 mostraram que o processo de redução do diquat em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB sofre uma forte dependência das concentrações.

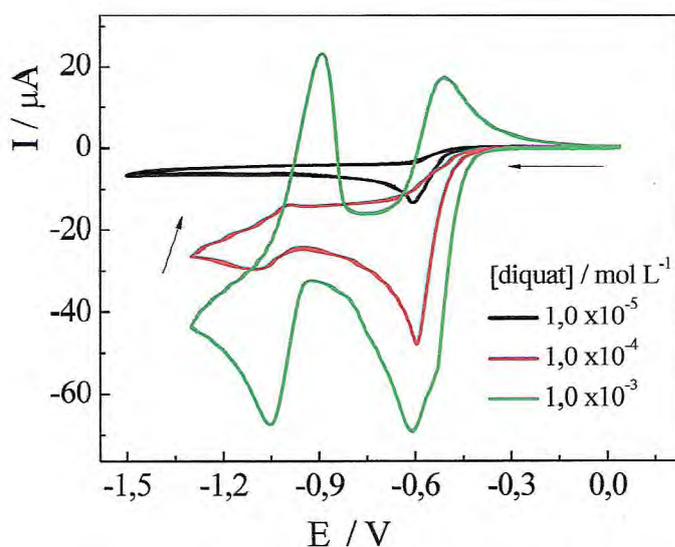


Figura 3. 36: Voltamogramas cíclicos para diquat sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes concentrações a 100 mV s^{-1} .

Para concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, foi observado apenas um pico de redução, em torno de $0,6 \text{ V}$, como já comentado anteriormente. Entretanto, quando a concentração foi aumentada em uma ordem de grandeza, observou-se o surgimento do par redox para o pico

em torno de -1,0 V, e o primeiro pico (-0,6 V) permaneceu com características de processo irreversível. Aumentando mais a concentração de diquat para $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, foi possível visualizar a formação dos dois pares redox, com características de processo quase reversível. E, somente em altas concentrações, foi possível observar o mecanismo de reação deste herbicida, como citado na literatura e já descrito neste estudo, no item 3.1.1.2. Esses trabalhos propõem um mecanismo redox para diquat (DQ), em que o primeiro processo observado é o par redox ($\text{DQ}^{2+} + e^- \rightleftharpoons \text{DQ}^+$) e o segundo processo é associado ao processo quase reversível controlado por adsorção, que gera a molécula neutra ($\text{DQ}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{DQ}^0$)^{40,43}.

O uso do EDDB promove considerável decréscimo nos processos de adsorção de produtos e/ou reagentes sobre a superfície eletródica. Assim, os mecanismos de redução do diquat resultam na combinação entre os processos de transporte de massa e de adsorção na superfície eletródica, com a formação de espécies fortemente adsorvidas⁴³, uma vez que o segundo par redox só é observado em altas concentrações. Este comportamento confirma a característica dos eletrodos de diamante de apresentar pouco efeito de adsorção sobre a superfície do eletrodo^{132,136}, que só ocorre se as espécies eletroativas estiverem presentes em concentrações elevadas.

3.1.2.5. Curvas analíticas para diquat sobre superfície de EDDB

Estabelecidos os parâmetros voltamétricos, curvas analíticas foram levantadas em triplicata. Na construção das curvas, utilizou-se uma solução estoque de diquat $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com adições sucessivas de alíquotas de 10 μL , e observou-se um aumento proporcional da corrente de pico, em função da concentração de diquat no intervalo de concentração avaliado, que foi de $9,990 \times 10^{-8}$ a $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas registrados são exibidos na Figura 3.37.

Sob as condições otimizadas, as respostas de VOQ mostraram dependência linear entre as correntes de pico e a concentração de diquat, possibilitando a construção das curvas analíticas e o cálculo dos limites de detecção e de quantificação, para posterior aplicação da metodologia em amostras reais.

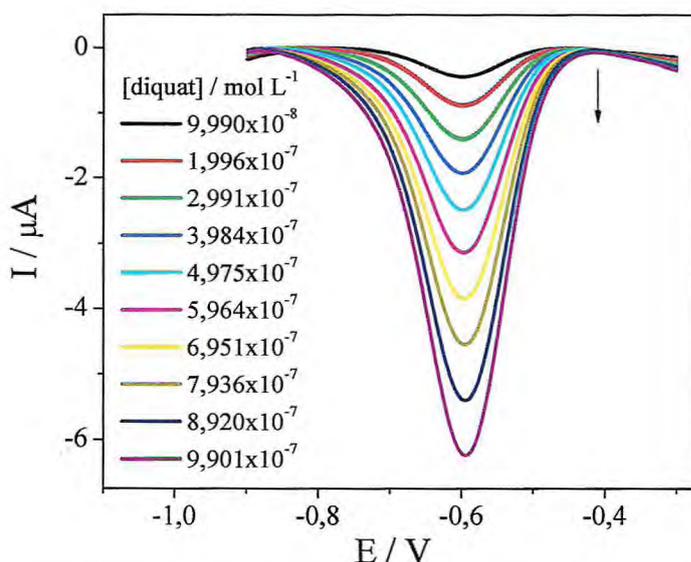


Figura 3. 37: Voltamogramas de onda quadrada de diquat sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $9,990 \times 10^{-8}$ até $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A curva analítica para diquat sobre EDDB pode ser vista na Figura 3.38, em que é apresentada a relação de proporcionalidade entre correntes de pico e aumento da concentração do herbicida, para valores médios ($n = 3$), com um coeficiente de correlação de 0,9993 cuja equação da reta é representada por $I_p(\text{A}) = -5,213 \times 10^{-7} \text{ A} + 6,493 [\text{diquat}]$, no intervalo de concentração avaliada.

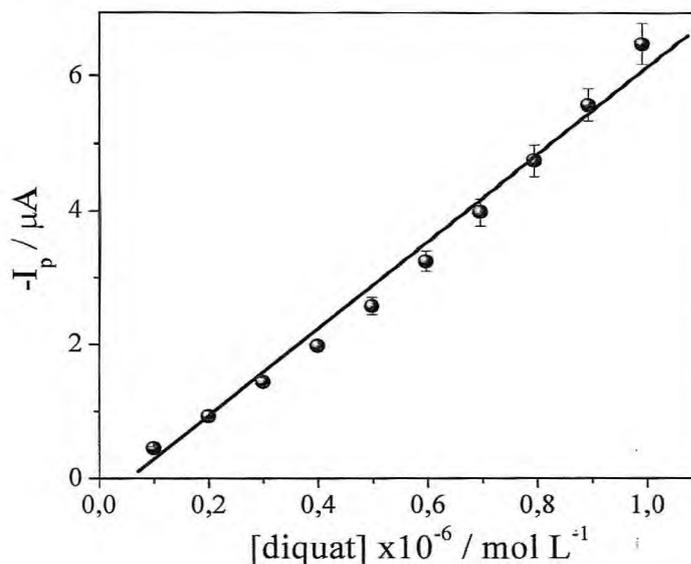


Figura 3. 38: Curva Analítica para diquat sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, obtidas a partir dos valores médios das correntes de pico vs. concentração de diquat ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, $I_p = -5,213 \times 10^{-7} \text{ A} + 6,493 [\text{diquat}]$, $r = 0,9940$. $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

O valor médio do intercepto das curvas analíticas apresentou um valor negativo. O valor considerado como real para intercepto é zero. Entretanto, erros aleatórios fazem com que o valor medido raramente seja exatamente igual ao valor real. Um teste estatístico, conhecido como teste de significância (teste t)¹³⁷, pode ser empregado para avaliar se os erros aleatórios são significativos. Esse teste é calculado pela equação:

$$t = (\bar{x} - \mu) \frac{\sqrt{n}}{s} \quad \text{Equação 3.6}$$

onde \bar{x} é a média das amostras, μ é o valor considerado como verdadeiro, s é o desvio padrão da média e n é o número de determinações.

O valor de t calculado para a média do intercepto das curvas analíticas foi 3,17. Esse valor foi comparado com t crítico para um nível de 95% de confiança, cujo valor tabelado para $n = 3$ é de 4,30. Assim, o valor t calculado foi menor que o valor de t tabelado, indicando que o valor médio do intercepto não difere significativamente de zero a um nível de 95% de confiança.

Com os dados obtidos nas curvas analíticas construídas sobre EDDB, foram calculados os limites de detecção e de quantificação (conforme os critérios da IUPAC, representados nas equações 2.1 e 2.2, apresentadas no Capítulo II). A Tabela 3.7 mostra os resultados obtidos para o valor do coeficiente de correlação das curvas analíticas (r), o desvio padrão das médias aritméticas de dez medidas do branco na solução (S_b), o coeficiente angular da curva analítica (S) e os valores calculados para limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ).

Tabela 3. 7: Parâmetros analíticos determinados por VOQ para determinação de diquat sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Parâmetros	Pico 1
Linearidade	$9,990 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $9,901 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
Equação	$I_p = -5,213 \times 10^{-7} \text{ A} + 6,493 [\text{diquat}]$
R	0,9940
S_b (A)	$3,625 \times 10^{-10}$
S (A/mol L^{-1})	6,493
LD (mol L^{-1})	$1,59 \times 10^{-10}$ ($0,057 \mu\text{g L}^{-1}$)
LQ (mol L^{-1})	$5,30 \times 10^{-10}$ ($0,192 \mu\text{g L}^{-1}$)

Com o uso do EDDB, foi possível determinar excelentes valores de LD e de LQ, mostrando uma alta sensibilidade analítica. Esses resultados foram obtidos sem ativação da superfície eletródica, entre as replicatas das curvas analíticas.

3.1.2.6. Avaliação da precisão da metodologia por ensaios de repetibilidade e precisão intermediária

Repetibilidade

A repetibilidade foi testada considerando dez medidas sucessivas realizadas na mesma solução, contendo diquat $2,991 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Obteve-se uma média das correntes de pico de $-1,431 \times 10^{-6} \text{ A}$, RSD de 0,77 %, para $n=10$. A Tabela 3.8 mostra os valores das correntes de pico encontrados para essas medidas.

Tabela 3. 8: Estudos de repetibilidade para análises de diquat $2,991 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$). $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Replicatas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$-I_p / \mu\text{A}$	1,455	1,429	1,428	1,418	1,416	1,423	1,434	1,433	1,460	1,435

Precisão intermediária

A precisão intermediária foi avaliada considerando cinco medidas diferentes, em soluções e em dias distintos, e após nova ativação do EDDB. O referido experimento foi realizado em diquat $2,991 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. As correntes de pico foram avaliadas e os resultados são apresentados na Tabela 3.9. Obteve-se uma corrente de pico média de $-1,5971 \times 10^{-6} \text{ A}$ e um RSD de 2,24%, ambos para $n = 5$.

Tabela 3. 9: Estudos de precisão intermediária para análises do diquat $2,991 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$). $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Replicatas	1	2	3	4	5
$-I_p / \mu\text{A}$	1,617	1,581	1,650	1,574	1,564

Assim, pelos resultados apresentados para repetibilidade (0,77%) e para precisão intermediária (2,24%), é possível dizer que a metodologia proposta apresenta um alto nível de precisão, visto que os valores de repetibilidade e de precisão intermediária estão abaixo do limite recomendado para metodologia analítica (5,00%¹²³).

3.1.2.7. Estudo de seletividade e eficiência da metodologia por curvas de recuperação em eletrólito de suporte

A eficiência da metodologia proposta para a quantificação de diquat foi avaliada por meio das curvas de recuperação como descrito no item 2.5.1.2.. Para isso, foram colocados, na célula eletroquímica, 10 mL de eletrólito de suporte ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$), que foram contaminados artificialmente com uma alíquota de $30 \mu\text{L}$ de diquat $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ correspondendo a $2,991 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ do herbicida na célula eletroquímica. Em seguida, alíquotas de $10 \mu\text{L}$ foram adicionadas à amostra contaminada e as respostas voltamétricas foram analisadas. Esses resultados podem ser vistos na Figura 3.39.

Na recuperação em eletrólito de suporte, obteve-se uma concentração média recuperada de $2,641 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, com percentual médio de 88,30%, desvio padrão de 2,38% e RSD 2,70%, valores considerados satisfatórios para procedimentos analíticos¹⁰⁴.

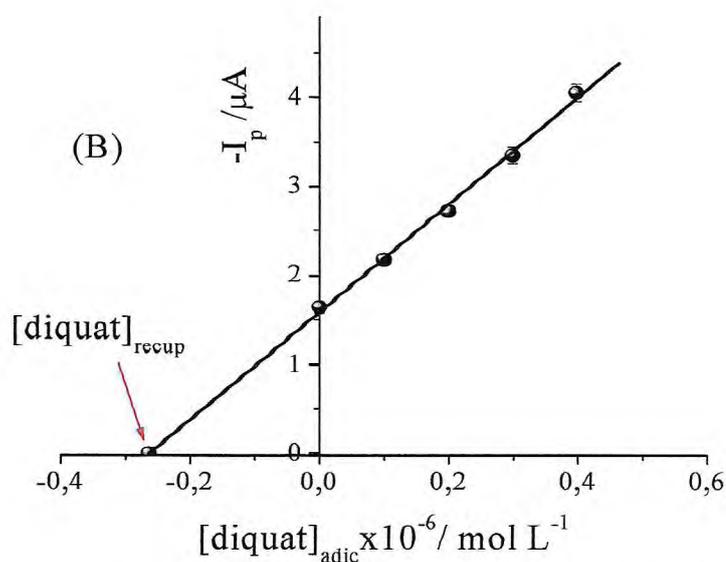


Figura 3. 39: Curva de recuperação em eletrólito de suporte para diquat sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, obtidas a partir dos valores médios de corrente de pico vs. concentração do herbicida ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, com $r = 0,9992$, $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $\alpha = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Os resultados obtidos estão de acordo com os parâmetros aceitáveis para metodologias analíticas (recuperação de 70% a 130%, RSD < 5%¹⁰⁴), possibilitando a aplicação desse procedimento em amostras complexas, tais como amostras de alimentos *in natura*.

3.1.2.8. Aplicação da metodologia proposta para a determinação de diquat em amostras reais

O uso do EDDB minimiza a adsorção de diquat sobre a superfície eletródica e, conseqüentemente, diminui a absorção dos componentes das amostras, reduzindo os efeitos de matriz na resposta voltamétrica, possibilitando a obtenção de excelente repetibilidade e precisão intermediária das medidas eletroquímicas, como já foi apresentado. Assim, a metodologia desenvolvida foi aplicada em amostras de alimentos *in natura*, usadas sem nenhum pré-tratamento.

Utilizou-se amostras de batata, de cana-de-açúcar, de limão, de laranja, de tangerina e de abacaxi, que foram selecionados para a aplicação do procedimento proposto por serem culturas produzidas e comercializadas no Estado do Ceará¹³⁸ e nas quais o diquat pode ser empregado.

Cada uma das amostras foi contaminada artificialmente pela adição de uma concentração específica do herbicida. Depois, uma alíquota de cada amostra contaminada artificialmente foi adicionada na célula eletroquímica, e, em seguida, foram construídas curvas de recuperação. Para as amostras de citros e de cana-de-açúcar foi usada a metodologia descrita na parte experimental deste trabalho, no item 2.5.1.5.2; para amostra de batata foi usada a metodologia descrita no item 2.5.1.3.2.

O fator de recuperação de diquat foi obtido para cada amostra adicionada na célula eletroquímica, como descrito no item 2.5.1.2., utilizando-se o método de adição de padrão. Os voltamogramas para cada amostra foram registrados e não foi observada nenhuma alteração significativa em relação ao potencial de pico, quando comparado com experimentos realizados em eletrólito de suporte. As respostas obtidas para suco de limão são mostradas na Figura 3.40(A).

A curva de recuperação é mostrada na Figura 3.40(B), apresentando um coeficiente de correlação de 0,9996, mostrando uma excelente linearidade entre corrente de pico e concentração adicionada de diquat, demonstrando que, possivelmente, o pico voltamétrico está praticamente livre da interferência dos componentes da amostra.

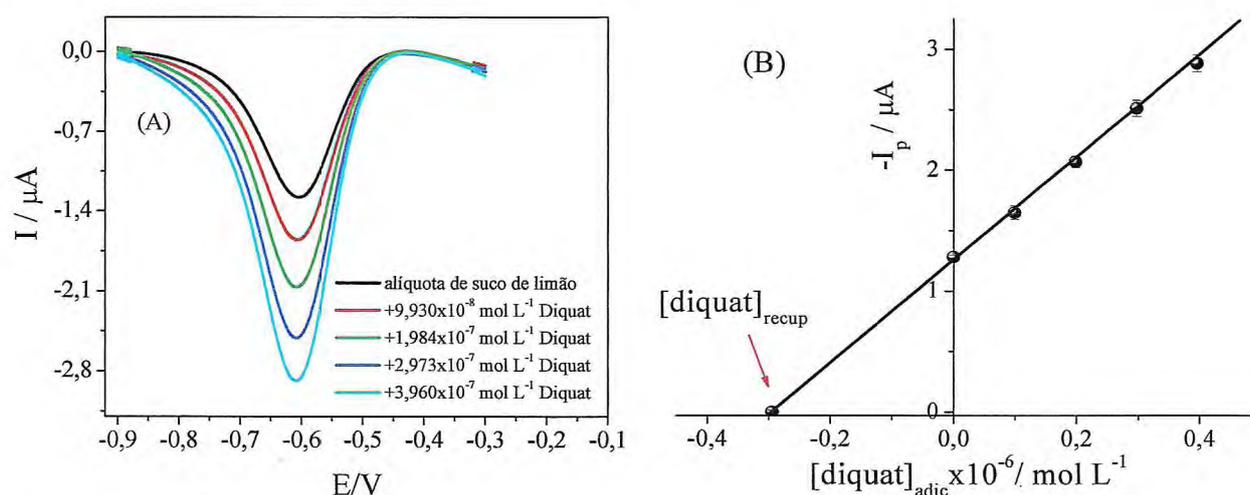


Figura 3. 40: (A): Voltamogramas de onda quadrada de diquat sobre EDDB em suco de limão contaminado artificialmente, com adições de diquat variando de $9,930 \times 10^{-8}$ a $3,960 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. (B): Curva de recuperação em suco de limão, obtidas a partir dos valores médios ($n=3$) com suas respectivas barras de desvio padrão, $r = 0,9996$, $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

As curvas de recuperação para suco de limão foram avaliadas por parâmetros estatísticos. Foi obtida uma concentração média recuperada de $3,171 \times 10^{-7}$, com um fator de recuperação de 107,81%, e RSD de 3,09%, para $n = 3$.

Resultados similares foram observados para as outras amostras de alimentos utilizadas. Assim, a Tabela 3.10 mostra, resumidamente, os dados obtidos a partir das curvas de recuperação realizadas para as amostras de batata, de citros e de cana-de-açúcar, em que são expressos os valores médios das concentrações recuperadas e os fatores de recuperação, com seus respectivos desvios padrões relativos.

Tabela 3. 10: Resultados obtidos para curvas de recuperação de diquat sobre EDDB em eletrólito de suporte, batata, cana-de-açúcar, limão, laranja, tangerina, abacaxi. $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Amostra	$[\text{diquat}]_{\text{adic}}$ (mol L^{-1})	$[\text{diquat}]_{\text{recup}}$ (mol L^{-1})	Recuperação (%)
Eletrólito puro	$2,991 \times 10^{-7}$	$2,641 \times 10^{-7}$	$88,30 \pm 2,70$
Batata	$2,913 \times 10^{-7}$	$2,644 \times 10^{-7}$	$90,78 \pm 3,21$
Cana-de-açúcar	$2,941 \times 10^{-7}$	$2,329 \times 10^{-7}$	$79,21 \pm 4,15$
Limão	$2,941 \times 10^{-7}$	$3,171 \times 10^{-7}$	$107,81 \pm 3,09$
Laranja	$2,941 \times 10^{-7}$	$2,696 \times 10^{-7}$	$91,65 \pm 5,00$
Tangerina	$2,941 \times 10^{-7}$	$2,182 \times 10^{-7}$	$74,17 \pm 3,64$
Abacaxi	$2,941 \times 10^{-7}$	$3,229 \times 10^{-7}$	$109,79 \pm 2,89$

Analisando os resultados apresentados na Tabela 3.10, observa-se que os valores de recuperação calculados para todas as amostras indicaram que os componentes destas praticamente não afetaram a sensibilidade analítica, uma vez que, para todas elas, foram calculados fatores de recuperação que apresentaram valores satisfatórios para um procedimento analítico. O método proposto pode, assim, ser empregado com sucesso na determinação de amostras de alimentos, sem a utilização de nenhum pré-tratamento.

3.1.2.9. Estudo de interferentes para diquat sobre EDDB

Foram realizados estudos com possíveis substâncias presentes nas amostras de alimentos utilizadas na metodologia proposta, que poderiam atuar como interferentes. Assim, uma concentração fixa do diquat foi adicionada à célula eletroquímica, e as respostas voltamétricas foram avaliadas, em diferentes concentrações dos interferentes, presentes nas referidas amostras.

As combinações dos possíveis interferentes foram selecionadas de acordo com as amostras empregadas. Na prática, esses compostos podem ser adsorvidos sobre a superfície eletródica ou interagir juntamente com moléculas de diquat em solução, minimizando ou aumentando as respostas voltamétricas, e podem, também, promover perda de seletividade e de sensibilidade analítica.

Para aplicação em amostras de batata, um dos principais interferentes pode ser o amido. A glicose está presente em alta concentração em cana-de-açúcar e também em amostras de sucos de limão, de laranja, de tangerina e de abacaxi. Nos sucos cítricos, a presença dos ácidos ascórbico e cítrico, também pode ser uma potencial interferência nas respostas analíticas para determinação de diquat em tais amostras.

Assim, avaliou-se o grau de interferência dessas espécies na determinação de diquat. Para isso, diferentes concentrações das soluções dos interferentes (de $9,990 \times 10^{-8}$ até $7,236 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) foram adicionadas à célula eletroquímica, contendo uma concentração conhecida de diquat ($4,976 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹), e as respostas voltamétricas foram investigadas.

A Figura 41 mostra o efeito de todos os interferentes sobre as respostas voltamétricas de diquat, em que o *eixo x* corresponde a resposta de diquat e diquat juntamente com diferentes concentrações dos interferentes e o *eixo y* corresponde percentagem da corrente do pico de redução, calculado pela equação 3.7.

$$I (\%) = [I_{\text{Diquat+interferente}} / I_{\text{Diquat}}] \times 100 \quad \text{Equação 3.7}$$

Onde I_{Diquat} é a corrente de pico para diquat e $I_{\text{Diquat+interference}}$ é a corrente de pico para diquat com interferentes adicionados à solução.

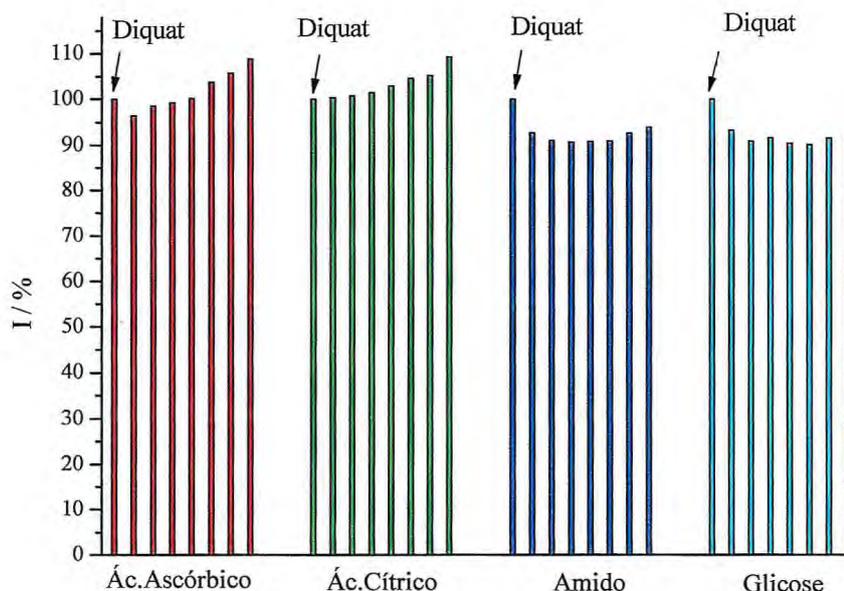


Figura 3. 41: Sinal de corrente (I%) para diquat e diquat + adição de interferentes em concentrações variando de $9,990 \times 10^{-8}$ a $7,237 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sob condições otimizadas.

Os resultados mostraram que, para os ácidos ascórbico e cítrico, houve, com o aumento da concentração nas respostas voltamétricas, um pequeno acréscimo de corrente. Adições de amido e de glicose promoveram um pequeno decréscimo nas respostas de corrente, sem variações significativas com o aumento da concentração. Entretanto, em todos os casos, a variação da resposta de diquat no intervalo de concentração dos interferentes avaliados foi em torno de 8%, indicando que estes não afetaram significativamente as respostas voltamétricas.

Assim, o procedimento desenvolvido nesse trabalho pode ser empregado com sucesso em determinação analítica de diquat em amostras contendo amido, glicose e ácidos cítrico e ascórbico. Pelos resultados exibidos aqui, é possível dizer que o procedimento proposto para determinação da concentração real do herbicida apresentou boa precisão, e as respostas obtidas para avaliação dos interferentes mostraram que o procedimento apresentou pequena sensibilidade à presença destes, indicando, assim, robustez para a presente metodologia.

3.1.3. Comparação entre metodologia eletroanalítica e cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta (CLAE-UV)

A Agência de Proteção Ambiental (EPA) dos EUA definiu uma metodologia oficial para determinação de resíduos de paraquat e de diquat em águas, por CLAE-UV, cuja fase

móvel é composta por uma mistura dos ácidos octano-sulfanóico e orto-fosfórico com dietilamina. O comprimento de onda monitorado para essas condições é de 308 nm para diquat e de 257 nm para paraquat¹³⁹. Entretanto, o método oficial requer a utilização de dietilamina, que pode dificultar a utilização desta metodologia para análises rotineiras. Por outro lado, tem a questão ambiental. A dietilamina é um solvente orgânico que tem odor de amônia, em humanos, pode causar irritações aos olhos e problemas respiratórios se manipulado de forma errada. Se descartada de maneira inadequada, pode causar impactos ambientais, levando a contaminação de águas e comprometendo a vida aquática¹⁴⁰.

Por isso, outros trabalhos^{105,107,141} foram realizados, com o objetivo de tentar desenvolver metodologias mais simplificadas e com reagentes mais acessíveis e menos tóxicos que a dietilamina.

Chichila e Walters¹⁰⁵ desenvolveram um método alternativo para determinar diquat em amostras de alimentos, usando CLAE com detector de UV, com uma coluna de sílica. Como fase móvel, usaram cloreto de sódio a 60%, com pH 2,2 ajustado com HCl e 40% de acetonitrila. A recuperação média de quatro diferentes culturas (batata, milho, aspargo e nabo) para concentrações de diquat de 0,01 a 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ variou de 79,3 a 104,8%.

Assim, baseando-se nos trabalhos de Chichila e Walter¹⁰⁵ experimentos cromatográficos foram realizados para determinação de diquat. Embora essa metodologia não seja a oficial¹³⁹, foi utilizado o mesmo comprimento de onda indicado nesta, e os cromatogramas obtidos são apresentados na Figura 3.42.

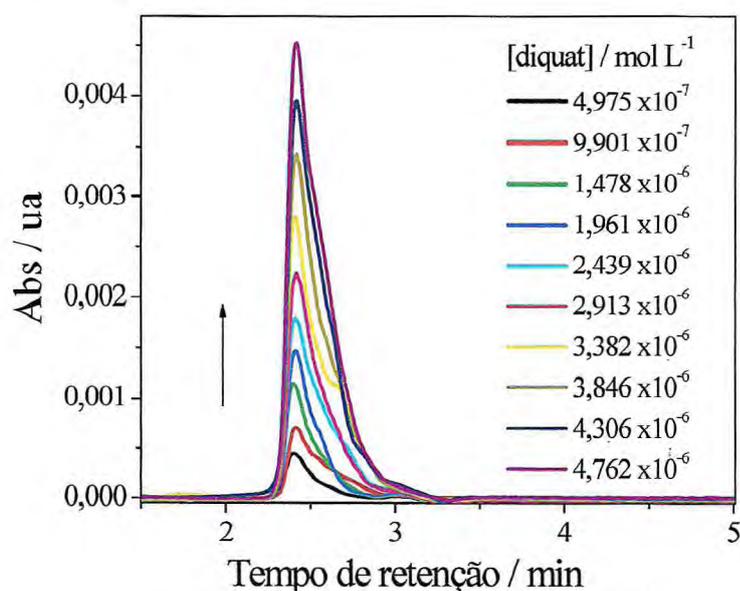


Figura 3. 42: Cromatogramas obtidos para diquat, comprimento de onda de 310 nm, com concentrações variando de $4,975 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ até $4,762 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. A fase móvel foi NaCl 0,14 mol L⁻¹ (pH 2,2)/acetonitrila (60:40 v/v), com um fluxo de 1,0 mL min⁻¹, tempo de retenção de 2,4 min.

Os ensaios foram realizados em condição isocrática e diquat foi detectado por CLAE-UV em 310 nm. A fase móvel usada foi 40% acetonitrila e 60% de NaCl $0,14 \text{ mol L}^{-1}$, com o pH 2,2 ajustado com HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, com um fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. O volume de injeção de amostra foi de $20 \text{ }\mu\text{L}$. A curva analítica foi construída variando-se a concentração de $4,975 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ até $4,762 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, cujo sinal de diquat é mostrado no tempo de retenção de 2,4 minutos. A intensidade do sinal cromatográfico aumentou linearmente, com o aumento da concentração do diquat.

A variação da área de pico da curva analítica em função da variação de concentração de diquat apresentou-se como uma função linear, com um coeficiente de correlação de 0,9993, como o exibido na Figura 3.43, e foi utilizada para avaliar os limites de detecção e de quantificação (LQ e LD) por CLAE.

LD e LQ por CLAE foram calculados, usando as equações 2.1 e 2.2 (Capítulo II) aplicadas na VOQ. Os valores de S_b (desvio padrão) para experimentos de CLAE-UV são calculados de outra maneira, pois S_b é o desvio padrão do menor valor que intercepta o eixo y na curva analítica. Para essas condições, foram obtidos LD e LQ de 9,870 e de $32,910 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ isto é, $27,26 \times 10^{-9}$ e $90,89 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. O fator de recuperação também foi calculado, obtendo-se um valor de 94,33%, com RSD de 4,08%, para $n = 3$.

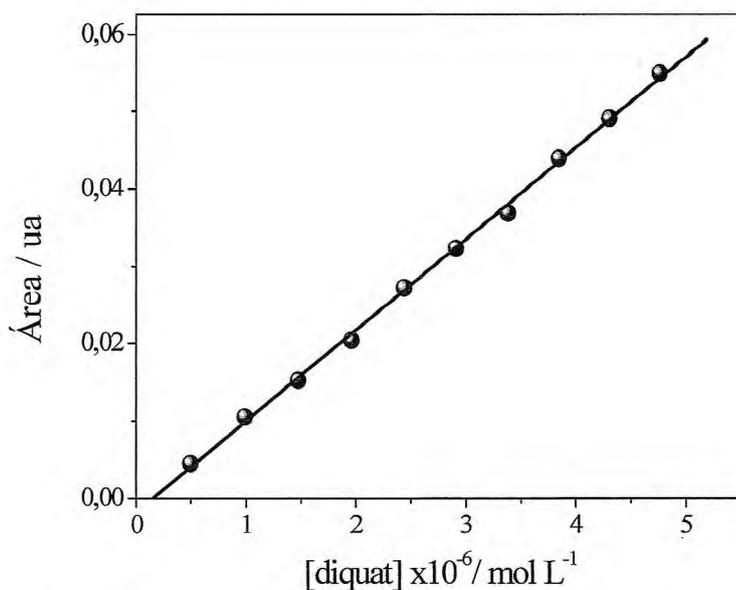


Figura 3. 43: Curva analítica com a dependência da área de pico cromatográfico e a concentração para o herbicida diquat. Equação da reta: $A = -0,002 \text{ ua} + 0,012 [\text{diquat}]$, $r = 0,9993$.

Os resultados obtidos para a determinação de diquat sobre superfície de AgSAE e de EDDB foram comparados com os determinados por CLAE/UV. Os parâmetros analíticos avaliados estão apresentados na Tabela 3.11.

Tabela 3. 11: Parâmetros analíticos para determinação de diquat utilizando voltametria de onda quadrada e cromatografia líquida de alta eficiência.

Parâmetros	AgSAE	EDDB	CLAE-UV
Linearidade (mol L ⁻¹)	4,975x10 ⁻⁷ a 4,762x10 ⁻⁶	9,990x10 ⁻⁸ a 9,901x10 ⁻⁷	4,975x10 ⁻⁷ a 4,762x10 ⁻⁶
r	0,9993	0,9940	0,9993
s	0,631 A/mol L ⁻¹	6,493A / mol L ⁻¹	0,012 ua/mol L ⁻¹
LD (µg L ⁻¹)	9,980	0,057	9,870
LQ (µg L ⁻¹)	33,280	0,192	32,910
Recuperação (%)	99,78±1,90	88,30±2,7	94,23±4,08

Os valores de LD e de LQ calculados indicam que o procedimento eletroanalítico, utilizando AgSAE e EDDB, apresentou sensibilidade analítica similar àquela obtida com o emprego de CLAE. Entretanto, o uso de EDDB possibilitou a determinação eletroanalítica de diquat com sensibilidade cerca de duas ordens de grandeza maior, indicando que EDDB apresenta elevada potencialidade como sensor para Diquat.

Os valores de LD e de LQ determinados para diquat sobre EDDB foram até melhores que os quantificados por CLAE/UV, que é a metodologia recomendada pelos órgãos normativos para determinar os níveis de diquat em amostras de águas (ou seja, 20 µg L⁻¹)¹⁴².

Realizou-se análise comparativa entre os resultados apresentados neste estudo e os reportados na literatura. Para isso, foram relacionados alguns trabalhos com determinação eletroanalítica de diquat, em diferentes superfícies eletródicas, cujos valores de LD, de LQ e a precisão intermediária expressada pelo RSD são exibidos na Tabela 3.12.

Analisando os resultados obtidos neste trabalho com os reportados na literatura, é possível verificar que os parâmetros analíticos determinados quando o EDDB foi usado são bem superiores aos determinados por outras superfícies eletródicas, apresentando uma excelente sensibilidade, com LD e LQ menores que os apresentados nos trabalhos citados.

Tabela 3. 12: Parâmetros analíticos obtidos para determinação eletroanalítica de diquat usando diferentes superfícies eletródicas.

Superfície Eletródica	LD (mol L ⁻¹)	LQ (mol L ⁻¹)	RSD (%)	Ref.
Eletrodo de gota suspensa de mercúrio (HMDE)	1,50x10 ⁻⁸ (5,44 µg L ⁻¹)	-	-	40
Carbônio vítreo modificado com Nafion [®]	5,80x10 ⁻¹⁰ (0,21 µg L ⁻¹)	-	-	46
HMDE modificado com polímero	2,76x10 ⁻¹⁰ (0,10 µg L ⁻¹)	-	2,00	47
Microeletrodo de ouro	1,76x10 ⁻⁸ (4,51 µg L ⁻¹)	5,86x10 ⁻⁸ (15,05 µg L ⁻¹)	1,20	29
Pasta de carbono modificada com fluorapatita (Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ F ₂)	8,50x10 ⁻⁸ (30,77 µg L ⁻¹)	1,50x10 ⁻⁷ (5,40 µg L ⁻¹)	2,10	48
Pasta de carbono modificada com caulim	4,21x10 ⁻⁹ (1,52 µg L ⁻¹)	3,55x10 ⁻⁸ (12,85 µg L ⁻¹)	1,90	49
Eletrodo sólido de amálgama de prata	2,90x10 ⁻⁸ (9,98 µg L ⁻¹)	9,67x10 ⁻⁸ (33,28 µg L ⁻¹)	1,71	esse trabalho
Eletrodo de diamante dopado com borro	1,59x10 ⁻¹⁰ (0,057 µg L ⁻¹)	5,30x10 ⁻¹⁰ (5,30 µg L ⁻¹)	2,24	esse trabalho

Assim, com base no exposto, pode-se perceber vantagens na metodologia proposta, com o uso do EDDB como sensor, que, além de elevada sensibilidade analítica, tem uma excelente capacidade de minimizar o processo de adsorção do diquat sobre a superfície do eletrodo. O uso de EDDB também diminui a adsorção dos componentes em amostras complexas, tais como as amostras de alimentos in natura utilizadas, sendo, portanto, uma excelente alternativa para determinação de traços de diquat nesse tipo de amostras, uma vez que apresentaram LD e LQ inferiores aos valores máximos recomendados pela ANVISA para alimentos (50-100 µg L⁻¹)³⁹.

3.2. HERBICIDA PARAQUAT

Este trabalho foi desenvolvido utilizando um eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB) como eletrodo de trabalho, de procedência do Centre Suisse d'Electronique et d'Microtechnique (teor de boro de 8.000 ppm).

3.2.1. Sobre EDDB

Tratamento eletroquímico aplicado ao EDDB

Para a realização dos experimentos, o EDDB foi submetido a um pré-tratamento de ativação e de limpeza da superfície eletródica, antes de cada série de experimentos, como descrito no item 2.2.5.2.

Cálculo da área eletroativa

Após cada ativação do EDDB, foi calculada a área eletroativa deste, como descrito no item 3.1.2.1., como tendo o valor médio de $0,71 \text{ cm}^2$.

3.2.2. Otimização dos parâmetros experimentais para determinação de paraquat por VOQ

Escolha do eletrólito de suporte

Nos estudos preliminares do paraquat sobre superfície de EDDB por VOQ, utilizou-se, em toda a etapa de otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos, uma frequência de aplicação de pulso de 100 s^{-1} , amplitude de pulso de 50 mV, incremento de varredura de 2 mV e uma concentração de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Para avaliar o eletrólito de suporte a ser empregado no desenvolvimento de uma metodologia para determinação deste herbicida, foram testados Na_2SO_4 , KClO_4 , Tampão BR (pH 7) – todos a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ a $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ apresentou maior intensidade de corrente, bem como perfil voltamétrico mais definido, sendo o escolhido para dar continuidade a este trabalho. Esses resultados podem ser vistos na Figura 3.44.

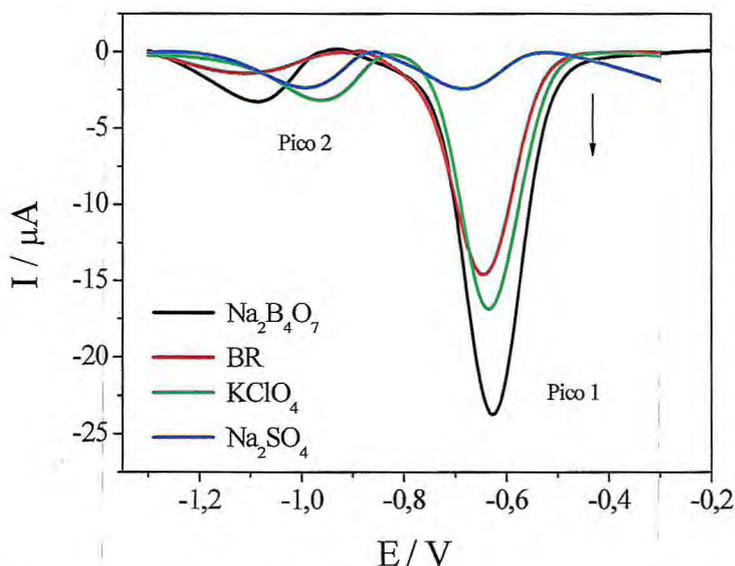


Figura 3. 44: Voltamogramas de onda quadrada para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB em diferentes eletrólitos de suporte: Na_2SO_4 , tampão BR ($\text{pH} = 7$), KClO_4 todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Variação da concentração do eletrólito de suporte

Durante a realização deste trabalho, foi possível observar que os pesticidas do grupo bipiridílio têm uma melhor interação com o $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, em relação aos demais eletrólitos de suporte investigados. Variou-se a concentração de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ até $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, como apresentado na Figura 3.45.

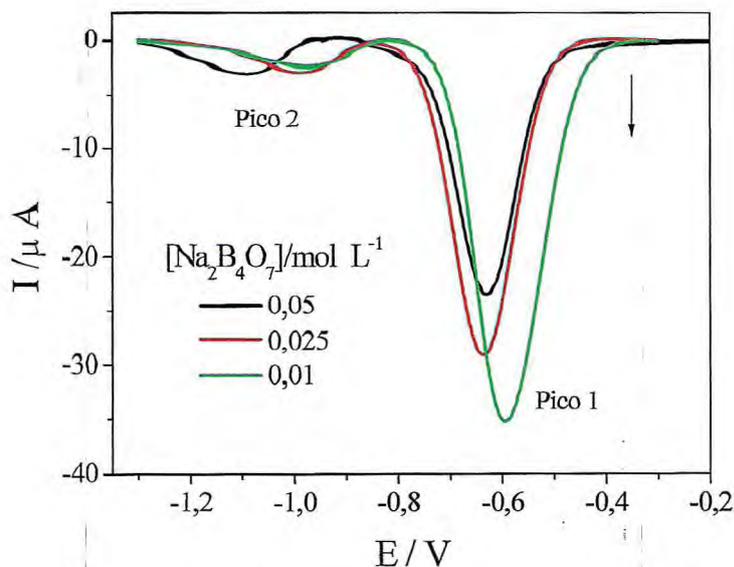


Figura 3. 45: Voltamogramas de onda quadrada de paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em diferentes concentrações de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Pelos resultados apresentados na Figura 3.45, foi possível observar que em concentração mais baixa observou-se um maior sinal analítico. Resultados semelhantes já

foram discutidos no item 3.1.1.2.. Desta forma, ficou definido que $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ seria utilizado para as etapas seguintes deste trabalho.

Componentes de corrente

Foi realizada uma análise das componentes de corrente para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Pela componente resultante, é possível visualizar que o paraquat exibe dois picos de redução, sendo o primeiro em torno de $-0,62 \text{ V}$ e o segundo, em $-1,07 \text{ V}$, como pode ser mostrado na Figura 3.46.

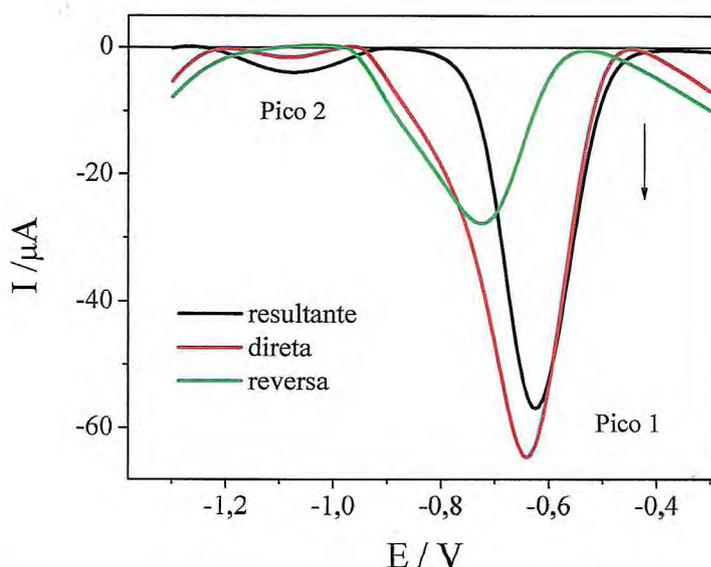


Figura 3. 46: Componentes de corrente para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

As componentes de corrente para paraquat apresentaram comportamento semelhante ao observado para diquat, também sobre superfície de EDDB, descrito no item 3.1.2.2. A literatura cita que esses pesticidas apresentam mecanismos redox semelhantes^{29,40}, o que foi confirmado no presente trabalho.

Para desenvolvimento da metodologia, foi selecionada a componente de corrente resultante, pois, considerando-se o pico 1, suas respostas voltamétricas são bem sensíveis, praticamente iguais as da componente direta, localiza-se em potencial mais positivo ($-0,62 \text{ V}$) e apresenta, ainda, um perfil voltamétrico mais bem definido, com menor largura de meia altura, sendo, portanto, a mais indicada para fins analíticos.

3.2.3. Avaliação dos parâmetros voltamétricos da VOQ para determinação de paraquat

Frequência de aplicação dos pulsos

Para investigação dos parâmetros voltamétricos, utilizou-se paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Dada a baixa sensibilidade do pico 2 às respostas voltamétricas, a avaliação para escolha dos parâmetros foram realizadas considerando-se apenas o pico 1. Avaliou-se a frequência de aplicação de pulso de 10 a 300 s^{-1} . Nesses experimentos, foram mantidos constantes a amplitude de pulso em 50 mV e o incremento de varredura em 2 mV. Os voltamogramas referentes à variação da frequência de aplicação dos pulsos são exibidos na Figura 3.47.

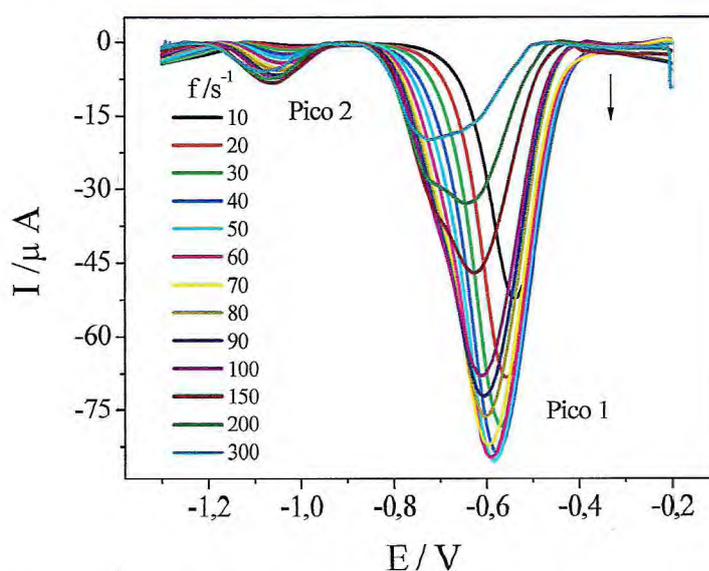


Figura 3. 47: Voltamogramas de onda quadrada para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em diferentes frequências de aplicação dos pulsos, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A variação nos valores de frequência de aplicação dos pulsos, considerando-se o pico 1 mostrou que o aumento desta promoveu um pequeno crescimento nas correntes de pico até a frequência de 50 s^{-1} . O pico 2 não apresentou mudanças significativas nas correntes de pico nas diferentes frequências de aplicação de pulsos empregadas; por isso, para a escolha dos parâmetros voltamétricos só será considerado os resultados obtidos para o pico 1. Em frequências mais altas, observou-se uma redução nas correntes de pico, bem como um aumento na largura de meia altura, demonstrando perda de seletividade. Para todas as frequências, notou-se deslocamento de potencial de pico para valores mais negativos, comportamento este indicativo de processos irreversíveis.

Foram analisadas as relações entre corrente de pico e frequência de aplicação dos pulsos e entre corrente de pico e raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos, como apresentadas nas Figuras 3.48(A) e Figura 3.48(B) respectivamente.

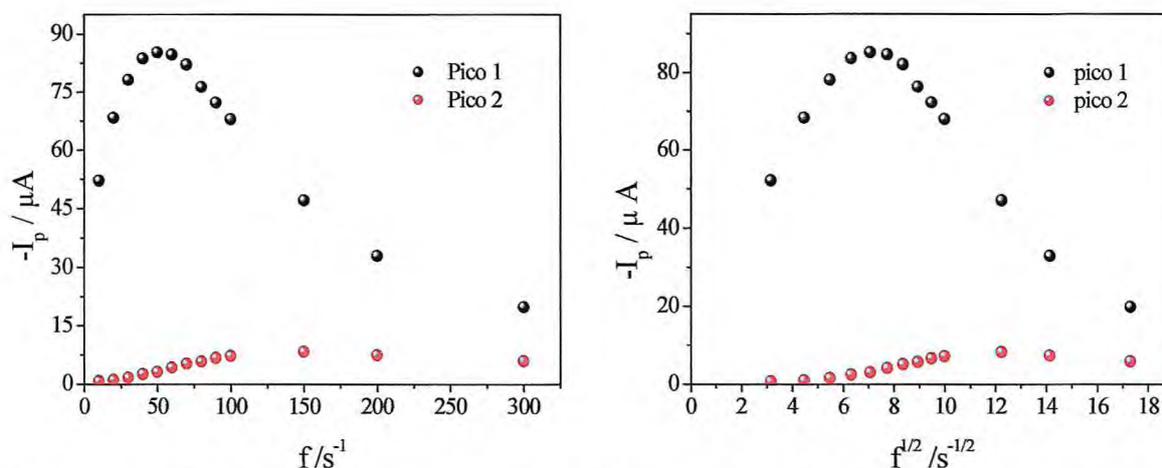


Figura 3. 48: Estudo entre corrente de pico e frequência de aplicação dos pulsos para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. (A): I_p vs. f . (B): I_p vs. $f^{1/2}$.

Pelos resultados apresentados, observou-se que as relações entre I_p vs. f e I_p vs. $f^{1/2}$, não apresentaram tendência linear, caracterizando o sistema como quase reversível. Adicionalmente foi observada a formação do *máximo quase reversível*¹⁴³ em $f = 50 \text{ s}^{-1}$, como mais um indicativo da quase reversibilidade do sistema. Estes resultados contradizem os observados na avaliação das componentes de corrente que mostrou um comportamento característico de processos irreversível. Isso pode ser explicado pela característica que o EDDB tem de minimizar os processos de adsorção como já comentado anteriormente, fato este que pode mudar o mecanismo eletroquímico do paraquat, uma vez que o segundo pico deste herbicida corresponde a um processo controlado por adsorção. Assim, o processo do paraquat é fortemente influenciado pela concentração deste em solução, pois à medida que a concentração do herbicida é aumentada favorece a formação do processo controlado por adsorção e as características de reversibilidade do sistema se tornando mais aparente.

Embora a frequência de 50 s^{-1} tenha apresentado uma maior corrente de pico ($I_p = 85,23 \mu A$), a frequência de 30 s^{-1} ($I_p = 78,19 \mu A$) foi escolhida para realização desse trabalho, porque, além de apresentar valores bem próximos de corrente da frequência de 50 s^{-1} , tem uma menor largura de meia altura.

Amplitude de pulsos

Adicionalmente, a amplitude de pulsos foi analisada, variando-se de 5 a 70 mV, mantendo-se constante a frequência de aplicação de pulsos em 100 s^{-1} e o incremento de varredura em 2 mV. Os voltamogramas são apresentados na Figura 3.49(A). A relação entre corrente de pico e variação da amplitude de pulsos é mostrada na Figura 3.49(B).

Analisando esses resultados, observou-se linearidade entre corrente de pico e aumento da amplitude de pulsos de 10 até 50 mV, com $r = 0,9998$. Não foi observado variação do potencial de pico, com relação à variação da amplitude de pulsos. Pelos resultados apresentados, foi escolhida a amplitude de pulso de 50 mV para dar seqüência ao desenvolvimento da metodologia.

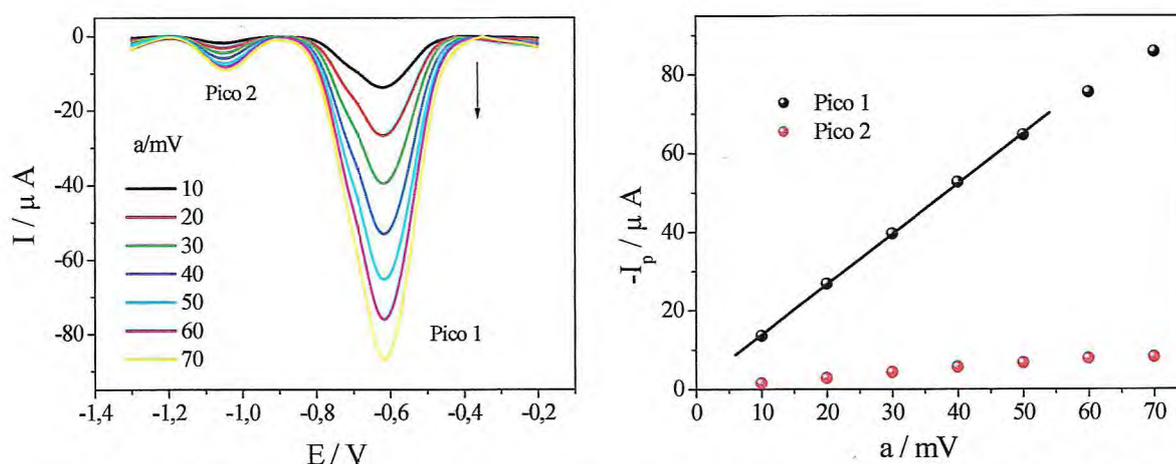


Figura 3. 49:(A) Voltamogramas de onda quadrada para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em diferentes amplitudes de pulsos, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.(B) Relações entre corrente de pico e amplitude de pulsos. $I_p = 1,09 \times 10^{-6} A + 1,279 \times 10^{-6} a \text{ (mV)}$, $r = 0,9998$.

Incremento de varredura

O incremento de varredura foi avaliado de 1 a 10 mV. Observou-se um pequeno aumento das correntes de pico com o aumento do incremento de varredura até 3 mV, como pode ser visualizado na Figura 3.50(A). Nos incrementos maiores, as correntes de pico se mantiveram praticamente constantes. Esses resultados são mostrados na Figura 3.50(B).

Para dar continuidade a este trabalho, escolheu-se o incremento de 3 mV. Este incremento apresenta um perfil voltamétrico bem definido e uma menor largura de meia altura. Em incrementos de varredura maiores, observou-se aumento da largura de meia altura, e, para todos os incrementos, observou-se um deslocamento de potencial de pico para valores mais negativos, característicos de sistemas irreversíveis¹³³.

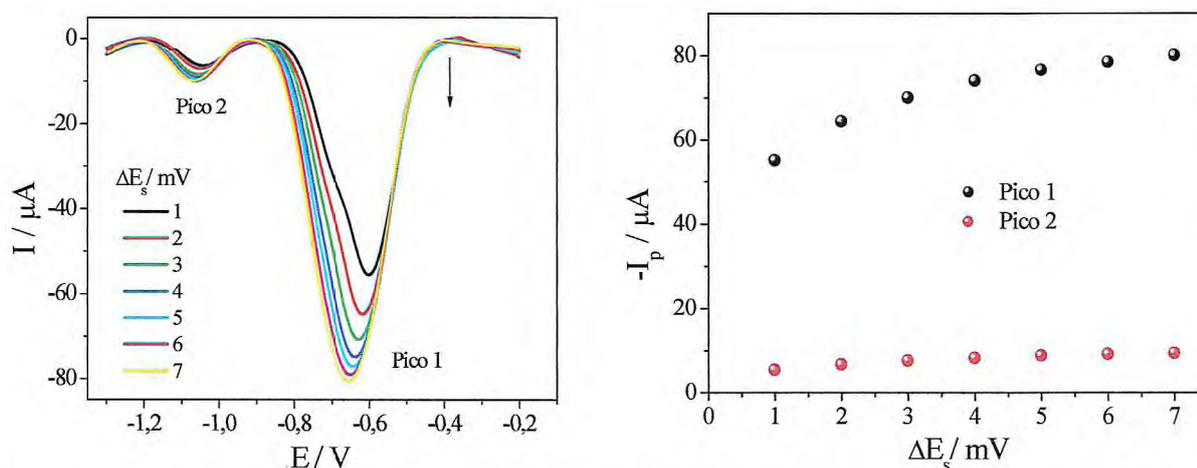


Figura 3. 50: (A) Voltamogramas de onda quadrada para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB, em diferentes incrementos de varreduras, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$. (B) Relação entre corrente de pico e incremento de varredura.

Assim, após a avaliação dos parâmetros voltamétricos por VOQ para paraquat, sobre superfície de EDDB, as condições otimizadas ficaram definidas como: $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.

3.2.4. Estudos complementares por voltametria cíclica

Foram realizados estudos por voltametria cíclica, para investigação do comportamento eletroquímico do paraquat sobre superfície de EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do herbicida. A varredura ocorreu na faixa de potencial de $0,0$ a $-1,3 \text{ V}$ a 100 mV s^{-1} e observou-se a formação de um único pico de redução, bem definido em torno de $-0,62 \text{ V}$, não sendo visualizado nenhum processo de oxidação, caracterizando o sistema como totalmente irreversível. Esse comportamento contradiz trabalhos publicados, onde é identificada a presença de dois picos de redução e dois picos de oxidação, com características de processo redox totalmente reversível^{40, 59,62}.

Na sequência, foi realizado um estudo variando a concentração do paraquat em $1,0 \times 10^{-5}$ e $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, e observou-se que, à medida que a concentração do herbicida foi aumentada, foi visualizado o surgimento dos dois pares redox, e, em concentrações mais altas, observou-se comportamento característico de processo reversível. Ou seja, o paraquat sobre EDDB apresentou comportamento similar ao observado para o diquat sobre essa superfície eletródica.

Adicionalmente, foram realizados experimentos variando-se a velocidade de varredura no intervalo de 10 a 300 mV s^{-1} , para investigar o tipo do transporte de massa das espécies eletroativas e os resultados são exibidos na Figura 3.51.

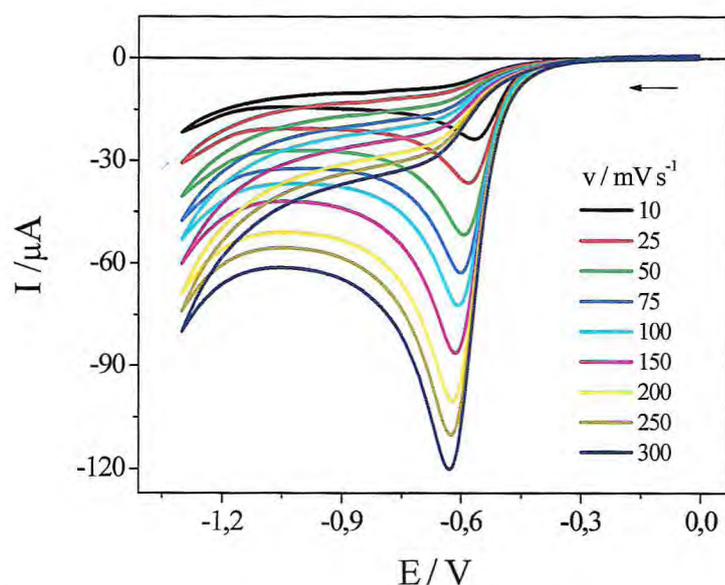


Figura 3. 51: Voltamogramas cíclicos para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes velocidades de varredura.

Por esses resultados, observou-se o deslocamento dos potenciais de pico com o aumento da velocidade de varredura, característicos de processos irreversíveis¹³⁴.

As relações entre corrente de pico e velocidade de varredura foram avaliadas, e são mostradas na Figura 3.52.

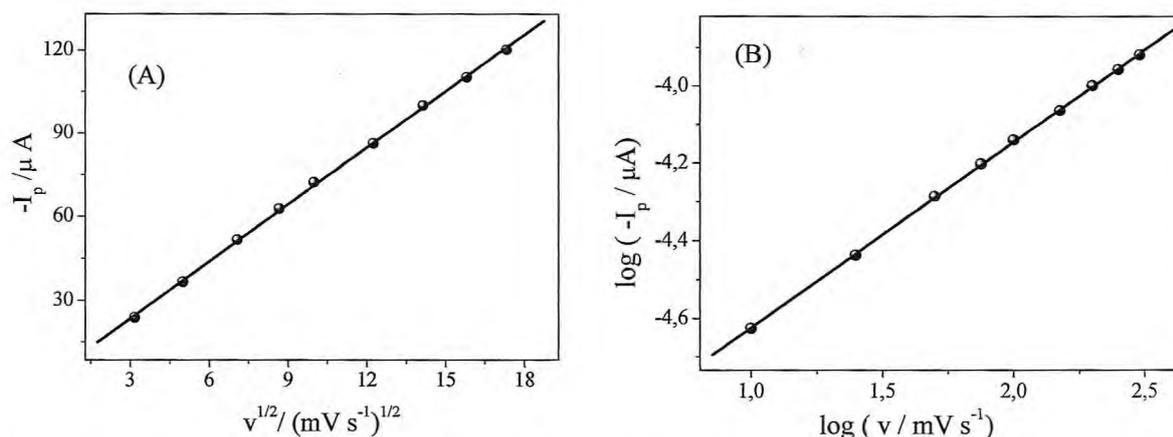


Figura 3. 52: Relação entre corrente de pico e velocidade de varredura, para paraquat $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre EDDB em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. (A): I_p vs. $v^{1/2}$, $I_p = 3,04 \times 10^{-6} \text{ A} + 6,80 \times 10^{-6} v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, $r = 0,9997$ (B): $\log I_p$ vs. $\log v$, $I_p = -5,100 \mu\text{A} + 0,478 v (\text{mV s}^{-1})$, $r = 0,9999$.

Na análise entre corrente de pico e raiz quadrada da velocidade (I_p vs. $v^{1/2}$), mostrada na Figura 3.52(A) apresentou uma correlação linear, com $r = 0,9997$ e equação da reta, $I_p(\text{A}) = 3,04 \times 10^{-6} \text{ A} + 6,80 \times 10^{-6} v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, apontando indícios de que a etapa determinante da velocidade é a difusão das espécies até a superfície do eletrodo. Na seqüência, a relação entre $\log I_p$ vs. $\log v$ foi analisada, como mostra a Figura 3.52(B), em que

foi observado um comportamento linear, com $r = 0,9999$ e equação da reta $I_p(A) = -5,10 \mu A + 0,48 v (mV s^{-1})$, com uma inclinação de 0,48. Esse valor está próximo do reportado pela literatura para sistemas controlados pela difusão das espécies, que prevê uma inclinação de $0,5^{118}$. Assim, por meio destes resultados, pode-se afirmar que o processo de redução de Paraquat sobre EDDB é predominantemente difusional.

3.2.5. Curvas analíticas

Após a otimização dos parâmetros ($Na_2B_4O_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$), curvas analíticas foram construídas em triplicatas. Para análise quantitativa foi utilizado o pico 1, assim o intervalo de varredura de potencial foi reduzido para $-0,3$ a $-0,9 \text{ V}$. Para tanto, utilizou-se uma solução estoque de paraquat $5,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e foram feitas dez adições sucessivas de alíquotas de $50 \mu L$, com concentração variado de $2,488 \times 10^{-9}$ a $2,381 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas obtidos são mostrados na Figura 3.53, onde se observa um crescimento linear da corrente de pico com a concentração do herbicida.

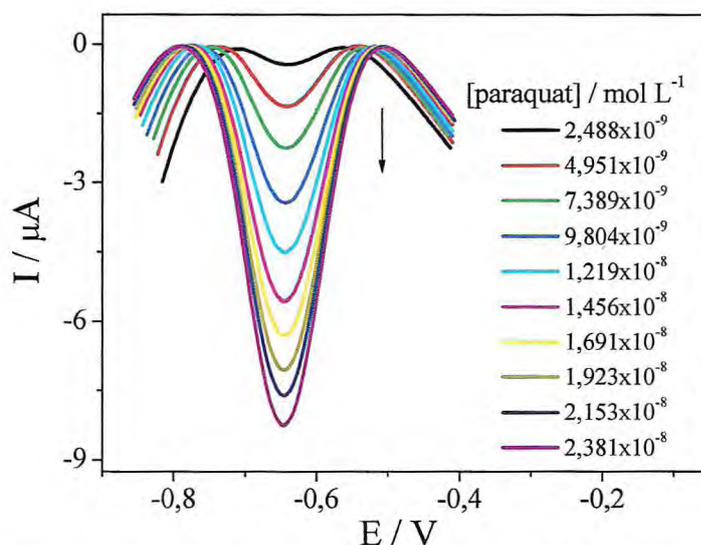


Figura 3. 53: Voltamogramas de onda quadrada de paraquat sobre EDDB, em meio de $Na_2B_4O_7$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $2,488 \times 10^{-9}$ até $2,381 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.

As correntes de pico e a variação da concentração de paraquat foram analisadas, e as respostas de VOQ mostraram dependência linear, com $r = 0,9993$, possibilitando o cálculo de LD e LQ. A Figura 3.54 mostra as curvas analíticas obtidas a partir dos valores médios com suas respectivas barras de erro, construídas nas condições otimizadas.

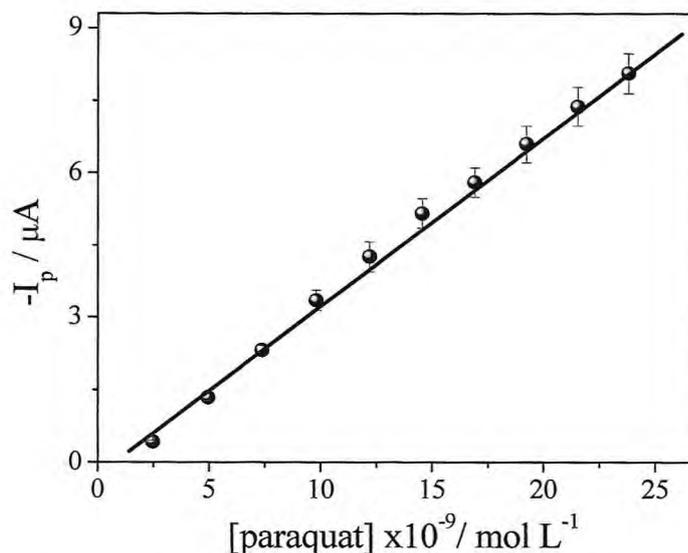


Figura 3. 54: Curva analítica para paraquat sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, obtida a partir dos valores médios ($n = 3$) com suas respectivas barras de desvio padrão, $I_p = -5,007 \times 10^{-7} \text{ A} + 375,03[\text{paraquat}]$, $r = 0,9993$, $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.

Como os interceptos das equações das curvas analíticas apresentaram um valor negativo, foi realizado o teste de significância (teste t)¹³⁷. O valor de t calculado (utilizando Equação 3.6) para a média do intercepto das curvas analíticas foi 2,88. Esse valor foi comparado com t crítico para um nível de 95% de confiança, cujo valor tabelado é de 4,30. Assim, como t calculado foi menor que o tabelado, o valor médio do intercepto não difere significativamente de zero.

A partir desses resultados, os valores de LD e de LQ foram calculados, segundo as Equações 2.1 e 2.2. Os parâmetros analíticos para determinação de paraquat estão exibidos na Tabela 3.13.

Tabela 3. 13: Parâmetros analíticos determinados por VOQ para detecção de paraquat sobre EDDB, em meio de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.

Parâmetros	Pico 1
Linearidade (mol L^{-1})	$2,488 \times 10^{-9}$ a $2,831 \times 10^{-8}$
Equação	$I_p = -5,007 \times 10^{-7} \text{ A} + 375,030 [\text{paraquat}]$
r	0,9993
Sb (A)	$1,851 \times 10^{-8}$
S (A/mol L^{-1})	375,030
LD (mol L^{-1})	$1,48 \times 10^{-10}$ ($0,038 \mu\text{g L}^{-1}$)
LQ (mol L^{-1})	$4,94 \times 10^{-10}$ ($0,127 \mu\text{g L}^{-1}$)

Foi possível verificar mais uma vez nesse trabalho, que o EDDB é um excelente sensor analítico, visto que também na determinação de paraquat foram obtidos excelentes valores de LD, mostrando elevada sensibilidade analítica, mesmo utilizando um EDDB de dopagem mais baixa (8000 ppm).

3.2.6. Avaliação da precisão da metodologia por ensaios de Repetibilidade e Precisão intermediária

Repetibilidade

A repetibilidade ou precisão intra-corrída foi testada considerando dez medidas sucessivas realizadas na mesma solução, contendo paraquat $7,389 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. Obteve-se uma média das correntes de pico de $-2,196 \times 10^{-6}$ A, com desvio padrão relativo (RSD) de 5,00 %, para n = 10. A Tabela 3.14 mostra os valores das correntes de pico encontradas para tais análises.

Tabela 3. 14: Estudos de repetibilidade para paraquat $7,389 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, sobre EDDB, em meio de Na₂B₄O₇ 0,01 mol L⁻¹, $f = 30$ s⁻¹, $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 3$ mV

Replicatas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
-I _p /μA	2,338	2,325	2,236	2,095	2,104	2,046	2,044	2,254	2,273	2,244

Precisão intermediária

A precisão intermediária ou precisão inter-corrída foi avaliada considerando-se cinco medidas diferentes, em soluções e dias distintos, e após nova ativação do EDDB, em soluções contendo paraquat $7,389 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. As correntes de pico foram avaliadas, e os resultados são apresentados na Tabela 3.15.

Tabela 3. 15: Estudos de precisão intermediária para paraquat $7,389 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, sobre EDDB, em meio de Na₂B₄O₇ 0,01 mol L⁻¹, $f = 30$ s⁻¹, $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 3$ mV.

Replicatas	1	2	3	4	5
-I _p /μA	2,254	2,393	2,177	2,175	2,117

A corrente de pico média foi de $-2,223 \times 10^{-6}$ A e o RSD de 4,81%, para n = 5. Pelo exposto até aqui, pode-se concluir que a metodologia apresentou ótima precisão, uma vez que estes valores são menores que o limite recomendado para procedimentos analíticos (5,00%).

3.2.7. Estudo de seletividade e eficiência da metodologia por curvas de recuperação em eletrólito de suporte

Foram construídas curvas de recuperação para paraquat sobre EDDB, em eletrólito de suporte, como apresentado na Figura 3.55.

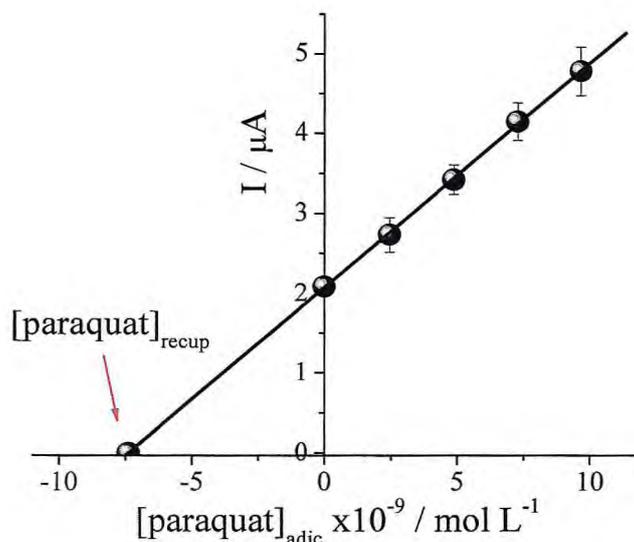


Figura 3. 55: Curva de recuperação para paraquat sobre EDDB em eletrólito de suporte, obtidas a partir dos valores médios de I_p vs. concentração ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, $r = 0,9998$, em $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.

Para a construção das curvas de recuperação, foram adicionados $7,389 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ deste herbicida na célula eletroquímica, contendo 10 mL de eletrólito de suporte. Adicionalmente, foram efetuadas mais quatro adições de alíquotas de 50 μL de solução estoque de paraquat $5,500 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, com concentrações variando de $7,389 \times 10^{-9}$ a $1,691 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e foram construídas curvas de recuperação. A relação entre corrente de pico e concentração adicionada do herbicida é apresentada na Figura 3.55, onde se observou uma relação de linearidade com equação da reta, $I_p = 2,076 \times 10^{-6} \text{ A} + 280,72 [\text{paraquat}]$ e um coeficiente de correlação de 0,9998.

Os percentuais de recuperação foram avaliados por meio de parâmetros estatísticos, e uma concentração média recuperada de $7,346 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ foi encontrada, com um percentual médio de recuperação de 99,42%, desvio padrão de 3,56 e RSD de 3,58 %, para $n = 3$. Esses resultados são bastante satisfatórios, comprovando a eficiência do método e possibilitando a utilização desse procedimento em amostras complexas.

3.2.8. Comparação entre a metodologia eletroanalítica e cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV

Como foi comentado e descrito no item 3.1.3., a Agência de Proteção Ambiental (EPA)¹³⁹ definiu uma metodologia oficial para determinação de resíduos de paraquat e diquat em águas por CLAE-UV, com a utilização de dietilamina. Assim, outros trabalhos foram desenvolvidos buscando metodologias mais simples e com reagentes mais acessíveis. Um exemplo são as metodologias desenvolvidas por Nagayama et al.¹⁰⁶ e Ibanez et al.¹⁰⁷.

Nagayama et al.¹⁰⁶ desenvolveram uma metodologia analítica simples, rápida e sensível para a determinação de resíduos de paraquat, em produtos agrícolas utilizando CLAE-UV. Após as etapas de preparação e extração das amostras, a detecção foi realizada utilizando uma fase móvel composta por cloreto de sódio, metanol, acetonitrila e água, com pH ajustado para 3,0 com ácido fosfórico. Ibanez et al.¹⁰⁷ determinaram paraquat em amostras de águas naturais por CLAE-UV e como fase móvel utilizaram 50% de sulfato de amônio com pH ajustado para 3,0 com ácido sulfúrico e 50% de acetonitrila. Nestas condições, os valores de LD calculados para as amostras de águas naturais, após etapas de separação e extração de matéria orgânica e surfactantes, foram na ordem de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ e com recuperação superior a 85%.

Assim, baseado nesses trabalhos^{106,107}, experimentos cromatográficos foram realizados para quantificação de paraquat, utilizando CLAE-UV. Um cromatograma típico para este herbicida é exibido na Figura 3.56.

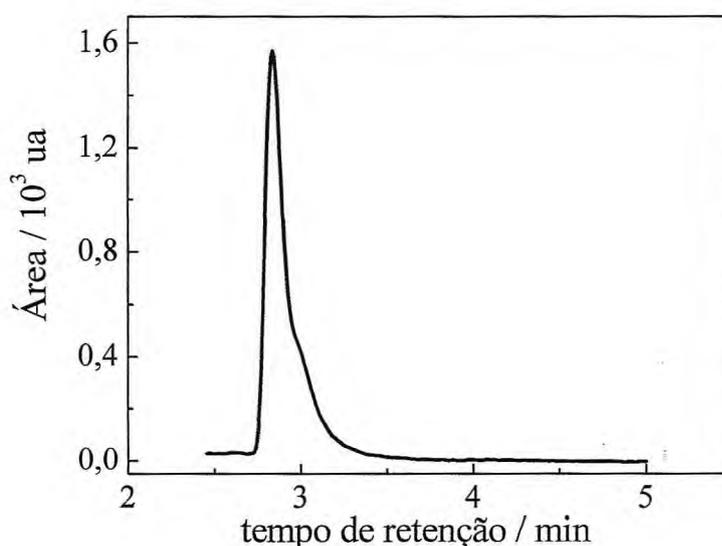


Figura 3. 56: Cromatograma obtido por CLAE-UV para uma solução padrão de Paraquat, comprimento de onda de 256 nm, fase móvel foi 50 % acetonitrila:50 % ácido acético 1% (v:v), tempo de retenção de 2,8 min.

Nesses experimentos, utilizou-se como fase móvel, 50% de acetonitrila e 50% de ácido acético a 1%. Usou-se comprimento de onda de 256 nm para detecção (o mesmo comprimento de onda utilizado no método oficial). Nestas condições, o tempo de retenção para o paraquat foi de 2,8 minutos e a intensidade do sinal cromatográfico aumentou linearmente com o aumento da concentração do herbicida. Esses experimentos foram realizados em condições isocráticas.

Curvas analíticas para paraquat em eletrólito de suporte foram construídas por CLAE-UV no intervalo de concentração de $1,000 \times 10^{-6}$ a $1,000 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, e a relação de linearidade entre a área do pico cromatográfico em função do aumento da concentração é representada na Figura 3.57.

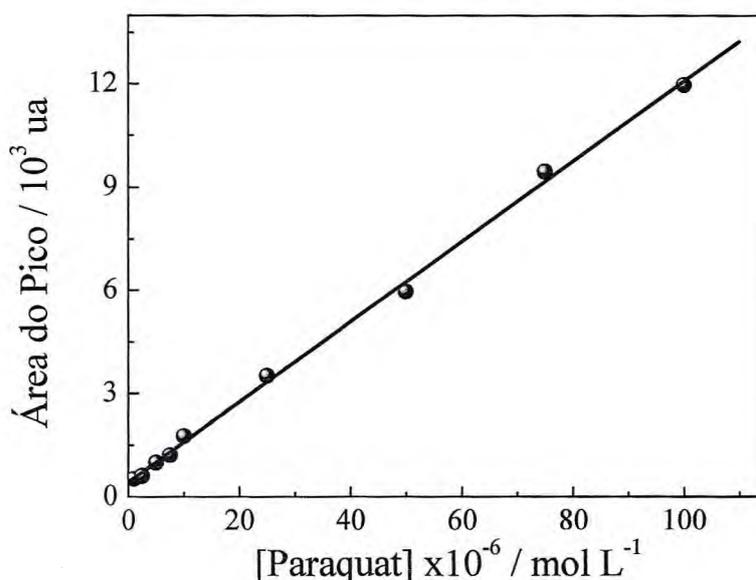


Figura 3. 57: Curva analítica com a dependência da área do pico cromatográfico, com a concentração do paraquat. $A = 426,62 \text{ ua} + 1,165 \times 10^8 [\text{Paraquat}]$, $r = 0,9991$.

Esses resultados foram utilizados para calcular os valores de LD e de LQ por CLAE-UV como descrito no item 3.1.3. Nestas condições, foram obtidos LD de $7,630 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ ($1,960 \mu\text{g L}^{-1}$) e LQ $2,540 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ ($6,530 \mu\text{g L}^{-1}$). O fator de recuperação também foi calculado, obtendo-se um valor de 100%.

Na seqüência, um estudo comparativo entre os parâmetros analíticos para quantificação de Paraquat por CLAE-UV e os determinados por VOQ/EDDB são apresentados na Tabela 3.16.

Tabela 3. 16: Parâmetros analíticos para determinação de paraquat por CLAE-UV e voltametria de onda quadrada sobre superfície de EDDB.

Parâmetro	CLAE-UV	VOQ/EDDB
Linearidade (mol L ⁻¹)	1,0x10 ⁻⁶ a 1,0x10 ⁻⁴	2,488x10 ⁻⁹ a 28,1x10 ⁻⁹
r	0,9991	0,9993
S _b	2,95 (ua)	5,8565x10 ⁻⁸ (A)
S	1,165x10 ⁸ (ua / mol L ⁻¹)	375,030 (A/mol L ⁻¹)
LD (mol L ⁻¹)	7,63x10 ⁻⁹ (1,96 µg L ⁻¹)	1,48x10 ⁻¹⁰ (0,038 µg L ⁻¹)
LQ (mol L ⁻¹)	2,54x10 ⁻⁸ (6,53 µg L ⁻¹)	4,94x10 ⁻¹⁰ (0,127 µg L ⁻¹)
Recuperação (%)	100,00	99,42±3,58

Analisando os valores de LD e LQ calculados por ambas as técnicas, é possível observar que os valores de VOQ/EDDB apresentaram-se bem mais baixos que os obtidos por CLAE-UV, possibilitando a determinação de traços de paraquat, quando o EDDB é usado como eletrodo de trabalho. O uso do EDDB possibilitou uma elevada sensibilidade analítica comprovando a eficiência de metodologias desenvolvida com o uso deste material eletródico.

Foi realizada uma análise comparativa entre os resultados apresentados nesse trabalho, com os reportados na literatura, a fim de avaliar a sensibilidade e precisão da metodologia desenvolvida. Para isso, foram relacionados alguns trabalhos para determinação eletroanalítica de paraquat em diferentes superfícies eletródicas, cujos seus valores de LD, LQ e precisão intermediária expressada pelo RSD, são exibidos na Tabela 3.17.

Diante do apresentado, é possível dizer que, pelo uso do EDDB, a metodologia proposta apresenta uma série de vantagens, tais como elevada sensibilidade analítica e capacidade de minimizar o processo de adsorção¹³² do paraquat sobre a superfície eletródica. O que torna possível sua utilização em amostras complexas, podendo também ser empregada com êxito em substituição à CLAE na determinação de resíduos deste herbicida em amostras de alimentos, uma vez que se obteve valores de LD e de LQ muito inferiores aos valores máximos recomendados pela ANVISA para amostras de alimentos (50-100 µg L⁻¹)³⁹.

Tabela 3. 17: Parâmetros analíticos obtidos para determinação eletroanalítica de paraquat, usando diferentes superfícies eletródica.

Superfície Eletródica	LD (mol L ⁻¹)	LQ (mol L ⁻¹)	RSD (%)	Ref.
Eletrodo de gota suspensa de mercúrio	1,50x10 ⁻⁸ (5,44 µg L ⁻¹)	-		40
Carbônio vítreo modificado com Nafion®	1,95x10 ⁻⁸ (0,50 µg L ⁻¹)	-	-	57
Microeletrodos de ouro	1,76x10 ⁻⁸ (4,51 µg L ⁻¹)	8,86x10 ⁻⁸ (15,05 µg L ⁻¹)	1,70	21
Grafite pirolítico modificado com fitolacianina de cobalto	1,44x10 ⁻⁷ (26,53 µg L ⁻¹)	4,79x10 ⁻⁷ (88,23 µg L ⁻¹)	1,58	61
Pasta de carbono modificada com fosfato	7,80x10 ⁻¹⁰ (0,21 µg L ⁻¹)	2,59x10 ⁻⁹ (0,67 µg L ⁻¹)	1,80	31
Pasta de Carbono modificada com fluorapatita	3,50x10 ⁻⁹ (0,90 µg L ⁻¹)	1,16x10 ⁻⁸ (2,98 µg L ⁻¹)	1,4	62
Pasta de carbono modificada com kaolin	2,00x10 ⁻¹⁰ (0,05 µg L ⁻¹)	6,67x10 ⁻¹⁰ (0,17µg L ⁻¹)	-	63
Eletrodo de diamante dopado com boro	1,48x10 ⁻¹⁰ (0,038 µg L ⁻¹)	4,94x10 ⁻¹⁰ (0,127 µg L ⁻¹)	4,81	nesse trabalho

3.2.9. Aplicação da metodologia proposta para a determinação de paraquat em amostras reais

O EDDDB promove uma diminuição considerável no processo de adsorção de produtos e/ou reagentes sobre a superfície eletródica, minimizando os efeitos de matriz na resposta voltamétrica, o que permitiu a utilização deste na aplicação de amostras de alimentos *in natura*, sem uso de nenhuma etapa de pré-tratamento, com uma ótima precisão intermediária.

Foram escolhidas, para aplicação da metodologia desenvolvida na determinação quantitativa de paraquat, amostras de coco e de acerola. Este herbicida é muito utilizado na agricultura irrigada do Baixo Jaguaribe, na região do Apodi, no Estado do Ceará¹⁴⁴. Essa região é uma das principais áreas de fruticultura do Estado, destacando-se com as culturas de melão, abacaxi, coco, acerola, entre outras¹⁴⁵. Assim, além do paraquat ser aplicado no cultivo dessas culturas, estas também são amplamente comercializadas e consumidas no Ceará.

A ANVISA determina, tanto para cultura de coco, como para a de acerola (citros em geral), o limite máximo de resíduo (LMR)³⁹ para paraquat, como sendo igual a 0,20 mg Kg⁻¹, valor bem superior aos LD e LQ determinados nesse trabalho para eletrólito de suporte.

Água de coco

Para o cálculo do fator de recuperação na determinação de paraquat em água de coco, utilizou-se o mesmo procedimento experimental empregado para o Diquat em amostras de água natural (descrito no item 2.5.1.3.1). Assim, na célula eletroquímica, foram adicionados 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e 1 mL de água de coco previamente filtrada em papel de filtro quantitativo. A contaminação dessa amostra foi feita de maneira semelhante à curva de recuperação em eletrólito de suporte, ou seja, pela adição de $7,389 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ do herbicida na célula eletroquímica. Em seguida, foram adicionadas sucessivas alíquotas de 50 μL de paraquat $5,500 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, com concentração variando de $7,389 \times 10^{-9}$ a $1,691 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. O fator de recuperação foi calculado como descrito no item 2.5.1.2.. Não foi observado deslocamento dos potenciais de pico, mostrando que a matriz não influenciou as respostas voltamétricas, como pode ser observado na Figura 3.58 (A).

A curva de recuperação em água de coco mostrada na Figura 3.58 (B), cuja equação da reta foi $I_p(A) = 1,239 \times 10^{-6} A + 168,27$ [paraquat], apresentando um coeficiente de correlação de 0,9999, mostrou uma excelente linearidade entre corrente de pico e concentração adicionada de paraquat. Foi encontrada uma concentração média recuperada de $7,148 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ com uma taxa de recuperação de 96,6%, e RSD de 2,72%, para $n = 3$.

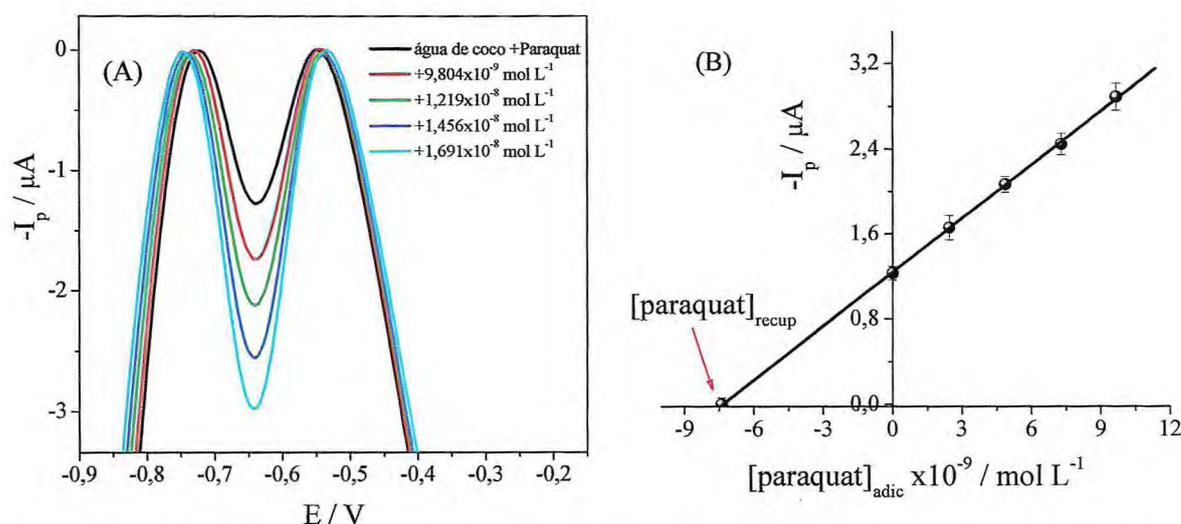


Figura 3. 58: (A): Voltamogramas de onda quadrada para paraquat sobre EDDB, em meio de 1 mL de água de coco e 9 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$, com concentração variando de $7,389 \times 10^{-9}$ a $1,691 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. (B): Curvas de recuperação obtidas a partir de valores médios ($n = 3$), de I_p vs. [paraquat], com suas respectivas barras de desvio padrão, $r = 0,9999$. $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$

Acerola

Adicionalmente, curvas de recuperação para amostras de acerolas foram construídas, a fim de se avaliar o efeito dos interferentes presentes neste fruto. O suco de acerola foi contaminado artificialmente como descrito no item 2.5.2.3.2..

Do suco contaminado artificialmente, foi retirada uma alíquota de 15 μL e adicionada à célula eletroquímica contendo 10 mL de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,01 mol L^{-1} , o que corresponderia à concentração adicionada de paraquat na célula eletroquímica de $7,781 \times 10^{-9}$ mol L^{-1} . Na seqüência, foram realizadas adições de paraquat, variando de $2,3843 \times 10^{-9}$ a $9,4247 \times 10^{-9}$ mol L^{-1} . Em seguida, curvas de recuperação foram construídas e a concentração recuperada foi encontrada, como descrito no item 2.5.1.2., cujo valor médio recuperado foi de $7,165 \times 10^{-9}$ mol L^{-1} . Adicionalmente, o fator médio de recuperação foi calculado, obtendo-se um valor de 92,08%, com RSD 2,20%.

Para análise dos resultados quantitativos na determinação de paraquat, por VOQ sobre EDDB, realizou-se uma comparação entre os resultados obtidos em eletrólito de suporte e os determinados em amostras de alimentos, onde são expressos os valores das concentrações adicionadas, valores médios das concentrações recuperadas e fatores de recuperações com seus respectivos RSD, como apresentação feita na Tabela 3.18.

Tabela 3. 18: Resultados obtidos para curvas de recuperação de paraquat sobre EDDB, em eletrólito de suporte, água de coco e acerola. $f = 30 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.

Amostras	[paraquat] _{adic} (mol L^{-1})	[paraquat] _{recup} (mol L^{-1})	Recuperação (%)
Eletrólito de suporte	$7,389 \times 10^{-9}$	$7,346 \times 10^{-9}$	99,42 \pm 3,58
Água de coco	$7,389 \times 10^{-9}$	$7,148 \times 10^{-9}$	96,74 \pm 2,72
Acerola	$7,781 \times 10^{-9}$	$7,165 \times 10^{-9}$	92,08 \pm 2,20

Analisando os resultados apresentados na Tabela 3.18, observa-se que os valores de recuperação calculados para todas as amostras indicaram que os componentes das amostras praticamente não afetaram a sensibilidade analítica, pois os resultados das taxas de recuperação estão todos bem próximos dos resultados obtidos em eletrólito de suporte. Esses resultados sugerem que a metodologia desenvolvida pode ser empregada com sucesso na determinação de paraquat em amostras de alimentos, uma vez que os fatores de recuperação apresentaram valores satisfatórios para um procedimento analítico (entre 70,00% a 130,00%)¹⁰⁴.

3.3. INSETICIDA CLORPIRIFÓS

3.3.1. Otimização dos parâmetros experimentais para determinação de clorpirifós sobre HMDE por VOQ

Testes preliminares por VOQ foram realizados, utilizando $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, com clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes eletrólitos de suporte, na faixa de potencial de -0,8 a -1,2 V, sobre superfície de HMDE. O clorpirifós apresenta baixa solubilidade em água (2 mg L^{-1})¹⁴⁶ e foi, portanto, utilizado, em todos os ensaios voltamétricos, um meio misto composto por 75% de eletrólito de suporte e 25% de etanol (v/v), adicionados à célula eletroquímica.

Escolha do Eletrólito de suporte

Para a escolha do eletrólito de suporte, foram testados os seguintes tampões (pH 2 ajustado com NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$), Na_2SO_4 , KCl e tampão BR, todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Esses resultados são mostrados na Figura 3.59. O tampão BR foi selecionado como o melhor eletrólito por apresentar uma maior intensidade de corrente, melhor perfil voltamétrico e melhor repetibilidade entre as medidas.

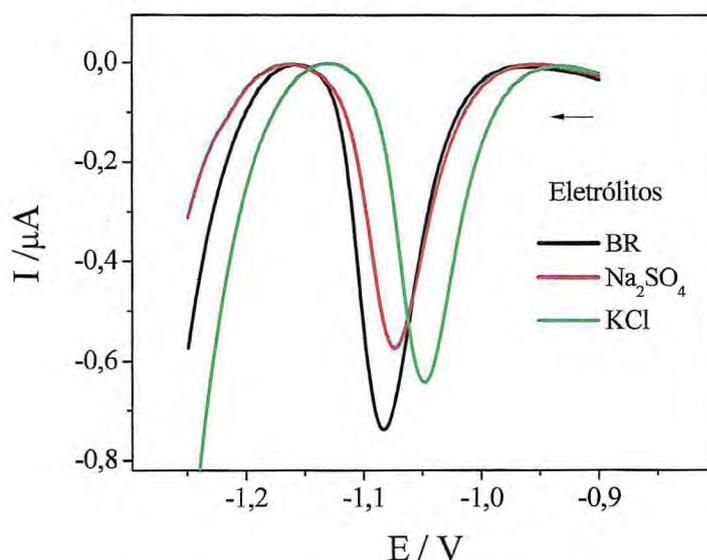


Figura 3. 59: Voltamogramas de onda quadrada para clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes eletrólitos de suporte: Na_2SO_4 , tampão BR, KCl, todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), sobre HMDE. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Estudo da concentração hidrogeniônica do meio

Uma vez escolhido o eletrólito de suporte, a etapa seguinte foi realizar estudos da influência da concentração hidrogeniônica do meio. Na maioria das determinações analíticas

de compostos orgânicos, o pH pode afetar de maneira significativa as respostas voltamétricas da molécula em estudo. Estas informações também servem para avaliar detalhes acerca do mecanismo redox, relacionados à protonação das espécies eletroativas. A Figura 3.60 apresenta os voltamogramas obtidos para clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, cuja influência do pH foi avaliada no intervalo de 2 a 10.

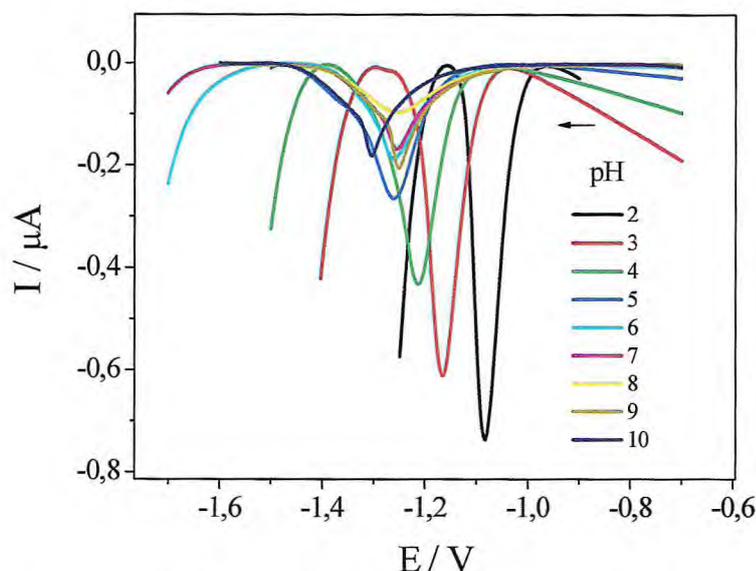


Figura 3. 60: Voltamogramas de onda quadrada para clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, contendo 25% de etanol (v/v), em diferentes valores de pH, sobre HMDE. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Analisando os voltamogramas de onda quadrada resultantes da variação do pH, verificou-se que, à proporção em que a concentração hidrogeniônica foi diminuída, os valores de potencial de pico do clorpirifós deslocaram-se para valores mais negativos, com diminuição na intensidade de corrente, mostrando que o potencial de pico de redução desse inseticida é bastante influenciado pelo pH do meio. Este comportamento é característico de processos em que ocorre protonação da espécie eletroativa antecedendo a transferência de carga¹³⁴.

A Figura 3.61(A) mostra a relação entre corrente de pico vs. pH, em que é possível observar, com o aumento do pH, um decaimento progressivo das correntes de pico. Em função disso, o pH 2 é o mais indicado para fins analíticos, por apresentar maior intensidade nas corrente de pico. Nesse pH, também se espera uma maior seletividade, uma vez que o potencial de pico (E_p) está em valores mais positivos. É possível verificar, ainda, que, em pH mais elevados, além dos valores de E_p deslocarem-se para valores mais negativos, os picos voltamétricos apresentam-se mais alargados (com uma maior largura de meia altura), causando perda de seletividade analítica.

A Figura 3.61(B) mostra a variação do potencial de pico obtido em função do pH do meio. Observou-se uma relação linear do pH 2 ao 5 com $r=0,9907$ e equação da reta: $-E_p(V) = 0,975 V + 0,058 \text{ pH}$. Depois do pH 5, ocorreu uma mudança de inclinação que pode ser atribuída ao valor do pK_a (constante de dissociação ácida) da molécula¹⁴⁷. Assim, o valor de pK_a para o clorpirifós deve ser 5. Esse resultado é concordante com o da literatura, em que é citado o valor de pK_a igual a 5,1⁸². Com base nesse resultado, é possível utilizar a técnica de VOQ para estimativa de valores de pK_a do analito. A segunda inclinação ocorreu entre pH 5 e 9 com equação da reta $-E_p(V) = 1,2805 V + 0,0036$, com $r = 0,9480$

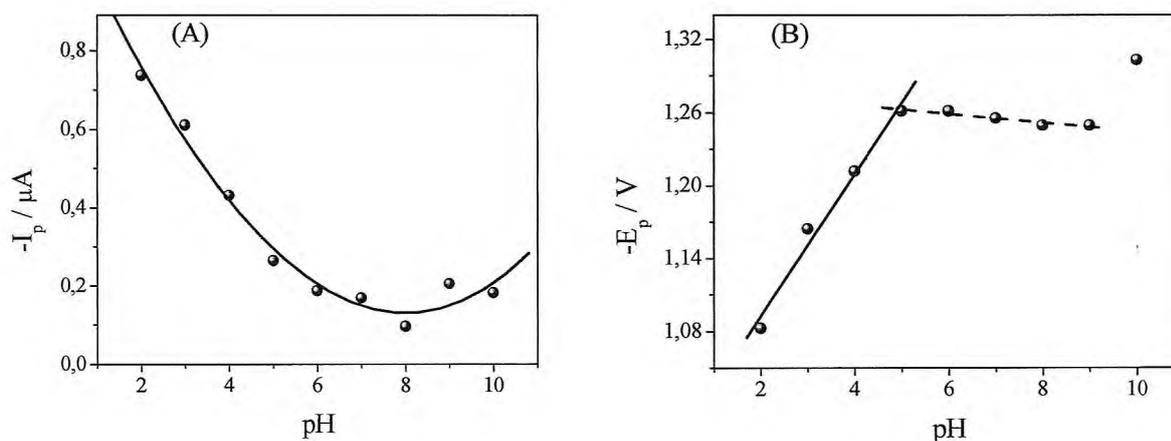


Figura 3. 61: clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 25% de etanol (v/v) sobre HMDE. (A) Dependência entre I_p vs. pH (B) Dependência entre E_p vs. pH, $-E_p(V) = 0,975 V + 0,058 \text{ pH}$, $r = 0,9907$.

Componentes de corrente

As componentes de correntes foram avaliadas com intuito de observar o grau de reversibilidade do sistema, e os voltamogramas obtidos são apresentados na Figura 3.62. Nessa Figura, observou-se a presença do pico de redução em $-1,08 \text{ V}$, com características de um sistema redox totalmente irreversível, cuja intensidade de corrente das componentes resultante e direta só não é totalmente coincidente porque há uma pequena contribuição da corrente reversa, que está no mesmo sentido da componente direta

Esse comportamento mostra que o pulso de potencial no sentido reverso (oxidação) não consegue reoxidar o produto da reação, o que pode ser explicado pela difusão lenta dos produtos de redução no seio da solução, possibilitado somente a leitura das correntes de redução¹⁰⁰. Situação semelhante foi observada para diquat e paraquat sobre superfície de EDDB descrito nos iten 3.1.2.2..

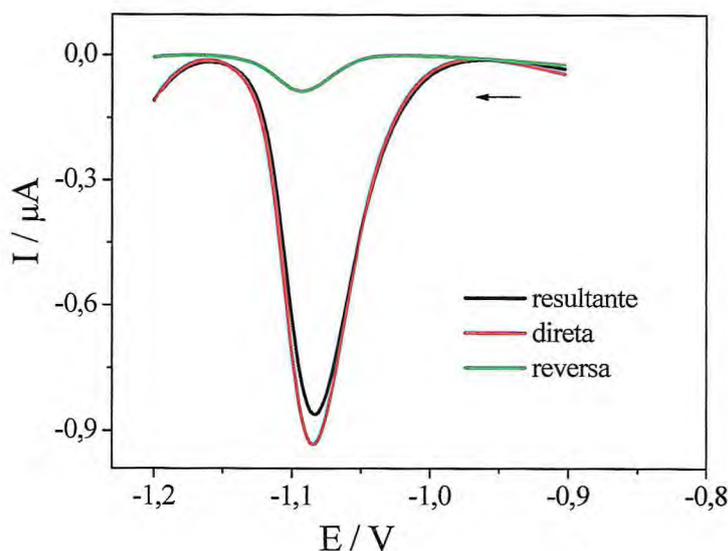


Figura 3. 62: Componentes de corrente para clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sobre HMDE, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Como a corrente de pico para a componente resultante é próxima da componente direta, optou-se por trabalhar com a primeira.

Influência do tempo e potencial de acumulação

Nos estudos preliminares utilizando clorpirifós, observou-se que este adsorve fortemente sobre a superfície eletrodica. A adsorção de espécies eletroativas sobre a superfície do eletrodo de trabalho pode ser usada para etapas de pré-concentração em métodos eletroanalíticos para determinações quantitativas, causando um aumento significativo nas respostas voltamétricas¹⁴⁸.

Uma vez que a adsorção das espécies eletroativas desse inseticida pode aumentar consideravelmente o sinal analítico, foram realizados experimentos de avaliação do tempo e do potencial de acumulação por VOQ, e os resultados são apresentados na Figura 3.63.

O potencial de acumulação (E_{acu}) foi variado de 0,0 V a -1,0 V, para tempo entre 15 e 120 segundos. Desta forma, observou-se um aumento na intensidade de corrente em relação ao tempo de acumulação (t_{acu}) de 60 s, para todos os potenciais aplicados. Após esse período, a resposta de corrente permaneceu praticamente constante.

Analisando os resultados, em termos de maior resposta de corrente de pico, os potenciais -0,2 V e -0,4 V apresentaram praticamente o mesmo valor, mas o último (-0,4 V) foi selecionado para estudos posteriores, por apresentar melhor repetibilidade entre as medidas voltamétricas. Assim, ficou definido como condições ótimas o tempo de 60 s e o

potencial de $-0,4$ V ($E_{acu} = -0,4$ V e $t_{acu} = 60$ s). Nessas condições, foi observado o maior sinal analítico, bem como maior repetibilidade entre as medidas.

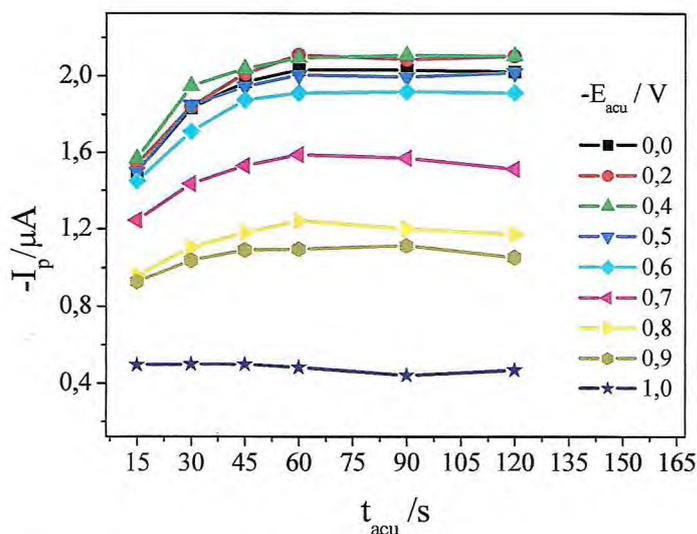


Figura 3. 63: Avaliação do potencial e do tempo de acumulação para clorpirifós $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, em meio de tampão BR $0,1$ mol L⁻¹ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), sobre HMDE. $f = 100$ s⁻¹, $\Delta E_s = 2$ mV, $a = 50$ mV.

Após a definição do potencial e do tempo de acumulação, a varredura de potencial nos experimentos seguintes foi realizada entre $-0,8$ a $-1,25$ V, uma vez que nesse intervalo de potencial as respostas voltamétricas mostraram-se tão eficientes quanto em intervalos de varreduras maiores ($0,0$ V a $-1,25$ V).

3.3.2. Avaliação dos parâmetros voltamétricos da VOQ para determinação de clorpirifós

Frequência de aplicação dos pulsos

A frequência de aplicação de pulsos foi avaliada no intervalo de 10 s⁻¹ a 400 s⁻¹. A Figura 3.64 apresenta os voltamogramas de onda quadrada obtidos para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, em função da variação da frequência de aplicação de pulsos.

No processo de redução do clorpirifós, a variação da frequência na qual os pulsos de potenciais foram aplicados provocou um aumento na intensidade de corrente de pico em todas as frequências investigadas. Analisando os potenciais de pico, observou-se um deslocamento destes para valores mais negativos, à medida em que a frequência de aplicação dos pulsos foi aumentada. A relação entre o potencial de pico e logaritmo da frequência de aplicação de pulso foi avaliada: entretanto, não foi observada linearidade entre esses dois parâmetros.

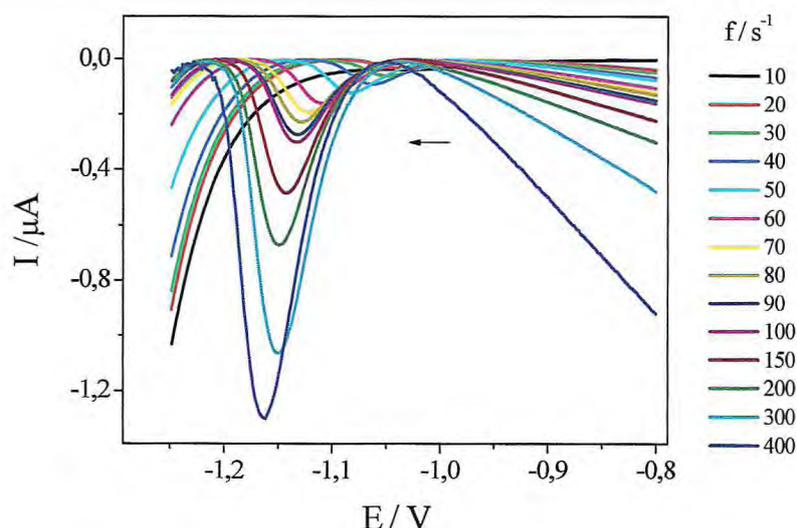


Figura 3. 64: Voltamograma de onda quadrada para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes frequências de aplicação dos pulsos, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), sobre superfície de HMDE. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$.

Adicionalmente, foi estudada a relação entre intensidade da corrente de pico e frequência de aplicação de pulsos, observando-se linearidade até $f = 300 \text{ s}^{-1}$, com um coeficiente de correlação de 0,9995 e equação da reta, $I_p (\text{A}) = -5,88 \times 10^{-8} \text{ A} + 3,70 \times 10^{-9} f (\text{s}^{-1})$, como pode ser visto pela Figura 3.65(A). De acordo com os critérios de diagnóstico da teoria da VOQ, a dependência linear entre essas duas variáveis refere-se a sistemas totalmente irreversíveis¹⁴⁹. Osteryoung e O'dea²⁵ citam que esse fato também é uma característica de processos envolvendo a adsorção das espécies eletroativas. A Figura 3.65(B) mostra a relação entre corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade da frequência de aplicação de pulsos, não sendo encontrada nenhuma relação de linearidade. Esse comportamento é esperado para sistemas irreversíveis controlados por adsorção, que é o caso do processo de redução do clorpirifós.

Embora a corrente de pico tenha apresentado uma relação linear até a frequência de aplicação de pulsos de 300 s^{-1} ($r = 0,9990$), optou-se por trabalhar com a frequência de aplicação de pulsos de 100 s^{-1} ($r = 0,9989$), uma vez que esta se apresentou em potenciais mais positivos, como perfil voltamétrico mais bem definido, e menor largura de meia altura sendo a mais indicada para fins analíticos e também porque, em frequências de aplicação de pulsos maiores, observou-se um aumento na largura de meia altura.

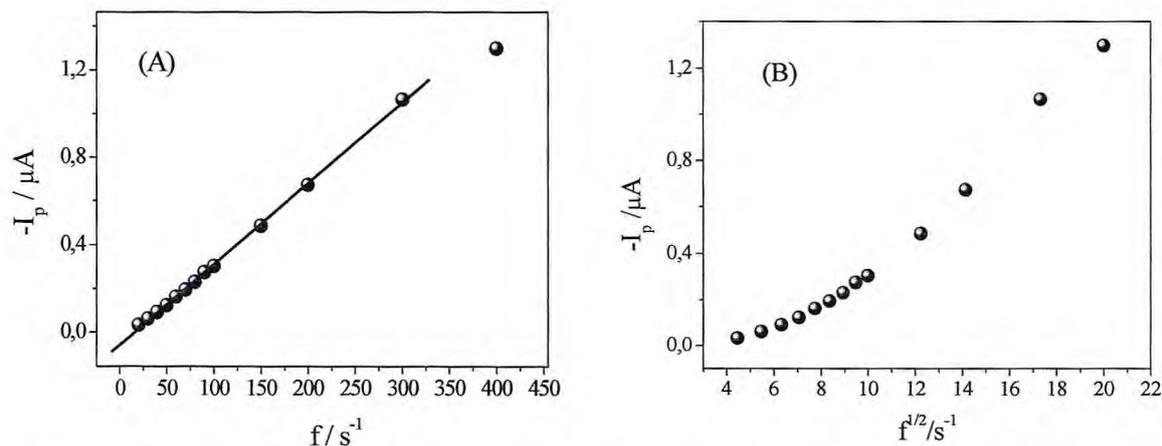


Figura 3. 65: Estudo entre corrente de pico e frequência de aplicação de pulsos para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sobre HMDE em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v). $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$. **(A):** I_p vs. f , $I_p = -5,880 \times 10^{-8} A + 3,700 \times 10^{-9} f (\text{s}^{-1})$ $r = 0,9990$ até $f = 300 \text{ s}^{-1}$. **(B):** I_p vs. $f^{1/2}$.

Amplitude de pulsos

No presente estudo, foi empregada uma variação da amplitude de pulsos na faixa de 5 a 70 mV, sendo observado que o aumento deste parâmetro provoca um deslocamento dos potenciais de pico para valores mais positivos. A Figura 3.66 apresenta os voltamogramas de onda quadrada registrados para variação da amplitude de pulsos.

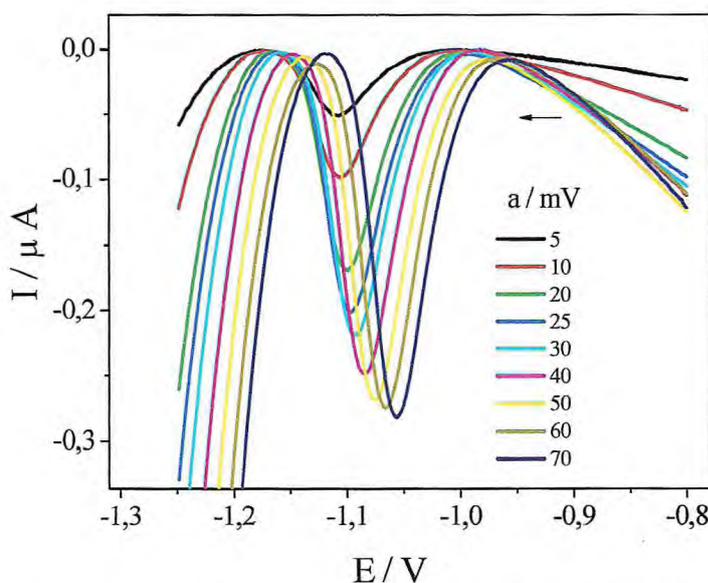


Figura 3. 66: Voltamograma de onda quadrada para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes amplitudes de pulsos de potenciais em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), sobre HMDE. $f = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$.

As Figuras 3.67 (A) e (B) mostram as relações entre potencial de pico e amplitude de pulsos, e entre corrente de pico com amplitude de pulsos, respectivamente.

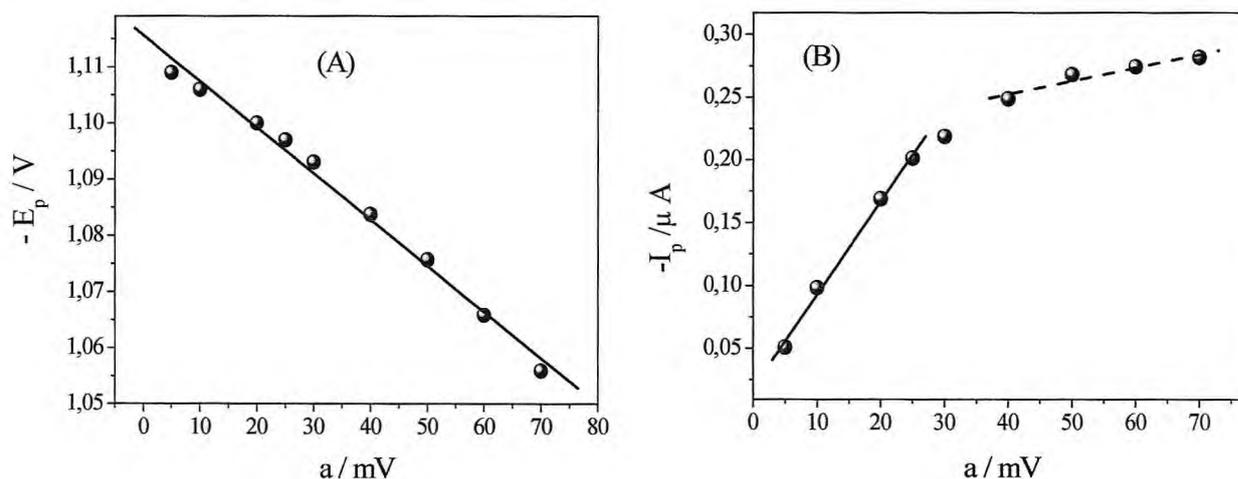


Figura 3. 67: Clorpirifós $1,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} em meio de tampão BR $0,1$ mol L^{-1} (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), sobre HMDE, $f = 100$ mV, $\Delta E_s = 2$ mV, $E_{acu} = -0,4$ V, $t_{acu} = 60$ s. (A) Relações entre potencial de pico e amplitude de pulsos, com $-E_p = 1,116$ V + $0,821$ a (V), $r = 0,9955$. (B) Relação entre corrente de pico e amplitude de pulsos, $r = 0,9976$.

O potencial de pico (Figura 3.67 (A)) apresentou uma relação linear com a amplitude de pulsos, com uma inclinação de 0,82 e com $r = 0,9955$, representada pela equação da reta: $-E_p(\text{V}) = 1,116 \text{ V} + 0,821 a (\text{V})$. O'Dea et al.¹⁵⁰ mostraram que uma reação de redução totalmente irreversível de moléculas adsorvidas na superfície do eletrodo fornece uma inclinação próxima à unidade. Assim, pelos resultados obtidos, é possível afirmar que o processo de redução do clorpirifós é irreversível com adsorção do analito na superfície do eletrodo.

Ao avaliar a intensidade de corrente em função da amplitude de pulsos (Figura 3.67 (B)), observou-se que há uma linearidade até o valor de 25 mV ($r = 0,9976$). Ficou definido que uma amplitude de pulso de 25 mV seria utilizada no desenvolvimento do método analítico. Em amplitudes maiores que de 40 mV, praticamente não houve mudanças significativas na intensidade de corrente de pico, não oferecendo nenhuma contribuição adicional à sensibilidade analítica. Estes resultados estão de acordo com a teoria da voltametria de onda quadrada para sistemas irreversíveis, pois, segundo os critérios de diagnóstico desta, para amplitudes acima de 50 mV, a corrente de pico é praticamente constante¹¹⁷.

Incremento de Varredura

O incremento de varredura de potenciais também foi investigado, no intervalo de 2 mV a 7 mV, mantendo-se constante a frequência de aplicação de pulsos de 100 s^{-1} e a amplitude de pulso de 50 mV. Os voltamogramas de onda quadrada registrados são exibidos

na Figura 3.68 (A). Analisando os resultados deste estudo, observou-se que, na proporção em que se utilizaram incrementos de varredura maiores, visualizou-se um deslocamento de potencial de pico para valores menos positivos, comportamento típico de processos irreversíveis. Uma análise entre corrente de pico e incremento de varredura foi realizada, observando-se um crescimento linear durante toda a faixa de incrementos avaliada, cujo coeficiente de correlação foi 0,9993, como mostrado na Figura 3.68(B).

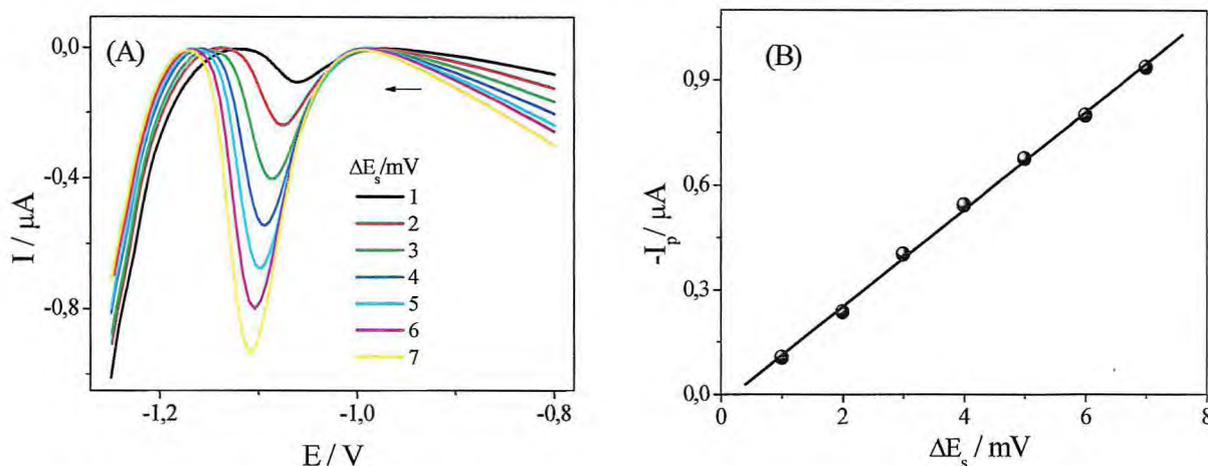


Figura 3. 68: (A) Voltamograma de onda quadrada para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes incrementos de varreduras, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% etanol (v/v), sobre HMDE. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$. (B) Dependência entre I_p vs. ΔE_s , $r = 0,9993$.

Embora a corrente de pico tenha apresentado uma relação linear em toda a faixa de incremento de varredura analisado, optou-se por trabalhar com o incremento de 5 mV, pois, em incrementos maiores, verificou-se deformação na ponta do pico voltamétrico, comprometendo a resolução dos voltamogramas.

Após a etapa de investigação dos parâmetros voltamétricos da VOQ, ficaram definidas como condições otimizadas: $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$.

3.3.3. Estudos complementares por voltametria cíclica

Foram realizados estudos por voltametria cíclica utilizando clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2). A varredura se deu entre -0,8 V e -1,3 V. Observou-se um pico de redução em -1,08 V, e ausência de pico de oxidação, caracterizando o processo como sendo totalmente irreversível. Tal comportamento ratifica o que foi observado nos experimentos realizados por VOQ. Na seqüência, uma comparação entre ensaios sem e com etapas de pré-concentração foi feita, como mostrada na Figura 3.69.

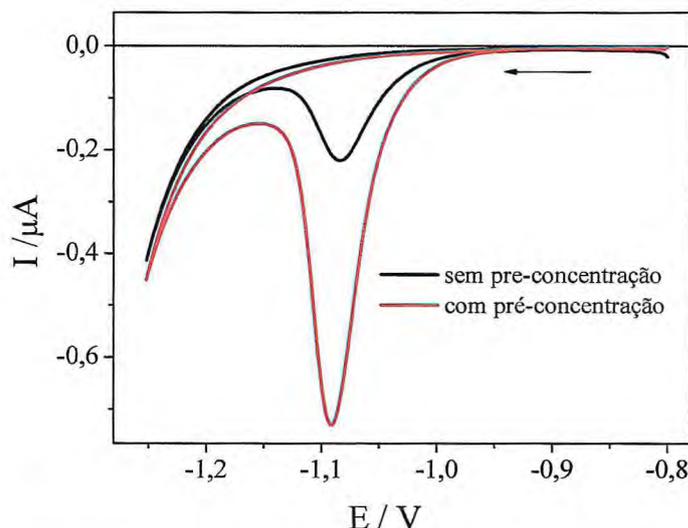


Figura 3. 69: Voltamogramas cíclicos para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% etanol (v/v), com e sem etapas de pré-concentração, a 100 mV s^{-1} , sobre HMDE. $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$.

Os resultados mostraram que o efeito da pré-concentração em experimentos por voltametria cíclica também é bem evidenciado, uma vez que o sinal analítico teve um aumento considerável, quando o tempo e o potencial de acumulação foram empregados. Desta forma, nos experimentos que se seguem, foram aplicados o tempo e o potencial de acumulação de 60 s e -0,4 V, respectivamente, os mesmos otimizados anteriormente por VOQ.

A influência da velocidade de varredura com a corrente de pico e com o potencial de pico para o processo de redução do clorpirifós foi investigada no intervalo de 10 a 400 mV s^{-1} . Os voltamogramas obtidos podem ser visualizados na Figura 3.70.

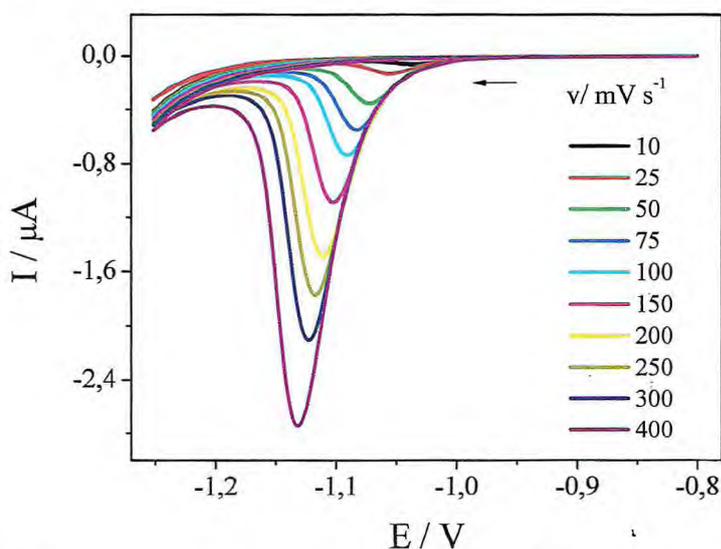


Figura 3. 70: Voltamogramas cíclicos para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% etanol (v/v), em diferentes velocidades de varredura, sobre HMDE. $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$.

Analisando os voltamogramas apresentados na Figura 3.70, observou-se um aumento de corrente de forma linear, bem como um deslocamento nos potenciais de pico para valores mais negativos, com o aumento da velocidade de varredura, e, ainda, a ausência de pico na varredura reversa (oxidação), confirmando o comportamento irreversível^{119,150} no processo de redução do clorpirifós.

A influência da velocidade de varredura fornece informação importante sobre o tipo de transporte de massa envolvido no processo redox, por meio da avaliação da relação existente entre corrente de pico e velocidade de varredura (I_p vs. v), como mostrado na Figura 3.71(A). Na análise destes parâmetros foi encontrada uma relação linear, cuja equação da reta é: $-I_p(\text{A}) = 1,64 \times 10^{-8} \text{ A} + 6,97 \times 10^{-9} v \text{ (mV s}^{-1}\text{)}$, com $r = 0,9990$. Essa relação de linearidade é um indicativo de que a etapa determinante da velocidade da reação envolve a adsorção de clorpirifós na superfície do eletrodo. A relação entre corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura (I_p vs. $v^{1/2}$) também foi avaliada, não sendo observada, no entanto, relação linear entre estas variáveis, expressando a ausência de controle difusional.

Adicionalmente, esses resultados foram confirmados pela análise do coeficiente angular da relação entre logaritmo da intensidade de corrente de pico e logaritmo da velocidade de varredura ($\log I_p$ vs. $\log v$), como mostrado na Figura 3.71(B). O valor do coeficiente angular foi de 1,05, obtido por meio da relação linear com $r = 0,9980$ e equação da reta, $-I_p(\text{A}) = -8,26 \text{ A} + 1,05 \text{ A (mV s}^{-1}\text{)}$, confirmando a natureza do transporte de massa, controlado por adsorção, para o qual, segundo a literatura, o coeficiente angular deve ser igual a 1,0¹¹⁸.

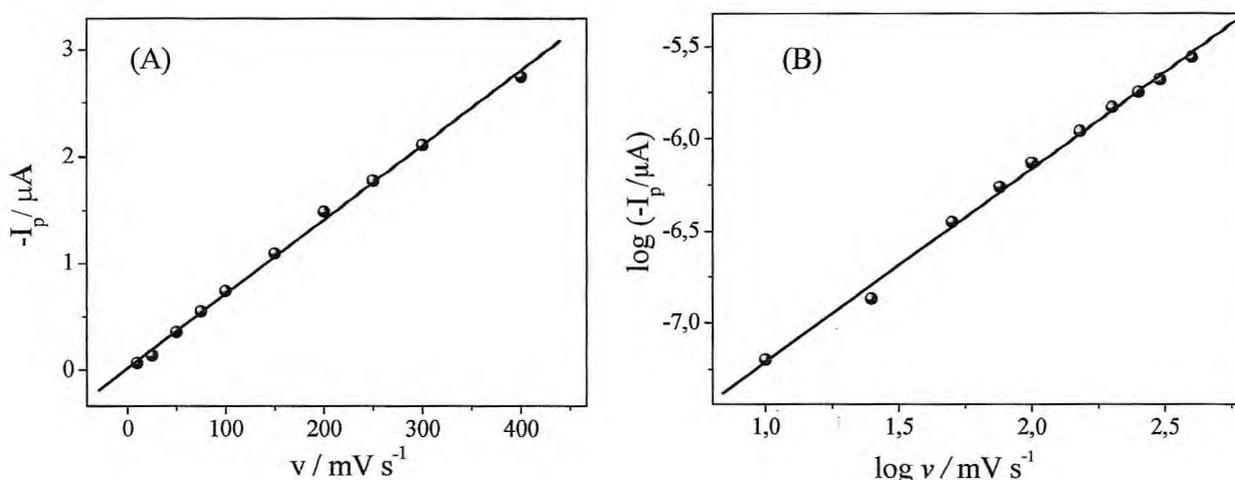


Figura 3. 71: Relação entre corrente de pico e velocidade de varredura para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% etanol (v/v), sobre HMDE. (A): I_p vs. v , $r = 0,9990$, $I_p = 1,640 \times 10^{-8} \text{ A} + 6,970 \times 10^{-9} v \text{ (mV s}^{-1}\text{)}$ (B): $\log I_p$ vs. $\log v$, $r = 0,9980$, $I_p = -8,260 \text{ A} + 1,050 \text{ A (mV s}^{-1}\text{)}$.

Para processo redox, totalmente irreversível, a relação entre o potencial de pico e a velocidade de varredura é dada por¹⁵¹ :

$$E_p = \left(\frac{2,303RT}{\alpha nF} \right) \log \left(\frac{RTk_f}{\alpha nF} \right) - \left(\frac{2,303RT}{\alpha nF} \right) \log v \quad \text{Equação 3.8}$$

onde R é a constante dos gases, T, a temperatura, F, a constante de Faraday, k_f , a constante de velocidade heterogênea, v , a velocidade de varredura, α , o coeficiente de transferência de carga e n , o número de elétrons.

A dependência entre potencial de pico (E_p) e logaritmo da velocidade de varredura ($\log v$) é apresentada na Figura 3.72, em que se observou uma relação linear, com um coeficiente de correlação igual a 0,9975, coeficiente angular de 0,060 V.

A partir desta relação, foi possível calcular o número de elétrons envolvidos no processo, aplicando-se os parâmetros da inclinação obtida na Equação 3.8. Primeiramente, calculou-se o valor de αn como sendo igual a 0,986. Para moléculas orgânicas em soluções aquosas, o coeficiente de transferência eletrônica pode ser considerado igual a 0,5¹³⁴. Assim, tem-se $n = 2$, ou seja, dois elétrons participam do processo de redução do clorpirifós.

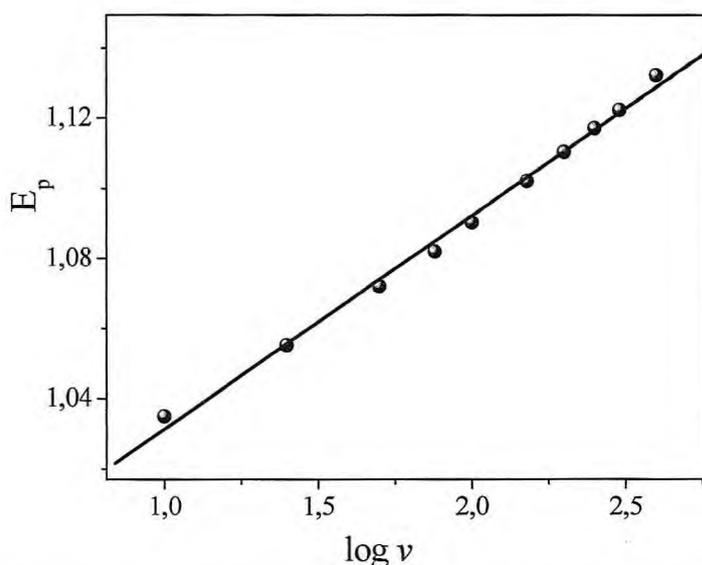


Figura 3. 72: Relação entre potencial de pico e logaritmo da velocidade de varredura para clorpirifós $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% etanol (v/v), sobre HMDE, $E_p = 0,970 \text{ V} + 0,060 \log v \text{ (mV s}^{-1}\text{)}$, $r = 0,9970$.

No item 3.3.1., foi realizando um estudo entre potencial de pico em função do pH do meio, cuja relação linear entre E_p vs. pH apresentou uma inclinação de 0,058 V/pH. Este valor está bem próximo da inclinação nernstiana de 0,059 V/unidade de pH a 25 °C, indicando que

o número de elétrons e prótons envolvidos no processo são iguais¹⁵², ou seja, dois prótons participam da redução do clorpirifós.

Utilizando o valor da inclinação da reta de E_p vs. pH (0,058 V/pH) e o valor de αn (0,986), foi possível calcular o número de prótons envolvidos na reação redox utilizando a equação 3.9¹⁴⁷, encontrando-se que um próton participa do processo de redução do clorpirifós.

$$E_p = E^\circ - \frac{2,303RTm}{nF} pH \quad \text{Equação 3.9}$$

onde m é o número de prótons envolvidos na reação e os demais termos mantêm seus significados usuais.

Assim, a reação de redução do clorpirifós envolve a participação de dois prótons, um que antecede a transferência de carga, e outro que participa na etapa de redução eletroquímica. Baseado nesses resultados, foi montada uma proposta de mecanismo eletroquímico para este inseticida, que deve ocorrer em duas etapas, de acordo com o apresentado na Figura 3.73. Essa proposta de mecanismo é concordante com a apresentada por Al-Mebball et al.⁸².

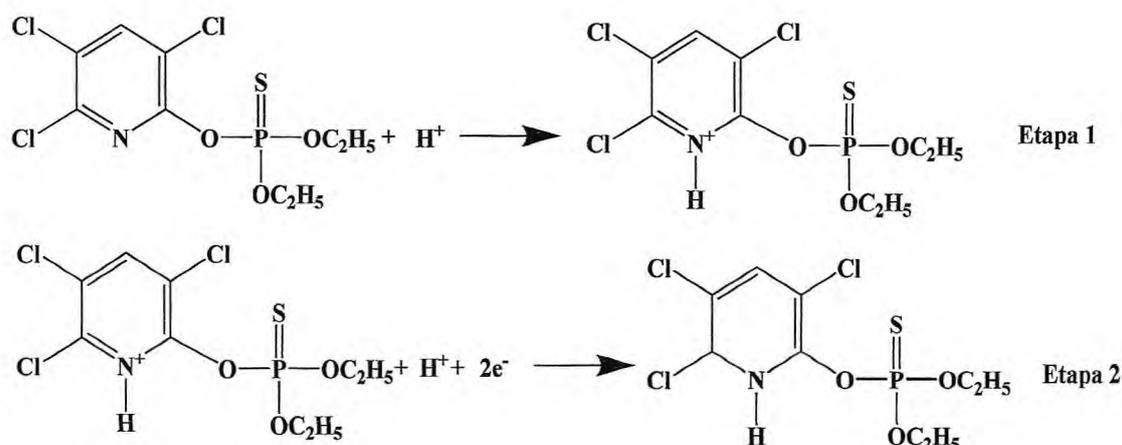


Figura 3. 73: Proposta de mecanismo para a reação de redução do clorpirifós

O processo de redução eletroquímica do clorpirifós, correspondendo à redução da dupla ligação entre C=N do anel bipiridílico, envolvendo um ganho de 2e e um próton (H^+), como mostrado na Figura 3.73.

3.3.4. Curvas analíticas

Estabelecidas as melhores condições para a determinação de clorpirifós, em que foi selecionado como eletrólito de suporte o Tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 2), e como parâmetros da VOQ uma frequência de aplicação de pulsos de 100 s⁻¹, uma amplitude de pulso de 25 mV

e um incremento de varredura 5 mV, foram construídas curvas analíticas. Em suas elaborações, utilizou-se uma solução estoque de clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, e a seqüência de adições foi repetida a partir da obtenção do primeiro pico de redução que se diferenciou do branco: isso indica que o menor volume adicionado é correspondente ao primeiro ponto da curva analítica. Assim, utilizando uma solução estoque de clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, foram feitas adições sucessivas de alíquotas de 50 μL , sendo verificado um aumento entre corrente de pico e concentração deste inseticida, no intervalo de $2,494 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,513 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas de onda quadrada são exibidos na Figura 3.74.

Os potenciais de pico dos voltamogramas da curva analítica mostrado na Figura 3.74, foram avaliados. Para a 1^a, 6^a e 12^a adições observou-se $E_p = -1,148 \text{ V}$, ou seja, não ocorreram variações nos potenciais de pico, indicando que, possivelmente não houve adsorção de produtos na superfície eletródica.

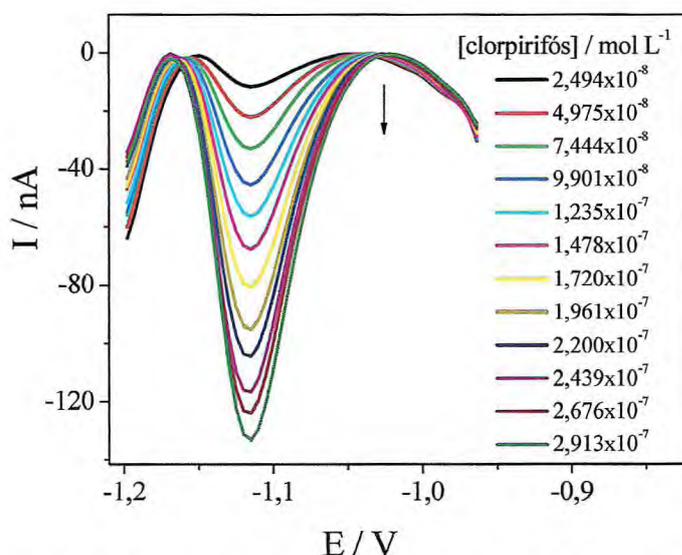


Figura 3. 74: Voltamogramas de onda quadrada sobre HMDE, em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), com concentrações de clorpirifós variando de $2,494 \times 10^{-8}$ a $2,913 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$.

A curva analítica pode ser vista na Figura 3.75, em que é apresentada a relação de linearidade entre correntes de pico e concentração de clorpirifós, para valores médios ($n = 3$), com um coeficiente de correlação de 0,9993 e uma inclinação de $0,441 \text{ A/mol L}^{-1}$, no intervalo de concentração avaliado.

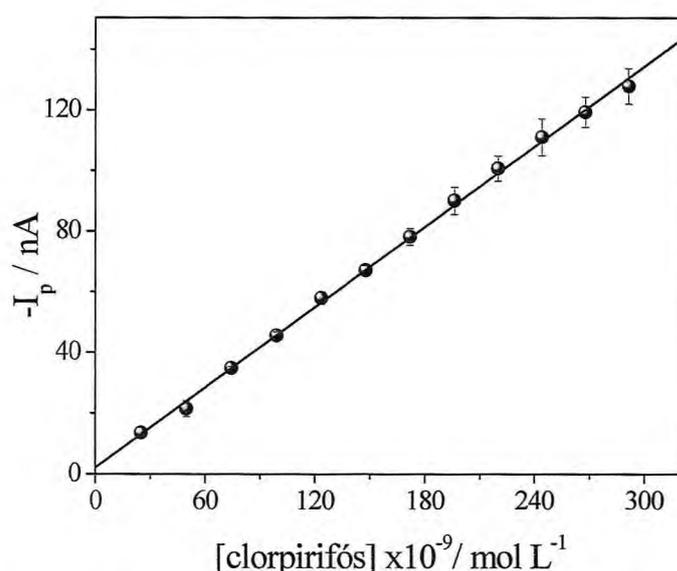


Figura 3. 75: Curva analítica para clorpirifós sobre HMDE, em meio de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), obtida dos valores médios ($n = 3$), para I_p vs. [clorpirifós], com suas respectivas barras de desvio padrão. $I_p = 2,058 \times 10^{-9} A + 0,441 [\text{clorpirifós}]$, $r = 0,9993$. $a = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$

A partir destes resultados, foram calculados os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). Além desses parâmetros analíticos para determinação de clorpirifós, o intervalo de concentração analisado, a equação da curva analítica, a inclinação da curva analítica (S), o coeficiente de correlação (r) e o desvio padrão da média aritmética de dez brancos (S_b) são apresentados na Tabela 3.19.

Tabela 3. 19: Parâmetros analíticos para determinação de clorpirifós sobre HMDE, em meio de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), nas condições otimizadas.

Parâmetros	Valor
Linearidade	$2,494 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,913 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
Equação	$I_p = 2,058 \times 10^{-9} A + 0,441 [\text{clorpirifós}]$
R	0,9993
S_b (A)	$6,549 \times 10^{-11}$
S (A/mol L ⁻¹)	0,441
LD (mol L ⁻¹)	$4,43 \times 10^{-10}$ ($0,155 \mu\text{g L}^{-1}$)
LQ (mol L ⁻¹)	$1,48 \times 10^{-9}$ ($0,518 \mu\text{g L}^{-1}$)

Pelos resultados apresentados na Tabela 3.19, é possível observar que foram encontrados ótimos valores de LD e LQ, $0,155 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,518 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente, com

um coeficiente de correlação de 0,9993. Assim, uma excelente sensibilidade foi obtida com o uso do HMDE aliado à técnica de VOQ na determinação eletroanalítica do clorpirifós.

Este inseticida não responde eletroquimicamente sobre a maioria dos materiais usados como superfície eletródica. A literatura cita estudos em superfície de mercúrio e em biosensores^{71,84,85}. Posteriormente, no item 3.3.7., será mostrado uma análise comparativa dos resultados determinados nesse trabalho com os reportados na literatura.

3.3.5. Avaliação da precisão da metodologia por ensaios de repetibilidade e precisão intermediária

Repetibilidade

A repetibilidade foi testada utilizando-se uma concentração de clorpirifós dentro da curva analítica investigada, referente à 3ª adição, que foi de $7,444 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Neste ensaio foram consideradas dez medidas sucessivas realizadas na mesma solução. Uma corrente média de $-2,739 \times 10^{-8} \text{ A}$ foi calculada, com RSD de 1,27%. A Tabela 3.20 mostra os valores das correntes de pico registradas neste ensaio.

Tabela 3. 20: Estudos de repetibilidade para clorpirifós $7,444 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, sobre HMDE em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v).

Replicatas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$-I_p \times 10^{-8} \text{ A}$	2,717	2,702	2,732	2,719	2,797	2,684	2,745	2,749	2,756	2,769

Precisão intermediária

Na seqüência, a precisão intermediária foi avaliada, considerando-se cinco medidas diferentes, em soluções e dias distintos, também com clorpirifós $7,444 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. As correntes de pico foram avaliadas, obtendo-se uma corrente média de $-2,815 \times 10^{-8} \text{ A}$ e RSD de 4,03%. A Tabela 3.21 apresenta os valores das correntes de pico obtidos nesses experimentos.

Tabela 3. 21: Estudos de precisão intermediária para clorpirifós $7,444 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, sobre HMDE em meio de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH2), contendo 25% de etanol (v/v).

Replicatas	1	2	3	4	5
$-I_p \times 10^{-8} \text{ A}$	2,819	2,685	2,718	2,931	2,923

Desta forma, o procedimento proposto apresentou uma excelente precisão, expressa por uma repetibilidade de 1,27 % e por uma precisão intermediária de 4,03%, uma vez que esses valores estão abaixo dos limites recomendados para métodos analíticos¹²³.

3.3.6. Estudo de seletividade e eficiência da metodologia por curvas de recuperação em eletrólito de suporte

A curva de recuperação foi realizada dentro da faixa de concentração investigada na curva analítica. Escolheu-se a concentração de $7,444 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (correspondente à terceira adição da curva analítica) como sendo a concentração adicionada. Na seqüência, à amostra contaminada, foram adicionadas alíquotas de 50 μL da solução do padrão de clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ao tampão BR (pH 2), com 25% de etanol (v/v), concentração deste variando de $9,901 \times 10^{-7}$ a $1,720 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, e as respostas de corrente em função da concentração foram avaliadas como exibido na Figura 3.76.

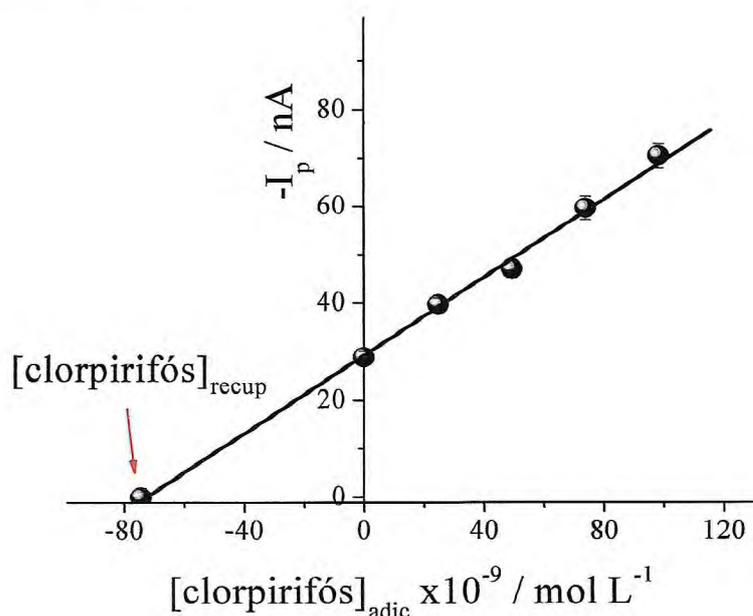


Figura 3. 76: Curva de recuperação para clorpirifós sobre HMDE em eletrólito de suporte, obtidas a partir dos valores médios ($n = 3$) de I_p vs. $[\text{clorpirifós}]$, com suas respectivas barras de desvio padrão, $r = 0,9986$, em meio de Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v).

Na avaliação entre corrente de pico e concentração adicionada de clorpirifós observou-se linearidade com coeficiente de correlação de 0,9986. A concentração média recuperada foi de $6,816 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Por meio das concentrações recuperadas, as taxas de recuperação foram calculadas usando a Equação 2.4.

Avaliando esses resultados por parâmetros estatísticos, foi obtido um fator de recuperação médio de 91,57%, e RSD de 1,82%. Foram obtidos bons percentuais de

recuperação em eletrólito de suporte com baixo valor de RSD, indicando eficiência e precisão no procedimento.

Os resultados mostraram que a porcentagem recuperação média encontrada por VOQ/HMDE encontra-se dentro da faixa aceitável para metodologias analíticas, que varia entre 70% e 130%¹⁰⁴.

3.3.7. Comparação entre a metodologia eletroanalítica e cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo

Baseando-se no *Method 507 - Determination of Nitrogen and Phosphorus-Containing Pesticides in Water by Gas Chromatography with a Nitrogen-Phosphorus Detector*, estabelecido pela EPA¹⁰⁸, foram realizados ensaios cromatográficos para quantificação de clorpirifós, utilizando cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo (CG-DNP).

Para determinação de clorpirifós, foi utilizada a coluna OV-5 (5% difenil, 95 % dimetilpolisiloxano). A rampa de temperatura teve início em 100 °C, aumentando para 150 °C a uma taxa de 15 °C/min, e, em seguida, para 230 °C a 6 °C/min, e até 290 °C a 30 °C/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C e de 300 °C, respectivamente. Nessas condições, foram injetados 2 µL da amostra de clorpirifós (solubilizados em acetato de etila) no modo *splitless*, utilizando hidrogênio como gás de arraste, a um de fluxo 1 mL/min. O tempo de retenção do clorpirifós foi de 13,3 min e os cromatogramas obtidos são mostrados na Figura 3.77.

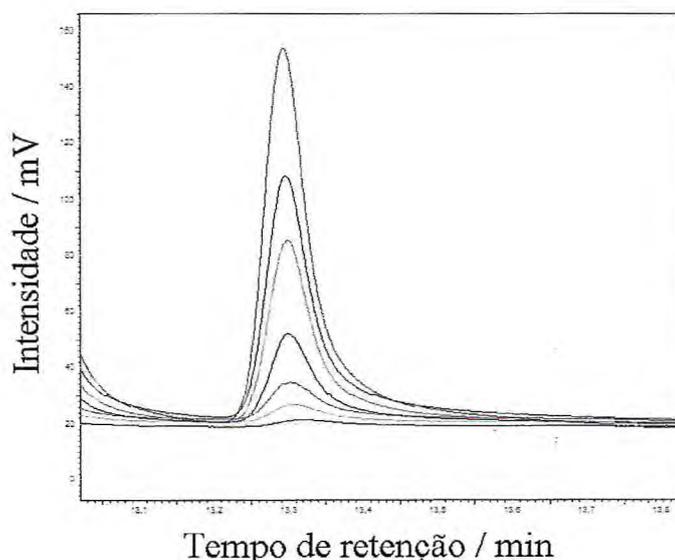


Figura 3. 77: Cromatogramas de clorpirifós, com concentrações variando de $1,426 \times 10^{-7}$ a $2,852 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, tempo de retenção de 13,3 min.

Foram construídas curvas analíticas para o clorpirifós no intervalo de concentração de $1,426 \times 10^{-7}$ a $2,852 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, e a relação linear entre a área do pico cromatográfico e o aumento da concentração é representada na Figura 3.78.

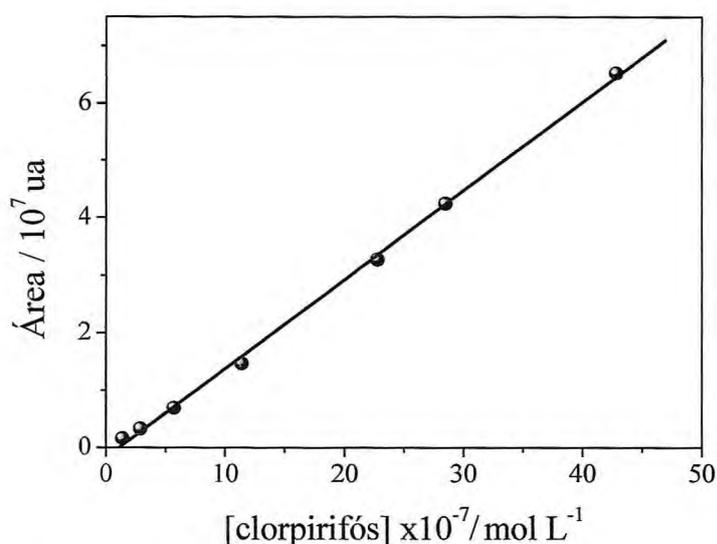


Figura 3. 78: Curva analítica com a dependência da área do pico cromatográfico e a concentração do inseticida clorpirifós. $A = -0,169 \text{ ua} + 0,155 [\text{clorpirifós}]$, $r = 0,9987$.

Esses resultados foram utilizados para calcular LD e LQ de modo semelhante ao CLAE-UV, descrito no item 3.1.3.. Nestas condições, foram obtidos LD e LQ de $8,864 \times 10^{-10}$ e $2,709 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ ($0,310 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,950 \mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente. O fator de recuperação também foi calculado pelo método da adição de padrão em três níveis de fortificação, obtendo-se um valor de 99,97%.

Na sequência, foi realizada uma comparação entre os parâmetros analíticos quantificados por CG-DNP com os determinados por VOQ/HMDE para clorpirifós, como apresentado na Tabela 3.22.

Analisando os dados apresentados na Tabela 3.23 é possível observar que os parâmetros analíticos de validação (LD, LQ, repetibilidade e precisão intermediária) obtidos por VOQ/HMDE apresentaram-se mais baixos que os determinados por CG-DNP. Esses resultados mostraram que a metodologia eletroanalítica desenvolvida é sensível e precisa, e que HMDE pode ser empregado como sensor com elevada potencialidade para determinação de clorpirifós, permitindo a detecção de baixas concentrações deste inseticida. Diante dos resultados apresentados, é possível dizer que o HMDE pode ser usado com êxito em substituição ao CG-DNP, para determinação de resíduos de clórpifós em amostras de águas e de alimentos *in natura*, uma vez que apresentaram LD e LQ mais baixos que os obtidos por

CG-DNP e muito inferiores aos limites máximos de resíduos (LMR) recomendados pela ANVISA para amostras de alimentos ($50\text{-}100\ \mu\text{g L}^{-1}$)³⁹.

Tabela 3. 22: Parâmetros analíticos para quantificação de clorpirifós por CG-DNP e VOQ/HMDE.

Parâmetro	CG-DNP	VOQ/HMDE
Linearidade (mol L^{-1})	$1,426 \times 10^{-7}$ a $2,852 \times 10^{-6}$	$2,4938 \times 10^{-8}$ a $2,9130 \times 10^{-7}$
r	0,9987	0,9993
S_b	$4,487 \times 10^{-11}$ ua	$6,549 \times 10^{-11}$ (A)
S	0,155 (ua/mol L^{-1})	0,441 (A/mol L^{-1})
LD (mol L^{-1})	$8,86 \times 10^{-10}$ ($0,310\ \mu\text{g L}^{-1}$)	$4,43 \times 10^{-10}$ ($0,155\ \mu\text{g L}^{-1}$)
LQ (mol L^{-1})	$2,71 \times 10^{-9}$ ($0,950\ \mu\text{g L}^{-1}$)	$1,48 \times 10^{-9}$ ($0,518\ \mu\text{g L}^{-1}$)
Recuperação (%)	$99,97\% \pm 7,21$	$91,59 \pm 1,82$
Repetibilidade (%)	2,58 (n = 7)	1,27 (n = 10)
Precisão intermediária (%)	6,91 (n = 5)	4,03 (n = 5)

Para avaliação dos resultados obtidos por VOQ/HMDE, foi realizada uma comparação entre os resultados apresentados neste estudo e os reportados na literatura. Foram relacionados alguns trabalhos para determinação eletroanalítica de clorpirifós, sobre diferentes superfícies eletródicas, e são apresentados na Tabela 3.23, na qual estão apresentados os valores de LD, LQ e precisão intermediária dos trabalhos citados.

Realizando uma análise crítica entre os resultados obtidos no presente estudo, mostrados na Tabela 3.22, com os citados na literatura, exibidos na Tabela 3.23, é possível observar que os resultados obtidos neste trabalho foram bons. O valor de LD calculado está, em geral, abaixo dos referidos trabalhos, com exceção do trabalho desenvolvido por Viswanathan et al.⁸⁵, em que foi utilizado um biossensor de camadas auto-organizadas de nanotubos de carbono ligados a organonucleotídeos com terminação de tiol sobre ouro para imobilização da enzima AChE. Esse biossensor apresentou LD mais baixo do que o calculado neste trabalho utilizando HMDE; entretanto modificações com enzimas, embora melhorem a sensibilidade das análises, são trabalhosas, demoradas, apresentam custos elevados e ainda são instáveis.

Tabela 3. 23: Parâmetros analíticos obtidos para determinação eletroanalítica de clorpirifós usando diferentes superfícies eletródicas.

Superfície Eletródica	LD (mol L ⁻¹)	RSD(%)	Ref.
Eletrodo de gota suspensa de mercúrio	8,70x10 ⁻⁷ (305,00µg L ⁻¹)	4,7	82
Eletrodo de carbono vítreo modificado com etilenodioxítiofeno	8,27x10 ⁻¹⁰ (0,29 µg L ⁻¹)	2,6	153
Biossensor de DNA sobre polianilina-polivinil	1,43x10 ⁻⁹ (0,50 µg L ⁻¹)	-	71
Eletrodo impresso com camada da enzima acetilcolinesterase	5,70x10 ⁻⁹ (2,00 µg L ⁻¹)	4,7	84
Biossensor de nanotubos de carbono ligados a organonucleotídeos com terminação de tiol sobre ouro	1,00x10 ⁻¹² (0,0004 µg L ⁻¹)	-	85
Eletrodo de mercúrio de gota suspensa	4,43x10 ⁻¹⁰ (0,155 µg L ⁻¹)	4,0	nesse trabalho

Neste contexto o HMDE se destaca como uma opção, mais barata, mas rápida e com sensibilidade e precisão capaz de detectar baixos níveis de clorpirifós, podendo ser utilizado com sucesso na determinação deste inseticida, em diferentes tipos de amostras, como será mostrado posteriormente.

3.3.8. Aplicação da metodologia proposta para a determinação de clorpirifós em amostras reais

A metodologia desenvolvida neste trabalho foi aplicada em amostras de águas naturais e em amostras de laranjas.

Tomando estas amostras como referência, foi realizada uma busca pelos valores de LMR de resíduos de clorpirifós para as duas amostras em questão. De acordo com o Volume I do *Guidelines for Drinking-water Quality*¹⁵⁴, ficou estabelecido um LMR para este inseticida em água potável, de 30µg L⁻¹. Para alimentos, a ANVISA³⁹ já tem uma legislação estabelecida, cujo LMR para clorpirifós varia de 0,01 a 2,00 mg Kg⁻¹, dependendo da cultura. Especificamente, para a fruticultura de laranja, o limite máximo de resíduos permitido é de 2,00 mg Kg⁻¹.

Aplicação em Águas Naturais

As amostras de água utilizadas neste trabalho são de águas superficiais que foram coletadas na estação de bombeamento principal da Barragem Pedrinha, em Limoeiro do Norte - CE. Essas águas são empregadas para abastecimento das comunidades da região, bem como para irrigação do Perímetro Jaguaribe-Apodi. Essa região é uma das principais áreas de fruticultura irrigada do Ceará. Dentre os 37 pesticidas utilizados nessa região, 46% são inseticidas, sendo os organofosforados os mais aplicados¹⁴⁴.

Curvas analíticas em água natural

Utilizando as amostras de água da Barragem Pedrinha, curvas analíticas foram construídas, empregando os parâmetros otimizados para clorpirifós, em meio de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 2). As curvas analíticas para clorpirifós, utilizando água natural também foram construídas pelo método da adição de padrão, usando uma solução estoque de clorpirifós 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹, com adição de sucessivas alíquotas de 50 µL à célula eletroquímica, contendo 2 mL de água da Barragem Pedrinha e 18 mL de Tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 2), com 25% de etanol (v/v). Os voltamogramas de onda quadrada obtidos são exibidos na Figura 3.79.

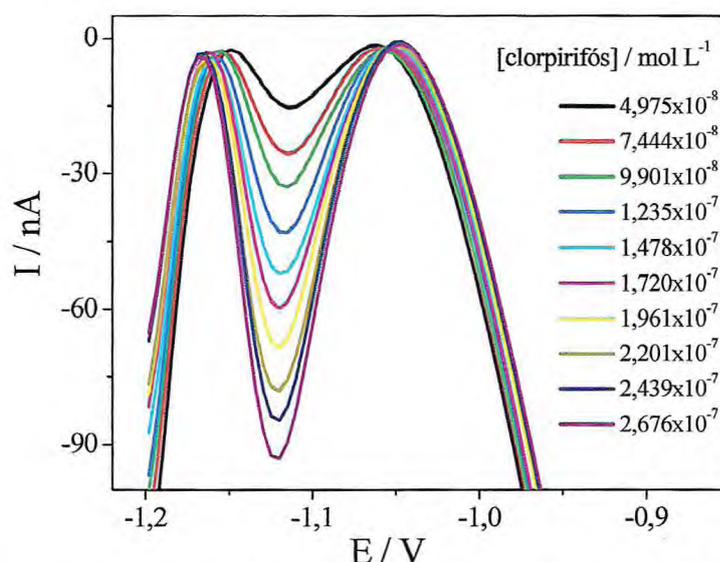


Figura 3. 79: Voltamogramas de onda quadrada de clorpirifós sobre HMDE, em meio de 2 mL de água natural + 18 mL de tampão BR (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v), com concentração variando de $4,975 \times 10^{-8}$ até $2,676 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. $f = 100$ s⁻¹, $a = 5$ mV, $\Delta E_s = 5$ mV, $E_{acu} = -0,4$ V, $t_{acu} = 60$ s.

Nesses ensaios, observou-se um aumento de corrente proporcional ao aumento de concentração em um intervalo de $4,975 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ a $2,676 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Analisando o potencial de pico, na 1ª adição observou-se $E_p = 1,115$ V, na 5ª adição, $E_p = 1,119$ V e na 10ª

adição, $E_p = 1,119$ V, não sendo, portanto, observadas variações significativas no valor do potencial de pico. Para valores de concentrações maiores que $2,676 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ foi observada perda de linearidade.

A Figura 3.80 mostra a curva analítica para a água da Barragem Pedrinha.

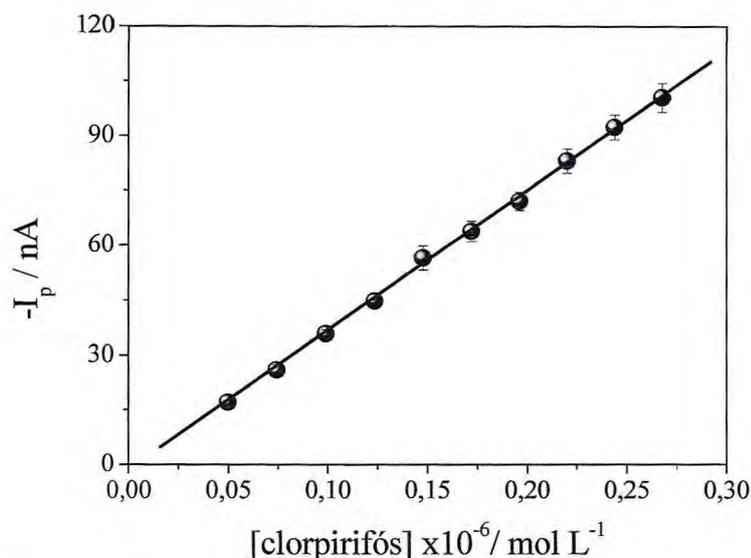


Figura 3. 80: Curva analítica obtida a partir dos valores médios de I_p vs. [clorpirifós], com suas respectivas barras de desvio padrão ($n = 3$), em meio de 2 mL de água natural + 18 mL de Tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v). $f = 100$ s⁻¹, $a = 25$ mV, $\Delta E_s = 5$ mV, $E_{acu} = -0,4$ V, $t_{acu} = 60$ s. $I_p = 2,006 \times 10^{-9} A + 0,380$ [clorpirifós], $r = 0,9997$.

Comparando os resultados entre as curvas analíticas construídas em eletrólito de suporte e em água natural, observou-se uma pequena perda de sensibilidade, caracterizada pelos valores dos diferentes coeficientes angulares das duas retas, apresentadas nas equações 3.10 e 3.11. Essa perda de sensibilidade pode está associada à presença de constituintes orgânicos e/ou inorgânicos existentes nas águas superficiais, que podem atuar como interferentes.

$$I_p(A) = 2,058 \times 10^{-9} (A) + 0,441 \text{ [clorpirifós]} - \text{eletrólito de suporte} \quad \text{Equação 3.10}$$

$$I_p(A) = 2,006 \times 10^{-9} (A) + 0,380 \text{ [clorpirifós]} - \text{água natural} \quad \text{Equação 3.11}$$

A equação 3.10 apresentou um coeficiente de correlação de 0,9993, e a equação 3.11, $r = 0,9997$. Uma representação gráfica destas equações é apresentada na Figura 3.81. Uma sensibilidade maior para curva analítica realizada em eletrólito de suporte preparado com água purificada (Milli-Q) é esperado, visto a ausência total de outros constituintes, que poderiam atuar como possíveis interferentes.

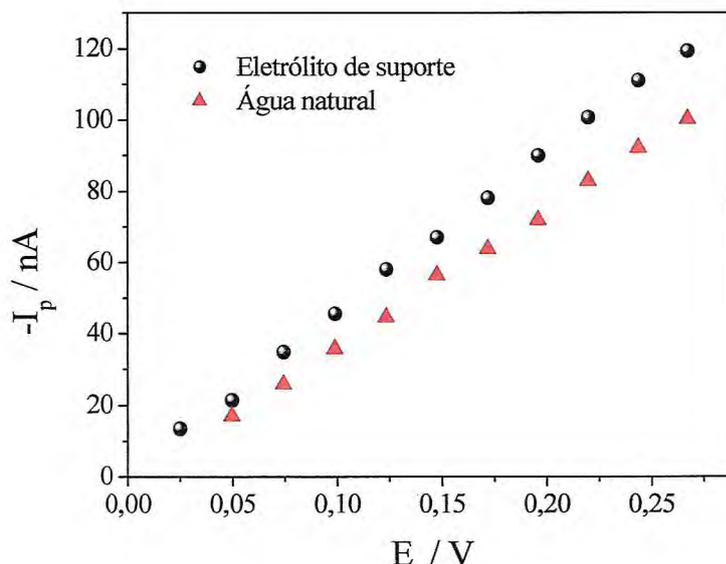


Figura 3. 81: Curvas analíticas para clorpirifós sobre HMDE, em eletrólito de suporte e em água natural (2 mL água da Barragem Pedrinha + 18 mL Tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 2) contendo 25% de etanol), nas condições otimizadas.

As duas retas não são perfeitamente paralelas, apresentando valores de coeficientes angulares distintos, com uma diferença de 13,8%, mastrando que o efeito de matriz nessa amostra não foi significativo. Entretanto, como há interferência de matriz, o método aplicado na quantificação da amostra foi o método da adição de padrão.

Curvas de recuperação em água natural

Foram construídas curvas de recuperação, a fim de se avaliar o efeito de interferência de possíveis componentes nas amostras de água da Barragem Pedrinha, na metodologia proposta. Esses resultados são apresentados na Figura 3.82.

Essas curvas foram construídas em condições semelhantes à da curva de recuperação em eletrólito de suporte descrita no item 3.3.7. A concentração adicionada foi de $9,901 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, referente ao terceiro ponto da curva analítica em água natural, ressaltando a diferença da adição de 2 mL da água da Barragem Pedrinha e 18 mL de Tampão BR (pH 2) em 25% de etanol (v/v). Calculou-se uma concentração recuperada média de $9,096 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e o cálculo do fator de recuperação médio foi de 91,87% e RSD de 3,83%.

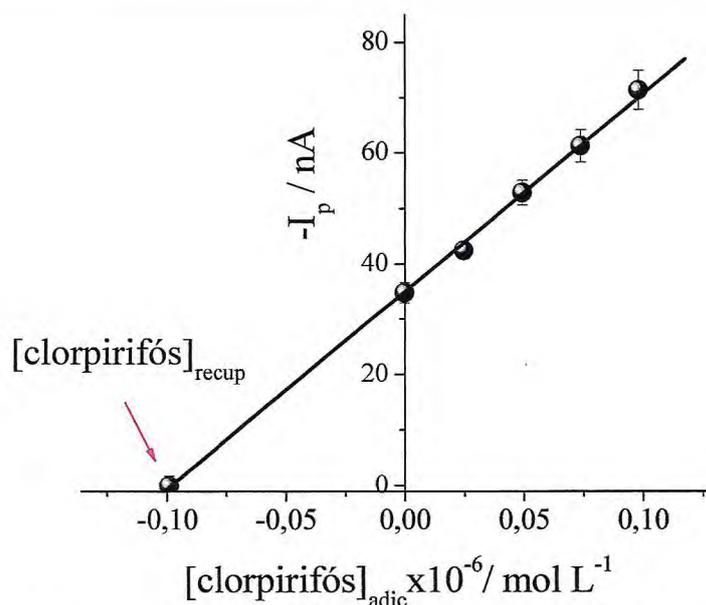


Figura 3. 82: Curva de recuperação para clorpirifós sobre HMDE, obtida a partir dos valores médios I_p vs. $[\text{clorpirifós}]$, com suas respectivas barras de desvio padrão ($n = 3$), com $r = 0,9997$, em meio de 2 mL de água natural + 18 mL de Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), contendo 25% de etanol (v/v). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\alpha = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{acu} = -0,4 \text{ V}$, $t_{acu} = 60 \text{ s}$.

Os resultados de recuperação para água da Barragem Pedrinha foram bastante satisfatórios, mostrando que o método proposto não sofreu interferência de possíveis constituintes orgânicos e/ou inorgânicos presentes nessa água, uma vez que a concentração adicionada foi, praticamente, toda recuperada. Pelos resultados obtidos, a metodologia desenvolvida pode ser empregada com sucesso na determinação de clorpirifós em amostras de águas superficiais, sem a utilização de nenhuma etapa de pré-tratamento, apresentando sensibilidade, eficiência, precisão e rapidez na determinação deste inseticida, neste tipo de amostras.

Aplicação em laranja

A região do Baixo Jaguaribe desde cedo assumiu papel de grande importância na história da formação do Estado do Ceará, tanto pela facilidade de acesso aos sertões da antiga província, como pela possibilidade de instalação de população, dada a fertilidade elevada do solo aluvial e a presença abundante de água em boa parte de seu perímetro¹⁵⁵.

Historicamente, a fruticultura de laranja foi uma das primeiras a nascer na região do Jaguaribe. Na década de 50, substituiu os canaviais. Isso foi possível pelo uso de cataventos empregados na irrigação de culturas, tais como a de laranja, de limão e de banana¹⁵⁵. Estudos realizados pelo Banco do Nordeste do Brasil (BNB)¹⁵⁶ cita a fruticultura de laranja como uma

das bases produtivas desse pólo. Por esses motivos, este fruto foi selecionado para aplicação do método proposto neste trabalho.

A metodologia proposta tem se apresentado eficiente e robusta, permitindo a utilização de amostras complexas sem nenhum pré-tratamento, com uma ótima precisão intermediária, como foi visualizada nas análises de água da Barragem de Pedrinha. De maneira similar, as amostras de laranja também foram utilizadas sem nenhuma etapa de pré-tratamento. Assim, uma quantidade específica do suco de uma laranja foi contaminada artificialmente, como já descrito no item 2.5.1.3.2., originando clorpirifós $9,680 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Na célula eletroquímica contendo Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) em 25% de etanol (v/v), foi adicionado uma alíquota de suco de laranja contaminado artificialmente, resultando em clorpirifós $7,980 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Adicionalmente, foram realizadas sucessivas adições de $50 \mu\text{L}$ de Clorpirifós $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com concentração variando de $2,492 \times 10^{-8}$ a $9,893 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e, na seqüência, foram construídas curvas de recuperação.

Os resultados foram avaliados por parâmetros estatísticos e foi calculada uma concentração média recuperada de $6,185 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, com uma taxa de recuperação média igual a 77,51%, e RSD 3,99%. Esse valor de recuperação está dentro dos limites de confiança aceitável para metodologias analíticas, comprovando assim, a eficiência do método proposto.

Comparação entre os resultados obtidos em eletrólito de suporte e em amostras complexas

Adicionalmente, foi realizada uma comparação entre os resultados obtidos para determinação eletroanalítica de clorpirifós em eletrólito de suporte, água natural e suco de laranja, como apresentado na Tabela 3.24.

Tabela 3. 24: Resultados obtidos a partir de curvas de recuperação de clorpirifós sobre HMDE, em eletrólito de suporte, água natural e laranja, nas condições otimizadas.

Amostras	[clorpirifós] _{adic} (mol L ⁻¹)	[clorpirifós] _{recup} (mol L ⁻¹)	Recuperação (%) / RDB
Tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2)	$7,444 \times 10^{-8}$	$6,816 \times 10^{-8}$	$91,56 \pm 1,82$
Água da Barragem Pedrinha	$9,901 \times 10^{-8}$	$9,096 \times 10^{-8}$	$91,87 \pm 3,83$
Suco de laranja	$7,980 \times 10^{-8}$	$6,185 \times 10^{-8}$	$77,51 \pm 3,99$

Analisando os resultados apresentados na Tabela 3.25, observa-se que os valores de recuperação para eletrólito de suporte e para água da Barragem Pedrinha foram bem semelhantes, indicando que a metodologia desenvolvida apresentou-se eficiente em relação à presença de possíveis interferentes.

Adicionalmente, comparando os valores de recuperação determinadas em eletrólito de suporte e em suco de laranja, observou-se uma pequena perda da concentração recuperada para essa última e, conseqüentemente, foi obtida uma menor taxa de recuperação. Nesse caso, provavelmente houve interferência de substâncias contidas nessa fruta, tais como ácido cítrico, ácido ascórbico etc., que podem ter interagido com o analito resultando em uma perda de eficiência. Entretanto, o fator de recuperação encontrado para essa amostra (77,51%) está dentro dos níveis de confiança estabelecidos para metodologias analíticas (70,00 - 130,00 %¹⁰⁴).

Desta forma, diante dos resultados apresentados, é possível dizer que o HMDE, aliado à técnica de VOQ, é um excelente sensor eletroquímico para determinação de clorpirifós em amostras complexas, podendo ser usado com sucesso na substituição de ensaios cromatográficos.

4. CONCLUSÕES

No desenvolvimento deste trabalho, foram desenvolvidas metodologias eletroanalíticas utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada como ferramenta, para determinação de três pesticidas: diquat, paraquat e clorpirifós, utilizando diferentes superfícies eletródicas. Em todas as metodologias desenvolvidas foram determinados baixos limites de detecção, LD (0,04 a 9,98 $\mu\text{g L}^{-1}$) e de quantificação, LQ (0,13 a 33,3 $\mu\text{g L}^{-1}$), bem como taxas de recuperação satisfatórias, com valores entre 88,00 - 99,00%, repetibilidade e precisão intermediária com RSD menor que 5,00%, mostrando sensibilidade que, os procedimentos desenvolvidos, apresentaram sensibilidade, eficiência e precisão, independente da superfície eletródica utilizada.

Os valores de LD e LQ determinados ficaram sempre muito inferiores ao limites máximos de resíduos (LMR) para amostras de águas potável, estabelecido pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (20,00 $\mu\text{g L}^{-1}$) e para amostras de alimentos, recomendados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (50,00 - 100,00 $\mu\text{g L}^{-1}$), tornando viável a utilização de tais métodos para quantificação desses pesticidas em amostras de águas naturais e de alimentos.

As metodologias propostas foram comparadas com métodos cromatográficos, e, os parâmetros analíticos de validação estabelecidos por VOQ (LD, LQ, recuperação, repetibilidade e precisão intermediária) apresentam resultados melhores que os obtidos por cromatografia, mostrando que a VOQ apresentou maior sensibilidade, eficiência e precisão.

Assim, pelos resultados obtidos nos parâmetros analíticos de validação (Figuras de Mérito), é possível dizer que as metodologias desenvolvidas para *diquat sobre AgSAE* e *EDDB*, *paraquat sobre EDDB* e *clorpirifós sobre HMDE*, podem ser usadas com êxito como alternativa aos métodos cromatográficos (CLAE-UV e CG-DNP) para determinação de resíduos destes pesticidas em amostras de águas e de alimentos *in natura*, uma vez que os métodos propostos apresentaram LD e LQ mais baixos que os obtidos por cromatografia.

Na determinação de diquat, foram utilizadas duas diferentes superfícies eletródicas. A metodologia desenvolvida para diquat sobre AgSAE foi aplicada em amostras de batata e em água de rio, e foi obtido valores de recuperação satisfatórios (80,00 a 115,00% respectivamente). Para diquat sobre EDDB, o método foi aplicado em amostras de sucos cítricos (tangerina, limão, laranja, abacaxi), amostras de batata e de caldo de cana. As taxas de

recuperação variaram entre 74,20 a 109,80%, valores dentro dos padrões aceitáveis para metodologias analíticas (70,00 – 130%).

No método proposto para determinação de paraquat foi utilizado o EDDB como superfície eletródica. A metodologia foi aplicada em água de coco e em suco de acerola, com recuperação de 96,00 e 92,00%, respectivamente.

Clorpirifós é um inseticida que não responde eletroquimicamente sobre a maioria das superfícies eletródicas, assim, sua determinação só foi possível com o uso do HMDE. A metodologia desenvolvida foi aplicada em amostras de águas superficiais e em suco de laranja, obtendo-se bons fatores de recuperação (92,00 e 77,50% respectivamente).

Dentre as três superfícies eletródicas utilizadas, o EDDB merece um destaque especial. O uso de EDDB aliado à VOQ permitiu a determinação de resíduos de diquat e de paraquat com sensibilidade melhor do que aquela observada utilizando outras superfícies eletródicas ou metodologias cromatográficas. Todos os resultados obtidos demonstram que o uso de EDDB promoveu diminuição considerável no processo de adsorção de reagentes e/ou produtos na superfície do eletrodo, confirmando a interessante característica dos eletrodos de diamante de redução do processo de adsorção superficial.

A ausência de etapas de pré-tratamento ou de extração das amostras de água e de alimentos *in natura*, utilizados na aplicação das metodologias desenvolvidas, mostrou que estas podem ser empregadas com sucesso e rapidez na determinação de baixas concentrações desses pesticidas, com sensibilidade, exatidão, precisão e robustez, adequados com os parâmetros analíticos recomendados pelos órgãos governamentais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A.; *Introdução à Química Ambiental*, Artmed Editora S.A. Porto Alegre, 2004.
- 2.UNNEVER, J.; PINGALI, P. L.; ZILBERMAND, D.; *Food Policy*, 22, 1997, 105-108.
- 3.Organização Pan-Americana da Saúde Representação no Brasil, *Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos*, Brasília 1997.
- 4.Ministério da Saúde, Centro Nacional de Epidemiologia, *Guia de Vigilância em Epidemiologia*, 4ª edição, Brasília 1998.
- 5.Ministério da Saúde /Secretaria de Vigilância à Saúde. Acesso: 11/05/2010. Disponível em: portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/plano_agrotoxico.pdf.
- 6.Ministério da Agricultura , Pecuária e Abastecimento. Acesso 11/05/2010. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/portal/page?_pageid=33,968707&_dad=portal&_schema=PORTAL.
- 7.Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Acesso em 09/07/2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/imprensa>.
- 8.Ministério da Saúde. Acesso em 11/05/2010. Disponível em: portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/plano_agrotoxico.pdf.
- 9.Tese Saúde Pública, Fundação Osvaldo Cruz. Acesso, 11/05/2010. Disponível em:http://portaldeses.iciet.fiocruz.br/transf.php?script=thes_chap&id=00000902&lng=pt&nrm=iso.
- 10.LEVIGARD, Y. E.; ROZEMBERG, B., *Cadernos de Saúde Pública*, 20, 2004, 1515-1524.
- 11.VIANA, K.; Ceará ocupa o 2º lugar no ranking nacional de exportação de frutas. *Diário do Nordeste*, Fortaleza – CE, 02 junho 2010. Regional. Acesso: 03/09/2010. Disponível em: <http://diariodonordeste.globo.com/materia.asp?codigo=794393>.
- 12.Secretaria de Agricultura e Pecuária do Ceará (SEAGRI). *Fruticultura Irrigada, Grande Potencial do Ceará*. Acesso: 10/07/2010. Disponível em: http://www.seagri.ce.gov.br/siga/fruticultura_irrigada_gde_potencial_ceara.pdf.
- 13.MELQUÍADES, J.; Água da Chapada do Apodi está poluída. *Diário do Nordeste*, Fortaleza-CE, 13 de maio de 2010. Cidade. Acesso:03/09/2010. Disponível em: <http://diariodonordeste.globo.com/materia.asp?codigo=784601>.
- 14.MELQUÍADES, J.; Aplicação aérea pode ser proibida no Ceará. *Diário do Nordeste*, Fortaleza-CE, 11 de setembro de 2010. Regional. Acesso:12/09/2010. Disponível em: <http://diariodonordeste.globo.com/materia.asp?codigo=848826>.
- 15.ANVISA- Agrotóxicos e Toxicologia – PARA. Acesso: 11/05/2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/agrotoxicotoxicologia?cat=Programa+de+Analise+de+Residuos+de+Agrotoxicos+em+Alimentos>.

16. COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.; *Introdução a Métodos Cromatográficos*, 7ª Edição, Editora da Unicamp. Campinas 1997.
17. SKOOG, A. D.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A.; *Princípios de Análise Instrumental*, 5ª. ed.; Editora Bookman. Porto Alegre 2002.
18. PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L.; AVACA, L. A.; *Journal of Brazilian Chemical Society*, 14, 2003, 530-535.
19. RIBEIRO, F. W. P.; CARDOSO, A. S.; PORTELA, R. R.; LIMA, J. E. S.; MACHADO, S. A. S.; LIMA-NETO, P.; DE SOUZA, D.; CORREIA, A. N.; *Electroanalysis*, 20, 2008, 2031-3057.
20. CODOGNOTO, L.; ZUIN, V. G.; DE SOUZA, D.; YARIWAKE, J. H.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A.; *Microchemical Journal*, 77, 2004, 177-181.
21. DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; *Analytica Chimica Acta*, 546, 2005, 85-91.
22. CODOGNOTO, L.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A.; *Diamond and Related Materials*, 11, 2002, 1670.
23. MELO, L. C.; SALAZAR-BANDA, G. C.; MACHADO, S. A. S.; LIMA-NETO, P.; DE SOUZA, D.; CORREIA, A. N.; *Talanta*, 79, 2009, 1216.
24. DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A.; *Química Nova*, 26, 2003, 81-89.
25. OSTERYOUNG, J.; O'DEA, J. J.; Square-wave voltammetry. In: BARD, A. J. *Electroanalytical Chemistry*. New York: Marcel Dekker, 14, 1982, 209-308.
26. DE SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGYTT, R. A.; TOLEDO, R. A.; PEDROSA, W. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S.; *Química Nova*, 27, 2004, 790-797.
27. GARRIDO, E. M.; DELERUE-MATOS, C.; LIMA, J. L. F. C.; BRETT, A. M. O.; *Analytical Letters*, 37, 2004, 1755-1791.
28. GALLI, A.; DE SOUZA, D.; GARBELINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S.; *Química Nova*, 29, 2006, 105-112.
29. D. DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; *Electroanalysis*, 18, 2006, 862 - 872.
30. HALFON E.; GALASSI, S.; BROGGEMANN, E.; PROVINI, A.; *Chemosphere*, 33, 1996, 1543-1562.
31. EL MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; CHTAINI, A.; *Journal of Hazardous Materials*, 145, 2007, 1-7.
32. Universidade Estadual de Maringá – Acesso: 26/07/2010. Disponível em: http://www.dag.uem.br/napd/up/material_192978_yWZG4fjyiWSR.pdf.
33. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Acesso: 19/07/2010. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do58.pdf.

- 34.SCHMITT, G. C.; PANIZ, C.; GROTO, D.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K. L.; POMBLUM, V. J.; GARCIA, S. C.; *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 42, 2006, 235-243.
- 35.SERRA, A.; DOMINGOS, F.; PRATA, M. M.; *Acta Médica Portuguesa*, 16, 2003; 25-32.
- 36.PINHEIRO, I.; *Intoxicação por Paraquat*, revisão bibliográfica 2002. Acesso: 2/07/2010. Disponível em: http://www.spmi.pt/revista/vol09/v09_n4_Intoxicacao_por_Paraquat.pdf.
- 37.ALMEIDA, R. M.; *Desenvolvimento e aplicação das análises toxicológicas no diagnóstico e prognóstico da intoxicação aguda por Paraquat e Diquat*, Dissertação de Mestrado, USP, SP, 2007.
38. SUNTRES, Z. E.; *Toxicology*, 180, 2002, 65-77.
- 39.Agência de Vigilância Sanitária - ANVISA – Acesso: 10/07/2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/agrotoxicotoxicologia>.
- 40.WALCARIUS, A.; LAMBERTS, L.; *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 406, 1996, 59-68.
- 41.DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; *Química Nova*, 26, 2003, 644-647.
- 42.MONK, P. M. S.; TURNER, C.; AKHTAR, S. P.; *Electrochimica Acta*, 44, 1999, 4817-4826.
- 43.XIAO, L.; WILDGOOSE, G. G.; COMPTON, R. G.; *New Journal Chemistry*, 2008, 32, 1628–1633.
- 44.SYNGENTA - BRASIL. Acesso 04/08/2010. Disponível em: <http://www.syntinela.com.br/website/sobre-a-syngenta/historia/linha-do-tempo/>.
- 45.SYNGENTA AGRO S. A. - ESPANHA. Acesso: 05/08/2010 Disponível em: <http://www.syngentaagro.es/es/productos/producto.aspx?id=80>.
- 46.LU, T. H.; SUN, I W.; *Electroanalysis*,12, 2000, 605-609.
- 47.PRASAD, B.B.; ARORA, B.; *Electroanalysis*,15, 2003,108-115.
- 48.EL MHAMMEDIA, M. A.; BAKASSE, M.; CHTAINI, A.; *Materials Chemistry and Physics*, 109, 2008, 519–525.
- 49.EL MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; NAJIH, R.; CHTAINI, A.; *Applied Clay Science*, 43, 2009, 130-134.
- 50.FUKE, C.; ARAOA, T.; MORINAGA, Y.; TAKAESUA, H.; AMENOB, K.; MIYAZAKI, T.; *Legal Medicine*, 4, 2002,156-163.
- 51.VIDAL; J. L. M.; VEGA, A. B.; LÓPEZ, F. J. S.; FRENICH, A. G.; *Journal of Chromatography A*, 1050, 2004, 179-184.
- 52.ITO, M.; HORI,Y.; FUJISAWA, M.; ODA, A.; KATSUYAMA, S.; HIROSE, Y.; YOSHIOKA, T.; *Biological Pharmaceutical Bullentin*, 28, 2005, 725-728.

53. ARAMENDÍA, A. M.; BORAU, V.; LAFONT, F.; MARINAS, A.; MARINAS, J. M.; MORENO, J. M.; PORRAS, M. J.; URBANO, F. J.; *Food Chemistry*, 97, 2006, 181-188.
54. WHITEHEAD-JR.; R. D.; MONTESANO, M. A.; JAYATILAKA, N. K.; BUCKLEY, B.; WINNIK, B.; NEEDHAMA, L. L.; BARR, D. B.; *Journal of Chromatography B*, 878, 2010, 2548-2553.
55. FLORENCIO, M. H.; CASTRO, E. P. A. L.; NUNES, M. R.; BORGES, C.; COSTA, F. M.; *Chemosphere*, 55, 2004, 345-355.
56. ALMEIDA, G. L.; SCHMITT, G. C.; BAIRROS, A. V.; EMANUELLI, T.; GARCIA, S. C.; *Ciência Rural*, 37, 2007, 1506-1512.
57. LU, T. H.; SUN, I. W.; *Talanta*, 53, 2000, 443-451.
58. DE SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A.; *Analytical Letters*, 38, 2005, 331-341.
59. DE SOUZA, D.; SILVA, M. R. C.; MACHADO, S. A. S.; *Electroanalysis* 18, 23, 2006, 2305-2313.
60. DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; PIRES, R. C.; *Talanta*, 69, 2006, 1200-1207.
61. LOPES, C. I.; DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; TANAKA, A. A.; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, 2007, 1907-1914.
62. EL MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; BACHIRAT, R.; CHTAINI, A.; *Food Chemistry*, 110, 2008, 1001-1006.
63. EL MHAMMEDI, M. A.; ACHAK, M.; BAKASSE, M.; BACHIRAT, R.; CHTAINI, A.; *Materials Science and Engineering C*, 30, 2010, 833-838.
64. FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; SANTOS, V. B.; JANEGITZ, B. C.; GUERREIRO, T. B.; FATIBELLO-FILHO, O.; FARIA, R. C.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; *Electroanalysis*, 22, 2010, 1260-1266.
65. CASTRO, R.; MOYANO, E.; GALCERAN, M. T.; *Journal of Chromatography A*, 914, 2001, 111-121.
66. PAIXÃO, P.; COSTAC, P.; BUGALHOC, T.; FIDALGOC, C.; PEREIRA, L. M.; *Journal of Chromatography B*, 775, 2002, 109-113.
67. BRUNETTO, M. R.; MORALES, A. R.; GALLIGNANI, A. M.; BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M.; *Talanta*, 59, 2003, 913-921.
68. POSECIÓN, N. C.; OSTREA, E. M.; BIELAWSKI, M. D.; *Journal of Chromatography B*, 862, 2008, 93-99.
69. CANTAVENERA, M. J.; CATANZARO, I. LODDO, V. PALMISANO, L.; SCIANDRELLO, G.; *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 185, 2007, 277-282.
70. PENA, M. F.; AMARAL, E. H.; SPERLING, E. V.; CEUZ, I.; *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, 13, 2003, 37-44.

71. PRABHAKAR, N.; SUMANA, G.; ARORA, K.; SINGH, H.; MALHOTRA, B. D.; *Electrochimica Acta*, 53, 2008, 4344-4350.
72. SIMON, D.; HELLIWELL, S.; ROBARDS, K.; *Analytica Chimica Acta*, 360, 1998, 1-16.
73. TIMCHALK, C.; CAMPBELL, J. A.; LIU, G.; LIN, Y.; KOUSBA, A. A.; *Toxicology and Applied Pharmacology*, 219, 2007, 217-225.
74. Núcleo de tecnologia para a saúde. Acesso: 26/07/2010. Disponível em: <http://ltc.nutes.ufrj.br/toxicologia/mXII.orga.htm>.
75. KIM, T. H.; KUCA, A. K.; JUNB, B. D.; JUNG, Y. S.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15, 2005, 2914-2917.
76. MORI, M. N.; OIKAWA, H.; SAMPA, M.H.O.; DUARTE, C. L.; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENERGIA NUCLEAR – ABEN, *International Nuclear Atlantic Conference – INAC*, Santos, SP, Brazil, August 28 to September 2, 2005.
77. ROCHA JÚNIOR, D. S.; BOTELHO, J. O. B.; FIOL, F. S. D.; OSHIMA-FRANCO, Y.; *Saúde em Revista*, 6, 14, 2004, 53-60.
78. CALDAS, L. Q. A.; *Intoxicações Exógenas Agudas por Carbamatos, Organofosforados, Compostos Bipiridílicos e Piretróides*, Centro de Controle de Intoxicações de Niterói - Niterói, RJ. versão 2000.
79. CAVALIERE, M. J.; CALORE, E. E.; PEREZ, N. M.; PUGA, F. R.; *Revista Saúde Pública*, 30, 3, 1996, 267-272.
80. CÔRTEZ-SALVIO, V. S. M.; BABINSKI, M. A.; C.LOAYZA, E. A.; *Acta Scientiae Medica On line*, 2, 1, 2009, 22-28.
81. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. Acesso: 01/08/2010. Disponível: http://www.seab.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/LORSBAN_480_BR.pdf.
82. AL-MEQBALI, A. S. R.; EL-SHAHAWI, M. S.; KAMAL, M. M. *Electroanalysis*, 10, 1998, 784-786.
83. MANISANKAR, P.; VISWANATHAN, S.; PUSPHALATHA, A. M.; RANI, C.; *Analytica Chimica Acta*, 528, 2005, 157-163.
84. HILDEBRANDT, A.; BRAGÓS, R.; LACORTE, S.; MARTY, J. L.; *Sensors and Actuators B*, 133, 2008, 195-201.
85. VISWANATHAN, S.; RADECKA, H.; RADECKI, J.; *Biosensors and Bioelectronics*, 24, 2009, 2772-2777.
86. GUARDINO, X.; OBIOLS, J.; ROSELL, M. G.; FARRAN, A.; SERRA, C.; *Journal of Chromatography A*, 823, 1998, 91-96.
87. ABU-QARE, A. Q.; ABOU-DONIA, M. B.; *Journal of Chromatography B*, 754, 2001, 533-538.

- 88.SALM, P.; TAYLOR, P. J.; DARREN ROBERTS, D.; SILVA, J.; *Journal of Chromatography B*, 877, 2009, 568-574.
- 89.SAMET, Y.; AGENGUI, L.; ABDELHÉDI, R.; *Chemical Engineering Journal*, 161, 2010, 167-172.
- 90.SAMET, Y.; AGENGUI, L.; ABDELHÉDI, R.; *Journal of Electroanalytical Chemistry*, DOI: 10.1016/j.jelechem.2010.08.008.
- 91.METROHM PENSALAB, Produtos - contra eletrodo de carbono vítreo. Disponível em: <http://products.metrohm.com/getAttachment.axd?attaName=800a398f-817d-4e30-81c2-3a1020fa9c79>.
- 92.MIKKELSEN, Ø.; SCHRÓDER, K. H.; *Electroanalysis*, 15, 2003, 679-687.
- 93.YOSYPCHUK, B.; NOVAT, L.; *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 32, 2, 2002, 141-151.
- 94.FERREIRA, N. G.; SILVA, L. L. G.; CORAT, E. J.; TRAVA-AIROLDI, V. J.; *Diamond and Related Materials*, 11, 2002, 1523.
- 95.MEDEIROS, R. A.; *Determinação voltamétrica de Aspartame e Ciclamato de Sódio em produtos dietéticos empregando um eletrodo de diamante dobrado com boro*. Dissertação Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, SP – 2007.
- 96.HUPERT, M.; MUCK, A.; WANG, J.; STOTTER, J.; CVACCKOVA, Z.; HAYMOND, S.; SWOW, Y.; SWAIN, G. M.; *Diamond and Related Materials*, 12, 2003, 1940-1945.
- 97.LIMA-NETO, P.; CORREIA, A. N.; PORTELA, R. R.; JULIÃO, M. S.; LINHARES-JUNIOR, G. F.; LIMA, J. E. S.; *Talanta*, 80, 2010, 1730-1736.
- 98.RIBEIRO, F. W. P.; CARDOSO, A. S.; PORTELA, R. R.; LIMA, J. E. S.; MACHADO, S. A. S.; LIMA-NETO, P.; DE SOUZA, D.; CORREIA, A. N.; *Electroanalysis*, 20, 2008, 2031-2039.
- 99.SUFFREDINI, H. B.; PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L.; MACHADO, S. A. S.; ROCHA-FILHO, R.; AVACA, L. A.; *Electrochimica Acta*, 49, 2004, 4021-4026.
- 100.MIRCESKI, V.; KOMORSKY-LOVRIC, S.; LOVRIC, M.; *Square-Wave Voltammetry-Theory and Application*. Republic Macedonia: Springer, 2007.
- 101.MOCAK, J.; BOND, A. M. MITCHELL, S.; SCOLLARY, G.; *Pure and Applied Chemistry*, 69, 1997, 297-328.
- 102.BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L.; *Pesticidas: R. Ecotoxicologica e Meio Ambiente*, 13, 2003, 129-146.
- 103.HARRIS, D. C.; *Análise química Quantitativa*, 6a. ed., Livro Técnico e Científico Editora S. A., Rio de Janeiro 2005.
- 104.LEITE, F.; *Validação em Análise Química*. 3a. ed., Editora Átomo, Campinas 1998.
- 105.CHICHILA, T. M.; WALTERS, S. M.; *Journal Association Official Analytical Chemistry*, 74, 1991, 961-967.

106. NAGAYAMA, T.; MAKI, T.; KAN, K.; IIDA, M.; T. NISHIMA; *Journal of Association Official Analytical Chemistry*, 70, 1987, 1008-1011.
107. IBÁÑEZ, M.; PICÓ, M.; MANES, J.; *Journal of Chromatography A*, 727, 1996, 245-252.
108. MUNCH, J. W.; *Method 507 Determination of Nitrogen - and Phosphorus-Containing Pesticides in Water by Gas Chromatography with a Nitrogen-Phosphorus Detector*, Revision 2.1, 1995, 01-31. Acesso: 10/07/2010, Disponível em: <http://www.caslab.com/EPA-Methods/PDF/507.pdf>.
109. FADRŃÁ, R.; *Analytical Letters*, 37, 2005, 3255-3270.
110. DE SOUZA, D.; TOLEDO, R. A.; MAZO, L. H.; MACHADO, S. A. S.; *Electroanalysis*, 17, 2005, 2090-2094.
111. FADRŃÁ, R. YOSYPCHUK, B.; FOJTA, M.; NAVRÁTIL, T.; NOVOTNY, L.; *Analytical Letters*, 37, 2004, 399-413.
112. DE SOUZA, D.; DE TOLEDO, R. A.; GALLI, A.; SALAZAR-BANDA, G. R.; SILVA, M. R. C.; GARBELLINI, G. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S.; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 2007, 2245-2253.
113. DE SOUZA, D.; DE TOLEDO, R. A.; SUFFREDINE, H. B.; MAZO, L. H.; MACHADO, S. A.; *Electroanalysis*, 18, 2006, 605-612.
114. LOVRIC, M.; KOMORSKY-LOVRIC, S.; *Journal of Electroanalytical Chemistry* 248, 1988, 239-244.
115. DE SOUZA, D.; *Utilização de Ultramicroeletrodos na Quantificação dos Pesticidas Paraquat e Diclorvos por Voltametria de Onda Quadrada*. São Carlos 2004, Tese (Doutorado) USP.
116. NUWER, M. J.; O'DEA, J. J.; OSTERYOUNG, J.; *Analytica Chimica Acta*, 251, 1991, 13-25.
117. DE SOUZA, D.; *Estudos Mecanísticos da Redução do Herbicida Picloram por Voltametria de Onda Quadrada*. São Carlos 2000, Dissertação (Mestrado) USP.
118. GOOSSER JR, K. C.; *Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms*, VCH Publisher, New York, 1994.
119. BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. *Eletroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*. Coimbra: Almedina; 1996.
120. DANTA, A. N. S.; *Estudos Eletroanalíticos e Mecanísticos de Cetoconazol utilizando Eletrodo Sólido de Amálgama de Prata (p-AgSAE)*. Fortaleza 2010, Dissertação (Mestrado) UFC.
121. RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C.; *Química Nova*, 27, 2004, 771-776.
122. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). *Orientação sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos*. DOQ-CGCRE-008, 2003.

123. ANVISA - RESOLUÇÃO-RE Nº 899, de 29 de Maio de 2003, Acesso: 07/03/2010
Disponível em: <http://www.asfconsultoria.com.br/normas/ANVISA5.pdf>.
124. Agência de Proteção Ambiental. Acesso em: 08/03/2010. Disponível em:
<http://www.epa.gov/pesticides/regulating/tolerances.htm>.
125. Agência de Proteção Ambiental. Acesso em: 11/07/2010. Disponível em:
<http://www.epa.gov/safewater/pdfs/factsheets/soc/diquat.pdf>.
126. NÚÑEZ, O.; MOYANO, E.; GALCERAN, M. T.; *Analytica Chimica Acta*, 525, 2004, 183-189.
127. FUNASA – Portaria No. 1.469. Acesso em 10/04/2010. Disponível em:
http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/portaria_1469.pdf.
128. Ministério da Saúde- Portaria MS No. 518/2004. Acesso em 10/04/2010. Disponível em:
http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_518_2004.pdf.
129. EMBRAPA- Documentos - 42. Acesso em 12/04/2010. Disponível em:
http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos_42.pdf.
130. NEUDECK, A.; MARKEN, F.; COMPTON, R. G.; *Electroanalysis*, 11, 1999, 1149-1155.
131. GIRARD, H.; SIMON, N.; BALLUTAUD, D.; HERLEM, M.; ETCHEBERRY, A.; *Diamond & Materials*, 16, 2007, 316-325.
132. FUGISHIMA, A.; EINAGE, A.; RAO, T. N., TRYK, D. A.; *Diamond Electrochemistry*, Elsevier BKC, Amsterdam, 2005.
133. O'DEA, J. J.; RIBES, A.; OSTERYOUNG, J. G.; *Journal Electroanalytical Chemistry*, 345, 1993, 287-301.
134. BARD, A. J.; FAULKNER, L. R.; *Electrochemical Methods Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, New York, 2001.
135. BAGOTSKY, V. S.; *Fundamentals of Electrochemistry*, Second Edition, Wiley-Interscience, New Jersey, 2006.
136. PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A.; *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 573, 2004, 11-18.
137. MILLER, J. N.; MILLER, J. C.; *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Pearson Prentice Hall, UK 2005.
138. Secretaria de Agricultura e Pecuária do Ceará (SEAGRI). *Fruticultura Irrigada, Grande Potencial do Ceará*. Acesso: 10/07/2010. Disponível em:
http://www.seagri.ce.gov.br/siga/fruticultura_irrigada_gde_potencial_ceara.pdf.
139. METHOD 549.2 - Determination of diquat and paraquat in drinking waters by liquid-solid extraction and high performance liquid chromatographic with ultra violet detection. Acesso: 09/07/2010. Disponível em: www.epa.gov/nerlcwww/m_549_2.pdf.

140. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, Acesso: 15/08/2010. Disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br/emergencia/produtos/ficha_completa1.asp?consulta=DIETILAMINA&cod=1154
141. KAMBHAMPATI, I.; ROINESTADAY, K. S.; HARTMAN, T.G.; ROSEN, J. D.; FUKUDA, R.L.; LIOINCOTT, R.L.; ROSEN, R.T.; *Journal of Chromatography A*, 688, 1994, 67-73.
142. Environmental Protection Agency (EPA). Acesso: 11/07/2010. Disponível em: <http://www.epa.gov/safewater/contaminants/basicinformation/diquat.html#four>.
143. KOMORSKY-LOVRIĆ, S.; *Electroanalysis*, 14, 2002, 888-892..
144. MILHOME, M. A. L.; SOUSA, D. O. B.; LIMA, F. A. F.; NASCIMENTO, R. F.; *Engenharia de Saneamento Ambiental*, 14, 2009, 363-372.
145. SOUSA, E. M. O.; *O “Novo Modelo de Irrigação” e os colonos de Morada Nova: Política para qual público?* Fortaleza, 2005, Dissertação (mestrado) UECE.
146. National Registration Authority for Agricultural and Veterinary Chemicals, *The NRA Review of CHLORPYRIFOS*, Volume 1, Canberra, Australia, September 2000.
147. COMPTON, R. G.; BANKS, C. E., *Understanding Voltammetry*, University of Oxford, UK, World Scientific Publishing, USA, 2007, p.150.
148. LOVRIĆ, M.; KOMORSKY-LOVRIĆ, Š.; *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 248, 1988, 239-259.
149. WEBBER, A.; SHAH, M.; OSTERYOUNG, J.; *Analytica Chimica Acta*, 154, 1983, 105-119.
150. O’DEA, J. J.; RIBES, A.; OSTERYOUNG, J. G.; *Journal Electroanalytical Chemistry*, 345, 1993, 287-300.
151. RADI, A.; *Microchemical Journal*, 72, 2002, 35-41.
152. ZARE, H. R.; SOBHANI, Z.; MAZLOUM-ARDAKANI, M.; *Sensors and Actuators B*, 126, 2007, 641-647.
153. MANISANKAR, P.; VISWANATHAN, S.; PUSPHALATHA, A. M.; RANI, C.; *Analytica Chimica Acta*, 528, 2005, 157-163.
154. GUIDELINES FOR DRINKING-WATER QUALITY. Acesso: 07/07/2010. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/.
155. GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ. Acesso: 30/07/2010. Disponível em: <http://www.cidades.ce.gov.br/pdfs/pdr-baixojaguaribe.pdf>.
156. BANCO DO NORDESTE DO BRASIL, Acesso: 07/07/2010. Disponível em: http://www.bnb.gov.br/content/aplicacao/etene/rede_irrigacao/Docs/Documento%20Referencial%20do%20Polo%20Baixo%20Jaguaribe.PDF.