

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DETERMINAÇÃO DO PARAQUAT SOBRE ELETRODOS DE
CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM FTALOCIANINA
TETRASSULFONADA DE NIQUEL EM FILME DE POLI-L-LISINA**

Cristiane Arcângela de Souza Mendes

**São Luís
2007**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DETERMINAÇÃO DO PARAQUAT SOBRE ELETRODOS DE
CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM FTALOCIANINA
TETRASSULFONADA DE NIQUEL EM FILME DE POLI-L-LISINA**

Cristiane Arcângela de Souza Mendes

Orientador: Prof°. Dr°. Auro Atsushi Tanaka

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química – Área de Concentração: Química Analítica.

**São Luís
2007**

Mendes, Cristiane Arcângela de Souza.

Determinação do paraquat sobre eletrodos de carbono vítreo modificado com ftalocianina tetrassulfonada de níquel em filme de poli-l-lisina / Cristiane Arcângela de Souza Mendes. – 2007.

94f.

Texto impresso (fotocópia)

Orientador: Auro Atsushi Tanaka

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Química, Área de concentração: Química Analítica, Universidade Federal do Maranhão, 2007.

1. Pesticidas – análise química. 2. Paraquat. I. Tanaka, Auro Atsushi II.
Título

CDU
632.95:543

**DETERMINAÇÃO DO PARAQUAT SOBRE ELETRODOS DE
CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM FTALOCIANINA
TETRASSULFONADA DE NIQUEL EM FILME DE POLI-L-LISINA**

Cristiane Arcângela de Souza Mendes

Aprovada em:26/02/2007

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka (Orientador)
DEQUI - CCET - UFMA

Prof. Dr. Mauro Korn
(UNEB)

Prof^a. Dr^a. Maria Raimunda Chagas Silva
LELQ - CCET – UFMA

“Bem aventurado o homem que encontra a sabedoria, e o homem que adquire conhecimento, pois ela é mais proveitosa do que a prata, e dá mais lucro do que o ouro.”

Provérbios 3:13 e 14

Dedico este trabalho

*A Toda minha Família, especialmente aos meus pais
Manoel Mendes e Maria da Saúde pelo amor, carinho e compreensão
que sempre tiveram por mim.*

Ao Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka, meu respeito e admiração a sua competência e profissionalismo, que me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, primeiramente, por tudo que fez e ainda fará, e a Nossa Senhora pelo exemplo de fé e capacidade de acreditar num DEUS que é pai e realiza milagres.

A minhas irmãs Ana Josélia e Angélica pelo amor e apoio

A professora Dra: Sônia Maria C. Neiva Tanaka, meu especial agradecimento pela credibilidade em mim depositada.

Aos Professores do CEFET-MA, cuja contribuição na minha vida acadêmica foi de grande valia.

Aos amigos do Laboratório de Eletroquímica em especial a Ilanna, Quesia, Luíza e Adilson pelas amizades construídas e companheirismo durante todos estes anos de convivência.

A Dr^a Maria Raimunda Chagas da Silva pela colaboração na dissertação desenvolvida e atenção dispensada.

Aos amigos conquistados durante todos estes anos, em especial, Ronald, Glene, Jaciene, Adilton, Fabielly, Adilton, Angela.

A prof. Dra Isaide de Araújo Rodrigues, pela oportunidade, e ao PIBIC pela bolsa concedida nos anos de graduação.

A Oscar, Anchieta, Emanuelle, Marcella, Rogério, Karen e Januarío pela amizade e incentivo de sempre, e a família Hensa Farma pela lição de vida jamais esquecida.

A CAPES pela bolsa concedida, ao CNPq pelo auxílio cedido ao LELQ.

A todos os alunos e professores da Pós-graduação em Química da UFMA.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x

CAPITULO 1 **1**

1 INTRODUÇÃO **2**

1.1 Considerações Gerais sobre Pesticidas.....	2
1.2 O Herbicida Paraquat.....	4
1.3 Estado da Arte.....	7
1.4 Eletrodos Quimicamente Modificados.....	9
1.5 Eletrodos modificados com o polímero Poli-L-lisina.....	11
1.6Desenvolvimento de Sensores a Base de Metaloftalocianinas.....	12
1.7. Voltametria em Pulso Diferencial	15
1.8 Objetivos.....	18

CAPITULO 2

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Instrumentação.....	20
2.1.1 Célula Eletroquímica.....	20
2.1.2 Eletrodos.....	20
2.2 Materiais e Regentes.....	23
2.2.1 Equipamentos.....	23
2.2.2 Reagentes e Soluções.....	23
2.3 Limpeza dos materiais de vidro	24
2.4 Pré-tratamento da superfície do eletrodo de CV.....	24
2.5 Modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo.....	24
2.6 Preparo da Amostra	25

CAPITULO 3

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Redução do Herbicida Paraquat usando eletrodos de carbono vítreo modificado com filme de poli-L-lisina e NiTSPc e CuTSPc.....	27
3.2 parametros otimizados na técnica de pulso diferencial.	

	30
3.3Influencia da natureza da solução tampão.. e do pH.....	38
3.4Característica do Sensor.....	36
3.5 Limite de detecção e quantificação.....	38
3.6.Repetibilidade e Reprodutibilidade.....	40
3.7 Aplicação do Sensor em águas naturais do rio Balsas-MA	42

CAPÍTULO 4

4 CONCLUSÕES

	45
4.1 Sugestão para trabalhos futuros.....	46

CAPÍTULO 5

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Fórmula estrutural do herbicida paraquat.....	4
Figura 2	Esquema do cíclico redox do paraquat no organismo humano.	6
Figura 3:	Fórmula do monômero lisina e da reação de formação do polímero.	12
Figura 4:	Estrutura da ftalocianina na forma (a) ácida (H ₂ Pc) e de uma metaloftalocianina (MPc), onde M representa um metal.....	13
Figura 5:	Célula eletroquímica.....	21
Figura 6:	Eletrodo de trabalho CV.....	22
Figura 7:	Estudo do comportamento voltamétrico, do eletrodo de carbono vítreo sem modificar, e modificado com CuTsPc-PLL, e com NiTsPc-PLL em solução tampão fosfato (pH 7) saturada com N ₂ ; [paraquat] = 5X10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ .	28
Figura 8:	Esquema representativo da redução do herbicida paraquat retirado de Bird, C.L.; Kuhn, A.T.; <i>Chem. Soc. Rev.</i> 1981 , 10, 49	29
Figura 9:	Voltametria de pulso diferencial, do eletrodo de carbono vítreo sem modificar, e modificado com CuTsPc-PLL, e com NiTsPc-PLL em solução tampão fosfato (pH 7) saturada com N ₂ ; [paraquat] = 5X10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ .	30
Figura 10:	Variação da largura de pulso em solução tampão fosfato (pH 7) saturada com N ₂ ; [paraquat] = 5X10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ . em (a=100mV, v=10mv.s ⁻¹)	32
FIGURA 11:	Variação da amplitude de pulso em solução tampão fosfato (pH 7) saturada com N ₂ ; [paraquat] = 5X10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ . em (Ip= 25, v=10).	32

- FIGURA 12:** Variação da velocidade de varredura em solução tampão fosfato (pH 7) saturada com N₂; [paraquat] = 5X10⁻⁵ mol L⁻¹. em (a=125mV, Ip=25) 33
- FIGURA 13** Voltamogramas de pulso diferencial para redução do paraquat sobre eletrodo de Cv/NiTSPc/PLL em meio de tampão B-R 0,10mol.L-1 (pH)=7,0, saturado com N₂ com A=125, Ip=25, v=15, numa faixa linear de concentração 37
1μmol.L⁻¹ a 10 μmol.L⁻¹
- FIGURA 14** Relação da Ip com a concentração do paraquat nas mesmas condições da figura 14. 37
- FIGURA 15** Corrente de pico da redução do paraquat sobre eletrodo de Cv/NiTSPc/PLL vs concentração do PQ em meio de tampão B-R 0,10mol.L-1 (pH)=7,0, saturado com N₂ com A=125, Ip=25, v=15, 44

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Parâmetros otimizados para detecção do paraquat em 33
eletrodo de carbono vítreo modificado com NiTsPc
imobilizado com PLL.....
- Tabela 2:** Influência do tampão sobre resposta analítica (μA) na 35
redução do paraquat. Medidas conduzidas em tampão $0,10$
 mol L^{-1} (pH 7), saturada com N_2 ; [paraquat] = $1,00 \times 10^{-3}$
 mol L^{-1} .
- Tabela 3:** Influência do pH na resposta do eletrodo de carbono vítreo 36
modificado com NiTSPc/PLL
- Tabela 4:** Comparação das condições analíticas do método proposto 40
com alguns métodos descritos na literatura.
- Tabela 5:** Estudo da repetibilidade do eletrodo de CV modificado com 41
NiTsPc-PLL, em solução tampão B-R (pH 7), na resposta
analítica (μA) da redução do paraquat, com pico de
correntes. Solução saturada com N_2 ; [paraquat] = $1,00 \times 10^{-5}$
 mol L^{-1} .
- Tabela 6** Estudo da reprodutibilidade do eletrodo NiTSPc/PLL para 42
uma solução de PQ $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão
BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), saturada com N_2 .
- Tabela 7:** Resultados de repetibilidade e reprodutibilidade para o PQ 42
sobre eletrodo NiTSPc/PLL.
- Tabela 8:** Dados obtidos a partir da construção da curva analítica com 44
amostra de água do rio Balsas-MA
- Tabela 9** Dados obtidos para o teste de adição e recuperação de 45
Tabela 6: paraquat em amostras de água do rio Balsas-MA

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

PQ	Paraquat
EQM's	Eletrodos quimicamente modificados
DPV	Voltametria de pulso diferencial
CV	Carbono vítreo
ECS	Eletrodo de calomelano saturado
N ₂	Nitrogênio
PLL	Poli-L-lisina
K ₃ [Fe(CN) ₆]	Hexacianoferrato de potássio
NaOH	Hidróxido de sódio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio
KCl	Cloreto de potássio
NaClO ₄	Perclorato de sódio
H ₃ BO ₃	Ácido bórico
HCl	Ácido clorídrico
CH ₃ COOH	Ácido acético
H ₃ PO ₄	Ácido fosfórico
NiTSPc	Ftalocianina Tetrassulfonada de Níquel
CuTSPc	Ftalocianina Tetrassulfonada de Cobre
B-R	Britton-Robinson
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
/	Modificado
vs	Versus

I_p	Corrente de pico
E_p	Potencial de pico
A	Amplitude de pulsos de potencial
L_p	Largura de pulso diferencial
V	Velocidade de varredura

Resumo

Este trabalho apresenta uma avaliação de um eletrodo de carbono vítreo modificado com NiTSPc imobilizada com filme de poli-L-lisina para determinação do paraquat por voltametria de pulso diferencial. O filme foi formado adicionando-se 20 μ L de uma solução preparada pela mistura de volumes iguais de NiTSPc 0,8mM e PLL 0,12mM. O eletrodo modificado com NiTSPc/PLL apresentou correntes de redução do PQ mais acentuadas e melhores perfis voltamétricos em relação ao eletrodo não modificado e modificados com CuTSPc/PLL. As melhores condições de análise foram amplitude de pulso 125mV, largura de pulso 25mV, velocidade de varredura 10mV/s. A máxima relação sinal ruído foi obtida em tampão Britton-Robinson 0,1M, com pH 7,0 como eletrólito suporte. Este sensor apresentou dois picos reversíveis para redução do PQ em torno de - 0,71 V (pico 1) e - 1,10 V (pico 2) vs E C S.. Nestas condições, o eletrodo modificado obteve uma resposta linear de $1,00 \times 10^{-6}$ a $1,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ com limites de detecção e quantificação iguais a $7,58 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (19,5 μ g L⁻¹) e $2,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (64 μ g L⁻¹), respectivamente. O sensor estudado apresentou valores abaixo de 5%, em termos de desvio padrão relativo, para estudos de repetibilidade (2,52% para N = 10) e reprodutibilidade (2,97% ...para N = 5). A recuperação em amostras reais foi de 98%.

Palavras chave: Paraquat, eletrodo modificado, voltametria de pulso diferencial..

Abstract

This work presents an evaluation of a modified glassy carbon electrode with NiTSPc immobilized with film PLL of the determination of paraquat by differential pulse voltammetry. The film was formed applying 20 μ L of a solution prepared for the mixture of equal volume of NiTSPc 0,8mM and poly-L-lisine (PLL) 0,12mM. The maximum signal to noise ratio was obtained using a 0,1M Britton-Robinson buffer at pH=7,0 as supporting electrolyte.. The electrode modified with NiTSPc/PLL presented PQ reduction currents more accentuated and voltammetric profiles better with respect to the electrodes unmodified and modified with CuTSPc/PLL. The best conditions of analyze had been amplitude of pulse 125mV, width of pulse 25mV, speed of sweepings 10mV/s. The maximum relation signal noise was gotten in drain plug Britton-Robinson 0,1M, with pH 7,0 as electrolyte has supported. This sensor presented two reversible peaks for reduction of the PQ around - 0.71 V (peak 1) and - 1,10 V (peak 2) versus E.C S. In these conditions, the modified electrode obtained a linear response range from $1,00 \times 10^{-6}$ to $1,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ with detection and quantification limits equals to $7,58 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (19,5 μ g L⁻¹) and $2,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ (64 μ g L⁻¹), respectively. The studied sensor presented values below 5%, in terms of relative standard deviation, for repeatability (2,52% for N = 10) and reproducibility (2,97% for N = 5) studies. The recovery in real samples was of 98%

keywords: Paraquat, modified electrode, Differential pulse voltammetry.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais sobre Pesticidas

Após a Segunda Guerra Mundial, o número de substâncias novas e o seus extensivos usos na agricultura aumentaram bruscamente. O BHC (hexaclorobenzeno) e o DDT (diclorodifeniltricloroetano) surgiram como uns dos mais importantes produtos químicos, sendo aplicados em larga escala nas lavouras para combater insetos. Com o aumento do plantio de monoculturas e a destruição da diversidade ocorreu o aparecimento de várias pragas, as quais vem sendo combatidas pelo uso de pesticidas, algumas são resistentes necessitando de uma quantidade cada vez maior [1]. Assim sendo, a quantidade e a variedade de produtos aplicados na agricultura e na pecuária aumentaram abruptamente, tornando necessário o monitoramento de eventuais resíduos no ambiente e nos alimentos. No entanto, têm sido desenvolvidos métodos analíticos com o intuito de avaliar os riscos de contaminação desses resíduos de pesticidas, em água, alimentos e no próprio meio ambiente. [2]. O uso de tais compostos tem causado contaminação de sistemas aquáticos, sendo importante monitorar as águas subterrâneas, especialmente em áreas próximas a regiões agrícolas e locais que constituem fontes primárias de água potável.

O termo pesticida é um termo composto que inclui todos os produtos químicos que são usados para matar ou controlar pestes, isto inclui herbicidas (ervas daninhas), inseticidas (insetos), fungicidas (fungos) e outros [3]. O aumento da população mundial e a demanda crescente de alimentos têm motivado o uso

de grandes quantidades de pesticidas nas plantações (para prevenir ou combater pragas), visando assegurar maior produtividade.

A classificação dos pesticidas constitui um tema de controvérsia, pois várias denominações têm sido empregadas para designar sua ação tais como, defensivos agrícolas, biocidas, pesticidas, praguicidas e agrotóxicos [3]. Pela legislação brasileira, tais compostos são denominados de “agrotóxicos” e classificados como inseticidas, fungicidas e herbicidas. A denominação pesticida é dada à substância ou à mistura de substâncias destinadas a prevenir direta ou indiretamente a ação insetos, ácaros, roedores, ervas daninhas, bactérias e outras formas de vida animal ou vegetal prejudiciais à lavoura [4,5].

Quanto a classe toxicológica, os pesticidas são classificados de I a IV. A classe I (rotulo vermelho) abrange os compostos considerados altamente tóxicos para seres humanos; a II (rotulo amarelo), os mediamente tóxicos, a III (rotulo azul), os pouco tóxicos e a IV (rotulo verde), os compostos considerados praticamente não-tóxicos para seres humanos. [4]

Os pesticidas podem ser classificados quanto à finalidade (aficida, ovicida, larvicida, raticida, formicida, acaricida, inseticida, entre outros) e quanto ao modo de ação (ingestão, contato, microbiano e fumegante) sendo possível o enquadramento em mais de uma classe. Quanto à origem, a divisão envolve os compostos inorgânicos (compostos de mercúrio, bário, enxofre e cobre), os pesticidas de origem vegetal, bacteriana e fúngica (piretrinos, antibióticos e fitocidas), e os pesticidas orgânicos [7].

Os pesticidas orgânicos, que apresentam átomos de carbono em sua estrutura, constituem o maior grupo de produtos com alta atividade fisiológica. As

principais classes desses compostos são os organoclorados (OC) e os organofosforados (OF). Os organoclorados apresentam em sua estrutura átomos de carbono e cloro [7], e surgiram comercialmente na década de 40. Eram muito utilizados na agricultura e no combate a alguns vetores de doenças como, por exemplo, o mosquito da malária. Durante a Segunda Guerra Mundial era fato comum os soldados espalharem DDT pelo corpo para prevenir epidemias de Tifo, transmitido por piolhos. Os organoclorados causam danos ao meio ambiente e às pessoas devido à grande estabilidade física e química, persistindo no meio ambiente por longo tempo. [3]

1.2 O Herbicida Paraquat

O paraquat (PQ) (dicloreto de 1,1'- dimetil – 4,4'- bipyridínio), também conhecido como metil-viologeno (MV), comercialmente como Gramoxone® e disponível em solução a 20%, é um herbicida de contato que, pelo baixo preço, grande eficácia, e ausência de efeito poluente para os solos é largamente utilizado. No entanto é extremamente tóxico ao ambiente e a saúde humana, pertencendo a classe toxicológica I [8]. Na Figura 1 é apresentada a fórmula estrutural do paraquat.

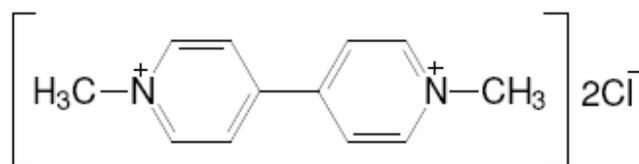


Figura1: Fórmula estrutural do Paraquat

O paraquat não existe em estado natural. A sua síntese deve-se a Weidel & Russo, que publicaram os seus trabalhos em 1882. As propriedades herbicidas do produto viriam a ser descobertas em 1955, pelo laboratório Zeneca, que começou a produzi-lo comercialmente em 1961. De acordo com as normas da FAO, a única impureza permitida no fabrico do paraquat é o bipyridinium-4,4', na proporção de 0,25% em relação ao paraquat. A primeira forma comercial de paraquat homologada para utilização na agricultura foi o Gramoxone®). O paraquat é produzido em vários países, como a China, os EUA, a Itália e o Reino Unido. Na maior parte dos países, a matéria ativa é importada e a formulação do produto é feita no local [9]. Este pesticida não é inflamável e, sob condições atmosféricas normais, apresenta boa estabilidade desde que acondicionado em frasco de polietileno. Devido a sua alta solubilidade é um potencial contaminante para ambientes aquáticos, é altamente persistente no ambiente e em função do uso abusivo e descontrolado deste herbicida surge a necessidade de monitorar seus resíduos em amostras de água de abastecimento, superficiais e subterrâneas.

O paraquat é um herbicida que atua exclusivamente por contato e que permite a destruição das ervas daninhas de folha larga e do tipo gramíneas. A pulverização deve ser feita quando as plantas são ainda jovens e com menos de 30 cm de altura [10].

O PQ pode provocar intoxicação por ingestão, inalação ou contacto dérmico, sendo a intoxicação oral a mais freqüente e a mais estudada.

Como já é sabido, o paraquat é altamente tóxico para animais e humanos e infelizmente, não existe qualquer antídoto [10]. Na ausência de oxigênio, o paraquat sofre uma redução parcial da sua forma catiônica a um radical estável,

recuperando na presença de oxigênio a forma catiônica, com conseqüente produção de anion superóxido (O_2^-). Assim sendo, na presença de oxigênio e de fornecimento contínuo de elétrons, haverá um ciclo de oxidações e reduções, com produção contínua de íon superóxido.

No organismo humano, ele se acumula preferencialmente nos pulmões, onde sofre uma redução por um elétron com flavoenzima NADPH⁻ citocromo P450 redutase, gerando radical paraquat. O citocromo P450 redutase microsomal atua como catalisador para esta reação.[12]. Juntamente com o oxigênio presente nos pulmões este radical paraquat rapidamente se auto oxida produzindo um anion radical superóxido que regenera o paraquat, Figura 2.

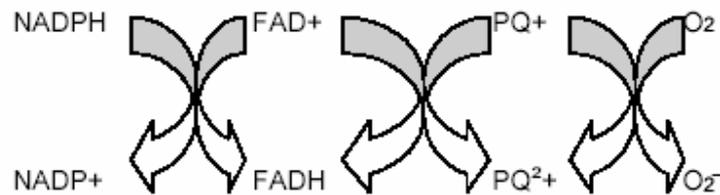


Figura 2: Esquema do ciclo redox do paraquat no organismo humano

Como mencionado anteriormente, repetidos ciclos de redução e re-oxidação do paraquat nos pulmões podem ocorrer, produzindo grande quantidade de espécies de oxigênio reativo, gerando o estresse oxidativo, que acaba levando o indivíduo a morte em cerca de trinta dias após a ingestão. [8].

Estudos mais recentes mostraram que microssomas do fígado, pulmão e rim, são capazes de gerar radicais do paraquat e produzir H_2O_2 . Este último, em presença de íon superóxido, daria origem à formação de radicais livres de

oxigênio mais reativos e mais tóxicos para a célula, responsáveis pela peroxidação dos lipídios das membranas celulares [12].

1.3 Estado da Arte

O crescente interesse por métodos analíticos cada vez mais seletivos e sensíveis, em níveis de traço, para a determinação e monitoramento de pesticidas tem aumentado nos últimos anos. Métodos confiáveis, econômicos e rápidos tem sido o grande alvo de inúmeros pesquisadores na busca de metodologias analíticas cada vez mais eficazes a serem usadas nas mais diversas matrizes e níveis de concentração.[8].

Existe na literatura uma diversidade de trabalhos propondo técnicas analíticas para determinação do paraquat, seja em água, alimentos, produtos agrícolas ou fluidos biológicos tais como espectrofotometria [13], cromatografia líquida com detector de massa [14], análise em fluxo [15], polarografia [16], imunoenaios [17] e eletroforese capilar com detecção ultravioleta[18] ou espectrometria de massa [19]. Porém, estas técnicas sofrem com interferentes, extensivo tratamento da amostra e alto custo para as análises.

A utilização de técnicas voltamétricas na investigação do comportamento eletroquímico de compostos de interesse ambiental é reportado na literatura desde longa data [20]. Dentre os métodos eletroquímicos existentes, as técnicas polarográficas e voltamétricas constituem importante ferramenta no estudo destas substâncias, uma vez que além de informações qualitativas e quantitativas, é

possível ainda estabelecer um mecanismo de cinética de redução ou oxidação de um dado sistema de interesse.

Os métodos eletroanalíticos têm algumas vantagens gerais sobre outros tipos de procedimentos analíticos, pois além de serem frequentemente específica para um estado redox particular de um elemento sua instrumentação é relativamente barata[21].

Assim sendo, o emprego de técnicas eletroquímicas para determinação do herbicida paraquat têm sido proposta como alternativas viáveis e promissoras.

Eletroquimicamente o paraquat tem sido investigado sobre varias superfícies eletródicas, incluindo eletrodos sólidos [22], eletrodos quimicamente modificados [23.] e ultramicroeletrodos [24], aplicando-se técnicas como pulso diferencial [25], onda quadrada [26], voltametria de redissolução catódica[27] e eletrodos de mercúrio [28].

Em química eletroanalítica, a busca por alta sensibilidade, seletividade e estabilidade impulsionam o desenvolvimento de sensores eletroquímicos [29,30,31] Porém, apesar da grande versatilidade e perspectivas apresentadas pelos sensores eletroquímicos, a utilidade de um eletrodo é muitas vezes limitada devido a uma passivação gradual na sua superfície que é consequência, principalmente, da adsorção dos produtos da própria reação de oxido-redução utilizada na detecção ou ainda, dos subprodutos destas reações que podem se polimerizar e se depositar sobre a superfície dos eletrodos [32]. Além disso, a sensibilidade de muitos analitos importantes pode ser prejudicada em função da cinética de transferência de elétrons ser muito lenta [33].

Uma alternativa para minimizar os problemas descritos acima é a construção de sensores eletroquímicos com EQM. [33].

1.4 Eletrodos Quimicamente Modificados

A terminologia Eletrodos Quimicamente Modificados (EQM's) foi utilizada inicialmente por Murray e colaboradores [34], para designar espécies quimicamente imobilizadas em sua superfície. A partir de então as pesquisas para o desenvolvimento de EQM's vem crescendo rapidamente, pois, atende a uma variedade de interesses práticos e criteriosos, permitindo que o eletrodo resultante apresente propriedades químicas específicas para cada interesse.

Um EQM consiste de um eletrodo base (substrato) e uma camada do modificador químico. Este substrato deve apresentar características que dependem tanto do tipo de modificador (mediador redox) quanto do método de imobilização selecionado. Entre os materiais convencionais podem ser citados a platina, ouro, carbono vítreo, mercúrio na forma de filme, fibras de carbono e pasta de carbono. Os substratos menos usuais são o carbono vítreo reticulado, material plástico condutor e vidros condutores. A variedade de materiais e possibilidades de combiná-los proporciona um grande campo de atuação destes dispositivos.

Os maiores benefícios reportados para o emprego EQM no campo da eletroanálise tem sido a possibilidade de aceleração de reações de transferência de carga, acumulação preferencial ou permeação seletiva de analitos em membranas superficiais. Estas etapas podem melhorar a seletividade, reatividade

ou estabilidade de métodos analíticos baseados no seu emprego como sensor amperométrico que tem sido extensivamente revisto nos últimos anos [35].

Uma conveniente forma de incorporação de um modificador na superfície de um eletrodo pode ser realizada simplesmente pela utilização de uma camada de um filme polimérico. Muitos polímeros são aplicados para revestir superfícies eletródicas simplesmente pela combinação de propriedades de adsorção, atração eletrostática e baixa solubilidade na solução eletrolítica, ou ainda pela utilização de polímeros pré-formados obtidos através de polimerização eletroquímica.

O uso de eletrodo sólidos revestidos com uma fina camada do polímero de troca iônica permite uma etapa rápida de pré-concentração e detecção amperométrica simultânea do íon analito redox. A resposta depende da etapa de pré concentração da espécie eletroativa incorporada na camada interna do trocador iônico [36]. Se o modificador apresenta propriedade de seletividade é possível determinar analitos redox (metais, compostos orgânicos) em concentrações submicromolar.

Assim, avanços tecnológicos na área de EQM's encontram aplicações nas mais variadas áreas de atuação, como exemplo, na saúde pública (hospitais), indústrias de alimentos, bioprocessos e área ambiental [37, 38, 39] onde sensores com rápida detecção, alta sensibilidade e especificidade são requisitos importantes.

Resumidamente, o uso de camadas de agentes modificadores sobre a superfície do eletrodo base tem sido a forma mais comum de modificar a superfície de um eletrodo [40]. Em geral a obtenção de sensibilidades mais altas ocorre por pré-concentração da espécie de interesse ou por eletrocatalise [41], e a

aplicação destes princípios resulta em inerente aumento da seletividade. Ganhos adicionais neste item podem ser alcançados pela utilização de recobrimento com membranas poliméricas que bloqueiam o acesso de espécies interferentes na superfície do eletrodo.

1.5 Eletrodos Modificados com o polímero poli-L-lisina

O polímero poli-L-lisina (Figura 1) é um poli-aminoácido sintético obtido pela condensação de várias unidades de seu monômero, lisina. Esta unidade monomérica é um α -aminoácido dotado de uma cadeia de hidrocarbonetos com cinco grupamentos CH_2 e uma outra função $-\text{NH}_2$ em posição ϵ . Comercialmente pode ser encontrado sobre diversos pesos moleculares resultantes do número de unidades matriciais utilizadas para sua confecção. Este polieletrólito evita que os catalisadores se lixiviem devido a forte interação eletrostática entre os modificadores aniônicos e o poli-cation [42]. Baseado nestes aspectos, a interação entre a poli-L-lisina e a ftalocianina tetrassulfonada se dá pelo par de íons protonado do grupo positivo do polímero (NH_3^+) e dos grupos tetrassulfonados das ftalocianinas metálicas (SO_3^-).

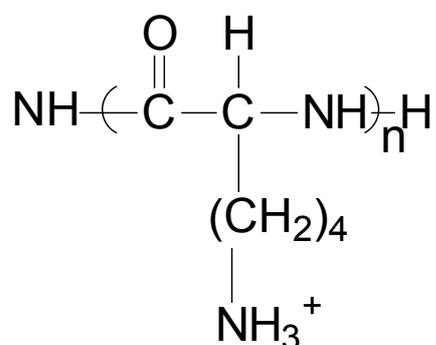


Figura 3: Formula do monômero lisina e da reação de formação do polímero.

Para explicar este comportamento, pesquisadores consideram que a poli-L-lisina apresenta duas regiões [43]. A primeira, para os contra íons, onde são mantidos por forças eletrostáticas (domínio de Donnan), e a segunda região compreende o volume de eletrólito suporte. O contra íons representa a espécie aniônica eletroativa [44]

1.6 Desenvolvimento de sensores a base de metalofalocianinas

Todd e colaboradores [45] propuseram um estudo sobre as estruturas das ftalocianinas (Pc), onde identificaram a ftalocianina como um sistema de anel com 4 unidades isoladas, unidas por átomos de nitrogênio (Figura 4a). Os dois átomos de hidrogênio centrais da estrutura podem ser substituídos por uma variedade de metais e metalóides (Figura 4b). Tais complexos são altamente coloridos e usualmente insolúveis em solventes comuns, porém possuem uma leve solubilidade em solventes aromáticos com alto ponto de ebulição. Dentre as aplicações das ftalocianinas, pode ser destacado seu uso como corantes em tecidos, plásticos, superfícies metálicas e em tintas [46]. Além disso, metalofalocianinas quando adsorvidas sobre carvão ativo apresentam atividade eletrocatalítica para a redução de oxigênio em soluções aquosas e são eletrocatalisadores promissores na fabricação de eletrodos utilizados em sistemas eletroquímicos para a geração e/ou armazenamento de energia, como as baterias metal/ar e as células a combustível H_2/O_2 [47].

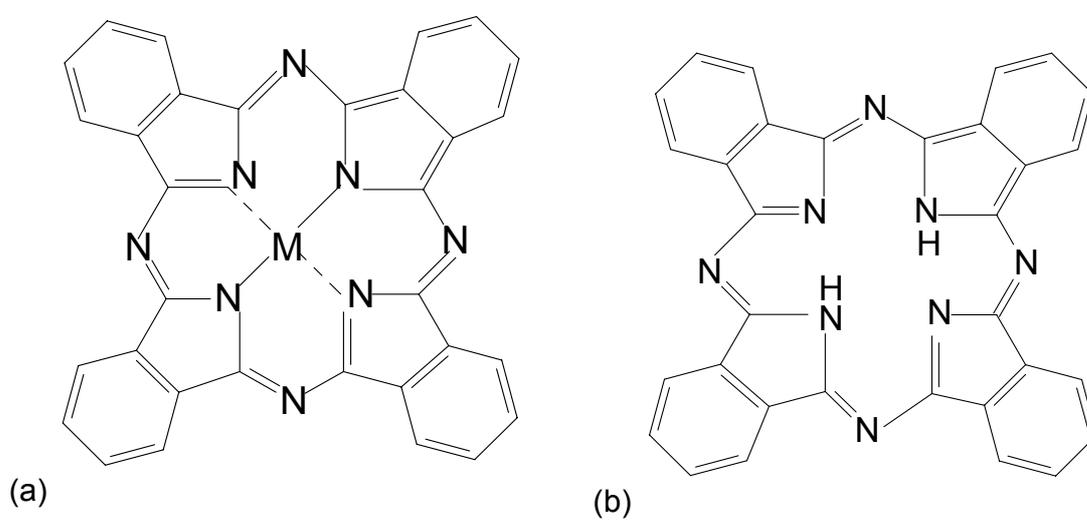


Figura 4: (a) Estrutura de uma metaloftalocianina (MPc), (b) Estrutura da ftalocianina na forma ácida (H₂Pc), onde M representa um metal.

Optou-se pelo emprego de metalofalocianinas e poli-L-lisina imobilizadas na superfície do eletrodo de carbono vítreo para a determinação de paraquat, devido às propriedades singulares que estes complexos apresentam, como estabilidade térmica e eficiência catalítica para um grande número de moléculas de interesse clínico, biológico, ambiental e industrial.

1.7. Voltametria em Pulso Diferencial

A voltametria é um método eletroanalítico que se baseia na medição e interpretação das relações corrente-potencial, durante a eletrólise de uma solução, onde se introduziram dois ou três eletrodos, sendo um deles um eletrodo indicador, o outro, um eletrodo de referência e o terceiro um eletrodo auxiliar. O potencial é aplicado entre os eletrodos em forma de varredura, variando-se a uma velocidade constante em função do tempo, e as curvas originadas, correntes versus o potencial, é chamada de voltamograma.

Os primeiros estudos voltamétricos foram feitos em 1922 por Kuceras e Heyrovsky (a quem coube por esse feito o Premio Nobel em química, em 1959) usando um eletrodo gotejante de mercúrio como eletrodo de trabalho e como de referência o eletrodo de calomelano saturado. Quando o eletrodo indicador ou de trabalho é o eletrodo gotejante de mercúrio, a técnica recebe o nome especial de polarografia. [48]

O eletrodo gotejante de mercúrio consiste, essencialmente, num tubo capilar ligado a um reservatório que contém uma coluna de mercúrio metálico puro. À medida que o mercúrio passa através do capilar forma-se uma gota no

orifício de saída. Esta cresce até atingir um tamanho máximo, de uma forma perfeitamente definida, que depende do raio de abertura do capilar e da tensão superficial entre o mercúrio e a solução. Este eletrodo tem uma vantagem sobre os eletrodos sólidos (platina, ouro, carbono, etc), pois possui uma superfície renovável e livre de estrias ou outras irregularidades [49];. No entanto é útil apenas para determinações catódicas, não podendo ser utilizado nos potenciais maiores que 0,1 volts, uma vez que o mercúrio sofre oxidação. Para trabalhar na faixa anódica, devem-se utilizar como eletrodos sólidos de trabalho, os exemplos citados anteriormente

Neste trabalho, a técnica utilizada para as medidas foi a de voltametria de pulso diferencial, na qual aplicam-se pulsos de potencial de magnitudes fixas, geralmente de 25 a 100 mV, sobre a variação contínua do potencial, medindo-se a corrente antes e no final da duração do pulso, e registrando-se a diferença do potencial, ou seja, a corrente é amostrada duas vezes; exatamente antes da aplicação do pulso e, novamente no final do pulso quando a corrente capacitiva se aproxima de zero. A primeira corrente é instrumentalmente subtraída da segunda e essa diferença de corrente [$\Delta i = i(t_2) - i(t_1)$] é colocada graficamente em função do potencial aplicado.

O fluxo de elétrons resultante das reações eletroquímicas que ocorrem na superfície do eletrodo de trabalho, em função do potencial aplicado, pode ser medido e é denominado de corrente faradáica, pois obedece às leis de Faraday.

A resposta do procedimento voltamétrico é fortemente influenciada pelo material do eletrodo de trabalho, ou seja, a taxa de transferência de elétrons através da interface eletrodo-solução é dependente das propriedades físico-

químicas do material do eletrodo, dentre eles destaca-se: mercúrio, carbono, ouro, platina e outros metais nobres.

O voltamograma é o registro do processo eletroquímico que ocorre ao nível dos eletrodos, sendo resultado da transferência de elétrons entre a superfície do eletrodo e as espécies em solução.

Técnicas eletroquímicas de potencial controlado, ou seja, nas quais o potencial do eletrodo de trabalho é utilizado para conduzir a reação de transferência de elétrons, têm sido utilizadas para medidas de concentração de espécies específicas, mesmo em concentrações que às vezes podem atingir níveis de até 10^{-12} mol/L. [\[50\]](#).

Dentre os fatores de grande importância para a precisão voltamétrica, a reprodutibilidade na área efetiva do eletrodo, é provavelmente a mais importante. E outros parâmetros analíticos como: tipo de eletrodo de trabalho, de referência e auxiliar, natureza do eletrólito suporte, diluente da amostra, influência do pH no meio, concentração das soluções de trabalho e os parâmetros instrumentais: amplitude de pulso, velocidade de varredura e tempo de purga, são variáveis conforme a estrutura química da substância em análise.

A seleção da amplitude do pulso e a velocidade de varredura de potenciais requer a conciliação entre sensibilidade, resolução e velocidade. Por exemplo, pulsos com amplitudes muito grandes resultam em picos altos e largos. Normalmente são empregados pulsos com amplitudes entre 25-50mV com velocidades de varredura de potenciais entre 1-5mV.s⁻¹. Sistemas redox

irreversíveis resultam em picos mais largos comparados àqueles observados para sistemas reversíveis (sensibilidade e resolução inferiores)- [50]

A utilização de técnicas voltamétricas na determinação de compostos de interesse ambiental é ampla uma vez que a maioria destes compostos contém grupos passíveis de redução ou oxidação em eletrodo de grafite (carbono vítreo) , platina ou mercúrio. A aplicabilidade das técnicas pode ainda ser estendida para compostos não eletroativos através de reações de derivatização tais como: nitração e condensação, sendo capaz de tornar os compostos eletroquimicamente ativos, e também o estudo da cinética e dos mecanismos das reações, a determinação da fórmula e da estabilidade de complexos podem ser feitos por esta técnica.

No caso de aplicações ambientais, a grande vantagem da voltametria tem sido a pequena influência de interferentes presentes nestas amostras sobre o sinal eletródico.

1.7 Objetivos

Objetivo geral do presente trabalho foi estudar a determinação do paraquat, utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com ftalocianinas tetrassulfonadas de níquel (NiTSPc), cobre (CuTSPc) imobilizadas em filme de poli-L-lisina (PLL).

Para atingir o objetivo proposto, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

CAPÍTULO 2
PARTE EXPERIMENTAL

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1-Instrumentação

2.1.1-Célula eletroquímica

As medidas eletroquímicas foram realizadas em uma célula eletroquímica convencional, com capacidade de aproximadamente 10mL fechada com uma tampa de Teflon[®] esquematizada na figura 6.

Antes das medidas eletroquímicas, as soluções eletrolíticas foram sempre mantidas saturadas com gás nitrogênio (N₂) do tipo 4.6 – Gases Especiais da White Martins S.A. (São Luís-MA), para eliminação da interferência causada pelo oxigênio nas curvas corrente-potencial.

2.1.2 Eletrodos

Um eletrodo de carbono vítreo (CV), de área geométrica de 0,20 cm², foi utilizado como eletrodo de trabalho base para a construção dos sensores, Figura 7. Além disso, um eletrodo de calomelano saturado (ECS) comercial da Analion Indústria e Comércio Ltda (Ribeirão Preto – SP) e um eletrodo em espiral de fio de platina foram utilizados como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente.

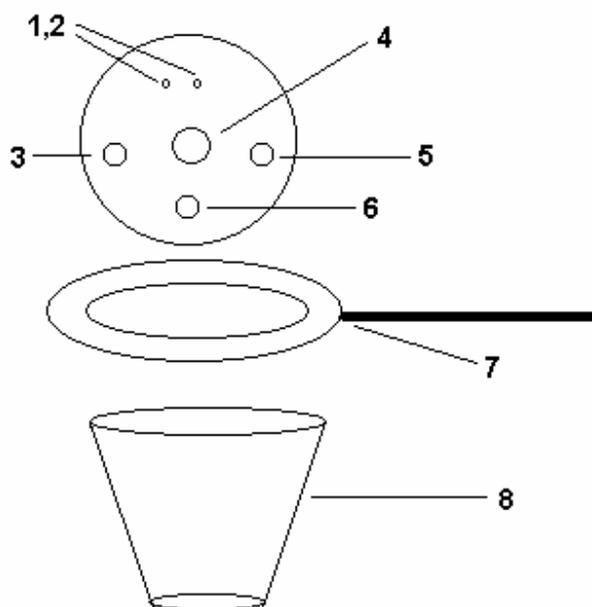
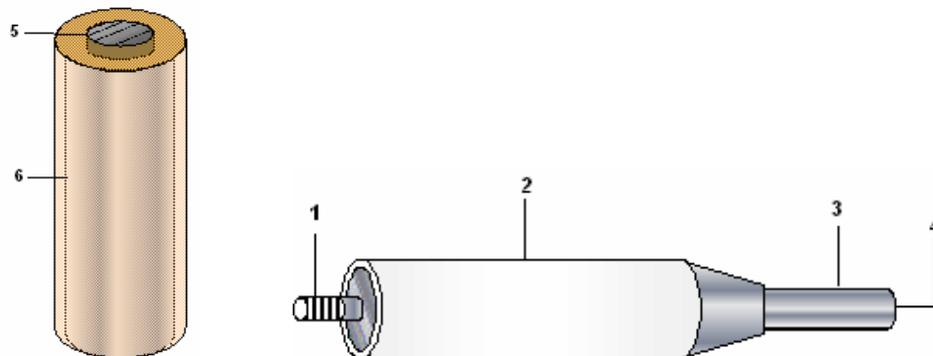


Figura 6: Célula eletroquímica: (1) entrada de gás, (2) saída de gás, (3) eletrodo de referência (4) eletrodo de trabalho, (5) eletrodo auxiliar, (6) injeção da amostra, (7) suporte de fixação da célula e (8) corpo da célula eletroquímica em vidro Pyrex[®].



- (1) Encaixe do eletrodo CV
- (2) Revestimento de Teflon[®]
- (3) Corpo de aço inoxidável
- (4) Pino para conexão elétrica
- (5) CV
- (6) Resina epóxi

Figura 7: Eletrodo de trabalho CV

2.2 Materiais e Reagentes

2.2.1 Equipamentos

Todas as medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato modelo CV-50W da Bioanalytical Systems, acoplado a um microcomputador.

As medidas de pH foram realizadas em um pHmetro da marca, Analyser modelo 300, com eletrodo de vidro combinado.

Para o bom funcionamento dos equipamentos eletrônicos utilizados, a tensão da rede elétrica do laboratório foi estabilizada por um conversor de tensão modelo 5000 TR-1 C/I da Tectrol Equipamentos Elétricos e Eletrônicos Ltda (São Paulo - SP).

2.2.2 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes químicos usados foram de grau analítico. Os compostos: ácido cítrico, ácido bórico, cloreto de potássio, fosfato de potássio, hidróxido de sódio, sulfato de sódio, mono e difosfato de sódio foram obtidos comercialmente da Merck, o paraquat (1,1-dimetil-4,4-dicloreto de dipiridílio 98%), e ftalocianinas tetrassulfonadas de cobre e de níquel da Aldrich, e a [poli-L lisina da sigma](#).

A solução tampão utilizado nas medidas voltamétricas foi o Britton-Robison (B-R) 0,10 mol.L⁻¹, no intervalo de pH de 3 a 12 obtido pela mistura de ácido acético, ácido ortofosfórico e ácido bórico, com todos os valores de pH ajustados por adição de hidróxido de sódio 0,10mol.L⁻¹.

Para o estudo dos vários tipos de tampão, foram utilizadas soluções como tampão fosfato (KH₂PO₄/NaOH) obtido pela mistura de 50mL de uma solução 0,1mol.L

de KH_2PO_4 e adicionando solução 10% de NaOH até obter pH entre 3 e 12., tampão McIlvaine ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7/\text{Na}_2\text{HPO}_4$), onde o mesmo foi preparado com a mistura de 8,82 de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ com 41,17mL de Na_2HPO_4 . O tampão Sorensen ($\text{Na}_2\text{HPO}_3/\text{KH}_2\text{PO}_4$) foi obtido com mistura 60mL de NaHPO_4 com 40 mL KH_2PO_4 . [51]

Todas as soluções foram preparadas com água destilada e purificadas em um sistema Milli-Q Academic da Millipore S.A. (São Paulo-SP).

2.3. Limpeza dos materiais de vidro

Antes de cada experimento, a célula eletroquímica foi submetida a uma limpeza com solução piranha (1v H_2O_2 : 1v H_2SO_4) e depois lavada com água purificada. Este procedimento também foi utilizado na limpeza dos demais materiais de vidro empregados.

2.4 Pré-tratamento das superfícies do eletrodo de CV

A superfície do eletrodo de Carbono Vítreo foi inicialmente submetido a polimento com alumina 1,0;0,3;0,05 μm da Micropolishing Material, Buehler dispersa em um tecido de veludo. Em seguida foi lavado com água purificada e, posteriormente, levado para um sistema de banho ultrassom modelo T-7 da Thorton Inpec Eletrônica S.A. (Vinhedo-SP).

2.5. Modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo

Para o estudo de otimização dos componentes do filme, foram preparados eletrodos modificados com NiTsPc/PLL utilizando-se uma solução estoque preparada

pela mistura de volumes iguais de solução $0,012\text{mol.L}^{-1}$ do polímero e $0,8\text{mmol.L}^{-1}$ da ftalocianina tetrassulfonada de níquel.

Alíquotas de $20\mu\text{L}$ da solução estoque foram adicionadas nas superfícies do eletrodo de carbono vítreo, seguida da evaporação do solvente utilizando-se uma estufa com uma temperatura controlada a 80°C , seguida de resfriamento a temperatura ambiente.

Procedimento semelhante foi realizado na modificação do CV com CuTsPc/PLL.

2.6. Preparo da Amostra

As amostras de água do Rio Balsas-MA foram acondicionadas em frascos de polietileno, e mantidas sob refrigeração.

Para o teste de recuperação foram preparadas soluções utilizando-se como solvente a amostra da água do rio, tanto para o eletrólito suporte como para solução estoque de paraquat.

CAPÍTULO 3
RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Redução do Herbicida Paraquat usando eletrodos de carbono vítreo modificado com filme de poli-L-lisina e NiTsPc e CuTsPc.

Experimentos preliminares com voltametria cíclica foram realizados com o objetivo de se observar a presença de processos de redução e ou de oxidação do paraquat sobre as superfícies dos eletrodos de carbono vítreo e carbono vítreo modificado com NiTsPc-PLL e CuTsPc-PLL.

O estudo voltamétrico foi analisado em solução tampão fosfato pH 7,0 com concentração de $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat, na faixa de potencial de -0,3 a -1,2 V com uma velocidade de varredura de $0,05 \text{ V s}^{-1}$ vs eletrodo de calomelano saturado (ECS) a figura 8 apresenta o voltamograma obtido..

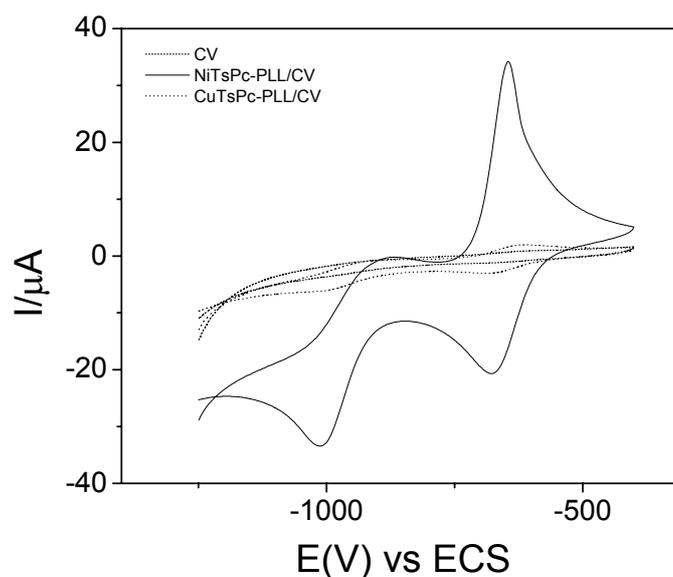


FIGURA 7: Estudo do comportamento voltamétrico, do eletrodo de carbono vítreo sem modificar, e modificado com CuTsPc-PLL, e com NiTsPc-PLL em solução tampão fosfato (pH 7) saturada com N₂; [paraquat] = 5X10⁻⁵ mol L⁻¹.

Os voltamogramas cíclicos registrados mostram, a presença de dois picos de oxidação na varredura anódica e dois picos de redução, do paraquat, localizados em torno de - 0,70 V (pico 1) e - 1,00 V (pico 2), como pode ser observado na figura 10, tanto para o eletrodo de carbono vítreo como para o eletrodo de carbono vítreo modificados. Estes picos voltamétricos estão associados a processo redox reversíveis, indicando que há uma condição de equilíbrio entre os reagentes e produtos na superfície do eletrodo, ambos estão de acordo com os valores de potenciais de pico obtidos na [52, 22, 23].

Foram publicados alguns trabalhos, [22, 27,28] que discutem o mecanismo de transferência de elétrons envolvido em cada um dos picos voltamétricos do paraquat. Ao estudarem o comportamento eletroquímico do herbicida paraquat sobre microeletrodo de ouro em Na₂SO₄ 0,10 mol L⁻¹ (pH 5,0) , utilizando a técnica de voltametria onda quadrada, [53], afirmam que o primeiro processo redox do pesticida, em torno de - 0,70 V vs Ag/AgCl, pode estar associado ao par redox $PQ^{2+} + e^- \leftrightarrow PQ^+$, e o transporte de massa ocorrido nessa reação é controlado por difusão. O processo eletródico foi seguido pela formação de um segundo pico do paraquat, próximo a - 0,93 V vs Ag/AgCl, este pico está associado a um processo de redução e oxidação quase reversível controlado por adsorção, gerando a molécula neutra: $PQ^+ + e^- \leftrightarrow PQ^0$.

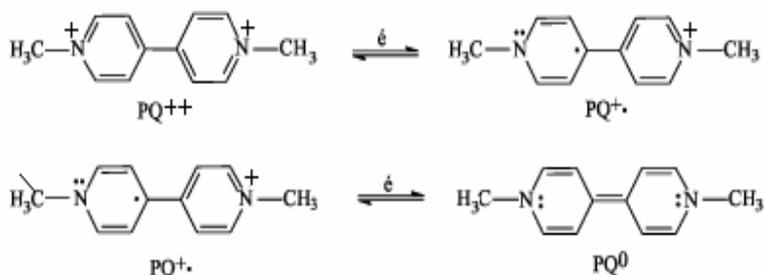


FIGURA 8:Esquema representativo da redução do herbicida paraquat retirado de Bird, C.L.; Kuhn, A.T.; *Chem. Soc. Rev.* **1981**, 10, 49

A figura 10 evidencia o contraste entre a redução de paraquat sobre eletrodo de carbono vítreo com e sem modificação. Como pode ser observado, o voltamograma obtido em eletrodo de carbono vítreo modificado com NiTsPc-PLL exibe um aumento na intensidade de corrente da ordem de 13 vezes.

Para fins de comparação, investigou-se a redução do paraquat através de voltametria de pulso diferencial, como pode ser observado na Figura 10.

A voltametria de pulso diferencial forneceu picos bem definidos além de apresentar uma boa sensibilidade, quando comparada com a voltametria cíclica. A Voltametria de Pulso Diferencial foi a técnica escolhida para este estudo.

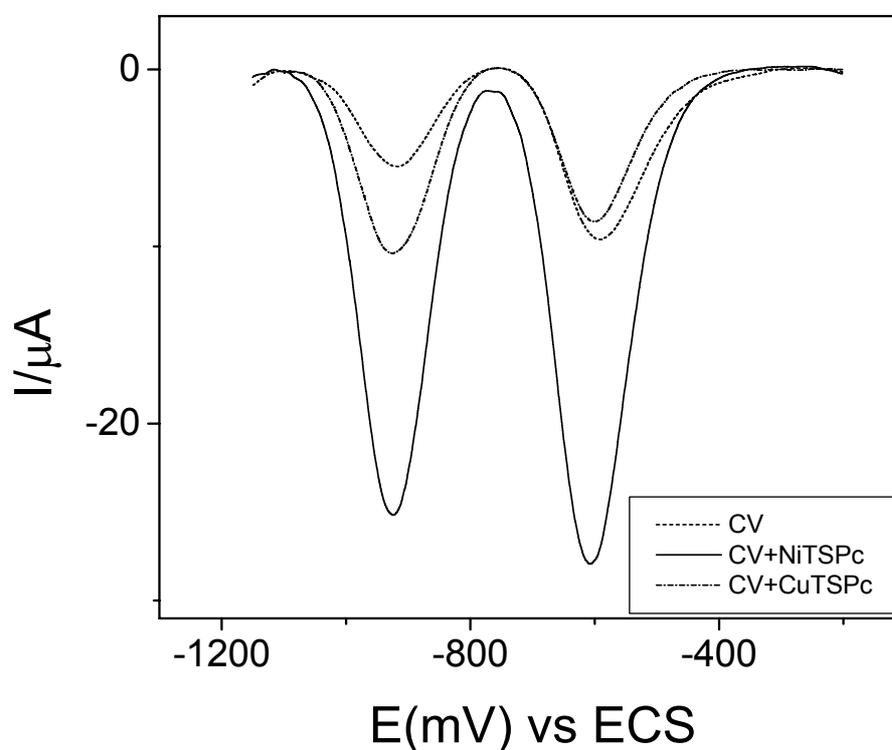


FIGURA 9: Voltametria de pulso diferencial, do eletrodo de carbono vítreo sem modificar, e modificado com CuTsPc-PLL, e com NiTsPc-PLL em solução tampão fosfato (pH 7) saturada com N_2 ; [paraquat] = 5×10^{-5} mol L^{-1} .

3.2 . Parâmetros otimizados na técnica de pulso diferencial

O estudo da redução eletroquímica de quaisquer espécies orgânicas deve levar em consideração os parâmetros envolvidos com a técnica analítica escolhida, com os respectivos dados fornecidos por estes parâmetros, e principalmente com o comportamento das espécies nos mais variados meios. A

observação das condições em que se obtém as melhores respostas voltamétricas, melhor sensibilidade e principalmente reprodutibilidade é de fundamental importância neste estudo.

Os parâmetros envolvidos foram: amplitude de pulso, velocidade de varredura e largura de pulso.

Para a obtenção das melhores condições nas medidas voltamétricas variou-se a largura de pulso 5 a 50 mV, a amplitude de 10 a 150mV, e a velocidade de varredura de potencial de 5 a 50 mV/s. As condições otimizadas em tampão fosfato 0,1 mol.L⁻¹, pH=7, foram: 125mV para amplitude de pulso, largura de pulso 25mV e 10mV/s para velocidade de varredura como pode ser observado nas figuras 10,11 E 12 respectivamente.

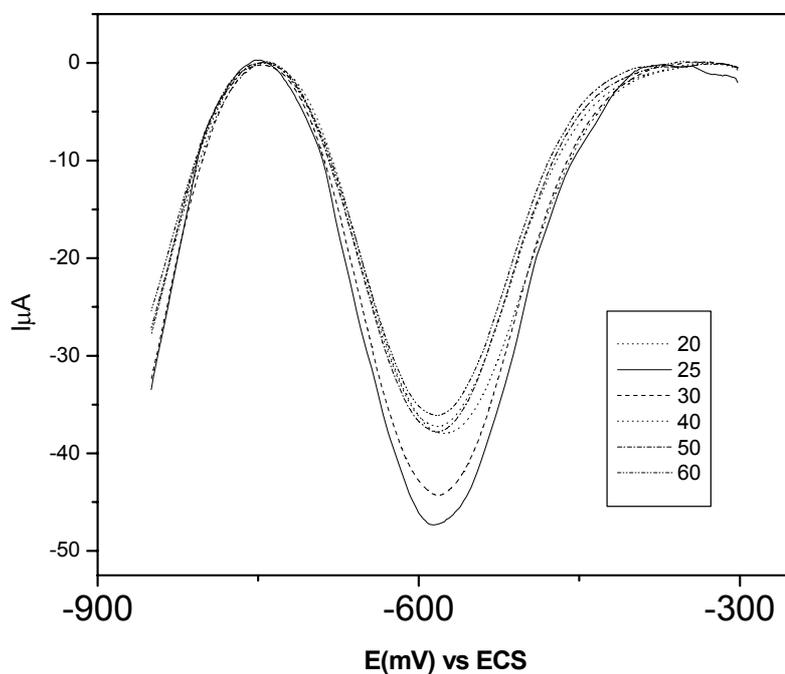


FIGURA 10: Variação da largura de pulso em solução tampão fosfato (pH 7) saturada com N_2 ; [paraquat] = 5×10^{-5} mol L^{-1} . em ($a=100$ mV, $v=10$ mv. s^{-1})

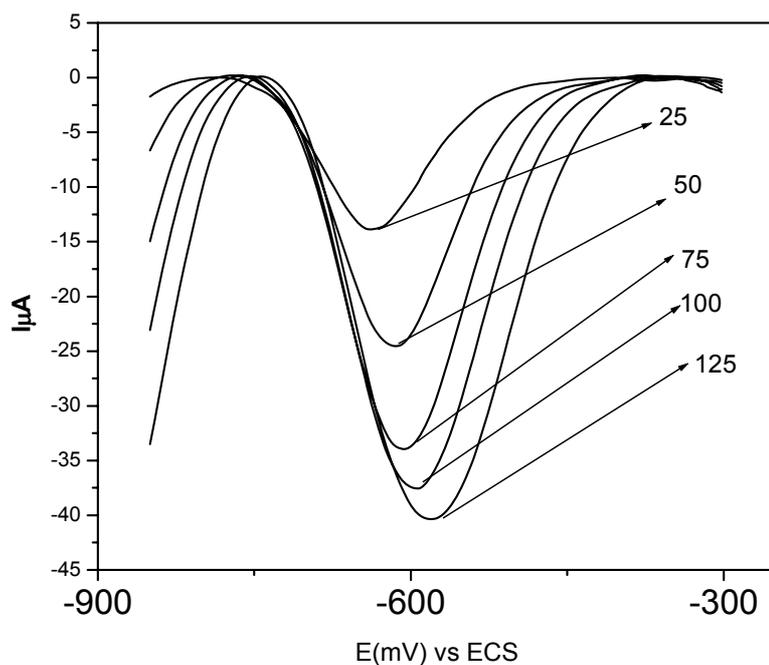


FIGURA 11: Variação da amplitude de pulso em solução tampão fosfato (pH 7) saturada com N_2 ; [paraquat] = 5×10^{-5} mol L^{-1} . em ($I_p= 25$, $v=10$).

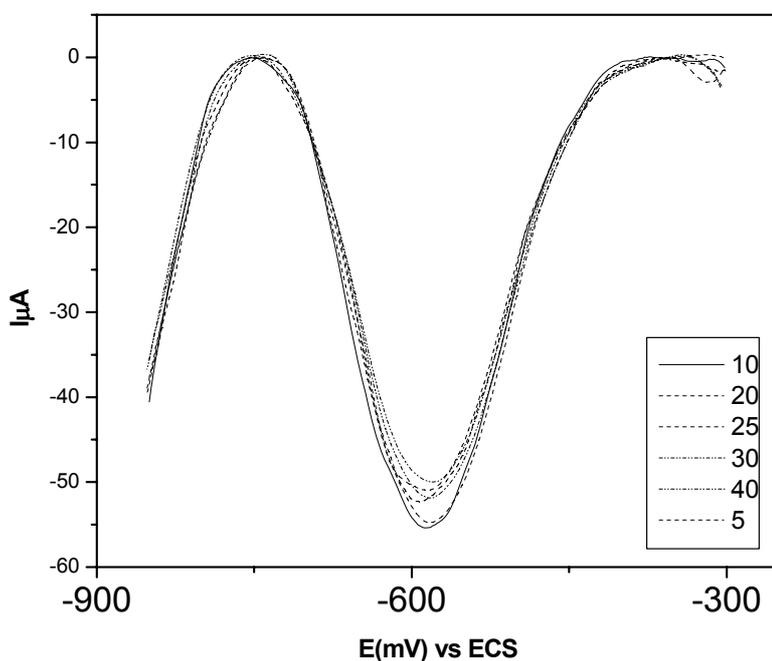


FIGURA 12: Variação da velocidade de varredura em solução tampão fosfato (pH 7) saturada com N_2 ; [paraquat] = 5×10^{-5} mol L^{-1} . em ($a=125mV$, $I_p=25$)

Para uma melhor visualização dos resultados otimizados, a tabela 1 apresenta os valores de melhor resposta para largura de pulso, amplitude de pulso e velocidade de varredura.

Tabela 1: Parâmetros otimizados para detecção do paraquat em eletrodo de carbono vitreo modificado com NiTsPc imobilizado com PLL.

Parâmetros	Amplitude de Pulso	Largura de pulso	Velocidade
Ep (mV)	125 598	25 596	10 598
Ip(μA)	42	48	45

3.3 Estudo do efeito do tipo de tampão e pH.

Os valores de potenciais de pico e corrente de pico variam de acordo com a variação do eletrólito suporte e pH do meio, conseqüentemente os limites de detecção e a sensibilidade da técnica utilizada são afetados. Por este motivo, torna-se indispensável se realizar o estudo do melhor eletrólito e pH, de maneira a observar os valores de pH onde se obtém uma resposta voltamétrica mais bem definida e uma melhor sensibilidade com relação à intensidade de correntes de pico.

3.3.1. Influência da natureza da solução tampão

O estudo sobre a influência da natureza do eletrólito suporte na resposta do sensor proposto foi realizado mediante a avaliação da redução do paraquat em tampões de concentração 0,10 mol L⁻¹: McIlvaine, Sorensen, tampão fosfato e tampão B-R, na presença de 1,00 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ de paraquat, empregando-se a técnica de pulso diferencial.

Uma análise da Tabela 2 onde estão mostrados os valores das correntes de pico (I_p) referentes aos diferentes eletrólitos estudados, indica que o tampão B-R proporcionou uma melhor resposta em termos de corrente, em relação aos outros tampões, mostrando ser o tampão B-R o mais eficiente no estudo da

oxidação do paraquat, empregando-se o eletrodo de CV modificado com NiTsPc-PLL.

TABELA 2 - Influência do tampão sobre resposta analítica (μA) na oxidação do paraquat. Medidas conduzidas em tampão $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7), saturada com N_2 ; $[\text{paraquat}] = 1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Tampão	Macllvaine	Sorensen	Fosfato	B-R
$i / \mu\text{A}$	-11,54	-17,63	-16,94	-19,43
$E_p \text{ (mV)}$	-566	-568	-568	-570

3.3.2 Influência do pH

O estudo do efeito do pH sobre a resposta do eletrodo CV modificado com NiTsPc-PLL para redução do paraquat, foi avaliado em soluções tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 5, 6, 7, 8 e 10, empregando-se as técnicas de voltametria de pulso diferencial. Foi observado, resultados bastante concordantes para valores de pH=7, onde pode ser verificado um aumento da corrente de pico e uma diminuição de potencial de pico com o aumento do pH. Acima de pH 7 ocorreu uma diminuição do sinal analítico devido, provavelmente, a desprotonação do grupo amino da PLL em soluções aquosas [54]. De acordo com o observado, pode-se dizer que o Britton-Robson (pH 7), Tabela 3, apresentou melhor resposta analítica. Este resultado está de acordo com os da literatura [55] onde o comportamento da resposta do filme está próximo de 7,0. Uma boa vantagem destes sensores com os citados na literatura, é que a maioria dos sensores emprega meios básicos

[8,58,59] para determinação de paraquat, enquanto que o sensor proposto utiliza meio neutro.

Tabela 3: influencia do pH na resposta do eletrodo de carbono vítreo modificado com NiTSPc/PLL

pH	3,0	5,0	7,0	8,0	10,0	12,0
$I_p / \mu A$	-3,54	-13,73	-22,91	-17,12	-20,38	-12,73
E_p / mV	-558	-574	-578	-556	-550	-552

3.4 Características do sensor

Após a otimização das condições experimentais, com o intuito de avaliar a possível aplicação do eletrodo NiTSPc como sensor voltamétrico para a detecção de paraquat, alíquotas consecutivas 10 μ L da solução de PQ 1,00 x 10⁻³ mol L⁻¹ foram adicionadas à solução tampão BR 0,10mol L⁻¹ (pH 7,0), em uma faixa linear de concentração de 1,00 x 10⁻⁶ a 1 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, as intensidades de I_p foram avaliadas após cada adição. A Figura 11 mostra os voltamogramas resultantes da adição das diferentes concentrações de PQ sobre eletrodo NiTSPc/PLL, onde é possível observar o aumento proporcional da corrente com o aumento da concentração do pesticida.

A dependência linear das I_p com a concentração do pesticida em solução (Figura 14) mostrou que a curva de trabalho para o PQ sobre a superfície eletródica estudada pode ser expressa pela equação matemática:

$$\Delta I/\mu\text{A} = 1,01 \text{ e-}6 (\pm 5,15) + 4,41 (\pm 0,092)[\text{PQ}]/\mu\text{mol.L}^{-1} \quad \text{equação 1}$$

Que apresentou coeficiente de correlação com um coeficiente de correlação de 0,998 para N = 9. Com este resultado foi observado que a sensibilidade obtida foi melhor que as encontradas por outros pesquisadores [8,52,53].

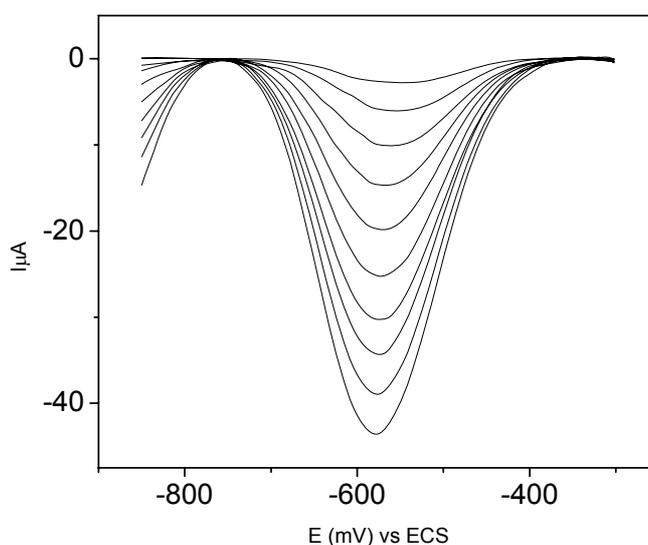


FIGURA 13 – Voltamogramas de pulso diferencial para redução do paraquat sobre eletrodo de Cv/NiTSPc/PLL em meio de tampão B-R 0,10mol.L⁻¹ (pH)=7,0, saturado com N₂ com A=125, I_p=25, v=15, numa faixa linear de concentração 1μmol L⁻¹ a 10 μmol L⁻¹

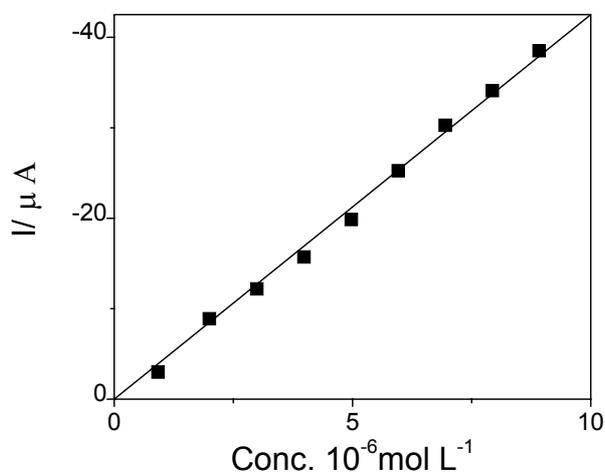


FIGURA 14 – Relação da I_p com a concentração do paraquat nas mesmas condições da figura 14.

3.5 Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados a partir do desvio padrão para 10 medidas em solução tampão B-R (pH 7), ou seja, foram consideradas as correntes do eletrodo modificado com NiTsPc-PLL, na ausência do paraquat, a fim de verificar a possibilidade de uma posterior aplicação da metodologia na análise de águas naturais.

O limite de detecção tem significado semelhante à sensibilidade e é calculado na prática, conforme recomendado por norma IUPAC, como sendo correspondente à concentração que produziria um valor do sinal medido 3 vezes maior que o nível de ruído médio medido com a solução de controle ou branco. Sendo geralmente indicado por um nível de confiança de 95%. [56]

Também pode ser definido, como a menor concentração do analito que pode ser detectada, com confiabilidade aceitável (20%), em função do limite do sistema (eletrônica, instrumental, etc.), ou seja, ruído.

O limite de quantificação (LQ) é definido como a menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitável, sob as condições experimentais estudadas.

Os resultados de LD e LQ foram calculados pelas equações 2 e 3.

$$LD = \frac{3xSb}{b} \quad (2)$$

$$LQ = \frac{10xSb}{b} \quad (3)$$

onde SD é o desvio padrão e b é o coeficiente angular da curva de trabalho [61, 62]. O desvio padrão da média das medidas do branco, na metodologia proposta, foi calculado a partir da média de 10 brancos (eletrólito suporte) tomadas no potencial equivalente àquele do pico de redução do paraquat.

Foi calculada uma média de corrente dos voltamogramas registrados, de -44,6 μA e um S_b de $1,16 \times 10^{-7}$.

Os resultados do limites LD e LQ foram de $7,58 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ($19,5 \mu\text{g L}^{-1}$) e $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($64 \mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente os valores estão dentro do recomendados da literatura e assim, esta técnica analítica se mostra apropriada para determinação do herbicida paraquat.

Os valores dos limites de detecção encontrados são próximos aos descritos na literatura, e são muito apropriados para determinação de paraquat em águas naturais, onde o limite máximo de resíduo recomendado pela EPA (Agência Ambiental Americana) é de 0,10 ppm, ou seja, 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ [57].

Na tabela 4, tem-se a comparação entre os dados de pH, sensibilidade e limite de detecção.

TABELA 4: Comparação das condições analíticas do método proposto com alguns métodos descritos na literatura.

Técnica	pH do eletrólito	Sensibilidade	LD	Ref.
SWV	pH 5,0	2,81;4,79;1,7 e-3 μA L μmol^{-1})	3,9/6,2/20,39ppb	24
SWV	pH 7,0	56,3 μA mmol	37,03ppb	59
SWV	pH 8,0	0,22 μA Lppb	0,5ppb	16
SWV	pH 7,0	10,2 μA mmol $^{-1}$	3,86ppb	26
HPLC	-	868,29Absor/ $\mu\text{g/mL}$	0,5ppb	15
DPV	pH=8,2	0,44 μA /ppb	0,7ppb	25
DPV	pH=7,0	0,514 μA /ppb	0,5ppb	23
DPV	pH=7,0	0,384 μA /ppb	3,8ppb	Este trabalho

3.6. Repetibilidade e Reprodutibilidade

Avaliou-se também a repetibilidade (máxima diferença aceitável entre repetições, na mesma amostra) e a reprodutibilidade (máxima diferença aceitável entre resultados obtidos em amostras diferentes) do sensor proposto, em termos de desvio padrão relativo. A repetibilidade foi estimada considerando-se 10 medidas sucessivas realizadas em uma mesma solução contendo $1,00 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} de paraquat. A Tabela 5 apresenta os valores das correntes de pico do PQ para a repetibilidade do eletrodo. As correntes de pico foram avaliadas e o desvio padrão relativo ou coeficiente de variação (CV) foi então calculado de acordo com a equação:

$$CV\% = S \times 100 / X \quad \text{Equação 4}$$

onde S é o desvio padrão das medidas e X é a média das medidas [56].

Tabela 5: Estudo da repetibilidade do eletrodo NiTSPc/PLL para uma solução de PQ $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} em solução tampão BR $0,10$ mol L^{-1} (pH 7,0), saturada com N_2

Replicatas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$I_p / \mu A$	47,33	45,79	48,01	48,73	46,89	46,91	47,24	47,15	46,53	44,4

A reprodutibilidade foi estudada considerando-se 5 medidas diferentes, em soluções diferentes e em 5 sensores diferentes, realizadas em dias diferentes em solução contendo $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} de PQ, nas condições consideradas

otimizadas. A Tabela 6 mostra os valores das correntes de pico do PQ para a reprodutibilidade do eletrodo proposto. De maneira semelhante à repetibilidade, as I_p foram avaliadas e o desvio padrão relativo foi então calculado de acordo com a equação 5.

Tabela 6: Estudo da reprodutibilidade do eletrodo NiTSPc/PLL para uma solução de PQ $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), saturada com N_2 .

Replicatas	1	2	3	4	5
$I_p / \mu\text{A}$	45,69	47,32	48,01	46,53	47,61

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 6 foi observado que o sensor proposto apresenta uma boa repetibilidade e reprodutibilidade, uma vez que os desvios padrões relativos encontrados para as mesmas foram inferiores a 5%.

Tabela 7: Resultados de repetibilidade e reprodutibilidade para o PQ sobre eletrodo NiTSPc/PLL.

Parâmetros	CV (%)	Quantidade de PQ utilizada (mol L^{-1})	N
Repetibilidade	2,52	$1,0 \times 10^{-5}$	10
Reprodutibilidade	2,97	$1,0 \times 10^{-5}$	5

3.6 Aplicação do sensor em amostra de águas naturais do rio Balsas-MA

O estudo de recuperação foi realizado em amostras de água do Rio Balsas que fica localizado no sul do estado do Maranhão. Nesta região da bacia do rio Balsas observam-se varias condições poluidoras da água incluindo os lançamentos de esgotos urbano in natura nos rios, agravado pelo avanço da urbanização na região, a entrada difusa de pesticidas, utilizados principalmente na produção de soja, arroz, milho, feijão, banana e abacaxi, nos corpos de água da região. Fez-se uma aplicação do pesticida paraquat em amostra do rio aplicando o método de adição de padrão.

Utilizou-se o método de adição padrão para se efetuar a recuperação devido a possibilidade de minimizar o efeito matriz nas análises das amostras de água de rio. As curvas foram construídas num intervalo de concentração de $2,49 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a $1,72 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, utilizando a amostra de água para o preparo do eletrólito e da solução estoque de paraquat. Foi observado que as curvas apresentam uma boa correlação e baixos desvio padrão.

Os parâmetros analíticos da curva Figura 15, podem ser observado na tabela 8

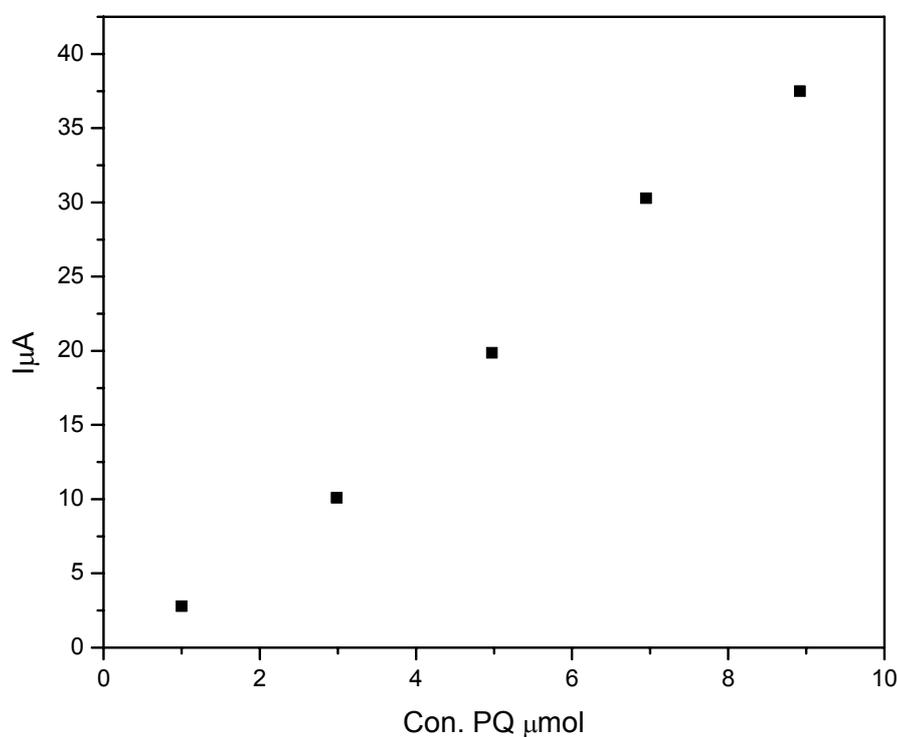


FIGURA 15 – Corrente de pico da redução do paraquat sobre eletrodo de Cv/NiTSPc/PLL vs concentração do PQ em meio de tampão B-R 0,10mol.L⁻¹ (pH)=7,0, saturado com N₂ com A=125, I_p=25, v=15,

Tabela 8: Dados obtidos da construção da curva analítica com amostra de água do rio Balsas-MA

Parâmetros	Água do Rio Balsas-MA
r^2	0,99
S_b	$1,09 \times 10^{-6}$

Para uma adicional verificação da exatidão do método desenvolvido e da interferência da matriz, foram calculados os valores de recuperação do paraquat

para a amostra de água analisada. A taxa de recuperação foi calculada pela relação percentual entre as quantidades de PQ recuperadas e adicionadas, de acordo com a equação [55]:

$$\% \text{Recuperação} = \text{recuperada} / \text{adicionada} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

As recuperações para as amostras são mostradas na Tabela 8, onde pode ser observado que não há influência da matriz no sensor desenvolvido para a amostra avaliada.

Tabela 9: Dados obtidos para o teste de adição e recuperação de paraquat em amostras de água do rio Balsas-MA .

Amostra	*PQ adicionado (µmol)	PQ recuperado (µmol)	Recuperação (%)
	2,49	2,45	98,40

*Paraquat

CAPÍTULO 5
CONCLUSÃO

4. CONCLUSÃO

O presente trabalho apresentou resultados que viabilizam a construção de um sensor para determinação de paraquat utilizando ftalocianina tetrassulfonada de níquel imobilizada com filme de poli-L-lisina.

Os estudos para o estabelecimento das melhores condições de trabalho para o sensor revelaram como parâmetros de voltametria de pulso diferencial amplitude de pulso 125mV, largura de pulso 25mV e velocidade de varredura 10mV/s.

Os estudos voltamétricos sobre a influencia do tampão e do pH indicaram que o tampão B-R e o pH=7,0 apresentam melhor resposta analítica.

A melhor composição da solução modificadora foi definida como: PLL 0,12mM e NiTsPc 0,8mM, pois além de apresentar boa estabilidade apresentou melhor resposta em termos de magnitude de corrente.

O eletrodo modificado obteve uma resposta linear de $1,00 \times 10^{-6}$ a $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ com limites de detecção e quantificação iguais a $7,58 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ($19,5 \mu\text{g L}^{-1}$) e $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($64 \mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente

O sensor proposto apresentou uma boa repetibilidade 2,52%, boa reprodutibilidade 2,97% e ainda uma recuperação 98% quando aplicado em amostras de águas naturais..

Em resumo, a simplicidade e o baixo custo para a construção do eletrodo modificado com ftalocianina tetrassulfonada imobilizada com filme de poli-l-lisina, demonstram a possibilidade de elaboração de um sensor e desenvolvimento de metodologias para determinação de paraquat.

4.1 Sugestões para trabalhos futuros.

Para dar prosseguimento aos trabalhos, para uma maior aplicabilidade do eletrodo sugere-se a investigação em amostras reais.

Sugere-se comparação deste método com o método padrão para determinação do paraquat (HPLC-UV);

Aplicação do sensor proposto em outras técnicas eletroquímicas;

Tendo em vistas a boa resposta do eletrodo para paraquat em sistema estacionário, sugere-se ainda, avaliar o comportamento desse eletrodo em um módulo de análise por injeção em fluxo para determinação desse herbicida.

-
- Verificar as respostas eletroquímicas dos eletrodos modificados com NiTsPc/PLL e CuTsPc/PLL na presença e ausência de paraquat;
 - Estudar os melhores parâmetros voltamétricos envolvidos na técnica de voltametria de pulso diferencial: Amplitude de pulso, largura de pulso e velocidade de varredura.
 - Determinar os limites de detecção e quantificação, repetibilidade e reprodutibilidade da metodologia proposta.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] FERNANDEZ-ALBA, A. R.; AGUERA, A.; CONTRERAS, M.; TEÑUELA, G.; FERRER, I.; BARCELÓ, D. Comparison of various sample handling and analytical procedures for the monitoring of pesticides and metabolites in ground waters. **J. Cromatography A**, v. 823, n. 12, p. 3547-3557, 1998.
- [2] Disponível em <http://www.fao.org/docrep/w2598e/w2598e07.htm>, acesso em 28 de Nov. 2006
- [3] Disponível em http://www.cnpdia.embrapa.br/menuleft_emb_historico.html., acessado em 23 de Nov. 2006
- [4] Ministério público do meio ambiente. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 5, DE 20 DE OUTUBRO DE 1992** disponível em [:http://www.ibama.gov.br/qualidadeambiental/madeira/in5.doc](http://www.ibama.gov.br/qualidadeambiental/madeira/in5.doc)
- [5] LARA, W. H.; BATISTA, G. C. Pesticidas. **Química Nova**, v. 2, n.15, p. 161-165, 1992
- [6] TOMITA, R.Y. **Legislação de agrotóxicos e sua contribuição para a proteção da qualidade do meio ambiente.** *Biológico*, São Paulo, v.67, n.1/2, p.1-10, jan./dez., 2005
- [7] CAVALHEIROS, D.F. **Ecotoxicologia de compostos organoclorados persistentes em um ecossistema eutrófico Represa de Barra Bonita (Médio Tietê - SP).** São Carlos, 1993. p.198. Dissertação (Mestrado).Escola de Engenharia de São Carlos, USP.
- [8] HONORÉ P, HANTSON PH, FAUVILLE JPH, PEETERS A,MAHIEU P: Paraquat poisoning: *State of the Art.* **Acta Clinica Bélgica** 1994; 49:5
- [10] Programme international sur la Sécurité des Substances chimiques. Critères d'hygiène de l'environnement 39: Paraquat et diquat. **Organisation mondiale de la santé**, Genève,1986; 15-113.
- [11] <<http://www.pan-uk.org/pesnews/actives/paraquat.htm>>. Acesso em:10 jan. 2006.
- [12] .[LHEUREUX P, LEDUC D, VAUBINST R, ASKENASI R: Survival in a case of massive paraquat ingestion. **Chest** 1995; 107(1):285-292
- [13] [RAI, M. K.; DAS, J. V.; GUPTA, V. K. A. A sensitive determination of paraquat by spectrophotometry. *Talanta*, v. 45, p. 343-348,1997
- [14] CORASANITI, M. T.; NITISCO, G. Determination of paraquat in rat brain by high-performance liquid. **Journal of Chromatography A**, v. 643, p.419-425, 1993

- [15] SAAD, B.; ARIFFIN, M.; SALEH, M. I. Flow injection potentiometric determination of paraquat in formulations and biological samples. **Talanta**, v. 47, p. 1231-1236]
- [16] WALCARIUS, A. LAMBERTS, L. Square wave voltammetric determination of paraquat and diquat in aqueous solution. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 406, p. 59-68, 1996
- [17] HENNIONA, M-C.; BARCELO, D. Strengths and limitations of immunoassays for effective and efficient use for pesticide analysis in water samples: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 362, p. 3-34, 1998
- [18] TOMITA, M. OKUYAMA, T.; NIGO, Y. Simultaneous determination of paraquat and diquat in serum using capillary electrophoresis. **Biomedical chromatography**, v.6, p. 91-94, 1992
- [19] MOYANO, E.; GAMES, D. E.; GALCERAN, M. T. determination of quaternary ammonium herbicides by capillary electrophoresis/mass spectrometry. **Rapid Community mass Spectrometry**, v. 10, p. 1379-1385, 1996.
- [20] BREZINA, M.; ZUMAN, P. Polarographic in medicine, biochemistry and pharmacy, New York, Interscience 1958.
- [21] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Principio de análise instrumental. 5 Ed. Porto Alegre. : Bookman, 2002. cap.22.
- [22] MONK, P. M. S.; TURNER, C.; AKHTAR, S. P. Electrochemical behaviour of methyl viologen in a matrix of paper. **Electrochimica Acta**, v.44, p. 4817-4826.
- [23] LU, T-H; SUN, I-W. Electrochemical determination of paraquat using a nafion film coated glassy carbon electrode. **Talanta**, v. 53, p. 443-451, 2000.
- [24] SOUZA, D. de; MACHADO, S. S. S. Estudo eletroanalítico do herbicida paraquat em soluções aquosas por voltametria de onda quadrada utilizando ultramicroeletrodos. **Química Nova**, v. 26, p. 644-647, 2003.
- [25] OLIVEIRA, U. M. F.; LICHTIG, J.; MASINE, J. C. Evaluation of a nafion coated glassy carbon electrode for determination of paraquat by differential pulse voltammetry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 735-741, 2004].
- [26] ZEN, J-M.; JENG S-H.; CHEN H-J. Determination of paraquat by square-wave voltammetry at a perfluorosulfonated ionomer/clay-modified electrode. **Analytical Chemistry**, 68, p. 498-502, 1996.

- [27] ALVAREZ, E., et al., Cathodic stripping voltammetry of paraquat on a carbon paste electrode modified with amberlite XAD-2 resin. **Analytica Chimica Acta**, v. 260, p. 19-23, 1992.],
- [28] MACIAS, J.M.P., et al. Determination of paraquat by cathodic stripping voltammetry after accumulation through the formation of an ion pair on a hanging mercury drop electrode. **Electroanalysis**, v. 5, p.79-83, 1993.
- [29] -LAWRENCE,N.S.; BECRET E. L.; DAVIS, J. COMPOTION, R. G., Advances in the voltametric analysis of small biologically, relevant compounds. *Anal. Biochem.* V. 303. p1, 2002;
- [30]-WANG, J. Electrochemical detection for microscale analytical system: a review. **Talanta**. V. 56, p. 225, 2000;
- [31] DINH, V. CULLUM, B.; Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostico. *J. Anal. Chem.* V. 366, p.540, 2000.
- [32] ROSATTO, S. S.; FREIRE, R. S.; DURAN, N.; KUBOTA, L. T. Biossensores amperométricos para determinação de compostos fenólicos em amostras de interesses ambientais. **Química Nova**. V. 24, p. 77, 2001.
- [33] WANG, J. Modified Electrodes for electrochemical sensors. **Eletroanalysis**. V.3, p. 225, 1991
- [34] MURRAY, R. W.; TESS, M. E.; CUMMINGS, T. E. Electroanalytical methods base don modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**. V. 47, p. 1882-1886, 1975..
- [35] MURRAY, R. W.; EWING, A. G.; DURT, A. R. **Chemically modified Electrodes molecular Desing for Electroanalysis**, *Anal. Chem.*, v. 59, n. 5, p. 379^a, 1987.
- [36] CRUMBLISS, A. L., S. C.; STONE HUERNER, J.; TUBERGEN, K. R.; ZHAO, J.; HENKENS, R. W.; Colloidal Gold, as a biocompatible immobilization Matrix Suitable for the fabrication of enzyme electrodes by electrodeposition biotechnol v.40, p.485-490,1992.
- [37] KATZ, E.; LOTZBEYER, T.; SCHLERETH, D. D.; SCHUHMANN, W.; SCHMIDT, H-L. Electrocatalytic oxidation of reduced nicodinamide coenzymes at gold and platinum electrode surfaces modified with a monolayer of pyrroloquinoline quinone. Effect of Ca²⁺ cations. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 373, p.189. 1994
- [38] WILKINS, E.; ATANASOV, P. Glucose monitoring: state of the art and future possibilities. **Medical Engineering and Physics** v. 18, p. 273. 1996

- [39] UDOMSOPAGIT, S.; SUPHANTHARIKA, M.; KUNNECKE, W.; BILITEWSKI, U.; BHUMIRATANA A. Determination of l-glutamate in various commercial soy sauce products using flow injection analysis with a modified electrode. **World Journal Microbiological Biotechnol**, v. 14, p. 543. 1998
- [40] DAMOS, F. S.; SOTOMAYOR, M. D. T.; KUBOTA, L. T.; TANAKA, S. M. C. N.; TANAKA, A. A. Iron (III) tetra-(N-methyl-4-pyridyl)-porphyrin as a biomimetic catalyst of horseradish peroxidase on the electrode surface: An amperometric sensor for phenolic compound determinations. **Analyst**, v. 128, p. 255. 2003
- [41] PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalítica. **Química Nova**, v. 25, p. 1012. 2002
- [42] MUTHUKUMA, M. Theory of counter-ion condensation on flexible polyelectrodes: adsorption mechanism. *J. Chem. Phys.* V, 120, p. 9343-9350, 2004
- [43] KUBOTA, L. T. and et al. Development of sensor baseado n tetracyanoethylenide (LiTCNE)/ poly-L-lysine (PLL) for dopamine determination. **Electrochimica Acta** rever o artigo
- [44] KIM, S. W.; and et al. Polyethylene glycol-grafted poly-L-lysine as polymeric gene carrier. **Journal of controlled release**. v. 54, p. 39, 1998
- [45] TODD, W. J.; BAILLY, F.; PAVEZ, J.; FAGUY, P. W.; BALDWIN, R. P.; BUCHANAN, R. M. Electrochemically induced metalation of polymeric phthalocyanines. **Journal of American Chemistry Society**, v. 120, p. 4887. 1998
- [46] LIU, M. O.; TAI, C. - H.; SAIN, M. - Z.; HU, A. T.; CHOU, F. - I. Photodynamic applications of phthalocyanines. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 165, p. 131. 2004.].
- [47] CHALK, S. G.; PATIL, P. G.; VENKATESWARAN, S. R. The new generation of vehicles: market opportunities for fuel cells. **Journal of Power Sources**, v. 61, p. 7. 1996.
- [48] MEYERS, I.; ROBERT, A., Pulse Voltammetry, Encyclopedia of analytical chemistry-applications, theory and instrumentation, V. 11, 2000, p. 10010-10032;
- [49] BRETT, ANA M. O.; BRETT, CHRISTOPHER, M. A. –Eletroquímica-Princípios, Métodos e Aplicações, Livraria Almedina, Coimbra, 1996;
- [50] disponível em <http://www.ishtar.iqm.unicamp.br/downloads/chemkeys/voltametria>
- [51] MORITA, TOKIO; ASSUNÇÃO, ROSELY. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes**. Ed. 2º. P. 222, 1972

-
- [52] SOUZA, D. de; MACHADO, S. A. S. Electrochemical detection of the herbicide paraquat in natural water and citric fruit juices using microelectrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 546, p. 85-91, 2005.
- [53] ZANONI, M. B.; FOGG, A. G. ; PEREIRA, F.C. Regeneration of poly-L-lysine modified carbon electrodes in the accumulation and cathodic stripping voltametric determination of cromoglycate anion. **Talanta**. V. 60, p. 1023, 2003
- [54] LEONIDAS, A. **Determinação do nitrito com ftalocianinas tetrassulfonadas de cobre em níquel imobilizadas com filme de poli-L-lisina/São Luis**. 2005 p.86. Dissertação (mestrado)Universidade Federal do Maranhão.
- [55] LEITE, F. **Validação em análise química**. 3º ed., São Paulo: Átomo, 1998.224p]
- [57] Federal Register Environmental Documents. Disponível em: <<http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-PEST/1997/August/Day-29/p23094.htm>>. Acesso em: 10 Nov. 2005.
- [58] BRITO, N.M., et al. Validação de métodos analíticos: Estratégia e Discussão. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. E meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 129-146, jan/Dez., 2003.
- [59] Lopes, Ilanna Campelo. **Determinação do herbicida paraquat sobre eletrodos de grafite pirolítico modificados com ftalocianina de cobalto utilizando voltametria de onda quadrada / São Luís**, 2006. p.197. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Maranhão.