

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

**DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DO HERBICIDA
PARAQUAT EM SOLUÇÕES AQUOSAS SOBRE ELETRODOS
MODIFICADOS COM O SISTEMA QUITOSANA - NiTsPc**

GLÁUCIA TINOCO CORRÊA

São Luís

2013

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

**DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DO HERBICIDA
PARAQUAT EM SOLUÇÕES AQUOSAS SOBRE ELETRODOS
MODIFICADOS COM O SISTEMA QUITOSANA - NiTsPc**

GLÁUCIA TINOCO CORRÊA

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

2013

Corrêa, Gláucia Tinoco.

Determinação eletroanalítica do herbicida paraquat em soluções aquosas sobre eletrodos modificados com o sistema quitosana - NiTsPc/ Gláucia Tinoco Corrêa. – São Luís, 2013.

87 f.

Impresso por computador (fotocópia).

Orientador: Auro Atsushi Tanaka.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.

1. Eletroquímica. 2. Herbicida paraquat. 3. Quitosana I. Título.

CDU 541.13

**DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DO HERBICIDA
PARAQUAT EM SOLUÇÕES AQUOSAS SOBRE ELETRODOS
MODIFICADOS COM O SISTEMA QUITOSANA - NiTsPc**

Gláucia Tinoco Corrêa

BANCA EXAMINADORA:

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

Prof. Dr. Gilmar Silvério Batista da Silva
DAQ - IFMA

Profa. Dra. Maria Valnice Boldrin Zanoni
IQ – UNESP / Araraquara

Dedico este trabalho

*A meus pais Rosalina e Werberthe e a minha irmã
Glárys, por todo apoio, confiança e dedicação em todos os
momentos da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, primeiramente, que me concedeu o dom da vida, por ser meu guia e sempre iluminar o meu caminho;

A minha família, pelo amor e incentivo oferecido por toda a minha vida pessoal e acadêmica;

Ao meu namorado Gilvan Dias, em especial, pelo seu amor, compreensão e carinho;

Ao meu orientador Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka, meu especial agradecimento pela oportunidade concedida, pelo incentivo e ensinamentos no decorrer do trabalho;

À Prof. Dra. Sônia Tanaka, pela amizade, colaboração no desenvolvimento da dissertação;

Ao Prof. Dr. Roberto Lima, pela colaboração na discussão dos resultados do infravermelho;

À Prof. Dra. Quésia Guedes, pela sua amizade construída, apoio e colaboração no decorrer do trabalho;

Aos amigos do Laboratório de Eletroquímica;

Ao laboratório da Unicamp, principalmente ao Prof. Dr. Lauro Kubota e Jailson Dias por ter ajudado nos experimentos de infravermelho e cromatografia;

Aos professores da Pós-graduação em Química da UFMA;

A CAPES pela bolsa concedida.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

Um eletrodo de carbono vítreo (CV) modificado com ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc) e/ou quitosana (QT) foi utilizado para a determinação do paraquat (PQ) em soluções aquosas com as técnicas de voltametria cíclica (VC), de pulso diferencial (VPD) e de onda quadrada. Os experimentos com VC em soluções tampão fosfato (pH 7) contendo PQ apresentou um pico reversível em potenciais próximos a -0,70 V vs Ag/AgCl. Além disso, para o processo de redução do PQ, um deslocamento de cerca de 100 mV no início do potencial foi observado correntes muito maiores com o eletrodo CV/QT-NiTsPc em comparação com os resultados registrados com o eletrodo CV/QT. O filme foi caracterizado por espectroscopia na região do infravermelho (IR), o que tornou possível analisar as interações entre os compostos do filme. Após estabelecer as melhores condições para modificação do eletrodo de CV (concentrações de QT e NiTsPc) e também as condições do eletrólito (pH e a natureza da solução tampão), os parâmetros das técnicas de VC, VPD e VOQ foram estudados e otimizados. As curvas analíticas obtidas para as técnicas estudadas apresentaram boa linearidade e alta sensibilidade. A técnica de VOQ foi escolhida por apresentar melhores valores de LD e LQ. O método proposto foi aplicado com sucesso em amostras de águas naturais, obtendo-se recuperação de 101,33 % concordante com os resultados obtidos através dos experimentos cromatográficos para quantificação de PQ.

Palavras chave: paraquat, ftalocianina tetrassulfonada de níquel, quitosana.

ABSTRACT

A glassy carbon electrode (GC) modified with nickel tetrasulfonated phthalocyanine (NiTsPc) and chitosan (CT) film was used to determine paraquat (PQ) in aqueous solutions with cyclic (CV), differential pulse (DPV) and square wave (SWV) voltammetry techniques. The cyclic voltammetry experiments in phosphate buffer solutions (pH 7) containing PQ showed a reversible peak near - 0,70 V vs Ag/AgCl on the GC/QT-NiTsPc electrode, shifted to about 100 mV to less positive value and with much higher reduction currents as compared to the data recorded on the GC/CT electrode. The CT-NiTsPc film was characterized by infrared spectroscopy. The best experimental conditions to modify the GC electrode with the CT-NiTsPc films and to determine PQ with the CV, DPV and SWV techniques were established. The analytical curves obtained with the SWV technique presented the best detection and quantification limits and it was successfully used to determine PQ in natural water with 101,33 % recovery and in agreement with the results obtained with high-performance liquid chromatography.

Keywords: paraquat, nickel tetrasulfonated phthalocyanine, chitosan.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 Fórmula estrutural do herbicida paraquat..... | 07 |
| Figura 2 Estrutura da quitosana | 13 |
| Figura 3 Estrutura da quitina | 13 |
| Figura 4 Estrutura da ftalocianina na forma ácida (H ₂ Pc)..... | 15 |
| Figura 5 Estrutura de uma metaloftalocianina (MPc), onde M representa um metal..... | 15 |
| Figura 6 Estrutura da ftalocianina tetrassulfonada de níquel..... | 17 |
| Figura 7 Célula eletroquímica..... | 20 |
| Figura 8 Espectros na região do infravermelho do composto NiTsPc, do filme de QT e do sistema QT-NiTsPc depositados sobre uma janela ótica de CaF ₂ | 31 |
| Figura 9 Voltamogramas cíclicos dos eletrodos CV, CV/QT e CV/QT-NiTsPc em uma solução 0,1 mol L ⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,0) na presença de 5,0x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de PQ | 33 |
| Figura 10 Voltamogramas cíclicos registrados 0,1 V s ⁻¹ sobre o eletrodo CV modificado com filmes QT/NiTsPc preparados a partir de uma solução contendo 1,0x10 ⁻³ mol L ⁻¹ de NiTsPc e diferentes concentrações de QT. Eletrólito: solução tampão fosfato (pH 7,0) contendo 5,0x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de PQ | 34 |
| Figura 11 Voltamogramas cíclicos registrados 0,1 V s ⁻¹ sobre o eletrodo CV modificado com filmes QT/NiTsPc preparados a partir de uma solução contendo 1,6x10 ⁻³ mol L ⁻¹ de QT e diferentes concentrações de NiTsPc. Eletrólito: solução tampão fosfato (pH 7,0) contendo 5,0x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de PQ | 36 |
| Figura 12 Voltamogramas cíclicos de paraquat do eletrodo CV modificado com QT/NiTsPc para 0,1 V s ⁻¹ numa solução tampão fosfato..... | 37 |

- Figura 13** Voltamogramas cíclicos do eletrodo CV/QT-NiTsPc registrados em diferentes soluções tampão de pH 7 contendo $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de PQ. $v = 0,1$ V s⁻¹ 38
- Figura 14** Voltamogramas cíclicos do eletrodo CV/QT-NiTsPc registrados em diferentes concentrações da solução tampão fosfato de pH 7 contendo $7,4 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de PQ. $v = 0,1$ V s⁻¹ 39
- Figura 15** Voltamogramas de varredura linear de redução de PQ registrados sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em diferentes velocidades de varredura do potencial. Solução tampão fosfato (pH 7) contendo $2,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de PQ... 40
- Figura 16** Relação entre corrente de pico e velocidade de varredura, para paraquat $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em solução tampão fosfato de pH 7. (A): I vs. $v^{1/2}$, $I = 3,6 \times 10^{-6} A + 9,0 \times 10^{-7} v^{1/2} (mV s^{-1})^{1/2}$, $r = 0,9935$ (B): $\log I$ vs. $\log v$, $I = -5,500 \mu A + 0,33 v (mV s^{-1})$, $r = 0,9999$ 41
- Figura 17** Voltamogramas cíclicos de PQ registrados sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc após adições sucessivas de 20 μ L de solução $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de PQ e em uma solução tampão fosfato (pH 7,0). $v = 0,1$ V s⁻¹ 43
- Figura 18** Curva analítica obtida para a detecção de PQ por VC com o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução tampão fosfato pH (7,0). 44
- Figura 19** Voltamogramas de pulso diferencial para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1$ mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,0). Amplitude de pulso de 0,05 mV, velocidade de 0,005 V s⁻¹ e tempo de duração do pulso de 30 ms 47
- Figura 20** Voltamogramas de pulso diferencial para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1$ mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para amplitudes de pulso variando entre 0,01 e 0,1 V. Tempo de duração do pulso de 30 ms e velocidade de varredura do potencial de 0,005 V s⁻¹ 48
- Figura 21** Voltamogramas de pulso diferencial para a redução de PQ sobre o

eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para velocidade de varredura do potencial variando entre $0,005 \text{ V s}^{-1}$ a $0,015 \text{ V s}^{-1}$. Amplitude de pulso de $0,05 \text{ V}$ e tempo de duração do pulso de 30 ms 49

Figura 22 Voltamogramas de pulso diferencial para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para tempo de duração do pulso variando entre 20 ms a 70 ms . Amplitude de pulso de $0,05 \text{ V}$ e velocidade de $0,015 \text{ V s}^{-1}$ 50

Figura 23 Voltamogramas de pulso diferencial para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para tempo de duração do pulso variando entre 20 ms a 70 ms . Amplitude de pulso de $0,05 \text{ V}$ e velocidade de $0,015 \text{ V s}^{-1}$ 52

Figura 24 Curva analítica obtida para PQ em tampão fosfato pH (7,0) com eletrodo CV modificado com QT/NiTsPc 53

Figura 25 Componentes de corrente para PQ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0). Frequência de aplicação dos pulsos de 30 ms , amplitude de pulsos de $0,05 \text{ V}$ e incremento de varredura de $0,001 \text{ V}$ 56

Figura 26 Voltamogramas de onda quadrada para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para frequência variando entre 5 a 40 ms . Amplitude de pulso de $0,05 \text{ V}$ e incremento de 3 mV 58

Figura 27 Voltamogramas de onda quadrada para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para amplitude de pulsos variando entre $0,01$ a $0,07 \text{ V}$. Frequência de 30 ms e incremento de 3 mV 60

Figura 28 Voltamogramas de onda quadrada para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0),

- registrados para incremento variando entre 0,001 a 0,007 V. Frequência de 30 ms e amplitude de pulso de 0,05 V 61
- Figura 29** Voltamogramas de Onda Quadrada de PQ registrados sobre eletrodo CV/QT-NiTSPc para adições sucessivas de 10 μL de uma solução PQ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato (pH 7,0). Frequência de aplicação dos pulsos de 30 ms, amplitude de pulsos de 0,05 V e incremento de varredura de 0,001 V 63
- Figura 30** Curva analítica obtida para PQ em tampão fosfato pH (7,0) com eletrodo CV modificado com QT/NiTSPc 64
- Figura 31** Cromatograma obtido por CLAE-UV para uma solução padrão de Paraquat, comprimento de onda de 257 nm, fase móvel foi de 13,5 mL de ácido ortofosfórico, 10,3 mL de dietilamina e 3,0 g de ácido 1-hexanosulfônico, tempo de retenção de 4,3 min. **(B)** Cromatograma obtido por CLAE-UV para a amostra de água natural, comprimento de onda de 257 nm, fase móvel foi de 13,5 mL de ácido ortofosfórico, 10,3 mL de dietilamina e 3,0 g de ácido 1-hexanosulfônico, tempo de retenção de 4,3 min..... 70
- Figura 32** Curva de adição de padrão com a dependência da área do pico cromatográfico, com a concentração do PQ. $A = 752,56 + 2,47 \times 10^{10} [\text{PQ}]$, $r = 0,9979$ 72
- Figura 33** Curva analítica com a dependência da área do pico cromatográfico, com a concentração do PQ $A = 8351,089 + 2,506 \times 10^{10} [\text{PQ}]$, $r = 0,9956$ 73
- Figura 34** Voltamogramas de onda quadrada de PQ sobre eletrodo CV/QT-NiTSPc, em meio de 30 μL da amostra de água contaminada artificialmente com PQ + 20 mL de uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0). **(B)**: Curva de recuperação obtida a partir dos valores médios das correntes de pico ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, com $r = 0,9958$. Frequência de aplicação dos pulsos de 30 s^{-1} , amplitude de pulsos de 0,05 V e incremento de varredura de 0,001 V..... 76

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------------|---|----|
| Tabela 1 | Classe toxicológica e cor da faixa no rótulo de produto agrotóxico..... | 4 |
| Tabela 2 | Classificação dos pesticidas em função da finalidade de uso..... | 5 |
| Tabela 3 | Classificação de alguns Pesticidas em função de sua estrutura química e finalidade de uso | 6 |
| Tabela 4 | Atribuições das principais bandas localizadas nos espectros na região do infravermelho do composto NiTsPc, do filme de QT e do sistema QT-NiTsPc depositados sobre uma janela ótica de CaF ₂ | 31 |
| Tabela 5 | Sensibilidades obtidas através da curva analítica para o paraquat empregando o eletrodo modificado com CV/QT-NiTSPc..... | 65 |
| Tabela 6 | Estudos de repetibilidade para PQ $2,49 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ , sobre eletrodo CV/QT-NiTSPc, em uma solução tampão fosfato (pH 7,0). Frequência de aplicação dos pulsos de 30 ms, amplitude de pulsos de 0,05 V e incremento de varredura de 0,001 V..... | 68 |
| Tabela 7 | Estudos de precisão intermediária para PQ $2,49 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ , sobre eletrodo CV/QT-NiTSPc, em uma solução tampão fosfato (pH 7,0). Frequência de aplicação dos pulsos de 30 ms, amplitude de pulsos de 0,05 V e incremento de varredura de 0,001 V..... | 69 |
| Tabela 8 | Parâmetros analíticos para determinação de PQ por CLAE-UV e voltametria de onda quadrada sobre superfície de CV/QT-NiTsPc..... | 74 |

| | | |
|------------------|--|----|
| Tabela 9 | Dados obtidos para o teste de adição e recuperação de paraquat em amostra de água natural contaminada artificialmente..... | 77 |
| Tabela 10 | Comparação das condições analíticas do método proposto com alguns métodos descritos na literatura..... | 78 |

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

| | |
|--------------------|--|
| PQ | Paraquat |
| MV | Methyl viologen |
| $C_2H_{14}Cl_2N_2$ | 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridílio-dicloreto |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| DL ₅₀ | Dose letal a 50% |
| DDT | Dicloro-Difenil-Tricloroetano |
| LMR | Limites de resíduos permitidos |
| UV | Ultravioleta |
| CE – UV | Eletroforese capilar com detecção ultravioleta |
| CE – MS | Eletroforese capilar com espectrometria de massa |
| EQM's | Eletrodos quimicamente modificados |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |

| | |
|--|--|
| QT | Quitosana |
| OH | Hidroxil |
| NH ₂ | Amino |
| H ₂ P _C | Ftalocianina na forma ácida |
| MP _C | Metaloftalocianina |
| NiTsPc | Ftalocianina tetrassulfonada de níquel |
| / | Modificado |
| Ag/AgCl | Eletrodo de prata / cloreto de prata |
| KCl | Cloreto de potássio |
| NaOH | Hidróxido de sódio |
| Na ₂ HPO ₄ | Fosfato de sódio dibásico anidro |
| C ₆ H ₈ O ₇ | Ácido cítrico |
| KH ₂ PO ₄ /K ₂ HPO ₄ | Tampão fosfato |
| K ₂ PO ₄ /NaOH | Tampão de fosfato de potássio - hidróxido de sódio |

| | |
|--|------------------------------|
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ | Mcllvaine |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ | Sörensen |
| $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4/\text{NaOH}$ | Ftalato ácido de potássio |
| $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{HCl}$ | Kolthoff |
| KMNO_4 | Permanganato de potássio |
| H_2SO_4 | Ácido sulfúrico |
| H_2O_2 | Peróxido de hidrogênio |
| ΔI | Variação da corrente de pico |
| σ | Desvio padrão |
| LD | Limite de detecção |
| LQ | Limite de quantificação |
| S | Coefficiente angular |
| VC | Voltametria cíclica |

| | |
|---------------|--------------------------------------|
| VPD | Voltametria de pulso diferencial |
| a | Amplitude de pulso |
| t_p | Tempo de duração do pulso |
| v | Velocidade de varredura do potencial |
| V | Volt |
| vs | Versus |
| μA | Microampère |

SUMÁRIO

| | p. |
|--|-----------|
| RESUMO..... | I |
| ABSTRACT..... | li |
| LISTA DE FIGURAS..... | lii |
| LISTA DE TABELAS..... | Viii |
| LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS..... | X |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 1.1 Considerações Gerais sobre Pesticidas..... | 1 |
| 1.2 Impactos dos Pesticidas à Saúde Humana..... | 2 |
| 1.3 Impactos dos Pesticidas no Meio Ambiente..... | 3 |
| 1.4 Classificação dos Pesticidas..... | 3 |
| 1.4.1 Classificação dos Pesticidas por Periculosidade..... | 4 |
| 1.4.2 Classificação dos Pesticidas por Finalidade de Uso..... | 5 |
| 1.4.3 Classificação dos Pesticidas em função de sua estrutura química e finalidade de uso..... | 6 |
| 1.5 Herbicida Paraquat..... | 7 |
| 1.5.1 Aspectos Analíticos na Determinação de Paraquat..... | 9 |
| 1.6 Eletrodos Quimicamente Modificados..... | 10 |
| 1.6.1 Eletrodos modificados com o biopolímero quitosana..... | 12 |
| 1.7 Desenvolvimentos de sensores a base de metaloflatoxianinas | 14 |
| 1.8 Sensores Eletroquímicos..... | 17 |

| | |
|---|-----------|
| 2. Objetivos..... | 19 |
| 2.1 Objetivo Gerais..... | 19 |
| 2.2 Objetivos Específicos..... | 19 |
| 3. PARTE EXPERIMENTAL..... | 20 |
| 3.1 Célula eletroquímica..... | 20 |
| 3.2 Eletrodos..... | 21 |
| 3.3 Medidas eletroquímicas..... | 21 |
| 3.4 Medidas espectroscópicas na região do infravermelho..... | 21 |
| 3.5 Reagentes e Soluções..... | 22 |
| 3.6 Pré-tratamento da superfície do eletrodo CV..... | 23 |
| 3.7 Procedimento para a modificação da superfície do eletrodo CV..... | 23 |
| 3.8 Limpeza da Vidraria..... | 24 |
| 3.9 Metodologia de trabalho..... | 24 |
| 3.9.1 Teste de Eletroatividade..... | 24 |
| 3.9.2 Influência do pH..... | 25 |
| 3.9.3 Influência da solução tampão..... | 25 |
| 3.9.4 Influência da concentração da solução tampão fosfato..... | 25 |
| 3.9.5 Escolha da melhor técnica para redução de Paraquat..... | 25 |
| 3.9.6 Avaliação dos parâmetros voltamétricos..... | 26 |
| 3.9.7 Desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de paraquat..... | 28 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 3.9.8 | Determinação de paraquat por cromatografia líquida de alta eficiência..... | 28 |
| 3.9.9 | Aplicação da metodologia para a detecção do paraquat em águas naturais - Estuário de Quebra - Pote (MA)..... | 29 |
| 4. | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 30 |
| 4.1 | Caracterização dos filmes QT, NiTsPc e QT-NiTsPc por espectroscopia no infravermelho..... | 30 |
| 4.2 | Determinação voltamétrica do paraquat (PQ) sobre eletrodos de carbono vítreo não-modificado (CV), modificado com quitosana (CV/QT) e modificado com QT e ftalocianina tetrassulfonada de níquel (CV/QT-NiTsPc)..... | 32 |
| 4.2.1 | Influências das concentrações de QT e NiTsPc no comportamento voltamétrico do eletrodo CV modificado para a determinação de PQ..... | 33 |
| 4.2.2 | Influência do pH e solução tampão sobre a corrente de pico do paraquat..... | 36 |
| 4.2.3 | Estudos sobre o mecanismo de redução do PQt sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc..... | 39 |
| 4.2.4 | Curva analítica..... | 42 |
| 4.2 | Determinação de PQ sobre eletrodos CV/QT-BNiTsPc com a técnica de voltametria de pulso diferencial..... | 46 |
| 4.3.1 | Variação da amplitude de pulso..... | 48 |
| 4.3.2 | Variação da velocidade de varredura do potencial..... | 49 |
| 4.3.3 | Variação do tempo de duração do pulso..... | 50 |
| 4.3.4 | Curva analítica..... | 51 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.4 | Determinação de PQ sobre eletrodos CV/QT-NiTsPc com a técnica de voltametria de onda quadrada..... | 54 |
| 4.4.1 | Componentes de corrente..... | 55 |
| 4.4.2 | Frequência de aplicação dos pulsos..... | 57 |
| 4.4.3 | Amplitude de pulsos..... | 58 |
| 4.4.4 | Incremento de varredura..... | 60 |
| 4.4.5 | Curva analítica..... | 62 |
| 4.5 | Avaliação da precisão da metodologia por ensaios de Repetibilidade e Precisão intermediária..... | 67 |
| 4.5.1 | Repetibilidade | 67 |
| 4.5.2 | Precisão intermediária..... | 68 |
| 4.6 | Comparação entre a metodologia eletroanalítica e cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV..... | 69 |
| 4.7 | Aplicação da metodologia proposta para a determinação de paraquat em amostras reais..... | 75 |
| 4.7.1 | 4.7.1 Aplicação em águas naturais - Estuário de Quebra - Pote (MA)..... | 75 |
| 4.8 | Comparação das condições analíticas do método proposto com valores reportados na literatura para a detecção eletroanalítica de PQ em soluções aquosas..... | 77 |
| 5. | CONCLUSÃO..... | 79 |
| 6. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 81 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais sobre Pesticidas

Nos últimos anos, com a crescente demanda do plantio de monoculturas e a destruição da diversidade, resultado do crescimento populacional, se fez necessário a utilização de produtos destinados a aumentar cada vez mais, o rendimento das colheitas em todo o mundo. Assim, a utilização de substâncias conhecidas como pesticidas tem se tornado uma prática que vem aumentando abruptamente em todos os tipos de plantações.

Em geral, o termo pesticida inclui substâncias usadas como reguladores no crescimento de plantas, desfolheantes, dessecantes, ou agentes preventivos à ação de quaisquer espécies indesejáveis que interfiram na produção, processamento, estocagem, transporte e comércio de alimentos, produtos agrícolas, madeira e produtos derivados da madeira.

A utilização do termo pesticida acarreta algumas divergências entre diferentes grupos de trabalho quanto à sua denominação correta. As indústrias produtoras as chamam de defensivos agrícolas, os agricultores de pesticidas, os ambientalistas de agrotóxicos e os químicos de pesticidas [1].

Os pesticidas são extensivamente aplicados para proteger plantas de doenças, ervas daninhas, insetos etc., e geralmente entram em contato com o solo onde sofrem uma variedade de transformações que resultam em um padrão complexo de metabólitos. Essas substâncias, no solo, continuam a ser mais estudadas do que qualquer outro contaminante ambiental, devido as proporções de sua utilização. Existe

também um aumento de interesse nos seus produtos de transformação, por poderem estar presentes em níveis mais elevados no solo do que no próprio pesticida [2].

A atividade biológica de um herbicida é função da absorção, translocação, metabolismo e suscetibilidade da planta a este herbicida. Portanto, a dose de um herbicida requerida para o controle de plantas daninhas varia em função da espécie, do estágio de desenvolvimento da planta e de sua atividade metabólica no momento da aplicação [3].

1.2 Impactos dos Pesticidas à Saúde Humana

Embora seja evidente a importância de agrotóxicos no sistema produtivo, sua aplicação pode gerar grandes problemas para a saúde e para o meio ambiente. Os pesticidas são tóxicos, podem ser carcinogênicos, mutagênicos e mimetizadores de hormônios. Normalmente são aplicados em grandes quantidades, em áreas bastantes extensas e geralmente, possuem persistência no meio ambiente. A Organização Mundial da Saúde calcula em 20 mil, o número anual de óbitos em consequência da manipulação, inalação e consumo indireto de pesticidas, a maioria em países de terceiro mundo [4, 5].

Segundo Ribas e Matsumura [6], dentre todos os casos de impactos sobre organismos específicos, os seres humanos são os mais afetados por contaminação de águas e solo. Dados apresentados pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) [7], mostram que a segunda causa maior de intoxicação em seres humanos é por pesticidas, perdendo apenas para intoxicação por medicamentos.

1.3 Impactos dos Pesticidas no Meio Ambiente

Quando um defensivo agrícola atinge o solo, o mesmo poderá seguir diferentes rotas, isto é, poderá ficar retido na fração orgânica e/ou mineral do solo, passando à forma indisponível às plantas e aos organismos vivos. No entanto, se o pesticida estiver disponível na solução do solo, ele poderá ser absorvido pelas plantas e outros organismos, ser degradado química ou biologicamente no ambiente, alcançar os ambientes aquáticos através da deriva e do escoamento superficial no solo, a partir de áreas onde ocorreram aplicações e, dependendo do perfil do solo, poderá também ser lixiviado para os lençóis freáticos, cuja descontaminação apresenta grande dificuldade [8-10].

Uma vez na água e dependendo das características físico-químicas, o resíduo do agrotóxico pode tanto se ligar ao material particulado em suspensão, como se depositar no sedimento do fundo ou ser absorvido por organismos, podendo então ser acumulados. Eles podem ser transportados através do sistema aquático por difusão nas correntes de água, ou nos corpos dos organismos aquáticos. Alguns agrotóxicos podem também retornar à atmosfera por volatilização [8-10].

1.4 Classificação dos Pesticidas

Os pesticidas podem ser classificados de acordo com o grau de periculosidade, estrutura química e de acordo com seu mecanismo de ação sobre os organismos a serem combatidos [11].

1.4.1 Classificação dos Pesticidas por Periculosidade

A periculosidade é a capacidade que um pesticida possui em produzir algum efeito danoso à saúde humana [11].

O parâmetro mais comum em uma avaliação toxicológica dos pesticidas é a dose letal 50 (DL_{50}). Esta, é definida como a dose que possivelmente causará uma resposta de 50% em uma população, na qual se procurará o efeito letal. Para efeitos de classificação, substâncias que apresentam DL_{50} (aguda oral) $< 5 \text{ mg kg}^{-1}$ são extremamente tóxicas; $5 < DL_{50} < 50 \text{ mg kg}^{-1}$ são altamente tóxicas; $50 < DL_{50} < 500 \text{ mg kg}^{-1}$ são medianamente tóxicas; $500 < DL_{50} < 5000 \text{ mg kg}^{-1}$ são pouco tóxicas e $DL_{50} > 5000 \text{ mg kg}^{-1}$ são muito pouco tóxicas [8].

Por determinação legal, todos os agrotóxicos devem apresentar nos seus rótulos uma faixa colorida indicativa de sua classe toxicológica, conforme mostra a Tabela 1 [12].

Tabela 1: Classe toxicológica e cor da faixa no rótulo de produto agrotóxico.

| | | |
|------------|------------------------------|----------------|
| Classe I | Extremamente tóxico | Faixa vermelha |
| Classe II | Altamente tóxicos | Faixa amarela |
| Classe III | Medianamente tóxicos | Faixa azul |
| Classe IV | Pouco ou muito pouco tóxicos | Faixa verde |

1.4.2 Classificação dos Pesticidas por Finalidade de Uso

Devido à grande diversidade destes produtos é importante conhecer as substâncias químicas com diferentes grupos químicos desses agrotóxicos e, conseqüentemente, os seus diferentes modos de ação. Adicionalmente, estes compostos podem ser utilizados para diferentes finalidades, conforme consta na Tabela 2 [13].

Tabela 2: Classificação dos pesticidas em função da finalidade de uso.

| Pesticidas | Principais Funções |
|-------------------|--|
| Acaricidas | Controle de ácaros. |
| Algicidas | Controle de algas e outras vegetações aquáticas. |
| Anti-sépticos | Proteção de materiais não-metálicos. |
| Arboricidas | Destruição de árvores indesejáveis. |
| Bactericidas | Controle de bactérias e doenças bacterianas das plantas. |

| | |
|---------------|---|
| | |
| Fungicidas | Controle de doenças de plantas e vários fungos. |
| Herbicidas | Controle de ervas. |
| Inseticidas | Controle de insetos prejudiciais. |
| Molusquicidas | Controle de vários moluscos. |

1.4.3 Classificação dos Pesticidas em função de sua estrutura química e finalidade de uso.

Os pesticidas podem ser classificados de acordo com sua estrutura química em diversos grupos específicos, conforme apresentado na Tabela 3 [11]. Cada um desses grupos apresenta um radical comum e todos os compostos são derivados deste radical.

Tabela 3: Classificação de alguns pesticidas em função de sua estrutura química e finalidade de uso.

| Classes | Pesticidas | Finalidade |
|------------------|-------------------------|-------------------|
| Acetanilídricos | Propanil, atacloro. | Herbicidas |
| Bipiridílicos | Paraquat, diquat. | Herbicidas |
| Carbamatos | Carbaril, dimetan. | Inseticidas |
| Organoclorados | Aldrin, DDT. | Inseticidas |
| Organofosforados | Melation, paration. | Inseticidas |
| Organomecuriais | Cloreto de etilmercúrio | Fungicidas |

1.5 Herbicida Paraquat

O paraquat (PQ), 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridílio-dicloreto, também conhecido como *methyl viologen* (MV) [14-17] por na sua forma reduzida formar um composto de coloração azul ou violeta [18], é um herbicida bipyridílio de classe toxicológica I. Apresenta a fórmula molecular $C_{12}H_{14}Cl_2N_2$ e a fórmula estrutural apresentada na Figura 1 [7].

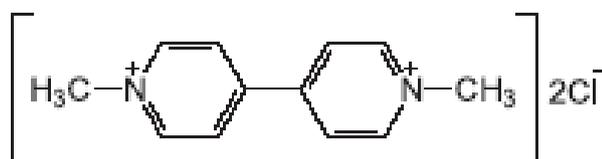


Figura 1: Fórmula estrutural do herbicida paraquat.

O paraquat não existe em estado natural e foram sintetizados por Weidel e Russo [19]. As propriedades herbicidas do produto foram descobertas em 1955, pelo laboratório Zeneca, que começou a produzi-lo comercialmente em 1961. 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 [19]. 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 [20].

Como já é sabido, o paraquat é altamente tóxico para animais e humanos e infelizmente, não existe qualquer antídoto [20].

Os efeitos adversos causados por exposições agudas e crônicas ao herbicida são bem conhecidos e os casos de morte por ingestão acidental ou envenenamento suicida (pesticida preferido dos suicidas) têm aumentado a cada ano, sendo um grande problema em muitos países. Os casos de intoxicação levam à morte por fibrose dos alvéolos pulmonares ou necroses do fígado e do rim. Podem causar também câncer, doenças respiratórias e paralisia [19, 21, 22].

Por sua elevada toxicidade e longa persistência no ambiente o paraquat é proibido em vários países, como Finlândia, Áustria, Hungria e Suécia. Na Alemanha, Estados Unidos e em toda a Europa seu uso é restringido e controlado pelos órgãos de agricultura [23].

No Brasil, a ANVISA por meio da Portaria nº 10, de 08 de março de 1985, define a legislação específica para utilização do paraquat na agropecuária. A mesma legislação define os limites máximos de resíduos permitidos (LMR) para a maior parte das culturas onde seu uso é liberado por exemplo, nas culturas de soja cujo LMR permitido é de 0,10 ppm, de batata 0,20 ppm, de abacaxi 0,05 ppm, de oliva 1,00 ppm, de arroz com casca 10,00 ppm, entre outros [7].

Portanto, para a determinação e controle dos resíduos do herbicida paraquat em alimentos, águas ou em produtos comercializados o desenvolvimento de metodologias analíticas precisas e sensíveis na determinação do mesmo é de fundamental importância.

1.5.1 Aspectos Analíticos na Determinação de Paraquat

Uma variedade de técnicas analíticas tem sido propostas para a determinação de paraquat, sejam em água, alimentos, produtos agrícolas ou fluidos biológicos, tais como espectrofotometria [24], cromatografia líquida com detecção UV [25], cromatografia líquida com detector de massa [26], análise em fluxo [22], imunoenaios [27] e eletroforese capilar com detecção ultravioleta (CE - UV) [21] ou espectrometria de massa (CE - MS) [28]. Porém, estas técnicas sofrem com interferentes, extensivo tratamento da amostra e alto custo para as análises. Assim, técnicas eletroquímicas têm sido propostas como alternativas viáveis e promissoras.

Os métodos eletroquímicos têm despertado grande interesse devido ao seu baixo custo e por possibilitar o uso de EQM's. Estes eletrodos podem promover uma maior sensibilidade, aplicabilidade e estabilidade para o sistema em estudo frente aos eletrodos não modificados [18]. Dentre os métodos eletroquímicos existentes, as técnicas polarográficas e voltamétricas constituem importantes ferramentas no estudo destas substâncias, uma vez que, além de fornecerem informações qualitativas e quantitativas, é possível ainda estabelecer um mecanismo de cinética de redução ou oxidação de um dado sistema de interesse [23].

Os métodos eletroquímicos têm algumas vantagens gerais sobre outros tipos de procedimentos analíticos, pois além de serem frequentemente específicos para um

estado redox particular de um elemento, sua instrumentação é relativamente barata [29].

Eletroquimicamente, o paraquat tem sido investigado sobre várias superfícies eletródicas incluindo eletrodos sólidos [30], eletrodos quimicamente modificados [14] e ultramicroeletrodos [21], aplicando-se as técnicas de voltametrias de pulso diferencial [15], de onda quadrada [31] e de redissolução catódica [16].

Na eletroanalítica, a busca por alta sensibilidade, seletividade e estabilidade impulsionaram o desenvolvimento de sensores eletroquímicos [32 -34]. Apesar da grande versatilidade e perspectiva apresentadas pelos sensores eletroquímicos, a utilidade de um eletrodo é muitas vezes limitada a uma passivação gradual da sua superfície que é consequência, principalmente, da adsorção dos produtos da própria reação de óxido-redução utilizada na detecção ou, ainda, dos subprodutos destas reações que podem se polimerizar e se depositar sobre a superfície dos eletrodos [35]. Além disso, a sensibilidade de muitos analitos importantes pode ser prejudicada em função da cinética de transferência de elétrons ser muito lenta [36].

1.6 Eletrodos Quimicamente Modificados

O termo “eletrodo quimicamente modificado” (EQM) foi inicialmente utilizado com o intuito de designar um eletrodo com espécie quimicamente ativa, convenientemente imobilizada na superfície e com o objetivo de pré-estabelecer e monitorar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução, a fim de controlar sua reatividade e/ou seletividade; sendo, desta forma, usado para vários fins e aplicações, desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas até a transferência de elétrons em moléculas de interesse [17, 18].

Um EQM consiste de um eletrodo base (substrato) e uma camada do modificador químico. Este substrato deve apresentar características que dependem tanto do tipo do modificador (mediador redox) quanto do método de imobilização selecionado. Entre os materiais convencionais podem ser citados platina, ouro, carbono vítreo, mercúrio na forma de filme, fibras de carbono e pasta de carbono. A variedade de materiais e possibilidades de combiná-los proporciona um grande campo de atuação destes dispositivos [23].

A utilização de EQM's é uma área em franca expansão, principalmente no aspecto do desenvolvimento de novos materiais e de métodos de modificação de superfície de eletrodos, como na utilização de cerâmicas, filmes de metal-hexacianoferrato [19] e macromoléculas, tais como DNA [37], o que visa ampliar e potencializar as aplicações destes dispositivos que, em muitos casos, já estão disponíveis no mercado, como os sensores eletroquímicos, conhecidos como "relógios" para monitoramento de glicose, muito utilizados por diabéticos e atletas [38], da mesma forma que os existentes para uréia.

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 [39].

O uso de camadas de agentes modificadores sobre a superfície do eletrodo tem sido a forma mais comum de modificar a superfície de um eletrodo. De forma geral, os métodos mais utilizados para a introdução de um agente modificador sobre o eletrodo base consistem em: 1) adsorção irreversível direta, que é uma incorporação simples e rápida de compostos

sobre eletrodos base; 2) ligação covalente a sítios específicos da superfície do eletrodo; 3) recobrimento com filmes poliméricos, dentre outros [21].

Além disso, o ato de imobilizar uma determinada substância na superfície de um eletrodo representa um artifício simples e eficaz para o desenvolvimento de procedimentos e técnicas eletroanalíticas mais eficientes, permitindo obter maior sensibilidade, seletividade, reprodutibilidade, e maior estabilidade ao sistema quando comparado ao eletrodo base [40, 41].

Dentre as espécies químicas utilizadas como agentes modificadores de superfícies eletródicas, os macrociclos de metais de transição, particularmente as metaloftalocianinas e metaloporfirinas têm se destacado devido às suas potencialidades de aplicação em eletroanálise e eletrocatalise [42].

1.6.1 Eletrodos modificados com o biopolímero quitosana

A quitosana (Figura 2) é um biopolímero, obtida a partir da reação de desacetilação da quitina (Figura 3) presente nas cascas de crustáceos e fungos [43]. Esse biopolímero do tipo polissacarídeo possui uma estrutura molecular quimicamente similar à fibra vegetal chamada celulose, diferenciando-se somente nos grupos funcionais. Grupos hidroxil (OH) estão dispostos na estrutura geral do carboidrato para a celulose e grupos amino (NH_2) para a quitosana. É solúvel em meio ácido diluído, formando um polímero catiônico, com a protonação (adição de prótons) do grupo amino (NH_3^+), que confere propriedades especiais diferenciadas em relação às fibras vegetais [44].

A quitosana é uma macromolécula catiônica constituída por um copolímero de unidades combinadas de glucosamina e N-acetil-glucosamina, derivada da

desacetilação alcalina da quitina, que é o principal componente do exoesqueleto de crustáceos [45].

O biopolímero pode facilmente se dissolver em soluções de ácidos fracos diluídos, devido à protonação de seus grupos amino, sendo o ácido acético o solvente mais empregado [46].

Na área ambiental, a quitosana é conhecida como um bioadsorvente para remoção de íons metálicos tóxicos, corantes, compostos orgânicos e nos processos de tratamento e purificação de água. Atua como floculante e coagulante nos processos de tratamento de efluentes industriais. Ainda pode remover o petróleo de derramamentos no mar contribuindo na solução de um dos grandes problemas ambientais [47].

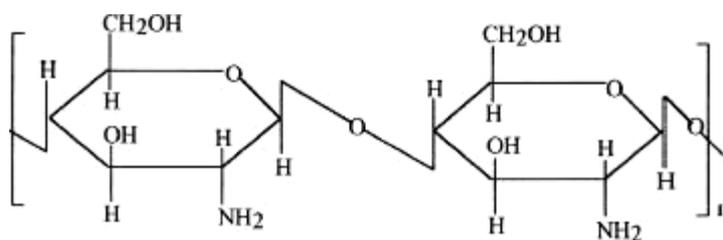


Figura 2: Estrutura da quitosana

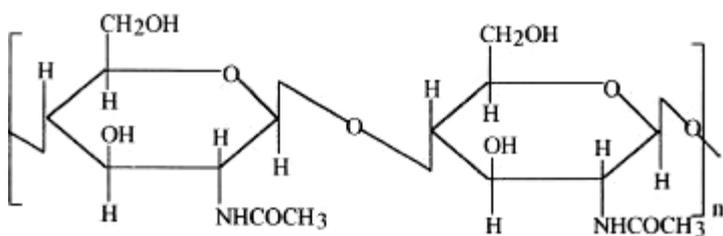


Figura 3: Estrutura da quitina

O biopolímero quitosana pode ser modificado fisicamente e uma das vantagens mais interessantes é a sua grande versatilidade em poder ser preparado em diferentes

formas, tais como pós, flocos, microesferas, nanopartículas, membranas, esponjas, colméias, fibras e fibras óticas [46].

A capacidade da quitosana de formar complexos com íons metálicos tem despertado o interesse de diversos pesquisadores. São encontrados na literatura diversos trabalhos utilizando quitosana como agente modificador de eletrodos, geralmente associados a uma enzima, formando um biossensor. Entre eles pode ser citado o trabalho de Tan e colaboradores [48] que utilizaram a quitosana como material para a formação de um filme híbrido com sílica, sendo usado posteriormente para a imobilização da enzima colesterol oxidase em um eletrodo de carbono vítreo modificado com azul da Prússia. O sensor foi aplicado para a determinação de colesterol em amostras de sangue em um intervalo de concentração de $4,0 \times 10^{-6}$ a $7,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

1.7 Desenvolvimento de sensores a base de metalofalocianinas

A ftalocianina é um complexo de coloração azul e foi inicialmente estudada por Linstead em 1933 [49]. Sua estrutura se apresenta na forma de um anel formado por átomos de nitrogênio e dois átomos centrais de hidrogênio, os quais podem ser substituídos por metais de transição [49]. Constituem uma importante classe de catalisadores e são compostos que apresentam uma variedade de aplicação.

A ftalocianina na sua forma ácida (H₂Pc) pode ser considerada em um sistema de anel com quatro unidades isoladas unidas por átomos de nitrogênio e com dois átomos centrais de hidrogênio (Figura 4). Os dois átomos de hidrogênio centrais da estrutura podem ser substituídos por uma variedade de metais e metalóides para a formação de metalofalocianinas (Figura 5). Tais complexos são altamente coloridos e

usualmente insolúveis em solventes comuns porém possuem uma leve solubilidade em solvente aromáticos.

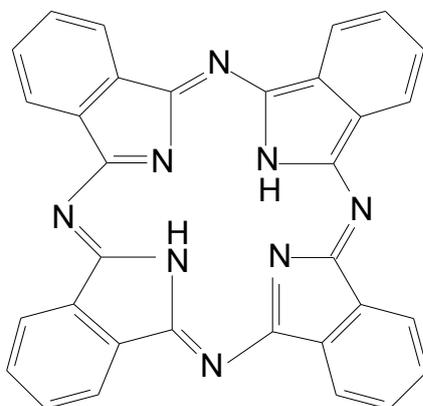


Figura 4: Estrutura da ftalocianina na forma ácida (H_2Pc).

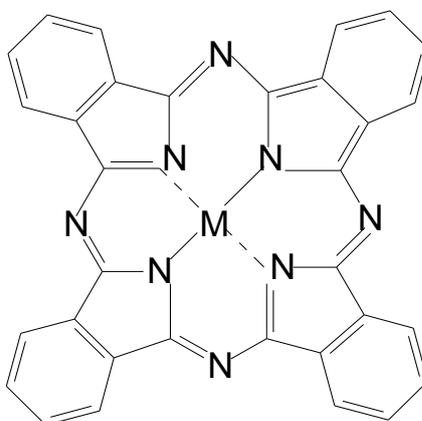


Figura 5: Estrutura de uma metaloftalocianina (MPc), onde M representa um metal.

As metalofalocianinas são utilizadas principalmente como agente modificador de eletrodos por terem atividades eletrocatalíticas a diferentes reações importantes e na determinação eletrocatalítica de muitos herbicidas, carboidratos, aminas alifáticas entre outros [12].

Estudos envolvendo metalofalocianinas também despertam grande interesse dos pesquisadores e indústrias devido à diversidade de suas aplicações, especialmente como corantes em tecidos, plásticos, superfícies metálicas e em tintas de escrever [50 - 54]. Além disso, o emprego das metalofalocianinas tem se expandido para várias áreas comerciais como o desenvolvimento de sensores e biossensores químicos, discos de computadores óticos, polímeros condutores e metais moleculares [55, 56].

A ftalocianina tetrassulfonada de níquel pertence ao grupo das ftalocianinas metálicas já que possui um átomo metálico de níquel, Ni, no centro de sua molécula. Além disso, possui quatro grupos sulfônicos ligados covalentemente a determinados anéis de carbono de sua molécula os quais são responsáveis pela solubilidade em água e álcool e pelo caráter aniônico deste material em solução aquosa [57]. A Figura 6 mostra a estrutura química da ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc) [58].

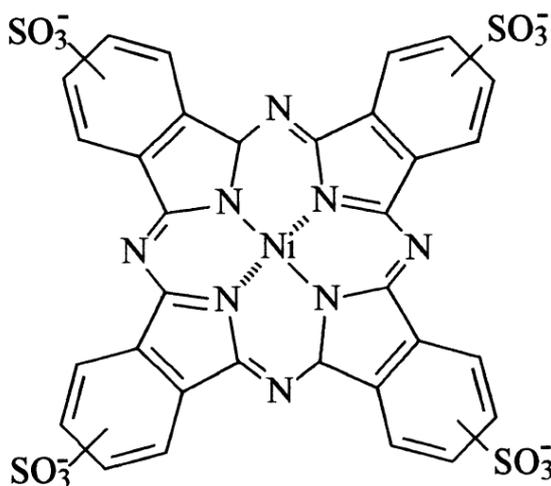


Figura 6: Estrutura da ftalocianina tetrassulfonada de níquel.

1.8 Sensores Eletroquímicos

Os sensores eletroquímicos representam a classe que mais se destaca dentre os sensores químicos. Nesses sensores o transdutor é eletroquímico e pode ser de íon-seletivo, metálico, de carbono, de vidro, entre outros. Um sensor promove certo tipo de resposta diretamente relacionada com a quantidade de uma espécie química específica. São indicados para detectar e responder ao analito em estado sólido, líquido ou gasoso.

Nos últimos vinte anos, os sensores eletroquímicos têm se destacado na Química Analítica, devido ao fato de que eles satisfazem a necessidade de expansão com métodos rápidos, simples e econômicos para a determinação de

muitos analitos. A importante base do conhecimento eletroquímico obtido com a evolução das técnicas voltamétricas, amperométricas e potenciométricas para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos tem contribuição brasileira, favorecendo a expansão da eletroquímica no Brasil e conseqüente expansão do uso de sensores eletroquímicos em nossos dias [41, 59].

Os sensores possuem um papel já bem estabelecido na determinação de vários analitos de interesse industrial, clínico, ambiental e farmacológico. Neste aspecto, eletrodos quimicamente modificados são particularmente adequados não apenas para determinações analíticas, mas também para a investigação de processos e mecanismos físico-químicos tanto de espécies orgânicas como inorgânicas [18].

Assim, pesquisas utilizando o carbono modificado como sensor amperométrico e voltamétrico vêm sendo divulgadas na literatura para detecção de ácido ascórbico [60], gases sulfídrico, metanotiol e dimetilsulfídrico [50], compostos fenólicos [61] pesticidas thiran e disulfiram [62], paraquat [14, 21, 30], entre outros.

2. Objetivos

2.1 Objetivos Gerais

Determinar paraquat utilizando eletrodo de carbono vítreo (CV) modificado com filmes de ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc) e quitosana (QT), e desenvolver uma metodologia eletroanalítica na determinação de resíduos do herbicida paraquat em amostras ambientais (águas naturais).

2.2 Objetivos Específicos

- Estudar as propriedades redox e verificar as respostas eletroquímicas dos eletrodos de CV não modificado e modificado com QT e QT-NiTsPc na presença do paraquat;
- Estabelecer as melhores condições experimentais para a modificação do eletrodo CV com QT e NiTsPc, bem como otimizar as condições de análise (eletrólito, pH, natureza da solução tampão, etc.);
- Avaliar as técnicas de voltametria cíclica, de pulso diferencial e de onda quadrada na determinação do paraquat;
- Construir curvas analíticas e determinar os limites de detecção e quantificação, repetibilidade e reprodutibilidade da metodologia proposta;
- Aplicar procedimentos otimizados em amostras ambientais (águas naturais).

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Célula eletroquímica

As medidas eletroquímicas foram realizadas em uma célula eletroquímica de compartimento único, como mostra a Figura 7.

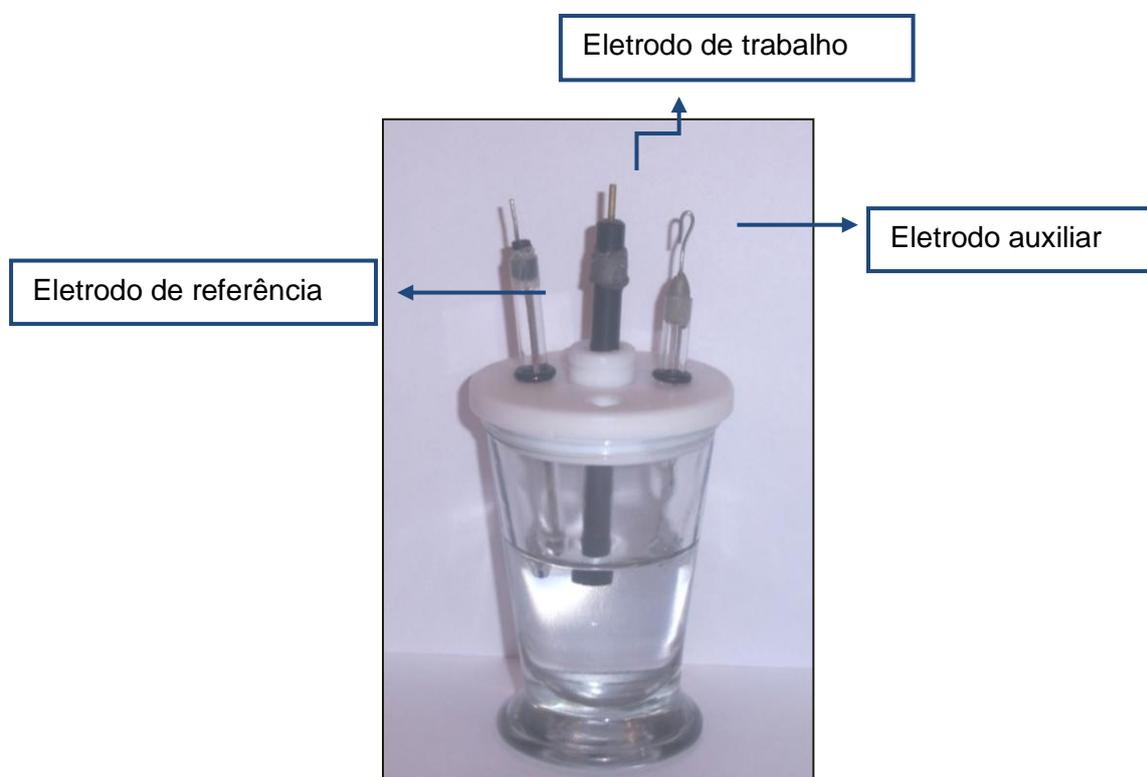


Figura 7: Célula eletroquímica

3.2 Eletrodos

Os eletrodos utilizados em todas as medidas eletroquímicas foram: Ag/AgCl contendo KCl 3,0 mol L⁻¹ como eletrodo de referência, platina como auxiliar e carbono vítreo (área geométrica de 0,07 cm²) modificado como trabalho.

3.3 Medidas eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas com o auxílio de um potenciostato μ Autolab-2 da EcoChemie, acoplado a um computador dotado de uma interface GPES e utilizou-se as técnicas de voltametria cíclica, de pulso diferencial e de onda quadrada.

As medidas de pH das soluções foram feitas num pHmetro Analyser modelo pH 300.

Para as pesagens foi utilizada uma balança Kern modelo 410 com precisão de 0,0001 g.

3.4 Medidas espectroscópicas na região do infravermelho

As medidas espectroscópicas na região do infravermelho foram realizadas num espectrofotômetro infravermelho Bomem-Michelson FT-IR, modelo MB-102, na região de 1000 a 4000 cm⁻¹.

- Para obtenção do espectro do composto NiTsPc, o mesmo foi preparado em pastilha de KBr (5mg de produto em 200mg de KBr) e estabilizada sob temperatura ambiente antes de adquirir o espectro.
- Para a obtenção do espectro do filme de QT, 100 μL de uma solução aquosa 5 % $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ contendo 0,25 g L^{-1} QT foram depositadas sobre a janela de fluoreto de cálcio (CaF_2) e o solvente posteriormente removido num dessecador sob vácuo.
- Para obtenção do espectro do sistema QT - NiTsPc, foram depositados 100 μL da mistura de QT - NiTsPc sobre a janela de fluoreto de cálcio (CaF_2) e o solvente posteriormente removido num dessecador sob vácuo.

3.5 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes químicos usados foram de grau analítico. O hidróxido de sódio (NaOH), fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4), ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), foram adquiridos da MERCK (Rio de Janeiro – Brasil); ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc) da Aldrich (Milwaukee – USA); quitosana da FLUKA e paraquat da Aldrich. Todas as soluções foram preparadas com água destilada e purificada num sistema Human Up.

As soluções tampão fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$), tampão de fosfato de potássio - hidróxido de sódio ($\text{K}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$), McIlvaine ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), Sørensen ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$), ftalato ácido de potássio ($\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4/\text{NaOH}$) e Kolthoff ($\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{HCl}$) foram preparadas de acordo com os procedimentos descritos na literatura [63].

3.6 Pré-tratamento da superfície do eletrodo CV

Inicialmente, a superfície do eletrodo de carbono vítreo (CV) foi lixada com lixas de carvão de silício de granulometria 600 e 2000 (3M do Brasil, São Paulo-SP). Posteriormente, o eletrodo foi lavado com água purificada e, imerso em água em um sistema de banho ultra-som Unique modelo USC - 1400, por cerca de cinco minutos, para a remoção de possíveis partículas de carvão de silício impregnadas na superfície do eletrodo durante o processo de polimento.

Em seguida, a superfície do eletrodo CV foi submetida a um polimento manual em suspensões aquosas de alumina de granulometria 1,00; 0,30 e 0,05 μm da Micropolishing Material, Buehler Ltda. O eletrodo foi então lavado com água purificada e levado a um sistema de banho ultra-som por cerca de cinco minutos, para a remoção de possíveis partículas de alumina impregnadas na superfície.

3.7 Procedimento para a modificação da superfície do eletrodo CV

O eletrodo CV foi modificado através da adsorção de 7 μL de uma mistura 1v:1v de quitosana (QT) e ftalocianina tetrasulfonada de níquel (NiTsPc). Para isso, utilizou-se uma solução QT $6,21 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e NiTsPc $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O eletrodo foi deixado por 10 minutos num dessecador, sob vácuo. Com este procedimento foi possível a obtenção de filmes de boa adesão à superfície do eletrodo.

3.8 Limpeza da Vidraria

Toda vidraria utilizada foi submetida a uma limpeza com permanganato de potássio (KMnO_4) por cerca de trinta minutos e depois com solução piranha ($3\text{v H}_2\text{SO}_4:1\text{v H}_2\text{O}_2$) por cerca de 10 minutos e, posteriormente, lavado com água destilada.

3.9 Metodologia de trabalho

Durante o desenvolvimento de uma metodologia para determinação eletroanalítica de qualquer espécie, deve-se avaliar as condições experimentais (eletroatividade, Influência do pH, solução tampão, concentração da solução tampão e voltamétricas) onde é possível obter a melhor resposta, tanto em termos de intensidade de corrente, quanto em perfil voltamétrico. Assim, algumas etapas foram seguidas para o desenvolvimento desse trabalho e serão descritas a seguir:

3.9.1 Teste de Eletroatividade

A eletroatividade do paraquat foi testada utilizando eletrodos de carbono vítreo não modificado (CV), modificado com quitosana (CV/QT) e modificado com QT e ftalocianina tetrassulfonada de níquel (CV/QT-NiTsPc) em uma solução tampão fosfato (pH 7,0), com a técnica de voltametria cíclica.

3.9.2 Influência do pH

O estudo do pH foi realizado no eletrólito tampão fosfato a fim de se obter o valor no qual a corrente e o perfil voltamétrico apresentam valor máximo para fins analíticos, para isso variou-se o pH de 5 a 10.

3.9.3 Influência da solução tampão

A investigação da influência da natureza do tampão sobre o sinal analítico foi testada em quatro diferentes soluções tampão: 1) fosfato, 2) McIlvaine, 3) Sørensen e 4) fosfato de potássio-hidróxido de sódio.

3.9.4 Influência da concentração da solução tampão fosfato

O estudo da influência da concentração da solução tampão fosfato sobre o sinal analítico foi testada em concentrações de 0,05 a 0,15 mol L⁻¹.

3.9.5 Escolha da melhor técnica para redução de Paraquat

Visando ampliar a sensibilidade do método, a redução de Paraquat sobre o eletrodo de CV/QT-NiTsPc foi investigada pelas técnicas de voltametria cíclica, de pulso diferencial e de onda quadrada.

3.9.6 Avaliação dos parâmetros voltamétricos

Voltametria cíclica (VC)

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 paraquat sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc. A eletroatividade para este herbicida foi testada com tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito de suporte. Os ensaios foram realizados em uma faixa de potencial de -0,3 V e -1,2 V vs. Ag/AgCl, a diferentes velocidades de varreduras (10, 25, 50,75, 100, 150 e 200 mV s⁻¹). As respostas voltamétricas foram utilizadas para especulações sobre o comportamento do paraquat, permitindo avaliar o tipo de processo redox.

Voltametria de Pulso Diferencial (VPD)

A VPD foi utilizada para estudos da reação de redução deste herbicida, utilizando-se o eletrólito de suporte tampão fosfato (pH 7) na concentração de 0,1 mol L⁻¹.

Os experimentos de VOQ foram realizados em uma faixa de potencial de -0,3 V e -1,2 V vs. Ag/AgC.

Os parâmetros otimizados na VPD foram os seguintes: amplitude de pulso, velocidade de varredura do potencial e tempo de duração do pulso.

Os valores de corrente e potencial foram avaliados de acordo com cada um dos parâmetros citados, com o propósito de verificar os valores nos quais as correntes de pico são as máximas possíveis e com perfis voltamétricos bem definidos.

Voltametria de Onda Quadrada (VOQ)

A VOD foi utilizada para estudos da reação de redução do herbicida, utilizando-se o eletrólito de suporte tampão fosfato (pH 7), na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Os experimentos de VOQ foram realizados em uma faixa de potencial de $-0,3 \text{ V}$ e $-1,2 \text{ V}$ vs. Ag/AgC.

Os parâmetros otimizados na VPD foram os seguintes: frequência de aplicação dos pulsos, amplitude de pulsos e incremento de varredura.

Os valores de corrente e potencial foram avaliados de acordo com cada um destes parâmetros, com propósito de verificar os valores nos quais as correntes de pico são as máximas possíveis e com perfis voltamétricos bem definidos. A variação desses parâmetros voltamétricos pode também fornecer informações sobre o mecanismo do processo redox de interesse.

3.9.7 Desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de paraquat

Após a otimização dos parâmetros, curvas analíticas foram construídas no intervalo de potencial de -0,3 V a -0,8 V, usando uma solução estoque de paraquat a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com 24 adições sucessivas de alíquotas de 10 μL com concentração variado de 5×10^{-7} a $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Foram determinados os valores de LD, de LQ, sensibilidade, repetibilidade, reprodutibilidade e percentual de recuperação em eletrólito de suporte. Todas as curvas foram construídas em triplicata.

3.9.8 Determinação de paraquat por cromatografia líquida de alta eficiência

Os ensaios por CLAE-UV para quantificação de paraquat foi baseado numa adaptação do Método 549.2 [64]. Nesses experimentos, foi utilizado como fase móvel, 13,5 mL de ácido ortofosfórico, 10,3 mL de dietilamina e 3,0 g de ácido 1-hexanosulfônico diluída para 1L de água purificada. Com um fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. O volume de injeção de amostra foi de 20 μL . Curvas analíticas foram construídas, variando-se a concentração de paraquat de $3,89 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ até $1,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

3.9.9 Aplicação da metodologia para a detecção do paraquat em águas naturais - Estuário de Quebra - Pote (MA)

A metodologia proposta foi aplicada às amostras de águas naturais coletada no estuário de Quebra Pote, localizado no povoado de Quebra - Pote (Município de São Luís – MA).

Após a coleta, as amostras foram armazenadas em geladeira para conservação até a realização das análises.

Uma alíquota de 30 μL da amostra fortificada na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi adicionada à célula eletroquímica e submetida à análise direta, monitorando-se os voltamogramas de onda quadrada com o eletrodo CV/QT-NiTsPc. Em seguida, foram feitas três adições de 30 μL de paraquat $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de solução padrão de paraquat diretamente na célula eletroquímica, registrando-se para cada adição a corrente de pico (I_p). As curvas de adição padrão foram construídas em uma faixa de $1,5 \times 10^{-6}$ a $6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e pelo extrapolamento da reta ($y = 0$) foi possível obter as concentrações das amostras analisadas. Este procedimento foi realizado em triplicata.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos filmes QT, NiTsPc e QT-NiTsPc por espectroscopia no infravermelho

A Fig. 8 mostra os espectros obtidos na região do infravermelho do composto NiTsPc, do filme de QT e do sistema QT-NiTsPc depositados sobre uma janela de CaF_2 , preparados de acordo com procedimentos descritos na seção Experimental. Na Tabela 4 são apresentadas as atribuições das principais bandas destes compostos. No espectro do NiTsPc pode ser observado que a banda localizada na região $1637,4 \text{ cm}^{-1}$ não está presente no espectro referente ao sistema QT-NiTsPc. Além disso, as bandas localizadas na região $1404, 1330,7 1533,2$ e $1718,4 \text{ cm}^{-1}$, apresentadas no espectro que são características do composto NiTsPc e ausentes no composto QT, estão presentes no espectro do sistema QT-NiTsPc. A banda localizada próxima a 1404 cm^{-1} , indica que as interações do composto NiTsPc com QT são, provavelmente, associadas aos grupos sulfônicos da ftalocianina tetrassulfonada de níquel e estiramento C-N.

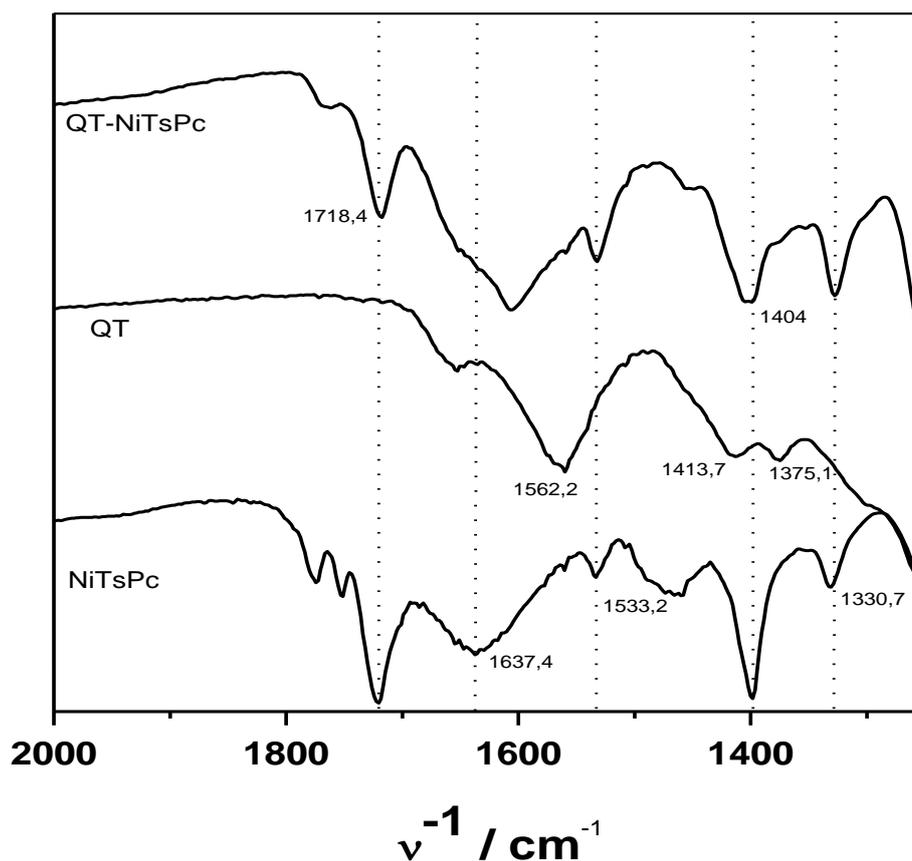


Figura 8: Espectros na região do infravermelho do composto NiTsPc, do filme de QT e do sistema QT-NiTsPc depositados sobre uma janela ótica de CaF₂.

Tabela 4: Atribuições das principais bandas localizadas nos espectros na região do infravermelho do composto NiTsPc, do filme de QT e do sistema QT-NiTsPc depositados sobre uma janela ótica de CaF₂ (Fig. 8) [65,66].

| Atribuição | Aromáticos trissubstituído | C=C | Deformação N-H | Estiramento C-N | S=O | Deformação simétrica C-H |
|------------------------------|----------------------------|--------|----------------|-----------------|------|--------------------------|
| NiTsPc / cm ⁻¹ | 1718,4 | 1637,4 | 1533,2 | 1404 | 1404 | 1330,7 |
| QT / cm ⁻¹ | - | - | 1562,2 | 1413,7 | - | 1375,1 |
| QT-NiTsPc / cm ⁻¹ | 1718,4 | 1637,4 | 1533,2 | 1404 | 1404 | 1330,7 |

4.2 Determinação voltamétrica do PQ sobre eletrodos de carbono vítreo não-modificado (CV), modificado com quitosana (CV/QT) e modificado com QT e ftalocianina tetrassulfonada de níquel (CV/QT-NiTsPc)

A Figura 9 mostra os comportamentos voltamétricos do eletrodo CV, QT e QT-NiTsPc em uma solução tampão fosfato (pH 7,0) na faixa de potenciais entre -0,3 V e -1,2 V vs. Ag/AgCl, a uma velocidade de varredura do potencial de 0,1 V s⁻¹. Pode ser observado que apenas o eletrodo CV/QT-NiTsPc apresentou um processo redox em potenciais próximos a -0,70 V (Pico 1) podendo ser atribuído ao par PQ²⁺/PQ⁺ [14, 24, 67]. Este resultado também sugere uma boa interação entre as moléculas QT e NiTsPc, pela interação eletrostática entre os grupos positivos da QT com os grupos sulfônicos da NiTsPc [68], facilitando a transferência de carga para o complexo NiTsPc e tornando mais rápida a velocidade de transferência eletrônica entre a superfície do eletrodo e o PQ. O processo eletródico foi seguido pela formação de um segundo pico do PQ, próximo a -1,0 V (Pico 2). Este pico está associado a um processo redox reversível, gerando a molécula neutra: PQ⁺/PQ⁰ [14, 24, 67].

4.2.1 Influências das concentrações de QT e NiTsPc no comportamento voltamétrico do eletrodo CV modificado para a determinação de PQ

Inicialmente os efeitos das concentrações dos modificadores QT e NiTsPc na resposta do eletrodo foram investigados com o uso da técnica de voltametria cíclica (VC). Soluções contendo diferentes concentrações da QT ($6,2 \times 10^{-3}$; $4,7 \times 10^{-3}$; $3,1 \times 10^{-3}$; $1,6 \times 10^{-3}$ e $6,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) e NiTsPc ($1,0 \times 10^{-3}$; $1,0 \times 10^{-4}$; $1,0 \times 10^{-5}$; $5,0 \times 10^{-4}$ e $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) foram preparadas. O eletrodo foi modificado com solução contendo diferentes concentrações de QT, $6,2 \times 10^{-3}$; $4,7 \times 10^{-3}$; $3,1 \times 10^{-3}$; $1,6 \times 10^{-3}$ e $6,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e uma concentração fixa de NiTsPc de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, conforme mostra a Figura 10.

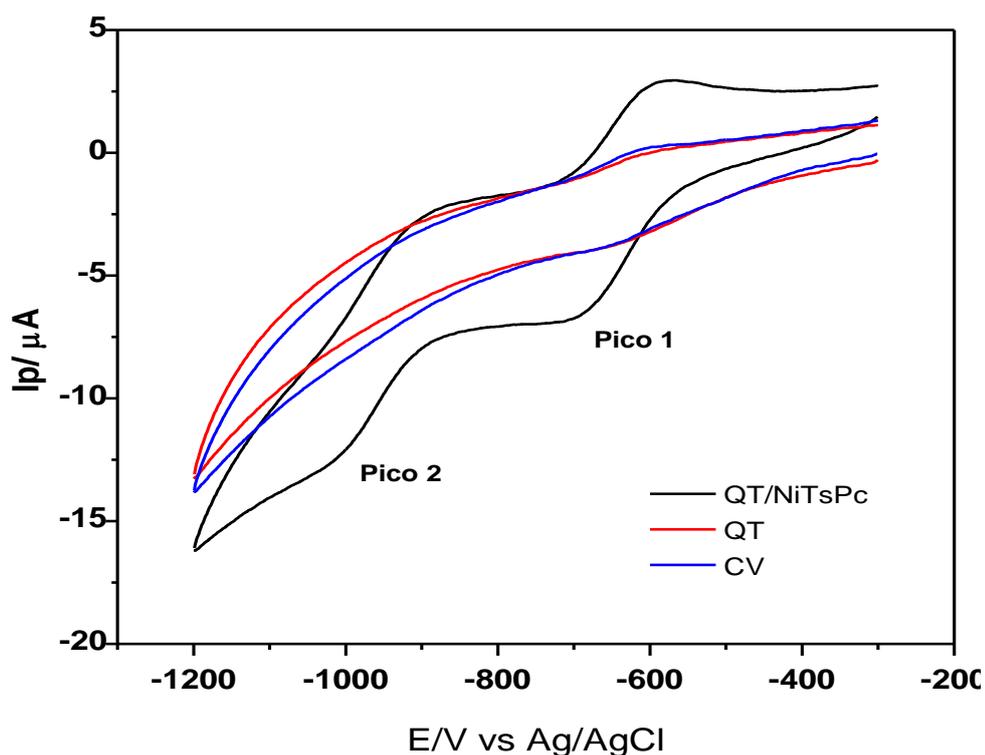


Figura 9: Voltamogramas cíclicos dos eletrodos CV, CV/QT e CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1$ mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,0) na presença de $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de PQ.

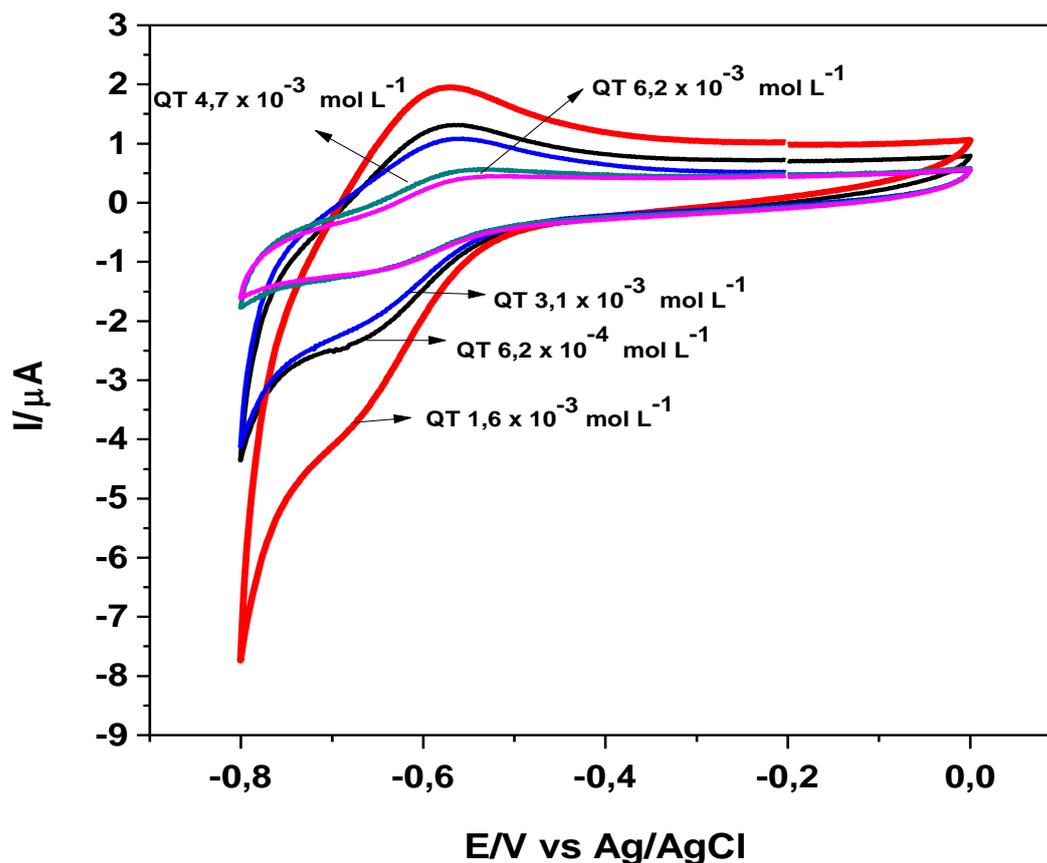


Figura 10: Voltamogramas cíclicos registrados $0,1 \text{ V s}^{-1}$ sobre o eletrodo CV modificado com filmes QT/NiTSPc preparados a partir de uma solução contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NiTsPc e diferentes concentrações de QT. Eletrólito: solução tampão fosfato (pH 7,0) contendo $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ.

As maiores correntes para o PQ foram observadas usando a solução $1,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de QT. Com concentrações menores que $1,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, as respostas também foram menores devido as concentrações serem insuficientes para a imobilização total de NiTsPc. Já as concentrações maiores que $1,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ forneceram uma diminuição crescente na densidade de corrente, devido provavelmente ao aumento da barreira ao transporte de carga e/ou massa (resistência) gerada pelo biopolímero (QT). Com essas informações, a concentração

$1,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de QT foi escolhida por proporcionar um melhor desempenho do eletrodo CV/QT-NiTsPc.

Na etapa seguinte, a influência da concentração de NiTsPc na resposta do eletrodo CV/QT-NiTsPc foi investigada com as concentrações: $1,0 \times 10^{-3}$; $1,0 \times 10^{-4}$; $1,0 \times 10^{-5}$; $5,0 \times 10^{-4}$ e $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e concentração de QT de $1,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 11). Pode ser observado que a melhor resposta do sensor foi para a concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NiTsPc. Soluções de NiTsPc de concentrações abaixo de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ apresentaram valores de corrente menores, devido estas concentrações serem insuficientes para garantir uma densidade máxima de sítios catalíticos para a redução do PQ na superfície do eletrodo. Assim, optou-se pelo uso da concentração $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para os demais estudos.

Com esses resultados, foi possível concluir que a superfície do eletrodo CV modificada a partir das soluções NiTsPc $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e QT $1,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foram as que apresentaram maiores valores de correntes de pico para a detecção de PQ.

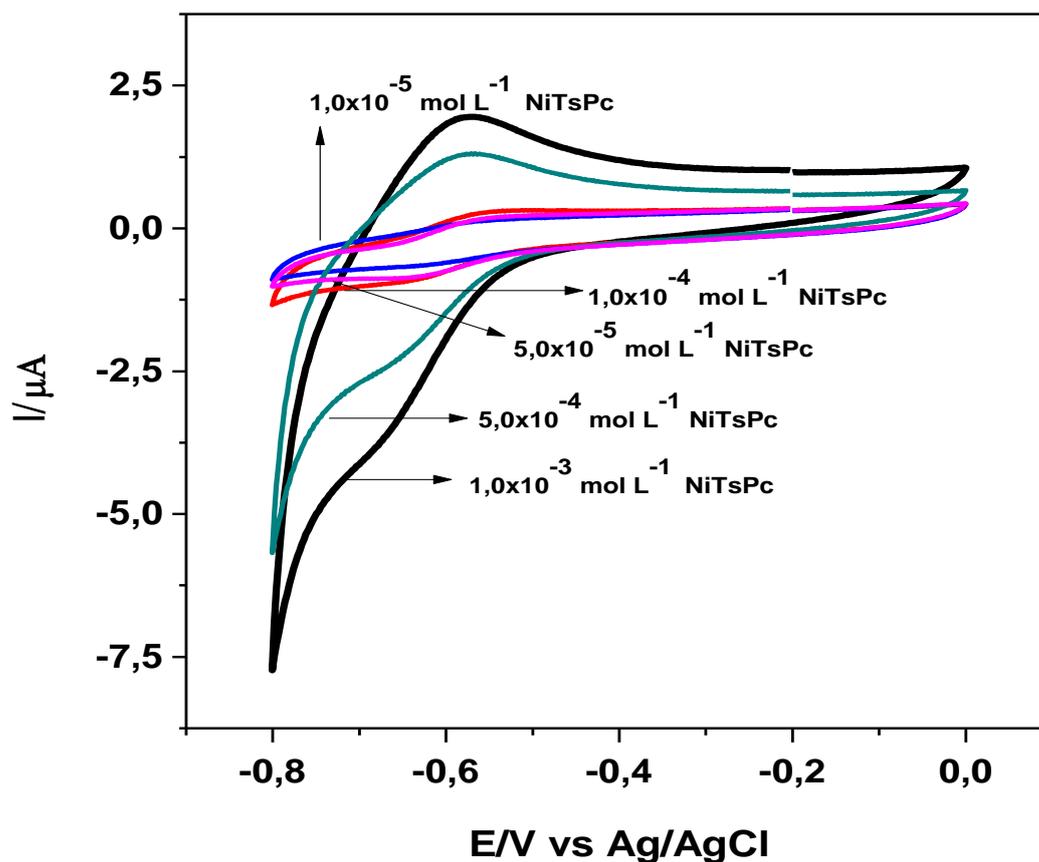


Figura 11: Voltamogramas cíclicos registrados $0,1 \text{ V s}^{-1}$ sobre o eletrodo CV modificado com filmes QT/NiTsPc preparados a partir de uma solução contendo $1,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de QT e diferentes concentrações de NiTsPc. Eletrólito: solução tampão fosfato (pH 7,0) contendo $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ.

4.2.2 Influência do pH, solução tampão e concentração da solução tampão sobre a corrente de pico do PQ

Investigações das dependências do comportamento voltamétrico do eletrodo CV/QT-NiTsPc com o pH e com a natureza do eletrólito suporte foram importantes para a otimização da detecção de PQ sobre o eletrodo CV modificado. Assim, a influência do pH da solução eletrólito suporte nas

respostas eletroquímicas foi avaliada variando-se o pH entre 5 e 10 de uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, conforme pode ser verificado na Figura 12.

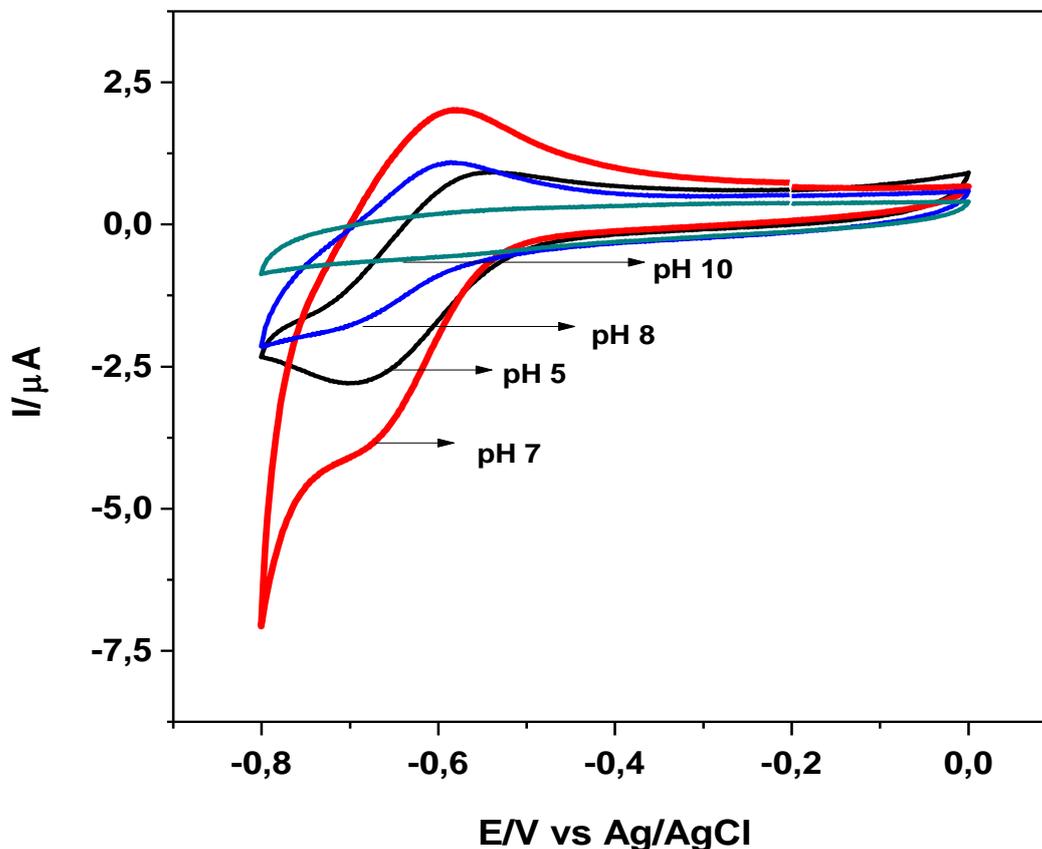


Figura 12: Voltamogramas cíclicos do PQ do eletrodo CV modificado com QT/NiTsPc para $0,1 \text{ V s}^{-1}$ numa solução tampão fosfato.

A Figura 12 mostra que a solução tampão de pH 7,0 foi a que apresentou o melhor comportamento voltamétrico. Uma vantagem de se trabalhar neste pH, em relação a outros estudos citados na literatura [12, 69, 70] onde a maioria dos experimentos foi realizada em meio alcalino, seria a possibilidade da aplicação do eletrodo CV/QT-NiTsPc como sensor para a detecção de PQ em amostras de águas naturais.

A investigação da influência da natureza do tampão sobre o sinal analítico foi testada em quatro diferentes soluções tampão: (1) fosfato, (2) McIlvaine, (3) Sörensen e (4) fosfato de potássio-hidróxido de sódio. Os resultados (Figura 13) mostraram que o melhor comportamento voltamétrico do PQ foi registrado na solução de tampão fosfato.

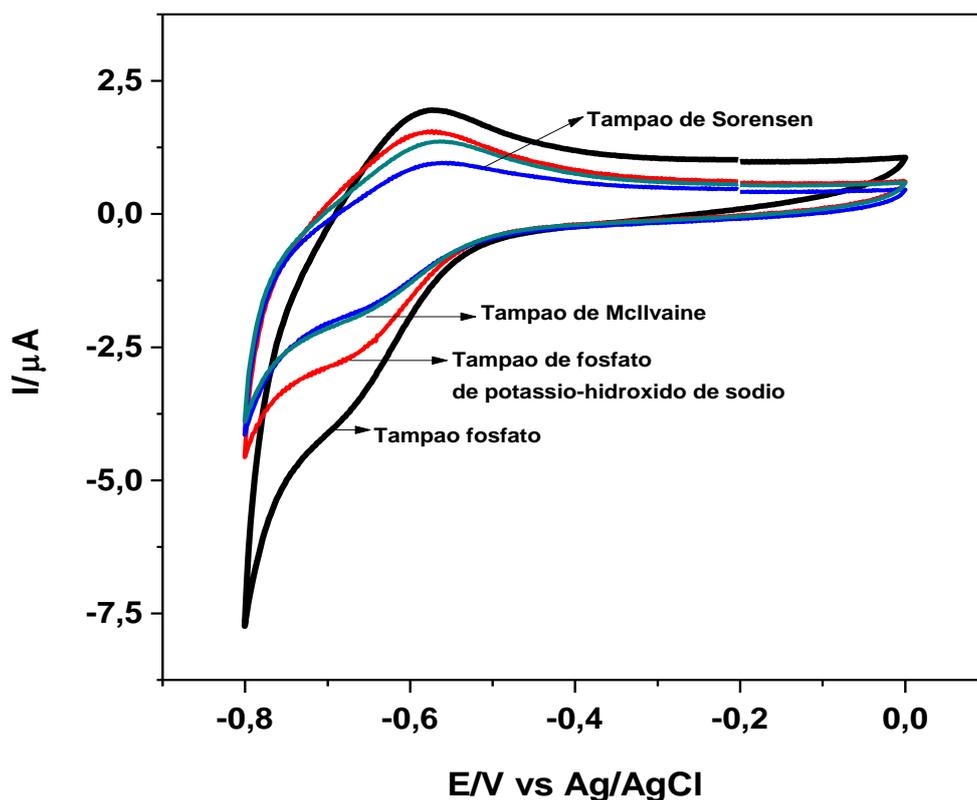


Figura 13: Voltamogramas cíclicos do eletrodo CV/QT-NiTsPc registrados em diferentes soluções tampão pH 7, contendo $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ. $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$.

A influência da concentração da solução tampão fosfato também foi estudada (Figura 14) e pode ser observado em concentrações acima de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, uma alteração na eficiência do processo de redução do PQ. Abaixo deste valor, começa haver um comprometimento da transferência eletrônica do sistema, que é justificada

pela diminuição de transportadores de carga para manter a eletroneutralidade do eletrodo. Assim, optou-se pelo uso da concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

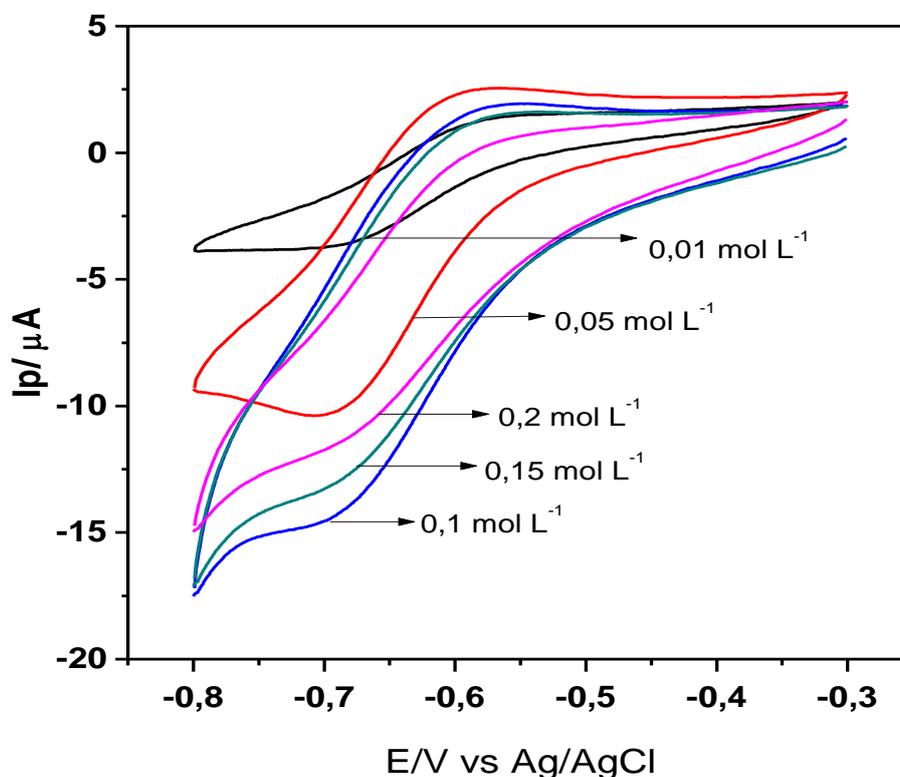


Figura 14: Voltamogramas cíclicos do eletrodo CV/QT-NiTsPc registrados em diferentes concentrações da solução tampão fosfato de pH 7 contendo $7,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ. $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$.

4.2.3 Estudos sobre o mecanismo de redução do PQt sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc

A figura 15 apresenta os voltamogramas de varredura linear na faixa de potencial de $-0,3$ a $-0,8 \text{ V}$ registrados em diferentes velocidades de varredura do potencial (v), para a reação de redução do PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em solução tampão fosfato (pH 7), contendo $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ. Os voltamogramas apresentados mostraram que há um aumento do sinal analítico (correntes anódica e catódica) com aumento da velocidade de varredura do potencial.

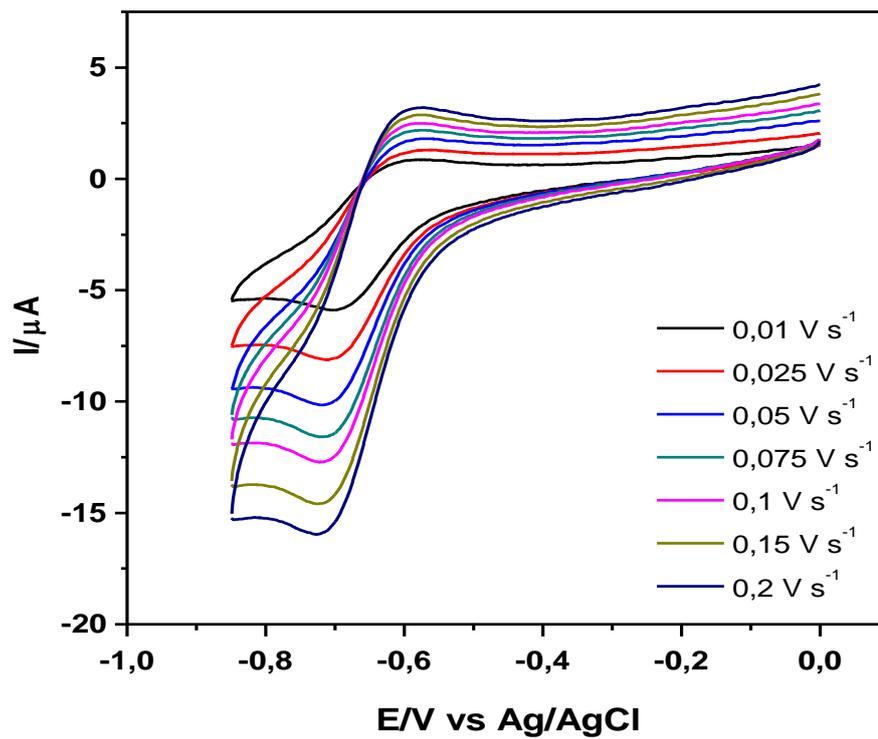


Figura 15: Voltamogramas de varredura linear de redução de PQ registrados sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em diferentes velocidades de varredura do potencial. Solução tampão fosfato (pH 7) contendo $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ.

As relações entre corrente de pico e velocidade de varredura foram avaliadas e são mostradas na Figura 16.

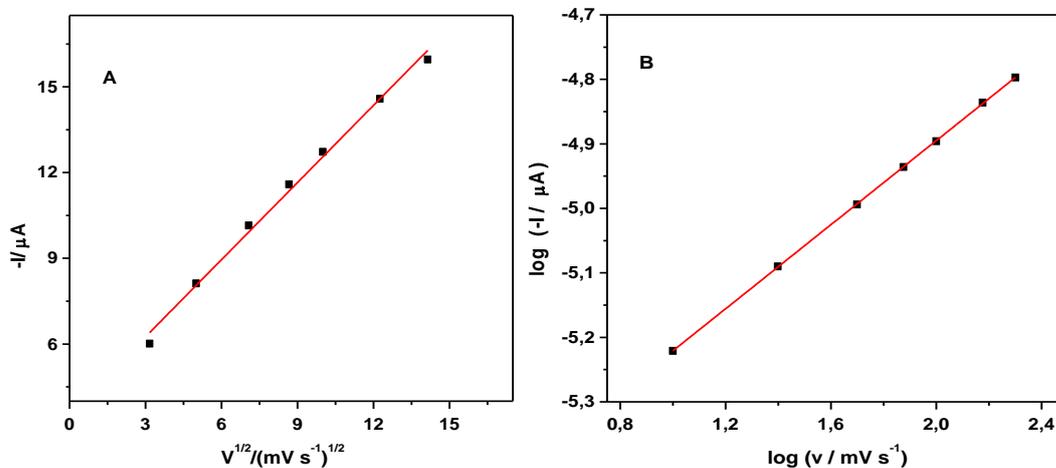


Figura 16: Relação entre corrente de pico e velocidade de varredura, para paraquat $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em solução tampão fosfato de pH 7. (A): I vs. $v^{1/2}$, $I = 3,6 \times 10^{-6} \text{ A} + 9,0 \times 10^{-7} v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, $r = 0,9935$ (B): $\log I$ vs. $\log v$, $I = -5,500 \mu\text{A} + 0,33 v (\text{mV s}^{-1})$, $r = 0,9999$.

Na análise entre corrente de pico e raiz quadrada da velocidade (I_p vs. $v^{1/2}$), mostrada na Figura 16(A) apresentou uma correlação linear, com $r = 0,9935$ e equação da reta, $I(\text{A}) = 3,6 \times 10^{-6} \text{ A} + 9,0 \times 10^{-7} v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, indicando que a etapa determinante da velocidade é a difusão das espécies até a superfície do eletrodo. A relação entre $\log I$ vs. $\log v$ analisada, na Figura 16(B), apresenta um comportamento linear, com $r = 0,9999$ e a equação da reta $I(\text{A}) = -5,500 \mu\text{A} + 0,33 v (\text{mV s}^{-1})$ com inclinação de 0,33. Com estes resultados é possível afirmar que o processo de redução do PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc é, predominantemente, difusional.

4.2.4 Curva analítica

Após a otimização das condições experimentais e com o propósito de avaliar a possível aplicação do eletrodo CV/QT-NiTsPc como sensor voltamétrico para a detecção de PQ, alíquotas consecutivas de 20 μL de uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ foram adicionadas a uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0). Voltamogramas cíclicos foram registrados, após cada adição (Figura 17). A partir de dados extraídos desta figura, foi construído um gráfico de I_p (corrente catódica) em função da concentração de PQ (curva analítica) em solução. Uma excelente dependência linear foi observada (Figura 18) e, por meio da equação:

$$\Delta I / A = [7,06 \times 10^{-7} (\pm 1,75 \times 10^{-8})] + [0,32 (\pm 0,02)] [\text{PQ}] / \text{mol L}^{-1} \quad (1)$$

foi obtido um coeficiente de correlação de 0,9996 para $N = 16$.

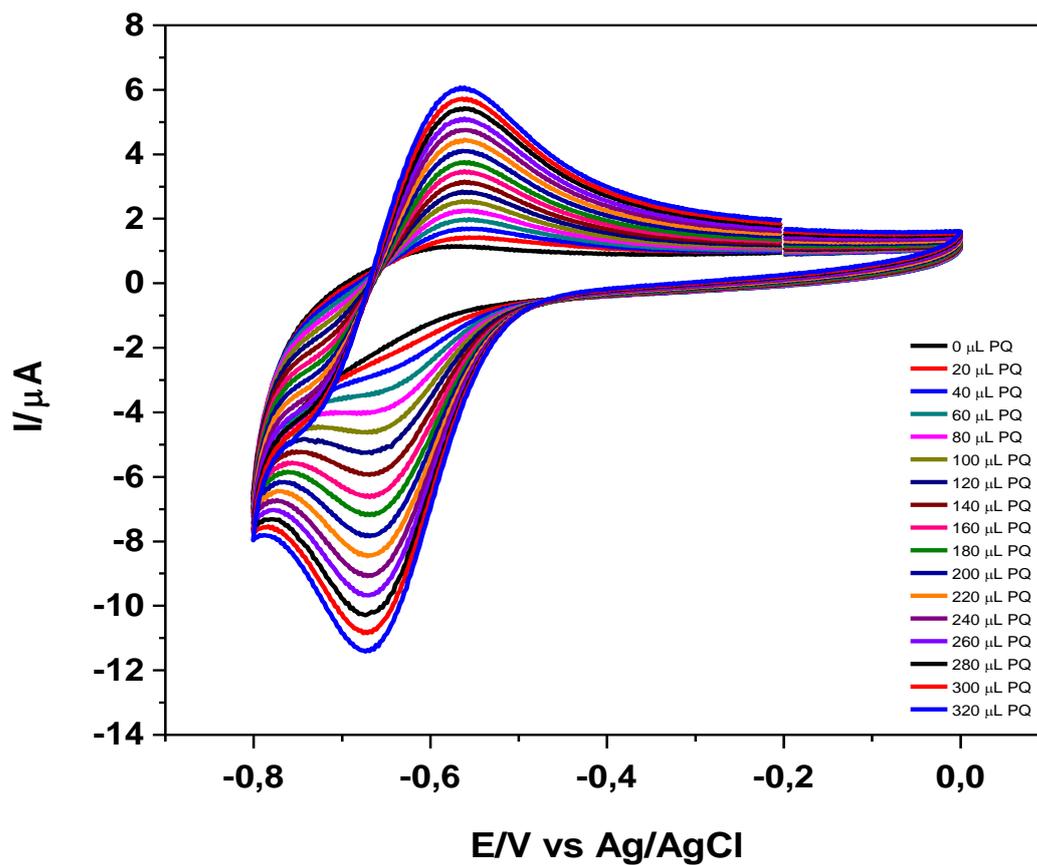


Figura 17: Voltamogramas cíclicos de PQ registrados sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc após adições sucessivas de 20 μL de solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ e em uma solução tampão fosfato (pH 7,0). $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$.

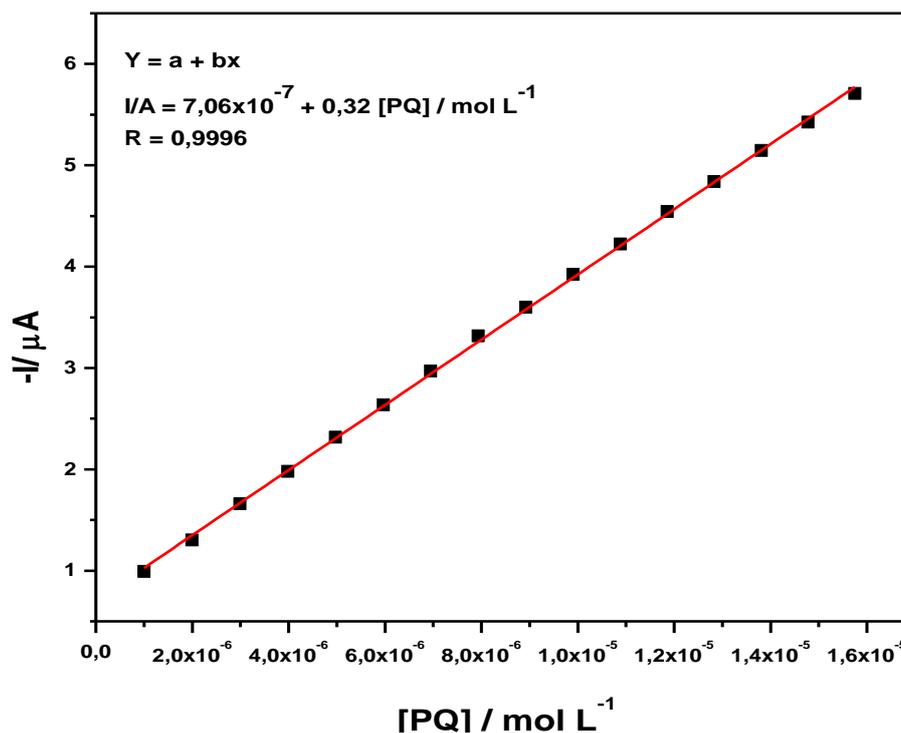


Figura 18: Curva analítica obtida para a detecção de PQ por VC com o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução tampão fosfato pH (7,0).

O limite de detecção (LD), definido como a menor quantidade do analito que pode ser detectado em uma amostra, porém, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas, pode ser calculado a partir da seguinte relação [19]:

$$LD = \frac{3x\sigma}{S} \quad (2)$$

onde σ representa o desvio padrão da média de medidas do branco tomadas no potencial equivalente àquele do pico da redução do PQ e S o coeficiente angular obtido a partir da curva analítica (sensibilidade do método) (Figura 18).

No presente trabalho, o desvio padrão da média das medidas do branco foi calculado a partir da média de 5 brancos (medidas realizadas no eletrólito de suporte sem analito) tomadas no potencial equivalente ao do pico da redução do PQ (-0,7 V). Considerando a média das correntes dos voltamogramas registrados de $2,8 \times 10^{-6}$ A e $\sigma = 1,0 \times 10^{-7}$, o valor de LD foi estimado como sendo $9,6 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ (246,6 ppb), com uma chance de 95%, num intervalo de confiança de $2,3 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

O limite de quantificação (LQ), definido como a menor concentração do analito possível de ser determinada com níveis aceitáveis de precisão e veracidade, foi calculado a partir da equação [19]:

$$LQ = \frac{10x\sigma}{S} \quad (3)$$

e resultou ser de $3,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para um intervalo de confiança de $3,1 \times 10^{-6}$ a $3,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

Os valores de LD e LQ calculados são comparáveis aos reportados na literatura para a determinação de PQ (Tabela 10), indicando viabilidade da aplicação do eletrodo CV/QT-NiTsPc como um sensor voltamétrico para a determinação de PQ em meio aquoso.

4.3 Determinações de PQ sobre eletrodos CV/QT-NiTsPc com a técnica de voltametria de pulso diferencial

Após os estudos realizados com a técnica de VC, um estudo do sinal analítico com a técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD) foi realizado. Nesta técnica, pulsos de igual amplitude são aplicados sobre uma rampa linear de potencial, onde a corrente é medida antes do pulso ser aplicado e no final da aplicação deste. As correntes são subtraídas, já que a primeira apresenta a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é fundamentalmente, a contribuição da corrente faradaica e, então, graficadas em função do potencial. Com isto, é gerado um voltamograma de pulso diferencial com formato de uma curva gaussiana. Esta técnica é mais sensível que a de pulso normal, pelo fato de minimizar a contribuição da corrente capacitiva no sinal obtido.

Para fins de comparação, investigou-se a redução do PQ por VPD, como pode ser observado na Figura 19, que forneceu o primeiro pico em torno de - 0,64 V vs Ag/AgCl o qual pode estar associado ao par redox $PQ^{2+} + e^- \rightleftharpoons PQ^+$ [68]. O processo eletródico foi seguido pela formação de um segundo pico do PQ, próximo a - 0,97 V vs Ag/AgCl, que está associado a um processo de redução e oxidação reversível, gerando a molécula neutra: $PQ^+ + e^- \rightleftharpoons PQ^0$ [68].

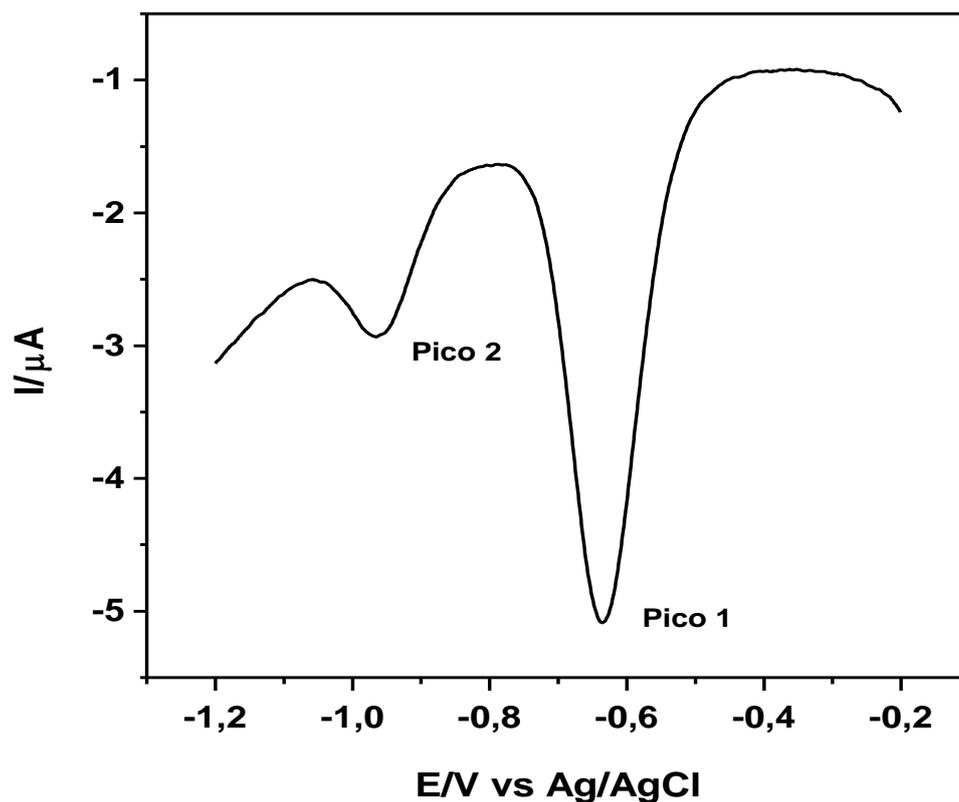


Figura 19: Voltamogramas de pulso diferencial para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0). Amplitude de pulso de $0,05 \text{ mV}$, velocidade de $0,005 \text{ V s}^{-1}$ e tempo de duração do pulso de 30 ms .

A VPD forneceu picos bem definidos além de apresentar uma boa detectibilidade, quando comparada com a voltametria cíclica. Por tanto, a técnica de VPD foi escolhida para este estudo. Como mostra a Figura 19, o pico 2 promoveu uma pequena corrente de pico e por isso, para a escolha dos parâmetros voltamétricos só será considerado o pico 1.

Para a otimização do sinal analítico com esta técnica, os parâmetros envolvidos foram: amplitude de pulso (a), velocidade de varredura do potencial (v) e tempo de duração do pulso (t_p).

4.3.1 Variação da amplitude de pulso

Os voltamogramas de pulso diferencial registrados com um tempo de duração do pulso de 30 ms, uma velocidade de varredura do potencial de $0,005 \text{ V s}^{-1}$ e amplitudes de pulso variando entre 0,01 e 0,1 V apresentaram linearidade entre corrente de pico e aumento da amplitude de pulsos de 0,01 até 0,05 V (Figura 20). Pelos resultados apresentados, foi escolhida a amplitude de pulso de 0,05 V para dar seqüência ao desenvolvimento da metodologia.

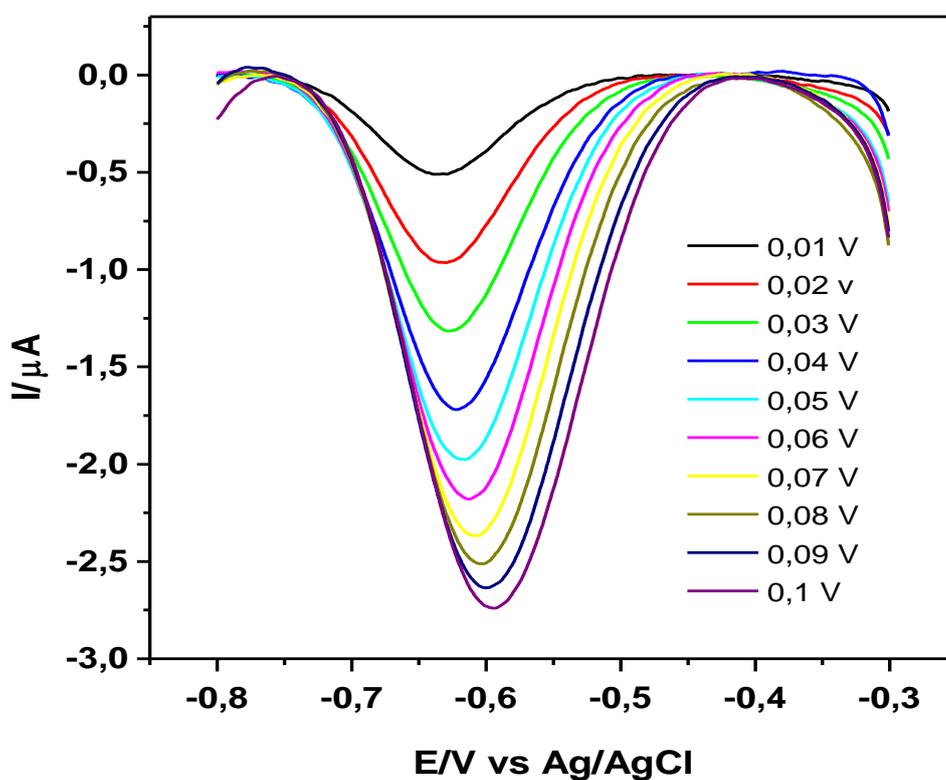


Figura 20: Voltamogramas de pulso diferencial para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para amplitudes de pulso variando entre 0,01 e 0,1 V. Tempo de duração do pulso de 30 ms e velocidade de varredura do potencial de $0,005 \text{ V s}^{-1}$.

4.3.2 Variação da velocidade de varredura do potencial

Os experimentos de VPD realizados com uma amplitude de pulso de 0,05 V, um tempo de duração do pulso de 30 ms e velocidade de varredura do potencial (v) variando entre $0,005 \text{ V s}^{-1}$ a $0,015 \text{ V s}^{-1}$ mostraram que a corrente de pico da redução do PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em solução tampão fosfato (pH 7), atingiu um valor máximo para $v = 0,015 \text{ V s}^{-1}$ (Figura 21). Assim, esta velocidade foi à escolhida para a continuidade do trabalho.

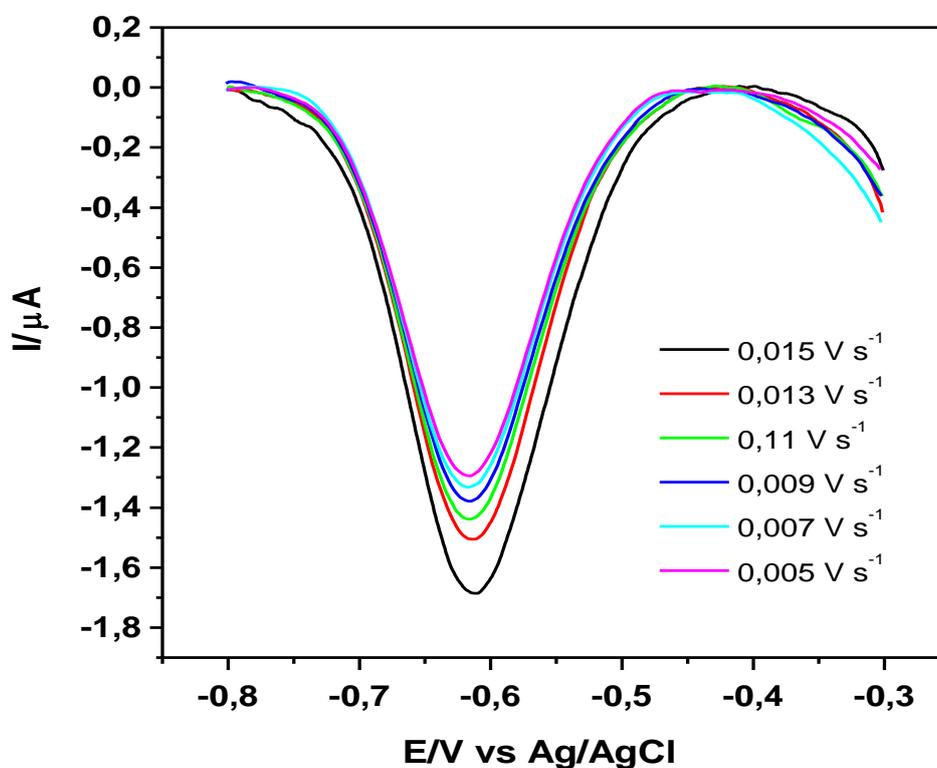


Figura 21: Voltamogramas de pulso diferencial para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para velocidade de varredura do potencial variando entre $0,005 \text{ V s}^{-1}$ a $0,015 \text{ V s}^{-1}$. Amplitude de pulso de 0,05 V e tempo de duração do pulso de 30 ms.

4.3.3 Variação do tempo de duração do pulso

Após fixar a velocidade de varredura do potencial em $0,015 \text{ V s}^{-1}$ e a amplitude de pulso em $0,05 \text{ V}$, variou-se o tempo de duração do pulso entre 20 e 70 ms (Figura 22). Embora o tempo de duração de 20 ms tenha apresentado uma maior corrente de pico, o tempo de duração do pulso escolhido foi de 30 ms por apresentar uma menor largura de meia altura, o que demonstra maior seletividade.

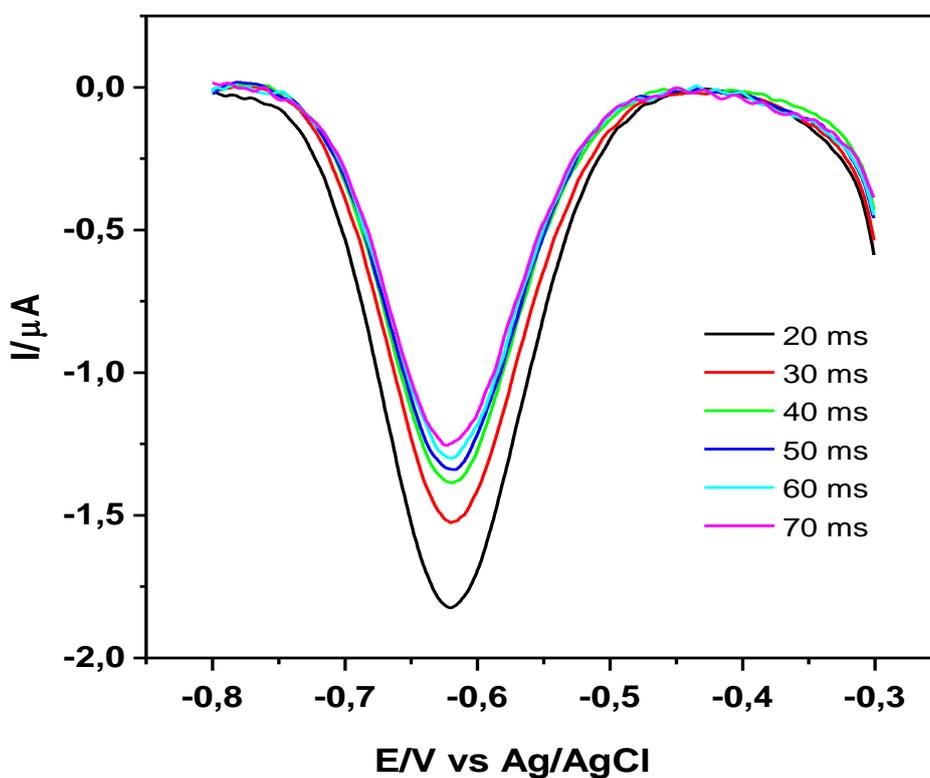


Figura 22: Voltamogramas de pulso diferencial para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para tempo de duração do pulso variando entre 20 ms a 70 ms. Amplitude de pulso de $0,05 \text{ V}$ e velocidade de $0,015 \text{ V s}^{-1}$.

4.3.4 Curva analítica

Uma vez estabelecidas as condições otimizadas: amplitude de pulso de 0,05 V, velocidade de varredura do potencial de 0,005 V s⁻¹ e tempo de duração do pulso de 30 ms, construiu-se uma curva analítica a partir de adições consecutivas de 5 µL de uma solução 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ de PQ na solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) e registros dos voltamogramas cíclicos após cada adição (Figura 23). Uma relação diretamente proporcional entre a corrente de pico e a concentração de PQ adicionada foi observada (Figura 24) e de acordo com a equação:

$$\Delta I / A = [2,41 \times 10^{-7} (\pm 5,19 \times 10^{-8})] + [1,28 (\pm 0,02)] [PQ] / \text{mol L}^{-1} \quad (4)$$

foi obtido um coeficiente de correlação de 0,9991 para N= 12.

As análises dos resultados experimentais obtidos com a técnica VPD mostraram que o desvio padrão da média das medidas do branco, calculado a partir da média de 5 brancos (eletrólito de suporte) tomadas no potencial equivalente ao pico da redução de PQ (-0,64 V), foi da ordem de 2,9x10⁻⁶ A e $\sigma = 1,03 \times 10^{-8}$. A partir deste valor, os valores de LD e LQ calculados foram 2,4x10⁻⁸ mol L⁻¹ com uma chance de 95%, num intervalo de confiança de 1,9x10⁻⁸ a 2,6x10⁻⁸ mol L⁻¹ e 8,1x10⁻⁸ mol L⁻¹ para um intervalo de confiança de 6,4x10⁻⁸ a 8,5x10⁻⁸ mol L⁻¹, respectivamente.

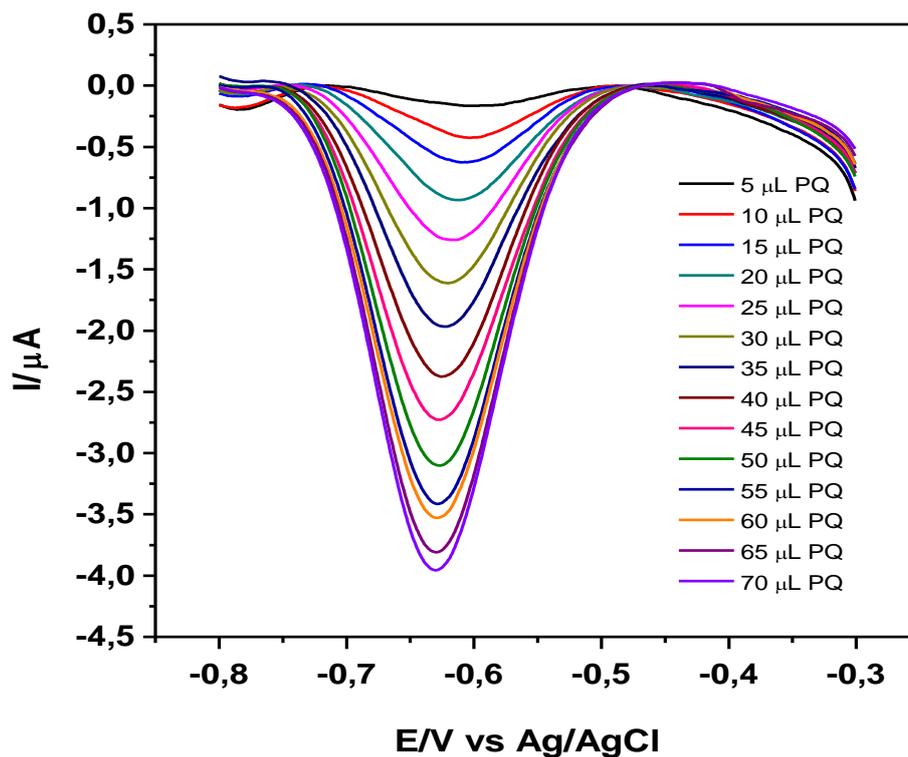


Figura 23: Voltamogramas de pulso diferencial de PQ registrados sobre eletrodo CV/QT-NiTSPc para adições sucessivas de 5 μL de uma solução PQ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato (pH 7,0). Amplitude de pulso de 0,05 V, velocidade de varredura do potencial de $0,015 \text{ V s}^{-1}$ e tempo de duração do pulso de 30 ms.

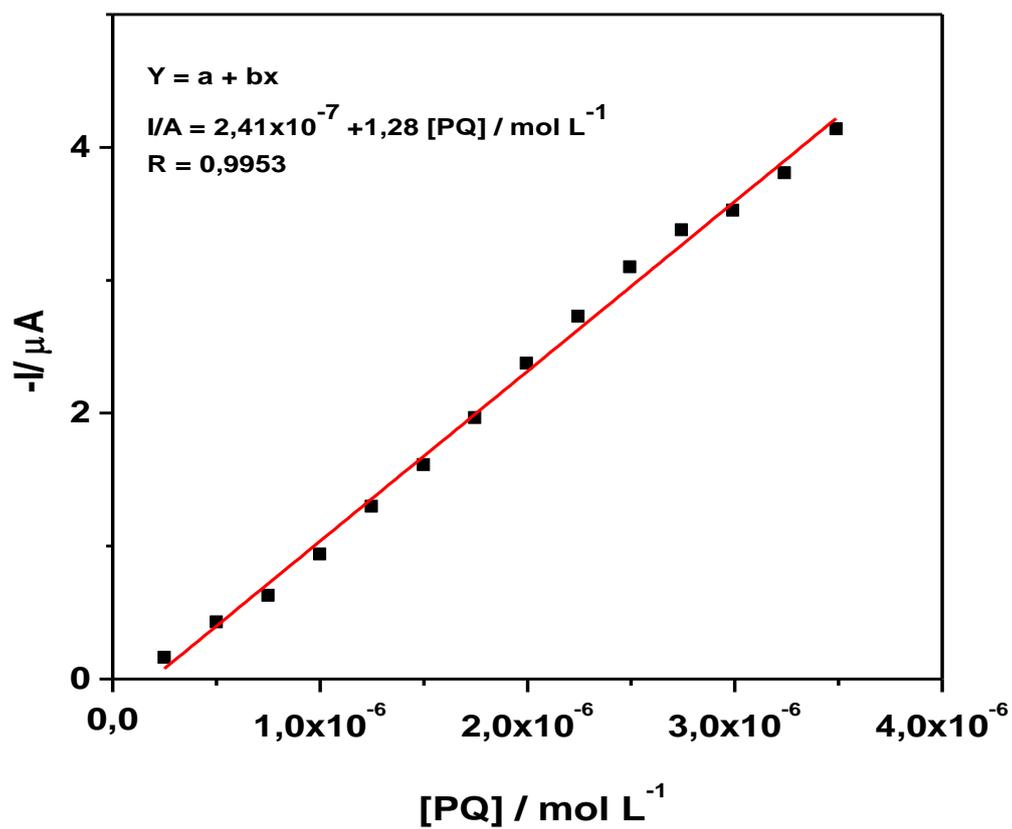


Figura 24: Curva analítica obtida para PQ em tampão fosfato pH (7,0) com eletrodo CV modificado com QT/NiTsPc.

4.4 Determinação de PQ sobre eletrodos CV/QT-NiTsPc com a técnica de voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada (VOQ) é uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas e sensíveis entre todas as outras. Os limites de detecção podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Além disso, a análise dos resultados e a aplicação dos critérios de diagnósticos possibilitam a avaliação da cinética e mecanismo do processo redox envolvido. [71].

Na VOQ a forma de onda consiste numa onda quadrada sobreposta numa rampa de potencial elétrico na forma de escada (degraus de potencial elétrico). Do ponto de vista prático, a maior vantagem da VOQ é a possibilidade de se obter correntes de pico bem definidas em experimentos executados em alta velocidade de varredura. Por se tratar de uma técnica de pulso, a corrente faradaica pode ser coletada em um intervalo de tempo adequado para que a contribuição da corrente capacitiva seja minimizada. Nesta técnica as correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos e reversos e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante de forma diferencial apresentando assim excelente sensibilidade [72].

Para a otimização do sinal analítico com esta técnica, os parâmetros envolvidos foram: frequência de aplicação dos pulsos (f), amplitude de pulsos (a) e incremento de varredura (ΔE_s).

4.4.1 Componentes de corrente

Nas respostas obtidas com a VOQ, a corrente medida é uma resultante (I_r) entre as correntes de varredura nos sentidos direto (I_d) e inverso (I_i) da aplicação dos pulsos de potencial [73], ou seja:

$$I_r = I_d - I_i \quad (5)$$

A separação destas correntes é de extrema importância, porque permite ser observada a presença de picos no sentido de varredura direto e inverso e, assim, realizar uma avaliação prévia do tipo de reação redox que ocorre no sistema.

Assim, foi realizada uma análise das componentes de corrente para o PQ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (ad 300 μL) sobre eletrodo CV/QT-NiTsPc, em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0). Pela componente resultante, é possível visualizar que o PQ exibe dois picos de redução, sendo o primeiro em torno de $-0,66 \text{ V}$ e o segundo em $-0,99 \text{ V}$, como pode ser visto na Figura 25. Estes picos, direto e reverso, apresentaram os mesmos valores de potenciais de pico e as mesmas intensidades de corrente, o que indica um processo redox reversível.

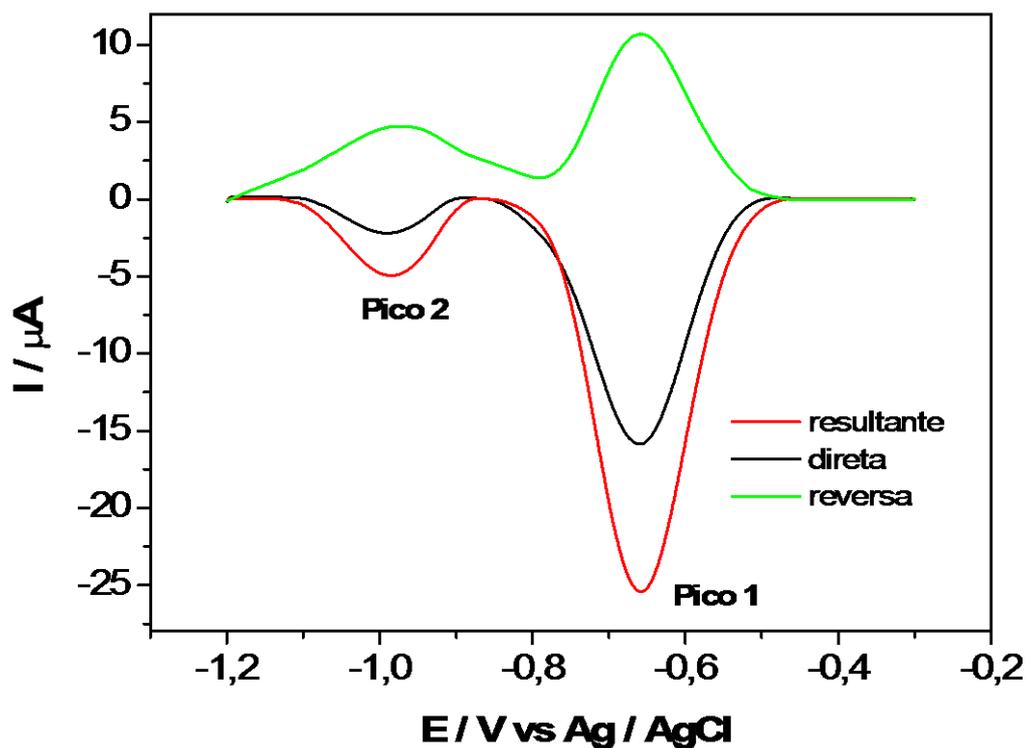


Figura 25: Componentes de corrente para PQ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0). Frequência de aplicação dos pulsos de 30 ms, amplitude de pulsos de 0,05 V e incremento de varredura de 0,001 V.

Para desenvolvimento da metodologia, foi selecionada a componente de corrente resultante, pois, considerando-se o pico 1, suas respostas voltamétricas são bem sensíveis e apresenta ainda, um perfil voltamétrico mais bem definido, com menor largura de meia altura sendo, portanto, a mais indicada para fins analíticos.

4.4.2 Frequência de aplicação dos pulsos

A frequência de aplicação dos pulsos é uma das variáveis mais importantes na VOQ. Uma vez que se mantém constante a concentração, é esta frequência que determina a intensidade dos sinais e, conseqüentemente, a sensibilidade obtida nas análises.

Para investigação dos parâmetros voltamétricos, utilizou-se PQ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e avaliou-se a frequência de aplicação de pulso de 5 a 40 ms. Nesses experimentos, foram mantidos constantes a amplitude de pulso em 0,05 V e o incremento de varredura em 3 mV. Os voltamogramas referentes à variação da frequência de aplicação dos pulsos são exibidos na Figura 26, onde pode ser observado um crescente aumento na corrente de pico. Embora a frequência de 40 ms tenha apresentado maior corrente de pico ($I_p = -3,33 \text{ } \mu\text{A}$), a frequência de 30 ms ($I_p = -3,21 \text{ } \mu\text{A}$) foi escolhida para realização desse trabalho, porque além de apresentar valores de correntes bem próximos da frequência de 40 ms, tem uma menor largura de meia altura.

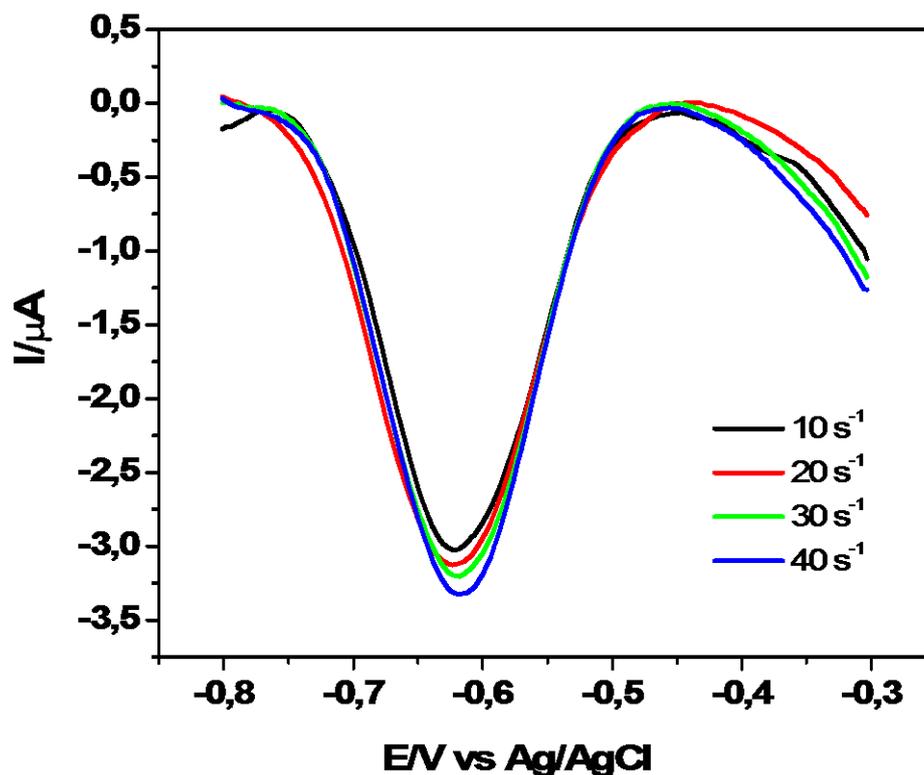


Figura 26: Voltamogramas de onda quadrada para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para frequência variando entre 5 a 40 ms. Amplitude de pulso de 0,05 V e incremento de 3 mV.

4.4.3 Amplitude de pulsos

O estudo da variação da amplitude de pulsos de potencial é muito importante para se avaliar o tipo de processo redox envolvido, já que para sistemas totalmente irreversíveis o aumento da amplitude pode deslocar os valores de potenciais de pico, provocar mudanças significativas nas larguras de meia-altura dos voltamogramas e também pode provocar aumento da corrente de pico [72]. Assim, a análise do intervalo

de linearidade da corrente de pico com a amplitude dos pulsos de potencial é muito importante para aplicações analíticas.

A amplitude de pulsos foi analisada, variando-se de 0,01 a 0,07 V, mantendo-se constante a frequência de aplicação de pulsos em 30 ms e o incremento de varredura em 3 mV. Os voltamogramas são apresentados na Figura 27.

Segundo a literatura [72], para reações reversíveis com adsorção de produto e/ou reagente, a corrente de pico aumenta proporcionalmente somente para valores de amplitude menores que 60 mV, valores de amplitude de aplicação de pulsos de potencial maiores provocam uma mudança na largura de meia-altura influenciando na resposta analítica.

Analisando os resultados apresentados a Figura pode ser observada uma linearidade entre a corrente de pico e o aumento da amplitude de pulsos de 0,01 até 0,05 V. O aumento da amplitude de pulsos de potencial não provocou um deslocamento considerável dos potenciais de pico, contudo, as correntes de pico sofreram um aumento proporcional. Portanto, de acordo com os resultados apresentados, foi escolhida a amplitude de pulso de 0,05 V para dar sequência ao desenvolvimento da metodologia.

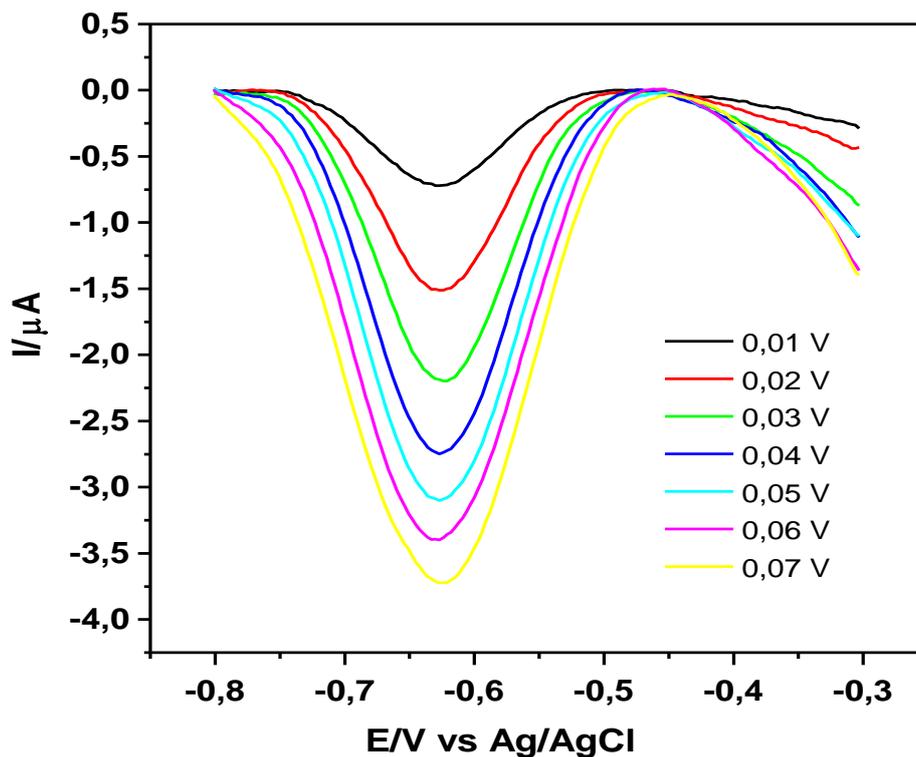


Figura 27: Voltamogramas de onda quadrada para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para amplitude de pulsos variando entre 0,01 a 0,07 V. Frequência de 30 ms e incremento de 3 mV.

4.4.4 Incremento de varredura

Na VOQ, a velocidade de varredura é definida em função do incremento de varredura de potencial e da frequência de aplicação dos pulsos de potencial ($f \times \Delta E_s$).

O incremento de varredura foi avaliado de 0,001 a 0,007 V. Observou-se um pequeno aumento das correntes de pico com o aumento do incremento de varredura até 0,003 V (Figura 28). Nos incrementos maiores, as correntes de pico se mantiveram

praticamente constantes. Para dar continuidade a este trabalho foi escolhido o incremento de 0,001 V, por apresentar um perfil voltamétrico bem definido.

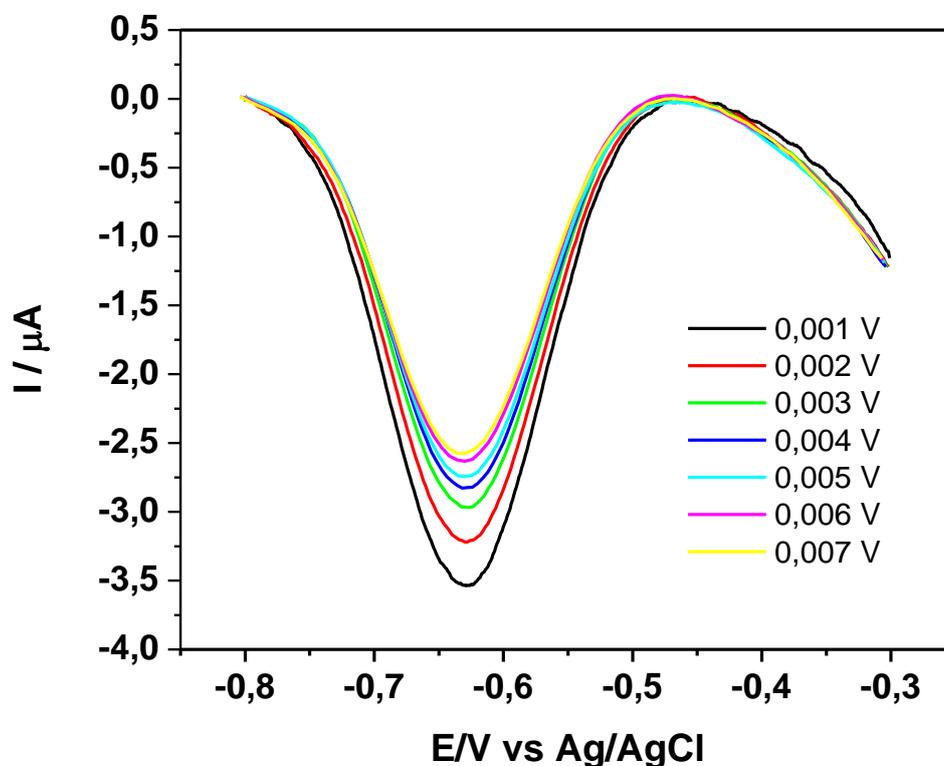


Figura 28: Voltamogramas de onda quadrada para a redução de PQ sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc em uma solução 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,0), registrados para incremento variando entre 0,001 a 0,007 V. Frequência de 30 ms e amplitude de pulso de 0,05 V.

Assim, após a avaliação dos parâmetros voltamétricos por VOQ para PQ, sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc, as condições otimizadas ficaram definidas como: $f = 30$ ms, $a = 0,05$ V e $\Delta E_s = 0,001$ V.

4.4.5 Curva analítica

Uma vez estabelecidas às condições otimizadas: frequência de aplicação dos pulsos de 30 ms, amplitude de pulsos de 0,05 V e incremento de varredura de 0,001 V, construiu-se uma curva analítica a partir de adições consecutivas de 10 μL de uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ na solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) e registros dos voltamogramas cíclicos após cada adição (Figura 29). Uma relação diretamente proporcional entre a corrente de pico e a concentração de PQ adicionada foi observada (Figura 30) e de acordo com a equação:

$$\Delta I / A = [1,01 \times 10^{-6} (\pm 1,17 \times 10^{-7})] + [2,28 (\pm 0,02)] [\text{PQ}] / \text{mol L}^{-1} \quad (6)$$

Foi obtido um coeficiente de correlação de 0,999 para N= 20.

Análises dos resultados experimentais obtidos com a técnica dos experimentos de VPD mostraram que o desvio padrão da média das medidas do branco, calculado a partir da média de 5 brancos (eletrólito de suporte) tomadas no potencial equivalente ao pico da redução de PQ (-0,7 V), foi da ordem de $4,5 \times 10^{-6} \text{ A}$ e $\sigma = 5,8 \times 10^{-9}$. A partir deste valor, os valores de LD e LQ calculados foram $7,6 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ com uma chance de 95% num intervalo de confiança de $7,1 \times 10^{-9}$ a $7,7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para um intervalo de confiança de $2,4 \times 10^{-8}$ a $2,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

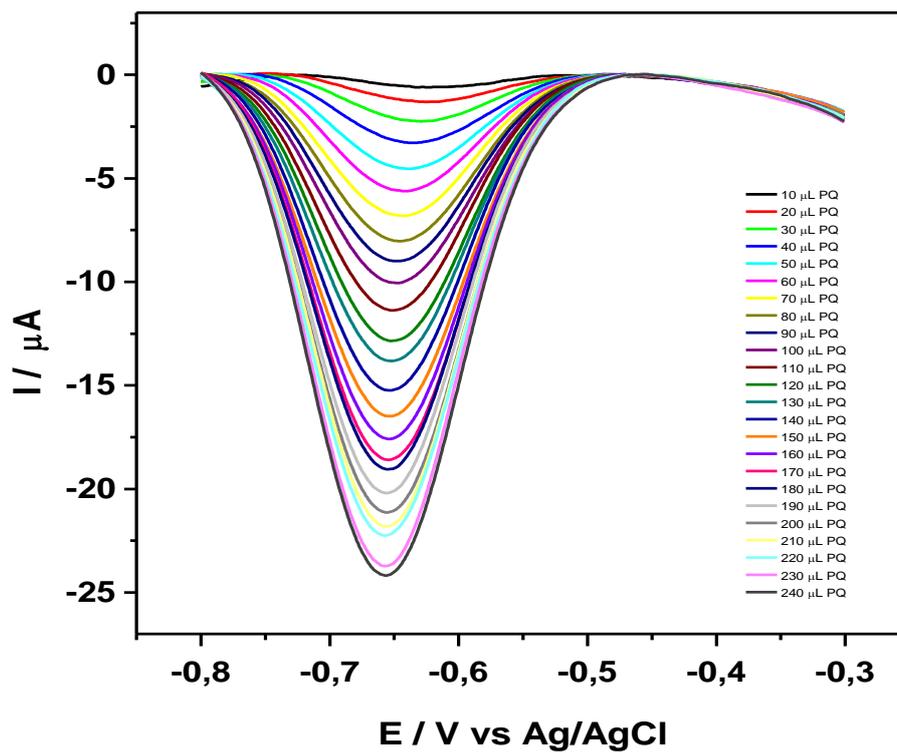


Figura 29: Voltamogramas de Onda Quadrada de PQ registrados sobre eletrodo CV/QT-NiTSPc para adições sucessivas de 10 μL de uma solução PQ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato (pH 7,0). Frequência de aplicação dos pulsos de 30 ms, amplitude de pulsos de 0,05 V e incremento de varredura de 0,001 V.

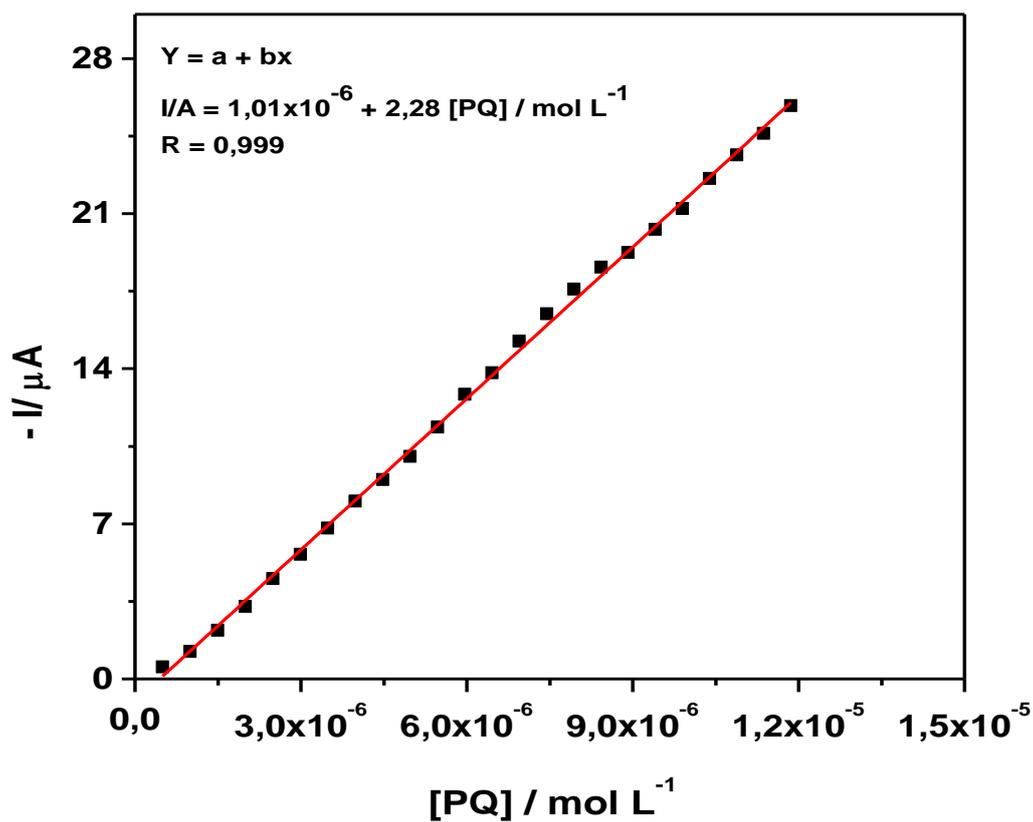


Figura 30: Curva analítica obtida para PQ em tampão fosfato pH (7,0) com eletrodo CV modificado com QT/NiTsPc.

Após obtenção das curvas analíticas do PQ para cada técnica, foi possível fazer uma comparação entre as sensibilidades obtidas, a partir das curvas analíticas construídas para o PQ, cujos valores são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Sensibilidades obtidas através da curva analítica para o paraquat empregando o eletrodo modificado com CV/QT-NiTSPc.

| Técnica | Sensibilidade / $\mu\text{A L mol}^{-1}$ |
|---------|--|
| VC | 0,32 |
| VPD | 1,28 |
| VOQ | 2,28 |

A VC apresentou menor sensibilidade, conforme pode ser observado na Tabela 5. Essa técnica possui algumas limitações, tais como limitações devidon à corrente capacitiva, que é uma das principais corrente de fundo. Essa corrente surge devido a fenômenos relacionados a dupla camada elétrica. Quando um potencial é aplicado a um microeletrodo ele adquire uma carga tipo condensador, devido ao carregamento e descarregamento da dupla camada elétrica. Como em voltametria usa-se varredura de potencial, a cada etapa de potencial aplicado o eletrodo apresentará esse carregamento e descarregamento da dupla camada, desenvolvendo uma corrente, que, por esta razão, é chamada de corrente capacitiva ou de condensador. A outra componente da corrente de fundo ou residual e uma corrente do tipo faradaica, que ocorre devido a impurezas presentes no eletrólito de suporte, em outros reagentes utilizados e ao oxigênio dissolvido. Essa corrente pode ser reduzida ou mesmo eliminada usando-se reagentes mais puros e removendo-se o oxigênio pela passagem de um gás inerte [73].

Assim, é possível afirmar que a principal componente da corrente de fundo que limita a sensibilidade é a corrente capacitiva. Então a pesquisa científica foi direcionada na busca de procurar reduzir essa corrente para que a sensibilidade da técnica pudesse ser melhorada. Portanto, a razão para o baixo limite de detecção da

polarografia clássica é porque a corrente faradaica, isto é, a corrente devido a reação no eletrodo da substância a ser determinada, fica da mesma ordem ou menor do que a corrente capacitiva quando a sua concentração atinge valores da ordem de 10^{-4} a 10^{-5} mol L⁻¹, não sendo mais possível distingui-la da corrente de fundo [73]. Já nas técnicas de pulso essas desvantagens não ocorrem e isto faz com que as mesmas apresentem maior sensibilidade que a técnica de voltametria cíclica.

As frequências usadas em voltametria de onda quadrada permitem que experimentos possam ser realizados com velocidades cem vezes maiores ou mais que nas técnicas de pulso, permitindo também uma maior sensibilidade em relação as demais técnicas [72].

Neste caso para a VOQ foi utilizada uma velocidade de $0,03 \text{ V s}^{-1}$ e uma amplitude de pulso de $0,05 \text{ V}$, enquanto para a VPD foi utilizada uma velocidade de $0,005 \text{ V s}^{-1}$ e uma amplitude de $0,05 \text{ V}$. Com esses dados pode-se observar que na VOQ a velocidade de varredura foi superior à VPD aumentando assim, a sensibilidade da técnica.

4.5 Avaliação da precisão da metodologia por ensaios de Repetibilidade e Precisão intermediária

4.5.1 Repetibilidade

Avaliou-se também a repetibilidade e a reprodutibilidade do sensor proposto, em termos de desvio padrão relativo.

A repetibilidade das medidas foi verificada considerando-se as correntes de pico obtidas para 10 determinações de $2,49 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de PQ em solução tampão fosfato (pH 7,0). As médias das correntes de pico obtida foi de $-7,8 \times 10^{-6}$ A, com desvio padrão relativo (RSD) de 3,1 %. O baixo valor obtido mostra que o eletrodo modificado apresentou uma boa repetibilidade para a determinação de PQ.

Na Tabela 6 pode ser visto os valores das correntes de pico encontradas para tais análises. As correntes de pico foram avaliadas e o desvio padrão relativo (RSD) foi calculado de acordo com a equação:

$$\text{RSD}\% = S \times 100 / X \quad (7)$$

onde S é o desvio padrão das medidas e X é a média das medidas [67].

Tabela 6: Estudos de repetibilidade para PQ $2,49 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, sobre eletrodo CV/QT-NiTSPc, em uma solução tampão fosfato (pH 7,0). Frequência de aplicação dos pulsos de 30 ms, amplitude de pulsos de 0,05 V e incremento de varredura de 0,001 V.

| Replicatas | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|
| -I/ μ A | 7,93 | 8,08 | 8,08 | 8,09 | 7,92 | 7,77 | 7,67 | 7,6 | 7,51 | 7,38 |

4.5.2 Precisão intermediária

A precisão intermediária foi estudada considerando-se 5 medidas diferentes, em soluções e dias distintos, em solução contendo $2,49 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de PQ, nas condições otimizadas.

A Tabela 7 mostra os valores das correntes de pico do PQ para a precisão intermediária do eletrodo proposto. De maneira semelhante à repetibilidade, as correntes de pico foram avaliadas e o desvio padrão relativo foi calculado de acordo com a equação 7.

Tabela 7: Estudos de precisão intermediária para PQ $2,49 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, sobre eletrodo CV/QT-NiTSPc, em uma solução tampão fosfato (pH 7,0). Frequência de aplicação dos pulsos de 30 ms, amplitude de pulsos de 0,05 V e incremento de varredura de 0,001 V.

| Replicatas | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-------------|------|------|------|-----|------|
| -I/ μ A | 8,24 | 8,45 | 8,88 | 8,5 | 8,08 |

A corrente de pico média foi de $-8,43 \times 10^{-6}$ A e o RSD de 3,20%, para n = 5. Pelo aqui exposto, é possível concluir que a metodologia apresentou ótima precisão, uma vez que os valores são menores que o limite recomendado para procedimentos analíticos (5,00%).

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

Baseando-se no Método 549.2 [64], foram realizados ensaios cromatográficos para quantificação de PQ, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector UV.

Um cromatograma típico para este herbicida é exibido na figura 31.

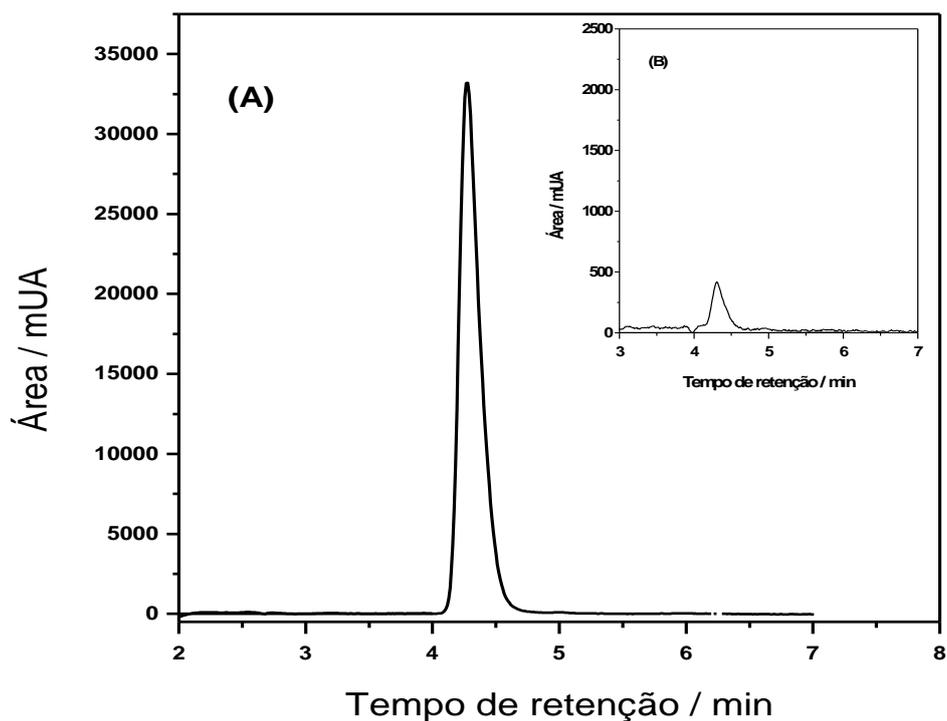


Figura 31: (A): Cromatograma obtido por CLAE-UV para uma solução padrão de Paraquat, comprimento de onda de 257 nm, fase móvel foi de 13,5 mL de ácido ortofosfórico, 10,3 mL de dietilamina e 3,0 g de ácido 1-hexanosulfônico, tempo de retenção de 4,3 min. **(B)** Cromatograma obtido por CLAE-UV para a amostra de água natural, comprimento de onda de 257 nm, fase móvel foi de 13,5 mL de ácido ortofosfórico, 10,3 mL de dietilamina e 3,0 g de ácido 1-hexanosulfônico, tempo de retenção de 4,3 min.

Os ensaios foram realizados em condição isocrática e o PQ foi detectado por CLAE-UV em 257 nm. A fase móvel usada foi de 13,5 mL de ácido ortofosfórico, 10,3 mL de dietilamina e 3,0 g de ácido 1-hexanosulfônico diluída para 1L de água purificada, com um fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. O volume de injeção de amostra foi de 20 μL .

Como visto na Figura 31(B), foi observada na amostra real, a presença de um pico num tempo de retenção de 4,3 min, equivalente à solução padrão de PQ. Para certificar se realmente a amostra de água natural já havia PQ, foram levantadas curvas de recuperação, utilizando o método da adição de padrão.

No método de adição de padrão, quantidades conhecidas da substância são adicionadas em diferentes níveis numa matriz da amostra, antes do procedimento de preparo da amostra, que já contenha quantidades (desconhecidas) da substância [74]. A Figura 32 mostra a curva de adição de padrão, entre área do pico cromatográfico, com a concentração do PQ, com coeficiente de correlação de 0,9979.

Segundo Berg et al [75] a extrapolação da reta define, no eixo das abcissas, a concentração da substância na amostra analisada. Como pode ser visto na Figura 32, a extrapolação da reta passa pela origem, afirmando que na amostra real não contém PQ.

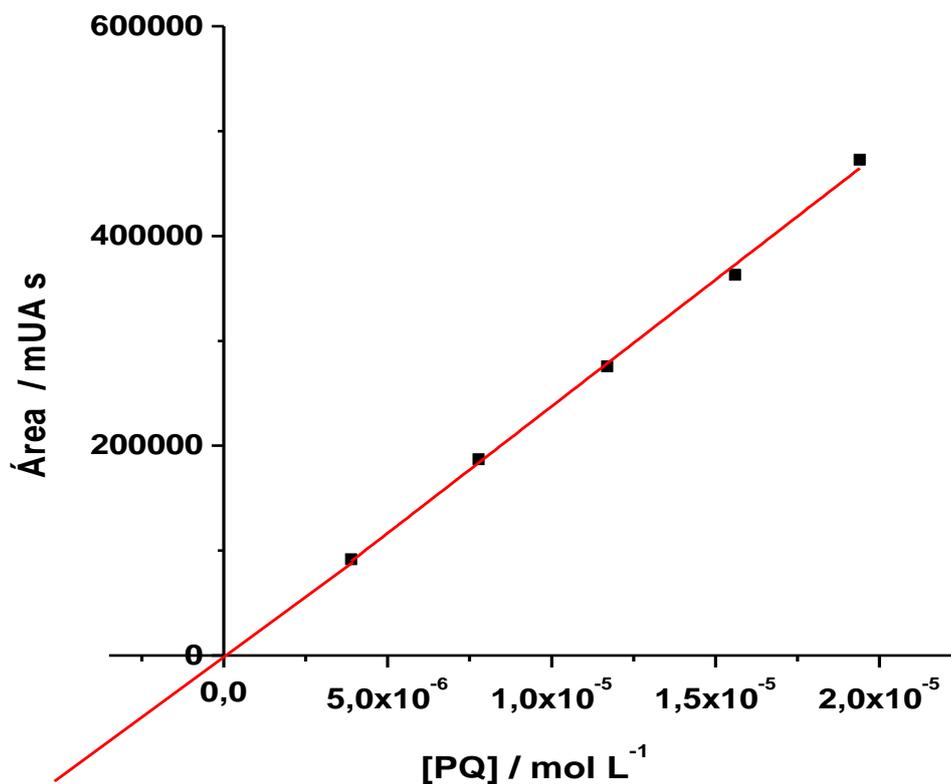


Figura 32: Curva de adição de padrão com a dependência da área do pico cromatográfico, com a concentração do PQ. $A = 752,56 + 2,47 \times 10^{10} [PQ]$, $r = 0,9979$.

Para definir os limites de detecção e quantificação de PQ foi construída uma curva analítica variando a concentração de $3,89 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a $1,94 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (Figura 33).

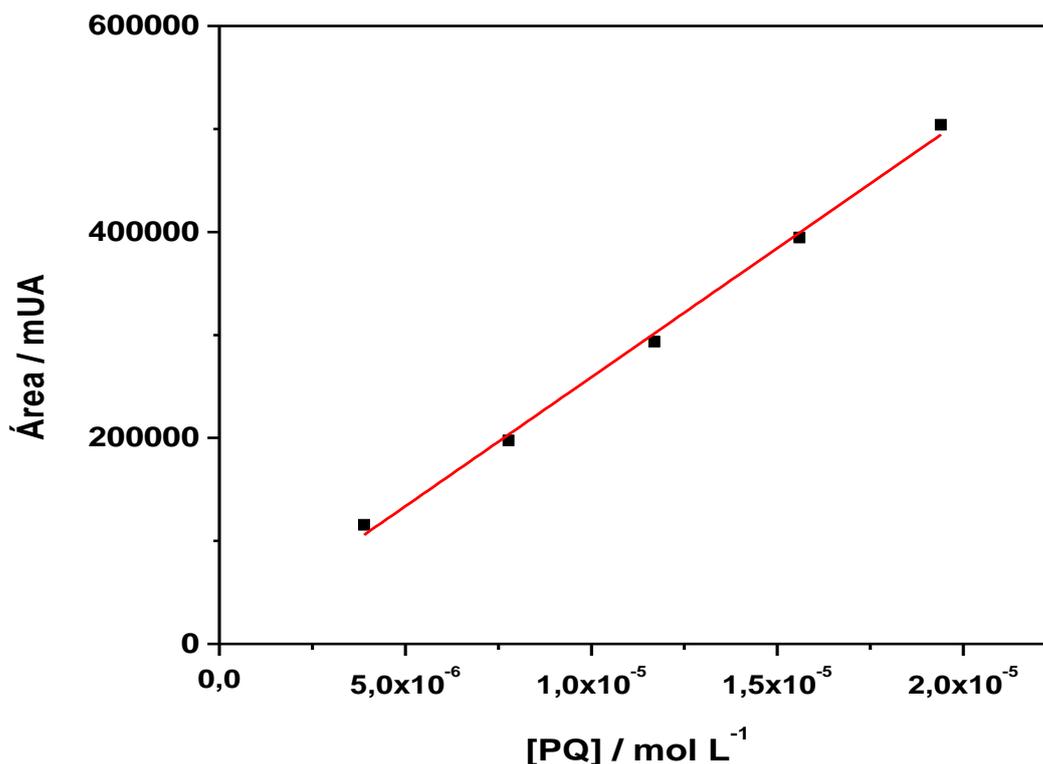


Figura 33: Curva analítica com a dependência da área do pico cromatográfico, com a concentração do PQ $A = 8351,089 + 2,506 \times 10^{10} [PQ]$, $r = 0,9956$.

A variação da área de pico da curva analítica em função da variação de concentração de PQ é apresentada como uma função linear, com um coeficiente de correlação de 0,9956, como exibido na Figura 33, e foi utilizada para avaliar os limites de detecção e de quantificação.

Os valores de LD e LQ foram calculados usando as equações 1 e 2 aplicadas nas técnicas de VC, VPD e VOQ. Os valores de S_b (desvio padrão) para experimentos de CLAE são calculados de outra forma, 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 $2,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $6,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. O fator de recuperação com CLAE-UV também foi calculado e o valor médio obtido foi de 96,71 % ($\pm 1,6$).

Um estudo comparativo entre os parâmetros analíticos para quantificação de PQ por CLAE-UV e os determinados por VOQ são apresentados na Tabela 8. O correto é CLAE.

Tabela 8: Parâmetros analíticos para determinação de PQ por CLAE-UV e voltametria de onda quadrada sobre superfície de CV/QT-NiTsPc.

| Parâmetro | CLAE - UV | VOQ – CV/QT-NiTsPc |
|------------------------------------|---|---|
| Linearidade (mol L ⁻¹) | 3,89x10 ⁻⁶ a 1,94x10 ⁻⁵ | 5,0x10 ⁻⁷ a 1,2x10 ⁻⁵ |
| r | 0,9956 | 0,9990 |
| S | 2,506x10 ¹⁰ (mUA/mol L ⁻¹) | 3,316 (A/mol L ⁻¹) |
| LD (mol L ⁻¹) | 2,0x10 ⁻⁷ | 7,6x10 ⁻⁹ |
| LQ (mol L ⁻¹) | 6,7x10 ⁻⁷ | 2,5x10 ⁻⁸ |
| Recuperação (%) | 96,71 (±1,6) | 101,33 |

Analisando os valores de LD e LQ calculados por ambas as técnicas, é possível observar que os valores de VOQ-CV/QT-NiTsPc foram bem menores que os obtidos por CLAE-UV, possibilitando a determinação de traços de PQ, quando o eletrodo CV/QT-NiTsPc é usado como eletrodo de trabalho. O uso desse eletrodo possibilitou uma elevada sensibilidade analítica comprovando, assim, a eficiência de metodologias desenvolvidas com o uso deste material eletrodico.

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

4.7.1 Aplicação em águas naturais - Estuário de Quebra - Pote (MA)

A metodologia proposta foi aplicada às amostras de águas naturais coletadas no estuário de Quebra Pote, localizado no povoado de Quebra - Pote (Município de São Luís – MA). O ponto em que foi coletada a amostra fica fora da cidade e é relativamente livre de poluição urbana ou industrial, porém, é próximo a região agrícola.

Após coleta as amostras foram armazenadas em geladeira, até a realização das análises.

Adicionalmente, curvas de recuperação para as amostras de águas naturais foram construídas, a fim de se avaliar o efeito dos interferentes presentes. Para o procedimento foram adicionados na célula eletroquímica, 20 mL de eletrólito de suporte e, após registros de medidas do branco, 30 μL da “solução contaminada artificialmente”, representando uma concentração de paraquat adicionada de $1,5 \times 10^{-6}$ 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 N_2 por 2 minutos para 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 34 (A).

A Figura 34 (B) mostra a relação de proporcionalidade, para as curvas de recuperação da amostra real, entre corrente de pico e concentração adicionada de PQ, com coeficiente de correlação de 0,9958.

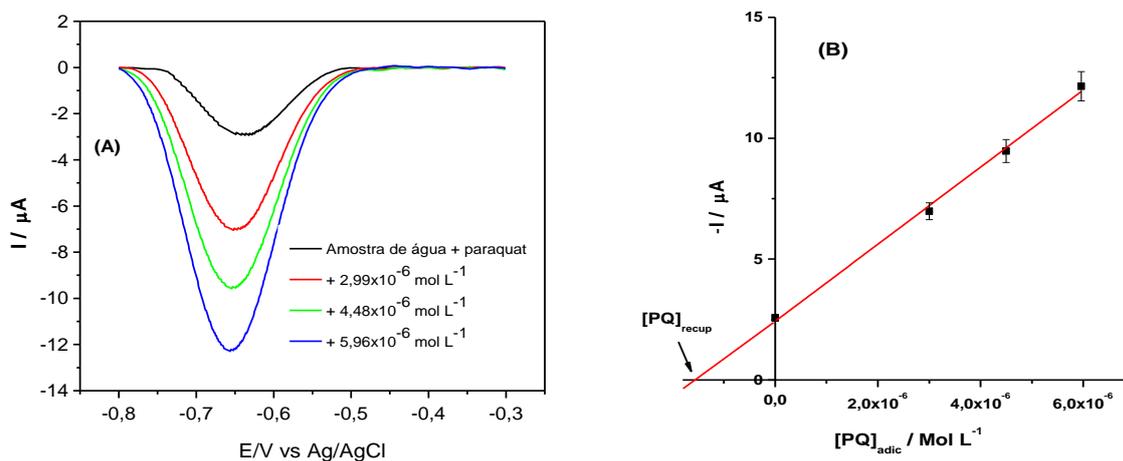


Figura 34: (A): Voltamogramas de onda quadrada de PQ sobre eletrodo CV/QT-NiTsPc, em meio de 30 μL da amostra de água contaminada artificialmente com PQ + 20 mL de uma solução 0,1 mol L^{-1} de tampão fosfato (pH 7,0). **(B):** Curva de recuperação obtida a partir dos valores médios das correntes de pico ($n = 3$), com suas respectivas barras de desvio padrão, com $r = 0,9958$. Frequência de aplicação dos pulsos de 30 s^{-1} , amplitude de pulsos de 0,05 V e incremento de varredura de 0,001 V.

As recuperações para as amostras são mostradas na Tabela 9, 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 amostra de água natural contaminada artificialmente.

| Amostra | [PQ] adicionado (mol L ⁻¹) | [PQ] recuperado (mol L ⁻¹) | Recuperação (%) |
|---------|---|---|-----------------|
| | 1,50 x 10 ⁻⁶ | 1,52 x 10 ⁻⁶ | 101,33 |

4.8 Comparação das condições analíticas do método proposto com valores reportados na literatura para a detecção eletroanalítica de PQ em soluções aquosas

Fazendo-se uma comparação com trabalhos reportados na literatura (Tabela 10) pode ser notado que os valores de LQ, LD e faixa linear para o eletrodo modificado com QT/NiTsPc para detecção de PQ, merecem destaque pois se sobressaem em relação a alguns dos trabalhos citados que determinam PQ com a mesma técnica.

É interessante inferir que a QT utilizada para imobilização do catalisador foi uma simples e eficiente alternativa para o desenvolvimento do sensor, embora assim, o sistema proposto apresentou uma ampla faixa de resposta linear, alta sensibilidade e um baixo limite de detecção, os quais, também, podem ser obtidos para a determinação de PQ empregando outros sistemas como os citados na Tabela 10.

Tabela 10: Comparação das condições analíticas do método proposto com alguns métodos descritos na literatura.

| Eletrodo | Eletrólito | Técnica | Faixa Linear | LD (mol L⁻¹) | LQ (mol L⁻¹) | Ref. |
|--|---|----------------|--|--|--------------------------------|---------------|
| CV/QT-NiTsPc | Fosfato (pH 7,0) | VC | 1,0x10 ⁻⁶ a 1,6x10 ⁻⁵ | 9,6x10 ⁻⁷ | 3,2x10 ⁻⁶ | Este trabalho |
| CV/QT-NiTsPc | Fosfato (pH 7,0) | VPD | 0,5x10 ⁻⁶ a 3,5x10 ⁻⁶ | 2,2x10 ⁻⁸ | 7,4x10 ⁻⁸ | Este trabalho |
| CV/QT-NiTsPc | Fosfato (pH 7,0) | VOQ | 5,0x10 ⁻⁶ a 1,2x10 ⁻⁵ | 7,6x10 ⁻⁹ | 2,5x10 ⁻⁸ | Este trabalho |
| CV/PLL-NiTsPc | Tampão BR (pH 7,0) | VPD | 1,0x10 ⁻⁶ a 1,0x10 ⁻⁴ | 7,6x10 ⁻⁸ | 2,5x10 ⁻⁶ | 23 |
| EPC-FAP | K ₂ SO ₄ (pH 8,0) | VOQ | 5,0,x10 ⁻⁸ a 7,0x10 ⁻⁵ | 3,5x10 ⁻⁹ | 1,16x10 ⁻⁹ | 76 |
| GE/AuNPs-DNA | Tampão PBS (pH 7,0) | VPD | 5,0x10 ⁻⁶ a 1,0x10 ⁻³ | 1,3x10 ⁻⁶ | 4,4x10 ⁻⁶ | 77 |
| GE/AuNPs-DNA | Tampão PBS (pH 7,0) | VOQ | 1,0x10 ⁻⁴ a 1,0x10 ⁻³ | 1,9x10 ⁻⁶ | 6,2x10 ⁻⁶ | 77 |
| Ultramicroeletrodos de microfios de Pt, Au e fibra de carbono | Tampão Na ₂ SO ₄ (pH 5,0) | VOQ | 4,3x10 ⁻⁶ a 1,66x10 ⁻⁴ | Pt (1,5x10 ⁻⁸) Au (2,4x10 ⁻⁶) Cabono (7,9x10 ⁻⁸) | — | 21 |

5. CONCLUSÃO

A partir dos estudos voltamétricos realizados pode-se concluir que:

- A Espectroscopia de Infravermelho mostrou-se muito útil no estudo de identificação dos compostos orgânicos, tornando possível a caracterização da quitosana e ftalocianina tetrassulfonada de níquel, de forma a confirmar que a modificação ocorreu conforme o esperado;
- O eletrodo de carbono vítreo modificado com QT/NiTsPc apresentou melhor resposta analítica para a determinação do herbicida paraquat em relação ao eletrodo não modificado ou modificado apenas com quitosana;
- Os testes de detecção do paraquat sobre o eletrodo CV/QT-NiTsPc mostraram que a resposta de corrente foi mais intensa com concentração de QT $1,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de NiTsPc $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0);
- A investigação do efeito do pH sobre o sinal analítico do sensor mostrou que a obtenção da máxima sensibilidade na determinação do PQ foi no pH 7,0;
- A curva analítica obtida por voltametria cíclica apresentou limites de detecção e quantificação de $9,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente;
- Para a técnica de voltametria de pulso diferencial foram realizadas variações de velocidade de varredura do potencial, amplitude de pulso e tempo de duração do pulso, onde amplitude de pulso de 0,05 V, velocidade de varredura do potencial de $0,005 \text{ V s}^{-1}$ e tempo de duração

do pulso de 30 ms, foram as que apresentaram melhor resposta em termos de corrente de pico e perfis voltamétricos;

- A curva analítica obtida por voltametria de pulso diferencial apresentou limites de detecção e quantificação de $2,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e $7,4 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ respectivamente;
- Para a técnica de voltametria de onda quadrada foram realizadas variações de frequência de aplicação dos pulsos, amplitude de pulsos e incremento de varredura, onde a frequência de aplicação dos pulsos de 30 ms, amplitude de pulsos de 0,05 V e o incremento de varredura de 0,001 V, foram os que apresentaram melhor resposta em termos de corrente de pico e perfis voltamétricos;
- A curva analítica obtida por voltametria de onda quadrada apresentou excelentes limites de detecção e quantificação de $7,5 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ e $2,5 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ respectivamente;
- Os resultados obtidos indicaram a possibilidade da utilização de eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes QT/NiTSPc como alternativa para a determinação do herbicida pQ com técnicas eletroanalíticas;
- As metodologias propostas foram comparadas com métodos cromatográficos (CLAE-UV). Os parâmetros analíticos de validação estabelecidos por VOQ (LD, LQ, recuperação, repetibilidade e precisão intermediária) apresentam resultados melhores que os obtidos por cromatografia (CLAE-UV), mostrando que a VOQ apresentou maior sensibilidade, eficiência e precisão e que pode ser utilizado para o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para a determinação de PQ em amostras reais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] SOUZA, D. **Utilização de ultramicroeletrodos na quantificação dos pesticidas diclorvos e paraquat em diferentes matrizes por voltametria de onda quadrada.** 2004. 168f. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2004.

[2] ANDREU V.; PICÓ, Y. Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v.23, p. 772-789, 2004.

[3] SANTOS, M.V.; FREITAS, F.C.L.; FERREIRA, F.A.; VIANA, R.G.; TUFFI SANTOS, L.D.; FONSEC, D.M. Eficiência e persistência no solo de herbicidas utilizados em pastagem. **Planta Daninha**, v. 24, p. 391-398, 2006.

[4] MARTINS, M. L. **Determinação de pesticidas e compostos relacionados em água de superfície e efluente industrial empregando extração em fase sólida e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa.** Dissertação de Mestrado, UFSM, Santa Maria, RS, 123f, 2004.

[5] CRQ – V. Câmara de Agrotóxico. **Informativo CRQ – V.** Ano X, Nº 97, Junho / Agosto, 2006.

[6] RIBAS, P. P.; MAISUMURA, A. T. S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, p. 149-158, julho / dezembro, 2009.

[7] ANVISA, Site da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Paraquat.** Acesso em: 24 Mar. 2011.

[8] REGITANO, J.B; Propriedades físico-químicas dos defensivos e seu destino no ambiente. In Apostila: **Simpósio sobre dinâmica de defensivos agrícolas no solo – Aspecto práticos e ambientais**, Piracicaba: ESALQ, p.40-50, 2002.

[9] Os agrotóxicos e a poluição das águas: coando mosquito e engolindo camelo. Disponível em: <<http://www.agrisustentavel.com/toxicos/camelo.htm>>. Acesso em: 21 Abril. 2011.

[10] **Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático.** Disponível em: <<http://www.geocities.com/~esabio/tomita.htm>>. Acesso em: 21 Abril. 2011.

[11] FREIRE, F. C. **Avaliação dos possíveis efeitos sobre o desfecho da gravidez em uma população de mulheres expostas cronicamente a agrotóxicos, na região do Vale de São Lourenço, Nova Friburgo, RJ.** Dissertação de Mestrado. ENSP – FIOCRUZ, 83f, 2005.

[12] LOPES, C. I. **Determinação do herbicida paraquat sobre eletrodos de grafite pirolítico modificados com ftalocianina de cobalto utilizando voltametria de onda quadrada.** 2006. 114f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal do Maranhão, 2006.

[13] HASSAL, A. K. The chemistry of pesticides: Their Metabolismo, Mode of Action and Uses in Crop Protection. **Food Chemistry**, v.13, p. 235- 236, 1982.

[14] LU, T-H.; SUN, I-W. Electrocatalytic determination of paraquat using a nafion film coated glassy carbon electrode. **Talanta**, v. 53, p. 443-451, 2000.

[15] OLIVEIRA, U. M. F.; LICHTIG, J.; MASINI, 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.

[16] ALVAREZ, E.; SEVILLA, M.T.; PINILLA, J.M.; HERNANDEZ, L. 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.

[17] MACIAS, J.M.P.; HERNANDEZ, L.; SOBRINO, J.M.; ESCRIBANO, M.T. **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.

[18] PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalítica. *Química Nova*, v. 25, p. 1012-1021, 2002.

[19] SERRA, A.; DOMINGOS F.; PRATA, M. M. Intoxicação por paraquat. *Acta Médica Portuguesa*, v. 16, p. 25- 32, 2003.

[20] Programme international sur la Sécurité des Substances chimiques. **Critères d'hygiène de l'environnement 39: Paraquat et diquat.** Organisation mondiale de La santé, Genève, p. 15-113,1986.

[21] SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S. Estudo eletroanalítico do herbicida paraquat em soluções aquosas por voltametria de onda quadrada utilizando ultramicroeletrodos. *Química Nova*, v. 26, p. 644-647, 2003.

[22] SAAD, B.; ARIFFIN, M.; SALEH, M. I. Flow injection poteciometric determination of paraquat in formulations and biological samples. *Talanta*, v. 47, p. 1231-1236, 1998.

[23] Mendes, Cristiane Arcângela. **Determinação do paraquat sobre eletrodos decarbono vítreo modificado com ftalocianina Tetrassulfonada de níquel em filme de poli-lisina** / São Luís, 2007. 71f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Maranhão, 2007.

[24] RAI, M.K.; DAS, J. V.; GUPTA, V. K. A sensitive determination of paraquat by spectrophotometry. *Talanta*, v. 45, p. 342-348, 1997.

[25] CORASANITI, M. T.; NISTICO, G. Determination of paraquat in rat brain by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 643, p. 419-425, 1993.

[26] TAGUCHI, V.Y.; JENKINS, S.W.D.; CROZIER, P.N.; WANG, D.T. Determination of Diquat and Paraquat in Water by Liquid Chromatography-(Electrospray Ionization) Mass Spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 9, p. 830-839, 1998.

[27] 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.

[28] MOYANO, E.; GAMES, D. E.; GALCERAN, M. T. Determination of quaternary ammonium herbicides by capillary electrophoresis/mass spectrometry. **RapidCommunity Mass Spectrometry**, v. 10, p. 1379-1385, 1996.

[29] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5 Ed. Porto Alegre. : Bookman, cap. 22, 2002.

[30] 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, 1999.

[31] 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**, v.68, p. 498-502,1996.

[32] LAWRENCE,N.S.; BECRET E. L.; DAVIS, J. COMPOTION, R. G. Advances in the voltametric analysis of small biologically, relevant compounds. **Analytical Biochemistry**, v. 303, p. 1-16, 2002.

[33] WANG, J. Electrochemical detection for microscale analytical system: a review. **Talanta**, v. 56, p. 223-231, 2002.

[34] DINH, V. CULLUM, B. Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostic. **Analytical Chemistry**, v. 366, p. 540-441, 2000.

[35] 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. 77-86, 2001.

[36] WANG, J. Modified Electrodes for electrochemical sensors. **Eletroanalysis**, v.3, p. 255-259, 1991.

[37] Paraquat, herbicida perigoso. Disponível em: <<http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0304/paraquato/paginicial.doc>>. Acesso em: 24 Mar. 2011.

[38] MATTOS, I. L.; GORTON, L. Filmes de metal-hexacianoferrato: Uma ferramenta em Química Analítica. **Química Nova**, v. 24, p. 200-205, 2001.

[39] MURRAY, R. W.; EWING, A. G.; DURT, A. R. Chemically modified Electrodes molecular Desing for Electroanalysis, **Analytical Chemistry**, v. 59, p. 379-388, 1987.

[40] ZAGAL, J. H. Metalophtalocyanines as catalysts in electrochemical reactions. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 119, p. 86-136, 1992.

[41] STRADIOTO, N. R.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B. Electrochemical sensors: a powerful tool in analytical chemistry. **Journal Brazilian of Chemistry Society**, v. 14, p. 159-173, 2003.

[42] ALEXIOU, C.; LEVER, A.P.L. Tuningmetalloporyrinandmetallophtalocyanine redox potentials using ligand electrochemical (E_L) and Hammett (δ_p). **Coordination Chemistry Reviews**, v. 216-217, p. 45-54, 2001.

[43] JANEGITZ, C. B.; JUNIOR, M. H. L.; FILHO, F. O. Determinação voltamétrica por redissolução anódica de Cu(II) em águas residuárias empregando um eletrodo de pasta de carbono modificado com quitosana. **Química Nova**, v. 30, p. 1673 -1676, 2007

[44] MIRANDA, B. R. P. **Obtenção de parâmetros físico-químicos de hidroxiquinonas e sua formulação em quitosana**. 2006. 50f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Alagoas, 2006.

[45] REDESCHI, M. C. M. **Preparação e caracterização de filmes a base de xiloglucana extraída de sementes de hymenaea Courbaril (jatobá)**. 2006. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual Paulista "JULIO DE MESQUITA FILHO". São Paulo, 2006.

[46] FÁVERE, Valfredo T.; LARANJEIRA, Mauro C.M. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v.32, p. 672-678, 2009.

[47] Disponível em: www.crg4.org.br/qv_quitosanas. **Química viva**, Conselho Regional de Química 4ª Região. Acesso em: 24 Mar. 2011.

[48] TAN X-C.; TIAN Y-X.; CAI P-X.; ZOU X-Y. Glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized in sol-gel chitosan/silica hybrid composite film on Prussian Blue modified glass carbon electrode. **Anal Bioanal Chem**, v.381, p. 500-507, 2005.

[49] SILVA, R. A. C. A. **Eletrodos de grafite pirolítico modificados com ftalocianna de cobalto e nafion para a oxidação de dopamina na presença de ácido ascórbico**. 2004. 58 f Monografia (Curso de química Industrial) Universidade Federal do Maranhão, 2004.

[50] HART, J. P.; ABASS, A. K. A disposable amperometric gas sensor for sulphur-containing compounds based on a chemically modified screen printed carbon electrode coated with a hydro gel. **Analytical Chemical Acta**, v. 342, p. 199-206, 1997.

[51] ZAGAL, J. H.; GULPPI, M.; ISAACS, M.; CÁRDENAS-JIRÓN, G.; AGUIRRE, M.J. Linear versus volcano correlations between electrocatalytic activity and redox and electronic properties of metalophthalocyanines. **Electrochimica Acta**, v. 44, p. 1349-1357, 1998.

[52] ABE, T.; YOSHIDA, T.; TOKITA, S.; TAGUCHI, F.; IMAYA, A.; KANEKO, M. Factors affecting selective electrocatalytic CO₂ reduction with cobalt phtalocyanines incorporated in polyvinylpyridine membrane coated on a graphite electrode. **Electroanalytical Chemistry**, v. 412, p.125-132, 1996.

[53] ZAGAL, J. H.; HERRERA, P. Electrochemistry of cysteine and cystine on metalophthalocyanines adsorbed on a graphite electrode. **Electrochimica Acta**, v. 30, p. 449-454, 1985.

[54] GERALDO, D.; LINARES, C.; CHEN, Y-Y.; URETA-ZANARTU, S.; ZAGAL, J.H. Volcano correlations between formal potential and Hammett parameters of substituted cobalt phthalocyanines and their activity for hidrazine electro-oxidation. **Electrochemistry Communications**, v. 4, p.182-187, 2002.

[55] ARDILES, P.; TROLLUND, E.; ISAACS, M.; ARMIJO, F.; CANALES, J.C.; AGUIRRE, M. J.; CANALES, M.J. Electrocatalytic behavior oxidation of hidrazine at polymeric iron-tetraaminophthalocyanine modified electrodes. **Journal of Molecular Catalysts A: Chemical**, v. 165, p. 169-175, 2001.

[56] SOTOMAYOR, M. D. P. T.; TANAKA, A.A.; KUBOTA, L.T. Development of an enzymeless biosensor for the determination of phenolic compounds. **Analytica Chimica Acta**, v. 455, p. 215-223, 2002.

[57] ZAMPA, M.F.; BRITO, A.C.F.; KITAGAWA, I.L.; CONSTANTINO, C.J.L.; OLIVEIRA Jr, O.N.; CUNHA, H.N.; ZUCOLOTTI, V.; SANTOS Jr, J.R.; EIRAS, C. Natural gum-assisted phthalocyanine immobilization in electroactive nanocomposites: Physicochemical characterization and sensing applications. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 3408-3413, 2007.

[58] RIBEIRO M. G.; LIEGEL R. M.; AZZELLINI G. C. Supramolecular assemblies of a new class of nonplanar cationic metalloporphyrins and anionic metallophthalocyanines. **Inorganica Chimica Acta**, v. 362, p. 307-317, 2009.

[59] CHAUBEY, A.; MALHOTRA, B. D. Mediated biosensors. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 17, p. 441-456, 2002

[60] FUSE, T.; FUMINYO, K.; TAKAMURA, K. Determination of acidity of coffee by Flow Injection Analysis with electrochemical detection. **Talanta**, v. 55, p. 249-254, 2001.

[61] SOTOMAYOR, M. D. P. T.; TANAKA, A. A.; KUBOTA, L. T. Development of an amperometric sensor for phenol compounds using a nafion® membrane doped with copper dipyriddy complex as a biomimetic. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 536, p. 71-81, 2002.

[62] FERNÁNDEZ, C.; REVIEJO, A. J.; PINGARRÓN, J. M. Voltammetric determination of the herbicides thiram and disulfiram with a cobalt phthalocyanine modified carbon paste electrode. **Analisis**, v. 23, p. 319-324, 1995.

[63] MORITA, T.; ASSUNÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes**. Ed. Edgard Blucher Ltda., São Paulo, p.273-277, 1972.

[64] 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: 09/07/2012. Disponível em: www.epa.gov/nerlcwww/m_549_2.pdf.

[65] SILVERSTEIN R. M.; BASSLER G. C.; MORRIL T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Ed. LTC, Rio de Janeiro, 1994.

[66] MASIELA, N.; NYOKONG, T. The synthesis and photophysical properties of water soluble tetrasulfonated, octacarboxylated and quaternised 2,(3)-tetra-(2 pyridiloxy) Ga phthalocyanines. **Dyes and Pigments**, v. 84, p. 242-248, 2010.

[67] ONI, J.; NYOKONGO, T. Simultaneous voltammetric determination of dopamine and serotonin on a carbon paste electrodes modified with iron (II) phthalocyanine complexes. **Analytica Chimica Acta**, v. 434, p. 9-21, 2001.

[68] SOUZA, D.; 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.

[69] HONORÉ P.; HANTSON P.H.; FAOVILLE J.P.; PEETERS A.; MAHIEU P. Paraquat poisoning: State of the Art. **Acta Clínica Belgica**, v. 49, p. 220-228, 1994.

[70] BRITO, N.M.; JUNIOR, O.P.A.; POLESE, L.; RIBEIRO, L.M. Validação de métodos analíticos: Estratégia e Discussão. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 129-146, 2003.

[71] ZACHOWSKI, E. J.; WOJCIECHOWSKI, M.; OSTERYOUNE, J. The analytical application of square-wave voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 183, p. 47-57, 1986.

[72] LUZ, R. C. S. **Desenvolvimento de sensores eletroquímicos à base de filmes com TCNX (Tetracianoquinodimentano e tetracianoetileno) para determinação de compostos fenólicos**. 2007. 152f. Tese (Doutorado em Química Analítica)-Instituto de Química da UNICAMP, UNICAMP, 2007.

[70] HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2001.

[72] SOUZA, D.; MACHADO, S. A. D.; AVACA, L.A. Voltametria de Onda Quadrada. Primeira Parte: Aspectos Teóricos, **Química Nova**, v. 26, p. 88-95, 2003.

[73] ALEIXO, L. M. **Voltametria: Conceitos e Técnicas**. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, CP 6154, 13084-862 Campinas, São Paulo- Brasil.

[74] de Andrade, J. C. **Química Nova**, 1987, 10, 159.

[75] Berg, R. G.; Murta, A. L. M.; Kugler, W. **Química Nova**, 1988, 11, 288.

[76] MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; BACHIRAT, R.; CHTAINI, A. Square wave voltammetry for analytical determination of paraquat at carbon paste electrode modified with fluoroapatite. **Foods Chemistry**, v. 110, p. 100-1006, 2008.

[77] RIBEIRO, J.A.; CARREIRA, C.A.; LEE, H.J.; SILVA, F.; MARTINS, A.; PEREIRA, C.M. Voltammetric determination of paraquat at DNA-gold nanoparticle composite electrodes. **Electrochimica Acta**, v.55, p. 789-7896, 2010.