

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE MINISSENSORES DE FILME DE BISMUTO
PARA A DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA *IN LOCO* DE ATRAZINA,
DIQUAT E PARAQUAT EM ÁGUAS NATURAIS**

Luiz Carlos Soares de Figueiredo Filho*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos
para a obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA,
área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientador: Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho

* bolsista FAPESP

São Carlos - SP

2011

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

F475dm

Figueiredo Filho, Luiz Carlos Soares de.

Desenvolvimento de minissensores de filme de bismuto para a determinação voltamétrica *in loco* de atrazina, diquat e paraquat em águas naturais / Luiz Carlos Soares de Figueiredo Filho. -- São Carlos : UFSCar, 2011.
87 f.

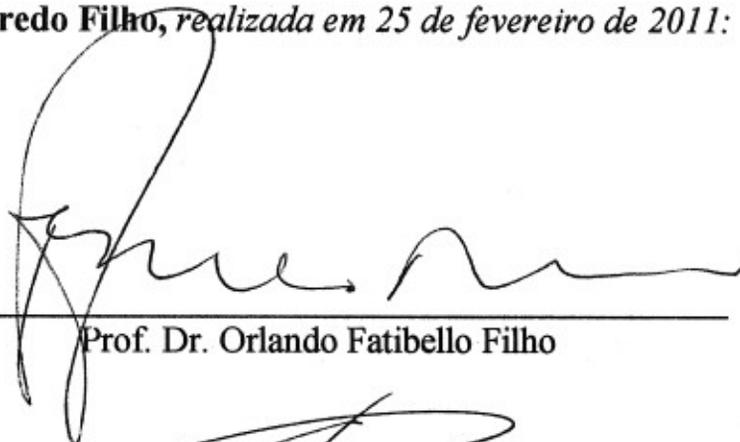
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Química. 2. Eletrodo de bismuto. 3. Pesticidas. 4. Eletrodo impresso. 5. Voltametria. I. Título.

CDD: 540 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado Acadêmico

Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado acadêmico do candidato Luiz Carlos Soares de Figueiredo Filho, realizada em 25 de fevereiro de 2011:



Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho



Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria



Prof. Dr. Mauro Bertotti

*“A alegria que se tem em pensar e aprender
faz-nos pensar e aprender ainda mais”*

Aristóteles

*É preciso impor a si mesmo algumas metas
para se ter a coragem de alcançá-las*

Benito Mussolini

*Dedico este trabalho aos meus pais Luiz Carlos e Rosemarie
pelo amor, paciência, apoio e por abnegação de inúmeras
coisas para que hoje eu conseguisse estar aqui.*

A minha querida avó Izaura pela paciência e pelos abraços carinhosos.

Ao meu irmão Lucas pelo carinho e por me incentivar.

Agradecimentos

A Deus por sempre estar ao meu lado, me iluminando nos momentos difíceis e me acalmado nos momentos de nervosismo e de angústia.

A meus pais por todo apoio e amor

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho pela paciência, pelos ensinamentos, não somente aqueles que vão me servir profissionalmente, mas por aqueles que levo por toda vida, os quais certamente me tornaram um homem melhor e mais justo.

Agradeço de todo coração pela confiança em mim investida e por ser um “pai” (incluindo as inúmeras broncas e puxões de orelha, mas assim como um pai, hoje vejo que nenhuma foi dada sem um ótimo motivo) aqui em São Carlos

Ao Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria que com a ida do Bello para Portugal me auxiliou e me incentivou nos meus estudos e experimentos, sempre com boas idéias, ótimas discussões, além de sua amizade..

Ao Prof. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro que gentilmente nos cedeu um pouco da cola de prata para a confecção dos pseudo-referências.

A banca examinadora por ter aceito o convite para apresentação e arguição desta dissertação de mestrado.

A Gabriela por sempre estar ao meu lado me apoiando e incentivando, por toda a paciência e carinho. E me fazendo aprender todos os dias o quanto a vida é maravilhosa.

Aos meus amigos de Araraquara Thiago, Alana, Lívia, Lariana, Flávio, Victor, Yuri, Bruno, Lucas, Paulinha e tantos outros. Os quais não citarei, pois dariam varias paginas !!!

Ao pessoal do LABIE: Estelinha, Nátalia, Tiago, André e Quésia.

Ao Marco por todos esses 7 anos de convívio e pela sua amizade e conselhos.

Ao “Craudio” por agüentar meu jeito e pela nova amizade feita nesses 2 anos de mestrado.

Ao pessoal do Bloco 30 pela convivência, pelas risadas e por fazer meus 5 anos da graduação uma parte prazerosa da minha vida.

Ao meu “terceiro melhor amigo” Geiser por sempre estar disposto a “fumar um cigarro”, fazendo com que os dias no LABBES fossem mais divertidos. E por sempre animar de sair!

Ao Brunão pela amizade e pela ajuda na realização do meu trabalho, seja com Idéias e discussões, como piadas e brincadeiras

Ao Avaré pela paciência e pelas discussões e por sempre estar disposto a ouvir minhas lamúrias.

A Lilo por sempre estar tão bem humorada e ter esse imenso coração, agüentar todas as broncas e ainda fazer almoço e bolos!!!

A Livinha por me agüentar, por ser tão teimosa! Mas por ser uma pessoa que gosta de aprender e de trabalhar fazendo o meu trabalho virar quase. eu disse quase!!! uma diversão.

A Bruna pela companhia, almoços e por ser a eterna IC do LABBES.

Aos irmãos e irmãs do LABBES (OLD AGE): Helô, Lúcia, Heberth (Irmão), Luiz Humberto, Garça, Oldair, Vivi e Willian

Aos irmãos e irmãs do LABBES: Aline, Allan, Deborah, Elen, Fabi, Humberto, Jorge, Marina, Osmundo, Roberta e Vagner.

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE MINISSENSORES DE FILME DE BISMUTO PARA A DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA *IN LOCO* DE ATRAZINA, DIQUAT E PARAQUAT EM ÁGUAS NATURAIS. No presente trabalho descreve-se o desenvolvimento de eletrodos de filme de bismuto (BiFE) e minissensores/BiFE para posterior aplicação no desenvolvimento de procedimentos eletroanalíticos para a determinação de Atrazina, Diquat e Paraquat utilizando-se as técnicas voltamétricas de onda quadrada (SWV) e de pulso diferencial (DPV). Na confecção do minissensor optou-se em design que reunisse o eletrodo de trabalho (BiFE), pseudo-referência (cola de prata) e auxiliar (cobre) em um mesmo suporte para mais fácil locomoção do sistema eletroquímico para determinações em campo. Utilizaram-se placas de cobre de circuito impresso como substrato e esmaltes de unha como isolante elétrico para delimitar a área ativa dos eletrodos. Desta maneira foi possível a realização de um minissensor de baixo custo. Para o primeiro procedimento desenvolvido determinou-se Atrazina em águas naturais utilizando-se o BiFE e a DPV após as otimizações das condições experimentais obteve-se uma curva analítica no intervalo de concentração de Atrazina de $6,6 \times 10^{-7}$ a $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,4 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Em seqüência foi estudado os parâmetros da técnica de SWV para a determinação de Diquat em amostras de águas naturais utilizando BiFE e o minissensor/BiFE sendo que a resposta linear obtida foi para o intervalo de concentração de $1,9 \times 10^{-7}$ a $5,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $1,9 \times 10^{-7}$ a $9,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ respectivamente e limites de detecção de $8,7 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e $8,9 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Finalmente foi desenvolvido um procedimento para a determinação de Paraquat através da DPV utilizando o BiFE e o minissensor/BiFE. Para o BiFE obteve-se uma relação linear no intervalo de concentração de $6,6 \times 10^{-7}$ a $4,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $9,3 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Após serem avaliadas as melhores condições experimentais para o minissensor/BiFE, este respondeu de maneira linear para um intervalo de concentração de $6,6 \times 10^{-8}$ a $3,9 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

ABSTRACT**DEVELOPMENT OF BISMUTH FILM MINISENSORS FOR *IN LOCO* VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF ATRAZINE, DIQUAT AND PARAQUAT IN NATURAL WATERS.**

The development of bismuth film electrodes (BiFE) and minissensors/BiFE for application to the development of electroanalytical procedures for determination of atrazine, Diquat and Paraquat using voltammetric techniques as square wave (SWV) and differential pulse (DPV) is reported in this work. It was chosen to combine the working electrode (BiFE), pseudo-reference (silver glue) and counter (copper) in the same bracket for easily locomotion of the electrochemical system for field analysis. Copper plates of printed circuit were used as substrate and nail polish was used as an electrical insulator to limit the active area. Thus it was possible to make a minissensor with low cost. For the first procedure developed it was determined atrazine in natural waters using BiFE and DPV after the optimization of experimental conditions was obtained an analytical curve linearity for the range from 6.6×10^{-7} to 2.0×10^{-5} mol L⁻¹, with a limit of detection of 1.4×10^{-7} mol L⁻¹. Subsequently, parameters of the SWV technique for determination of Diquat in water samples were studied using BiFE and minissensor/BiFE and the linear correlation was obtained for a concentration range from 1.9 to $5.6 \times 10^{-7} \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ and from 1.9×10^{-7} to 9.3×10^{-6} mol L⁻¹ respectively, and the limit of detection obtained were 8.7×10^{-8} mol L⁻¹ and 8.9×10^{-8} mol L⁻¹. Finally a procedure was developed for the determination of Paraquat using BiFE and minissensor/BiFE by DPV. For the BiFE a linear relationship was obtained for the concentration range from 6.6×10^{-7} to 4.8×10^{-5} mol L⁻¹, with a limit of detection of 9.3×10^{-8} mol L⁻¹. After being selected the best experimental conditions for minissensor/BiFE, it responded to a linear concentration range from 6.6×10^{-8} to 3.9×10^{-6} mol L⁻¹ with a limit of detection of $1,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

LISTA DE ABREVIATURAS

BiFE- Eletrodo de filme de bismuto

MFE- Eletrodo de filme de mercúrio

FEG-SEM- Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução

MEV-EDX- Microscopia eletrônica de varredura com análise de energia dispersiva

EI- Eletrodo impresso

EIC- Eletrodo impresso de carbono

BSE- Bright silver epoxy

GSH- Gray silver hardener

pH*- pH condicional

t_{pré c}- Tempo de pré-concentração

DPV- Differential pulse voltammetry (voltametria de pulso diferencial)

SWV- Square wave voltammetry (voltametria de onda quadrada)

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1. Concentração dos herbicidas em águas permitidos pelas diferentes agências reguladoras</i>	7
<i>Tabela 2. Parâmetros experimentais para BiFE na determinação de Atrazina</i>	35
<i>Tabela 3. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Atrazina $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ n=3</i>	38
<i>Tabela 4. Determinação de Atrazina em amostras de água fortificadas a partir da represa da UFSCar</i>	39
<i>Tabela 5. Procedimentos analíticos desenvolvidos para determinação de Atrazina</i> .	40
<i>Tabela 6. Parâmetros experimentais avaliados utilizando o BiFE para a determinação de Diquat</i>	42
<i>Tabela 7. Parâmetros experimentais avaliados utilizando o BiFE para a determinação de Diquat</i> .	45
<i>Tabela 8: Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Diquat utilizando BiFE</i>	47
<i>Tabela 9. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Diquat $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (n=3)</i>	48
<i>Tabela 10. Determinação de Diquat em amostras fortificadas de água da represa da UFSCar</i>	49
<i>Tabela 11. Parâmetros estudados de voltametria de pulso de diferencial e os valores selecionados para a determinação de Diquat</i>	50
<i>Tabela 12. Parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e seus valores selecionados na determinação de Diquat</i>	52
<i>Tabela 13: Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Diquat</i> ...	55
<i>Tabela 14: Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Diquat $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ n=3</i>	56
<i>Tabela 15: Determinação de Diquat em amostras fortificadas de água provenientes da represa da UFSCar</i>	57
<i>Tabela 16. Procedimentos analíticos desenvolvidos para a determinação de Diquat</i>	58
<i>Tabela 17. Parâmetros experimentais empregando-se o BiFE para a determinação de Paraquat</i>	60
<i>Tabela 18. Parâmetros experimentais estudados para a determinação de Paraquat utilizando BiFE como eletrodo de trabalho</i>	63
<i>Tabela 19. Comparação das técnicas proposta na determinação de Paraquat</i>	65
<i>Tabela 20. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Paraquat $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (n=3)</i>	66
<i>Tabela 21. Determinação de Paraquat em amostras fortificadas de água da represa da UFSCar</i>	67
<i>Tabela 22. Parâmetros estudados de voltametria de pulso de diferencial e os valores selecionados para a determinação de Paraquat</i>	68
<i>Tabela 23. Parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e seus valores selecionados</i>	70

<i>Tabela 24. Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Paraquat</i>	73
<i>Tabela 25. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Paraquat $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (n=3)</i>	74
<i>Tabela 26. Determinação de Paraquat em amostras de água da represa da UFSCar adicionadas do analito</i>	75
<i>Tabela 27. Procedimentos analíticos desenvolvidos para a determinação de Paraquat</i>	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Gastos na aquisição de pesticidas em 2009 A) Venda anual em milhões de US\$ e B) Venda anual em toneladas	7
Figura 2 Fórmula estrutural da Atrazina	8
Figura 3 Fórmula estrutural do Diquat.....	10
Figura 4 Fórmula estrutural do Paraquat.....	12
Figura 5 Em A) célula eletroquímica construída com materiais de baixo custo e B) Conjunto para análise: conector, minissensor e célula eletroquímica.	20
Figura 6 Sistema para impressão na construção dos três eletrodos do minissensor.	22
Figura 7 A base do minissensor obtido após corrosão da placa de cobre.	23
Figura 8 Minissensor pronto para a eletrodeposição de bismuto e aplicação da cola de prata.	23
Figura 9 Síntese de todas as etapas de obtenção do minissensor proposto.	24
Figura 10 Fotografia do dispositivo de conexão do minissensor com o potenciostato.	25
Figura 11 Ciclovoltagem obtido em uma solução de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte e eletrodo de cobre como eletrodo de trabalho, velocidade de varredura 10 mV s^{-1}	29
Figura 12 Micrografias de FEG-SEM do filme de bismuto em diferentes aproximações A) 10000x B) 50000x	31
Figura 13 Reação de redução eletroquímica para a Atrazina.	32
Figura 14 Voltamograma de pulso diferencial obtido utilizando BiFE para uma solução de Atrazina $4,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH *4,0 em meio etanólico (5 % v/v). * pH condicional.....	32
Figura 15 Variação da corrente de pico do BiFE em função do tempo de adsorção da Atrazina $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH* 4,5 como eletrólito suporte.	34
Figura 16 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica utilizando BiFE para a determinação de Atrazina utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH *4,5 em meio etanólico (15 % v/v), como eletrólito suporte tpré c.= 210 s, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$ e $t = 40 \text{ ms}$	36
Figura 17 Curva analítica obtida utilizando BiFE para a determinação de Atrazina utilizando-se tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em 15% etanol como eletrólito suporte (pH* 4,5), tpré c.= 210 s, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$ e $t = 40 \text{ ms}$	37
Figura 18 Voltamogramas obtidos para uma solução de Diquat $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte, BiFE ou cobre como eletrodo de trabalho e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}	41
Figura 19 Reação de redução para o Diquat.....	41
Figura 20 Voltamogramas de DPV obtidos para a construção da curva analítica do Diquat utilizando BiFE sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 4,5, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 30 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$. Inserida na figura as 4 primeiras adições realizadas.....	43

Figura 21 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se o BiFE. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 4,5, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 30 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$	44
Figura 22 Voltamogramas de SWV obtidos para a construção da curva analítica utilizando o BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 30 \text{ Hz}$, $\alpha = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$	46
Figura 23 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se um eletrodo de cobre com filme de bismuto. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 30 \text{ Hz}$, $\alpha = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$	46
Figura 24 Cromatograma típico para o Diquat na concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	49
Figura 25 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica utilizando o minissensor/BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 5 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$	51
Figura 26 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se um minissensor/BiFE sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 5 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$	52
Figura 27 Voltamogramas SWV obtidos para a construção da curva analítica com o uso do minissensor/BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 60 \text{ Hz}$, $\alpha = 70 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	53
Figura 28 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat utilizando-se um minissensor/BiFE em eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 60 \text{ Hz}$, $\alpha = 70 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	54
Figura 29 Voltamograma obtido para uma solução de Paraquat $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte, BiFE ou cobre como eletrodo de trabalho e $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$	59
Figura 30 Reação de redução para o Paraquat.	59
Figura 31 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica empregando-se BiFE para a determinação Paraquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $v = 30 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 20 \text{ ms}$ e $\alpha = 50 \text{ mV}$	61
Figura 32 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat utilizando-se o BiFE. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $v = 30 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 20 \text{ ms}$ e $\alpha = 50 \text{ mV}$	62
Figura 33 Voltamogramas SWV obtidos na presença de diferentes concentrações de Paraquat empregando o BiFE como eletrodo de trabalho, sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 $f = 40 \text{ Hz}$, $\alpha = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$	64
Figura 34 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat empregando-se o BiFE. Utilizando como eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 $f = 40 \text{ Hz}$, $\alpha = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$	64
Figura 35 Cromatograma típico para o Paraquat na concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	67
Figura 36 Voltamogramas de DPV em diferentes concentrações de Paraquat em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $\alpha = 20 \text{ mV}$, $t = 12 \text{ ms}$ e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ utilizando o BiFE como eletrodo de trabalho.	69

<i>Figura 37 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat empregando-se um eletrodo de cobre com filme de bismuto. Utilizando como eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $\alpha = 20$ mV, $t = 12$ ms e $v = 5$ mV s⁻¹.....</i>	<i>70</i>
<i>Figura 38 Voltamogramas SWV obtidos empregando-se o minissensor/BiFE na presença de diferentes concentrações de Paraquat em meio de tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5 $f = 70$ Hz, $\alpha = 60$ mV e $\Delta E_s = 3$ mV. Em detalhe são apresentadas as 4 primeiras adições.</i>	<i>71</i>
<i>Figura 39 Curva analítica obtida empregando-se SWV na determinação de Paraquat nas condições supracitadas</i>	<i>72</i>

Sumário

1. INTRODUÇÃO	2
1.1 FILME DE BISMUTO	2
1.2 ELETRODOS IMPRESSOS	4
1.3 HERBICIDAS E O MEIO AMBIENTE	6
1.4 ATRAZINA	8
1.4.1 Métodos analíticos para a determinação de Atrazina.....	8
1.4.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Atrazina.....	9
1.5 DIQUAT	10
1.5.1 Métodos analíticos para a determinação de Diquat	10
1.5.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Diquat	11
1.6 PARAQUAT	12
1.6.1 Métodos analíticos para a determinação de Paraquat	13
1.6.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Paraquat	14
2.OBJETIVOS.....	17
3.PARTE EXPERIMENTAL	19
3.1 INSTRUMENTAÇÃO	19
3.1.1 pHmetro e eletrodo combinado de vidro	19
3.1.2. Medidas eletroanalíticas.....	19
3.1.3 Morfologia	19
3.1.4. Célula eletroquímica.....	19
3.1.5. Eletrodos	20
3.2 CONSTRUÇÃO DOS ELETRODOS	20
3.2.1 Eletrodo de cobre recoberto com filme de bismuto	20
3.2.2 Eletrodeposição do Filme de Bismuto	21
3.2.3 Construção do minissensor sobre placa de cobre.....	21
3.2.4 Eletrodeposição de filme de bismuto para construção do eletrodo de trabalho no minissensor	23
3.2.5 Aplicação da cola de prata para a construção do eletrodo de pseudo-referência para o minissensor	24
3.3 SOLUÇÕES ESTOQUE.....	25
3.4 AMOSTRAS.....	26
3.4.1 Tratamento e pré-concentração	26
3.5 MÉTODOS COMPARATIVOS	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 ESTUDO DO PROCESSO REDOX DO BISMUTO	29
4.2 ESTUDO DA ELETRODEPOSIÇÃO DO BISMUTO SOBRE COBRE	30
4.3 MICROGRAFIAS (FEG-SEM)	30
4.4 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA ATRAZINA	31
4.4.1 Estudo da determinação de Atrazina por DPV com o eletrodo de filme de bismuto depositado sobre substrato de cobre.....	33

4.4.2 Estudo da influência do eletrólito suporte.....	33
4.4.3 Estudo da influência do tempo de pré-concentração	34
4.4.4 Estudo dos parâmetros químicos e os relacionados à técnica de voltametria de pulso diferencial.....	34
4.4.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial	35
4.4.6 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Atrazina	37
4.4.7 Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade	38
4.4.8 Determinação de Atrazina em amostras da represa da UFSCar	38
4.4.9 Comparação do BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura	39
4.5 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO DIQUAT	40
4.5.1 Estudo da determinação de Diquat por voltametria de pulso diferencial com BiFE depositado sobre substrato de cobre.....	42
4.5.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial	42
4.5.3 Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade	44
4.5.4 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Diquat por voltametria de onda quadrada.....	44
4.5.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada.....	45
4.5.6 Comparação entre as técnicas SWV e DPV na determinação de Diquat utilizando BiFE	47
4.5.7 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Diquat.....	47
4.5.8 Determinação de Diquat em amostras da represa da UFSCar.....	48
4.6.1 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Diquat por voltametria de pulso diferencial.....	50
4.6.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial	50
4.6.3 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Diquat por voltametria de onda quadrada.....	52
4.6.4 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada	53
4.6.5 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Diquat utilizando minissensor/BiFE	54
4.6.6 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do minissensor/BiFE para determinação de Diquat	55
4.6.7 Determinação de Diquat em amostras da represa da UFSCar.....	56
4.6.8 Comparação do BiFE e minissensor/BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura.....	57
4.7 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO PARAQUAT	58

4.7.1 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Paraquat por voltametria de pulso diferencial	60
4.7.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial	60
4.7.3. Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade	62
4.7.4 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Paraquat por voltametria de onda quadrada	62
4.7.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada	63
4.7.6 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Paraquat	65
4.7.7 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Paraquat.....	65
4.7.8 Determinação de Paraquat em amostras da represa da UFSCar.....	66
4.8.1 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Paraquat por voltametria de pulso diferencial.....	68
4.8.1.1 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial	68
4.8.2 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Paraquat por voltametria de onda quadrada.....	70
4.8.2.1 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada	71
4.8.3 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Paraquat utilizando o minissensor/BiFE	72
4.8.4 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do minissensor/BiFE para determinação de Paraquat.....	73
4.8.5 Determinação de Paraquat em amostras da represa da UFSCar.....	74
4.8.6 Comparação do BiFE e minissensor/BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura.....	75
5. CONCLUSÕES	78
6. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	81
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

Capítulo 1

Introdução

1. Introdução

1.1 Filme de bismuto

Os eletrodos de mercúrio apresentam um comportamento eletroquímico bem conhecido e definido, com elevado sobrepotencial de hidrogênio, boa estabilidade, reprodutibilidade e sensibilidade nas determinações de cátions metálicos¹. Porém, devido à alta toxicidade do mercúrio, há uma continua busca para substituir estes eletrodos por outros materiais de menor toxicidade¹⁻³. Desta maneira, vários materiais vêm sendo investigados para serem aplicados como eletrodos para substituir os eletrodos baseados em mercúrio, tais como cobre, ouro, irídio, compósitos a base de carbono, entre outros. Estes materiais devem apresentar um desempenho melhor ou semelhante ao eletrodo de mercúrio para que seja possível a sua substituição^{2,4}. Assim, a procura por novos materiais conduziram ao desenvolvimento de eletrodos de filme de bismuto (BiFE) os quais apresentam como principais características: uma boa janela catódica de potencial, menor interferência do oxigênio dissolvido, menor toxicidade perante ao mercúrio e apresenta um comportamento similar aos eletrodos que tem como base o mercúrio.

Os primeiros trabalhos publicados utilizando eletrodos modificados com bismuto foram apresentados nos artigos publicados em 2002 de maneira distinta por Vytras e colaboradores⁵ e Pauliukaite e colaboradores⁶ que determinaram Cd(II) e Pb(II) com o eletrodo de pasta de carbono modificado com Bi₂O₃. Desta maneira iniciou-se o uso do bismuto para substituir os eletrodos a base de mercúrio.

Wang e colaboradores² foram os primeiros a utilizar o filme de bismuto (BiFE) em substituição ao eletrodo de mercúrio. Neste trabalho o filme de bismuto foi eletrodepositado *in situ* sobre a superfície de um eletrodo de carbono vítreo para a determinação de Pb(II) e Cd(II) por voltametria de redissolução apresentando limites de detecção de 1,1 µg L⁻¹ e 0,3 µg L⁻¹ para Pb e Cd, respectivamente.

Os primeiros estudos sobre o substrato no qual o filme de bismuto era depositado foram realizados por Królicka e colaboradores⁷⁻⁸ no qual o filme de bismuto era depositado *ex situ* sobre o carbono vítreo e os mesmos também desenvolveram um sensor à pasta de carbono modificado com Bi₂O. Após o estudo do modo de preparo do filme os autores determinaram cobalto(II) em amostras de água apresentando boa linearidade de 20 a 200 µg L⁻¹ de Co(II) com coeficiente de correlação de 0,9985 e limite de detecção de 0,07 µg L⁻¹.

Kefala e colaboradores⁹ estudaram diferentes formas de eletrodeposição do bismuto em diferentes substratos mostrando desta maneira que o substrato exerce influência na resposta analítica do filme. Estes pesquisadores estudaram também a presença do surfactante TRITON X-100[®] em conjunto com o eletrólito suporte para a determinação de zinco obtendo-se assim uma melhor resolução do sinal analítico para a determinação dos cátions Cd^{2+} , Pb^{2+} e Zn^{2+} .

Hutton e colaboradores¹⁰ desenvolveram um microeletrodo de filme de bismuto para análises de Pb(II) , Cd(II) , Co(II) e Ni(II) . Com a utilização do eletrodo proposto obtiveram um aumento na sensibilidade para esses metais frente ao microeletrodo de filme de mercúrio. Neste trabalho adicionaram-se íons brometo à solução de eletrodeposição do bismuto promovendo a formação de um filme mais homogêneo e aderente.

Legeai e Vittori^{4,11} foram os primeiros a utilizar o cobre como substrato para deposição do filme de bismuto e para uma melhor aderência estes autores modificaram a superfície do substrato com filme de Nafion. Este procedimento apresentou uma melhora na resposta analítica para os íons Cd(II) e Pb(II) em amostras de água e extratos de algas respectivamente, apresentando limites de detecção de $0,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,1 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e Pb.

Estudos apontam o bom desempenho analítico do BiFE para a determinação de níquel¹² com a resposta analítica similar ao eletrodo de gota pendente de mercúrio, apresentando limite de detecção de $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Charalambous e Economou¹³ realizaram um trabalho para demonstrar a utilidade do BiFE na determinação de índio na presença de cádmio e chumbo por voltametria de onda quadrada anódica em amostras de água potável. Houve uma separação satisfatória dos picos, determinando concentrações dos cátions metálicos.

Wang e Lu¹⁴ também compararam o eletrodo de filme de bismuto com o de filme de mercúrio para a determinação de níquel com dimetilglioxima conseguindo uma faixa linear de 5 a $80 \mu\text{g L}^{-1}$ e um desvio padrão de $1,8\%$, constatando uma melhora significativa perante o eletrodo de mercúrio. Outros trabalhos foram realizados utilizando o BiFE para a determinação de íons metálicos em diversas matrizes^{9,15}, pode-se citar o de Guo e colaboradores¹⁶ que determinaram Zn(II) em milkvetch, uma planta utilizada na China para uso terapêutico apresentando recuperações entre 96 a 102% .

Zhang e colaboradores¹⁷ utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de bismuto para a determinação de bactérias *Escherichia coli*, utilizando a técnica de amperometria acoplada a um sistema de injeção em fluxo para monitoramento do 4-nitrofenol, um subproduto formado pela hidrólise da β -D-glucuronidase produzida pela bactéria.

A influência da eletrodeposição na morfologia e desempenho eletroanalítico do BiFE sobre eletrodo de cobre foi estudado por Nunes e Faria. Os filmes de bismuto foram obtidos em HNO_3 e HCl na presença ou ausência de citrato de sódio e caracterizados por FEG-SEM e SEM-EDX. O BiFE apresentou em meio de HCl e de citrato de sódio boa aderência e uma estrutura homogênea. Após o estudo de formação e caracterização do filme, este foi utilizado na determinação de Pb(II) ¹⁸.

1.2 Eletrodos Impressos

O desenvolvimento de sensores vem crescendo muito nos últimos anos, sempre buscando baixo custo, robustez e facilidade de modificação, requisitos importantes para o desenvolvimento de versões comercializáveis. No entanto, a regeneração da superfície após o uso é o maior entrave para o desenvolvimento desses sensores.

Inúmeras soluções para este problema estão em desenvolvimento, entre elas o emprego de sensores descartáveis que vem sendo muito investigado, eliminando assim a necessidade de regeneração da superfície, além de conseguir manter uma área para todos os eletrodos extremamente reprodutível. Dessa maneira, vem sendo empregada com grande sucesso a tecnologia “screen-printed” ou “silk-screen” para a fabricação desses eletrodos. O uso desta técnica possibilita a produção em massa de eletrodos a um custo extremamente baixo, com grande simplicidade, e pode ser praticada em qualquer laboratório, sendo assim apropriada para a produção de eletrodos descartáveis.

Os atrativos dos eletrodos impressos (EI), é a possibilidade de total automação na fabricação de um sistema completo contendo os eletrodos de trabalho, auxiliar e referência, todos impressos no mesmo suporte. Esta característica associada à simplicidade de elaboração e às inúmeras possibilidades de modificação dos EI prometem colocar a técnica numa posição privilegiada entre as demais, sendo possivelmente aplicável em caráter industrial.

Os eletrodos impressos são produzidos imprimindo diferentes tintas em vários tipos de substratos como plásticos, cerâmicas e filmes metálicos sobre superfície não condutora. As telas de poliéster são geralmente usadas para imprimir com padrões projetados. A composição do vários tipos de tintas usadas para imprimir nos eletrodos determina a seletividade e sensibilidade que se requer para cada análise¹⁹.

A grande versatilidade apresentada pelos EIs está na variedade de modos nos quais os eletrodos podem ser modificados. A composição das tintas de impressão pode ser alterada pela adição de diferentes substâncias como metais, enzimas, polímero, agentes de complexação e outros. Por outro lado, existe a possibilidade de modificar os eletrodos fabricados, por meio da deposição na superfície dos eletrodos como filmes de metal, polímero, enzimas etc²⁰⁻²¹.

Os EIs de carbono (EICs) foram aplicados para a determinação de metais. Honeychurch e colaboradores²² propuseram um método para a determinação de Pb(II) em amostras de água através de voltametria anódica de pulso diferencial, com um limite de detecção de $2,5 \text{ ng mL}^{-1}$ e o coeficiente de variação foi de 2,4% ($n = 5$). Semelhantemente, foi determinado Cu(II) em amostras de água e de soro bovino, com um limite de detecção de $8,2 \text{ ng mL}^{-1}$ ²³. Amostras de soluções fotográficas foram monitoradas para a determinação de Ag(I) usando voltametria de onda quadrada anódica para baixas concentrações do metal, e cronoamperometria para concentrações mais elevadas²⁴.

Embora a maioria do EICs seja fabricado com tintas de grafite, outros tipos de materiais estão sendo utilizados, como ouro e tintas de prata, para a análise e determinação de vários elementos. Assim, Lashi e colaboradores²⁵ fizeram a determinação de Pb(II) e de outros metais pesados, tais como, Hg(I) e Cd(II) em EI com filme de ouro utilizando voltametria de onda quadrada anódica obtendo-se limites de detecção de 0,5, 2,0 e $0,9 \text{ g L}^{-1}$ e desvio padrão relativo de 7, 12, e 14%, respectivamente para os íons citados acima.

Outros filmes de metais foram utilizados para a confecção de EICs como Au^0 , Ag^0 e Ni^0 para a determinação de vários analitos. Essa nova proposta veio como alternativa para o uso de filmes de Hg. Assim, Wang²⁶⁻²⁷ propôs um método para a análise de Pb(II) e Hg(I) em EICs com filmes de ouro obtendo respostas reprodutíveis para ambos os elementos.

Além de metais, outros analitos foram determinados usando EICs modificado. Deste modo, hidrazinas foram analisadas com eletrodos modificados com

fitalocianinas de cobalto que foi incorporada dentro das tintas de carbono²⁸. Com a eletrodeposição de hexacianoferrato de níquel sobre a superfície de um eletrodo de carbono foi possível a determinação de peróxido de hidrogênio²⁹.

1.3 Herbicidas e o meio ambiente

A Química Verde ou Green Chemistry³⁰ pode ser definida como a utilização de técnicas químicas e metodologias que reduzam ou eliminem o uso de solventes, reagentes ou a geração de produtos e subprodutos de alta toxicidade.

. A expansão da agricultura para as áreas de vegetação natural é indesejável, pois isto reduziria a biodiversidade do planeta. A manutenção ou a melhoria da produtividade dos cultivos nas atuais terras cultivadas seja aplicada a pequena propriedade ou em propriedades maiores, mostra-se, portanto, necessário.

Desta maneira surgem os pesticidas, substâncias químicas com o propósito de conseguir a eliminação e/ou o controle das pragas em ambientes que estas não sejam benéficas, os pesticidas podem ser classificados quanto ao seu alvo biológico, podendo ser:

- Acaricidas: para o controle de ácaros.
- Bactericidas: para o controle de bactérias.
- Fungicidas: para o controle de fungos.
- Herbicidas: para o controle de ervas daninhas.
- Inseticidas: para o controle de insetos.
- Nematicidas: para o controle de nematóides (vermes).
- Rodenticidas: para o controle de ratos e outros tipos de roedores.
- Moluscicidas: para o controle de moluscos.

O controle biológico das ervas daninhas é geralmente limitado e o controle mecânico é dificultoso mesmo utilizando maquinaria ou extremamente trabalhoso manualmente. Assim, o uso de herbicidas se tornou muito importante.

Diversas agências reguladoras (CONAMA resolução nº 357, de 17 de março de 2005³¹, Agência de proteção ambiental americana³² e Agência de proteção ambiental canadense³³) regulamentam sobre a presença de herbicidas nos corpos d'água, principalmente para aquelas consideradas como Classe 1 que podem ser destinadas a manter o consumo humano, após tratamento convencional ou avançado, à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca

amadora e à recreação de contato secundário. Os limites permitidos para os herbicidas são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração dos herbicidas em águas permitidos pelas diferentes agências reguladoras

Agência Reguladora	Pesticida	Limite permitido mg L ⁻¹	Limite permitido mol L ⁻¹
Americana	Atrazina	0,7	9,3 x 10 ⁻⁸
	Paraquat	0,02	5,5 x 10 ⁻⁷
	Diquat	0,2	1,8 x 10 ⁻⁸
Canadense	Atrazina	0,005	2,3 x 10 ⁻⁸
	Paraquat	0,07	1,9 x 10 ⁻⁷
	Diquat	0,01	3,8 x 10 ⁻⁸
Brasileira, de acordo com a CONAMA nº 357	Atrazina	0,002	9,3 x 10 ⁻⁹
	Paraquat	-	-
	Diquat	-	-

Na Figura 1 de acordo com o Sindag (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola) pode-se observar o uso de pesticidas no Brasil, seja o foco, a quantidade utilizada ou o custo em milhões US\$ anualmente gastos para sua aquisição.

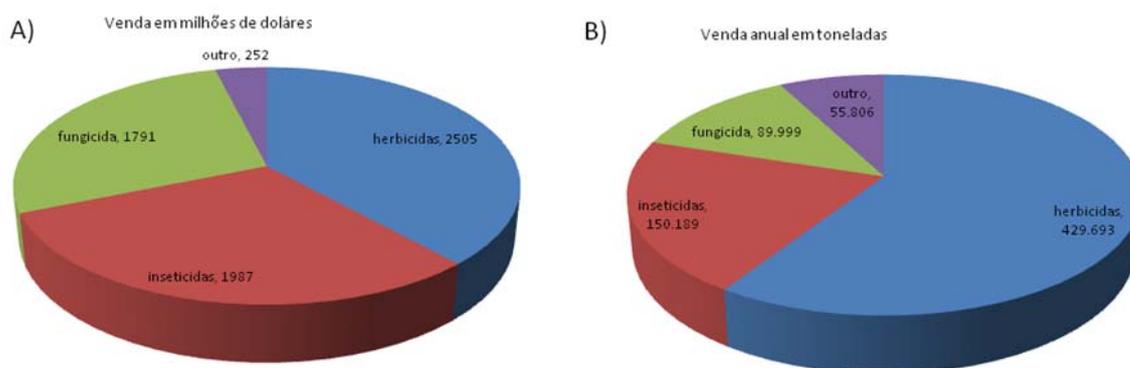


Figura 1 Gastos na aquisição de pesticidas em 2009 A) Venda anual em milhões de US\$ e B) Venda anual em toneladas

1.4 Atrazina

A Atrazina (2-cloro-4-etilendiamino-6-isopropilamino-1,3,5-triazina) é um herbicida pertencente à classe das triazinas, é utilizada no controle de ervas daninhas, principalmente em culturas de milho, cana-de-açúcar e soja, pois apresenta uma ótima seletividade para o controle pré e pós-emergente de ervas de folhas largas. A Figura 2 representa a estrutura química da Atrazina³⁴⁻³⁵.

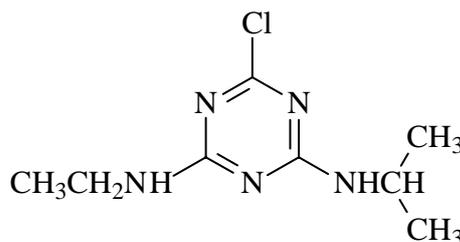


Figura 2 Fórmula estrutural da Atrazina

A Atrazina é um composto polar, fracamente básico e sua estabilidade pode ser explicada pela configuração eletrônica de seu anel heterocíclico. O potencial herbicida da Atrazina deve-se à sua ação na inibição da fotossíntese pela interrupção da reação de Hill. Sua biodisponibilidade em solos é governada essencialmente pelo equilíbrio dinâmico existente entre a solubilidade na fase aquosa e a capacidade adsortiva do composto no sistema coloidal do solo. Vários fatores direcionam a eficácia e reatividade da Atrazina, entretanto, muito pouco é conhecido sobre as interações e modificações decorrentes. Acredita-se que estes processos sejam governados pela solvatação, adsorção e degradação do herbicida no solo, agindo sobre a seletividade específica do herbicida³⁶.

1.4.1 Métodos analíticos para a determinação de Atrazina

Existem diversos relatos na literatura para a determinação de Atrazina por detecção espectrofotométrica³⁷⁻³⁹, fluorimétrica⁴⁰, cromatografia líquida de alta eficiência⁴¹⁻⁴⁶, eletroquímica⁴⁷⁻⁵⁵ e eletroforese capilar⁵⁶⁻⁵⁷.

Kesari e Gupta³⁷ propuseram um método espectrofotométrico para a determinação de Atrazina em várias amostras ambientais e biológicas, onde a

Atrazina reage com piridina e forma um haleto quaternário que soma um grupo de hidroxila na presença de álcali formando um carbinol. O heterociclíco reage com o carbinol resultando na formação de um dialdeído de glutacônico que subseqüentemente reage com p-aminoacetofenona formando um polimetil de coloração laranja-amarela que é monitorado no comprimento de onda de 470 nm. A linearidade observada ficou na faixa de 0,16 a 1,6 ppm de Atrazina. O método apresentou-se sensível e livre da interferência da maioria das espécies observadas nas amostras estudadas.

Rocha e colaboradores⁴¹ utilizaram a microextração em fase sólida junto com a espectrometria de massas para a determinação de vários pesticidas, entre eles a Atrazina em amostras de água. Após os estudos dos melhores parâmetros (tempo de extração 40 minutos e tempo de injeção de 15 minutos) eles obtiveram um limite de detecção de 0,25 mg L⁻¹ na determinação de Atrazina, sendo que com este estudo foi possível observar a contaminação da amostra com o herbicida.

1.4.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Atrazina

Dos Santos e colaboradores⁴⁹ apresentaram um método para a determinação de Atrazina em águas naturais por voltametria de onda quadrada usando um eletrodo de trabalho de gota pendente de mercúrio. O limite de detecção foi de 2 µg L⁻¹ com uma faixa linear entre 10 e 250 µg L⁻¹ em tampão Britton-Robinson, pH 1,9. As recuperações de Atrazina ficaram entre 92 e 116 %.

Maleki e colaboradores⁴⁷ também utilizaram um eletrodo a base de mercúrio para determinação de Atrazina, porém eletrodepositaram *in situ* o filme de mercúrio na presença de tiocianato. Após analisarem os parâmetros da voltametria adsortiva de onda quadrada os autores obtiveram uma linearidade na faixa de concentração de 0,5 a 60 µg L⁻¹, com um limite de detecção de 0,024 µg L⁻¹.

Um método condutométrico utilizando um biossensor de tirosinase para a determinação de Atrazina e outros pesticidas foi proposto por Anh e colaboradores⁵³. Neste biossensor a tirosinase foi imobilizada empregando-se glutaraldeído por 30 minutos. A determinação foi feita pela diminuição da atividade da enzima antes e

depois de contato com o analito. O limite de detecção foi de aproximadamente 1,0 ppb e a curva analítica foi linear no intervalo de 2,15 a 2150 ppb de Atrazina.

1.5 Diquat

Diquat (1,1'-etileno-2,2'-bipiridina-dibrometo) é um herbicida de contato rápido e eficiente. Na sua maioria é utilizado no controle de ervas daninhas e também na dessecação de vários tipos de cultura entre elas a soja e o trigo. A sua atividade baseia-se na formação de radicais que provocam a peroxidação de lipídios e danos nas membranas celulares da planta podendo assim promover a dessecação das plantas em um curto espaço de tempo⁵⁸⁻⁵⁹.

Este herbicida foi introduzido no mercado pela Imperial Chemical Industries em 1958, ele é comercializado como pó ou como solução 50% em água com agentes ativadores de superfície. Desta maneira, está entre o mais usado pesticida para controle de erva daninha, quando é libertado no meio ambiente o Diquat adere de maneira rápida e eficiente⁶⁰. Na Figura 3 pode-se observar a fórmula estrutural do Diquat

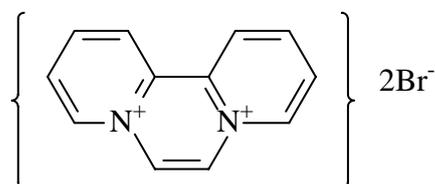


Figura 3 Fórmula estrutural do Diquat

A exposição prolongada ao Diquat acarreta em diversos problemas a saúde podendo produzir pequenas irritações na boca, pele e vias respiratórias, a exposição por longos períodos pode causar tosse crônica, dor no tórax e hemorragias nasais. O envenenando através de Diquat pode causar falência renal aguda, danos ao fígado, dificuldades respiratórias e em caso mais graves hemorragias cerebrais.

1.5.1 Métodos analíticos para a determinação de Diquat

Diversos procedimentos são encontrados na literatura para a determinação de Diquat tais como, espectrofotométrica⁶¹⁻⁶³, eletroquímica⁶⁴⁻⁶⁹, eletroforese capilar⁷⁰⁻⁷¹

e por cromatografia líquida de alta eficiência⁷²⁻⁷³. A seguir são descritos alguns trabalhos de maior relevância para a determinação de Diquat utilizando as técnicas anteriormente citadas.

Um método para a determinação do herbicida Diquat em amostras de herbicidas comerciais, águas, batatas, flores, terras, soro e urina foi proposto por Perez-Ruiz e colaboradores⁶³, neste procedimento os autores estudaram a formação de um radical estável obtida por redução de Diquat com hidrossulfito de sódio, obtiveram uma relação linear entre concentração de Diquat e intensidade de fluorescência entre 0,13 a 7,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Um método utilizando análise por injeção em fluxo foi descrita por López-Paz e colaboradores⁶¹ para a determinação de Diquat baseada na reação quimiluminescente com o ferricianeto em meio básico a temperatura de 70 °C. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de 10-600 ng mL^{-1} e limite de detecção de 2 ng mL^{-1} . O método foi aplicado na determinação de Diquat em produtos comerciais.

Pateiro-Moure e colaboradores⁷³ propuseram um procedimento utilizando HPLC para a determinação de Diquat em amostras de solo através de digestão por microondas e posterior detecção no UV em 310 nm e por GC/MS, obtiveram uma linearidade de 20 a 1000 e de 10 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ e um desvio padrão de 6,1% e 4,6% respectivamente.

1.5.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Diquat

O comportamento voltamétrico do Diquat foi estudado em meio aquoso por Melo e colaboradores⁶⁴ utilizando o eletrodo baseado em amálgama dental (utilizada em restauração odontológica) em amostras de águas e de batata. Para realizar este procedimento os autores utilizaram a voltametria de onda quadrada sendo a análise referente aos dois picos de redução do Diquat. Através dos melhores parâmetros definidos obtiveram uma linearidade de $4,96 \times 10^{-7}$ a $5,66 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $2,9 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. O procedimento proposto foi comparado à cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV-vis onde os autores conseguiram recuperações de 70 a 130%.

Um método voltamétrico utilizando ferramentas quimiométricas, como a PLS, Diaz e colaboradores⁶⁵ desenvolveram um procedimento para a determinação da oxidação de Diquat na presença ou não de Paraquat, para tanto os autores utilizaram a voltametria de onda quadrada e de pulso diferencial, obtendo para ambas as técnicas uma curva analítica na região de 0,5 a 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Lu e Sun⁶⁶ propuseram um método baseado na voltametria de pulso diferencial utilizando o eletrodo de carbono vítreo com filme de Nafion[®]. Para obterem uma melhora no sinal analítico, promoveram a pré-concentração do analito durante 4 minutos em meio de permanganato de potássio 0,001 mol L⁻¹, desta maneira, o método apresentou uma boa sensibilidade e um intervalo de concentração de $3,0 \times 10^{-9}$ a $4,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹.

Walcarius e Lamberts⁶⁷ utilizaram o eletrodo de gota de mercúrio estática para a determinação de Diquat em amostras de águas e de batatas. A absorção do herbicida foi feita progressivamente por difusão controlada. Após os estudos de parâmetros a medida da variação de corrente permitiu a determinação em uma faixa linear de $5,0 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $1,5 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

1.6 Paraquat

O Paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-bipiridina-dicloreto), na forma reduzida, forma um composto de cor azul ou violeta. Suas propriedades como pesticida foram avaliadas em 1958 e alguns anos depois foi introduzido comercialmente com o nome de Paraquat⁷⁴. A Figura 4 representa a sua fórmula estrutural.

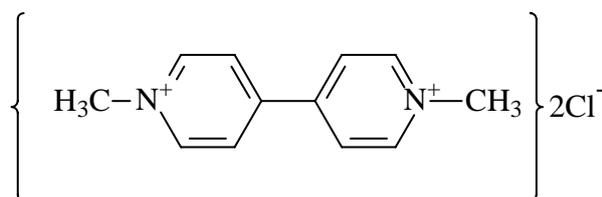


Figura 4 Fórmula estrutural do Paraquat

O Paraquat é extremamente tóxico, podendo causar intoxicações fatais em seres humanos e animais. No homem, ele pode ser reduzido pela enzima NADPH (fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo)- citocromo P450 redutase, com a transferência de um elétron, formando o radical Paraquat⁷⁵. Este, por sua vez, em presença de oxigênio oxida-se rapidamente produzindo um ânion radical superóxido

e regenerando o Paraquat. Desta maneira, ciclos repetidos de redução e re-oxidação do herbicida podem ocorrer gerando uma grande quantidade de espécies de oxigênio reduzido que levam o organismo ao stress oxidativo ou à peroxidação de gorduras.

A intoxicação mais grave provocada por Paraquat é a das vias respiratórias. Porém, os casos de intoxicação por inalação são raros⁷⁶⁻⁷⁷. Edema pulmonar agudo e dano pulmonar podem acontecer dentro de algumas horas de exposições severas⁷⁸⁻⁷⁹ causando em sua maioria fibrose pulmonar, o que leva, geralmente, à morte entre 7-14 dias depois da inalação⁸⁰.

1.6.1 Métodos analíticos para a determinação de Paraquat

Alguns métodos são descritos na literatura para a determinação de Paraquat por detecção espectrofotométrica⁸¹⁻⁸³, fluorimétrica⁸⁴⁻⁸⁶, e HPLC^{72,87-89}. Entretanto, alguns desses procedimentos são de alto custo, enquanto outros são trabalhosos e/ou requerem profissionais com boa capacitação, pois envolvem diversas etapas analíticas.

Infante e colaboradores⁸¹ propuseram um sistema em fluxo utilizando micro-bombas solenóides para a determinação de Paraquat em águas naturais. O procedimento envolvia a reação do herbicida com ácido ascórbico. Obtiveram uma resposta linear na faixa de 0,10 a 5,0 mg L⁻¹, uma frequência de amostragem 63 determinações por hora, com um desvio padrão relativo de 1,0% a um nível de confiança de 95%.

Uma nova proposta espectrofotométrica para a determinação de Paraquat em amostras humanas, como sangue, urina e o leite materno foi desenvolvida por Rai e colaboradores⁸². Este método é baseado na redução do pesticida pelo borohidreto de sódio em meio alcalino obtendo-se assim um íon azul monitorado espectrofotometricamente em 600 nm. Obtiveram uma faixa linear de 0,05 a 0,5 µg mL⁻¹ de Paraquat. O método não apresentou interferência de outros pesticidas geralmente usados em conjunto com o analito de interesse.

Um método cinético fluorimétrico foi proposto por Sendra e colaboradores⁸⁴. A reação entre o herbicida, ácido ascórbico, Violeta de Cresyl em meio alcalino e na presença de dodecilssulfato de sódio foi aplicada ao desenvolvimento de um

sistema. A frequência de amostragem foi de 120 determinações por hora, com uma faixa linear de 6 a 500 ng mL⁻¹ e o limite de detecção foi de 1,8 ng mL⁻¹ com um desvio padrão menor do que 3%. O método proposto foi aplicado para determinação de Paraquat em água potável, leite e vinho branco com recuperações entre 89-104%.

Ito e colaboradores⁸⁸ propuseram um método cromatográfico simples e rápido utilizando uma coluna de octadecilsilano para a determinação de Paraquat e Diquat em sangue, as amostras de soro desproteínizado foram introduzidas diretamente em HPLC. Desta maneira os autores obtiveram uma curva de calibração de Paraquat e Diquat utilizando a determinação espectrofométrica em 290 nm, com uma faixa linear entre 0,1 a 10,0 mg mL⁻¹, com limite de detecção de 0,05 mg mL⁻¹, enquanto o RSD obtido foi 4,52% e o tempo para a análise de Paraquat foi menor que 30 min, podendo assim ser aplicado em caso de envenenamento e com uma pronta resposta para um possível tratamento.

1.6.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Paraquat

Diversos procedimentos são encontrados na literatura para a determinação eletroquímica de Paraquat^{68-69,90-98}. A seguir são descritos alguns trabalhos de maior relevância para a determinação de Paraquat.

El Mhammedi e colaboradores⁹⁰ propuseram um método voltamétrico de onda quadrada para a determinação de Paraquat utilizando eletrodo de pasta de carbono modificado com fosfato. A redução do herbicida foi observada em torno de -0,7 V e -1,0 V. Obtiveram uma resposta linear entre $2,3 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ a $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. O limite de detecção foi de aproximadamente de $7,8 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹ com um RDS de 1,8% (n = 7).

Outro método analítico foi proposto por Lopes e colaboradores⁹³ para a determinação de Paraquat em amostras de água potável. Neste trabalho os autores observaram que o uso do eletrodo de grafite pirolítico modificado com diferentes metalofitalocianinas. O estudo foi realizado por voltametria de onda quadrada, empregando fitalocianinas de cobalto, ferro, manganês e a forma ácida das fitalocianinas. Os estudos indicaram que o eletrodo modificado com fitalocianina de cobalto apresentou uma melhor resposta ao analito de interesse, obtendo-se uma

faixa linear de $5,00 \times 10^{-7}$ a $2,91 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de 26,53 µg L⁻¹.

Alvarez e colaboradores⁹⁷ propuseram um procedimento utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado quimicamente com resina Amberlite XAD-2 para a determinação de Paraquat por voltametria de redissolução catódica em águas naturais. Foram estudados para o desenvolvimento deste procedimento todos os parâmetros relacionados a técnica, obtendo-se um limite de detecção de 0,1 µg mL⁻¹.

A determinação de Paraquat através de microeletrodos de ouro foi proposto por Souza e Machado⁶⁹ utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, a linearidade obtida foi abaixo do limite permitido pelas agências reguladoras para amostras de águas superficiais, sendo que o limite de detecção foi de $1,8 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ com RDS de 1,2%. Neste trabalho foram analisadas amostras de três diferentes pontos do Rio Mogi-Guaçu, onde estas amostras apresentaram uma recuperação entre 89,5 e 95,0 %. Outro método foi proposto por Souza e colaboradores⁶⁸ utilizando microeletrodos de ouro, contudo a técnica utilizada foi a voltametria de múltiplos pulsos que propiciou uma linearidade de $5,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $2,4 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹.

Capítulo 2

Objetivos

2.Objetivos

O objetivo deste trabalho foi de desenvolver um método para a construção de eletrodos impressos descartáveis (minissensor) empregando-se como substrato cobre proveniente de placas utilizadas em circuitos impressos e depósito de filme de bismuto eletroquimicamente como eletrodo de trabalho e estudar as melhores condições experimentais para a sua aplicação na determinação *in loco* dos herbicidas Atrazina, Diquat e Paraquat em águas naturais.

Capítulo 3

Parte Experimental

3. Parte Experimental

3.1 Instrumentação

3.1.1 pHmetro e eletrodo combinado de vidro

As medidas de pH das soluções foram realizadas utilizando-se um pHmetro digital ORION, modelo EA 940, acoplado a um eletrodo combinado de vidro, com um eletrodo de referência interno de Ag/AgCl, contendo uma solução de KCl 3,0 mol L⁻¹.

3.1.2. Medidas eletroanalíticas

As medidas eletroanalíticas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Palm Sens (Palm Instruments BV) gerenciado pelo programa computacional Palm Sens PC.

3.1.3 Morfologia

A superfície dos eletrodos de filme de bismuto foi analisada por microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV), utilizando um equipamento modelo FEG XL30 da Phillips.

3.1.4. Célula eletroquímica

Para os experimentos eletroquímicos utilizando o BiFE sobre substrato de cobre foi empregada uma célula de compartimento único de 15 mL, confeccionada em vidro borossilicato, sempre adicionando uma alíquota de 5 mL de eletrólito suporte para a realização das medidas eletroquímicas.

Nas medidas voltamétricas utilizando o minissensor construiu-se uma célula eletroquímica como mostrada na Figura 5. Nesta construção foi considerada a diminuição de custos para as determinações, sendo empregados tubos de tinta

guache de 5 mL. Após a limpeza do tubo, realizou-se um corte na tampa do mesmo para que pudesse ser fixada a conexão do minissensor com o potenciostato.

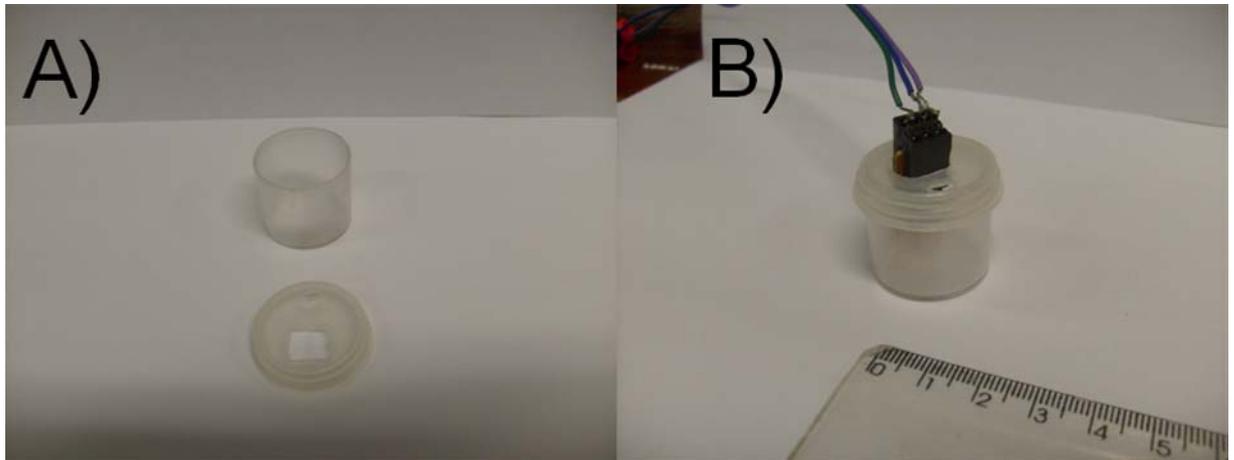


Figura 5 Em A) célula eletroquímica construída com materiais de baixo custo e B) Conjunto para análise: conector, minissensor e célula eletroquímica.

3.1.5. Eletrodos

Utilizou-se um sistema de três eletrodos, sendo que, o eletrodo de trabalho foi o eletrodo de filme de bismuto, um eletrodo de Ag/AgCl (KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e outro de platina como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente.

3.2 Construção dos eletrodos

3.2.1 Eletrodo de cobre recoberto com filme de bismuto

Um fio de cobre de dimensões $4,0 \text{ mm}$ de diâmetro por $95,0 \text{ mm}$ de comprimento foi inserido em um tubo de vidro de $6,0 \text{ mm}$ de diâmetro e $80,0 \text{ mm}$ de comprimento. Para preenchimento, adicionou-se resina epóxi (SILAEX) ao tubo de vidro com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. Para o processo de cura esperou-se 24 horas. A superfície para eletrodeposição do bismuto apresentou uma área geométrica de $12,6 \text{ mm}^2$.

O tratamento mecânico consistiu de abrasão em lixa d'água 600 (SiC) utilizando uma politriz modelo APL-02 (Arotec), para eliminar o filme anterior da

superfície e expor o substrato. Então, o eletrodo foi lavado três vezes com etanol, antes de cada medida. O mesmo procedimento foi feito com água, para a retirada de possíveis partículas da superfície do eletrodo.

3.2.2 Eletrodeposição do Filme de Bismuto

Para a confecção do eletrodo proposto, depositou-se eletroquimicamente o filme de bismuto no substrato aplicando-se um potencial de $-0,18\text{ V vs. Ag/AgCl}$ ($\text{KCl } 3,0\text{ mol L}^{-1}$) durante 200 s em uma solução de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,02\text{ mol L}^{-1}$, $\text{HCl } 1,00\text{ mol L}^{-1}$ e citrato de sódio $0,15\text{ mol L}^{-1}$.

3.2.3 Construção do minissensor sobre placa de cobre

A primeira etapa a ser desenvolvida para a construção do minissensor é a projeção do arranjo dos eletrodos de forma que se defina a área a ser recoberta pelo bismuto (eletrodo de trabalho) e prata (pseudo-eletrodo de referência). O eletrodo auxiliar (contra eletrodo) utilizado foi o próprio cobre do substrato, uma vez que em potenciais negativos o mesmo pode não sofrer reações redox, podendo ser utilizado como tal.

Tendo como objetivo desenvolver um arranjo que pudesse ser facilmente reproduzido e que as áreas a serem recobertas pelo bismuto e pela cola de prata fossem também reprodutivas, optou-se por um arranjo que fosse impresso em impressora a laser, sobre papel decalque, para posterior transferência para a placa de cobre.

A Figura 6 mostra o arranjo de três eletrodos confeccionados no programa Corel Draw X4[®], e impressos em papel decalque antes da transferência térmica para a placa de circuito impresso de cobre para a construção do minissensor.

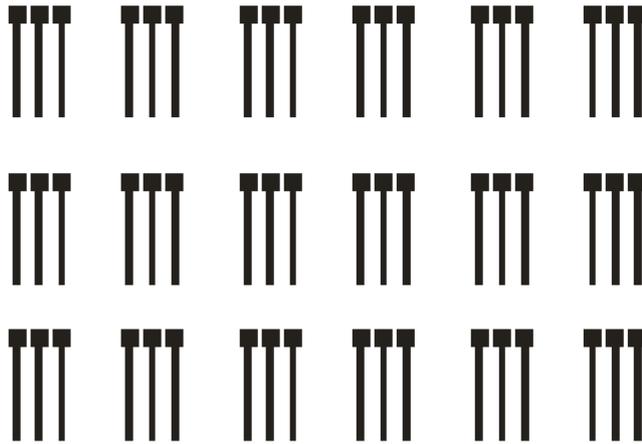


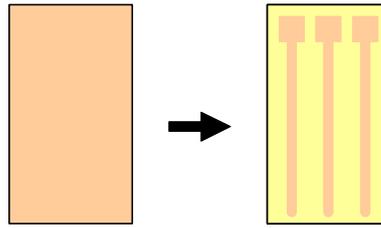
Figura 6 Sistema para impressão na construção dos três eletrodos do minissensor.

O diagrama esquemático abaixo mostra quais os passos realizados após a impressão do sistema, Desta maneira iniciou-se o processo de transferência do desenho dos minissensores para a placa de cobre. A etapa de transferência é feita seguindo-se as etapas descritas abaixo:

1. Impressão do desenho descrito na Figura 6 em papel decalque utilizando uma impressora HP Laser Jet 1300;
2. Limpeza da placa de cobre com água deionizada e posteriormente com acetona, para a eliminação de gordura;
3. Transferência do desenho para a placa por aquecimento a 120 °C durante 240 s com o auxílio de uma prensa térmica modelo PTM 30;
4. Remoção do cobre não recoberto pelo desenho através da imersão da placa em uma solução de cloreto férrico 0,50 mol L⁻¹ em meio de HCl 0,10 mol L⁻¹ durante 15-20 minutos.
5. Lavagem da placa com água deionizada e posteriormente com acetona para a remoção da tinta.
6. Recorte da placa para obtenção dos eletrodos utilizando uma mini retífica (Ferrari Modelo MR).

Depois de realizadas as etapas supracitadas têm-se o desenho mostrado na Figura 7 transferido para a placa de cobre que é então recortada para obter minissensores individuais. A partir daí, são realizadas as etapas de delimitação da área a ser recoberta com prata e bismuto.

Placa de cobre



Arranjo de eletrodos

Figura 7 A base do minissensor obtido após corrosão da placa de cobre.

A delimitação da área a ser recoberta pelo bismuto e cola de prata é feita de maneira bem simples. Observando-se o minissensor (Figura 7), nota-se na extremidade superior três quadrados com $4,0 \text{ mm}^2$ de área, seguidos cada um, com três trilhas de aproximadamente 20 mm de comprimento. Utilizando esmalte de unhas, que age aqui como um isolante elétrico, recobriu-se parte do sensor de modo que somente a área inferior apresentasse 10 mm com cobre exposto (para posterior contato elétrico entre o sensor e o potenciostato) e a parte inferior apresentasse os três quadrados com $4,0 \text{ mm}^2$ de área. Para que a aplicação do esmalte fosse feita de forma eficiente, as áreas que deveriam permanecer com cobre exposto foram recobertas com fita adesiva e só então foi aplicado o isolante.

A Figura 8 mostra o minissensor com aplicação do isolante elétrico, como citado anteriormente, delimitando as áreas a serem recobertas por cobre e cola de prata, como também o contato elétrico para conexão com o potenciostato.

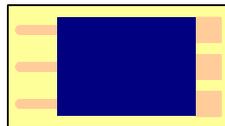


Figura 8 Minissensor pronto para a eletrodeposição de bismuto e aplicação da cola de prata.

3.2.4 Eletrodeposição de filme de bismuto para construção do eletrodo de trabalho no minissensor

A etapa de eletrodeposição do filme de bismuto foi realizada como descrito anteriormente. Para que a eletrodeposição ocorra em apenas uma das três áreas

ativas do minissensor, deve-se conectar somente a extremidade referente ao eletrodo de trabalho ao potenciostato. Desta forma, apesar das outras áreas estarem imersas na solução de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e HCl $1,00 \text{ mol L}^{-1}$, somente a extremidade onde se aplica o potencial de $-0,18 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ (KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$) durante 200 s será recoberta pelo filme de Bismuto.

3.2.5 Aplicação da cola de prata para a construção do eletrodo de pseudo-referência para o minissensor

A cola de prata (Electron Microscopy Sciences. Industry Road, Hatfield, PA.) utilizada é composta por duas substâncias, a Bright Silver Epoxy (BSE) e a Gray Silver Hardener (GSH). Para a preparação desta cola realizou-se a mistura e homogeneização do BSE e GSH, após a homogeneização efetuou-se a aplicação sobre uma das áreas delimitadas do substrato de cobre. Para que fosse mantida uma área constante para a aplicação da cola de prata, foi necessária a utilização de fita isolante. Após a aplicação na superfície de cobre esperou-se 24 horas para que a cola secasse. Esta foi à maneira mais simples e barata para a construção do eletrodo de referência a ser utilizado no minissensor proposto.

Após esta etapa, tem-se o minissensor pronto para a sua aplicação. A Figura 9 esquematiza todo o processo de obtenção do minissensor proposto.

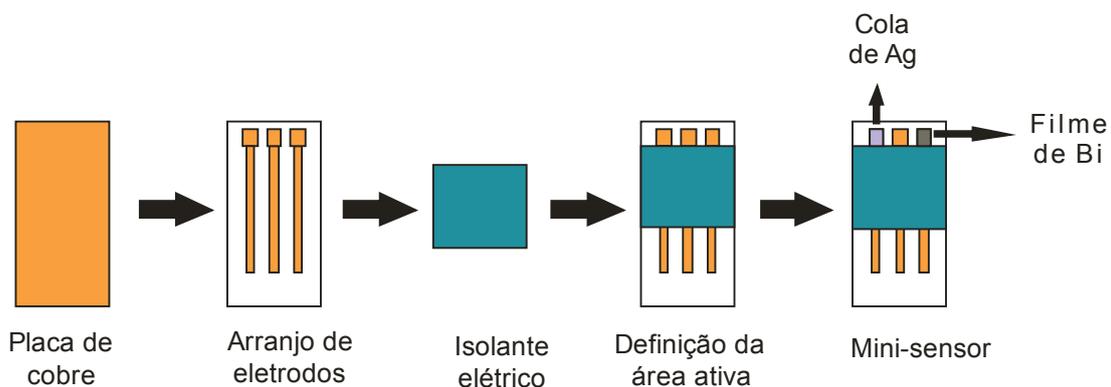


Figura 9 Síntese de todas as etapas de obtenção do minissensor proposto.

Para a conexão do minissensor com o potenciostato foi necessária a construção de um dispositivo que pudesse conectar o minissensor em uma das

extremidades e o potenciostato em outra. Este dispositivo necessitava ser suficientemente pequeno para que a proposta de construção de um sensor em miniatura continuasse sendo válida. Desta forma, utilizando-se de materiais baratos (conector de impressora tipo TT, bananas de contato e fio utilizados em confecções de circuitos) e de fácil acesso, construiu-se o dispositivo representado na Figura 10.

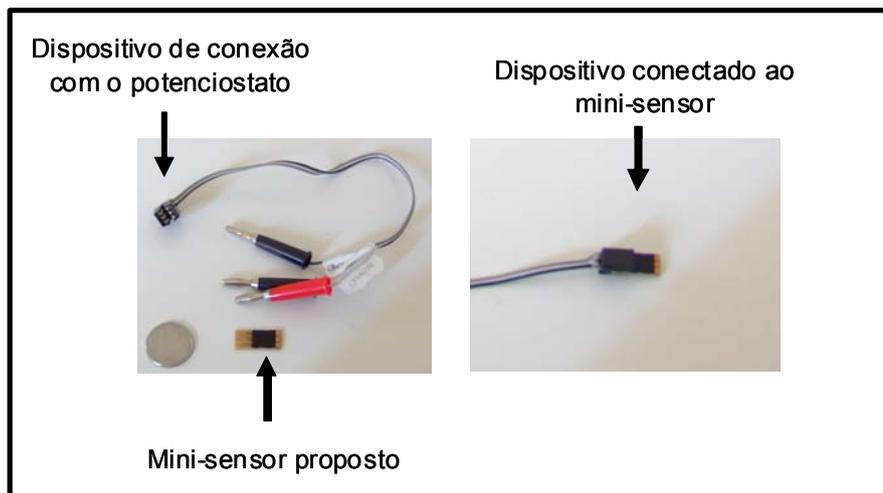


Figura 10 Fotografia do dispositivo de conexão do minissensor com o potenciostato.

3.3 Soluções Estoque

Pipetou-se uma alíquota de 8,35 mL de ácido clorídrico 37 % m/v (J.T.Baker) e diluiu-se em 100 mL de água deionizada para o preparo da solução padrão de HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, sendo em seguida padronizada com o padrão primário carbonato de sódio.

Para o preparo da solução estoque de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido acético pipetou-se 6,0 mL de ácido acético glacial (Synth) e diluiu-se em 100 mL de água deionizada, sendo padronizada posteriormente com o padrão primário carbonato de sódio.

Dissolveu-se uma massa de 0,820 g de acetato de sódio (Synth) em 100 mL de água deionizada, para o preparo de uma solução de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

A solução estoque de Atrazina foi preparada pela pesagem de uma massa de 0,0021 g do herbicida (Pestanal) e a dissolução desta em 150 μL de etanol e completou-se o volume até 1,0 mL com água deionizada para uma solução estoque $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

Para o preparo da solução estoque $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de Diquat pesou-se uma massa de 0,0036 g de Diquat (Pestanal) que, em seguida, foi dissolvida em água deionizada.

Dissolveu-se uma massa de 0,0026 g de Paraquat (Pestanal) em 1,0 mL de água deionizada para o preparo de uma solução de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

3.4 Amostras

Foram coletadas amostras de águas naturais da represa da UFSCar (sendo as coordenadas geográficas das amostras A1=21°59'08.88"S 47°52'43.21"W, A2=21°59'06.84"S 47°52'48.82"W, A3=21°59'08.97"S 47°52'57.24"W) na cidade de São Carlos, para que fossem analisadas tanto pelo método proposto quanto pelo método comparativo.

As análises das amostras foram realizadas empregando-se o método de adição de padrões. Inicialmente foram adicionados 20 μL da solução da amostra pré-concentrada na cela voltamétrica contendo 15 mL de eletrólito suporte para BiFE e 5 mL para a célula voltamétrica do minissensor para obtenção dos voltamogramas. Com auxílio de uma micropipeta foram adicionados volumes sucessivos da solução padrão dos herbicidas e registraram-se as variações de corrente para cada volume adicionado pela técnica que apresentou a melhor sensibilidade e melhor perfil voltamétrico.

3.4.1 Tratamento e pré-concentração

Após serem coletadas, as amostras foram filtradas e pré-concentradas, uma vez que os limites de detecção obtidos para a maioria das técnicas não alcançou os valores máximos permitidos pelas agências reguladoras. Assim, construiu-se uma coluna 10 cm de altura por 1 cm de diâmetro contendo alumina⁹⁹, a amostra foi pré-concentrada na coluna por 3 vezes para que todo o analito fosse retido. Em seguida, realizou-se a eluição do analito da coluna com uma única solução contendo 1% (v/v) de amônia e 0,05% (m/v) de hidróxido de sódio.

3.5 Métodos Comparativos

Dentre os métodos analíticos para a determinação dos pesticidas estudados nesta dissertação, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é mais comumente utilizada sendo portanto a técnica selecionada como método comparativo na determinação de Diquat e Paraquat.

Para a determinação de Diquat e Paraquat¹⁰⁰ foi utilizado um cromatografo modelo LC-10At Shimadzu com detector de UV-Vis modelo SPD-M10AVP e coluna Shim-Pack CLC-ODS (6.0 mm x 150 mm x 5 µm). A fase móvel utilizada para ambos os herbicidas foi NaCl 0,14 mol L⁻¹, pH 2,2 ajustado com HCl 1,0 mol L⁻¹ acetonitrila 80:20 (v/v) com vazão de 0,5 mL min⁻¹, comprimento de onda de 257nm para Diquat com um tempo de retenção de 3,1 minutos. Para o Paraquat utilizou-se uma vazão de 0,8 mL min⁻¹ para um comprimento de onda de 310 nm apresentou um tempo de retenção de 2,0 minutos.

No caso da Atrazina foi selecionada o método polarográfico por apresentar uma faixa linear bem próxima à obtida utilizando o BiFE e também tentando evitar a contaminação da coluna C18 utilizada no HPLC, uma vez que, alguns estudos indicam o uso de uma coluna modificada para evitar esse problema. Assim, um eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE)⁶⁴ acoplado ao potenciostato/galvanostato (Autolab, Eco Chemie, Holanda) com uma célula eletroquímica de 15 mL, eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) e como eletrodo auxiliar uma placa de platina foram empregados. A técnica utilizada foi a voltametria de onda quadrada, utilizando-se os seguintes parâmetros: frequência de 100 Hz, incremento de potencial de 2 mV, amplitude de pulso de 50 mV em solução tampão acetato (pH 4,5).

Capítulo 4

Resultados e

Discussão

4. Resultados e discussão

4.1 Estudo do processo redox do bismuto

É essencial o conhecimento dos processos de oxidação e redução do bismuto para se obter filme com características desejáveis como boa aderência e homogeneidade. A Figura 11 mostra o voltamograma cíclico obtido para uma solução de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte e o eletrodo de cobre como eletrodo de trabalho.

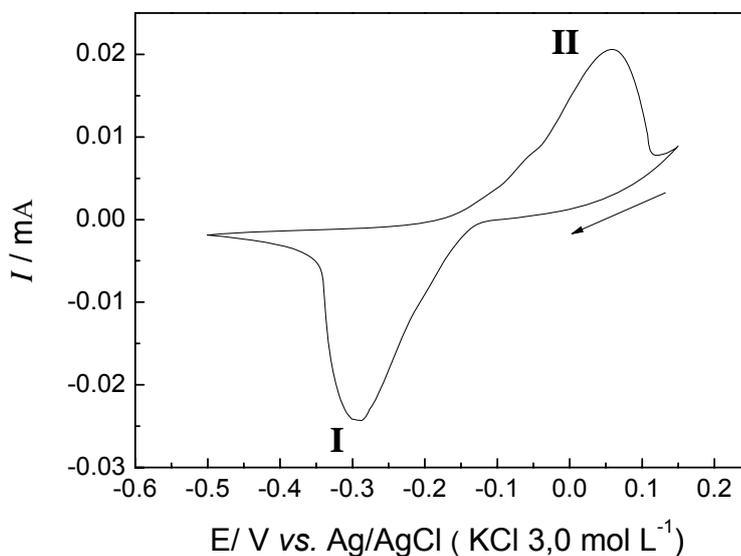


Figura 11 Ciclovoltamograma obtido em uma solução de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte e eletrodo de cobre como eletrodo de trabalho, velocidade de varredura 10 mV s^{-1} .

Como pode ser observado na Figura 11, um par redox referente à redução de Bi^{3+} a $\text{Bi}_{(s)}$ em $-0,30 \text{ V}$ (pico I) para uma varredura catódica e, na varredura no sentido inverso, a redissolução $\text{Bi}_{(s)}$ em $0,08 \text{ V}$ (pico II) foram obtidos. Com base nestes resultados, definiu-se o potencial limite para um eletrodo recoberto com bismuto de $-0,20 \text{ V}$ vs o eletrodo de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$), uma vez que para potenciais mais positivos ocorre a redissolução do filme de bismuto, inviabilizando assim a sua aplicação.

Outro parâmetro importante definido neste estudo foi o potencial de deposição do filme de bismuto sobre o substrato de cobre. Observou-se que a formação do filme pode ser obtida em valores de potenciais mais negativos que $-0,15 \text{ V}$.

4.2 Estudo da eletrodeposição do bismuto sobre cobre

Com base nos estudos ciclovoltamétricos do bismuto e estudos anteriores¹⁰¹, avaliou-se a influência do potencial de deposição no intervalo de -0,10 V a -0,60 V, fixando-se a concentração de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ em meio de HCl $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ e utilizando como aditivo citrato de sódio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$. Foi verificado em estudo anterior do nosso grupo de pesquisa¹⁰¹ que a adição deste aditivo faz-se necessária para uma boa aderência do filme sobre a superfície de cobre. Assim obteve-se a formação de um filme com aspecto homogêneo aplicando-se um potencial de -0,18 V durante 200 s, sendo esta condição fixada para a eletrodeposição do filme de bismuto. Para valores de potenciais mais positivos que -0,10 V não foi observado a formação do filme de Bi sobre o substrato, mesmo com tempos de deposição superiores a 600 s. Em valores de potenciais mais negativos que -0,18 V houve a formação de um filme com aspecto rugoso, provavelmente por um mal ordenamento do filme ocorrendo desta maneira dendritos por causa do potencial aplicado ser mais negativo do que o necessário, podendo assim forçar de maneira muito desordenada o crescimento do filme.

Com o potencial de deposição fixado em -0,18 V, avaliou-se a influência do tempo de deposição no intervalo de 30 a 500 s. Para tempos inferiores a 180 s, observou-se que não foi recoberta toda a área do eletrodo ($12,6 \text{ mm}^2$) e houve uma aderência muito baixa do filme ao substrato. Para tempos superiores a 250 s observou-se uma mudança significativa no aspecto visual do filme que apresentou uma superfície mais rugosa, contudo não houve mudança significativa na aderência sobre o substrato. Desta maneira, foi selecionado o tempo de 200 s para a eletrodeposição do filme de bismuto (BiFE).

4.3 Micrografias (FEG-SEM)

O filme de bismuto obtido através dos valores ótimos de potencial e tempo de deposição (-0,18 V durante 200 s para uma solução de deposição de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, HCl $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ e citrato de sódio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$) foi analisado por microscopia eletrônica de varredura de alta definição (FEG-SEM), o qual apresentou imagens onde pôde-se observar que todo o substrato foi recoberto com partículas de

bismuto (Figura 12 A). Como observado na Figura 12 B, as partículas apresentaram irregularidades e um tamanho de aproximadamente de 500 nm.

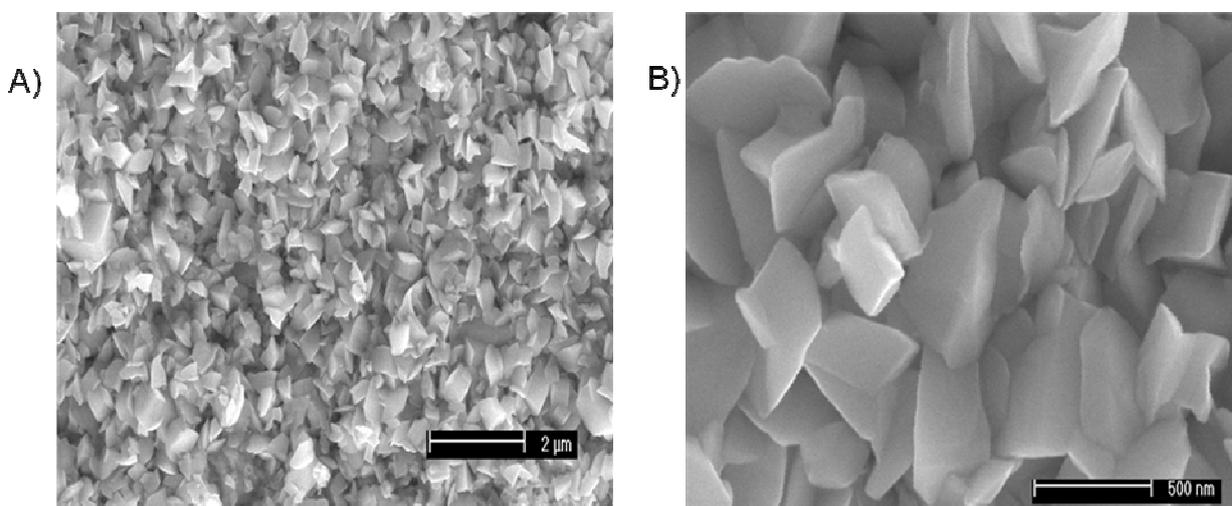


Figura 12 Micrografias de FEG-SEM do filme de bismuto em diferentes aproximações A) 10000x B) 50000x

4.4 Comportamento eletroquímico da Atrazina

O BiFE foi utilizado para a análise do comportamento eletroquímico da Atrazina. Para tanto, foi utilizada uma solução de concentração $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do pesticida para voltametria de pulso diferencial (utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH* 4,0 em meio etanólico (5 % v/v pH condicional), como eletrólito suporte tpé c. 210 s, velocidade de varredura 10 mV s^{-1} , amplitude de pulso 50 mV e tempo de pulso 30 ms).

O provável mecanismo proposto por dos Santos⁶⁸, pode ser observado na Figura 13 e envolve a protonação em meio ácido do anel porfirínico formando um radical instável que após receber dois elétrons se reduz. Nessa redução há saída de um átomo de cloro cloreto do anel porfirínico, formando um composto mais estável do que o radical anteriormente citado. Pode ser observado na Figura 14 que o voltamograma de pulso diferencial obtido utilizando o BiFE apresenta um pico de redução para Atrazina em $-0,89 \text{ V}$

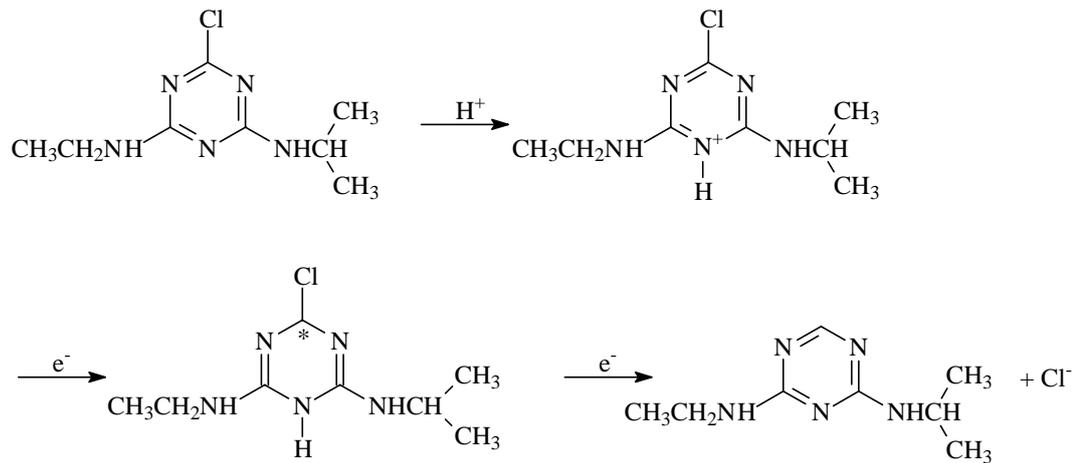


Figura 13 Reação de redução eletroquímica para a Atrazina.

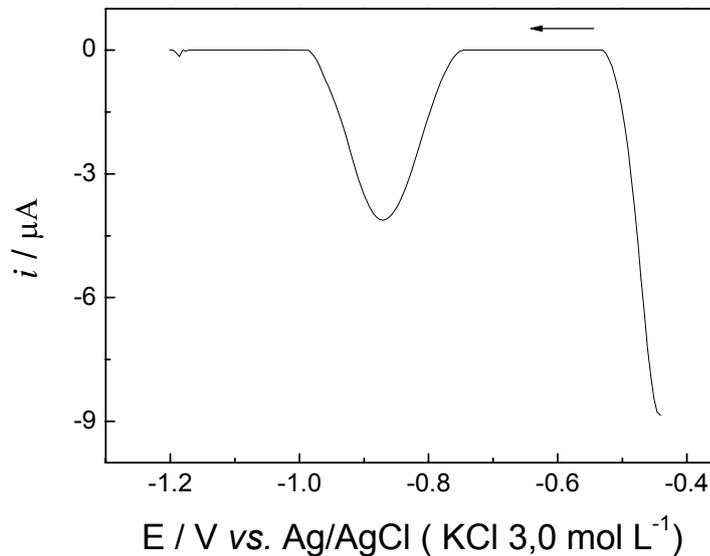


Figura 14 Voltamograma de pulso diferencial obtido utilizando BiFE para uma solução de Atrazina $4,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH *4,0 em meio etanólico (5 % v/v). * pH condicional

A Atrazina apresenta ótima solubilidade em metanol⁶⁸, contudo em busca de um solvente de baixa toxicidade, optou-se por utilizar etanol. Esse solvente, além de apresentar menor toxicidade que o metanol proporcionou a obtenção de resultados voltamétricos satisfatórios, apresentados a seguir. Assim, investigou-se o efeito da concentração de etanol na solução do eletrólito suporte (tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ *pH 4,5 (pH condicional), variando-se a concentração de etanol de 5 a 40 % v/v. Observou-se uma diferença nos valores de corrente de pico e nas suas respectivas

resoluções, sendo que para porcentagem de 15 % v/v de etanol obteve-se o maior sinal analítico e melhor resolução do pico.

A possível determinação da Atrazina foi avaliada utilizando as técnicas de voltametria de onda quadrada e a voltametria de pulso diferencial. Devido a possibilidade da cinética de a reação ser lenta na superfície do BiFE, não foi possível a análise utilizando a voltametria de onda quadrada, desta maneira avaliou-se os parâmetros experimentais relacionados a técnica DPV proposta.

4.4.1 Estudo da determinação de Atrazina por DPV com o eletrodo de filme de bismuto depositado sobre substrato de cobre

Foi utilizada a técnica de voltametria de pulso diferencial para a determinação de Atrazina. Assim, diversos parâmetros químicos e da técnica eletroanalítica como eletrólito suporte, pH, tempo de pré-concentração, incremento e amplitude de pulso e velocidade de varredura foram avaliados a fim de se obterem os melhores resultados em termos de reprodutibilidade e sensibilidade.

4.4.2 Estudo da influência do eletrólito suporte

Para o estudo do eletrólito suporte as seguintes soluções foram avaliadas contendo 15% v/v de etanol: ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A maior intensidade de corrente aliada ao melhor perfil voltamétrico foi obtido utilizando tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Após este estudo otimizou-se a concentração ótima do tampão e o seu pH*, sendo avaliado concentrações de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e de valores de pH de 3,8 a 5,0. Assim, para os estudos posteriores, foi selecionado o tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH* 4,5.

4.4.3 Estudo da influência do tempo de pré-concentração

Estudou-se a influência da variação do tempo de pré-concentração ($t_{pré}$) para uma solução de Atrazina $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, já que intensidade do sinal analítico é influenciada pelo mesmo, sendo os valores das correntes de pico obtidas nos diferentes tempos apresentados na Figura 15. A intensidade de corrente aumentou significativamente até o tempo de 210 s e a partir deste tempo a intensidade manteve-se praticamente constante. Sendo assim, para estudos posteriores foi selecionado 210 s, uma vez que se obteve um melhor perfil voltamétrico e um maior sinal analítico (maior razão sinal/ruído).

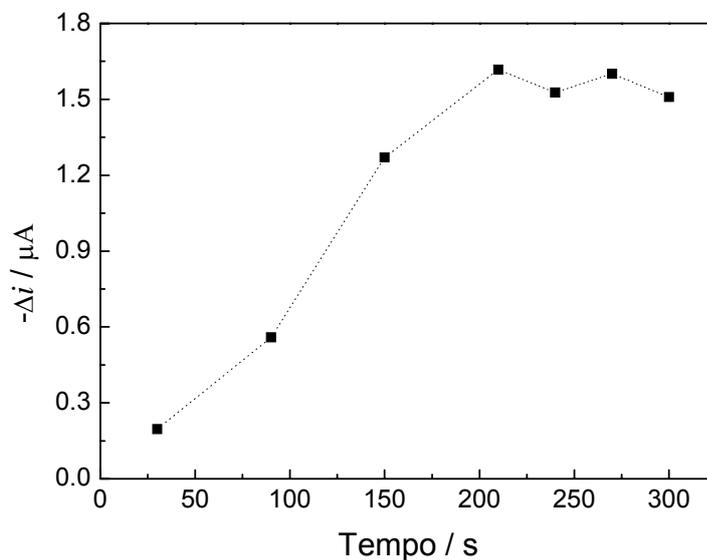


Figura 15 Variação da corrente de pico do BiFE em função do tempo de adsorção da Atrazina $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH* 4,5 como eletrólito suporte.

4.4.4 Estudo dos parâmetros químicos e os relacionados à técnica de voltametria de pulso diferencial

A resposta do BiFE foi avaliada empregando-se a técnica de voltametria de pulso diferencial. Diversos parâmetros, tais como tempo de pulso, amplitude de pulso e velocidade de varredura de potencial foram avaliados a fim de se obter os melhores resultados em termos de reprodutibilidade e sensibilidade.

A Tabela 2 apresenta os parâmetros avaliados na otimização da resposta para Atrazina sobre BiFE empregando a voltametria de pulso diferencial.

Tabela 2. Parâmetros experimentais para BiFE na determinação de Atrazina

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Eletrólito suporte em 15 % de etanol	HCl, H ₂ SO ₄ , tampão acetato, tampão fosfato	tampão acetato
Concentração do tampão acetato (mol L ⁻¹)	0,01 a 0,5	0,1
pH do tampão acetato*	3,8 a 5,5	4,5
Porcentagem de etanol	5 a 40	15
Tempo de pré-concentração. (s)	30 a 300	210
Amplitude α (mV)	5 a 150	100
Tempo de pulso t (ms)	10 a 50	40
Velocidade de varredura de potencial v (mV s ⁻¹)	2,5 a 25	10

4.4.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial

Uma vez definida as melhores condições de trabalho (valores apresentados na Tabela 2) para a determinação de Atrazina utilizando o BiFE realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -1,30 a - 0,80 V vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹). A Figura 16 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica descontando o branco das medidas realizadas, utilizando-se as concentrações da Atrazina de $6,6 \times 10^{-7}$ (1), $1,3 \times 10^{-6}$ (2), $5,3 \times 10^{-6}$ (3), $7,9 \times 10^{-6}$ (4), $1,3 \times 10^{-5}$ (5), $1,7 \times 10^{-5}$ (6), e $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (7).

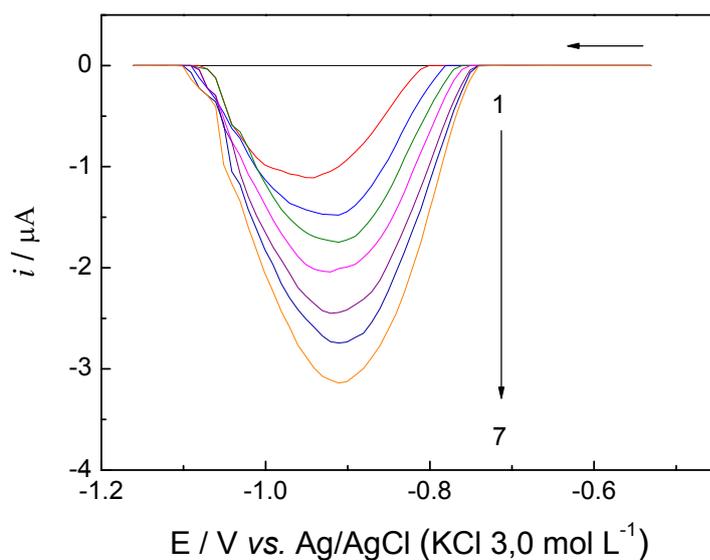


Figura 16 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica utilizando BiFE para a determinação de Atrazina utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH *4,5 em meio etanólico (15 % v/v), como eletrólito suporte tpré $c.= 210 \text{ s}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$ e $t = 40 \text{ ms}$.

A Figura 17 mostra a curva analítica obtida para a Atrazina. A equação da curva é $\Delta ipc \text{ (A)} = 1,2 \times 10^{-6} + 9,5 \times 10^{-2} [\text{Atrazina}] \text{ (mol L}^{-1}\text{)}$, $r = 0,992$, com limite de detecção de $1,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado aplicando-se a seguinte equação:

$3 \times SD/S$ (sendo que SD é o desvio padrão de 10 brancos e S a inclinação da curva analítica)

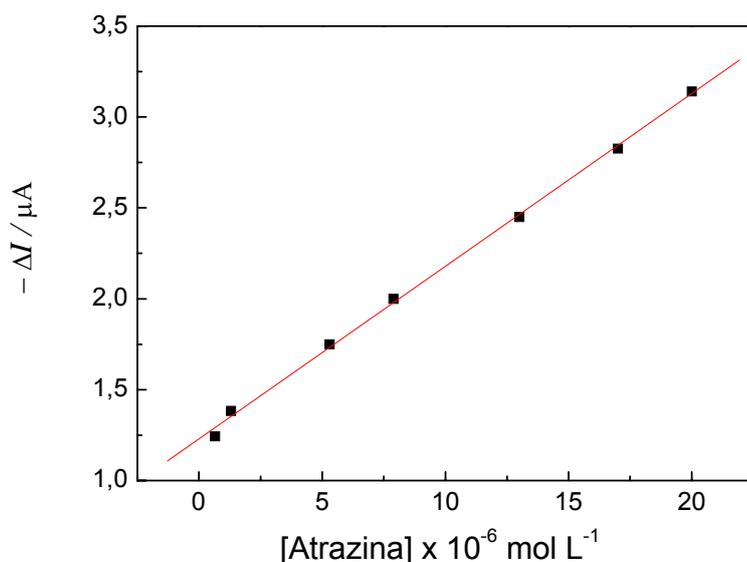


Figura 17 Curva analítica obtida utilizando BiFE para a determinação de Atrazina utilizando-se tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em 15% etanol como eletrólito suporte (pH* 4,5), t_{pré} c.= 210 s, v = 10 mV s⁻¹, α = 100 mV e t = 40 ms.

4.4.6 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Atrazina

Estudou-se a interferência de cátions metálicos e ácido húmico nas medidas de voltametria de pulso diferencial na presença de Atrazina na concentração de 4,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹. Para a avaliação dos possíveis interferentes optou-se por variar as concentrações destes concomitantes de 4,0 x 10⁻⁵ a 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, com adição de cada um separadamente e também uma adição simultânea de todos eles. As concentrações dos cátions e do ácido húmico apresentaram uma interferência igual ou menor que 5% conforme pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Atrazina $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ n=3

Interferente	Concentração (mol L^{-1})	Interferência
Alcalino e alcalino-terrosos	$1,0 \times 10^{-3}$	-0,2
Hg ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	0,5
Pb ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	2,5
Co ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	-1,3
Ni ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	1,5
Cd ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	4,9
Cu ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	1,1
Ácido Húmico	$4,0 \times 10^{-5}$	-0,5

4.4.7 Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade

Estudou-se a reprodutibilidade do BiFE em presença de Atrazina $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando-se cinco diferentes eletrodos e a técnica de voltametria de pulso diferencial com velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} , tempo de pulso de 40 ms e amplitude de 100 mV o qual apresentou um erro de 4,1%. Estudou-se a repetibilidade do BiFE nas mesmas condições mencionadas anteriormente, realizando-se várias medidas usando o mesmo eletrodo presente em uma mesma solução contendo Atrazina $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Após uso contínuo do eletrodo modificado com a mesma superfície, obteve-se um erro de 3,0% (n=10).

4.4.8 Determinação de Atrazina em amostras da represa da UFSCar

O procedimento proposto foi aplicado na determinação de Atrazina em amostras de água fortificadas utilizando a técnica de pulso diferencial.

Inicialmente as amostras foram analisadas e verificou-se a ausência do analito. Assim, alíquotas de uma solução padrão de Atrazina $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foram

adicionadas a 6 frascos diferentes com 100 mL de água coletada da represa presente na UFSCar.

Na determinação deste analito nas amostras foi empregado o método proposto utilizou-se como método comparativo um método descrito na literatura onde é utilizado a voltametria de onda quadrada e como eletrodo de trabalho o HMDE⁶⁴ (como descrito anteriormente) e os resultados estão apresentados na Tabela 4. Os resultados empregando o método proposto e o método comparativo estão em boa concordância a um nível de 95% de confiança (testes F e t-pareado) e dentro de um erro relativo aceitável.

Tabela 4. Determinação de Atrazina em amostras de água fortificadas a partir da represa da UFSCar

Amostras	Atrazina /10 ⁻⁶ mol L ⁻¹		Erro Relativo **%
	Método comparativo*	Método proposto	
A ₁	20,03 ± 0,06	19,95 ± 0,03	-0,40
A ₂	20,75 ± 0,01	20,32 ± 0,00	2,07
A ₃	19,68 ± 0,03	19,36 ± 0,02	-1,62
A ₄	8,06 ± 0,08	8,11 ± 0,03	0,62
A ₅	8,01 ± 0,05	7,74 ± 0,02	-3,37
A ₆	7,91 ± 0,05	8,27 ± 0,02	4,55

n=3

*Voltametria de onda quadrada utilizando HMDE

**Erro relativo % = 100 × (método proposto – método comparativo)/método comparativo

4.4.9 Comparação do BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura

As características analíticas atingidas pelo eletrodo desenvolvido neste trabalho e outros trabalhos da literatura para a determinação de Atrazina em diferentes analitos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Procedimentos analíticos desenvolvidos para determinação de Atrazina

Autor	Eletrodo	Faixa linear mol L⁻¹	Limite de detecção mol L⁻¹
Maleki <i>et al.</i> ⁴⁷	Filme de mercúrio	2,3 x 10 ⁻⁹ a 2,8 x 10 ⁻⁷	1,1 x 10 ⁻¹⁰
Dos Santos <i>et al.</i> ⁴⁹	HMDE	4,6 x 10 ⁻⁸ a 1,1 x 10 ⁻⁶	9,3 x 10 ⁻⁹
De Souza <i>et al.</i> ⁵⁰	Amálgama de cobre	7,1 x 10 ⁻⁷ a 1,1 x 10 ⁻⁵	2,1 x 10 ⁻⁸
D'Agostino <i>et al.</i> ⁵¹	Impresso de membrana molecular	3,0 x 10 ⁻⁵ a 1,0 x 10 ⁻³	2,0 x 10 ⁻⁵
Anh <i>et al.</i> ⁵³	Biossensor/tirosinase	2,1 x 10 ⁻⁶ a 2,1 x 10 ⁻³	1,0 x 10 ⁻⁶
Este trabalho	BiFE	6,7 x 10 ⁻⁷ a 2,0 x 10 ⁻⁵	1,4 x 10 ⁻⁷

4.5 Comportamento eletroquímico do Diquat

A redução do Diquat foi estudada inicialmente utilizando-se a técnica de voltametria cíclica para que obtivesse o seu comportamento perante o BiFE. Como pode ser observado na Figura 18 o voltamograma cíclico utilizando o BiFE apresentou dois picos de redução para o Diquat, um em potencial de -0,65 V (DQ1) e o outro em potencial de -0,98 V (DQ2). Estes picos são atribuídos à redução dos dois átomos de nitrogênio quaternários positivamente carregados do cátion de Diquat ((Diquat)²⁺)⁹². Na Figura 19 pode-se observar a reação de redução. Neste estudo, DQ1 foi selecionado para os próximos experimentos por apresentar uma melhor definição, maior reprodutibilidade, boa estabilidade. Outro fator que deve ser mencionado é que DQ 2 apresentou uma redução em um potencial mais negativo o que talvez ocasionasse uma maior interferência eletroquímica de possíveis concomitantes eletroativos, além de apresentar um potencial muito próximo do potencial máximo de trabalho que o eletrodo pode ser utilizado para medidas eletroquímicas inviabilizando assim o seu uso.

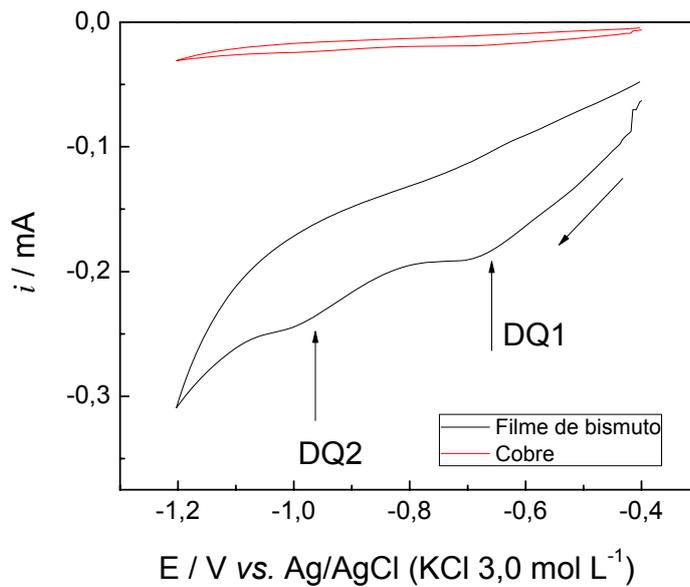


Figura 18 Voltamogramas obtidos para uma solução de Diquat $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte, BiFE ou cobre como eletrodo de trabalho e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}

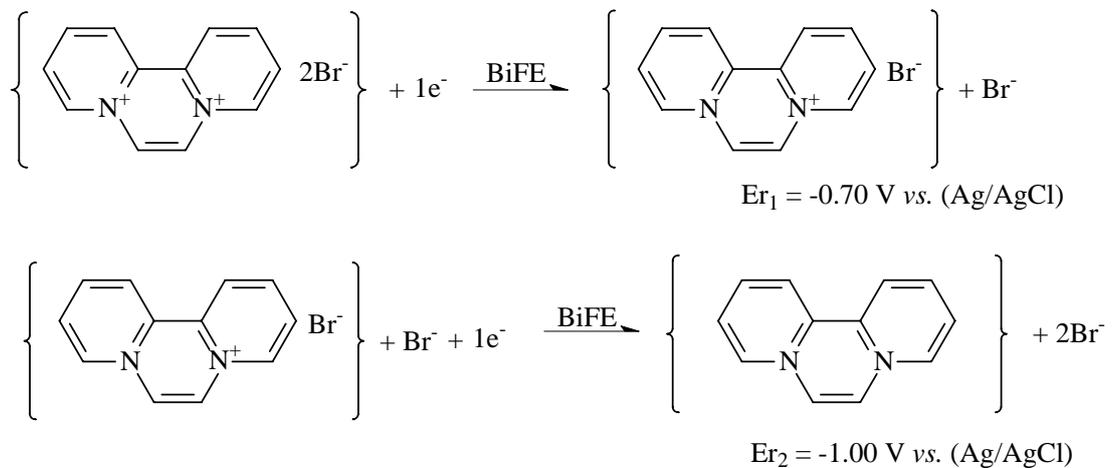


Figura 19 Reação de redução para o Diquat.

Para o estudo do efeito do eletrólito suporte as seguintes soluções foram avaliadas: ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Selecionou-se o tampão acetato por proporcionar uma melhor resposta e perfil voltamétrico bem definido. Após este estudo otimizou-se a concentração de tampão ideal e o seu pH, sendo avaliadas concentrações de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e de valores de pH de 3,8 a 5,0. Assim

selecionou-se o tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 4,5 para a realização dos experimentos posteriores.

4.5.1 Estudo da determinação de Diquat por voltametria de pulso diferencial com BiFE depositado sobre substrato de cobre

A resposta voltamétrica do eletrodo proposto foi avaliada por meio da técnica de voltametria de pulso diferencial. Diversos parâmetros tais como: incremento de potencial, amplitude de pulso e velocidade de varredura foram avaliados para se conseguir os melhores resultados em termos de reprodutibilidade e sensibilidade.

Na Tabela 6 são apresentados os parâmetros avaliados na otimização da técnica utilizando o BiFE para a determinação de Diquat empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial.

Tabela 6. Parâmetros experimentais avaliados utilizando o BiFE para a determinação de Diquat

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Incremento de potencial α (mV)	5 a 70	60
Tempo de pulso (ms) t	2 a 50	30
Velocidade de varredura v (mV s^{-1})	2 a 20	5

4.5.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial

Após todos os estudos relacionados à técnica utilizada (voltametria de pulso diferencial) realizaram-se medidas voltamétricas de DPV no intervalo de potencial de $-0,45$ a $-0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) com velocidade de varredura de 30 mV s^{-1} , tempo de pulso de 20 ms e incremento de potencial de 60 mV , na faixa de concentração de Diquat de $7,4 \times 10^{-7}$ a $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para a construção da curva analítica. A Figura 20 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da

curva analítica, descontando-se o branco, utilizando-se as concentrações de Diquat de $7,4 \times 10^{-7}$ (1), $9,9 \times 10^{-7}$ (2), $1,9 \times 10^{-6}$ (3), $2,9 \times 10^{-6}$ (4), $3,8 \times 10^{-6}$ (5), $8,6 \times 10^{-6}$ (6), $1,3 \times 10^{-5}$ (7), $1,8 \times 10^{-5}$ (8), $2,7 \times 10^{-5}$ (9), $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (10).

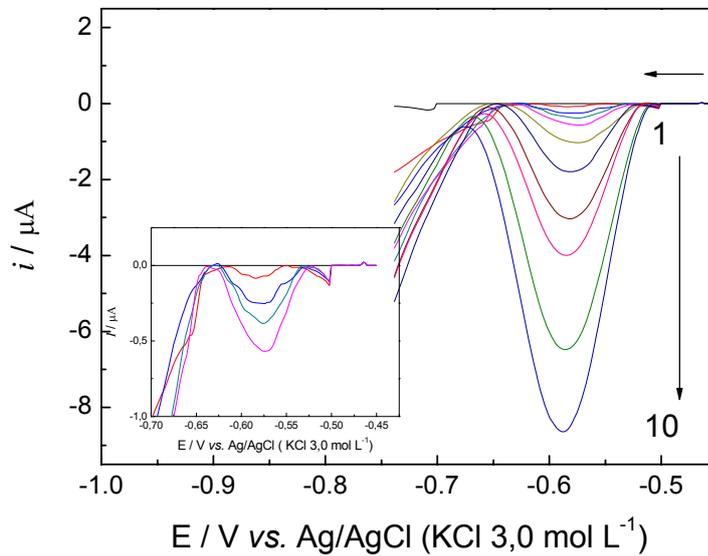


Figura 20 Voltamogramas de DPV obtidos para a construção da curva analítica do Diquat utilizando BiFE sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ $\text{pH} = 4,5$, $\nu = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 30 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$. Inserida na figura as 4 primeiras adições realizadas.

A Figura 21 mostra a curva analítica obtida para o Diquat. Sendo a equação da curva $\Delta i_{pc} (\mu\text{A}) = -8,9 \times 10^{-2} + 2,3 \times 10^5 [\text{DQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,999$ para o intervalo de concentração de $7,4 \times 10^{-7}$ a $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $1,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado aplicando a equação 1, presente na seção 4.4.5.

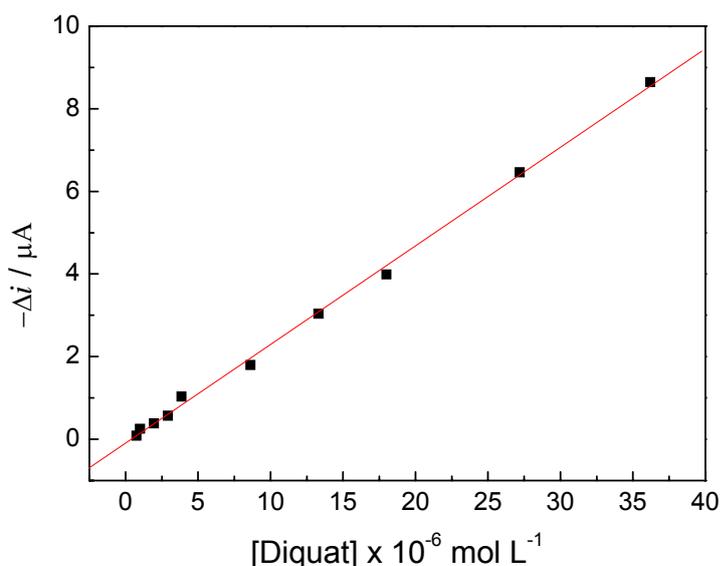


Figura 21 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se o BiFE. Eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH = 4,5, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 30 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$.

4.5.3 Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade

Estudou-se a reprodutibilidade do BiFE em presença de solução de Diquat $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando 5 diferentes eletrodos e a técnica de voltametria de pulso diferencial com velocidade de varredura de 30 mV s^{-1} , tempo de pulso de 20 ms e incremento de potencial de 60 mV. O desvio padrão relativo obtido foi igual a 3,1%. Neste estudo foram empregados cada um dos cinco eletrodos obtidos em quintuplicata. Estudou-se a repetibilidade do BiFE, realizando-se várias medidas usando o mesmo eletrodo presente em solução contendo Diquat $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Após uso contínuo do eletrodo com a mesma superfície, obteve-se um erro relativo de 2,3 % ($n=10$).

4.5.4 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Diquat por voltametria de onda quadrada

O efeito dos diversos parâmetros estudados relacionados à SWV (frequência de pulso, amplitude de potencial e incremento de varredura de potencial) com

relação ao potencial de pico e corrente de pico, para a determinação de Diquat foram estudados e otimizados.

A Tabela 7 apresenta os parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e os valores ótimos para cada parâmetro.

Tabela 7. Parâmetros experimentais avaliados utilizando o BiFE para a determinação de Diquat.

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Frequência f (Hz)	10 a 150	30
Amplitude α (mV)	5 a 70	60
Incremento de varredura ΔE_s (mV)	1 a 7	4

4.5.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada

Após a otimização das condições operacionais para o procedimento proposto, medidas voltamétricas foram feitas utilizando soluções de Diquat em diferentes concentrações para se obter uma curva analítica. As medidas foram obtidas no intervalo de potencial de -0,4 a -1,0 V vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) com frequência de 30 Hz, amplitude 60 mV e incremento de varredura de 4 mV. A Figura 22 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica utilizando-se as concentrações de Diquat de $1,9 \times 10^{-7}$ (1), $3,9 \times 10^{-7}$ (2), $9,3 \times 10^{-7}$ (3), $1,4 \times 10^{-6}$ (4), $1,9 \times 10^{-6}$ (5), $2,9 \times 10^{-6}$ (6), $3,8 \times 10^{-6}$ (7) e $5,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (8).

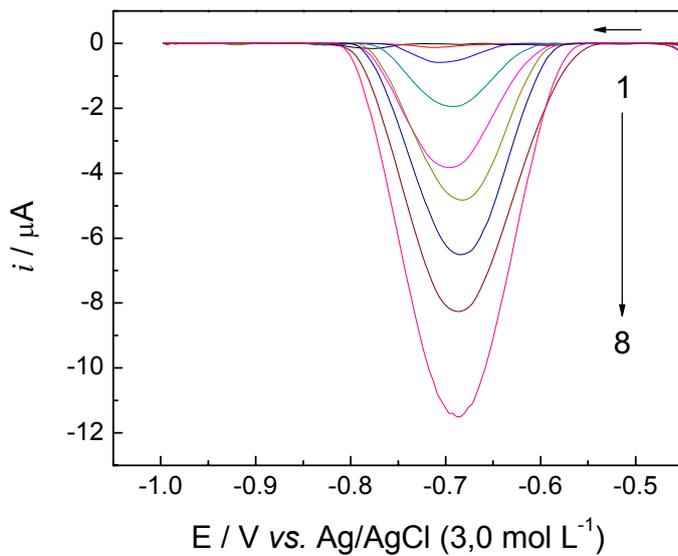


Figura 22 Voltamogramas de SWV obtidos para a construção da curva analítica utilizando o BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 30 \text{ Hz}$, $\alpha = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$.

A curva analítica obtida para o Diquat pode ser observada na Figura 23. A equação da curva é $\Delta i_{pc} (\mu\text{A}) = 1,5 \times 10^{-1} + 2,1 \times 10^6 [\text{DQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,993$, com limite de detecção de $8,7 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado aplicando a equação 1 apresentada na seção 4.4.5.

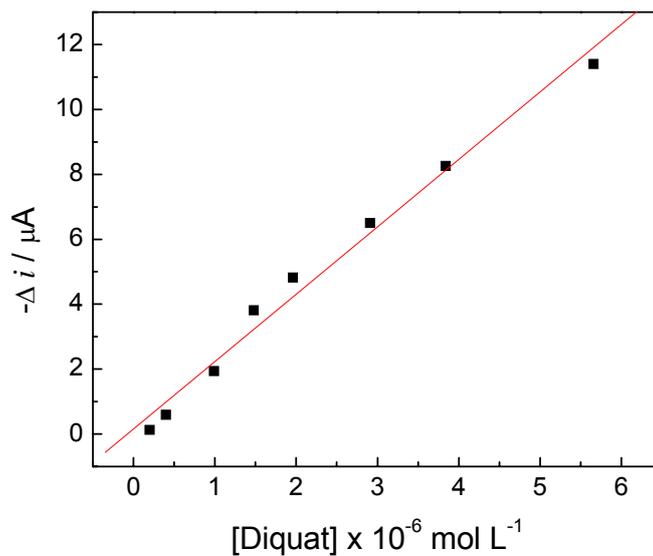


Figura 23 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se um eletrodo de cobre com filme de bismuto. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 30 \text{ Hz}$, $\alpha = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$.

4.5.6 Comparação entre as técnicas SWV e DPV na determinação de Diquat utilizando BiFE

Após a otimização de todos os parâmetros relacionados às duas técnicas propostas e a construção das curvas analíticas para a determinação de Diquat foi possível realizar uma comparação entre todos os resultados obtidos.

Na Tabela 8 observa-se os dados obtidos nas técnicas propostas para a determinação de Diquat.

Tabela 8: Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Diquat utilizando BiFE

Parâmetros	Voltametria de Onda	Voltametria de Pulso
	Quadrada	Diferencial
Equação da reta	$1,5 \times 10^{-1} + 2,1 \times 10^6$	$8,9 \times 10^{-2} + 2,3 \times 10^5$
ΔI_{pc} (μA)	[DQ1]	[DQ1]
Limite de detecção (mol L^{-1})	$8,7 \times 10^{-8}$	$1,7 \times 10^{-7}$
Linearidade (mol L^{-1})	$1,9 \times 10^{-7}$ a $5,6 \times 10^{-6}$	$7,4 \times 10^{-7}$ a $3,6 \times 10^{-5}$
Sensibilidade ($\mu A \text{ mol L}^{-1}$)	$2,1 \times 10^6$	$2,3 \times 10^5$

Após os experimentos com as diferentes técnicas optou-se trabalhar com a voltametria de onda quadrada para os experimentos futuros por apresentar uma sensibilidade maior, assim como um limite de detecção menor quando comparado com a técnica de pulso diferencial.

4.5.7 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Diquat

Estudou-se a interferência de cátions metálicos e ácido húmico nas medidas voltamétricas em presença Diquat na concentração de $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Variou-se as concentrações dos interferentes de $5,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, com adição de

cada um separadamente e também adição simultânea. As concentrações dos cátions e ácido húmico apresentaram uma interferência igual ou menor que 4 % conforme se observa na Tabela 9.

Tabela 9. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Diquat $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (n=3)

Interferente	Concentração (mol L^{-1})	Interferência %
Alcalino e alcalino-terrosos	$1,0 \times 10^{-4}$	-0,1
Hg ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	-0,3
Pb ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	3,6
Co ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	0,3
Ni ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	-0,5
Cd ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	2,8
Cu ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	1,1
Ácido Húmico	$5,0 \times 10^{-5}$	-0,5

4.5.8 Determinação de Diquat em amostras da represa da UFSCar

Com o objetivo de avaliar o desempenho do procedimento analítico, determinou-se o Diquat em amostras de água fortificadas utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. O método utilizado para a determinação foi o método da adição de padrão. A cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada para realizar a comparação¹⁰⁰ com o método proposto, nas condições supracitadas na seção “Parte Experimental”. A molécula de Diquat apresentou um tempo de retenção de 3,1 minutos. Um cromatograma típico do Diquat é apresentado na Figura 24.

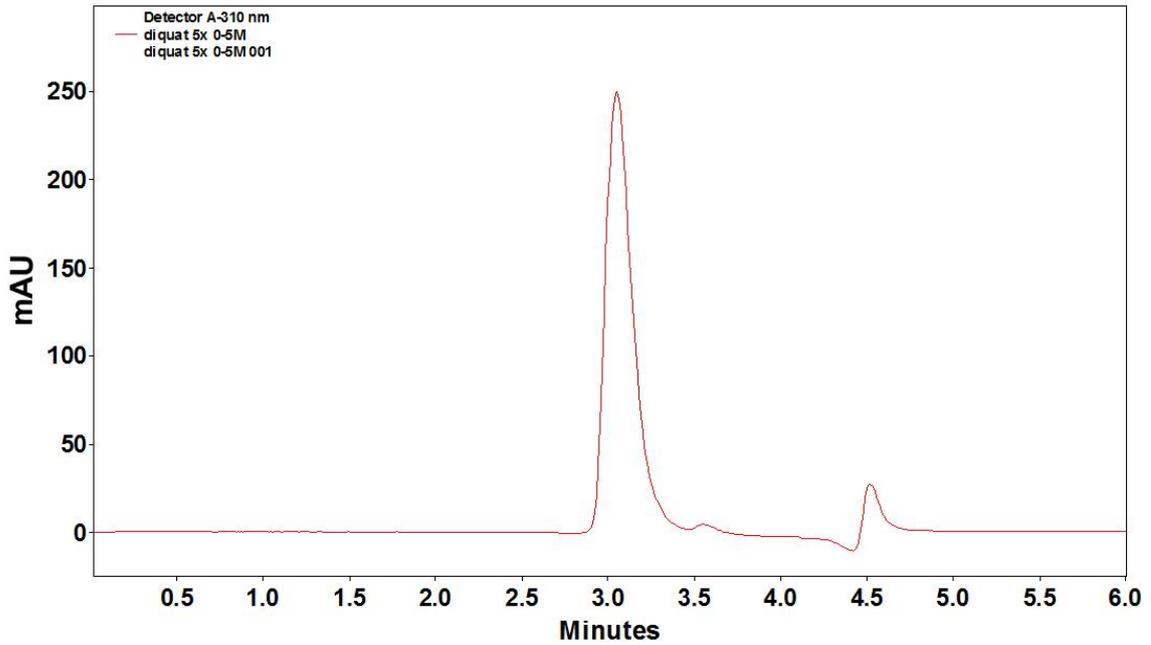


Figura 24 Cromatograma típico para o Diquat na concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 10 empregando-se o método proposto e o método comparativo estão em boa concordância a um nível de confiança de 95% (testes F e t-pareado). A amostra A_1 foi fortificada com o objetivo de se obter uma solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e as amostras A_2 e A_3 foram fortificadas para uma concentração igual ao valor máximo permitido apresentado na Tabela 1 e, posteriormente pré-concentradas para se obter um solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 10. Determinação de Diquat em amostras fortificadas de água da represa da UFSCar

Amostras	Diquat / $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$		Erro Relativo % **
	Método comparativo*	Método proposto	
A_1	$1,07 \pm 0,06$	$1,02 \pm 0,03$	-4,67
A_2	$0,98 \pm 0,01$	$1,03 \pm 0,00$	4,85
A_3	$1,15 \pm 0,03$	$1,11 \pm 0,02$	-3,48

n=3

*HPLC em 257 nm

**Erro relativo % = $100 \times (\text{método proposto} - \text{método comparativo}) / \text{método comparativo}$

4.6.1 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Diquat por voltametria de pulso diferencial

Dois picos de redução foram obtidos utilizando o minissensor para o Diquat foram observados no voltamograma de pulso diferencial um em torno de -0,6 e outro em -1,0 V, valor próximo aquele obtido para pulso diferencial utilizando o BiFE com eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹). Assim foram realizados experimentos em busca da otimização dos parâmetros relacionados à técnica para o minissensor/BiFE.

Os parâmetros estudados e os melhores valores podem ser observados na Tabela 11.

Tabela 11. Parâmetros estudados de voltametria de pulso de diferencial e os valores selecionados para a determinação de Diquat

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Incremento de potencial (mV)	10 a 70	60
Tempo de pulso (ms)	2 a 20	5
Velocidade de varredura (mV s ⁻¹)	3 a 20	10

4.6.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial

Após a otimização dos parâmetros supracitados os quais envolvem a voltametria de pulso diferencial, a curva analítica foi construída pela adição de alíquotas de uma solução padrão de Diquat no intervalo de potencial de -0,30 a -0,90 V vs. pseudo-referência de Ag/AgCl com velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹, tempo de pulso de 5 ms e incremento de potencial de 60 mV. A Figura 25 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica descontando o branco das medidas, utilizando o minissensor/BiFE para as seguintes adições de

Diquat: $5,9 \times 10^{-7}$ (1), $9,9 \times 10^{-7}$ (2), $1,5 \times 10^{-6}$ (3), $2,0 \times 10^{-6}$ (4), $2,9 \times 10^{-6}$ (5), $3,7 \times 10^{-6}$ (6), $5,6 \times 10^{-6}$ (7), $9,4 \times 10^{-6}$ (8) e $1,3 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (9).

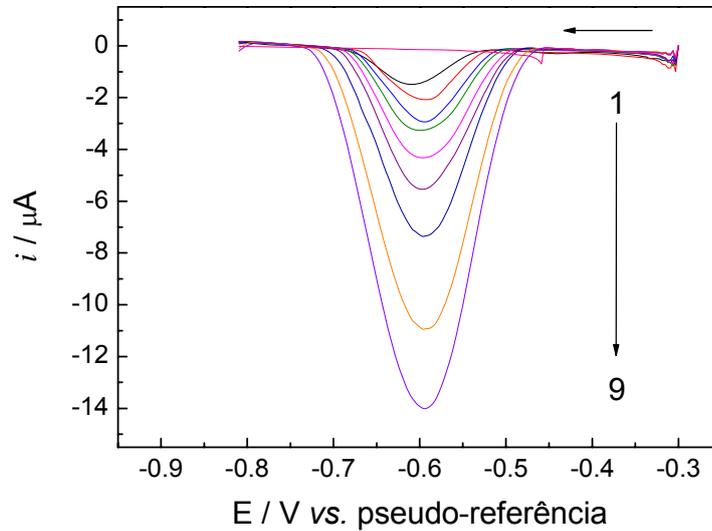


Figura 25 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica utilizando o minissensor/BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 5 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$

Após a obtenção dos voltamogramas construiu-se a curva analítica com os incrementos de corrente obtidos. Observa-se na Figura 26 que a equação da curva foi $\Delta i_{pc} (\mu\text{A}) = 1,3 + 9,9 \times 10^5 [\text{DQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, com um coeficiente de correlação de 0,997, com limite de detecção de $3,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado através da equação 1 apresentada na seção 4.4.5.

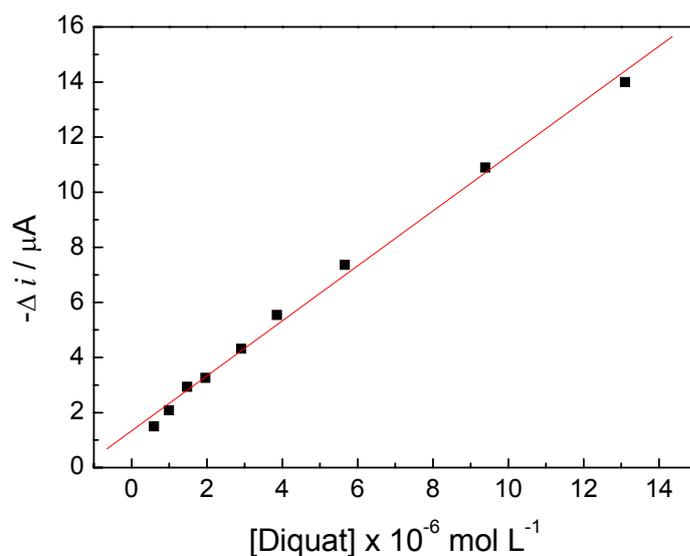


Figura 26 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se um minissensor/BiFE sendo o eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 5 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$.

4.6.3 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Diquat por voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada também foi utilizada para o desenvolvimento de um método para a determinação de Diquat utilizando o minissensor/BiFE, sendo a seleção dos parâmetros instrumentais investigados de acordo com a maior intensidade da corrente de pico e do melhor perfil voltamétrico.

Na Tabela 12 estão apresentados os parâmetros estudados e os valores selecionados para cada uma das variáveis da técnica utilizada.

Tabela 12. Parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e seus valores selecionados na determinação de Diquat

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Frequência f (Hz)	10 a 200	60
Amplitude α (mV)	10 a 100	70
Incremento de varredura ΔE_s (mV)	1 a 7	2

4.6.4 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada

Após a escolha e definição das melhores condições para o experimento proposto realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -0,4 a -0,8 V vs. pseudo-referência de Ag/AgCl com frequência de 60 Hz, amplitude 70 mV e incremento de varredura de 2 mV, na faixa de concentração de Diquat de $1,9 \times 10^{-7}$ a $9,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a fim de se obter a curva analítica. A Figura 27 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica para minissensor/BiFE utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, descontando-se o branco, utilizando-se as concentrações de Diquat de $1,9 \times 10^{-7}$ (1), $8,0 \times 10^{-7}$ (2), $1,5 \times 10^{-6}$ (3), $2,0 \times 10^{-6}$ (4), $2,9 \times 10^{-6}$ (5), $3,9 \times 10^{-6}$ (6), $5,7 \times 10^{-6}$ (7) e $9,4 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (8).

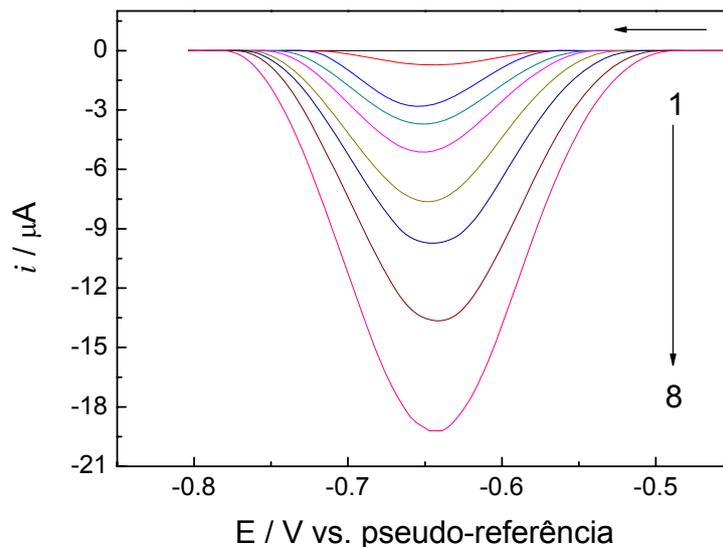


Figura 27 Voltamogramas SWV obtidos para a construção da curva analítica com o uso do minissensor/BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $f = 60$ Hz, $\alpha = 70$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV

A Figura 28 mostra a curva analítica obtida para o Diquat. A equação da curva é $\Delta i_{pc} (\mu A) = 1,1 + 2,0 \times 10^6 [DQ1] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,992$, com limite de detecção de $8,9 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ que foi calculado através da equação 1 apresentada na seção 4.4.5.

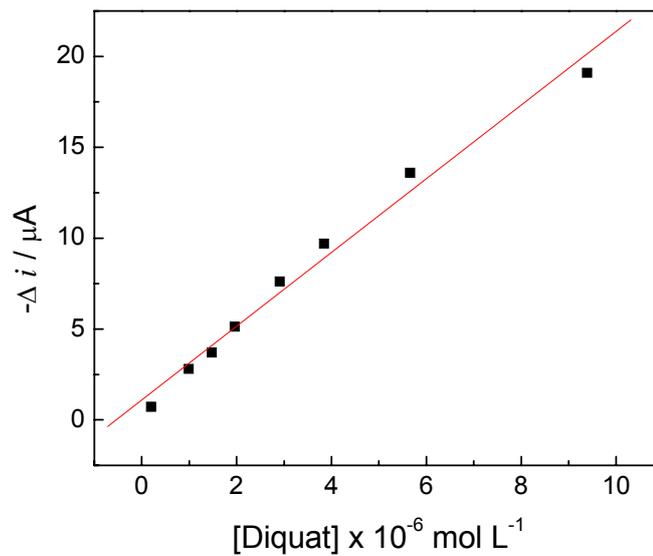


Figura 28 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat utilizando-se um minissensor/BiFE em eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $f = 60$ Hz, $\alpha = 70$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV

4.6.5 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Diquat utilizando minissensor/BiFE

Para uma melhor avaliação dos resultados obtidos após a otimização de todos os parâmetros relacionados às duas técnicas propostas e a construção das curvas analíticas para a determinação de Diquat foi possível realizar uma comparação. Na Tabela 13 observa-se alguns dados obtidos entre as técnicas propostas para a determinação de Diquat.

Tabela 13: Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Diquat

Parâmetros	Voltametria de Onda Quadrada	Voltametria de Pulso Diferencial
Equação da reta ΔI_{pc} (μA)	$1,1 + 2,0 \times 10^6 [DQ1]$	$1,3 + 9,9 \times 10^5 [DQ1]$
Limite de detecção ($mol L^{-1}$)	$8,7 \times 10^{-8}$	$3,2 \times 10^{-7}$
Linearidade ($mol L^{-1}$)	$1,9 \times 10^{-7}$ a $9,4 \times 10^{-6}$	$5,9 \times 10^{-7}$ a $1,3 \times 10^{-5}$
Sensibilidade ($\mu A mol L^{-1}$)	$2,0 \times 10^6$	$9,9 \times 10^5$

A voltametria de onda quadrada foi selecionada para os experimentos futuros, pois esta apresentou uma sensibilidade ligeiramente maior que aquela obtida empregando-se a voltametria de pulso diferencial, assim como um limite de detecção menor. Outro fator importante na escolha dessa técnica foi o tempo envolvido nas determinações que foi muito menor.

4.6.6 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do minissensor/BiFE para determinação de Diquat

Desta maneira observou-se a interferência de cátions metálicos e ácido húmico nas medidas voltamétricas em presença de Diquat $9,0 \times 10^{-6} mol L^{-1}$. Variou-se as concentrações dos interferentes de $9,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3} mol L^{-1}$, com adição de cada um separadamente e também adição simultânea. As concentrações dos cátions e ácido húmico apresentaram uma interferência igual ou menor que 5% conforme se observa na Tabela 14.

Tabela 14: Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Diquat $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ n=3

Interferente	Concentração (mol L^{-1})	Interferência %
Alcalino e alcalino-terrosos	$1,0 \times 10^{-3}$	0,4
Hg ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	0,8
Pb ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	3,3
Co ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	-1,9
Ni ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	-1,7
Cd ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	4,3
Cu ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	-0,9
Ácido Húmico	$9,0 \times 10^{-5}$	-0,8

4.6.7 Determinação de Diquat em amostras da represa da UFSCar

O procedimento para a comparação dos resultados nas determinações quantitativas foi similar ao empregado na determinação de Diquat utilizando BiFE como citado na seção 4.5.8. Assim, a cromatografia líquida de alta eficiência¹⁰⁰ com detector em 257 nm utilizando uma coluna C18 foi empregada na determinação de Diquat naquelas amostras. Os resultados obtidos apresentados na Tabela 15 empregando-se o método proposto e o método comparativo estão em boa concordância a um nível de confiança de 95% (testes F e t-pareado). A amostra A₁ foi fortificada com o objetivo de se obter uma solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e as amostras A₂ e A₃ foram fortificadas para uma concentração igual ao valor máximo permitido apresentado na Tabela 1 e, posteriormente pré-concentradas para se obter um solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 15: Determinação de Diquat em amostras fortificadas de água provenientes da represa da UFSCar

Amostras	Diquat /10 ⁻⁵ mol L ⁻¹		Erro Relativo % **
	Método comparativo*	Método proposto	
A ₁	1,07 ± 0,08	1,05 ± 0,03	-1,87
A ₂	0,98 ± 0,05	0,95 ± 0,02	-3,06
A ₃	1,15 ± 0,05	1,21 ± 0,02	5,21

n=3

*HPLC 257 nm

**Erro relativo % = 100 × (método proposto – método comparativo)/método comparativo

4.6.8 Comparação do BiFE e minissensor/BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura

A Tabela 16 apresenta resultados de procedimentos analíticos para a determinação de Diquat e os apresentados neste trabalho (BiFE e minissensor/BiFE).

Tabela 16. Procedimentos analíticos desenvolvidos para a determinação de Diquat

Autor	Eletrodo	Faixa linear mol L⁻¹	Limite de detecção mol L⁻¹
Melo et al. ⁶⁴	Amálgama dental	4,9 x 10 ⁻⁷ a 5,6 x 10 ⁻⁶	2,9 x 10 ⁻⁸
Lu, T.H. et al. ¹⁰²	Carbono vítreo/Nafion	3,0 x 10 ⁻⁹ a 4,0 x 10 ⁻⁴	1,4 x 10 ⁻⁹
Diaz et al. ⁶⁵	Carbono vítreo	1,4 x 10 ⁻⁶ a 1,2 x 10 ⁻⁵	8,9 x 10 ⁻⁷
Walcarius et al. ⁶⁷	HMDE	5,0 x 10 ⁻⁸ a 1,0 x 10 ⁻⁵	1,5 x 10 ⁻⁸
Este trabalho	BiFE	1,9 x 10 ⁻⁷ a 5,6 x 10 ⁻⁶	8,7 x 10 ⁻⁸
Este trabalho	Minissensor/BiFE	1,9 x 10 ⁻⁷ a 9,4 x 10 ⁻⁶	8,7 x 10 ⁻⁸

4.7 Comportamento eletroquímico do Paraquat

O BiFE foi utilizado para a análise do comportamento eletroquímico do Paraquat, para tanto, foi utilizado uma solução de concentração $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ do pesticida.

Pode ser observado na Figura 29 que o voltamograma cíclico utilizando o BiFE apresentou dois picos de redução para o Paraquat, um em potencial de -0,72 V (PQ1) e o outro em potencial de -1,05 V (PQ2). Estes picos são atribuídos à redução dos dois átomos de nitrogênio quaternários positivamente carregados do cátion de Paraquat ((Paraquat)²⁺)^{67,94} a Figura 30 exemplifica a reação de redução do Paraquat. Neste estudo, PQ1 foi selecionado para experimentos posteriores, por apresentar potencial menos negativos, desta maneira diminuindo possíveis interferentes eletroquímicos, por apresentar maior reprodutibilidade, boa estabilidade, um pico de redução bem definido, uma sensibilidade e seletividade mais elevada.

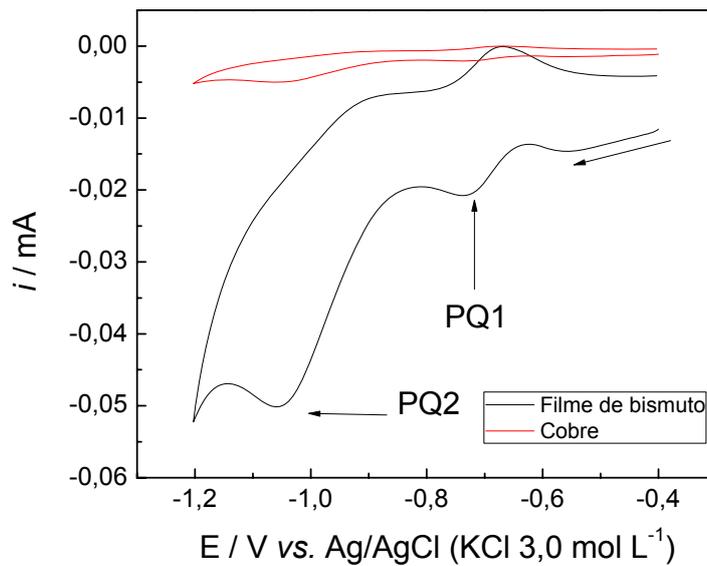


Figura 29 Voltamograma obtido para uma solução de Paraquat $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte, BiFE ou cobre como eletrodo de trabalho e $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

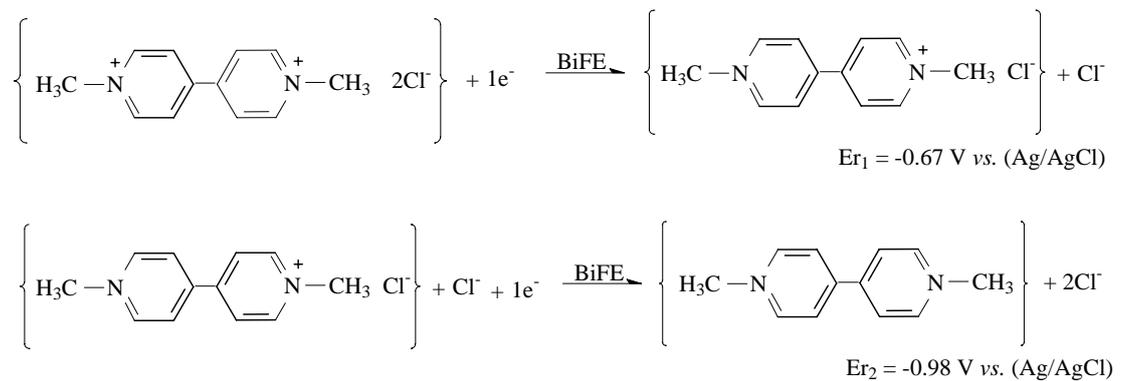


Figura 30 Reação de redução para o Paraquat.

Após a caracterização do comportamento eletroquímico do Paraquat pelo BiFE, foram realizados experimentos em diferentes eletrólitos suportes como ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Selecionou-se o tampão acetato por proporcionar uma melhor resposta e perfil voltamétrico bem definido. Após este estudo, otimizou-se a concentração de tampão ideal e o seu pH, sendo avaliado de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e de 3,8 a 5,0, respectivamente. Assim, foi selecionado o tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5) para a realização dos próximos experimentos por proporcionar uma melhora significativa na resposta voltamétrica.

4.7.1 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Paraquat por voltametria de pulso diferencial

A resposta do eletrodo foi avaliada por meio da técnica de voltametria de pulso diferencial. Diversos parâmetros tais como: tempo de pulso, amplitude de pulso e velocidade de varredura foram avaliados a fim de se obter os melhores resultados em termos de reprodutibilidade e sensibilidade.

Na Tabela 17 são apresentados os parâmetros avaliados na otimização do BiFE para a determinação de Paraquat empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial.

Tabela 17. Parâmetros experimentais empregando-se o BiFE para a determinação de Paraquat.

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Amplitude α (mV)	5 a 70	50
Tempo de pulso t (ms)	2 a 50	20
Velocidade de varredura v (mV s ⁻¹)	12 a 40	30

4.7.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial

Após otimização das condições operacionais para o BiFE realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -0,90 a -0,50 V vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) com velocidade de varredura de 30 mV s⁻¹, tempo de pulso de 20 ms e amplitude de 50 mV, na faixa de concentração de Paraquat de 6,6 x 10⁻⁷ a 4,8 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ para a construção da curva analítica. A Figura 31 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica para BiFE utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial, descontando-se o branco, utilizando-se

as concentrações de Paraquat de $6,6 \times 10^{-7}$ (1), $2,6 \times 10^{-6}$ (2), $9,0 \times 10^{-6}$ (3), $2,2 \times 10^{-5}$ (4), $2,9 \times 10^{-5}$ (5), $3,5 \times 10^{-5}$ (6), $4,1 \times 10^{-5}$ (7) e $4,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (8).

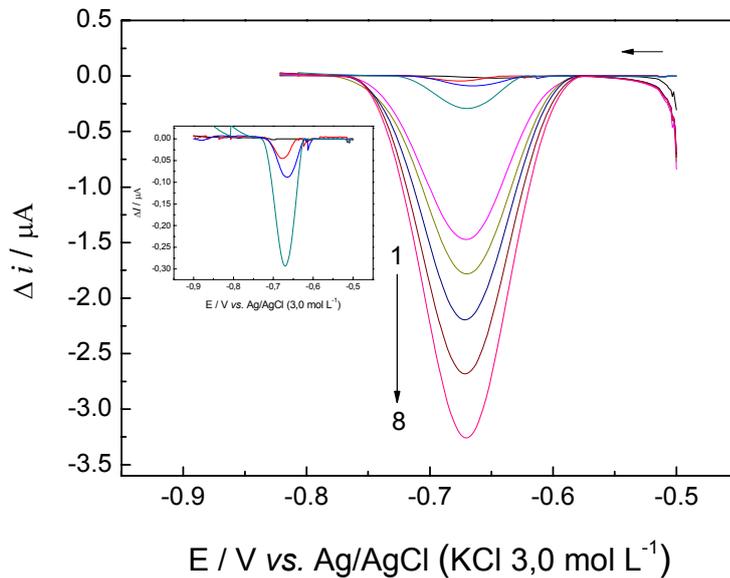


Figura 31 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica empregando-se BiFE para a determinação Paraquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $\nu = 30 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 20 \text{ ms}$ e $\alpha = 50 \text{ mV}$.

A Figura 32 mostra a curva analítica obtida para o Paraquat. A equação da curva é $\Delta i_{pa} (\mu\text{A}) = -6,5 \times 10^{-2} + 6,5 \times 10^4 [\text{PQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,998$ para o intervalo de concentração de $6,6 \times 10^{-7}$ a $4,8 \times 10^{-5}$, com limite de detecção de $9,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado aplicando a equação 1, presente na seção 4.4.5.

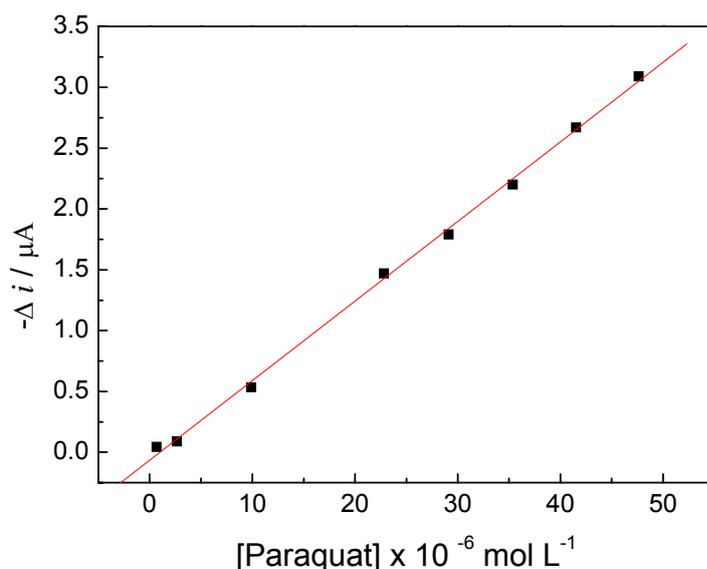


Figura 32 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat utilizando-se o BiFE. Eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $v = 30 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 20 \text{ ms}$ e $\alpha = 50 \text{ mV}$

4.7.3. Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade

O desvio padrão relativo obtido no estudo da reprodutibilidade entre 5 diferentes eletrodos foi igual a 5,1%. Neste estudo foram empregados cada um dos cinco eletrodos obtidos em quintuplicata solução de Paraquat $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Utilizou-se a técnica de voltametria de pulso diferencial com velocidade de varredura de 30 mV s^{-1} , tempo de pulso de 20 ms e incremento de potencial de 50 mV. Estudou-se a repetibilidade do BiFE, realizando-se várias medidas usando o mesmo eletrodo presente em solução contendo Paraquat. Após uso contínuo do eletrodo modificado com a mesma superfície, obteve-se um erro relativo de 2,0 % ($n=10$) para solução de Paraquat $2,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

4.7.4 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Paraquat por voltametria de onda quadrada

O efeito dos parâmetros instrumentais (frequência de aplicação dos pulsos de potencial, amplitude de potencial e incremento de varredura do potencial) da onda

quadrada sobre o potencial de pico e corrente de pico para a determinação de Paraquat foram estudados e otimizados.

A Tabela 18 apresenta os parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e os valores ótimos para cada parâmetro da técnica.

Tabela 18. Parâmetros experimentais estudados para a determinação de Paraquat utilizando BiFE como eletrodo de trabalho

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Frequência f (Hz)	10 a 150	40
Amplitude α (mV)	5 a 70	40
Incremento de varredura ΔE_s (mV)	1 a 7	3

4.7.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada

Uma vez definida as melhores condições de trabalho para o BiFE realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -0,4 a -1,0 V vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) com frequência de 40 Hz, amplitude 40 mV e incremento de varredura de 3 mV, na faixa de concentração de Paraquat de $1,9 \times 10^{-6}$ a $1,3 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ a fim de se obter a curva analítica. A Figura 33 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica descontando o branco das medidas, utilizando o BiFE para as seguintes adições de Paraquat: $1,9 \times 10^{-6}$ (1), $2,3 \times 10^{-6}$ (2), $3,8 \times 10^{-6}$ (3), $4,7 \times 10^{-6}$ (4), $5,6 \times 10^{-6}$ (5), $9,4 \times 10^{-6}$ (6), $1,3 \times 10^{-5}$ (7).

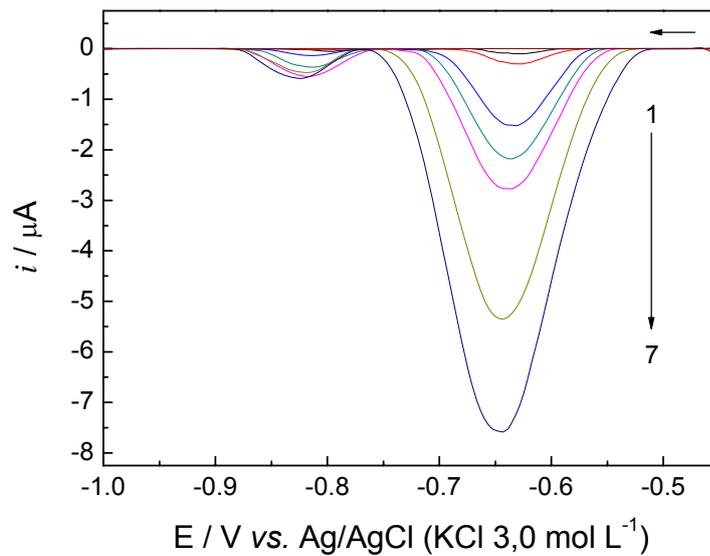


Figura 33 Voltamogramas SWV obtidos na presença de diferentes concentrações de Paraquat empregando o BiFE como eletrodo de trabalho, sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 $f = 40 \text{ Hz}$, $\alpha = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.

Os dados dos valores de correntes anódicas mostrados na Figura 34 geraram uma relação linear com a concentração de Paraquat, representada pela equação $\Delta i_{pa} (\mu\text{A}) = -1,1 + 6,7 \times 10^5 [\text{PQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,997$, com um limite de detecção de $9,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado através da equação 1 apresentada na seção 4.4.5.

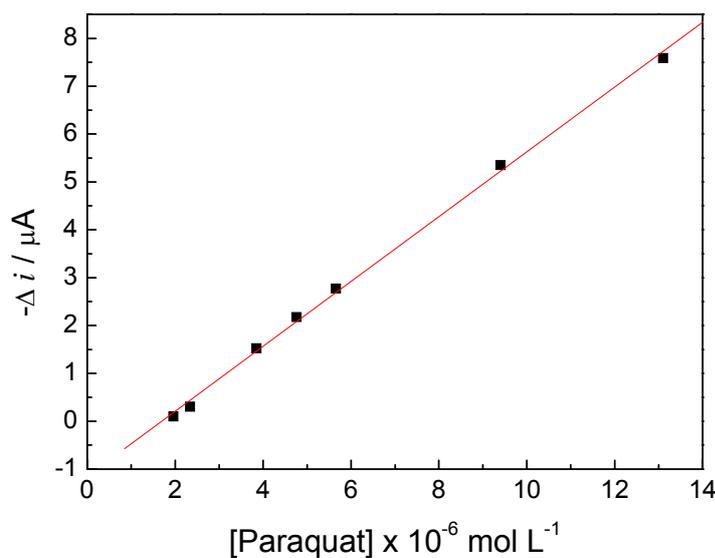


Figura 34 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat empregando-se o BiFE. Utilizando como eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 $f = 40 \text{ Hz}$, $\alpha = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.

4.7.6 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Paraquat

Após a otimização de todos os parâmetros para as duas técnicas propostas e a construção das curvas analíticas para a determinação de Paraquat foi possível realizar uma comparação entre os resultados obtidos.

Na Tabela 19 observa-se alguns dados entre as técnicas propostas para a determinação de Paraquat.

Tabela 19. Comparação das técnicas proposta na determinação de Paraquat

Parâmetros	Voltametria de Onda	Voltametria de Pulso
	Quadrada	Diferencial
Equação da reta	$-1,1 + 6,7 \times 10^{-5}$ [PQ1]	$-6,5 \times 10^{-2} + 6,5 \times 10^4$
Δi_{pc} (μA)		[PQ1]
Limite de detecção (mol L^{-1})	$9,2 \times 10^{-7}$	$9,3 \times 10^{-8}$
Linearidade (mol L^{-1})	$1,9 \times 10^{-6}$ a $1,3 \times 10^{-5}$	$6,6 \times 10^{-7}$ a $4,8 \times 10^{-5}$
Sensibilidade ($\mu A \text{ mol L}^{-1}$)	$6,7 \times 10^5$	$6,5 \times 10^4$

Após todos os experimentos referentes as diferentes técnicas optou-se pela voltametria de pulso diferencial para os experimentos futuros, pois esta apresentou um limite de detecção menor e uma sensibilidade aproximadamente dez vezes superior quando comparado aquela obtida empregando-se a voltametria de onda quadrada.

4.7.7 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Paraquat

A interferência de cátions metálicos e ácido húmico foi estudada nas medidas de voltametria de pulso diferencial na presença Paraquat na concentração $1,0 \times 10^{-5}$

mol L⁻¹. Variou-se as concentrações dos interferentes de 1,0 x 10⁻⁴ a 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, com adição de cada um separadamente e também adição simultânea. As concentrações dos cátions e ácido húmico apresentaram uma interferência igual ou menor que 5% conforme se observa na Tabela 20.

Tabela 20. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Paraquat 5,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ (n=3)

Interferente	Concentração (mol L ⁻¹)	Interferência %
Alcalino e alcalino-terrosos	1,0 x 10 ⁻³	-0,2
Hg ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	0,5
Pb ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	4,2
Co ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	1,3
Ni ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	1,5
Cd ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	4,8
Cu ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	1,0
Ácido Húmico	4,0 x 10 ⁻⁵	0,3

Os metais que apresentaram os maiores erros foram Cd²⁺ e Pb²⁺, contudo a interferência ficou em 4,2 e 4,8% e quando adicionados simultaneamente apresentaram 4,7% de interferência nas medidas, valor aceitável para este tipo de determinação.

4.7.8 Determinação de Paraquat em amostras da represa da UFSCar

O procedimento proposto foi aplicado na determinação de Paraquat em amostras de água fortificadas utilizando a técnica voltamétrica de pulso diferencial. Para avaliar o desempenho do procedimento proposto utilizou-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)¹⁰⁰ nas condições descritas na “Parte Experimental”, em tais condições a molécula de Paraquat apresentou um tempo de retenção de 2,0 min. Um cromatograma típico do Paraquat pode ser observado na Figura 35.

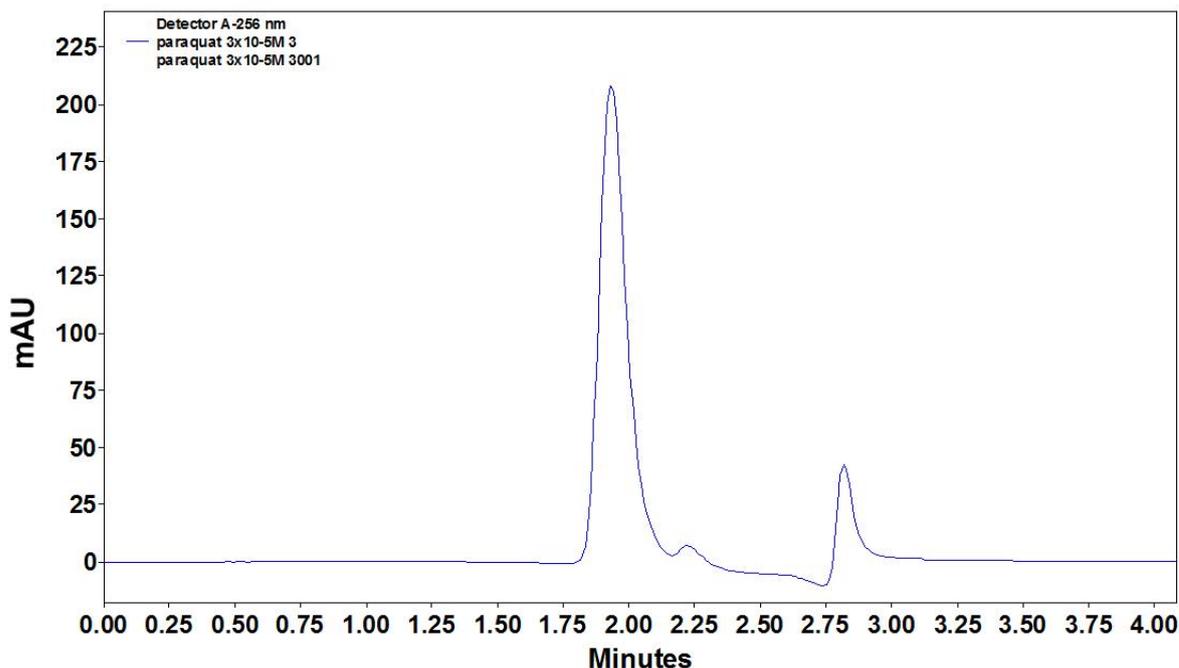


Figura 35 Cromatograma típico para o Paraquat na concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 21 empregando-se o método proposto e o método comparativo estão em boa concordância a um nível de confiança de 95% (testes F e t-pareado) onde A_1 foi fortificada com o objetivo de se obter uma solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e as amostras A_2 e A_3 foram fortificadas para uma concentração igual a valor máximo permitido apresentado na Tabela 1 e posteriormente pré-concentradas para se obter um solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 21. Determinação de Paraquat em amostras fortificadas de água da represa da UFSCar

Amostras	Paraquat / $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$		
	Método comparativo*	Método proposto	Erro Relativo %**
A_1	$1,02 \pm 0,06$	$0,99 \pm 0,03$	-2,94
A_2	$1,09 \pm 0,01$	$1,05 \pm 0,00$	-3,67
A_3	$1,02 \pm 0,03$	$1,06 \pm 0,02$	3,92
n=3			

*HPLC com detecção espectrofotométrica em 310 nm

**Erro relativo % = $100 \times (\text{método proposto} - \text{método comparativo}) / \text{método comparativo}$

4.8.1 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Paraquat por voltametria de pulso diferencial

O voltamograma de pulso diferencial obtido utilizando o minissensor/BiFE apresentou dois picos de redução para o Paraquat, um em torno de -0,64 V e outro em -0,92 V, valor próximo aquele obtido para pulso diferencial utilizando o BiFE com eletrodo de referência Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$). Assim foram realizados experimentos em busca da otimização dos parâmetros relacionados à técnica para o minissensor/BiFE.

Os parâmetros estudados e os melhores valores podem ser observados na Tabela 22.

Tabela 22. Parâmetros estudados de voltametria de pulso de diferencial e os valores selecionados para a determinação de Paraquat

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Amplitude α (mV)	5 a 30	20
Tempo de pulso t (ms)	4 a 20	12
Velocidade de varredura v (mV s ⁻¹)	2 a 20	5

4.8.1.1 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial

Após a otimização dos parâmetros que envolvem a voltametria de pulso diferencial, a curva analítica foi construída pela adição de pequenas alíquotas da solução padrão de Paraquat no intervalo de potencial de -0,80 a -0,40 V vs. Pseudo-referência com velocidade de varredura de 5 mV s^{-1} , tempo de pulso de 12 ms e amplitude de 20 mV. A Figura 36 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica utilizando o minissensor/BiFE para a adição das seguintes concentrações de Paraquat $1,2 \times 10^{-7}$ (1), $1,9 \times 10^{-7}$ (2), $2,9 \times 10^{-7}$ (3), $4,0$

$\times 10^{-7}$ (4), $7,7 \times 10^{-7}$ (5), $1,1 \times 10^{-6}$ (6), $1,5 \times 10^{-6}$ (7), $1,9 \times 10^{-6}$ (8), $3,2 \times 10^{-6}$ (9), $1,2 \times 10^{-7}$ $4,2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (10).

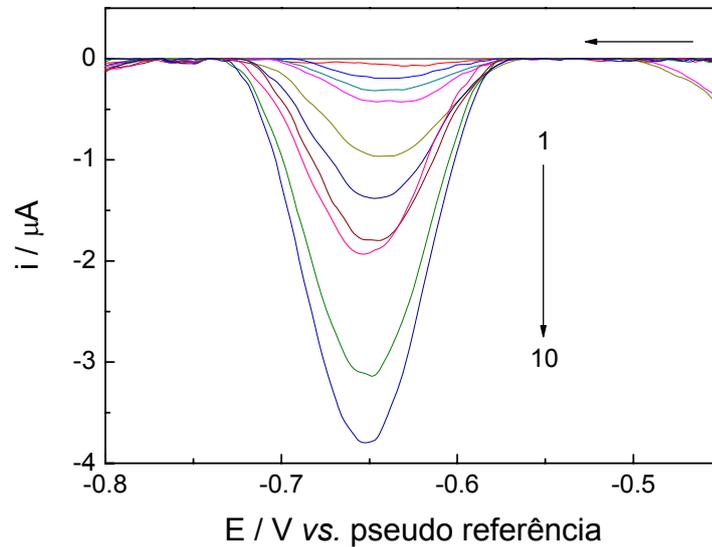


Figura 36 Voltamogramas de DPV em diferentes concentrações de Paraquat em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $\alpha = 20 \text{ mV}$, $t = 12 \text{ ms}$ e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ utilizando o BiFE como eletrodo de trabalho.

Observa-se na Figura 37 a curva analítica para determinação de Paraquat. A equação da curva foi $\Delta i_{pa} (\mu\text{A}) = 6,0 \times 10^{-2} + 9,5 \times 10^5 [\text{PQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, com um coeficiente de correlação de 0,995 e limite de detecção de $1,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado aplicando a equação 1, presente na seção 4.4.5.

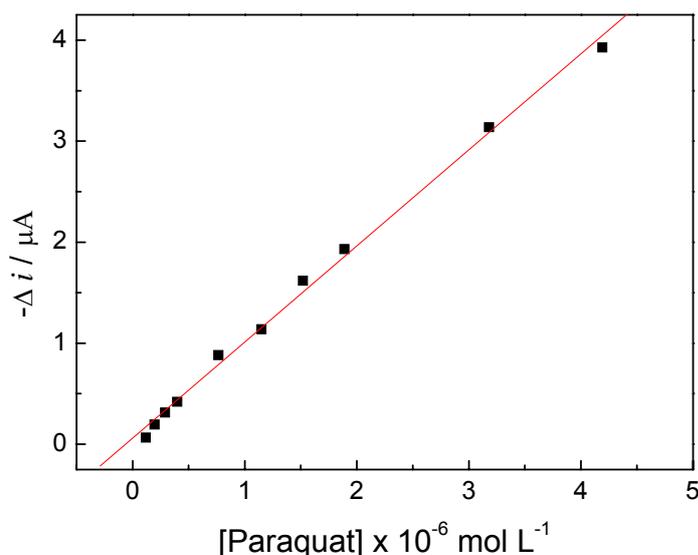


Figura 37 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat empregando-se um eletrodo de cobre com filme de bismuto. Utilizando como eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $\alpha = 20$ mV, $t = 12$ ms e $v = 5$ mV s⁻¹.

4.8.2 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Paraquat por voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada também foi utilizada para o desenvolvimento de um método para a determinação de Paraquat utilizando o minissensor/BiFE, sendo a seleção dos parâmetros instrumentais investigados de acordo com a maior intensidade da corrente de pico e do perfil voltamétrico.

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 23 mostram quais os parâmetros estudados e valores selecionados para cada uma das variáveis instrumentais.

Tabela 23. Parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e seus valores selecionados

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Frequência f (Hz)	10 a 160	70
Amplitude α (mV)	10 a 80	60
Incremento de varredura ΔE_s (mV)	1 a 5	3

4.8.2.1 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada

Uma vez definida as melhores condições de trabalho para o BiFE na determinação de Paraquat realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -0,4 a -1,0 V vs. pseudo-referência de Ag/AgCl com incremento de varredura de 3 mV, frequência de 70 Hz, amplitude 60 mV e, na faixa de concentração de Paraquat de $9,9 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ a fim de se obter a curva analítica. A Figura 38 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica para minissensor/BiFE utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, com o retirada do branco, utilizando-se as concentrações de Paraquat de $9,9 \times 10^{-8}$ (1), $2,9 \times 10^{-7}$ (2), $5,0 \times 10^{-7}$ (3), $6,9 \times 10^{-7}$ (4), $1,5 \times 10^{-6}$ (5), $2,4 \times 10^{-6}$ (6), $5,4 \times 10^{-6}$ (7) e $8,3 \times 10^{-6}$ (8), $1,1 \times 10^{-5}$ (9), $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (10).

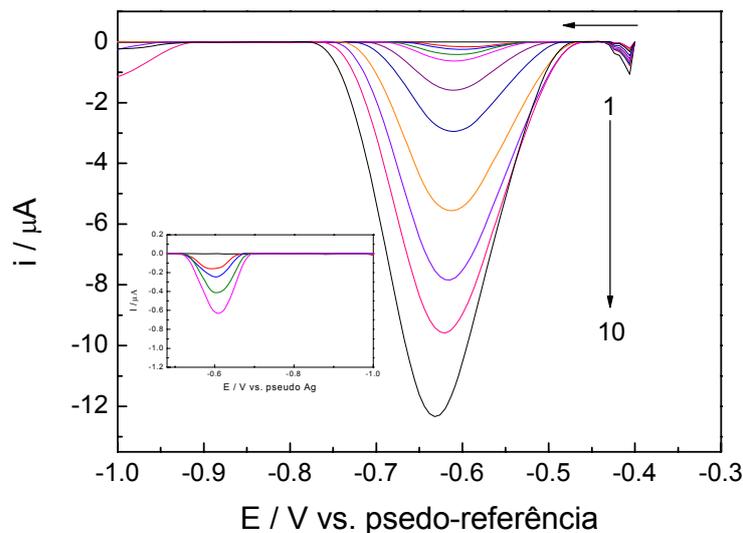


Figura 38 Voltamogramas SWV obtidos empregando-se o minissensor/BiFE na presença de diferentes concentrações de Paraquat em meio de tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 $f = 70 \text{ Hz}$, $\alpha = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$. Em detalhe são apresentadas as 4 primeiras adições.

A Figura 39 ilustra os registros dos valores de corrente que apresentaram uma relação linear com as concentrações de Paraquat no intervalo de $9,9 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ representada pela equação $\Delta i_{pa} (\mu\text{A}) = 3,3 \times 10^{-1} + 8,1 \times 10^5 [\text{PQ1}]$ (mol L⁻¹) com um coeficiente de correlação de 0,991, apresentando um limite de

detecção de $4,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado através da equação 1 apresentada na seção 4.4.5.

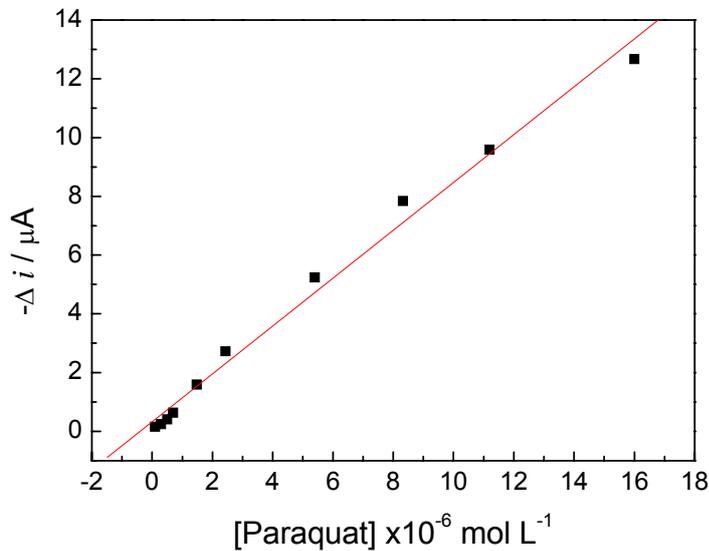


Figura 39 Curva analítica obtida empregando-se SWV na determinação de Paraquat nas condições supracitadas

4.8.3 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Paraquat utilizando o minissensor/BiFE

Com todos os parâmetros relacionados às duas técnicas propostas e a construção das respectivas curvas analíticas para a determinação de Paraquat foi possível realizar uma comparação entre todos os resultados obtidos.

Na Tabela 24 observa-se alguns dados entre as técnicas propostas para a determinação de Paraquat.

Tabela 24. Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Paraquat

Parâmetros	Voltametria de Onda Quadrada	Voltametria de Pulso Diferencial
Equação da reta ΔI_{pc} (μA)	$3,3 + 8,1 \times 10^5 [PQ1]$	$6,0 \times 10^{-2} + 9,5 \times 10^5 [PQ1]$
Limite de detecção ($mol L^{-1}$)	$4,2 \times 10^{-8}$	$1,2 \times 10^{-8}$
Linearidade ($mol L^{-1}$)	$9,9 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-5}$	$1,2 \times 10^{-7}$ a $4,2 \times 10^{-6}$
Sensibilidade ($\mu A mol L^{-1}$)	$8,1 \times 10^5$	$9,5 \times 10^5$

Nota-se que a voltametria de onda quadrada apresentou um limite de detecção maior que a técnica de voltametria de pulso diferencial, contudo a linearidade e a sensibilidade foram menores empregando-se a técnica voltamétrica de pulso diferencial. Considerando-se as concentrações baixas do pesticida em águas, optou-se em trabalhar com a técnica de pulso diferencial.

4.8.4 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do minissensor/BiFE para determinação de Paraquat

Após os experimentos estudou-se a interferência de cátions metálicos e ácido húmico nas medidas de voltametria de pulso diferencial na presença Paraquat na concentração $3,0 \times 10^{-6} mol L^{-1}$. Variou-se as concentrações dos interferentes de $3,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3} mol L^{-1}$, com adição de cada um separadamente e também adição simultânea. As concentrações dos cátions e ácido húmico apresentaram uma interferência igual ou menor que 5% conforme se observa na Tabela 25.

Tabela 25. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Paraquat $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (n=3)

Interferente	Concentração (mol L^{-1})	Interferência %
Alcalino e alcalino-terrosos	$1,0 \times 10^{-3}$	0,5
Hg ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	-1,5
Pb ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	2,2
Co ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	0,7
Ni ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	1,7
Cd ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	4,1
Cu ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	-1,7
Ácido Húmico	$3,0 \times 10^{-5}$	0,8

4.8.5 Determinação de Paraquat em amostras da represa da UFSCar

O procedimento para a comparação do minissensor/BiFE na determinação de Paraquat foi o mesmo usado para a comparação utilizando BiFE, sendo desta maneira utilizado o HPLC¹⁰⁰ para a análise em 310 nm utilizando uma coluna C18 na determinação de Paraquat em amostras de água naturais fortificadas.

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 26 empregando-se o método proposto e o método comparativo estão em boa concordância a um nível de confiança de 95% (testes F e t-pareado). A amostra A₁ foi fortificada com o objetivo de se obter uma solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e as amostras A₂ e A₃ foram fortificadas para uma concentração igual ao valor máximo permitido apresentado na Tabela 1 e posteriormente pré-concentradas para se obter um solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 26. Determinação de Paraquat em amostras de água da represa da UFSCar adicionadas do analito

Amostras	Paraquat /10 ⁻⁶ mol L ⁻¹		Erro Relativo % **
	Método comparativo*	Método proposto	
A ₁	1,02 ± 0,06	1,00 ± 0,03	-1,96
A ₂	1,09 ± 0,01	1,12 ± 0,00	2,68
A ₃	1,02 ± 0,05	1,01 ± 0,02	-0,98

n=3

*HPLC com detecção espectrofotométrica em 310 nm

**Erro relativo % = 100 × (método proposto – método comparativo)/método comparativo

4.8.6 Comparação do BiFE e minissensor/BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura

A Tabela 27 apresenta resultados de procedimentos analíticos para a determinação de Paraquat e os apresentados neste trabalho (BiFE e minissensor/BiFE).

Tabela 27. Procedimentos analíticos desenvolvidos para a determinação de Paraquat

Autor	Eletrodo	Faixa linear mol L⁻¹	Limite de detecção mol L⁻¹
Lopes et al. ⁹³	Grafite pirolítico	5,0 x 10 ⁻⁷ a 2,9 x 10 ⁻⁵	1,0 x 10 ⁻⁷
El Mhanunedi et al. ⁹⁰	Pasta de carbono	8,0 x 10 ⁻⁷ a 2,0 x 10 ⁻⁵	1,5 x 10 ⁻⁸
De Souza et al. ⁹⁴	Microeletrodo de ouro	4,3 x 10 ⁻⁶ a 1,6 x 10 ⁻⁴	3,9 x 10 ⁻⁸
Lu, T.H. et al. ¹⁰²	Carbono vítreo/Nafion	3,9 x 10 ⁻⁹ a 3,9 x 10 ⁻⁷	1,9 x 10 ⁻⁹
Diaz et al. ⁶⁵	Carbono vítreo	3,9 x 10 ⁻⁶ a 3,1 x 10 ⁻⁵	3,2 x 10 ⁻⁶
Walcaricus et al. ⁶⁷	HMDE	5,0 x 10 ⁻⁸ a 1,0 x 10 ⁻⁵	3,4 x 10 ⁻⁸
Neste trabalho	BiFE	6,6 x 10 ⁻⁷ a 4,8 x 10 ⁻⁵	9,3 x 10 ⁻⁸
Neste trabalho	Minissensor/BiFE	1,2 x 10 ⁻⁷ a 4,2 x 10 ⁻⁶	1,2 x 10 ⁻⁸

Capítulo 5

Conclusões

5. Conclusões

O eletrodo de filme de bismuto desenvolvido neste trabalho mostrou ser de fácil construção e apresentou resultados bastante satisfatórios para a determinação de pesticidas em águas naturais.

Em virtude do sucesso alcançado com este eletrodo, foi proposta a construção de um minissensor de baixo custo com o propósito de determinar os analitos *in loco* como o auxílio de um potenciostato/galvanostato portátil.

Para a construção do minissensor optou-se em design que reunisse o eletrodo de trabalho, referência e auxiliar em um mesmo suporte. Como eletrodo de referência utilizou-se a cola de prata, como eletrodo de trabalho filme de bismuto eletrodepositado e como contra eletrodo cobre. Utilizaram-se placas de cobre de circuito impresso e esmaltes de unha como isolante elétrico para delimitar a área ativa dos eletrodos. Desta maneira foi possível se obter de um minissensor de baixo custo

Vale ressaltar que com cada minissensor é possível realizar uma média de 15 determinações antes de descartá-lo obtendo-se um desvio padrão relativo de 5,0% entre as medidas, a um nível de confiança de 95 %.

O eletrodo de filme de bismuto apresentou boa resposta voltamétrica para os seguintes parâmetros experimentais: eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ 15% etanol pH* 4,5, t_{pré} c.= 210 s, \square 10 mV s⁻¹, α 100 mV e t 40 ms desta maneira pode ser empregado o BiFE para a determinação de Atrazina presente em águas naturais em um intervalo de 6,6 x 10⁻⁷ a 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹, com limite de detecção de 1,4 x 10⁻⁷ mol L⁻¹ para a técnica de voltametria de pulso diferencial.

O eletrodo de filme de bismuto pode ser empregado para a determinação de Diquat em águas naturais utilizando a voltametria de onda quadrada sendo os valores ótimos selecionados freqüência de 30 Hz, amplitude 60 mV e incremento de varredura de 4 mV no intervalo de concentração de 1,9 x 10⁻⁷ a 5,6 x 10⁻⁶ mol L⁻¹, com limite de detecção de 8,7 x 10⁻⁶ mol L⁻¹

A determinação de Diquat em águas naturais pode ser realizada também utilizando minissensor de filme de bismuto pela voltametria de onda quadrada onde os parâmetros experimentais selecionados foram eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, freqüência de 60 Hz, amplitude 70 mV e incremento de varredura

de 2 mV f de 60 Hz, α de 70 mV e ΔE_s de 2 mV para um intervalo de concentração de $1,9 \times 10^{-7}$ a $9,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $8,9 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹

Foi possível usar o eletrodo de filme de bismuto na determinação de Paraquat em águas naturais por voltametria de pulso diferencial no intervalo de concentração de $6,6 \times 10^{-7}$ a $4,8 \times 10^{-5}$, com limite de detecção de $9,3 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, nas seguintes condições selecionadas: velocidade de varredura de 30 mV s⁻¹, tempo de pulso de 20 ms e amplitude de 50 mV.

O minissensor de filme de bismuto pode ser empregado para a determinação de Paraquat através da voltametria de pulso diferencial onde os parâmetros experimentais selecionados foram velocidade de varredura de 5 mV s⁻¹, tempo de pulso de 12 ms e amplitude de 20 mV para um intervalo de concentração de $6,6 \times 10^{-8}$ a $3,9 \times 10^{-6}$, com limite de detecção de $1,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

Capítulo 6

Perspectivas futuras

6. *Perspectivas futuras*

Durante o desenvolvimento deste trabalho, surgiram algumas perspectivas de trabalhos futuros na mesma linha de pesquisa.

Desenvolver procedimentos eletroanalíticos utilizando o minissensor com filme de bismuto para outros tipos de pesticidas, além de estudar as potencialidade do eletrodo de filme de bismuto para aplicação na determinação de diversas moléculas orgânicas.

Desenvolver procedimentos em fluxo com determinação amperométrica utilizando o minissensor para a quantificação de pesticidas ou outros analitos de interesse visando uma maior frequência analítica.

Capítulo 7
Referências
Bibliográficas

7. Referências bibliográficas

1. A. ECONOMOU & FIELDEN, P.R., "Mercury film electrodes: developments, trends and potentialities for electroanalysis". *Analyst*. **128**: 205, 2003.
2. WANG, J.; LU, J.M.; HOCEVAR, S.B.; FARIAS, P.A.M. & OGOREVC, B., "Bismuth-coated carbon electrodes for anodic stripping voltammetry". *Anal. Chem.* **72**(14): 3218, 2000.
3. CONCEIÇÃO, C.D.C.; FARIA, R.C.; FATIBELLO-FILHO, O. & TANAKA, A.A., "Electrocatalytic Oxidation and Voltammetric Determination of Hydrazine in Industrial Boiler Feed Water Using a Cobalt Phthalocyanine-modified Electrode". *Anal. Lett.* **41**(6): 1010, 2008.
4. LEGEAI, S. & VITTORI, O., "A Cu/Nafion/Bi electrode for on-site monitoring of trace heavy metals in natural waters using anodic stripping voltammetry: An alternative to mercury-based electrodes". *Anal. Chim. Acta.* **560**(1-2): 184, 2006.
5. VYTRAS, K.; SVANCARA, I. & METELKA, R., "A novelty in potentiometric stripping analysis: Total replacement of mercury by bismuth". *Electroanalysis*. **14**(19-20): 1359, 2002.
6. PAULIUKAITE, R.; METELKA, R.; SVANCARA, I.; KROLICKA, A.; BOBROWSKI, A.; VYTRAS, K.; NORKUS, E. & KALCHER, K., "Carbon paste electrodes modified with Bi₂O₃ sensors for the determination of Cd and Pb". *Anal. Bioanal. Chem.* **374**(6): 1155, 2002.
7. KROLICKA, A.; PAULIUKAITE, R.; SVANCARA, I.; METELKA, R.; BOBROWSKI, A.; NORKUS, E.; KALCHER, K. & VYTRAS, K., "Bismuth-film-plated carbon paste electrodes". *Electrochem. Commun.* **4**(2): 193, 2002.
8. KROLICKA, A.; BOBROWSKI, A.; KALCHER, K.; MOCÁK, J.; SVANCARA, I. & VYTRAS, K., "Study on catalytic adsorptive stripping voltammetry of trace cobalt at bismuth film electrodes". *Electroanalysis*. **15**(23-24): 1859, 2003.
9. KEFALA, G.; ECONOMOU, A.; VOULGAROPOULOS, A. & SOFONIOU, M., "A study of bismuth-film electrodes for the detection of trace metals by anodic stripping voltammetry and their application to the determination of Pb and Zn in tapwater and human hair". *Talanta*. **61**(5): 603, 2003.
10. HUTTON, E.A.; HOCEVAR, S.B. & OGOREVC, B., "Ex situ preparation of bismuth film microelectrode for use in electrochemical stripping microanalysis". *Anal. Chim. Acta.* **537**: 285, 2005.
11. LEGEAI, S.; SOROPOGUI, K.; CRETINON, M.; VITTORI, O.; DE OLIVEIRA, A.H.; BARBIER, F. & GRENIER-LOUSTALOT, M.F., "Economic bismuth-film microsensor for anodic stripping analysis of trace heavy metals using differential pulse voltammetry". *Anal. Bioanal. Chem.* **383**(5): 839, 2005.
12. LEGEAI, S.; BOIS, S. & VITTORI, O., "A copper bismuth film electrode for adsorptive cathodic stripping analysis of trace nickel using square wave voltammetry". *J. Electroanal. Chem.* **591**(1): 93, 2006.
13. CHARALAMBOUS, A. & ECONOMOU, A., "A study on the utility of bismuth-film electrodes for the determination of In(III) in the presence of Pb(II) and Cd(II) by square wave anodic stripping voltammetry". *Anal. Chim. Acta.* **547**(1): 53, 2005.
14. WANG, J. & LU, J.M., "Bismuth film electrodes for adsorptive stripping voltammetry of trace nickel". *Electrochem. Commun.* **2**(6): 390, 2000.

15. HUTTON, E.A.; HOCEVAR, S.B.; MAUKO, L. & OGOREVC, B., "Bismuth film electrode for anodic stripping voltammetric determination of tin". *Anal. Chim. Acta.* **580**(2): 244, 2006.
16. GUO, Z.Y.; FENG, F.; HOU, Y.X. & JAFFREZIC-RENAULT, N., "Quantitative determination of zinc in milkvetch by anodic stripping voltammetry with bismuth film electrodes". *Talanta.* **65**(4): 1052, 2005.
17. ZHANG, W.; TANG, H.; GENG, P.; WANG, Q.H.; JIN, L.T. & WU, Z.R., "Amperometric method for rapid detection of Escherichia coli by flow injection analysis using a bismuth nano-film modified glassy carbon electrode". *Electrochem. Commun.* **9**(4): 833, 2007.
18. NUNES, L.M.D.S. & FARIA, R.C., "The Influence of the Electrodeposition Conditions on the Electroanalytical Performance of the Bismuth Film Electrode for Lead Determination". *Electroanalysis.* **20**(20): 2259, 2008.
19. RENEDO, O.D.; ALONSO-LOMILLO, M.A. & MARTINEZ, M.J.A., "Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications". *Talanta.* **73**(2): 202, 2007.
20. WANG, J., "Decentralized electrochemical monitoring of trace-metals - from disposable strips to remote electrodes - plenary lecture". *Analyst.* **119**(5): 763, 1994.
21. EGGINGS, B.R., *Chemical Sensors and Biosensors*. 2002, Chichester: John Wiley and Sons.
22. HONEYCHURCH, K.C.; HART, J.P. & COWELL, D.C., "Voltammetric behavior and trace determination of lead at a mercury-free screen-printed carbon electrode". *Electroanalysis.* **12**(3): 171, 2000.
23. HONEYCHURCH, K.C.; HAWKINS, D.M.; HART, J.P. & COWELL, D.C., "Voltammetric behaviour and trace determination of copper at a mercury-free screen-printed carbon electrode". *Talanta.* **57**(3): 565, 2002.
24. DILLEEN, J.W.; SPRULES, S.D.; BIRCH, B.J. & HAGGETT, B.G.D., "Electrochemical determination of silver in photographic solutions using fixed-volume single-use sensors". *Analyst.* **123**(12): 2905, 1998.
25. LASCHI, S.; PALCHETTI, I. & MASCINI, M., "Gold-based screen-printed sensor for detection of trace lead". *Sensors and Actuators B-Chemical.* **114**(1): 460, 2006.
26. WANG, J. & TIAN, B., "Screen-printed electrodes for stripping measurements of trace mercury". *Anal. Chim. Acta.* **274**(1): 1, 1993.
27. WANG, J. & TIAN, B., "Mercury-free disposable lead sensors based on potentiometric stripping analysis at gold-coated screen-printed electrodes". *Anal. Chem.* **65**(11): 1529, 1993.
28. WANG, J. & PAMIDI, P.V.A., "Disposable screen-printed electrodes for monitoring hydrazines". *Talanta.* **42**(3): 463, 1995.
29. LIN, J.; ZHOU, D.M.; HOCEVAR, S.B.; MCADAMS, E.T.; OGOREVC, B. & ZHANG, X.J., "Nickel hexacyanoferrate modified screen-printed carbon electrode for sensitive detection of ascorbic acid and hydrogen peroxide". *Frontiers in Bioscience.* **10**: 483, 2005.
30. KOROLKOVAS, A. & BURCKHALTER, J.H., in *Química Farmacêutica*. 1988, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro p. 193.
31. CONAMA. **357** 17 março 2005.
32. *US Environmental Protection Agency*.
33. *Canadian Environmental Assessment Agency*.
34. ESSER, H.O.; DUPUIS, G.; EBERT, E.; MARCO, G. & VOGEL, C., In *Herbicides: Chemistry, degradation and mode of*

- action. Vol. 1. 1985, New York: P. C. Kearney and D. D. Kaufman.
35. *Agrochemicals Handbook*. 2 ed. 1987, Nottingham: Royal Society of Chemistry.
36. HATZIOS, K.K. & PANNER, R., *In Herbicides: Chemistry degradation and mode of action*; Vol. 3. 1988, New York: P. C. Kearney and D. D. Kaufman.
37. KESARI, R. & GUPTA, V.K., "A simple method for the spectrophotometric determination of atrazine using p-aminoacetophenone and its application in environmental and biological samples". *Talanta*. **47**(5): 1085, 1998.
38. HIPOLITO-MORENO, A.; LEON-GONZALEZ, M.E.; PEREZ-ARRIBAS, L.V. & POLO-DIEZ, L.M., "Non-aqueous flow-injection determination of atrazine by inhibition of immobilized tyrosinase". *Anal. Chim. Acta*. **362**(2-3): 187, 1998.
39. AMADOR-HERNANDEZ, J.; VALAZQUEZ-MANZANARES, M.; GUTIERREZ-ORTIZ, M.D.; HERNANDEZ-CARLOS, B.; PERAL-TORRES, M. & LOPEZ-DE-ALBA, P.L., "Simultaneous spectrophotometric determination of atrazine and dicamba in water by Partial Least Squares Regression". *Journal of the Chilean Chemical Society*. **50**(2): 461, 2005.
40. HERRANZ, S.; RAMON-AZCON, J.; BENITO-PENA, E.; MARAZUELA, M.D.; MARCO, M.P. & MORENO-BONDI, M.C., "Preparation of antibodies and development of a sensitive immunoassay with fluorescence detection for triazine herbicides". *Anal. Bioanal. Chem.* **391**(5): 1801, 2008.
41. ROCHA, C.; PAPPAS, E.A. & HUANG, C.H., "Determination of trace triazine and chloroacetamide herbicides in tile-fed drainage ditch water using solid-phase microextraction coupled with GC-MS". *Environmental Pollution*. **152**(1): 239, 2008.
42. BARANOWSKA, I.; BARCHANSKA, H.; ABUKNESHA, R.A.; PRICE, R.G. & STALMACH, A., "ELISA and HPLC methods for atrazine and simazine determination in trophic chains samples". *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **70**(2): 341, 2008.
43. MALOSCHIK, E.; ERNST, A.; HEGEDUS, G.; DARVAS, B. & SZEKACS, A., "Monitoring water-polluting pesticides in Hungary". *Microchemical Journal*. **85**(1): 88, 2007.
44. GHANEM, A.; BADOS, P.; PERREAU, F.; BENABDALLAH, R.; PLAGELLAT, C.; DE ALENCASTRO, L.F. & EINHORN, J., "Multiresidue analysis of atrazine, diuron and their degradation products in sewage sludge by liquid chromatography tandem mass spectrometry". *Anal. Bioanal. Chem.* **391**(1): 345, 2008.
45. PIRARD, C.; WIDART, J.; NGUYEN, B.K.; DELEUZE, C.; HEUDT, L.; HAUBRUGE, E.; DE PAUW, E. & FOCANT, J.F., "Development and validation of a multi-residue method for pesticide determination in honey using on-column liquid-liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry". *J. Chromatogr. A*. **1152**(1-2): 116, 2007.
46. CHENG, J.H.; LIU, M.; ZHANG, X.Y.; DING, L.; YU, Y.; WANG, X.Q.; JIN, H.Y. & ZHANG, H.Q., "Determination of triazine herbicides in sheep liver by microwave-assisted extraction and high performance liquid chromatography". *Anal. Chim. Acta*. **590**(1): 34, 2007.
47. MALEKI, N.; ABSALAN, G.; SAFAVI, A. & FARJAMI, E., "Ultra trace adsorptive stripping voltammetric determination of atrazine in soil and water using mercury film electrode". *Anal. Chim. Acta*. **581**(1): 37, 2007.
48. RAMON-AZCON, J.; VALERA, E.; RODRIGUEZ, A.; BARRANCO, A.; ALFARO, B.; SANCHEZ-BAEZA, F. & MARCO, M.P., "An impedimetric immunosensor based on interdigitated microelectrodes (ID mu E) for the determination of

- atrazine residues in food samples". *Biosensors & Bioelectronics*. **23**(9): 1367, 2008.
49. DOS SANTOS, L.B.O.; ABATE, G. & MASINI, J.C., "Determination of atrazine using square wave voltammetry with the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE)". *Talanta*. **62**(4): 667, 2004.
 50. DE SOUZA, D.; DE TOLEDO, R.A.; GALLI, A.; SALAZAR-BANDA, G.R.; SILVA, M.R.C.; GARBELLINI, G.S.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A. & MACHADO, S.A.S., "Determination of triazine herbicides: development of an electroanalytical method utilizing a solid amalgam electrode that minimizes toxic waste residues, and a comparative study between voltammetric and chromatographic techniques". *Anal. Bioanal. Chem.* **387**(6): 2245, 2007.
 51. D'AGOSTINO, G.; ALBERTI, G.; BIESUZ, R. & PESAVENTO, M., "Potentiometric sensor for atrazine based on a molecular imprinted membrane". *Biosensors & Bioelectronics*. **22**(1): 145, 2006.
 52. DOS SANTOS, L.B.O.; ABATE, G. & MASINI, J.C., "Developing a continuous flow-square wave voltammetry method for determination of atrazine in soil solutions using the hanging mercury drop electrode". *J. Braz. Chem. Soc.* **17**(1): 36, 2006.
 53. ANH, T.M.; DZYADEVYCH, S.V.; VAN, M.C.; RENAULT, N.J.; DUC, C.N. & CHOVELON, J.M., "Conductometric tyrosinase biosensor for the detection of diuron, atrazine and its main metabolites". *Talanta*. **63**(2): 365, 2004.
 54. GARBELLINI, G.S.; PEDROSA, V.A.; SALAZAR-BANDA, G.R. & AVACA, L.A., "Electroanalytical methodologies for the determination of triazine herbicides by square wave voltammetry and deconvolution techniques". *Quim. Nova*. **30**(8): 2025, 2007.
 55. DOS SANTOS, L.B.O.; SILVA, M.S.P. & MASINI, J.C., "Developing a sequential injection-square wave voltammetry (SI-SWV) method for determination of atrazine using a hanging mercury drop electrode". *Anal. Chim. Acta*. **528**(1): 21, 2005.
 56. CHICHARRO, M.; ZAPARDIEL, A.; BERMEJO, E. & MORENO, M., "Determination of 3-amino-1,2,4-triazole (amitrole) in environmental waters by capillary electrophoresis". *Talanta*. **59**(1): 37, 2003.
 57. PICO, Y.; RODRIGUEZ, R. & MANES, J., "Capillary electrophoresis for the determination of pesticide residues". *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. **22**(3): 133, 2003.
 58. SPRINGET, R.H., *The bipyridylum herbicides; their properties and use*. Outlook on Agriculture. Vol. 4. 1965.
 59. PRESTON, C.; BALACHANDRAN, S. & POWLES, S.B., "Investigations of mechanisms of resistance to bipyridyl herbicides in arctotheca-calendula (L) levyns". *Plant Cell Environ.* **17**(10): 1113, 1994.
 60. HAYES JR, W.J. & LAWS JR, E.R., *Handbook of pesticides toxicology*. Vol. 1. 1991, San Diego: Academic press.
 61. LOPEZ-PAZ, J.L.; CATALA-ICARDO, M. & ANTON-GARRIDO, B., "Determination of diquat by flow injection-chemiluminescence". *Anal. Bioanal. Chem.* **394**(4): 1073, 2009.
 62. PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZ-LOZANO, C.; TOMAS, V. & FENOLL, J., "Sensitive determination of diquat by a kinetic method using the stopped-flow mixing technique". *Analyst*. **125**(12): 2372, 2000.
 63. PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZ-LOZANO, C. & TOMAS, V., "Spectrofluorimetric determination of diquat by manual and flow-injection methods". *Anal. Chim. Acta*. **244**(1): 99, 1991.

64. MELO, L.C.; SALAZAR-BANDA, G.R.; MACHADO, S.A.S.; DE LIMA-NETO, P.; DE SOUZA, D. & CORREIA, A.N., "A simple and sensitive detection of diquat herbicide using a dental amalgam electrode A comparison using the chromatographic technique". *Talanta*. **79**(5): 1216, 2009.
65. DIAZ, T.G.; CABANILLAS, A.G. & SALINAS, F., "Square-wave and differential pulse oxidative voltammetric determination of diquat and paraquat in alkaline medium". *Electroanalysis*. **12**(8): 616, 2000.
66. LU, T.W. & SUN, I.W., "Determination of diquat at a Nafion film modified glassy carbon electrode using electrocatalytic voltammetry". *Electroanalysis*. **12**(8): 605, 2000.
67. WALCARIUS A. & LAMBERTS L., "Square wave voltammetric determination of paraquat and diquat in aqueous solution". *J. Electroanal. Chem.* **406**: 59, 1996.
68. DE SOUZA, D.; DE TOLEDO, R.A.; SUFFREDINI, H.B.; MAZO, L.H. & MACHADO, S.A.S., "Characterization and use of copper solid amalgam electrode for electroanalytical determination of triazines-based herbicides". *Electroanalysis*. **18**(6): 605, 2006.
69. DE SOUZA, D. & MACHADO, S.A.S., "Study of the electrochemical behavior and sensitive detection of pesticides using microelectrodes allied to square-wave voltammetry". *Electroanalysis*. **18**(9): 862, 2006.
70. NUNEZ, O.; MOYANO, E.; PUIGNOU, L. & GALCERAN, M.T., "Sample stacking with matrix removal for the determination of paraquat, diquat and difenzoquat in water by capillary electrophoresis". *J. Chromatogr. A*. **912**(2): 353, 2001.
71. ZOUGAGH, M.; BOUABDALLAH, M.; SALGHI, R.; HORMATALLAH, A. & RIOS, A., "Supercritical fluid extraction as an on-line clean-up technique for rapid amperometric screening and alternative liquid chromatography for confirmation of paraquat and diquat in olive oil samples". *J. Chromatogr. A*. **1204**(1): 56, 2008.
72. DE ALMEIDA, R.M. & YONAMINE, M., "Gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of the herbicides paraquat and diquat in plasma and urine samples". *J. Chromatogr. B*. **853**(1-2): 260, 2007.
73. PATEIRO-MOURE, M.; MARTINEZ-CARBALLO, E.; ARIAS-ESTEVEZ, M. & SIMAL-GANDARA, J., "Determination of quaternary ammonium herbicides in soils - Comparison of digestion, shaking and microwave-assisted extractions". *J. Chromatogr. A*. **1196**: 110, 2008.
74. KLAASSEN C.D., *Toxicology-the basic science of poisons*. 5 ed. 1989, New York: International Ed.
75. TAMPO, Y.; TSUKAMOTO, M. & YONAHARA, M., "Superoxide production from paraquat evoked by exogenous NADPH in pulmonary endothelial cells". *Free Radical Biology and Medicine*. **27**(5-6): 588, 1999.
76. POND, S.M., "Toxicology .5. manifestations and management of paraquat poisoning". *Medical Journal of Australia*. **152**(5): 256, 1990.
77. GIULIVI, C.; LAVAGNO, C.C.; LUCESOLI, F.; BERMUDEZ, M.J.N. & BOVERIS, A., "Lung damage in paraquat poisoning and hyperbaric-oxygen exposure - superoxide-mediated inhibition of phospholipase A (2)". *Free Radical Biology and Medicine*. **18**(2): 203, 1995.
78. NORDQUIST, R.E.; NGUYEN, H.; POYER, J.L. & CARUBELLI, R., "The role of free-radicals in paraquat-induced corneal lesions". *Free Radical Research*. **23**(1): 61, 1995.
79. HONORE, P.; HANTSON, P.; FAUVILLE, J.P.; PEETERS, A. & MAHIEU, P., "Paraquat poisoning - state-of-the-art". *Acta Clinica Belgica*. **49**(5): 220, 1994.

80. BISMUTH, C.; GARNIER, R.; DALLY, S.; FOURNIER, P.E. & SCHERRMANN, J.M., "Prognosis and treatment of paraquat poisoning - a review of 28 cases". *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*. **19**(5): 461, 1982.
81. INFANTE, C.M.C.; MORALES-RUBIO, A.; DE LA GUARDIA, M. & ROCHA, F.R.P., "A multicommutated flow system with solenoid micro-pumps for paraquat determination in natural waters". *Talanta*. **75**(5): 1376, 2008.
82. RAI, M.K.; DAS, J.V. & GUPTA, V.K., "A sensitive determination of paraquat by spectrophotometry". *Talanta*. **45**(2): 343, 1997.
83. LOPEZ-ERROZ, C.; VINAS, P.; CAMPILLO, N. & HERNANDEZ-CORDOBA, M., "Determination of paraquat in waters by enzymatic inhibition using flow-injection analysis". *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. **72**(4): 267, 1998.
84. SENDRA, B.; PANADERO, S. & GOMEZ-HENS, A., "Selective kinetic determination of paraquat using long-wavelength fluorescence detection". *J. Agric. Food Chem.* **47**(9): 3733, 1999.
85. BACIGALUPO, M.A.; MERONI, G.; MIRASOLI, M.; PARISI, D. & LONGHI, R., "Ultrasensitive quantitative determination of paraquat: Application to river, ground, and drinking water analysis in an agricultural area". *J. Agric. Food Chem.* **53**(2): 216, 2005.
86. PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZ-LOZANO, C.; TOMAS, V. & FENOLL, J., "Spectrofluorimetric determination of paraquat by manual and flow injection methods". *Analyst*. **123**(7): 1577, 1998.
87. ACEDO-VALENZUELA, M.I.; GALEANO-DIAZ, T.; MORA-DIEZ, N. & SILVA-RODRIGUEZ, A., "Determination of neutral and cationic herbicides in water by micellar electrokinetic capillary chromatography". *Anal. Chim. Acta*. **519**(1): 65, 2004.
88. ITO, M.; HORI, Y.; FUJISAWA, M.; ODA, A.; KATSUYAMA, S.; HIROSE, Y. & YOSHIOKA, T., "Rapid analysis method for paraquat and diquat in the serum using ion-pair high-performance liquid chromatography". *Biol. Pharm. Bull.* **28**(4): 725, 2005.
89. RIAL-OTERO, R.; CANCHO-GRANDE, B.; PEREZ-LAMELA, C.; SIMAL-GANDARA, J. & ARIAS-ESTEVEZ, M., "Simultaneous determination of the herbicides diquat and paraquat in water". *Journal of Chromatographic Science*. **44**(9): 539, 2006.
90. EL MHAMMEDI, M.A.; BAKASSE, M. & CHTAINI, A., "Electrochemical studies and square wave voltammetry of paraquat at natural phosphate modified carbon paste electrode". *J. Hazard. Mater.* **145**(1-2): 1, 2007.
91. EL MHANUNEDI, M.A.; BAKASSE, M. & CHTAINI, A., "Square-wave voltammetric determination of paraquat at carbon paste electrode modified with hydroxyapatite". *Electroanalysis*. **19**(16): 1727, 2007.
92. DE SOUZA, D.; MACHADO, S.A.S. & PIRES, R.C., "Multiple square wave voltammetry for analytical determination of paraquat in natural water, food, and beverages using microelectrodes". *Talanta*. **69**(5): 1200, 2006.
93. LOPES, I.C.; DE SOUZA, D.; MACHADO, S.A.S. & TANAKA, A.A., "Voltammetric detection of paraquat pesticide on a phthalocyanine-based pyrolytic graphite electrode". *Anal. Bioanal. Chem.* **388**(8): 1907, 2007.
94. DE SOUZA, D. & MACHADO, S.A.S., "Electroanalytical study of the paraquat herbicide in aqueous solution by square wave voltammetry using ultramicroelectrodes". *Quim. Nova*. **26**(5): 644, 2003.
95. DE SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MACHADO, S.A.S. & AVACA, L.A., "Electroanalytical determination of the herbicide paraquat in natural water and

- commercial tea samples with gold electrodes obtained from recordable compact disc". *Anal. Lett.* **38**(2): 331, 2005.
96. SAAD, B.; ARIFFIN, M. & SALEH, M.I., "Flow injection potentiometric determination of paraquat in formulations and biological samples". *Talanta.* **47**(5): 1231, 1998.
97. 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". *Anal. Chim. Acta.* **260**(1): 19, 1992.
98. DE 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". *J. Braz. Chem. Soc.* **15**(5): 735, 2004.
99. GOUVEIA, S.T.; FATIBELLO, O. & NOBREGA, J.D., "Flow-injection spectrophotometric determination of cyclamate in low-calorie soft drinks and sweeteners". *Analyst.* **120**(7): 2009, 1995.
100. CHICHILA, T.M. & WALTERS, S.M., "Liquid-chromatographic determination of paraquat and diquat in crops using a silica column with aqueous ionic mobile phase". *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **74**(6): 961, 1991.
101. NUNES, L.M.D.S., *Desenvolvimento de eletrodo de filme de bismuto depositado sobre cobre para aplicações eletroanalíticas*, in *Departamento de Química*. 2007, Universidade Federal de São Carlos São Carlos p. 73.
102. LU, T.H. & SUN, I.W., "Electrocatalytic determination of paraquat using a nafion film coated glassy carbon electrode". *Talanta.* **53**(2): 443, 2000.

*“A alegria que se tem em pensar e aprender
faz-nos pensar e aprender ainda mais”*

Aristóteles

*É preciso impor a si mesmo algumas metas
para se ter a coragem de alcançá-las*

Benito Mussolini

*Dedico este trabalho aos meus pais Luiz Carlos e Rosemarie
pelo amor, paciência, apoio e por abnegação de inúmeras
coisas para que hoje eu conseguisse estar aqui.*

A minha querida avó Izaura pela paciência e pelos abraços carinhosos.

Ao meu irmão Lucas pelo carinho e por me incentivar.

Agradecimentos

A Deus por sempre estar ao meu lado, me iluminando nos momentos difíceis e me acalmado nos momentos de nervosismo e de angústia.

A meus pais por todo apoio e amor

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho pela paciência, pelos ensinamentos, não somente aqueles que vão me servir profissionalmente, mas por aqueles que levo por toda vida, os quais certamente me tornaram um homem melhor e mais justo.

Agradeço de todo coração pela confiança em mim investida e por ser um “pai” (incluindo as inúmeras broncas e puxões de orelha, mas assim como um pai, hoje vejo que nenhuma foi dada sem um ótimo motivo) aqui em São Carlos

Ao Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria que com a ida do Bello para Portugal me auxiliou e me incentivou nos meus estudos e experimentos, sempre com boas idéias, ótimas discussões, além de sua amizade..

Ao Prof. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro que gentilmente nos cedeu um pouco da cola de prata para a confecção dos pseudo-referências.

A banca examinadora por ter aceito o convite para apresentação e arguição desta dissertação de mestrado.

A Gabriela por sempre estar ao meu lado me apoiando e incentivando, por toda a paciência e carinho. E me fazendo aprender todos os dias o quanto a vida é maravilhosa.

Aos meus amigos de Araraquara Thiago, Alana, Lívia, Lariana, Flávio, Victor, Yuri, Bruno, Lucas, Paulinha e tantos outros. Os quais não citarei, pois dariam varias paginas !!!

Ao pessoal do LABIE: Estelinha, Nátalia, Tiago, André e Quésia.

Ao Marco por todos esses 7 anos de convívio e pela sua amizade e conselhos.

Ao “Craudio” por agüentar meu jeito e pela nova amizade feita nesses 2 anos de mestrado.

Ao pessoal do Bloco 30 pela convivência, pelas risadas e por fazer meus 5 anos da graduação uma parte prazerosa da minha vida.

Ao meu “terceiro melhor amigo” Geiser por sempre estar disposto a “fumar um cigarro”, fazendo com que os dias no LABBES fossem mais divertidos. E por sempre animar de sair!

Ao Brunão pela amizade e pela ajuda na realização do meu trabalho, seja com idéias e discussões, como piadas e brincadeiras

Ao Avaré pela paciência e pelas discussões e por sempre estar disposto a ouvir minhas lamúrias.

A Lilo por sempre estar tão bem humorada e ter esse imenso coração, agüentar todas as broncas e ainda fazer almoço e bolos!!!

A Livinha por me agüentar, por ser tão teimosa! Mas por ser uma pessoa que gosta de aprender e de trabalhar fazendo o meu trabalho virar quase. eu disse quase!!! uma diversão.

A Bruna pela companhia, almoços e por ser a eterna IC do LABBES.

Aos irmãos e irmãs do LABBES (OLD AGE): Helô, Lúcia, Heberth (Irmão), Luiz Humberto, Garça, Oldair, Vivi e Willian

Aos irmãos e irmãs do LABBES: Aline, Allan, Deborah, Elen, Fabi, Humberto, Jorge, Marina, Osmundo, Roberta e Vagner.

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE MINISSENSORES DE FILME DE BISMUTO PARA A DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA *IN LOCO* DE ATRAZINA, DIQUAT E PARAQUAT EM ÁGUAS NATURAIS. No presente trabalho descreve-se o desenvolvimento de eletrodos de filme de bismuto (BiFE) e minissensores/BiFE para posterior aplicação no desenvolvimento de procedimentos eletroanalíticos para a determinação de Atrazina, Diquat e Paraquat utilizando-se as técnicas voltamétricas de onda quadrada (SWV) e de pulso diferencial (DPV). Na confecção do minissensor optou-se em design que reunisse o eletrodo de trabalho (BiFE), pseudo-referência (cola de prata) e auxiliar (cobre) em um mesmo suporte para mais fácil locomoção do sistema eletroquímico para determinações em campo. Utilizaram-se placas de cobre de circuito impresso como substrato e esmaltes de unha como isolante elétrico para delimitar a área ativa dos eletrodos. Desta maneira foi possível a realização de um minissensor de baixo custo. Para o primeiro procedimento desenvolvido determinou-se Atrazina em águas naturais utilizando-se o BiFE e a DPV após as otimizações das condições experimentais obteve-se uma curva analítica no intervalo de concentração de Atrazina de $6,6 \times 10^{-7}$ a $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,4 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Em seqüência foi estudado os parâmetros da técnica de SWV para a determinação de Diquat em amostras de águas naturais utilizando BiFE e o minissensor/BiFE sendo que a resposta linear obtida foi para o intervalo de concentração de $1,9 \times 10^{-7}$ a $5,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $1,9 \times 10^{-7}$ a $9,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ respectivamente e limites de detecção de $8,7 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e $8,9 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Finalmente foi desenvolvido um procedimento para a determinação de Paraquat através da DPV utilizando o BiFE e o minissensor/BiFE. Para o BiFE obteve-se uma relação linear no intervalo de concentração de $6,6 \times 10^{-7}$ a $4,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $9,3 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Após serem avaliadas as melhores condições experimentais para o minissensor/BiFE, este respondeu de maneira linear para um intervalo de concentração de $6,6 \times 10^{-8}$ a $3,9 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF BISMUTH FILM MINISENSORS FOR *IN LOCO* VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF ATRAZINE, DIQUAT AND PARAQUAT IN NATURAL WATERS. The development of bismuth film electrodes (BiFE) and minissensors/BiFE for application to the development of electroanalytical procedures for determination of atrazine, Diquat and Paraquat using voltammetric techniques as square wave (SWV) and differential pulse (DPV) is reported in this work. It was chosen to combine the working electrode (BiFE), pseudo-reference (silver glue) and counter (copper) in the same bracket for easily locomotion of the electrochemical system for field analysis. Copper plates of printed circuit were used as substrate and nail polish was used as an electrical insulator to limit the active area. Thus it was possible to make a minissensor with low cost. For the first procedure developed it was determined atrazine in natural waters using BiFE and DPV after the optimization of experimental conditions was obtained an analytical curve linearity for the range from 6.6×10^{-7} to 2.0×10^{-5} mol L⁻¹, with a limit of detection of 1.4×10^{-7} mol L⁻¹. Subsequently, parameters of the SWV technique for determination of Diquat in water samples were studied using BiFE and minissensor/BiFE and the linear correlation was obtained for a concentration range from 1.9 to $5.6 \times 10^{-7} \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ and from 1.9×10^{-7} to 9.3×10^{-6} mol L⁻¹ respectively, and the limit of detection obtained were 8.7×10^{-8} mol L⁻¹ and 8.9×10^{-8} mol L⁻¹. Finally a procedure was developed for the determination of Paraquat using BiFE and minissensor/BiFE by DPV. For the BiFE a linear relationship was obtained for the concentration range from 6.6×10^{-7} to 4.8×10^{-5} mol L⁻¹, with a limit of detection of 9.3×10^{-8} mol L⁻¹. After being selected the best experimental conditions for minissensor/BiFE, it responded to a linear concentration range from 6.6×10^{-8} to 3.9×10^{-6} mol L⁻¹ with a limit of detection of $1,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

LISTA DE ABREVIATURAS

BiFE- Eletrodo de filme de bismuto

MFE- Eletrodo de filme de mercúrio

FEG-SEM- Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução

MEV-EDX- Microscopia eletrônica de varredura com análise de energia dispersiva

EI- Eletrodo impresso

EIC- Eletrodo impresso de carbono

BSE- Bright silver epoxy

GSH- Gray silver hardener

pH*- pH condicional

t_{pré c}- Tempo de pré-concentração

DPV- Differential pulse voltammetry (voltametria de pulso diferencial)

SWV- Square wave voltammetry (voltametria de onda quadrada)

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1. Concentração dos herbicidas em águas permitidos pelas diferentes agências reguladoras</i>	7
<i>Tabela 2. Parâmetros experimentais para BiFE na determinação de Atrazina</i>	35
<i>Tabela 3. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Atrazina $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ $n=3$</i>	38
<i>Tabela 4. Determinação de Atrazina em amostras de água fortificadas a partir da represa da UFSCar</i>	39
<i>Tabela 5. Procedimentos analíticos desenvolvidos para determinação de Atrazina</i>	40
<i>Tabela 6. Parâmetros experimentais avaliados utilizando o BiFE para a determinação de Diquat</i>	42
<i>Tabela 7. Parâmetros experimentais avaliados utilizando o BiFE para a determinação de Diquat</i>	45
<i>Tabela 8: Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Diquat utilizando BiFE</i>	47
<i>Tabela 9. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Diquat $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($n=3$)</i>	48
<i>Tabela 10. Determinação de Diquat em amostras fortificadas de água da represa da UFSCar</i>	49
<i>Tabela 11. Parâmetros estudados de voltametria de pulso de diferencial e os valores selecionados para a determinação de Diquat</i>	50
<i>Tabela 12. Parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e seus valores selecionados na determinação de Diquat</i>	52
<i>Tabela 13: Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Diquat</i> ...	55
<i>Tabela 14: Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Diquat $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ $n=3$</i>	56
<i>Tabela 15: Determinação de Diquat em amostras fortificadas de água provenientes da represa da UFSCar</i>	57
<i>Tabela 16. Procedimentos analíticos desenvolvidos para a determinação de Diquat</i>	58
<i>Tabela 17. Parâmetros experimentais empregando-se o BiFE para a determinação de Paraquat</i>	60
<i>Tabela 18. Parâmetros experimentais estudados para a determinação de Paraquat utilizando BiFE como eletrodo de trabalho</i>	63
<i>Tabela 19. Comparação das técnicas proposta na determinação de Paraquat</i>	65
<i>Tabela 20. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Paraquat $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n=3$)</i>	66
<i>Tabela 21. Determinação de Paraquat em amostras fortificadas de água da represa da UFSCar</i>	67
<i>Tabela 22. Parâmetros estudados de voltametria de pulso de diferencial e os valores selecionados para a determinação de Paraquat</i>	68
<i>Tabela 23. Parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e seus valores selecionados</i>	70

<i>Tabela 24. Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Paraquat</i>	73
<i>Tabela 25. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Paraquat $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (n=3)</i>	74
<i>Tabela 26. Determinação de Paraquat em amostras de água da represa da UFSCar adicionadas do analito</i>	75
<i>Tabela 27. Procedimentos analíticos desenvolvidos para a determinação de Paraquat</i>	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Gastos na aquisição de pesticidas em 2009 A) Venda anual em milhões de US\$ e B) Venda anual em toneladas	7
Figura 2 Fórmula estrutural da Atrazina	8
Figura 3 Fórmula estrutural do Diquat.....	10
Figura 4 Fórmula estrutural do Paraquat.....	12
Figura 5 Em A) célula eletroquímica construída com materiais de baixo custo e B) Conjunto para análise: conector, minissensor e célula eletroquímica.	20
Figura 6 Sistema para impressão na construção dos três eletrodos do minissensor.	22
Figura 7 A base do minissensor obtido após corrosão da placa de cobre.	23
Figura 8 Minissensor pronto para a eletrodeposição de bismuto e aplicação da cola de prata.	23
Figura 9 Síntese de todas as etapas de obtenção do minissensor proposto.	24
Figura 10 Fotografia do dispositivo de conexão do minissensor com o potenciostato.	25
Figura 11 Ciclovoltagem obtido em uma solução de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte e eletrodo de cobre como eletrodo de trabalho, velocidade de varredura 10 mV s^{-1}	29
Figura 12 Micrografias de FEG-SEM do filme de bismuto em diferentes aproximações A) 10000x B) 50000x	31
Figura 13 Reação de redução eletroquímica para a Atrazina.	32
Figura 14 Voltamograma de pulso diferencial obtido utilizando BiFE para uma solução de Atrazina $4,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH *4,0 em meio etanólico (5 % v/v). * pH condicional.....	32
Figura 15 Variação da corrente de pico do BiFE em função do tempo de adsorção da Atrazina $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH* 4,5 como eletrólito suporte.	34
Figura 16 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica utilizando BiFE para a determinação de Atrazina utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH *4,5 em meio etanólico (15 % v/v), como eletrólito suporte tpré c.= 210 s, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$ e $t = 40 \text{ ms}$	36
Figura 17 Curva analítica obtida utilizando BiFE para a determinação de Atrazina utilizando-se tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em 15% etanol como eletrólito suporte (pH* 4,5), tpré c.= 210 s, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$ e $t = 40 \text{ ms}$	37
Figura 18 Voltamogramas obtidos para uma solução de Diquat $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte, BiFE ou cobre como eletrodo de trabalho e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}	41
Figura 19 Reação de redução para o Diquat.....	41
Figura 20 Voltamogramas de DPV obtidos para a construção da curva analítica do Diquat utilizando BiFE sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 4,5, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 30 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$. Inserida na figura as 4 primeiras adições realizadas.	43

Figura 21 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se o BiFE. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 4,5, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 30 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$	44
Figura 22 Voltamogramas de SWV obtidos para a construção da curva analítica utilizando o BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 30 \text{ Hz}$, $\alpha = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$	46
Figura 23 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se um eletrodo de cobre com filme de bismuto. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 30 \text{ Hz}$, $\alpha = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$	46
Figura 24 Cromatograma típico para o Diquat na concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	49
Figura 25 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica utilizando o minissensor/BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 5 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$	51
Figura 26 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se um minissensor/BiFE sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 5 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$	52
Figura 27 Voltamogramas SWV obtidos para a construção da curva analítica com o uso do minissensor/BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 60 \text{ Hz}$, $\alpha = 70 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	53
Figura 28 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat utilizando-se um minissensor/BiFE em eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 60 \text{ Hz}$, $\alpha = 70 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	54
Figura 29 Voltamograma obtido para uma solução de Paraquat $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte, BiFE ou cobre como eletrodo de trabalho e $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$	59
Figura 30 Reação de redução para o Paraquat.	59
Figura 31 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica empregando-se BiFE para a determinação Paraquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $v = 30 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 20 \text{ ms}$ e $\alpha = 50 \text{ mV}$	61
Figura 32 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat utilizando-se o BiFE. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $v = 30 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 20 \text{ ms}$ e $\alpha = 50 \text{ mV}$	62
Figura 33 Voltamogramas SWV obtidos na presença de diferentes concentrações de Paraquat empregando o BiFE como eletrodo de trabalho, sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 $f = 40 \text{ Hz}$, $\alpha = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$	64
Figura 34 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat empregando-se o BiFE. Utilizando como eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 $f = 40 \text{ Hz}$, $\alpha = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$	64
Figura 35 Cromatograma típico para o Paraquat na concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	67
Figura 36 Voltamogramas de DPV em diferentes concentrações de Paraquat em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $\alpha = 20 \text{ mV}$, $t = 12 \text{ ms}$ e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ utilizando o BiFE como eletrodo de trabalho.	69

<i>Figura 37 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat empregando-se um eletrodo de cobre com filme de bismuto. Utilizando como eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $\alpha = 20$ mV, $t = 12$ ms e $v = 5$ mV s⁻¹.....</i>	<i>70</i>
<i>Figura 38 Voltamogramas SWV obtidos empregando-se o minissensor/BiFE na presença de diferentes concentrações de Paraquat em meio de tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5 $f = 70$ Hz, $\alpha = 60$ mV e $\Delta E_s = 3$ mV. Em detalhe são apresentadas as 4 primeiras adições.</i>	<i>71</i>
<i>Figura 39 Curva analítica obtida empregando-se SWV na determinação de Paraquat nas condições supracitadas</i>	<i>72</i>

Sumário

1. INTRODUÇÃO	2
1.1 FILME DE BISMUTO	2
1.2 ELETRODOS IMPRESSOS	4
1.3 HERBICIDAS E O MEIO AMBIENTE	6
1.4 ATRAZINA	8
1.4.1 Métodos analíticos para a determinação de Atrazina.....	8
1.4.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Atrazina.....	9
1.5 DIQUAT.....	10
1.5.1 Métodos analíticos para a determinação de Diquat	10
1.5.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Diquat	11
1.6 PARAQUAT	12
1.6.1 Métodos analíticos para a determinação de Paraquat.....	13
1.6.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Paraquat.....	14
2.OBJETIVOS.....	17
3.PARTE EXPERIMENTAL	19
3.1 INSTRUMENTAÇÃO	19
3.1.1 pHmetro e eletrodo combinado de vidro	19
3.1.2. Medidas eletroanalíticas.....	19
3.1.3 Morfologia	19
3.1.4. Célula eletroquímica.....	19
3.1.5. Eletrodos	20
3.2 CONSTRUÇÃO DOS ELETRODOS	20
3.2.1 Eletrodo de cobre recoberto com filme de bismuto	20
3.2.2 Eletrodeposição do Filme de Bismuto.....	21
3.2.3 Construção do minissensor sobre placa de cobre.....	21
3.2.4 Eletrodeposição de filme de bismuto para construção do eletrodo de trabalho no minissensor.....	23
3.2.5 Aplicação da cola de prata para a construção do eletrodo de pseudo-referência para o minissensor.....	24
3.3 SOLUÇÕES ESTOQUE.....	25
3.4 AMOSTRAS.....	26
3.4.1 Tratamento e pré-concentração	26
3.5 MÉTODOS COMPARATIVOS	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 ESTUDO DO PROCESSO REDOX DO BISMUTO	29
4.2 ESTUDO DA ELETRODEPOSIÇÃO DO BISMUTO SOBRE COBRE.....	30
4.3 MICROGRAFIAS (FEG-SEM)	30
4.4 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA ATRAZINA	31
4.4.1 Estudo da determinação de Atrazina por DPV com o eletrodo de filme de bismuto depositado sobre substrato de cobre.....	33

4.4.2 Estudo da influência do eletrólito suporte.....	33
4.4.3 Estudo da influência do tempo de pré-concentração	34
4.4.4 Estudo dos parâmetros químicos e os relacionados à técnica de voltametria de pulso diferencial.....	34
4.4.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial	35
4.4.6 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Atrazina	37
4.4.7 Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade	38
4.4.8 Determinação de Atrazina em amostras da represa da UFSCar	38
4.4.9 Comparação do BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura	39
4.5 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO DIQUAT	40
4.5.1 Estudo da determinação de Diquat por voltametria de pulso diferencial com BiFE depositado sobre substrato de cobre.....	42
4.5.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial	42
4.5.3 Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade	44
4.5.4 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Diquat por voltametria de onda quadrada.....	44
4.5.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada.....	45
4.5.6 Comparação entre as técnicas SWV e DPV na determinação de Diquat utilizando BiFE	47
4.5.7 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Diquat.....	47
4.5.8 Determinação de Diquat em amostras da represa da UFSCar.....	48
4.6.1 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Diquat por voltametria de pulso diferencial.....	50
4.6.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial	50
4.6.3 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Diquat por voltametria de onda quadrada.....	52
4.6.4 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada	53
4.6.5 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Diquat utilizando minissensor/BiFE	54
4.6.6 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do minissensor/BiFE para determinação de Diquat	55
4.6.7 Determinação de Diquat em amostras da represa da UFSCar.....	56
4.6.8 Comparação do BiFE e minissensor/BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura.....	57
4.7 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO PARAQUAT	58

4.7.1 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Paraquat por voltametria de pulso diferencial	60
4.7.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial	60
4.7.3. Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade	62
4.7.4 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Paraquat por voltametria de onda quadrada	62
4.7.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada	63
4.7.6 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Paraquat	65
4.7.7 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Paraquat.....	65
4.7.8 Determinação de Paraquat em amostras da represa da UFSCar.....	66
4.8.1 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Paraquat por voltametria de pulso diferencial.....	68
4.8.1.1 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial	68
4.8.2 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Paraquat por voltametria de onda quadrada.....	70
4.8.2.1 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada	71
4.8.3 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Paraquat utilizando o minissensor/BiFE	72
4.8.4 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do minissensor/BiFE para determinação de Paraquat.....	73
4.8.5 Determinação de Paraquat em amostras da represa da UFSCar.....	74
4.8.6 Comparação do BiFE e minissensor/BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura.....	75
5. CONCLUSÕES	78
6. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	81
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

Capítulo 1

Introdução

1. Introdução

1.1 Filme de bismuto

Os eletrodos de mercúrio apresentam um comportamento eletroquímico bem conhecido e definido, com elevado sobrepotencial de hidrogênio, boa estabilidade, reprodutibilidade e sensibilidade nas determinações de cátions metálicos¹. Porém, devido à alta toxicidade do mercúrio, há uma continua busca para substituir estes eletrodos por outros materiais de menor toxicidade¹⁻³. Desta maneira, vários materiais vêm sendo investigados para serem aplicados como eletrodos para substituir os eletrodos baseados em mercúrio, tais como cobre, ouro, irídio, compósitos a base de carbono, entre outros. Estes materiais devem apresentar um desempenho melhor ou semelhante ao eletrodo de mercúrio para que seja possível a sua substituição^{2,4}. Assim, a procura por novos materiais conduziram ao desenvolvimento de eletrodos de filme de bismuto (BiFE) os quais apresentam como principais características: uma boa janela catódica de potencial, menor interferência do oxigênio dissolvido, menor toxicidade perante ao mercúrio e apresenta um comportamento similar aos eletrodos que tem como base o mercúrio.

Os primeiros trabalhos publicados utilizando eletrodos modificados com bismuto foram apresentados nos artigos publicados em 2002 de maneira distinta por Vytras e colaboradores⁵ e Pauliukaite e colaboradores⁶ que determinaram Cd(II) e Pb(II) com o eletrodo de pasta de carbono modificado com Bi₂O₃. Desta maneira iniciou-se o uso do bismuto para substituir os eletrodos a base de mercúrio.

Wang e colaboradores² foram os primeiros a utilizar o filme de bismuto (BiFE) em substituição ao eletrodo de mercúrio. Neste trabalho o filme de bismuto foi eletrodepositado *in situ* sobre a superfície de um eletrodo de carbono vítreo para a determinação de Pb(II) e Cd(II) por voltametria de redissolução apresentando limites de detecção de 1,1 µg L⁻¹ e 0,3 µg L⁻¹ para Pb e Cd, respectivamente.

Os primeiros estudos sobre o substrato no qual o filme de bismuto era depositado foram realizados por Królicka e colaboradores⁷⁻⁸ no qual o filme de bismuto era depositado *ex situ* sobre o carbono vítreo e os mesmos também desenvolveram um sensor à pasta de carbono modificado com Bi₂O. Após o estudo do modo de preparo do filme os autores determinaram cobalto(II) em amostras de água apresentando boa linearidade de 20 a 200 µg L⁻¹ de Co(II) com coeficiente de correlação de 0,9985 e limite de detecção de 0,07 µg L⁻¹.

Kefala e colaboradores⁹ estudaram diferentes formas de eletrodeposição do bismuto em diferentes substratos mostrando desta maneira que o substrato exerce influência na resposta analítica do filme. Estes pesquisadores estudaram também a presença do surfactante TRITON X-100[®] em conjunto com o eletrólito suporte para a determinação de zinco obtendo-se assim uma melhor resolução do sinal analítico para a determinação dos cátions Cd^{2+} , Pb^{2+} e Zn^{2+} .

Hutton e colaboradores¹⁰ desenvolveram um microeletrodo de filme de bismuto para análises de Pb(II) , Cd(II) , Co(II) e Ni(II) . Com a utilização do eletrodo proposto obtiveram um aumento na sensibilidade para esses metais frente ao microeletrodo de filme de mercúrio. Neste trabalho adicionaram-se íons brometo à solução de eletrodeposição do bismuto promovendo a formação de um filme mais homogêneo e aderente.

Legeai e Vittori^{4,11} foram os primeiros a utilizar o cobre como substrato para deposição do filme de bismuto e para uma melhor aderência estes autores modificaram a superfície do substrato com filme de Nafion. Este procedimento apresentou uma melhora na resposta analítica para os íons Cd(II) e Pb(II) em amostras de água e extratos de algas respectivamente, apresentando limites de detecção de $0,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,1 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e Pb.

Estudos apontam o bom desempenho analítico do BiFE para a determinação de níquel¹² com a resposta analítica similar ao eletrodo de gota pendente de mercúrio, apresentando limite de detecção de $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Charalambous e Economou¹³ realizaram um trabalho para demonstrar a utilidade do BiFE na determinação de índio na presença de cádmio e chumbo por voltametria de onda quadrada anódica em amostras de água potável. Houve uma separação satisfatória dos picos, determinando concentrações dos cátions metálicos.

Wang e Lu¹⁴ também compararam o eletrodo de filme de bismuto com o de filme de mercúrio para a determinação de níquel com dimetilglioxima conseguindo uma faixa linear de 5 a $80 \mu\text{g L}^{-1}$ e um desvio padrão de $1,8\%$, constatando uma melhora significativa perante o eletrodo de mercúrio. Outros trabalhos foram realizados utilizando o BiFE para a determinação de íons metálicos em diversas matrizes^{9,15}, pode-se citar o de Guo e colaboradores¹⁶ que determinaram Zn(II) em milkvetch, uma planta utilizada na China para uso terapêutico apresentando recuperações entre 96 a 102% .

Zhang e colaboradores¹⁷ utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de bismuto para a determinação de bactérias *Escherichia coli*, utilizando a técnica de amperometria acoplada a um sistema de injeção em fluxo para monitoramento do 4-nitrofenol, um subproduto formado pela hidrólise da β -D-glucuronidase produzida pela bactéria.

A influência da eletrodeposição na morfologia e desempenho eletroanalítico do BiFE sobre eletrodo de cobre foi estudado por Nunes e Faria. Os filmes de bismuto foram obtidos em HNO_3 e HCl na presença ou ausência de citrato de sódio e caracterizados por FEG-SEM e SEM-EDX. O BiFE apresentou em meio de HCl e de citrato de sódio boa aderência e uma estrutura homogênea. Após o estudo de formação e caracterização do filme, este foi utilizado na determinação de Pb(II) ¹⁸.

1.2 Eletrodos Impressos

O desenvolvimento de sensores vem crescendo muito nos últimos anos, sempre buscando baixo custo, robustez e facilidade de modificação, requisitos importantes para o desenvolvimento de versões comercializáveis. No entanto, a regeneração da superfície após o uso é o maior entrave para o desenvolvimento desses sensores.

Inúmeras soluções para este problema estão em desenvolvimento, entre elas o emprego de sensores descartáveis que vem sendo muito investigado, eliminando assim a necessidade de regeneração da superfície, além de conseguir manter uma área para todos os eletrodos extremamente reprodutível. Dessa maneira, vem sendo empregada com grande sucesso a tecnologia “screen-printed” ou “silk-screen” para a fabricação desses eletrodos. O uso desta técnica possibilita a produção em massa de eletrodos a um custo extremamente baixo, com grande simplicidade, e pode ser praticada em qualquer laboratório, sendo assim apropriada para a produção de eletrodos descartáveis.

Os atrativos dos eletrodos impressos (EI), é a possibilidade de total automação na fabricação de um sistema completo contendo os eletrodos de trabalho, auxiliar e referência, todos impressos no mesmo suporte. Esta característica associada à simplicidade de elaboração e às inúmeras possibilidades de modificação dos EI prometem colocar a técnica numa posição privilegiada entre as demais, sendo possivelmente aplicável em caráter industrial.

Os eletrodos impressos são produzidos imprimindo diferentes tintas em vários tipos de substratos como plásticos, cerâmicas e filmes metálicos sobre superfície não condutora. As telas de poliéster são geralmente usadas para imprimir com padrões projetados. A composição do vários tipos de tintas usadas para imprimir nos eletrodos determina a seletividade e sensibilidade que se requer para cada análise¹⁹.

A grande versatilidade apresentada pelos EIs está na variedade de modos nos quais os eletrodos podem ser modificados. A composição das tintas de impressão pode ser alterada pela adição de diferentes substâncias como metais, enzimas, polímero, agentes de complexação e outros. Por outro lado, existe a possibilidade de modificar os eletrodos fabricados, por meio da deposição na superfície dos eletrodos como filmes de metal, polímero, enzimas etc²⁰⁻²¹.

Os EIs de carbono (EICs) foram aplicados para a determinação de metais. Honeychurch e colaboradores²² propuseram um método para a determinação de Pb(II) em amostras de água através de voltametria anódica de pulso diferencial, com um limite de detecção de $2,5 \text{ ng mL}^{-1}$ e o coeficiente de variação foi de 2,4% ($n = 5$). Semelhantemente, foi determinado Cu(II) em amostras de água e de soro bovino, com um limite de detecção de $8,2 \text{ ng mL}^{-1}$ ²³. Amostras de soluções fotográficas foram monitoradas para a determinação de Ag(I) usando voltametria de onda quadrada anódica para baixas concentrações do metal, e cronoamperometria para concentrações mais elevadas²⁴.

Embora a maioria do EICs seja fabricado com tintas de grafite, outros tipos de materiais estão sendo utilizados, como ouro e tintas de prata, para a análise e determinação de vários elementos. Assim, Lashi e colaboradores²⁵ fizeram a determinação de Pb(II) e de outros metais pesados, tais como, Hg(I) e Cd(II) em EI com filme de ouro utilizando voltametria de onda quadrada anódica obtendo-se limites de detecção de 0,5, 2,0 e $0,9 \text{ g L}^{-1}$ e desvio padrão relativo de 7, 12, e 14%, respectivamente para os íons citados acima.

Outros filmes de metais foram utilizados para a confecção de EICs como Au^0 , Ag^0 e Ni^0 para a determinação de vários analitos. Essa nova proposta veio como alternativa para o uso de filmes de Hg. Assim, Wang²⁶⁻²⁷ propôs um método para a análise de Pb(II) e Hg(I) em EICs com filmes de ouro obtendo respostas reprodutíveis para ambos os elementos.

Além de metais, outros analitos foram determinados usando EICs modificado. Deste modo, hidrazinas foram analisadas com eletrodos modificados com

fitalocianinas de cobalto que foi incorporada dentro das tintas de carbono²⁸. Com a eletrodeposição de hexacianoferrato de níquel sobre a superfície de um eletrodo de carbono foi possível a determinação de peróxido de hidrogênio²⁹.

1.3 Herbicidas e o meio ambiente

A Química Verde ou Green Chemistry³⁰ pode ser definida como a utilização de técnicas químicas e metodologias que reduzam ou eliminem o uso de solventes, reagentes ou a geração de produtos e subprodutos de alta toxicidade.

. A expansão da agricultura para as áreas de vegetação natural é indesejável, pois isto reduziria a biodiversidade do planeta. A manutenção ou a melhoria da produtividade dos cultivos nas atuais terras cultivadas seja aplicada a pequena propriedade ou em propriedades maiores, mostra-se, portanto, necessário.

Desta maneira surgem os pesticidas, substâncias químicas com o propósito de conseguir a eliminação e/ou o controle das pragas em ambientes que estas não sejam benéficas, os pesticidas podem ser classificados quanto ao seu alvo biológico, podendo ser:

- Acaricidas: para o controle de ácaros.
- Bactericidas: para o controle de bactérias.
- Fungicidas: para o controle de fungos.
- Herbicidas: para o controle de ervas daninhas.
- Inseticidas: para o controle de insetos.
- Nematicidas: para o controle de nematóides (vermes).
- Rodenticidas: para o controle de ratos e outros tipos de roedores.
- Moluscicidas: para o controle de moluscos.

O controle biológico das ervas daninhas é geralmente limitado e o controle mecânico é dificultoso mesmo utilizando maquinaria ou extremamente trabalhoso manualmente. Assim, o uso de herbicidas se tornou muito importante.

Diversas agências reguladoras (CONAMA resolução nº 357, de 17 de março de 2005³¹, Agência de proteção ambiental americana³² e Agência de proteção ambiental canadense³³) regulamentam sobre a presença de herbicidas nos corpos d'água, principalmente para aquelas consideradas como Classe 1 que podem ser destinadas a manter o consumo humano, após tratamento convencional ou avançado, à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca

amadora e à recreação de contato secundário. Os limites permitidos para os herbicidas são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração dos herbicidas em águas permitidos pelas diferentes agências reguladoras

Agência Reguladora	Pesticida	Limite permitido mg L ⁻¹	Limite permitido mol L ⁻¹
Americana	Atrazina	0,7	9,3 x 10 ⁻⁸
	Paraquat	0,02	5,5 x 10 ⁻⁷
	Diquat	0,2	1,8 x 10 ⁻⁸
Canadense	Atrazina	0,005	2,3 x 10 ⁻⁸
	Paraquat	0,07	1,9 x 10 ⁻⁷
	Diquat	0,01	3,8 x 10 ⁻⁸
Brasileira, de acordo com a CONAMA nº 357	Atrazina	0,002	9,3 x 10 ⁻⁹
	Paraquat	-	-
	Diquat	-	-

Na Figura 1 de acordo com o Sindag (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola) pode-se observar o uso de pesticidas no Brasil, seja o foco, a quantidade utilizada ou o custo em milhões US\$ anualmente gastos para sua aquisição.

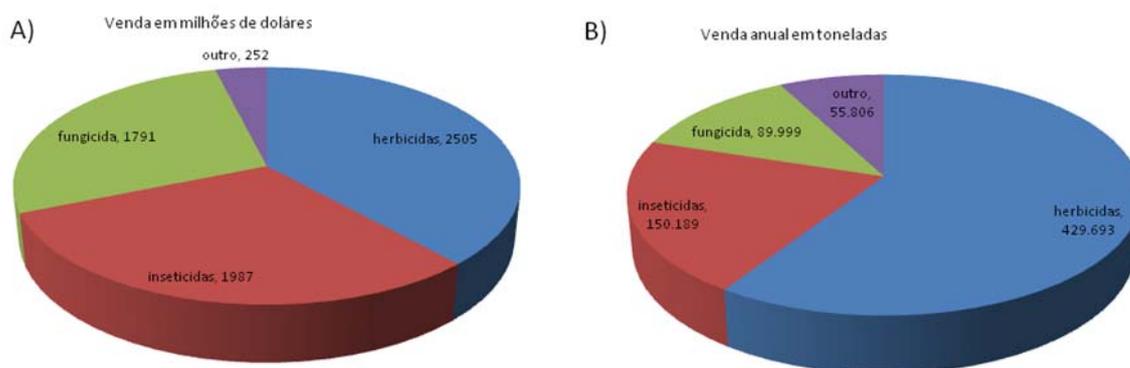


Figura 1 Gastos na aquisição de pesticidas em 2009 A) Venda anual em milhões de US\$ e B) Venda anual em toneladas

1.4 Atrazina

A Atrazina (2-cloro-4-etilenodiamino-6-isopropilamino-1,3,5-triazina) é um herbicida pertencente à classe das triazinas, é utilizada no controle de ervas daninhas, principalmente em culturas de milho, cana-de-açúcar e soja, pois apresenta uma ótima seletividade para o controle pré e pós-emergente de ervas de folhas largas. A Figura 2 representa a estrutura química da Atrazina³⁴⁻³⁵.

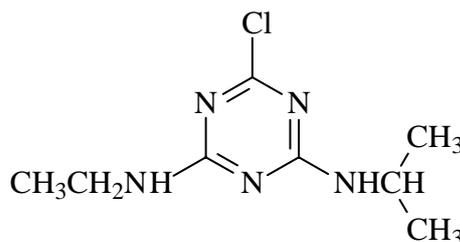


Figura 2 Fórmula estrutural da Atrazina

A Atrazina é um composto polar, fracamente básico e sua estabilidade pode ser explicada pela configuração eletrônica de seu anel heterocíclico. O potencial herbicida da Atrazina deve-se à sua ação na inibição da fotossíntese pela interrupção da reação de Hill. Sua biodisponibilidade em solos é governada essencialmente pelo equilíbrio dinâmico existente entre a solubilidade na fase aquosa e a capacidade adsortiva do composto no sistema coloidal do solo. Vários fatores direcionam a eficácia e reatividade da Atrazina, entretanto, muito pouco é conhecido sobre as interações e modificações decorrentes. Acredita-se que estes processos sejam governados pela solvatação, adsorção e degradação do herbicida no solo, agindo sobre a seletividade específica do herbicida³⁶.

1.4.1 Métodos analíticos para a determinação de Atrazina

Existem diversos relatos na literatura para a determinação de Atrazina por detecção espectrofotométrica³⁷⁻³⁹, fluorimétrica⁴⁰, cromatografia líquida de alta eficiência⁴¹⁻⁴⁶, eletroquímica⁴⁷⁻⁵⁵ e eletroforese capilar⁵⁶⁻⁵⁷.

Kesari e Gupta³⁷ propuseram um método espectrofotométrico para a determinação de Atrazina em várias amostras ambientais e biológicas, onde a

Atrazina reage com piridina e forma um haleto quaternário que soma um grupo de hidroxila na presença de álcali formando um carbinol. O heterociclíco reage com o carbinol resultando na formação de um dialdeído de glutacônico que subseqüentemente reage com p-aminoacetofenona formando um polimetil de coloração laranja-amarela que é monitorado no comprimento de onda de 470 nm. A linearidade observada ficou na faixa de 0,16 a 1,6 ppm de Atrazina. O método apresentou-se sensível e livre da interferência da maioria das espécies observadas nas amostras estudadas.

Rocha e colaboradores⁴¹ utilizaram a microextração em fase sólida junto com a espectrometria de massas para a determinação de vários pesticidas, entre eles a Atrazina em amostras de água. Após os estudos dos melhores parâmetros (tempo de extração 40 minutos e tempo de injeção de 15 minutos) eles obtiveram um limite de detecção de 0,25 mg L⁻¹ na determinação de Atrazina, sendo que com este estudo foi possível observar a contaminação da amostra com o herbicida.

1.4.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Atrazina

Dos Santos e colaboradores⁴⁹ apresentaram um método para a determinação de Atrazina em águas naturais por voltametria de onda quadrada usando um eletrodo de trabalho de gota pendente de mercúrio. O limite de detecção foi de 2 µg L⁻¹ com uma faixa linear entre 10 e 250 µg L⁻¹ em tampão Britton-Robinson, pH 1,9. As recuperações de Atrazina ficaram entre 92 e 116 %.

Maleki e colaboradores⁴⁷ também utilizaram um eletrodo a base de mercúrio para determinação de Atrazina, porém eletrodepositaram *in situ* o filme de mercúrio na presença de tiocianato. Após analisarem os parâmetros da voltametria adsortiva de onda quadrada os autores obtiveram uma linearidade na faixa de concentração de 0,5 a 60 µg L⁻¹, com um limite de detecção de 0,024 µg L⁻¹.

Um método condutométrico utilizando um biossensor de tirosinase para a determinação de Atrazina e outros pesticidas foi proposto por Anh e colaboradores⁵³. Neste biossensor a tirosinase foi imobilizada empregando-se glutaraldeído por 30 minutos. A determinação foi feita pela diminuição da atividade da enzima antes e

depois de contato com o analito. O limite de detecção foi de aproximadamente 1,0 ppb e a curva analítica foi linear no intervalo de 2,15 a 2150 ppb de Atrazina.

1.5 Diquat

Diquat (1,1'-etileno-2,2'-bipiridina-dibrometo) é um herbicida de contato rápido e eficiente. Na sua maioria é utilizado no controle de ervas daninhas e também na dessecação de vários tipos de cultura entre elas a soja e o trigo. A sua atividade baseia-se na formação de radicais que provocam a peroxidação de lipídios e danos nas membranas celulares da planta podendo assim promover a dessecação das plantas em um curto espaço de tempo⁵⁸⁻⁵⁹.

Este herbicida foi introduzido no mercado pela Imperial Chemical Industries em 1958, ele é comercializado como pó ou como solução 50% em água com agentes ativadores de superfície. Desta maneira, está entre o mais usado pesticida para controle de erva daninha, quando é libertado no meio ambiente o Diquat adere de maneira rápida e eficiente⁶⁰. Na Figura 3 pode-se observar a fórmula estrutural do Diquat

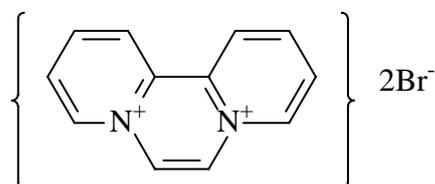


Figura 3 Fórmula estrutural do Diquat

A exposição prolongada ao Diquat acarreta em diversos problemas a saúde podendo produzir pequenas irritações na boca, pele e vias respiratórias, a exposição por longos períodos pode causar tosse crônica, dor no tórax e hemorragias nasais. O envenenando através de Diquat pode causar falência renal aguda, danos ao fígado, dificuldades respiratórias e em caso mais graves hemorragias cerebrais.

1.5.1 Métodos analíticos para a determinação de Diquat

Diversos procedimentos são encontrados na literatura para a determinação de Diquat tais como, espectrofotométrica⁶¹⁻⁶³, eletroquímica⁶⁴⁻⁶⁹, eletroforese capilar⁷⁰⁻⁷¹

e por cromatografia líquida de alta eficiência⁷²⁻⁷³. A seguir são descritos alguns trabalhos de maior relevância para a determinação de Diquat utilizando as técnicas anteriormente citadas.

Um método para a determinação do herbicida Diquat em amostras de herbicidas comerciais, águas, batatas, flores, terras, soro e urina foi proposto por Perez-Ruiz e colaboradores⁶³, neste procedimento os autores estudaram a formação de um radical estável obtida por redução de Diquat com hidrossulfito de sódio, obtiveram uma relação linear entre concentração de Diquat e intensidade de fluorescência entre 0,13 a 7,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Um método utilizando análise por injeção em fluxo foi descrita por López-Paz e colaboradores⁶¹ para a determinação de Diquat baseada na reação quimiluminescente com o ferricianeto em meio básico a temperatura de 70 °C. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de 10-600 ng mL^{-1} e limite de detecção de 2 ng mL^{-1} . O método foi aplicado na determinação de Diquat em produtos comerciais.

Pateiro-Moure e colaboradores⁷³ propuseram um procedimento utilizando HPLC para a determinação de Diquat em amostras de solo através de digestão por microondas e posterior detecção no UV em 310 nm e por GC/MS, obtiveram uma linearidade de 20 a 1000 e de 10 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ e um desvio padrão de 6,1% e 4,6% respectivamente.

1.5.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Diquat

O comportamento voltamétrico do Diquat foi estudado em meio aquoso por Melo e colaboradores⁶⁴ utilizando o eletrodo baseado em amálgama dental (utilizada em restauração odontológica) em amostras de águas e de batata. Para realizar este procedimento os autores utilizaram a voltametria de onda quadrada sendo a análise referente aos dois picos de redução do Diquat. Através dos melhores parâmetros definidos obtiveram uma linearidade de $4,96 \times 10^{-7}$ a $5,66 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $2,9 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. O procedimento proposto foi comparado à cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV-vis onde os autores conseguiram recuperações de 70 a 130%.

Um método voltamétrico utilizando ferramentas quimiométricas, como a PLS, Diaz e colaboradores⁶⁵ desenvolveram um procedimento para a determinação da oxidação de Diquat na presença ou não de Paraquat, para tanto os autores utilizaram a voltametria de onda quadrada e de pulso diferencial, obtendo para ambas as técnicas uma curva analítica na região de 0,5 a 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Lu e Sun⁶⁶ propuseram um método baseado na voltametria de pulso diferencial utilizando o eletrodo de carbono vítreo com filme de Nafion[®]. Para obterem uma melhora no sinal analítico, promoveram a pré-concentração do analito durante 4 minutos em meio de permanganato de potássio 0,001 mol L⁻¹, desta maneira, o método apresentou uma boa sensibilidade e um intervalo de concentração de $3,0 \times 10^{-9}$ a $4,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹.

Walcarius e Lamberts⁶⁷ utilizaram o eletrodo de gota de mercúrio estática para a determinação de Diquat em amostras de águas e de batatas. A absorção do herbicida foi feita progressivamente por difusão controlada. Após os estudos de parâmetros a medida da variação de corrente permitiu a determinação em uma faixa linear de $5,0 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $1,5 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

1.6 Paraquat

O Paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-bipiridina-dicloreto), na forma reduzida, forma um composto de cor azul ou violeta. Suas propriedades como pesticida foram avaliadas em 1958 e alguns anos depois foi introduzido comercialmente com o nome de Paraquat⁷⁴. A Figura 4 representa a sua fórmula estrutural.

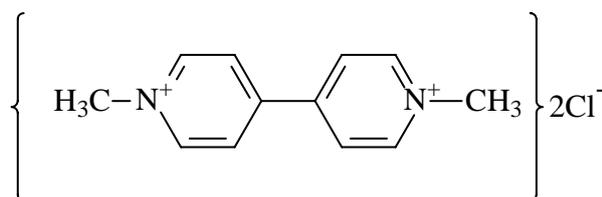


Figura 4 Fórmula estrutural do Paraquat

O Paraquat é extremamente tóxico, podendo causar intoxicações fatais em seres humanos e animais. No homem, ele pode ser reduzido pela enzima NADPH (fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo)- citocromo P450 redutase, com a transferência de um elétron, formando o radical Paraquat⁷⁵. Este, por sua vez, em presença de oxigênio oxida-se rapidamente produzindo um ânion radical superóxido

e regenerando o Paraquat. Desta maneira, ciclos repetidos de redução e re-oxidação do herbicida podem ocorrer gerando uma grande quantidade de espécies de oxigênio reduzido que levam o organismo ao stress oxidativo ou à peroxidação de gorduras.

A intoxicação mais grave provocada por Paraquat é a das vias respiratórias. Porém, os casos de intoxicação por inalação são raros⁷⁶⁻⁷⁷. Edema pulmonar agudo e dano pulmonar podem acontecer dentro de algumas horas de exposições severas⁷⁸⁻⁷⁹ causando em sua maioria fibrose pulmonar, o que leva, geralmente, à morte entre 7-14 dias depois da inalação⁸⁰.

1.6.1 Métodos analíticos para a determinação de Paraquat

Alguns métodos são descritos na literatura para a determinação de Paraquat por detecção espectrofotométrica⁸¹⁻⁸³, fluorimétrica⁸⁴⁻⁸⁶, e HPLC^{72,87-89}. Entretanto, alguns desses procedimentos são de alto custo, enquanto outros são trabalhosos e/ou requerem profissionais com boa capacitação, pois envolvem diversas etapas analíticas.

Infante e colaboradores⁸¹ propuseram um sistema em fluxo utilizando micro-bombas solenóides para a determinação de Paraquat em águas naturais. O procedimento envolvia a reação do herbicida com ácido ascórbico. Obtiveram uma resposta linear na faixa de 0,10 a 5,0 mg L⁻¹, uma frequência de amostragem 63 determinações por hora, com um desvio padrão relativo de 1,0% a um nível de confiança de 95%.

Uma nova proposta espectrofotométrica para a determinação de Paraquat em amostras humanas, como sangue, urina e o leite materno foi desenvolvida por Rai e colaboradores⁸². Este método é baseado na redução do pesticida pelo borohidreto de sódio em meio alcalino obtendo-se assim um íon azul monitorado espectrofotometricamente em 600 nm. Obtiveram uma faixa linear de 0,05 a 0,5 µg mL⁻¹ de Paraquat. O método não apresentou interferência de outros pesticidas geralmente usados em conjunto com o analito de interesse.

Um método cinético fluorimétrico foi proposto por Sendra e colaboradores⁸⁴. A reação entre o herbicida, ácido ascórbico, Violeta de Cresyl em meio alcalino e na presença de dodecilssulfato de sódio foi aplicada ao desenvolvimento de um

sistema. A frequência de amostragem foi de 120 determinações por hora, com uma faixa linear de 6 a 500 ng mL⁻¹ e o limite de detecção foi de 1,8 ng mL⁻¹ com um desvio padrão menor do que 3%. O método proposto foi aplicado para determinação de Paraquat em água potável, leite e vinho branco com recuperações entre 89-104%.

Ito e colaboradores⁸⁸ propuseram um método cromatográfico simples e rápido utilizando uma coluna de octadecilsilano para a determinação de Paraquat e Diquat em sangue, as amostras de soro desproteínizado foram introduzidas diretamente em HPLC. Desta maneira os autores obtiveram uma curva de calibração de Paraquat e Diquat utilizando a determinação espectrofométrica em 290 nm, com uma faixa linear entre 0,1 a 10,0 mg mL⁻¹, com limite de detecção de 0,05 mg mL⁻¹, enquanto o RSD obtido foi 4,52% e o tempo para a análise de Paraquat foi menor que 30 min, podendo assim ser aplicado em caso de envenenamento e com uma pronta resposta para um possível tratamento.

1.6.2 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Paraquat

Diversos procedimentos são encontrados na literatura para a determinação eletroquímica de Paraquat^{68-69,90-98}. A seguir são descritos alguns trabalhos de maior relevância para a determinação de Paraquat.

El Mhammedi e colaboradores⁹⁰ propuseram um método voltamétrico de onda quadrada para a determinação de Paraquat utilizando eletrodo de pasta de carbono modificado com fosfato. A redução do herbicida foi observada em torno de -0,7 V e -1,0 V. Obtiveram uma resposta linear entre $2,3 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ a $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. O limite de detecção foi de aproximadamente de $7,8 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹ com um RDS de 1,8% (n = 7).

Outro método analítico foi proposto por Lopes e colaboradores⁹³ para a determinação de Paraquat em amostras de água potável. Neste trabalho os autores observaram que o uso do eletrodo de grafite pirolítico modificado com diferentes metalofitalocianinas. O estudo foi realizado por voltametria de onda quadrada, empregando fitalocianinas de cobalto, ferro, manganês e a forma ácida das fitalocianinas. Os estudos indicaram que o eletrodo modificado com fitalocianina de cobalto apresentou uma melhor resposta ao analito de interesse, obtendo-se uma

faixa linear de $5,00 \times 10^{-7}$ a $2,91 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de 26,53 µg L⁻¹.

Alvarez e colaboradores⁹⁷ propuseram um procedimento utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado quimicamente com resina Amberlite XAD-2 para a determinação de Paraquat por voltametria de redissolução catódica em águas naturais. Foram estudados para o desenvolvimento deste procedimento todos os parâmetros relacionados a técnica, obtendo-se um limite de detecção de 0,1 µg mL⁻¹.

A determinação de Paraquat através de microeletrodos de ouro foi proposto por Souza e Machado⁶⁹ utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, a linearidade obtida foi abaixo do limite permitido pelas agências reguladoras para amostras de águas superficiais, sendo que o limite de detecção foi de $1,8 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ com RDS de 1,2%. Neste trabalho foram analisadas amostras de três diferentes pontos do Rio Mogi-Guaçu, onde estas amostras apresentaram uma recuperação entre 89,5 e 95,0 %. Outro método foi proposto por Souza e colaboradores⁶⁸ utilizando microeletrodos de ouro, contudo a técnica utilizada foi a voltametria de múltiplos pulsos que propiciou uma linearidade de $5,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $2,4 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹.

Capítulo 2

Objetivos

2.Objetivos

O objetivo deste trabalho foi de desenvolver um método para a construção de eletrodos impressos descartáveis (minissensor) empregando-se como substrato cobre proveniente de placas utilizadas em circuitos impressos e depósito de filme de bismuto eletroquimicamente como eletrodo de trabalho e estudar as melhores condições experimentais para a sua aplicação na determinação *in loco* dos herbicidas Atrazina, Diquat e Paraquat em águas naturais.

Capítulo 3

Parte Experimental

3. Parte Experimental

3.1 Instrumentação

3.1.1 pHmetro e eletrodo combinado de vidro

As medidas de pH das soluções foram realizadas utilizando-se um pHmetro digital ORION, modelo EA 940, acoplado a um eletrodo combinado de vidro, com um eletrodo de referência interno de Ag/AgCl, contendo uma solução de KCl 3,0 mol L⁻¹.

3.1.2. Medidas eletroanalíticas

As medidas eletroanalíticas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Palm Sens (Palm Instruments BV) gerenciado pelo programa computacional Palm Sens PC.

3.1.3 Morfologia

A superfície dos eletrodos de filme de bismuto foi analisada por microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV), utilizando um equipamento modelo FEG XL30 da Phillips.

3.1.4. Célula eletroquímica

Para os experimentos eletroquímicos utilizando o BiFE sobre substrato de cobre foi empregada uma célula de compartimento único de 15 mL, confeccionada em vidro borossilicato, sempre adicionando uma alíquota de 5 mL de eletrólito suporte para a realização das medidas eletroquímicas.

Nas medidas voltamétricas utilizando o minissensor construiu-se uma célula eletroquímica como mostrada na Figura 5. Nesta construção foi considerada a diminuição de custos para as determinações, sendo empregados tubos de tinta

guache de 5 mL. Após a limpeza do tubo, realizou-se um corte na tampa do mesmo para que pudesse ser fixada a conexão do minissensor com o potenciostato.

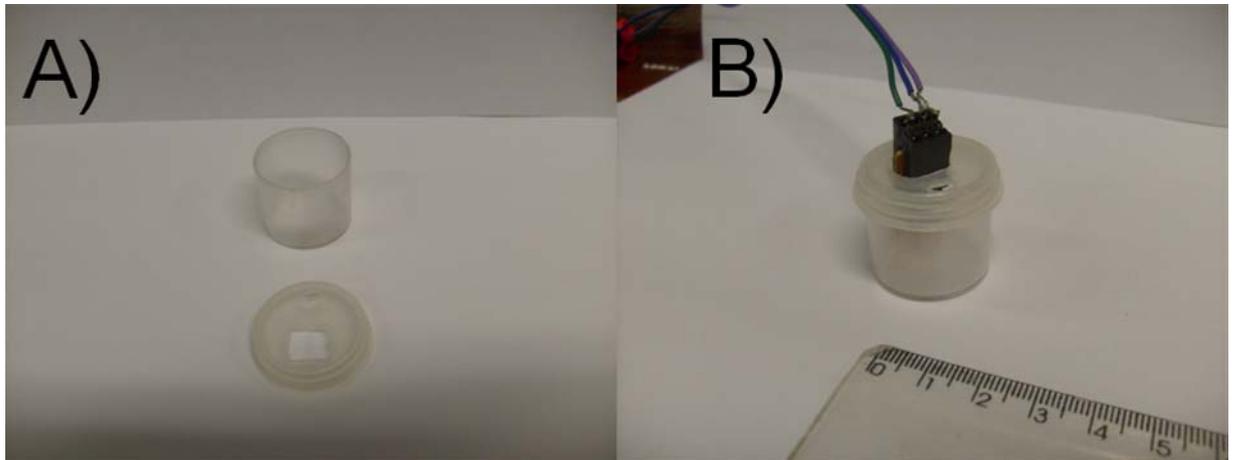


Figura 5 Em A) célula eletroquímica construída com materiais de baixo custo e B) Conjunto para análise: conector, minissensor e célula eletroquímica.

3.1.5. Eletrodos

Utilizou-se um sistema de três eletrodos, sendo que, o eletrodo de trabalho foi o eletrodo de filme de bismuto, um eletrodo de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e outro de platina como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente.

3.2 Construção dos eletrodos

3.2.1 Eletrodo de cobre recoberto com filme de bismuto

Um fio de cobre de dimensões 4,0 mm de diâmetro por 95,0 mm de comprimento foi inserido em um tubo de vidro de 6,0 mm de diâmetro e 80,0 mm de comprimento. Para preenchimento, adicionou-se resina epóxi (SILAEX) ao tubo de vidro com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. Para o processo de cura esperou-se 24 horas. A superfície para eletrodeposição do bismuto apresentou uma área geométrica de $12,6 \text{ mm}^2$.

O tratamento mecânico consistiu de abrasão em lixa d'água 600 (SiC) utilizando uma politriz modelo APL-02 (Arotec), para eliminar o filme anterior da

superfície e expor o substrato. Então, o eletrodo foi lavado três vezes com etanol, antes de cada medida. O mesmo procedimento foi feito com água, para a retirada de possíveis partículas da superfície do eletrodo.

3.2.2 Eletrodeposição do Filme de Bismuto

Para a confecção do eletrodo proposto, depositou-se eletroquimicamente o filme de bismuto no substrato aplicando-se um potencial de $-0,18\text{ V vs. Ag/AgCl}$ ($\text{KCl } 3,0\text{ mol L}^{-1}$) durante 200 s em uma solução de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,02\text{ mol L}^{-1}$, $\text{HCl } 1,00\text{ mol L}^{-1}$ e citrato de sódio $0,15\text{ mol L}^{-1}$.

3.2.3 Construção do minissensor sobre placa de cobre

A primeira etapa a ser desenvolvida para a construção do minissensor é a projeção do arranjo dos eletrodos de forma que se defina a área a ser recoberta pelo bismuto (eletrodo de trabalho) e prata (pseudo-eletrodo de referência). O eletrodo auxiliar (contra eletrodo) utilizado foi o próprio cobre do substrato, uma vez que em potenciais negativos o mesmo pode não sofrer reações redox, podendo ser utilizado como tal.

Tendo como objetivo desenvolver um arranjo que pudesse ser facilmente reproduzido e que as áreas a serem recobertas pelo bismuto e pela cola de prata fossem também reprodutivas, optou-se por um arranjo que fosse impresso em impressora a laser, sobre papel decalque, para posterior transferência para a placa de cobre.

A Figura 6 mostra o arranjo de três eletrodos confeccionados no programa Corel Draw X4[®], e impressos em papel decalque antes da transferência térmica para a placa de circuito impresso de cobre para a construção do minissensor.

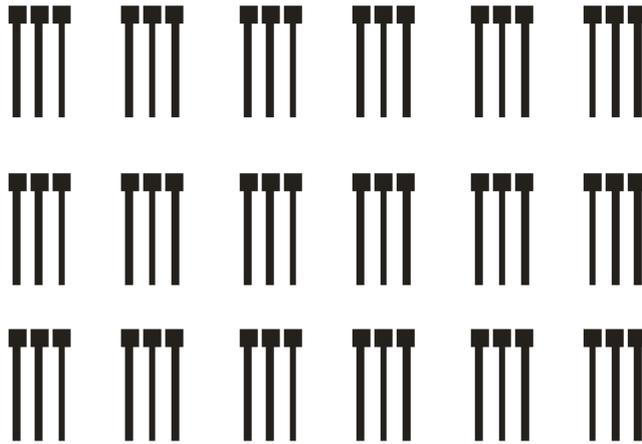


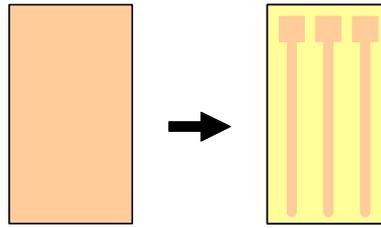
Figura 6 Sistema para impressão na construção dos três eletrodos do minissensor.

O diagrama esquemático abaixo mostra quais os passos realizados após a impressão do sistema, Desta maneira iniciou-se o processo de transferência do desenho dos minissensores para a placa de cobre. A etapa de transferência é feita seguindo-se as etapas descritas abaixo:

1. Impressão do desenho descrito na Figura 6 em papel decalque utilizando uma impressora HP Laser Jet 1300;
2. Limpeza da placa de cobre com água deionizada e posteriormente com acetona, para a eliminação de gordura;
3. Transferência do desenho para a placa por aquecimento a 120 °C durante 240 s com o auxílio de uma prensa térmica modelo PTM 30;
4. Remoção do cobre não recoberto pelo desenho através da imersão da placa em uma solução de cloreto férrico 0,50 mol L⁻¹ em meio de HCl 0,10 mol L⁻¹ durante 15-20 minutos.
5. Lavagem da placa com água deionizada e posteriormente com acetona para a remoção da tinta.
6. Recorte da placa para obtenção dos eletrodos utilizando uma mini retífica (Ferrari Modelo MR).

Depois de realizadas as etapas supracitadas têm-se o desenho mostrado na Figura 7 transferido para a placa de cobre que é então recortada para obter minissensores individuais. A partir daí, são realizadas as etapas de delimitação da área a ser recoberta com prata e bismuto.

Placa de cobre



Arranjo de eletrodos

Figura 7 A base do minissensor obtido após corrosão da placa de cobre.

A delimitação da área a ser recoberta pelo bismuto e cola de prata é feita de maneira bem simples. Observando-se o minissensor (Figura 7), nota-se na extremidade superior três quadrados com $4,0 \text{ mm}^2$ de área, seguidos cada um, com três trilhas de aproximadamente 20 mm de comprimento. Utilizando esmalte de unhas, que age aqui como um isolante elétrico, recobriu-se parte do sensor de modo que somente a área inferior apresentasse 10 mm com cobre exposto (para posterior contato elétrico entre o sensor e o potenciostato) e a parte inferior apresentasse os três quadrados com $4,0 \text{ mm}^2$ de área. Para que a aplicação do esmalte fosse feita de forma eficiente, as áreas que deveriam permanecer com cobre exposto foram recobertas com fita adesiva e só então foi aplicado o isolante.

A Figura 8 mostra o minissensor com aplicação do isolante elétrico, como citado anteriormente, delimitando as áreas a serem recobertas por cobre e cola de prata, como também o contato elétrico para conexão com o potenciostato.

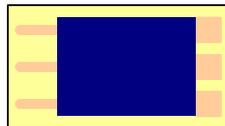


Figura 8 Minissensor pronto para a eletrodeposição de bismuto e aplicação da cola de prata.

3.2.4 Eletrodeposição de filme de bismuto para construção do eletrodo de trabalho no minissensor

A etapa de eletrodeposição do filme de bismuto foi realizada como descrito anteriormente. Para que a eletrodeposição ocorra em apenas uma das três áreas

ativas do minissensor, deve-se conectar somente a extremidade referente ao eletrodo de trabalho ao potenciostato. Desta forma, apesar das outras áreas estarem imersas na solução de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e HCl $1,00 \text{ mol L}^{-1}$, somente a extremidade onde se aplica o potencial de $-0,18 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ (KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$) durante 200 s será recoberta pelo filme de Bismuto.

3.2.5 Aplicação da cola de prata para a construção do eletrodo de pseudo-referência para o minissensor

A cola de prata (Electron Microscopy Sciences. Industry Road, Hatfield, PA.) utilizada é composta por duas substâncias, a Bright Silver Epoxy (BSE) e a Gray Silver Hardener (GSH). Para a preparação desta cola realizou-se a mistura e homogeneização do BSE e GSH, após a homogeneização efetuou-se a aplicação sobre uma das áreas delimitadas do substrato de cobre. Para que fosse mantida uma área constante para a aplicação da cola de prata, foi necessária a utilização de fita isolante. Após a aplicação na superfície de cobre esperou-se 24 horas para que a cola secasse. Esta foi à maneira mais simples e barata para a construção do eletrodo de referência a ser utilizado no minissensor proposto.

Após esta etapa, tem-se o minissensor pronto para a sua aplicação. A Figura 9 esquematiza todo o processo de obtenção do minissensor proposto.

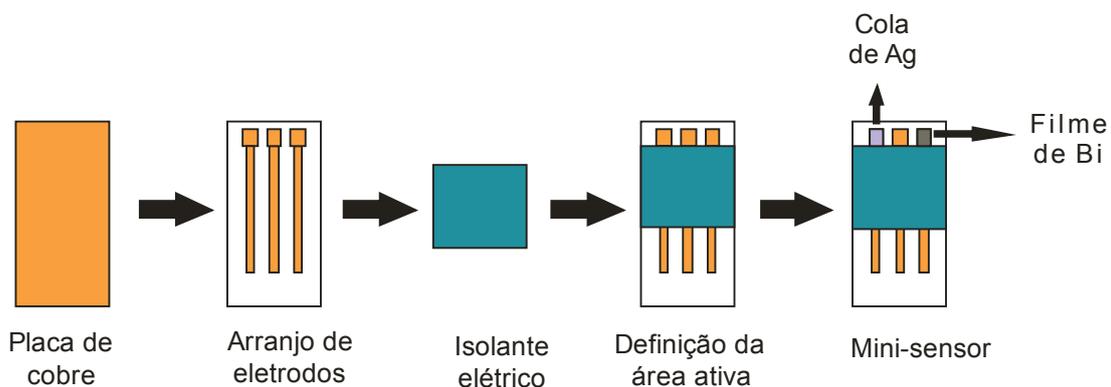


Figura 9 Síntese de todas as etapas de obtenção do minissensor proposto.

Para a conexão do minissensor com o potenciostato foi necessária a construção de um dispositivo que pudesse conectar o minissensor em uma das

extremidades e o potenciostato em outra. Este dispositivo necessitava ser suficientemente pequeno para que a proposta de construção de um sensor em miniatura continuasse sendo válida. Desta forma, utilizando-se de materiais baratos (conector de impressora tipo TT, bananas de contato e fio utilizados em confecções de circuitos) e de fácil acesso, construiu-se o dispositivo representado na Figura 10.

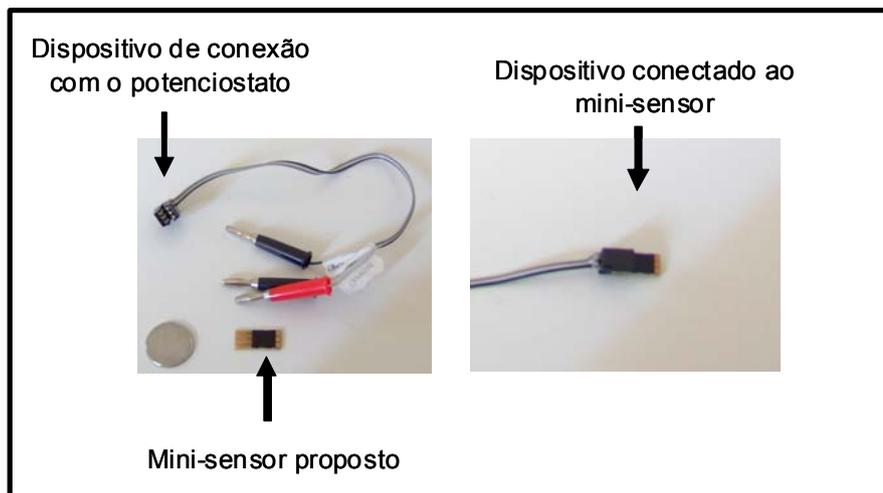


Figura 10 Fotografia do dispositivo de conexão do minissensor com o potenciostato.

3.3 Soluções Estoque

Pipetou-se uma alíquota de 8,35 mL de ácido clorídrico 37 % m/v (J.T.Baker) e diluiu-se em 100 mL de água deionizada para o preparo da solução padrão de HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, sendo em seguida padronizada com o padrão primário carbonato de sódio.

Para o preparo da solução estoque de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido acético pipetou-se 6,0 mL de ácido acético glacial (Synth) e diluiu-se em 100 mL de água deionizada, sendo padronizada posteriormente com o padrão primário carbonato de sódio.

Dissolveu-se uma massa de 0,820 g de acetato de sódio (Synth) em 100 mL de água deionizada, para o preparo de uma solução de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

A solução estoque de Atrazina foi preparada pela pesagem de uma massa de 0,0021 g do herbicida (Pestanal) e a dissolução desta em 150 μL de etanol e completou-se o volume até 1,0 mL com água deionizada para uma solução estoque $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

Para o preparo da solução estoque $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de Diquat pesou-se uma massa de 0,0036 g de Diquat (Pestanal) que, em seguida, foi dissolvida em água deionizada.

Dissolveu-se uma massa de 0,0026 g de Paraquat (Pestanal) em 1,0 mL de água deionizada para o preparo de uma solução de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

3.4 Amostras

Foram coletadas amostras de águas naturais da represa da UFSCar (sendo as coordenadas geográficas das amostras A1=21°59'08.88"S 47°52'43.21"W, A2=21°59'06.84"S 47°52'48.82"W, A3=21°59'08.97"S 47°52'57.24"W) na cidade de São Carlos, para que fossem analisadas tanto pelo método proposto quanto pelo método comparativo.

As análises das amostras foram realizadas empregando-se o método de adição de padrões. Inicialmente foram adicionados 20 μL da solução da amostra pré-concentrada na cela voltamétrica contendo 15 mL de eletrólito suporte para BiFE e 5 mL para a célula voltamétrica do minissensor para obtenção dos voltamogramas. Com auxílio de uma micropipeta foram adicionados volumes sucessivos da solução padrão dos herbicidas e registraram-se as variações de corrente para cada volume adicionado pela técnica que apresentou a melhor sensibilidade e melhor perfil voltamétrico.

3.4.1 Tratamento e pré-concentração

Após serem coletadas, as amostras foram filtradas e pré-concentradas, uma vez que os limites de detecção obtidos para a maioria das técnicas não alcançou os valores máximos permitidos pelas agências reguladoras. Assim, construiu-se uma coluna 10 cm de altura por 1 cm de diâmetro contendo alumina⁹⁹, a amostra foi pré-concentrada na coluna por 3 vezes para que todo o analito fosse retido. Em seguida, realizou-se a eluição do analito da coluna com uma única solução contendo 1% (v/v) de amônia e 0,05% (m/v) de hidróxido de sódio.

3.5 Métodos Comparativos

Dentre os métodos analíticos para a determinação dos pesticidas estudados nesta dissertação, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é mais comumente utilizada sendo portanto a técnica selecionada como método comparativo na determinação de Diquat e Paraquat.

Para a determinação de Diquat e Paraquat¹⁰⁰ foi utilizado um cromatografo modelo LC-10At Shimadzu com detector de UV-Vis modelo SPD-M10AVP e coluna Shim-Pack CLC-ODS (6.0 mm x 150 mm x 5 µm). A fase móvel utilizada para ambos os herbicidas foi NaCl 0,14 mol L⁻¹, pH 2,2 ajustado com HCl 1,0 mol L⁻¹ acetonitrila 80:20 (v/v) com vazão de 0,5 mL min⁻¹, comprimento de onda de 257nm para Diquat com um tempo de retenção de 3,1 minutos. Para o Paraquat utilizou-se uma vazão de 0,8 mL min⁻¹ para um comprimento de onda de 310 nm apresentou um tempo de retenção de 2,0 minutos.

No caso da Atrazina foi selecionada o método polarográfico por apresentar uma faixa linear bem próxima à obtida utilizando o BiFE e também tentando evitar a contaminação da coluna C18 utilizada no HPLC, uma vez que, alguns estudos indicam o uso de uma coluna modificada para evitar esse problema. Assim, um eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE)⁶⁴ acoplado ao potenciostato/galvanostato (Autolab, Eco Chemie, Holanda) com uma célula eletroquímica de 15 mL, eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) e como eletrodo auxiliar uma placa de platina foram empregados. A técnica utilizada foi a voltametria de onda quadrada, utilizando-se os seguintes parâmetros: frequência de 100 Hz, incremento de potencial de 2 mV, amplitude de pulso de 50 mV em solução tampão acetato (pH 4,5).

Capítulo 4

Resultados e

Discussão

4. Resultados e discussão

4.1 Estudo do processo redox do bismuto

É essencial o conhecimento dos processos de oxidação e redução do bismuto para se obter filme com características desejáveis como boa aderência e homogeneidade. A Figura 11 mostra o voltamograma cíclico obtido para uma solução de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte e o eletrodo de cobre como eletrodo de trabalho.

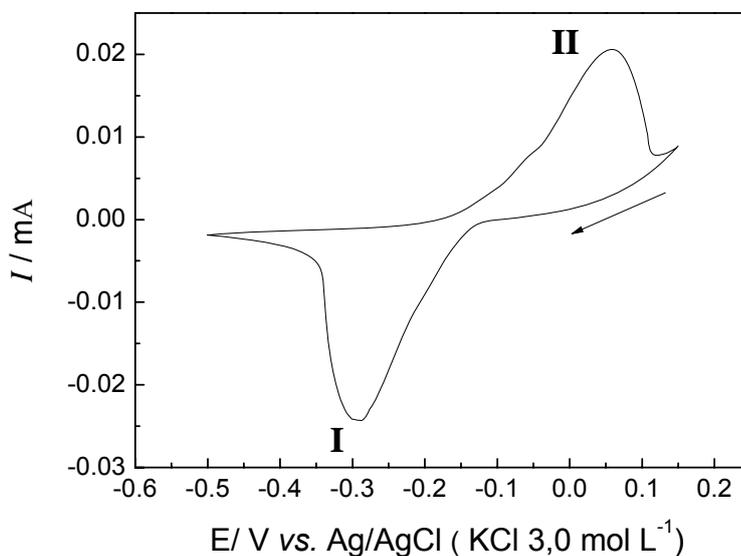


Figura 11 Ciclovoltamograma obtido em uma solução de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte e eletrodo de cobre como eletrodo de trabalho, velocidade de varredura 10 mV s^{-1} .

Como pode ser observado na Figura 11, um par redox referente à redução de Bi^{3+} a $\text{Bi}_{(s)}$ em $-0,30 \text{ V}$ (pico I) para uma varredura catódica e, na varredura no sentido inverso, a redissolução $\text{Bi}_{(s)}$ em $0,08 \text{ V}$ (pico II) foram obtidos. Com base nestes resultados, definiu-se o potencial limite para um eletrodo recoberto com bismuto de $-0,20 \text{ V}$ vs o eletrodo de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$), uma vez que para potenciais mais positivos ocorre a redissolução do filme de bismuto, inviabilizando assim a sua aplicação.

Outro parâmetro importante definido neste estudo foi o potencial de deposição do filme de bismuto sobre o substrato de cobre. Observou-se que a formação do filme pode ser obtida em valores de potenciais mais negativos que $-0,15 \text{ V}$.

4.2 Estudo da eletrodeposição do bismuto sobre cobre

Com base nos estudos ciclovoltamétricos do bismuto e estudos anteriores¹⁰¹, avaliou-se a influência do potencial de deposição no intervalo de -0,10 V a -0,60 V, fixando-se a concentração de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ em meio de HCl $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ e utilizando como aditivo citrato de sódio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$. Foi verificado em estudo anterior do nosso grupo de pesquisa¹⁰¹ que a adição deste aditivo faz-se necessária para uma boa aderência do filme sobre a superfície de cobre. Assim obteve-se a formação de um filme com aspecto homogêneo aplicando-se um potencial de -0,18 V durante 200 s, sendo esta condição fixada para a eletrodeposição do filme de bismuto. Para valores de potenciais mais positivos que -0,10 V não foi observado a formação do filme de Bi sobre o substrato, mesmo com tempos de deposição superiores a 600 s. Em valores de potenciais mais negativos que -0,18 V houve a formação de um filme com aspecto rugoso, provavelmente por um mal ordenamento do filme ocorrendo desta maneira dendritos por causa do potencial aplicado ser mais negativo do que o necessário, podendo assim forçar de maneira muito desordenada o crescimento do filme.

Com o potencial de deposição fixado em -0,18 V, avaliou-se a influência do tempo de deposição no intervalo de 30 a 500 s. Para tempos inferiores a 180 s, observou-se que não foi recoberta toda a área do eletrodo ($12,6 \text{ mm}^2$) e houve uma aderência muito baixa do filme ao substrato. Para tempos superiores a 250 s observou-se uma mudança significativa no aspecto visual do filme que apresentou uma superfície mais rugosa, contudo não houve mudança significativa na aderência sobre o substrato. Desta maneira, foi selecionado o tempo de 200 s para a eletrodeposição do filme de bismuto (BiFE).

4.3 Micrografias (FEG-SEM)

O filme de bismuto obtido através dos valores ótimos de potencial e tempo de deposição (-0,18 V durante 200 s para uma solução de deposição de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, HCl $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ e citrato de sódio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$) foi analisado por microscopia eletrônica de varredura de alta definição (FEG-SEM), o qual apresentou imagens onde pôde-se observar que todo o substrato foi recoberto com partículas de

bismuto (Figura 12 A). Como observado na Figura 12 B, as partículas apresentaram irregularidades e um tamanho de aproximadamente de 500 nm.

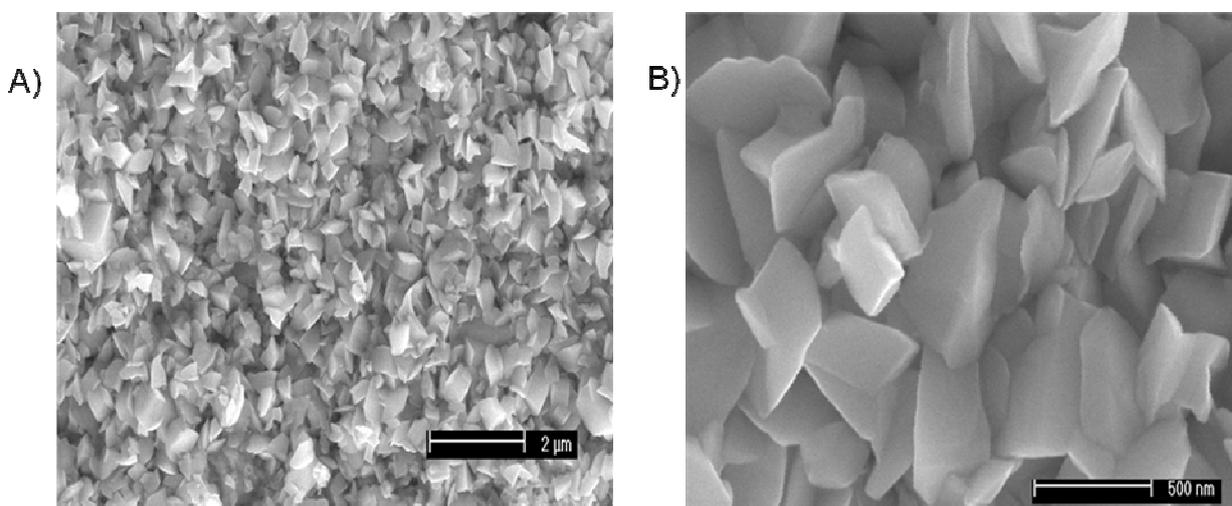


Figura 12 Micrografias de FEG-SEM do filme de bismuto em diferentes aproximações A) 10000x B) 50000x

4.4 Comportamento eletroquímico da Atrazina

O BiFE foi utilizado para a análise do comportamento eletroquímico da Atrazina. Para tanto, foi utilizada uma solução de concentração $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do pesticida para voltametria de pulso diferencial (utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH* 4,0 em meio etanólico (5 % v/v pH condicional), como eletrólito suporte tpére c. 210 s, velocidade de varredura 10 mV s^{-1} , amplitude de pulso 50 mV e tempo de pulso 30 ms).

O provável mecanismo proposto por dos Santos⁶⁸, pode ser observado na Figura 13 e envolve a protonação em meio ácido do anel porfirínico formando um radical instável que após receber dois elétrons se reduz. Nessa redução há saída de um átomo de cloro cloreto do anel porfirínico, formando um composto mais estável do que o radical anteriormente citado. Pode ser observado na Figura 14 que o voltamograma de pulso diferencial obtido utilizando o BiFE apresenta um pico de redução para Atrazina em $-0,89 \text{ V}$

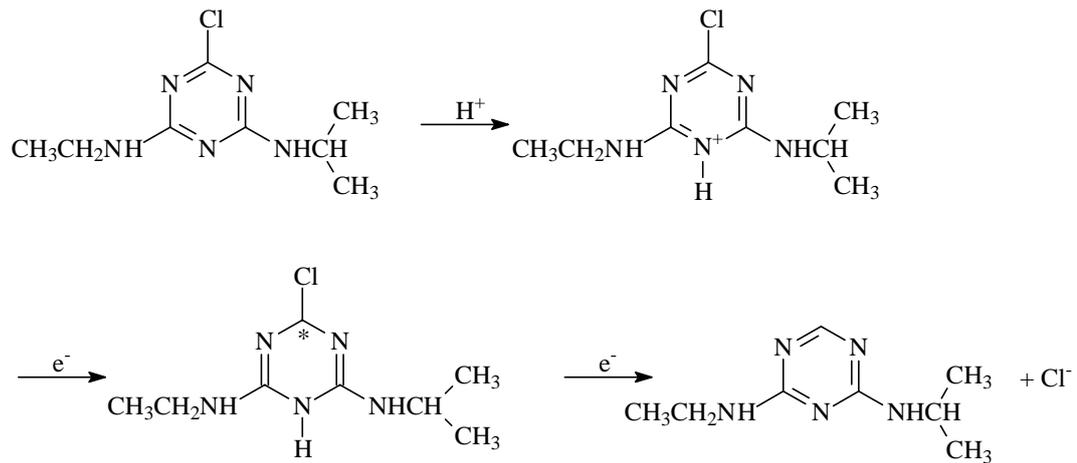


Figura 13 Reação de redução eletroquímica para a Atrazina.

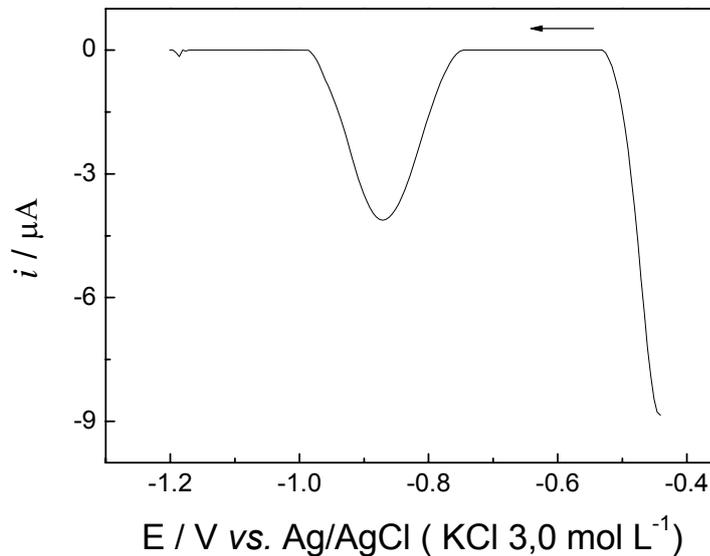


Figura 14 Voltamograma de pulso diferencial obtido utilizando BiFE para uma solução de Atrazina $4,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH *4,0 em meio etanólico (5 % v/v). * pH condicional

A Atrazina apresenta ótima solubilidade em metanol⁶⁸, contudo em busca de um solvente de baixa toxicidade, optou-se por utilizar etanol. Esse solvente, além de apresentar menor toxicidade que o metanol proporcionou a obtenção de resultados voltamétricos satisfatórios, apresentados a seguir. Assim, investigou-se o efeito da concentração de etanol na solução do eletrólito suporte (tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ *pH 4,5 (pH condicional), variando-se a concentração de etanol de 5 a 40 % v/v. Observou-se uma diferença nos valores de corrente de pico e nas suas respectivas

resoluções, sendo que para porcentagem de 15 % v/v de etanol obteve-se o maior sinal analítico e melhor resolução do pico.

A possível determinação da Atrazina foi avaliada utilizando as técnicas de voltametria de onda quadrada e a voltametria de pulso diferencial. Devido a possibilidade da cinética de a reação ser lenta na superfície do BiFE, não foi possível a análise utilizando a voltametria de onda quadrada, desta maneira avaliou-se os parâmetros experimentais relacionados a técnica DPV proposta.

4.4.1 Estudo da determinação de Atrazina por DPV com o eletrodo de filme de bismuto depositado sobre substrato de cobre

Foi utilizada a técnica de voltametria de pulso diferencial para a determinação de Atrazina. Assim, diversos parâmetros químicos e da técnica eletroanalítica como eletrólito suporte, pH, tempo de pré-concentração, incremento e amplitude de pulso e velocidade de varredura foram avaliados a fim de se obterem os melhores resultados em termos de reprodutibilidade e sensibilidade.

4.4.2 Estudo da influência do eletrólito suporte

Para o estudo do eletrólito suporte as seguintes soluções foram avaliadas contendo 15% v/v de etanol: ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹, ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹, tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ e tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹. A maior intensidade de corrente aliada ao melhor perfil voltamétrico foi obtido utilizando tampão acetato 0,1 mol L⁻¹. Após este estudo otimizou-se a concentração ótima do tampão e o seu pH*, sendo avaliadas concentrações de 0,01 mol L⁻¹ a 0,5 mol L⁻¹ e de valores de pH de 3,8 a 5,0. Assim, para os estudos posteriores, foi selecionado o tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ com pH* 4,5.

4.4.3 Estudo da influência do tempo de pré-concentração

Estudou-se a influência da variação do tempo de pré-concentração ($t_{pré}$) para uma solução de Atrazina $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, já que intensidade do sinal analítico é influenciada pelo mesmo, sendo os valores das correntes de pico obtidas nos diferentes tempos apresentados na Figura 15. A intensidade de corrente aumentou significativamente até o tempo de 210 s e a partir deste tempo a intensidade manteve-se praticamente constante. Sendo assim, para estudos posteriores foi selecionado 210 s, uma vez que se obteve um melhor perfil voltamétrico e um maior sinal analítico (maior razão sinal/ruído).

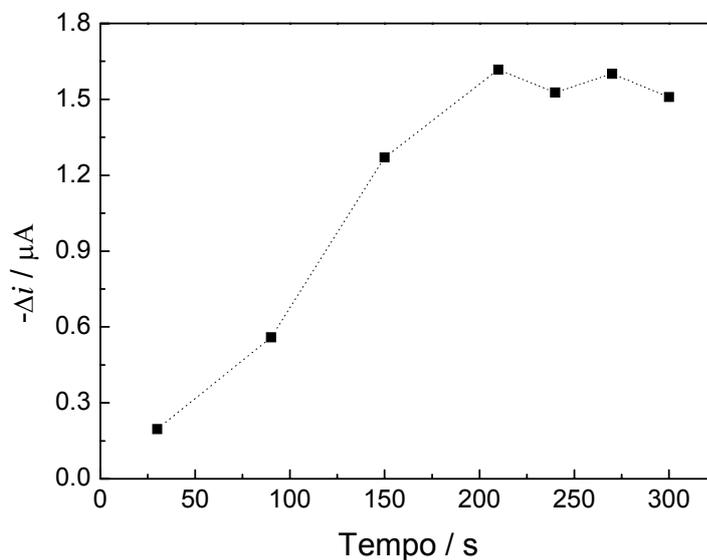


Figura 15 Variação da corrente de pico do BiFE em função do tempo de adsorção da Atrazina $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH* 4,5 como eletrólito suporte.

4.4.4 Estudo dos parâmetros químicos e os relacionados à técnica de voltametria de pulso diferencial

A resposta do BiFE foi avaliada empregando-se a técnica de voltametria de pulso diferencial. Diversos parâmetros, tais como tempo de pulso, amplitude de pulso e velocidade de varredura de potencial foram avaliados a fim de se obter os melhores resultados em termos de reprodutibilidade e sensibilidade.

A Tabela 2 apresenta os parâmetros avaliados na otimização da resposta para Atrazina sobre BiFE empregando a voltametria de pulso diferencial.

Tabela 2. Parâmetros experimentais para BiFE na determinação de Atrazina

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Eletrólito suporte em 15 % de etanol	HCl, H ₂ SO ₄ , tampão acetato, tampão fosfato	tampão acetato
Concentração do tampão acetato (mol L ⁻¹)	0,01 a 0,5	0,1
pH do tampão acetato*	3,8 a 5,5	4,5
Porcentagem de etanol	5 a 40	15
Tempo de pré-concentração. (s)	30 a 300	210
Amplitude α (mV)	5 a 150	100
Tempo de pulso t (ms)	10 a 50	40
Velocidade de varredura de potencial v (mV s ⁻¹)	2,5 a 25	10

4.4.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial

Uma vez definida as melhores condições de trabalho (valores apresentados na Tabela 2) para a determinação de Atrazina utilizando o BiFE realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -1,30 a - 0,80 V vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹). A Figura 16 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica descontando o branco das medidas realizadas, utilizando-se as concentrações da Atrazina de $6,6 \times 10^{-7}$ (1), $1,3 \times 10^{-6}$ (2), $5,3 \times 10^{-6}$ (3), $7,9 \times 10^{-6}$ (4), $1,3 \times 10^{-5}$ (5), $1,7 \times 10^{-5}$ (6), e $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (7).

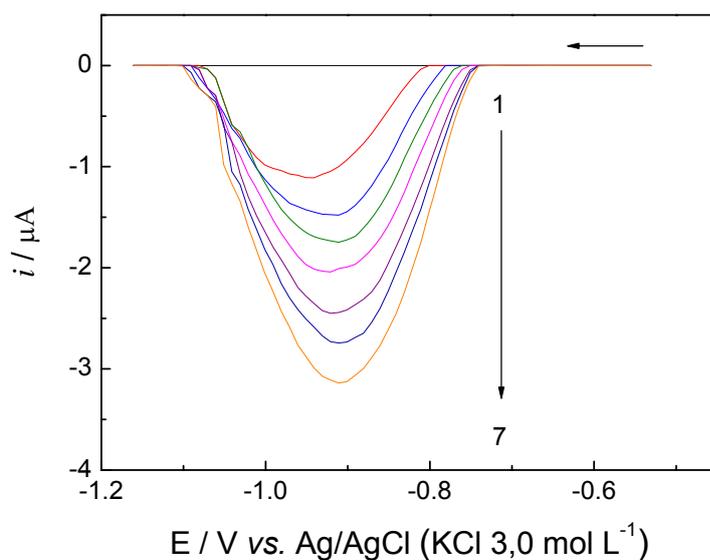


Figura 16 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica utilizando BiFE para a determinação de Atrazina utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH *4,5 em meio etanólico (15 % v/v), como eletrólito suporte tpré $c.= 210 \text{ s}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $\alpha = 100 \text{ mV}$ e $t = 40 \text{ ms}$.

A Figura 17 mostra a curva analítica obtida para a Atrazina. A equação da curva é $\Delta ipc \text{ (A)} = 1,2 \times 10^{-6} + 9,5 \times 10^{-2} [\text{Atrazina}] \text{ (mol L}^{-1}\text{)}$, $r = 0,992$, com limite de detecção de $1,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado aplicando-se a seguinte equação:

$3 \times SD/S$ (sendo que SD é o desvio padrão de 10 brancos e S a inclinação da curva analítica)

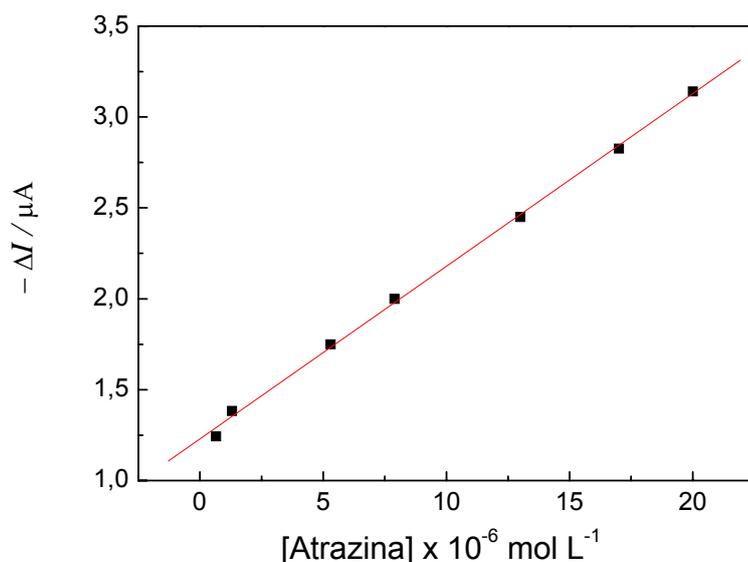


Figura 17 Curva analítica obtida utilizando BiFE para a determinação de Atrazina utilizando-se tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em 15% etanol como eletrólito suporte (pH* 4,5), t_{pré} c.= 210 s, v = 10 mV s⁻¹, α = 100 mV e t = 40 ms.

4.4.6 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Atrazina

Estudou-se a interferência de cátions metálicos e ácido húmico nas medidas de voltametria de pulso diferencial na presença de Atrazina na concentração de 4,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹. Para a avaliação dos possíveis interferentes optou-se por variar as concentrações destes concomitantes de 4,0 x 10⁻⁵ a 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, com adição de cada um separadamente e também uma adição simultânea de todos eles. As concentrações dos cátions e do ácido húmico apresentaram uma interferência igual ou menor que 5% conforme pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Atrazina $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ n=3

Interferente	Concentração (mol L^{-1})	Interferência
Alcalino e alcalino-terrosos	$1,0 \times 10^{-3}$	-0,2
Hg ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	0,5
Pb ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	2,5
Co ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	-1,3
Ni ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	1,5
Cd ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	4,9
Cu ²⁺	$4,0 \times 10^{-5}$	1,1
Ácido Húmico	$4,0 \times 10^{-5}$	-0,5

4.4.7 Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade

Estudou-se a reprodutibilidade do BiFE em presença de Atrazina $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando-se cinco diferentes eletrodos e a técnica de voltametria de pulso diferencial com velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} , tempo de pulso de 40 ms e amplitude de 100 mV o qual apresentou um erro de 4,1%. Estudou-se a repetibilidade do BiFE nas mesmas condições mencionadas anteriormente, realizando-se várias medidas usando o mesmo eletrodo presente em uma mesma solução contendo Atrazina $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Após uso contínuo do eletrodo modificado com a mesma superfície, obteve-se um erro de 3,0% (n=10).

4.4.8 Determinação de Atrazina em amostras da represa da UFSCar

O procedimento proposto foi aplicado na determinação de Atrazina em amostras de água fortificadas utilizando a técnica de pulso diferencial.

Inicialmente as amostras foram analisadas e verificou-se a ausência do analito. Assim, alíquotas de uma solução padrão de Atrazina $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foram

adicionadas a 6 frascos diferentes com 100 mL de água coletada da represa presente na UFSCar.

Na determinação deste analito nas amostras foi empregado o método proposto utilizou-se como método comparativo um método descrito na literatura onde é utilizado a voltametria de onda quadrada e como eletrodo de trabalho o HMDE⁶⁴ (como descrito anteriormente) e os resultados estão apresentados na Tabela 4. Os resultados empregando o método proposto e o método comparativo estão em boa concordância a um nível de 95% de confiança (testes F e t-pareado) e dentro de um erro relativo aceitável.

Tabela 4. Determinação de Atrazina em amostras de água fortificadas a partir da represa da UFSCar

Amostras	Atrazina /10 ⁻⁶ mol L ⁻¹		Erro Relativo **%
	Método comparativo*	Método proposto	
A ₁	20,03 ± 0,06	19,95 ± 0,03	-0,40
A ₂	20,75 ± 0,01	20,32 ± 0,00	2,07
A ₃	19,68 ± 0,03	19,36 ± 0,02	-1,62
A ₄	8,06 ± 0,08	8,11 ± 0,03	0,62
A ₅	8,01 ± 0,05	7,74 ± 0,02	-3,37
A ₆	7,91 ± 0,05	8,27 ± 0,02	4,55

n=3

*Voltametria de onda quadrada utilizando HMDE

**Erro relativo % = 100 × (método proposto – método comparativo)/método comparativo

4.4.9 Comparação do BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura

As características analíticas atingidas pelo eletrodo desenvolvido neste trabalho e outros trabalhos da literatura para a determinação de Atrazina em diferentes analitos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Procedimentos analíticos desenvolvidos para determinação de Atrazina

Autor	Eletrodo	Faixa linear mol L⁻¹	Limite de detecção mol L⁻¹
Maleki <i>et al.</i> ⁴⁷	Filme de mercúrio	2,3 x 10 ⁻⁹ a 2,8 x 10 ⁻⁷	1,1 x 10 ⁻¹⁰
Dos Santos <i>et al.</i> ⁴⁹	HMDE	4,6 x 10 ⁻⁸ a 1,1 x 10 ⁻⁶	9,3 x 10 ⁻⁹
De Souza <i>et al.</i> ⁵⁰	Amálgama de cobre	7,1 x 10 ⁻⁷ a 1,1 x 10 ⁻⁵	2,1 x 10 ⁻⁸
D'Agostino <i>et al.</i> ⁵¹	Impresso de membrana molecular	3,0 x 10 ⁻⁵ a 1,0 x 10 ⁻³	2,0 x 10 ⁻⁵
Anh <i>et al.</i> ⁵³	Biossensor/tirosinase	2,1 x 10 ⁻⁶ a 2,1 x 10 ⁻³	1,0 x 10 ⁻⁶
Este trabalho	BiFE	6,7 x 10 ⁻⁷ a 2,0 x 10 ⁻⁵	1,4 x 10 ⁻⁷

4.5 Comportamento eletroquímico do Diquat

A redução do Diquat foi estudada inicialmente utilizando-se a técnica de voltametria cíclica para que obtivesse o seu comportamento perante o BiFE. Como pode ser observado na Figura 18 o voltamograma cíclico utilizando o BiFE apresentou dois picos de redução para o Diquat, um em potencial de -0,65 V (DQ1) e o outro em potencial de -0,98 V (DQ2). Estes picos são atribuídos à redução dos dois átomos de nitrogênio quaternários positivamente carregados do cátion de Diquat ((Diquat)²⁺)⁹². Na Figura 19 pode-se observar a reação de redução. Neste estudo, DQ1 foi selecionado para os próximos experimentos por apresentar uma melhor definição, maior reprodutibilidade, boa estabilidade. Outro fator que deve ser mencionado é que DQ 2 apresentou uma redução em um potencial mais negativo o que talvez ocasionasse uma maior interferência eletroquímica de possíveis concomitantes eletroativos, além de apresentar um potencial muito próximo do potencial máximo de trabalho que o eletrodo pode ser utilizado para medidas eletroquímicas inviabilizando assim o seu uso.

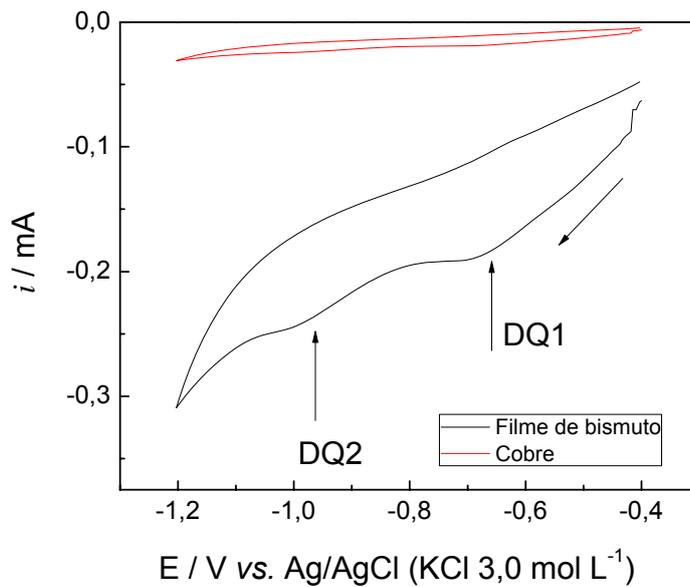


Figura 18 Voltamogramas obtidos para uma solução de Diquat $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte, BiFE ou cobre como eletrodo de trabalho e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}

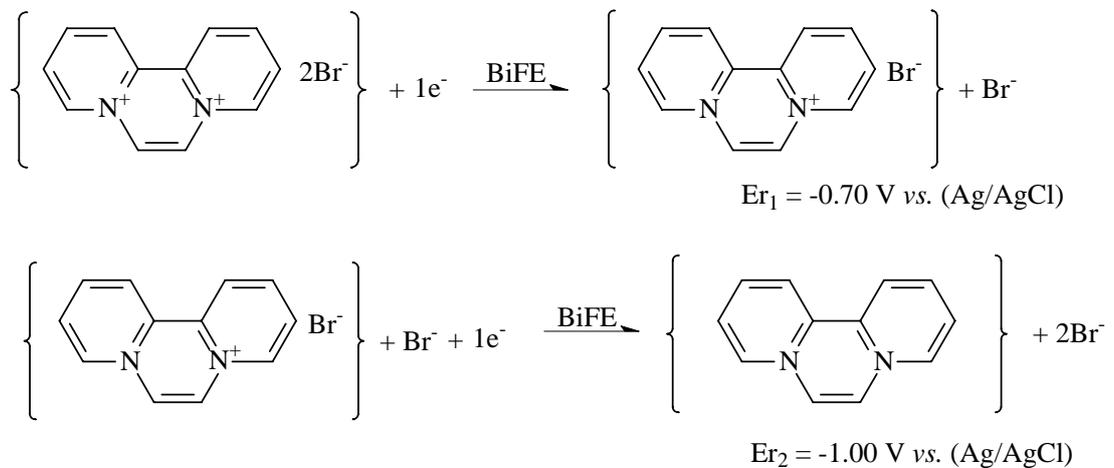


Figura 19 Reação de redução para o Diquat.

Para o estudo do efeito do eletrólito suporte as seguintes soluções foram avaliadas: ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Selecionou-se o tampão acetato por proporcionar uma melhor resposta e perfil voltamétrico bem definido. Após este estudo otimizou-se a concentração de tampão ideal e o seu pH, sendo avaliadas concentrações de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e de valores de pH de 3,8 a 5,0. Assim

selecionou-se o tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 4,5 para a realização dos experimentos posteriores.

4.5.1 Estudo da determinação de Diquat por voltametria de pulso diferencial com BiFE depositado sobre substrato de cobre

A resposta voltamétrica do eletrodo proposto foi avaliada por meio da técnica de voltametria de pulso diferencial. Diversos parâmetros tais como: incremento de potencial, amplitude de pulso e velocidade de varredura foram avaliados para se conseguir os melhores resultados em termos de reprodutibilidade e sensibilidade.

Na Tabela 6 são apresentados os parâmetros avaliados na otimização da técnica utilizando o BiFE para a determinação de Diquat empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial.

Tabela 6. Parâmetros experimentais avaliados utilizando o BiFE para a determinação de Diquat

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Incremento de potencial α (mV)	5 a 70	60
Tempo de pulso (ms) t	2 a 50	30
Velocidade de varredura v (mV s^{-1})	2 a 20	5

4.5.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial

Após todos os estudos relacionados à técnica utilizada (voltametria de pulso diferencial) realizaram-se medidas voltamétricas de DPV no intervalo de potencial de $-0,45$ a $-0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) com velocidade de varredura de 30 mV s^{-1} , tempo de pulso de 20 ms e incremento de potencial de 60 mV , na faixa de concentração de Diquat de $7,4 \times 10^{-7}$ a $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para a construção da curva analítica. A Figura 20 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da

curva analítica, descontando-se o branco, utilizando-se as concentrações de Diquat de $7,4 \times 10^{-7}$ (1), $9,9 \times 10^{-7}$ (2), $1,9 \times 10^{-6}$ (3), $2,9 \times 10^{-6}$ (4), $3,8 \times 10^{-6}$ (5), $8,6 \times 10^{-6}$ (6), $1,3 \times 10^{-5}$ (7), $1,8 \times 10^{-5}$ (8), $2,7 \times 10^{-5}$ (9), $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (10).

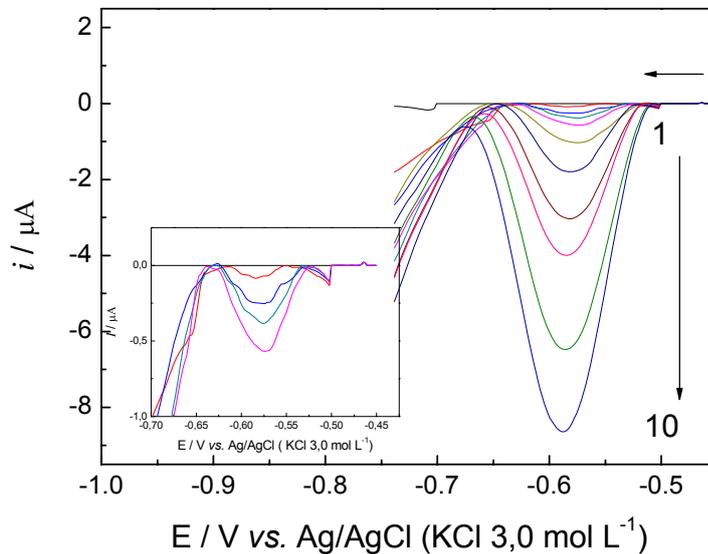


Figura 20 Voltamogramas de DPV obtidos para a construção da curva analítica do Diquat utilizando BiFE sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 4,5, $\nu = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 30 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$. Inserida na figura as 4 primeiras adições realizadas.

A Figura 21 mostra a curva analítica obtida para o Diquat. Sendo a equação da curva $\Delta i_{pc} (\mu\text{A}) = -8,9 \times 10^{-2} + 2,3 \times 10^5 [\text{DQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,999$ para o intervalo de concentração de $7,4 \times 10^{-7}$ a $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $1,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado aplicando a equação 1, presente na seção 4.4.5.

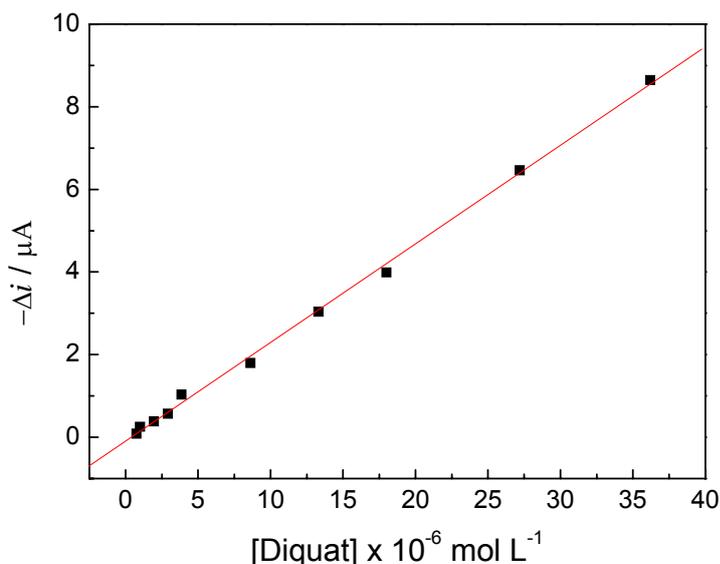


Figura 21 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se o BiFE. Eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH = 4,5, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 30 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$.

4.5.3 Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade

Estudou-se a reprodutibilidade do BiFE em presença de solução de Diquat $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando 5 diferentes eletrodos e a técnica de voltametria de pulso diferencial com velocidade de varredura de 30 mV s^{-1} , tempo de pulso de 20 ms e incremento de potencial de 60 mV. O desvio padrão relativo obtido foi igual a 3,1%. Neste estudo foram empregados cada um dos cinco eletrodos obtidos em quintuplicata. Estudou-se a repetibilidade do BiFE, realizando-se várias medidas usando o mesmo eletrodo presente em solução contendo Diquat $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Após uso contínuo do eletrodo com a mesma superfície, obteve-se um erro relativo de 2,3 % ($n=10$).

4.5.4 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Diquat por voltametria de onda quadrada

O efeito dos diversos parâmetros estudados relacionados à SWV (frequência de pulso, amplitude de potencial e incremento de varredura de potencial) com

relação ao potencial de pico e corrente de pico, para a determinação de Diquat foram estudados e otimizados.

A Tabela 7 apresenta os parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e os valores ótimos para cada parâmetro.

Tabela 7. Parâmetros experimentais avaliados utilizando o BiFE para a determinação de Diquat.

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Frequência f (Hz)	10 a 150	30
Amplitude α (mV)	5 a 70	60
Incremento de varredura ΔE_s (mV)	1 a 7	4

4.5.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada

Após a otimização das condições operacionais para o procedimento proposto, medidas voltamétricas foram feitas utilizando soluções de Diquat em diferentes concentrações para se obter uma curva analítica. As medidas foram obtidas no intervalo de potencial de -0,4 a -1,0 V vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) com frequência de 30 Hz, amplitude 60 mV e incremento de varredura de 4 mV. A Figura 22 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica utilizando-se as concentrações de Diquat de $1,9 \times 10^{-7}$ (1), $3,9 \times 10^{-7}$ (2), $9,3 \times 10^{-7}$ (3), $1,4 \times 10^{-6}$ (4), $1,9 \times 10^{-6}$ (5), $2,9 \times 10^{-6}$ (6), $3,8 \times 10^{-6}$ (7) e $5,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (8).

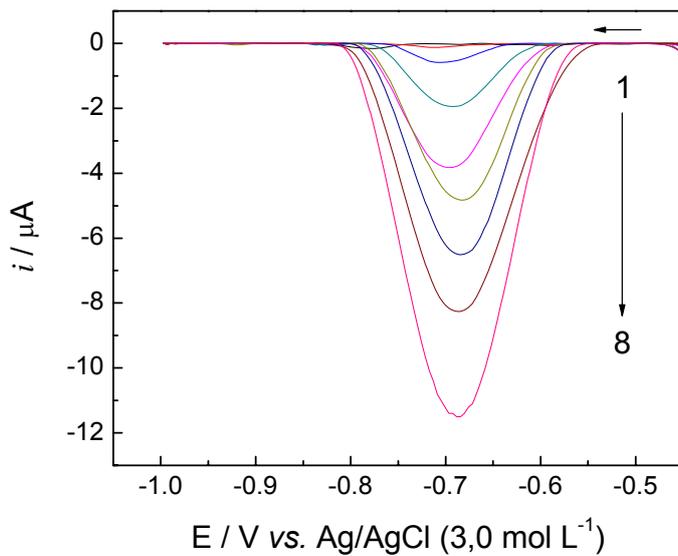


Figura 22 Voltamogramas de SWV obtidos para a construção da curva analítica utilizando o BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 30 \text{ Hz}$, $\alpha = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$.

A curva analítica obtida para o Diquat pode ser observada na Figura 23. A equação da curva é $\Delta i_{pc} (\mu\text{A}) = 1,5 \times 10^{-1} + 2,1 \times 10^6 [\text{DQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,993$, com limite de detecção de $8,7 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado aplicando a equação 1 apresentada na seção 4.4.5.

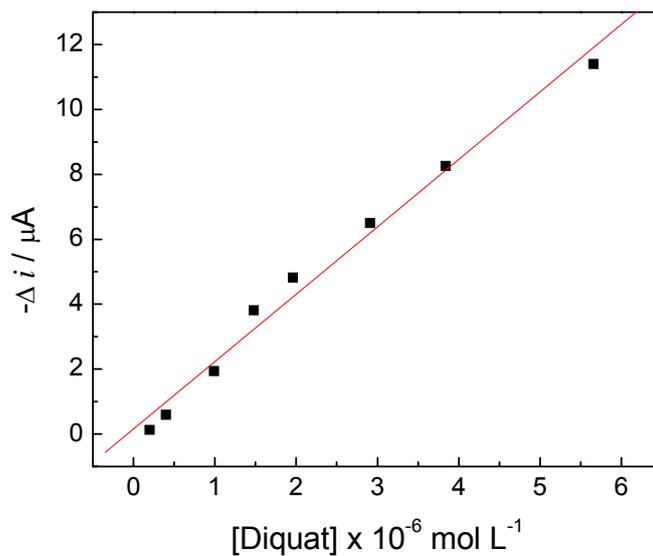


Figura 23 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se um eletrodo de cobre com filme de bismuto. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $f = 30 \text{ Hz}$, $\alpha = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$.

4.5.6 Comparação entre as técnicas SWV e DPV na determinação de Diquat utilizando BiFE

Após a otimização de todos os parâmetros relacionados às duas técnicas propostas e a construção das curvas analíticas para a determinação de Diquat foi possível realizar uma comparação entre todos os resultados obtidos.

Na Tabela 8 observa-se os dados obtidos nas técnicas propostas para a determinação de Diquat.

Tabela 8: Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Diquat utilizando BiFE

Parâmetros	Voltametria de Onda	Voltametria de Pulso
	Quadrada	Diferencial
Equação da reta	$1,5 \times 10^{-1} + 2,1 \times 10^6$	$8,9 \times 10^{-2} + 2,3 \times 10^5$
ΔI_{pc} (μA)	[DQ1]	[DQ1]
Limite de detecção ($mol L^{-1}$)	$8,7 \times 10^{-8}$	$1,7 \times 10^{-7}$
Linearidade ($mol L^{-1}$)	$1,9 \times 10^{-7}$ a $5,6 \times 10^{-6}$	$7,4 \times 10^{-7}$ a $3,6 \times 10^{-5}$
Sensibilidade ($\mu A mol L^{-1}$)	$2,1 \times 10^6$	$2,3 \times 10^5$

Após os experimentos com as diferentes técnicas optou-se trabalhar com a voltametria de onda quadrada para os experimentos futuros por apresentar uma sensibilidade maior, assim como um limite de detecção menor quando comparado com a técnica de pulso diferencial.

4.5.7 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Diquat

Estudou-se a interferência de cátions metálicos e ácido húmico nas medidas voltamétricas em presença Diquat na concentração de $3,0 \times 10^{-6} mol L^{-1}$. Variou-se as concentrações dos interferentes de $5,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3} mol L^{-1}$, com adição de

cada um separadamente e também adição simultânea. As concentrações dos cátions e ácido húmico apresentaram uma interferência igual ou menor que 4 % conforme se observa na Tabela 9.

Tabela 9. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Diquat $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (n=3)

Interferente	Concentração (mol L^{-1})	Interferência %
Alcalino e alcalino-terrosos	$1,0 \times 10^{-4}$	-0,1
Hg ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	-0,3
Pb ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	3,6
Co ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	0,3
Ni ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	-0,5
Cd ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	2,8
Cu ²⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	1,1
Ácido Húmico	$5,0 \times 10^{-5}$	-0,5

4.5.8 Determinação de Diquat em amostras da represa da UFSCar

Com o objetivo de avaliar o desempenho do procedimento analítico, determinou-se o Diquat em amostras de água fortificadas utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. O método utilizado para a determinação foi o método da adição de padrão. A cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada para realizar a comparação¹⁰⁰ com o método proposto, nas condições supracitadas na seção “Parte Experimental”. A molécula de Diquat apresentou um tempo de retenção de 3,1 minutos. Um cromatograma típico do Diquat é apresentado na Figura 24.

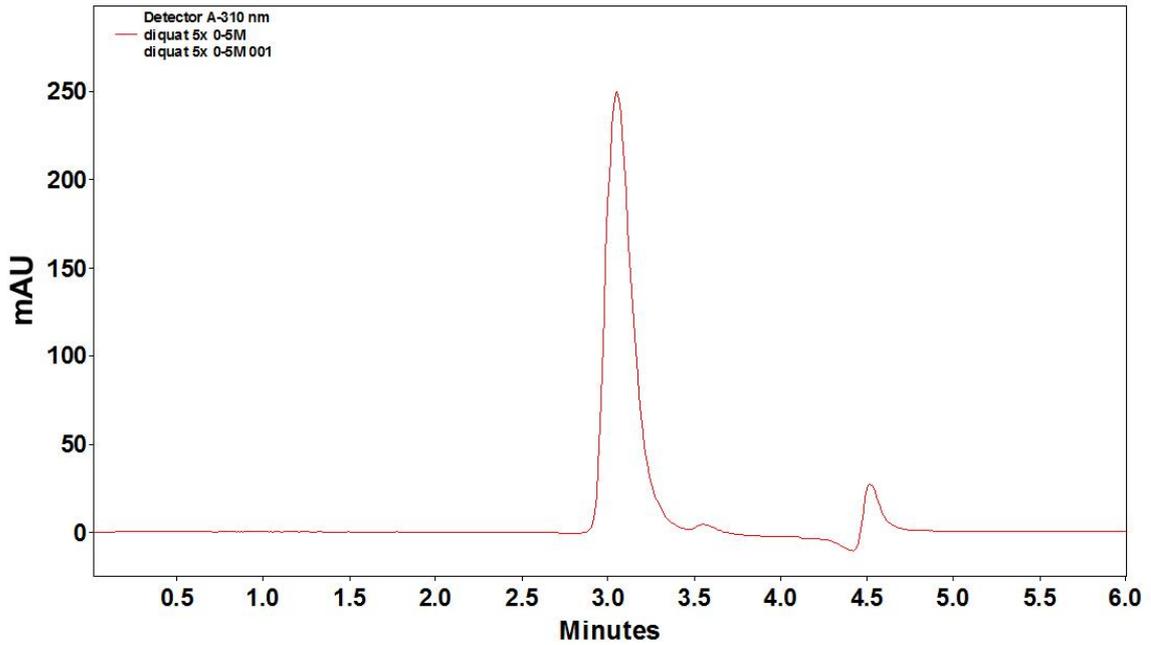


Figura 24 Cromatograma típico para o Diquat na concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 10 empregando-se o método proposto e o método comparativo estão em boa concordância a um nível de confiança de 95% (testes F e t-pareado). A amostra A_1 foi fortificada com o objetivo de se obter uma solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e as amostras A_2 e A_3 foram fortificadas para uma concentração igual ao valor máximo permitido apresentado na Tabela 1 e, posteriormente pré-concentradas para se obter um solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 10. Determinação de Diquat em amostras fortificadas de água da represa da UFSCar

Amostras	Diquat / $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$		Erro Relativo % **
	Método comparativo*	Método proposto	
A_1	$1,07 \pm 0,06$	$1,02 \pm 0,03$	-4,67
A_2	$0,98 \pm 0,01$	$1,03 \pm 0,00$	4,85
A_3	$1,15 \pm 0,03$	$1,11 \pm 0,02$	-3,48

n=3

*HPLC em 257 nm

**Erro relativo % = $100 \times (\text{método proposto} - \text{método comparativo}) / \text{método comparativo}$

4.6.1 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Diquat por voltametria de pulso diferencial

Dois picos de redução foram obtidos utilizando o minissensor para o Diquat foram observados no voltamograma de pulso diferencial um em torno de -0,6 e outro em -1,0 V, valor próximo aquele obtido para pulso diferencial utilizando o BiFE com eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹). Assim foram realizados experimentos em busca da otimização dos parâmetros relacionados à técnica para o minissensor/BiFE.

Os parâmetros estudados e os melhores valores podem ser observados na Tabela 11.

Tabela 11. Parâmetros estudados de voltametria de pulso de diferencial e os valores selecionados para a determinação de Diquat

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Incremento de potencial (mV)	10 a 70	60
Tempo de pulso (ms)	2 a 20	5
Velocidade de varredura (mV s ⁻¹)	3 a 20	10

4.6.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial

Após a otimização dos parâmetros supracitados os quais envolvem a voltametria de pulso diferencial, a curva analítica foi construída pela adição de alíquotas de uma solução padrão de Diquat no intervalo de potencial de -0,30 a -0,90 V vs. pseudo-referência de Ag/AgCl com velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹, tempo de pulso de 5 ms e incremento de potencial de 60 mV. A Figura 25 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica descontando o branco das medidas, utilizando o minissensor/BiFE para as seguintes adições de

Diquat: $5,9 \times 10^{-7}$ (1), $9,9 \times 10^{-7}$ (2), $1,5 \times 10^{-6}$ (3), $2,0 \times 10^{-6}$ (4), $2,9 \times 10^{-6}$ (5), $3,7 \times 10^{-6}$ (6), $5,6 \times 10^{-6}$ (7), $9,4 \times 10^{-6}$ (8) e $1,3 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (9).

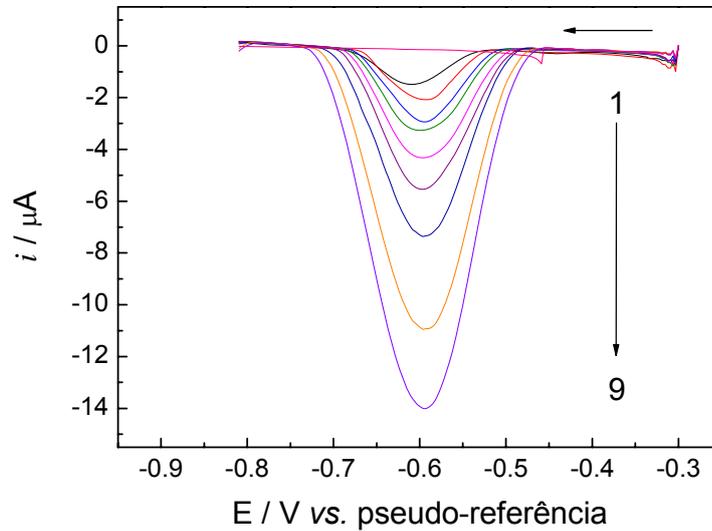


Figura 25 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica utilizando o minissensor/BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 5 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$

Após a obtenção dos voltamogramas construiu-se a curva analítica com os incrementos de corrente obtidos. Observa-se na Figura 26 que a equação da curva foi $\Delta i_{pc} (\mu\text{A}) = 1,3 + 9,9 \times 10^5 [\text{DQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, com um coeficiente de correlação de 0,997, com limite de detecção de $3,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado através da equação 1 apresentada na seção 4.4.5.

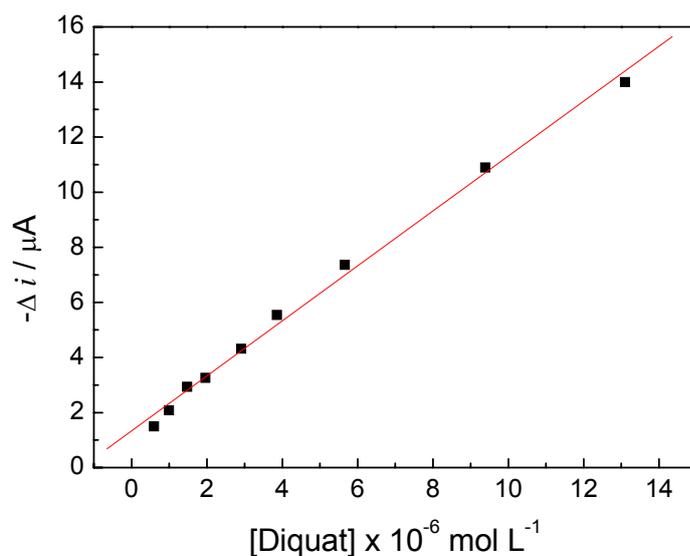


Figura 26 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat empregando-se um minissensor/BiFE sendo o eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 5 \text{ ms}$ e $\alpha = 60 \text{ mV}$.

4.6.3 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Diquat por voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada também foi utilizada para o desenvolvimento de um método para a determinação de Diquat utilizando o minissensor/BiFE, sendo a seleção dos parâmetros instrumentais investigados de acordo com a maior intensidade da corrente de pico e do melhor perfil voltamétrico.

Na Tabela 12 estão apresentados os parâmetros estudados e os valores selecionados para cada uma das variáveis da técnica utilizada.

Tabela 12. Parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e seus valores selecionados na determinação de Diquat

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Frequência f (Hz)	10 a 200	60
Amplitude α (mV)	10 a 100	70
Incremento de varredura ΔE_s (mV)	1 a 7	2

4.6.4 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada

Após a escolha e definição das melhores condições para o experimento proposto realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -0,4 a -0,8 V vs. pseudo-referência de Ag/AgCl com frequência de 60 Hz, amplitude 70 mV e incremento de varredura de 2 mV, na faixa de concentração de Diquat de $1,9 \times 10^{-7}$ a $9,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a fim de se obter a curva analítica. A Figura 27 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica para minissensor/BiFE utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, descontando-se o branco, utilizando-se as concentrações de Diquat de $1,9 \times 10^{-7}$ (1), $8,0 \times 10^{-7}$ (2), $1,5 \times 10^{-6}$ (3), $2,0 \times 10^{-6}$ (4), $2,9 \times 10^{-6}$ (5), $3,9 \times 10^{-6}$ (6), $5,7 \times 10^{-6}$ (7) e $9,4 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (8).

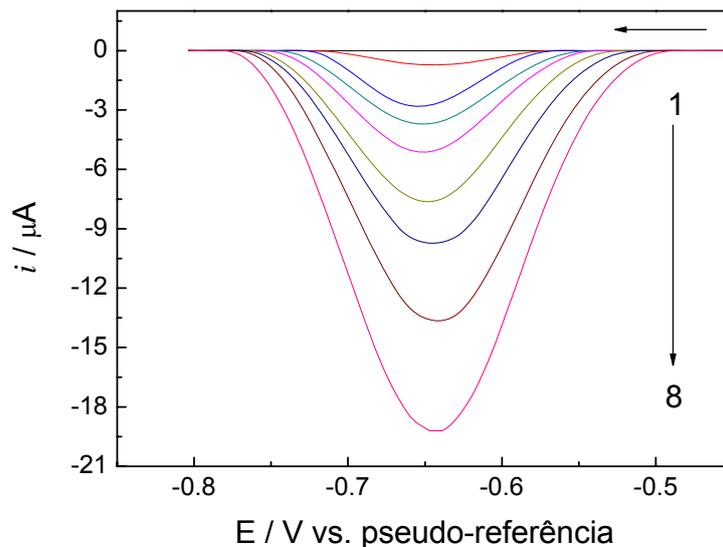


Figura 27 Voltamogramas SWV obtidos para a construção da curva analítica com o uso do minissensor/BiFE para a determinação Diquat. Eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $f = 60$ Hz, $\alpha = 70$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV

A Figura 28 mostra a curva analítica obtida para o Diquat. A equação da curva é $\Delta i_{pc} (\mu A) = 1,1 + 2,0 \times 10^6 [DQ1] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,992$, com limite de detecção de $8,9 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ que foi calculado através da equação 1 apresentada na seção 4.4.5.

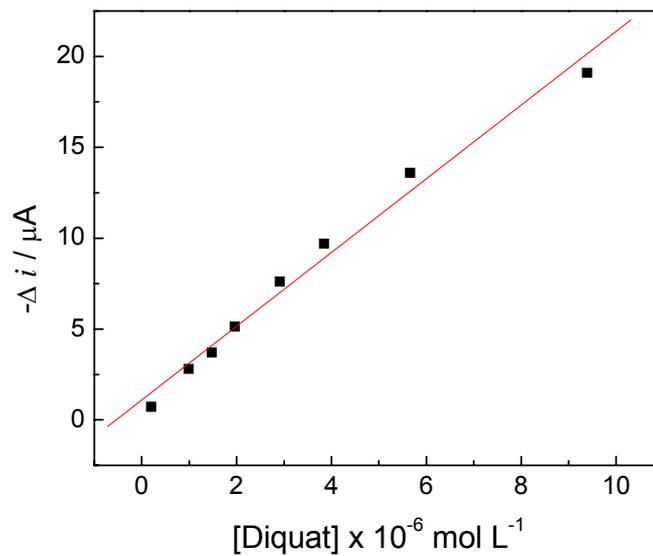


Figura 28 Curva analítica obtida para a determinação de Diquat utilizando-se um minissensor/BiFE em eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $f = 60$ Hz, $\alpha = 70$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV

4.6.5 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Diquat utilizando minissensor/BiFE

Para uma melhor avaliação dos resultados obtidos após a otimização de todos os parâmetros relacionados às duas técnicas propostas e a construção das curvas analíticas para a determinação de Diquat foi possível realizar uma comparação. Na Tabela 13 observa-se alguns dados obtidos entre as técnicas propostas para a determinação de Diquat.

Tabela 13: Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Diquat

Parâmetros	Voltametria de Onda Quadrada	Voltametria de Pulso Diferencial
Equação da reta ΔI_{pc} (μA)	$1,1 + 2,0 \times 10^6 [DQ1]$	$1,3 + 9,9 \times 10^5 [DQ1]$
Limite de detecção ($mol L^{-1}$)	$8,7 \times 10^{-8}$	$3,2 \times 10^{-7}$
Linearidade ($mol L^{-1}$)	$1,9 \times 10^{-7}$ a $9,4 \times 10^{-6}$	$5,9 \times 10^{-7}$ a $1,3 \times 10^{-5}$
Sensibilidade ($\mu A mol L^{-1}$)	$2,0 \times 10^6$	$9,9 \times 10^5$

A voltametria de onda quadrada foi selecionada para os experimentos futuros, pois esta apresentou uma sensibilidade ligeiramente maior que aquela obtida empregando-se a voltametria de pulso diferencial, assim como um limite de detecção menor. Outro fator importante na escolha dessa técnica foi o tempo envolvido nas determinações que foi muito menor.

4.6.6 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do minissensor/BiFE para determinação de Diquat

Desta maneira observou-se a interferência de cátions metálicos e ácido húmico nas medidas voltamétricas em presença de Diquat $9,0 \times 10^{-6} mol L^{-1}$. Variou-se as concentrações dos interferentes de $9,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3} mol L^{-1}$, com adição de cada um separadamente e também adição simultânea. As concentrações dos cátions e ácido húmico apresentaram uma interferência igual ou menor que 5% conforme se observa na Tabela 14.

Tabela 14: Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Diquat $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ n=3

Interferente	Concentração (mol L^{-1})	Interferência %
Alcalino e alcalino-terrosos	$1,0 \times 10^{-3}$	0,4
Hg ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	0,8
Pb ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	3,3
Co ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	-1,9
Ni ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	-1,7
Cd ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	4,3
Cu ²⁺	$9,0 \times 10^{-5}$	-0,9
Ácido Húmico	$9,0 \times 10^{-5}$	-0,8

4.6.7 Determinação de Diquat em amostras da represa da UFSCar

O procedimento para a comparação dos resultados nas determinações quantitativas foi similar ao empregado na determinação de Diquat utilizando BiFE como citado na seção 4.5.8. Assim, a cromatografia líquida de alta eficiência¹⁰⁰ com detector em 257 nm utilizando uma coluna C18 foi empregada na determinação de Diquat naquelas amostras. Os resultados obtidos apresentados na Tabela 15 empregando-se o método proposto e o método comparativo estão em boa concordância a um nível de confiança de 95% (testes F e t-pareado). A amostra A₁ foi fortificada com o objetivo de se obter uma solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e as amostras A₂ e A₃ foram fortificadas para uma concentração igual ao valor máximo permitido apresentado na Tabela 1 e, posteriormente pré-concentradas para se obter um solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 15: Determinação de Diquat em amostras fortificadas de água provenientes da represa da UFSCar

Amostras	Diquat /10 ⁻⁵ mol L ⁻¹		Erro Relativo % **
	Método comparativo*	Método proposto	
A ₁	1,07 ± 0,08	1,05 ± 0,03	-1,87
A ₂	0,98 ± 0,05	0,95 ± 0,02	-3,06
A ₃	1,15 ± 0,05	1,21 ± 0,02	5,21

n=3

*HPLC 257 nm

**Erro relativo % = 100 × (método proposto – método comparativo)/método comparativo

4.6.8 Comparação do BiFE e minissensor/BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura

A Tabela 16 apresenta resultados de procedimentos analíticos para a determinação de Diquat e os apresentados neste trabalho (BiFE e minissensor/BiFE).

Tabela 16. Procedimentos analíticos desenvolvidos para a determinação de Diquat

Autor	Eletrodo	Faixa linear mol L⁻¹	Limite de detecção mol L⁻¹
Melo et al. ⁶⁴	Amálgama dental	4,9 x 10 ⁻⁷ a 5,6 x 10 ⁻⁶	2,9 x 10 ⁻⁸
Lu, T.H. et al. ¹⁰²	Carbono vítreo/Nafion	3,0 x 10 ⁻⁹ a 4,0 x 10 ⁻⁴	1,4 x 10 ⁻⁹
Diaz et al. ⁶⁵	Carbono vítreo	1,4 x 10 ⁻⁶ a 1,2 x 10 ⁻⁵	8,9 x 10 ⁻⁷
Walcarius et al. ⁶⁷	HMDE	5,0 x 10 ⁻⁸ a 1,0 x 10 ⁻⁵	1,5 x 10 ⁻⁸
Este trabalho	BiFE	1,9 x 10 ⁻⁷ a 5,6 x 10 ⁻⁶	8,7 x 10 ⁻⁸
Este trabalho	Minissensor/BiFE	1,9 x 10 ⁻⁷ a 9,4 x 10 ⁻⁶	8,7 x 10 ⁻⁸

4.7 Comportamento eletroquímico do Paraquat

O BiFE foi utilizado para a análise do comportamento eletroquímico do Paraquat, para tanto, foi utilizado uma solução de concentração $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ do pesticida.

Pode ser observado na Figura 29 que o voltamograma cíclico utilizando o BiFE apresentou dois picos de redução para o Paraquat, um em potencial de -0,72 V (PQ1) e o outro em potencial de -1,05 V (PQ2). Estes picos são atribuídos à redução dos dois átomos de nitrogênio quaternários positivamente carregados do cátion de Paraquat ((Paraquat)²⁺)^{67,94} a Figura 30 exemplifica a reação de redução do Paraquat. Neste estudo, PQ1 foi selecionado para experimentos posteriores, por apresentar potencial menos negativos, desta maneira diminuindo possíveis interferentes eletroquímicos, por apresentar maior reprodutibilidade, boa estabilidade, um pico de redução bem definido, uma sensibilidade e seletividade mais elevada.

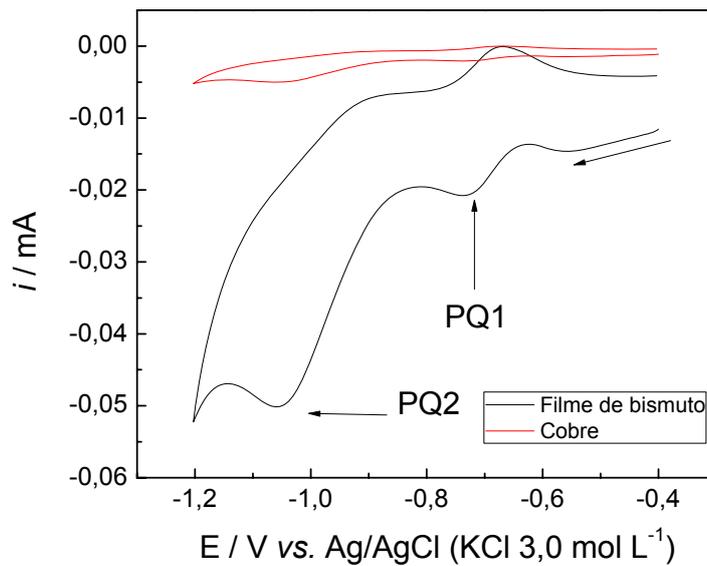


Figura 29 Voltamograma obtido para uma solução de Paraquat $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 como eletrólito suporte, BiFE ou cobre como eletrodo de trabalho e $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

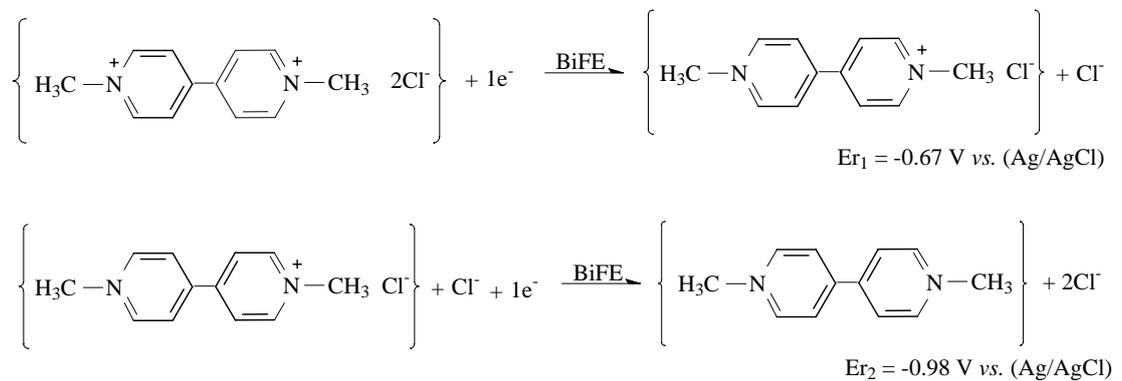


Figura 30 Reação de redução para o Paraquat.

Após a caracterização do comportamento eletroquímico do Paraquat pelo BiFE, foram realizados experimentos em diferentes eletrólitos suportes como ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Selecionou-se o tampão acetato por proporcionar uma melhor resposta e perfil voltamétrico bem definido. Após este estudo, otimizou-se a concentração de tampão ideal e o seu pH, sendo avaliado de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e de 3,8 a 5,0, respectivamente. Assim, foi selecionado o tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5) para a realização dos próximos experimentos por proporcionar uma melhora significativa na resposta voltamétrica.

4.7.1 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Paraquat por voltametria de pulso diferencial

A resposta do eletrodo foi avaliada por meio da técnica de voltametria de pulso diferencial. Diversos parâmetros tais como: tempo de pulso, amplitude de pulso e velocidade de varredura foram avaliados a fim de se obter os melhores resultados em termos de reprodutibilidade e sensibilidade.

Na Tabela 17 são apresentados os parâmetros avaliados na otimização do BiFE para a determinação de Paraquat empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial.

Tabela 17. Parâmetros experimentais empregando-se o BiFE para a determinação de Paraquat.

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Amplitude α (mV)	5 a 70	50
Tempo de pulso t (ms)	2 a 50	20
Velocidade de varredura v (mV s ⁻¹)	12 a 40	30

4.7.2 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial

Após otimização das condições operacionais para o BiFE realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -0,90 a -0,50 V vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) com velocidade de varredura de 30 mV s⁻¹, tempo de pulso de 20 ms e amplitude de 50 mV, na faixa de concentração de Paraquat de 6,6 x 10⁻⁷ a 4,8 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ para a construção da curva analítica. A Figura 31 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica para BiFE utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial, descontando-se o branco, utilizando-se

as concentrações de Paraquat de $6,6 \times 10^{-7}$ (1), $2,6 \times 10^{-6}$ (2), $9,0 \times 10^{-6}$ (3), $2,2 \times 10^{-5}$ (4), $2,9 \times 10^{-5}$ (5), $3,5 \times 10^{-5}$ (6), $4,1 \times 10^{-5}$ (7) e $4,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (8).

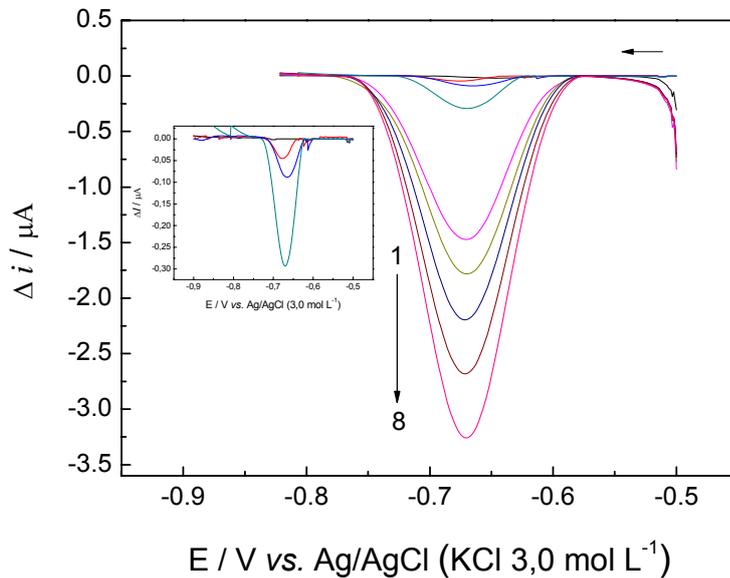


Figura 31 Voltamogramas DPV obtidos para a construção da curva analítica empregando-se BiFE para a determinação Paraquat. Eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $\nu = 30 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 20 \text{ ms}$ e $\alpha = 50 \text{ mV}$.

A Figura 32 mostra a curva analítica obtida para o Paraquat. A equação da curva é $\Delta i_{pa} (\mu\text{A}) = -6,5 \times 10^{-2} + 6,5 \times 10^4 [\text{PQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,998$ para o intervalo de concentração de $6,6 \times 10^{-7}$ a $4,8 \times 10^{-5}$, com limite de detecção de $9,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado aplicando a equação 1, presente na seção 4.4.5.

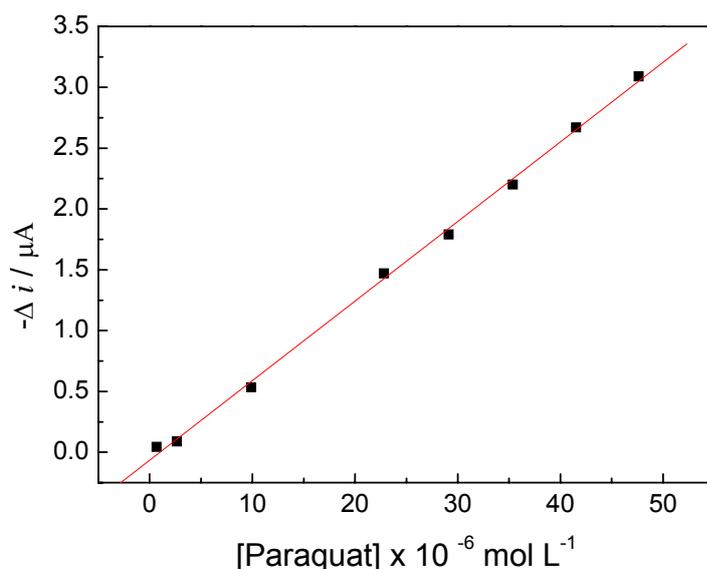


Figura 32 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat utilizando-se o BiFE. Eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $v = 30 \text{ mV s}^{-1}$, $t = 20 \text{ ms}$ e $\alpha = 50 \text{ mV}$

4.7.3. Estudo da reprodutibilidade e repetibilidade

O desvio padrão relativo obtido no estudo da reprodutibilidade entre 5 diferentes eletrodos foi igual a 5,1%. Neste estudo foram empregados cada um dos cinco eletrodos obtidos em quintuplicata solução de Paraquat $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Utilizou-se a técnica de voltametria de pulso diferencial com velocidade de varredura de 30 mV s^{-1} , tempo de pulso de 20 ms e incremento de potencial de 50 mV. Estudou-se a repetibilidade do BiFE, realizando-se várias medidas usando o mesmo eletrodo presente em solução contendo Paraquat. Após uso contínuo do eletrodo modificado com a mesma superfície, obteve-se um erro relativo de 2,0 % ($n=10$) para solução de Paraquat $2,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

4.7.4 Estudo do BiFE depositado sobre substrato de cobre para a determinação de Paraquat por voltametria de onda quadrada

O efeito dos parâmetros instrumentais (frequência de aplicação dos pulsos de potencial, amplitude de potencial e incremento de varredura do potencial) da onda

quadrada sobre o potencial de pico e corrente de pico para a determinação de Paraquat foram estudados e otimizados.

A Tabela 18 apresenta os parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e os valores ótimos para cada parâmetro da técnica.

Tabela 18. Parâmetros experimentais estudados para a determinação de Paraquat utilizando BiFE como eletrodo de trabalho

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Frequência f (Hz)	10 a 150	40
Amplitude α (mV)	5 a 70	40
Incremento de varredura ΔE_s (mV)	1 a 7	3

4.7.5 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada

Uma vez definida as melhores condições de trabalho para o BiFE realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -0,4 a -1,0 V vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) com frequência de 40 Hz, amplitude 40 mV e incremento de varredura de 3 mV, na faixa de concentração de Paraquat de 1,9 x 10⁻⁶ a 1,3 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ a fim de se obter a curva analítica. A Figura 33 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica descontando o branco das medidas, utilizando o BiFE para as seguintes adições de Paraquat: 1,9 x 10⁻⁶ (1), 2,3 x 10⁻⁶ (2), 3,8 x 10⁻⁶ (3), 4,7 x 10⁻⁶ (4), 5,6 x 10⁻⁶ (5), 9,4 x 10⁻⁶ (6), 1,3 x 10⁻⁵ (7).

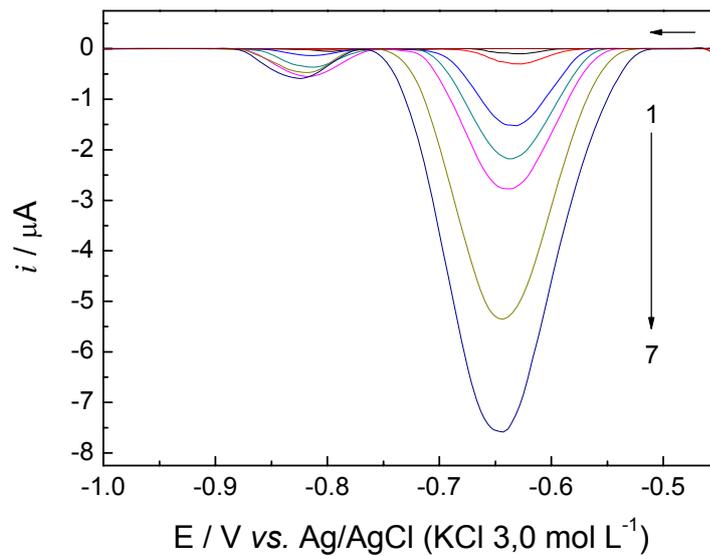


Figura 33 Voltamogramas SWV obtidos na presença de diferentes concentrações de Paraquat empregando o BiFE como eletrodo de trabalho, sendo o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 $f = 40 \text{ Hz}$, $\alpha = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.

Os dados dos valores de correntes anódicas mostrados na Figura 34 geraram uma relação linear com a concentração de Paraquat, representada pela equação $\Delta i_p (\mu\text{A}) = -1,1 + 6,7 \times 10^5 [\text{PQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,997$, com um limite de detecção de $9,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado através da equação 1 apresentada na seção 4.4.5.

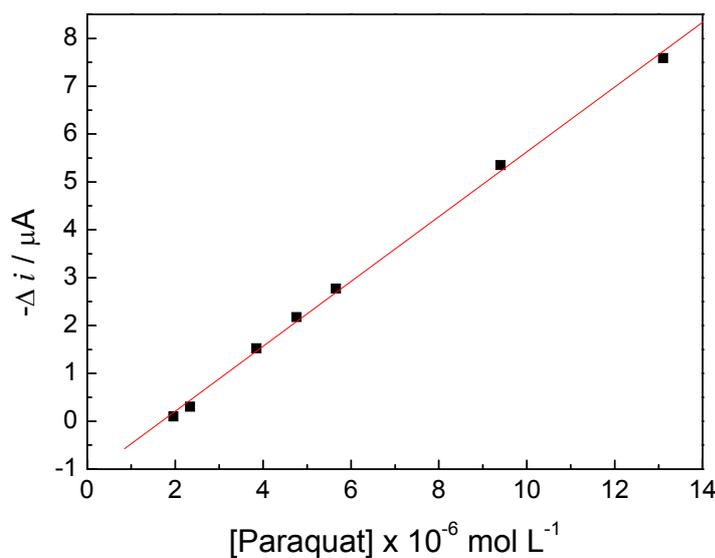


Figura 34 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat empregando-se o BiFE. Utilizando como eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 $f = 40 \text{ Hz}$, $\alpha = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$.

4.7.6 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Paraquat

Após a otimização de todos os parâmetros para as duas técnicas propostas e a construção das curvas analíticas para a determinação de Paraquat foi possível realizar uma comparação entre os resultados obtidos.

Na Tabela 19 observa-se alguns dados entre as técnicas propostas para a determinação de Paraquat.

Tabela 19. Comparação das técnicas proposta na determinação de Paraquat

Parâmetros	Voltametria de Onda	Voltametria de Pulso
	Quadrada	Diferencial
Equação da reta	$-1,1 + 6,7 \times 10^{-5}$ [PQ1]	$-6,5 \times 10^{-2} + 6,5 \times 10^4$
Δi_{pc} (μA)		[PQ1]
Limite de detecção (mol L^{-1})	$9,2 \times 10^{-7}$	$9,3 \times 10^{-8}$
Linearidade (mol L^{-1})	$1,9 \times 10^{-6}$ a $1,3 \times 10^{-5}$	$6,6 \times 10^{-7}$ a $4,8 \times 10^{-5}$
Sensibilidade ($\mu A \text{ mol L}^{-1}$)	$6,7 \times 10^5$	$6,5 \times 10^4$

Após todos os experimentos referentes as diferentes técnicas optou-se pela voltametria de pulso diferencial para os experimentos futuros, pois esta apresentou um limite de detecção menor e uma sensibilidade aproximadamente dez vezes superior quando comparado aquela obtida empregando-se a voltametria de onda quadrada.

4.7.7 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do BiFE para determinação de Paraquat

A interferência de cátions metálicos e ácido húmico foi estudada nas medidas de voltametria de pulso diferencial na presença Paraquat na concentração $1,0 \times 10^{-5}$

mol L⁻¹. Variou-se as concentrações dos interferentes de 1,0 x 10⁻⁴ a 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, com adição de cada um separadamente e também adição simultânea. As concentrações dos cátions e ácido húmico apresentaram uma interferência igual ou menor que 5% conforme se observa na Tabela 20.

Tabela 20. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Paraquat 5,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ (n=3)

Interferente	Concentração (mol L ⁻¹)	Interferência %
Alcalino e alcalino-terrosos	1,0 x 10 ⁻³	-0,2
Hg ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	0,5
Pb ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	4,2
Co ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	1,3
Ni ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	1,5
Cd ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	4,8
Cu ²⁺	4,0 x 10 ⁻⁵	1,0
Ácido Húmico	4,0 x 10 ⁻⁵	0,3

Os metais que apresentaram os maiores erros foram Cd²⁺ e Pb²⁺, contudo a interferência ficou em 4,2 e 4,8% e quando adicionados simultaneamente apresentaram 4,7% de interferência nas medidas, valor aceitável para este tipo de determinação.

4.7.8 Determinação de Paraquat em amostras da represa da UFSCar

O procedimento proposto foi aplicado na determinação de Paraquat em amostras de água fortificadas utilizando a técnica voltamétrica de pulso diferencial. Para avaliar o desempenho do procedimento proposto utilizou-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)¹⁰⁰ nas condições descritas na “Parte Experimental”, em tais condições a molécula de Paraquat apresentou um tempo de retenção de 2,0 min. Um cromatograma típico do Paraquat pode ser observado na Figura 35.

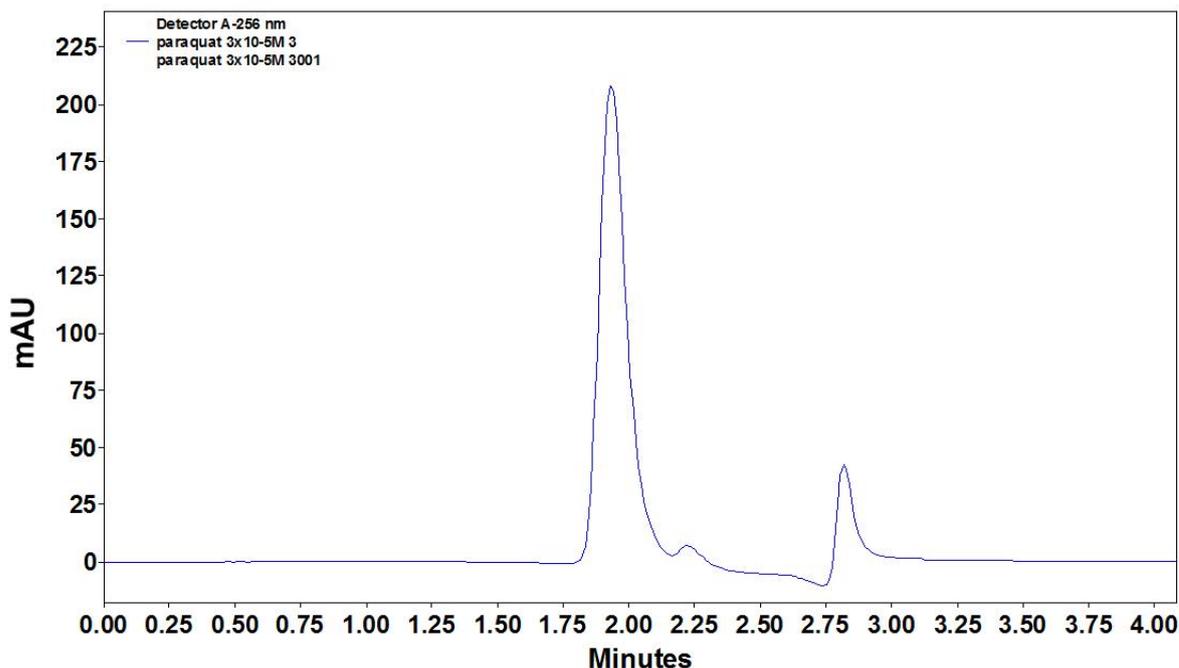


Figura 35 Cromatograma típico para o Paraquat na concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 21 empregando-se o método proposto e o método comparativo estão em boa concordância a um nível de confiança de 95% (testes F e t-pareado) onde A_1 foi fortificada com o objetivo de se obter uma solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e as amostras A_2 e A_3 foram fortificadas para uma concentração igual a valor máximo permitido apresentado na Tabela 1 e posteriormente pré-concentradas para se obter um solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 21. Determinação de Paraquat em amostras fortificadas de água da represa da UFSCar

Amostras	Paraquat / $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$		
	Método comparativo*	Método proposto	Erro Relativo %**
A_1	$1,02 \pm 0,06$	$0,99 \pm 0,03$	-2,94
A_2	$1,09 \pm 0,01$	$1,05 \pm 0,00$	-3,67
A_3	$1,02 \pm 0,03$	$1,06 \pm 0,02$	3,92
n=3			

*HPLC com detecção espectrofotométrica em 310 nm

**Erro relativo % = $100 \times (\text{método proposto} - \text{método comparativo}) / \text{método comparativo}$

4.8.1 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Paraquat por voltametria de pulso diferencial

O voltamograma de pulso diferencial obtido utilizando o minissensor/BiFE apresentou dois picos de redução para o Paraquat, um em torno de -0,64 V e outro em -0,92 V, valor próximo aquele obtido para pulso diferencial utilizando o BiFE com eletrodo de referência Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹). Assim foram realizados experimentos em busca da otimização dos parâmetros relacionados à técnica para o minissensor/BiFE.

Os parâmetros estudados e os melhores valores podem ser observados na Tabela 22.

Tabela 22. Parâmetros estudados de voltametria de pulso de diferencial e os valores selecionados para a determinação de Paraquat

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Amplitude α (mV)	5 a 30	20
Tempo de pulso t (ms)	4 a 20	12
Velocidade de varredura v (mV s ⁻¹)	2 a 20	5

4.8.1.1 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial

Após a otimização dos parâmetros que envolvem a voltametria de pulso diferencial, a curva analítica foi construída pela adição de pequenas alíquotas da solução padrão de Paraquat no intervalo de potencial de -0,80 a -0,40 V vs. Pseudo-referência com velocidade de varredura de 5 mV s⁻¹, tempo de pulso de 12 ms e amplitude de 20 mV. A Figura 36 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica utilizando o minissensor/BiFE para a adição das seguintes concentrações de Paraquat 1,2 x 10⁻⁷ (1), 1,9 x 10⁻⁷ (2), 2,9 x 10⁻⁷ (3), 4,0

$\times 10^{-7}$ (4), $7,7 \times 10^{-7}$ (5), $1,1 \times 10^{-6}$ (6), $1,5 \times 10^{-6}$ (7), $1,9 \times 10^{-6}$ (8), $3,2 \times 10^{-6}$ (9), $1,2 \times 10^{-7}$ $4,2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (10).

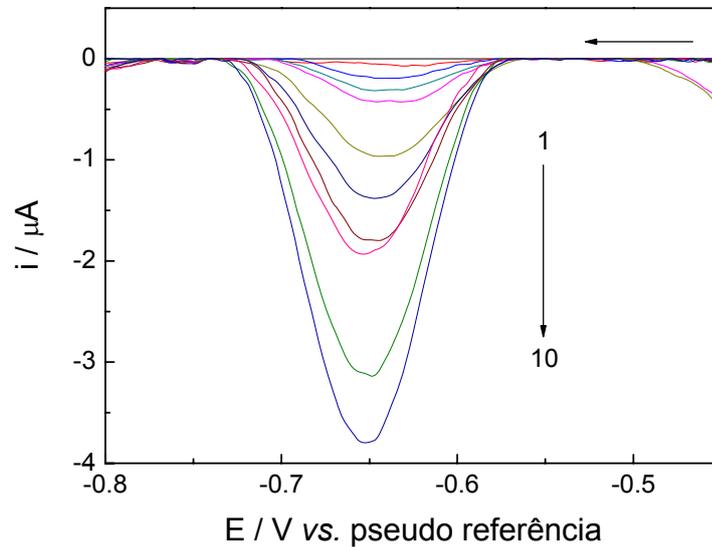


Figura 36 Voltamogramas de DPV em diferentes concentrações de Paraquat em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $\alpha = 20 \text{ mV}$, $t = 12 \text{ ms}$ e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ utilizando o BiFE como eletrodo de trabalho.

Observa-se na Figura 37 a curva analítica para determinação de Paraquat. A equação da curva foi $\Delta i_{pa} (\mu\text{A}) = 6,0 \times 10^{-2} + 9,5 \times 10^5 [\text{PQ1}] (\text{mol L}^{-1})$, com um coeficiente de correlação de 0,995 e limite de detecção de $1,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado aplicando a equação 1, presente na seção 4.4.5.

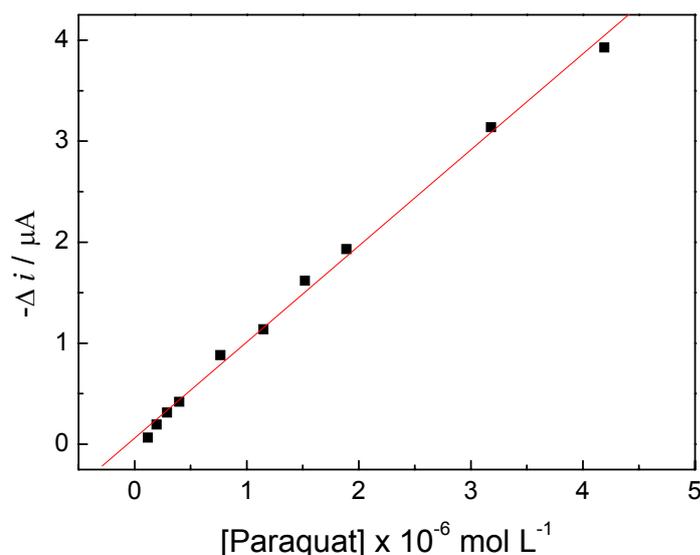


Figura 37 Curva analítica obtida para a determinação de Paraquat empregando-se um eletrodo de cobre com filme de bismuto. Utilizando como eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, $\alpha = 20$ mV, $t = 12$ ms e $v = 5$ mV s⁻¹.

4.8.2 Estudo do minissensor/BiFE para a determinação de Paraquat por voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada também foi utilizada para o desenvolvimento de um método para a determinação de Paraquat utilizando o minissensor/BiFE, sendo a seleção dos parâmetros instrumentais investigados de acordo com a maior intensidade da corrente de pico e do perfil voltamétrico.

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 23 mostram quais os parâmetros estudados e valores selecionados para cada uma das variáveis instrumentais.

Tabela 23. Parâmetros estudados para a voltametria de onda quadrada e seus valores selecionados

Parâmetro	Faixa estudada	Selecionado
Frequência f (Hz)	10 a 160	70
Amplitude α (mV)	10 a 80	60
Incremento de varredura ΔE_s (mV)	1 a 5	3

4.8.2.1 Voltamogramas e curva analítica empregando a técnica de voltametria de onda quadrada

Uma vez definida as melhores condições de trabalho para o BiFE na determinação de Paraquat realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -0,4 a -1,0 V vs. pseudo-referência de Ag/AgCl com incremento de varredura de 3 mV, frequência de 70 Hz, amplitude 60 mV e, na faixa de concentração de Paraquat de $9,9 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ a fim de se obter a curva analítica. A Figura 38 apresenta os voltamogramas obtidos para a construção da curva analítica para minissensor/BiFE utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, com o retirada do branco, utilizando-se as concentrações de Paraquat de $9,9 \times 10^{-8}$ (1), $2,9 \times 10^{-7}$ (2), $5,0 \times 10^{-7}$ (3), $6,9 \times 10^{-7}$ (4), $1,5 \times 10^{-6}$ (5), $2,4 \times 10^{-6}$ (6), $5,4 \times 10^{-6}$ (7) e $8,3 \times 10^{-6}$ (8), $1,1 \times 10^{-5}$ (9), $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (10).

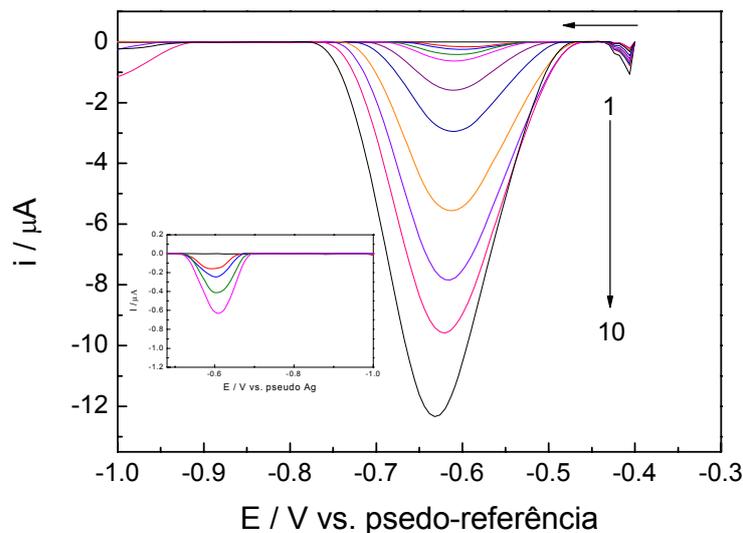


Figura 38 Voltamogramas SWV obtidos empregando-se o minissensor/BiFE na presença de diferentes concentrações de Paraquat em meio de tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 $f = 70 \text{ Hz}$, $\alpha = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$. Em detalhe são apresentadas as 4 primeiras adições.

A Figura 39 ilustra os registros dos valores de corrente que apresentaram uma relação linear com as concentrações de Paraquat no intervalo de $9,9 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ representada pela equação $\Delta i_{pa} (\mu\text{A}) = 3,3 \times 10^{-1} + 8,1 \times 10^5 [\text{PQ1}]$ (mol L⁻¹) com um coeficiente de correlação de 0,991, apresentando um limite de

detecção de $4,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ que foi calculado através da equação 1 apresentada na seção 4.4.5.

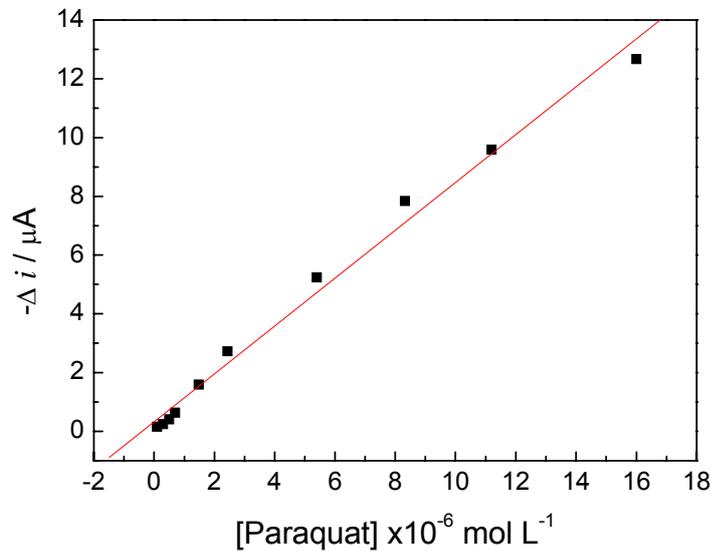


Figura 39 Curva analítica obtida empregando-se SWV na determinação de Paraquat nas condições supracitadas

4.8.3 Comparação das técnicas de SWV e DPV na determinação de Paraquat utilizando o minissensor/BiFE

Com todos os parâmetros relacionados às duas técnicas propostas e a construção das respectivas curvas analíticas para a determinação de Paraquat foi possível realizar uma comparação entre todos os resultados obtidos.

Na Tabela 24 observa-se alguns dados entre as técnicas propostas para a determinação de Paraquat.

Tabela 24. Comparação entre as técnicas propostas na determinação de Paraquat

Parâmetros	Voltametria de Onda Quadrada	Voltametria de Pulso Diferencial
Equação da reta ΔI_{pc} (μA)	$3,3 + 8,1 \times 10^5 [PQ1]$	$6,0 \times 10^{-2} + 9,5 \times 10^5 [PQ1]$
Limite de detecção ($mol L^{-1}$)	$4,2 \times 10^{-8}$	$1,2 \times 10^{-8}$
Linearidade ($mol L^{-1}$)	$9,9 \times 10^{-8}$ a $1,6 \times 10^{-5}$	$1,2 \times 10^{-7}$ a $4,2 \times 10^{-6}$
Sensibilidade ($\mu A mol L^{-1}$)	$8,1 \times 10^5$	$9,5 \times 10^5$

Nota-se que a voltametria de onda quadrada apresentou um limite de detecção maior que a técnica de voltametria de pulso diferencial, contudo a linearidade e a sensibilidade foram menores empregando-se a técnica voltamétrica de pulso diferencial. Considerando-se as concentrações baixas do pesticida em águas, optou-se em trabalhar com a técnica de pulso diferencial.

4.8.4 Estudo da influência dos interferentes em potencial na resposta do minissensor/BiFE para determinação de Paraquat

Após os experimentos estudou-se a interferência de cátions metálicos e ácido húmico nas medidas de voltametria de pulso diferencial na presença Paraquat na concentração $3,0 \times 10^{-6} mol L^{-1}$. Variou-se as concentrações dos interferentes de $3,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3} mol L^{-1}$, com adição de cada um separadamente e também adição simultânea. As concentrações dos cátions e ácido húmico apresentaram uma interferência igual ou menor que 5% conforme se observa na Tabela 25.

Tabela 25. Concentração estudada dos possíveis interferentes para a determinação de Paraquat $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (n=3)

Interferente	Concentração (mol L^{-1})	Interferência %
Alcalino e alcalino-terrosos	$1,0 \times 10^{-3}$	0,5
Hg ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	-1,5
Pb ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	2,2
Co ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	0,7
Ni ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	1,7
Cd ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	4,1
Cu ²⁺	$3,0 \times 10^{-5}$	-1,7
Ácido Húmico	$3,0 \times 10^{-5}$	0,8

4.8.5 Determinação de Paraquat em amostras da represa da UFSCar

O procedimento para a comparação do minissensor/BiFE na determinação de Paraquat foi o mesmo usado para a comparação utilizando BiFE, sendo desta maneira utilizado o HPLC¹⁰⁰ para a análise em 310 nm utilizando uma coluna C18 na determinação de Paraquat em amostras de água naturais fortificadas.

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 26 empregando-se o método proposto e o método comparativo estão em boa concordância a um nível de confiança de 95% (testes F e t-pareado). A amostra A₁ foi fortificada com o objetivo de se obter uma solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e as amostras A₂ e A₃ foram fortificadas para uma concentração igual ao valor máximo permitido apresentado na Tabela 1 e posteriormente pré-concentradas para se obter um solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 26. Determinação de Paraquat em amostras de água da represa da UFSCar adicionadas do analito

Amostras	Paraquat /10 ⁻⁶ mol L ⁻¹		Erro Relativo % **
	Método comparativo*	Método proposto	
A ₁	1,02 ± 0,06	1,00 ± 0,03	-1,96
A ₂	1,09 ± 0,01	1,12 ± 0,00	2,68
A ₃	1,02 ± 0,05	1,01 ± 0,02	-0,98

n=3

*HPLC com detecção espectrofotométrica em 310 nm

**Erro relativo % = 100 × (método proposto – método comparativo)/método comparativo

4.8.6 Comparação do BiFE e minissensor/BiFE desenvolvido com outros eletrodos propostos na literatura

A Tabela 27 apresenta resultados de procedimentos analíticos para a determinação de Paraquat e os apresentados neste trabalho (BiFE e minissensor/BiFE).

Tabela 27. Procedimentos analíticos desenvolvidos para a determinação de Paraquat

Autor	Eletrodo	Faixa linear mol L⁻¹	Limite de detecção mol L⁻¹
Lopes et al. ⁹³	Grafite pirolítico	5,0 x 10 ⁻⁷ a 2,9 x 10 ⁻⁵	1,0 x 10 ⁻⁷
El Mhanunedi et al. ⁹⁰	Pasta de carbono	8,0 x 10 ⁻⁷ a 2,0 x 10 ⁻⁵	1,5 x 10 ⁻⁸
De Souza et al. ⁹⁴	Microeletrodo de ouro	4,3 x 10 ⁻⁶ a 1,6 x 10 ⁻⁴	3,9 x 10 ⁻⁸
Lu, T.H. et al. ¹⁰²	Carbono vítreo/Nafion	3,9 x 10 ⁻⁹ a 3,9 x 10 ⁻⁷	1,9 x 10 ⁻⁹
Diaz et al. ⁶⁵	Carbono vítreo	3,9 x 10 ⁻⁶ a 3,1 x 10 ⁻⁵	3,2 x 10 ⁻⁶
Walcaricus et al. ⁶⁷	HMDE	5,0 x 10 ⁻⁸ a 1,0 x 10 ⁻⁵	3,4 x 10 ⁻⁸
Neste trabalho	BiFE	6,6 x 10 ⁻⁷ a 4,8 x 10 ⁻⁵	9,3 x 10 ⁻⁸
Neste trabalho	Minissensor/BiFE	1,2 x 10 ⁻⁷ a 4,2 x 10 ⁻⁶	1,2 x 10 ⁻⁸

Capítulo 5

Conclusões

5. Conclusões

O eletrodo de filme de bismuto desenvolvido neste trabalho mostrou ser de fácil construção e apresentou resultados bastante satisfatórios para a determinação de pesticidas em águas naturais.

Em virtude do sucesso alcançado com este eletrodo, foi proposta a construção de um minissensor de baixo custo com o propósito de determinar os analitos *in loco* como o auxílio de um potenciostato/galvanostato portátil.

Para a construção do minissensor optou-se em design que reunisse o eletrodo de trabalho, referência e auxiliar em um mesmo suporte. Como eletrodo de referência utilizou-se a cola de prata, como eletrodo de trabalho filme de bismuto eletrodepositado e como contra eletrodo cobre. Utilizaram-se placas de cobre de circuito impresso e esmaltes de unha como isolante elétrico para delimitar a área ativa dos eletrodos. Desta maneira foi possível se obter de um minissensor de baixo custo

Vale ressaltar que com cada minissensor é possível realizar uma média de 15 determinações antes de descartá-lo obtendo-se um desvio padrão relativo de 5,0% entre as medidas, a um nível de confiança de 95 %.

O eletrodo de filme de bismuto apresentou boa resposta voltamétrica para os seguintes parâmetros experimentais: eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ 15% etanol pH* 4,5, t_{pré} c.= 210 s, \square 10 mV s⁻¹, α 100 mV e t 40 ms desta maneira pode ser empregado o BiFE para a determinação de Atrazina presente em águas naturais em um intervalo de 6,6 x 10⁻⁷ a 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹, com limite de detecção de 1,4 x 10⁻⁷ mol L⁻¹ para a técnica de voltametria de pulso diferencial.

O eletrodo de filme de bismuto pode ser empregado para a determinação de Diquat em águas naturais utilizando a voltametria de onda quadrada sendo os valores ótimos selecionados freqüência de 30 Hz, amplitude 60 mV e incremento de varredura de 4 mV no intervalo de concentração de 1,9 x 10⁻⁷ a 5,6 x 10⁻⁶ mol L⁻¹, com limite de detecção de 8,7 x 10⁻⁶ mol L⁻¹

A determinação de Diquat em águas naturais pode ser realizada também utilizando minissensor de filme de bismuto pela voltametria de onda quadrada onde os parâmetros experimentais selecionados foram eletrólito suporte tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, freqüência de 60 Hz, amplitude 70 mV e incremento de varredura

de 2 mV f de 60 Hz, α de 70 mV e ΔE_s de 2 mV para um intervalo de concentração de $1,9 \times 10^{-7}$ a $9,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $8,9 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹

Foi possível usar o eletrodo de filme de bismuto na determinação de Paraquat em águas naturais por voltametria de pulso diferencial no intervalo de concentração de $6,6 \times 10^{-7}$ a $4,8 \times 10^{-5}$, com limite de detecção de $9,3 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, nas seguintes condições selecionadas: velocidade de varredura de 30 mV s⁻¹, tempo de pulso de 20 ms e amplitude de 50 mV.

O minissensor de filme de bismuto pode ser empregado para a determinação de Paraquat através da voltametria de pulso diferencial onde os parâmetros experimentais selecionados foram velocidade de varredura de 5 mV s⁻¹, tempo de pulso de 12 ms e amplitude de 20 mV para um intervalo de concentração de $6,6 \times 10^{-8}$ a $3,9 \times 10^{-6}$, com limite de detecção de $1,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

Capítulo 6

Perspectivas futuras

6. *Perspectivas futuras*

Durante o desenvolvimento deste trabalho, surgiram algumas perspectivas de trabalhos futuros na mesma linha de pesquisa.

Desenvolver procedimentos eletroanalíticos utilizando o minissensor com filme de bismuto para outros tipos de pesticidas, além de estudar as potencialidade do eletrodo de filme de bismuto para aplicação na determinação de diversas moléculas orgânicas.

Desenvolver procedimentos em fluxo com determinação amperométrica utilizando o minissensor para a quantificação de pesticidas ou outros analitos de interesse visando uma maior frequência analítica.

Capítulo 7
Referências
Bibliográficas

7. Referências bibliográficas

1. A. ECONOMOU & FIELDEN, P.R., "Mercury film electrodes: developments, trends and potentialities for electroanalysis". *Analyst*. **128**: 205, 2003.
2. WANG, J.; LU, J.M.; HOCEVAR, S.B.; FARIAS, P.A.M. & OGOREVC, B., "Bismuth-coated carbon electrodes for anodic stripping voltammetry". *Anal. Chem.* **72**(14): 3218, 2000.
3. CONCEIÇÃO, C.D.C.; FARIA, R.C.; FATIBELLO-FILHO, O. & TANAKA, A.A., "Electrocatalytic Oxidation and Voltammetric Determination of Hydrazine in Industrial Boiler Feed Water Using a Cobalt Phthalocyanine-modified Electrode". *Anal. Lett.* **41**(6): 1010, 2008.
4. LEGEAI, S. & VITTORI, O., "A Cu/Nafion/Bi electrode for on-site monitoring of trace heavy metals in natural waters using anodic stripping voltammetry: An alternative to mercury-based electrodes". *Anal. Chim. Acta.* **560**(1-2): 184, 2006.
5. VYTRAS, K.; SVANCARA, I. & METELKA, R., "A novelty in potentiometric stripping analysis: Total replacement of mercury by bismuth". *Electroanalysis*. **14**(19-20): 1359, 2002.
6. PAULIUKAITE, R.; METELKA, R.; SVANCARA, I.; KROLICKA, A.; BOBROWSKI, A.; VYTRAS, K.; NORKUS, E. & KALCHER, K., "Carbon paste electrodes modified with Bi₂O₃ sensors for the determination of Cd and Pb". *Anal. Bioanal. Chem.* **374**(6): 1155, 2002.
7. KROLICKA, A.; PAULIUKAITE, R.; SVANCARA, I.; METELKA, R.; BOBROWSKI, A.; NORKUS, E.; KALCHER, K. & VYTRAS, K., "Bismuth-film-plated carbon paste electrodes". *Electrochem. Commun.* **4**(2): 193, 2002.
8. KROLICKA, A.; BOBROWSKI, A.; KALCHER, K.; MOCÁK, J.; SVANCARA, I. & VYTRAS, K., "Study on catalytic adsorptive stripping voltammetry of trace cobalt at bismuth film electrodes". *Electroanalysis*. **15**(23-24): 1859, 2003.
9. KEFALA, G.; ECONOMOU, A.; VOULGAROPOULOS, A. & SOFONIOU, M., "A study of bismuth-film electrodes for the detection of trace metals by anodic stripping voltammetry and their application to the determination of Pb and Zn in tapwater and human hair". *Talanta*. **61**(5): 603, 2003.
10. HUTTON, E.A.; HOCEVAR, S.B. & OGOREVC, B., "Ex situ preparation of bismuth film microelectrode for use in electrochemical stripping microanalysis". *Anal. Chim. Acta.* **537**: 285, 2005.
11. LEGEAI, S.; SOROPOGUI, K.; CRETINON, M.; VITTORI, O.; DE OLIVEIRA, A.H.; BARBIER, F. & GRENIER-LOUSTALOT, M.F., "Economic bismuth-film microsensor for anodic stripping analysis of trace heavy metals using differential pulse voltammetry". *Anal. Bioanal. Chem.* **383**(5): 839, 2005.
12. LEGEAI, S.; BOIS, S. & VITTORI, O., "A copper bismuth film electrode for adsorptive cathodic stripping analysis of trace nickel using square wave voltammetry". *J. Electroanal. Chem.* **591**(1): 93, 2006.
13. CHARALAMBOUS, A. & ECONOMOU, A., "A study on the utility of bismuth-film electrodes for the determination of In(III) in the presence of Pb(II) and Cd(II) by square wave anodic stripping voltammetry". *Anal. Chim. Acta.* **547**(1): 53, 2005.
14. WANG, J. & LU, J.M., "Bismuth film electrodes for adsorptive stripping voltammetry of trace nickel". *Electrochem. Commun.* **2**(6): 390, 2000.

15. HUTTON, E.A.; HOCEVAR, S.B.; MAUKO, L. & OGOREVC, B., "Bismuth film electrode for anodic stripping voltammetric determination of tin". *Anal. Chim. Acta.* **580**(2): 244, 2006.
16. GUO, Z.Y.; FENG, F.; HOU, Y.X. & JAFFREZIC-RENAULT, N., "Quantitative determination of zinc in milkvetch by anodic stripping voltammetry with bismuth film electrodes". *Talanta.* **65**(4): 1052, 2005.
17. ZHANG, W.; TANG, H.; GENG, P.; WANG, Q.H.; JIN, L.T. & WU, Z.R., "Amperometric method for rapid detection of Escherichia coli by flow injection analysis using a bismuth nano-film modified glassy carbon electrode". *Electrochem. Commun.* **9**(4): 833, 2007.
18. NUNES, L.M.D.S. & FARIA, R.C., "The Influence of the Electrodeposition Conditions on the Electroanalytical Performance of the Bismuth Film Electrode for Lead Determination". *Electroanalysis.* **20**(20): 2259, 2008.
19. RENEDO, O.D.; ALONSO-LOMILLO, M.A. & MARTINEZ, M.J.A., "Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications". *Talanta.* **73**(2): 202, 2007.
20. WANG, J., "Decentralized electrochemical monitoring of trace-metals - from disposable strips to remote electrodes - plenary lecture". *Analyst.* **119**(5): 763, 1994.
21. EGGINGS, B.R., *Chemical Sensors and Biosensors*. 2002, Chichester: John Wiley and Sons.
22. HONEYCHURCH, K.C.; HART, J.P. & COWELL, D.C., "Voltammetric behavior and trace determination of lead at a mercury-free screen-printed carbon electrode". *Electroanalysis.* **12**(3): 171, 2000.
23. HONEYCHURCH, K.C.; HAWKINS, D.M.; HART, J.P. & COWELL, D.C., "Voltammetric behaviour and trace determination of copper at a mercury-free screen-printed carbon electrode". *Talanta.* **57**(3): 565, 2002.
24. DILLEEN, J.W.; SPRULES, S.D.; BIRCH, B.J. & HAGGETT, B.G.D., "Electrochemical determination of silver in photographic solutions using fixed-volume single-use sensors". *Analyst.* **123**(12): 2905, 1998.
25. LASCHI, S.; PALCHETTI, I. & MASCINI, M., "Gold-based screen-printed sensor for detection of trace lead". *Sensors and Actuators B-Chemical.* **114**(1): 460, 2006.
26. WANG, J. & TIAN, B., "Screen-printed electrodes for stripping measurements of trace mercury". *Anal. Chim. Acta.* **274**(1): 1, 1993.
27. WANG, J. & TIAN, B., "Mercury-free disposable lead sensors based on potentiometric stripping analysis at gold-coated screen-printed electrodes". *Anal. Chem.* **65**(11): 1529, 1993.
28. WANG, J. & PAMIDI, P.V.A., "Disposable screen-printed electrodes for monitoring hydrazines". *Talanta.* **42**(3): 463, 1995.
29. LIN, J.; ZHOU, D.M.; HOCEVAR, S.B.; MCADAMS, E.T.; OGOREVC, B. & ZHANG, X.J., "Nickel hexacyanoferrate modified screen-printed carbon electrode for sensitive detection of ascorbic acid and hydrogen peroxide". *Frontiers in Bioscience.* **10**: 483, 2005.
30. KOROLKOVAS, A. & BURCKHALTER, J.H., in *Química Farmacêutica*. 1988, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro p. 193.
31. CONAMA. **357** 17 março 2005.
32. *US Environmental Protection Agency*.
33. *Canadian Environmental Assessment Agency*.
34. ESSER, H.O.; DUPUIS, G.; EBERT, E.; MARCO, G. & VOGEL, C., In *Herbicides: Chemistry, degradation and mode of*

- action. Vol. 1. 1985, New York: P. C. Kearney and D. D. Kaufman.
35. *Agrochemicals Handbook*. 2 ed. 1987, Nottingham: Royal Society of Chemistry.
36. HATZIOS, K.K. & PANNER, R., *In Herbicides: Chemistry degradation and mode of action*; Vol. 3. 1988, New York: P. C. Kearney and D. D. Kaufman.
37. KESARI, R. & GUPTA, V.K., "A simple method for the spectrophotometric determination of atrazine using p-aminoacetophenone and its application in environmental and biological samples". *Talanta*. **47**(5): 1085, 1998.
38. HIPOLITO-MORENO, A.; LEON-GONZALEZ, M.E.; PEREZ-ARRIBAS, L.V. & POLO-DIEZ, L.M., "Non-aqueous flow-injection determination of atrazine by inhibition of immobilized tyrosinase". *Anal. Chim. Acta*. **362**(2-3): 187, 1998.
39. AMADOR-HERNANDEZ, J.; VALAZQUEZ-MANZANARES, M.; GUTIERREZ-ORTIZ, M.D.; HERNANDEZ-CARLOS, B.; PERAL-TORRES, M. & LOPEZ-DE-ALBA, P.L., "Simultaneous spectrophotometric determination of atrazine and dicamba in water by Partial Least Squares Regression". *Journal of the Chilean Chemical Society*. **50**(2): 461, 2005.
40. HERRANZ, S.; RAMON-AZCON, J.; BENITO-PENA, E.; MARAZUELA, M.D.; MARCO, M.P. & MORENO-BONDI, M.C., "Preparation of antibodies and development of a sensitive immunoassay with fluorescence detection for triazine herbicides". *Anal. Bioanal. Chem.* **391**(5): 1801, 2008.
41. ROCHA, C.; PAPPAS, E.A. & HUANG, C.H., "Determination of trace triazine and chloroacetamide herbicides in tile-fed drainage ditch water using solid-phase microextraction coupled with GC-MS". *Environmental Pollution*. **152**(1): 239, 2008.
42. BARANOWSKA, I.; BARCHANSKA, H.; ABUKNESHA, R.A.; PRICE, R.G. & STALMACH, A., "ELISA and HPLC methods for atrazine and simazine determination in trophic chains samples". *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **70**(2): 341, 2008.
43. MALOSCHIK, E.; ERNST, A.; HEGEDUS, G.; DARVAS, B. & SZEKACS, A., "Monitoring water-polluting pesticides in Hungary". *Microchemical Journal*. **85**(1): 88, 2007.
44. GHANEM, A.; BADOS, P.; PERREAU, F.; BENABDALLAH, R.; PLAGELLAT, C.; DE ALENCASTRO, L.F. & EINHORN, J., "Multiresidue analysis of atrazine, diuron and their degradation products in sewage sludge by liquid chromatography tandem mass spectrometry". *Anal. Bioanal. Chem.* **391**(1): 345, 2008.
45. PIRARD, C.; WIDART, J.; NGUYEN, B.K.; DELEUZE, C.; HEUDT, L.; HAUBRUGE, E.; DE PAUW, E. & FOCANT, J.F., "Development and validation of a multi-residue method for pesticide determination in honey using on-column liquid-liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry". *J. Chromatogr. A*. **1152**(1-2): 116, 2007.
46. CHENG, J.H.; LIU, M.; ZHANG, X.Y.; DING, L.; YU, Y.; WANG, X.Q.; JIN, H.Y. & ZHANG, H.Q., "Determination of triazine herbicides in sheep liver by microwave-assisted extraction and high performance liquid chromatography". *Anal. Chim. Acta*. **590**(1): 34, 2007.
47. MALEKI, N.; ABSALAN, G.; SAFAVI, A. & FARJAMI, E., "Ultra trace adsorptive stripping voltammetric determination of atrazine in soil and water using mercury film electrode". *Anal. Chim. Acta*. **581**(1): 37, 2007.
48. RAMON-AZCON, J.; VALERA, E.; RODRIGUEZ, A.; BARRANCO, A.; ALFARO, B.; SANCHEZ-BAEZA, F. & MARCO, M.P., "An impedimetric immunosensor based on interdigitated microelectrodes (ID mu E) for the determination of

- atrazine residues in food samples". *Biosensors & Bioelectronics*. **23**(9): 1367, 2008.
49. DOS SANTOS, L.B.O.; ABATE, G. & MASINI, J.C., "Determination of atrazine using square wave voltammetry with the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE)". *Talanta*. **62**(4): 667, 2004.
 50. DE SOUZA, D.; DE TOLEDO, R.A.; GALLI, A.; SALAZAR-BANDA, G.R.; SILVA, M.R.C.; GARBELLINI, G.S.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A. & MACHADO, S.A.S., "Determination of triazine herbicides: development of an electroanalytical method utilizing a solid amalgam electrode that minimizes toxic waste residues, and a comparative study between voltammetric and chromatographic techniques". *Anal. Bioanal. Chem.* **387**(6): 2245, 2007.
 51. D'AGOSTINO, G.; ALBERTI, G.; BIESUZ, R. & PESAVENTO, M., "Potentiometric sensor for atrazine based on a molecular imprinted membrane". *Biosensors & Bioelectronics*. **22**(1): 145, 2006.
 52. DOS SANTOS, L.B.O.; ABATE, G. & MASINI, J.C., "Developing a continuous flow-square wave voltammetry method for determination of atrazine in soil solutions using the hanging mercury drop electrode". *J. Braz. Chem. Soc.* **17**(1): 36, 2006.
 53. ANH, T.M.; DZYADEVYCH, S.V.; VAN, M.C.; RENAULT, N.J.; DUC, C.N. & CHOVELON, J.M., "Conductometric tyrosinase biosensor for the detection of diuron, atrazine and its main metabolites". *Talanta*. **63**(2): 365, 2004.
 54. GARBELLINI, G.S.; PEDROSA, V.A.; SALAZAR-BANDA, G.R. & AVACA, L.A., "Electroanalytical methodologies for the determination of triazine herbicides by square wave voltammetry and deconvolution techniques". *Quim. Nova*. **30**(8): 2025, 2007.
 55. DOS SANTOS, L.B.O.; SILVA, M.S.P. & MASINI, J.C., "Developing a sequential injection-square wave voltammetry (SI-SWV) method for determination of atrazine using a hanging mercury drop electrode". *Anal. Chim. Acta*. **528**(1): 21, 2005.
 56. CHICHARRO, M.; ZAPARDIEL, A.; BERMEJO, E. & MORENO, M., "Determination of 3-amino-1,2,4-triazole (amitrole) in environmental waters by capillary electrophoresis". *Talanta*. **59**(1): 37, 2003.
 57. PICO, Y.; RODRIGUEZ, R. & MANES, J., "Capillary electrophoresis for the determination of pesticide residues". *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. **22**(3): 133, 2003.
 58. SPRINGET, R.H., *The bipyridylum herbicides; their properties and use*. Outlook on Agriculture. Vol. 4. 1965.
 59. PRESTON, C.; BALACHANDRAN, S. & POWLES, S.B., "Investigations of mechanisms of resistance to bipyridyl herbicides in arctotheca-calendula (L) levyns". *Plant Cell Environ.* **17**(10): 1113, 1994.
 60. HAYES JR, W.J. & LAWS JR, E.R., *Handbook of pesticides toxicology*. Vol. 1. 1991, San Diego: Academic press.
 61. LOPEZ-PAZ, J.L.; CATALA-ICARDO, M. & ANTON-GARRIDO, B., "Determination of diquat by flow injection-chemiluminescence". *Anal. Bioanal. Chem.* **394**(4): 1073, 2009.
 62. PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZ-LOZANO, C.; TOMAS, V. & FENOLL, J., "Sensitive determination of diquat by a kinetic method using the stopped-flow mixing technique". *Analyst*. **125**(12): 2372, 2000.
 63. PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZ-LOZANO, C. & TOMAS, V., "Spectrofluorimetric determination of diquat by manual and flow-injection methods". *Anal. Chim. Acta*. **244**(1): 99, 1991.

64. MELO, L.C.; SALAZAR-BANDA, G.R.; MACHADO, S.A.S.; DE LIMA-NETO, P.; DE SOUZA, D. & CORREIA, A.N., "A simple and sensitive detection of diquat herbicide using a dental amalgam electrode A comparison using the chromatographic technique". *Talanta*. **79**(5): 1216, 2009.
65. DIAZ, T.G.; CABANILLAS, A.G. & SALINAS, F., "Square-wave and differential pulse oxidative voltammetric determination of diquat and paraquat in alkaline medium". *Electroanalysis*. **12**(8): 616, 2000.
66. LU, T.W. & SUN, I.W., "Determination of diquat at a Nafion film modified glassy carbon electrode using electrocatalytic voltammetry". *Electroanalysis*. **12**(8): 605, 2000.
67. WALCARIUS A. & LAMBERTS L., "Square wave voltammetric determination of paraquat and diquat in aqueous solution". *J. Electroanal. Chem.* **406**: 59, 1996.
68. DE SOUZA, D.; DE TOLEDO, R.A.; SUFFREDINI, H.B.; MAZO, L.H. & MACHADO, S.A.S., "Characterization and use of copper solid amalgam electrode for electroanalytical determination of triazines-based herbicides". *Electroanalysis*. **18**(6): 605, 2006.
69. DE SOUZA, D. & MACHADO, S.A.S., "Study of the electrochemical behavior and sensitive detection of pesticides using microelectrodes allied to square-wave voltammetry". *Electroanalysis*. **18**(9): 862, 2006.
70. NUNEZ, O.; MOYANO, E.; PUIGNOU, L. & GALCERAN, M.T., "Sample stacking with matrix removal for the determination of paraquat, diquat and difenzoquat in water by capillary electrophoresis". *J. Chromatogr. A*. **912**(2): 353, 2001.
71. ZOUGAGH, M.; BOUABDALLAH, M.; SALGHI, R.; HORMATALLAH, A. & RIOS, A., "Supercritical fluid extraction as an on-line clean-up technique for rapid amperometric screening and alternative liquid chromatography for confirmation of paraquat and diquat in olive oil samples". *J. Chromatogr. A*. **1204**(1): 56, 2008.
72. DE ALMEIDA, R.M. & YONAMINE, M., "Gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of the herbicides paraquat and diquat in plasma and urine samples". *J. Chromatogr. B*. **853**(1-2): 260, 2007.
73. PATEIRO-MOURE, M.; MARTINEZ-CARBALLO, E.; ARIAS-ESTEVEZ, M. & SIMAL-GANDARA, J., "Determination of quaternary ammonium herbicides in soils - Comparison of digestion, shaking and microwave-assisted extractions". *J. Chromatogr. A*. **1196**: 110, 2008.
74. KLAASSEN C.D., *Toxicology-the basic science of poisons*. 5 ed. 1989, New York: International Ed.
75. TAMPO, Y.; TSUKAMOTO, M. & YONAHARA, M., "Superoxide production from paraquat evoked by exogenous NADPH in pulmonary endothelial cells". *Free Radical Biology and Medicine*. **27**(5-6): 588, 1999.
76. POND, S.M., "Toxicology .5. manifestations and management of paraquat poisoning". *Medical Journal of Australia*. **152**(5): 256, 1990.
77. GIULIVI, C.; LAVAGNO, C.C.; LUCESOLI, F.; BERMUDEZ, M.J.N. & BOVERIS, A., "Lung damage in paraquat poisoning and hyperbaric-oxygen exposure - superoxide-mediated inhibition of phospholipase A (2)". *Free Radical Biology and Medicine*. **18**(2): 203, 1995.
78. NORDQUIST, R.E.; NGUYEN, H.; POYER, J.L. & CARUBELLI, R., "The role of free-radicals in paraquat-induced corneal lesions". *Free Radical Research*. **23**(1): 61, 1995.
79. HONORE, P.; HANTSON, P.; FAUVILLE, J.P.; PEETERS, A. & MAHIEU, P., "Paraquat poisoning - state-of-the-art". *Acta Clinica Belgica*. **49**(5): 220, 1994.

80. BISMUTH, C.; GARNIER, R.; DALLY, S.; FOURNIER, P.E. & SCHERRMANN, J.M., "Prognosis and treatment of paraquat poisoning - a review of 28 cases". *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*. **19**(5): 461, 1982.
81. INFANTE, C.M.C.; MORALES-RUBIO, A.; DE LA GUARDIA, M. & ROCHA, F.R.P., "A multicommutated flow system with solenoid micro-pumps for paraquat determination in natural waters". *Talanta*. **75**(5): 1376, 2008.
82. RAI, M.K.; DAS, J.V. & GUPTA, V.K., "A sensitive determination of paraquat by spectrophotometry". *Talanta*. **45**(2): 343, 1997.
83. LOPEZ-ERROZ, C.; VINAS, P.; CAMPILLO, N. & HERNANDEZ-CORDOBA, M., "Determination of paraquat in waters by enzymatic inhibition using flow-injection analysis". *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. **72**(4): 267, 1998.
84. SENDRA, B.; PANADERO, S. & GOMEZ-HENS, A., "Selective kinetic determination of paraquat using long-wavelength fluorescence detection". *J. Agric. Food Chem.* **47**(9): 3733, 1999.
85. BACIGALUPO, M.A.; MERONI, G.; MIRASOLI, M.; PARISI, D. & LONGHI, R., "Ultrasensitive quantitative determination of paraquat: Application to river, ground, and drinking water analysis in an agricultural area". *J. Agric. Food Chem.* **53**(2): 216, 2005.
86. PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZ-LOZANO, C.; TOMAS, V. & FENOLL, J., "Spectrofluorimetric determination of paraquat by manual and flow injection methods". *Analyst*. **123**(7): 1577, 1998.
87. ACEDO-VALENZUELA, M.I.; GALEANO-DIAZ, T.; MORA-DIEZ, N. & SILVA-RODRIGUEZ, A., "Determination of neutral and cationic herbicides in water by micellar electrokinetic capillary chromatography". *Anal. Chim. Acta*. **519**(1): 65, 2004.
88. ITO, M.; HORI, Y.; FUJISAWA, M.; ODA, A.; KATSUYAMA, S.; HIROSE, Y. & YOSHIOKA, T., "Rapid analysis method for paraquat and diquat in the serum using ion-pair high-performance liquid chromatography". *Biol. Pharm. Bull.* **28**(4): 725, 2005.
89. RIAL-OTERO, R.; CANCHO-GRANDE, B.; PEREZ-LAMELA, C.; SIMAL-GANDARA, J. & ARIAS-ESTEVEZ, M., "Simultaneous determination of the herbicides diquat and paraquat in water". *Journal of Chromatographic Science*. **44**(9): 539, 2006.
90. EL MHAMMEDI, M.A.; BAKASSE, M. & CHTAINI, A., "Electrochemical studies and square wave voltammetry of paraquat at natural phosphate modified carbon paste electrode". *J. Hazard. Mater.* **145**(1-2): 1, 2007.
91. EL MHANUNEDI, M.A.; BAKASSE, M. & CHTAINI, A., "Square-wave voltammetric determination of paraquat at carbon paste electrode modified with hydroxyapatite". *Electroanalysis*. **19**(16): 1727, 2007.
92. DE SOUZA, D.; MACHADO, S.A.S. & PIRES, R.C., "Multiple square wave voltammetry for analytical determination of paraquat in natural water, food, and beverages using microelectrodes". *Talanta*. **69**(5): 1200, 2006.
93. LOPES, I.C.; DE SOUZA, D.; MACHADO, S.A.S. & TANAKA, A.A., "Voltammetric detection of paraquat pesticide on a phthalocyanine-based pyrolytic graphite electrode". *Anal. Bioanal. Chem.* **388**(8): 1907, 2007.
94. DE SOUZA, D. & MACHADO, S.A.S., "Electroanalytical study of the paraquat herbicide in aqueous solution by square wave voltammetry using ultramicroelectrodes". *Quim. Nova*. **26**(5): 644, 2003.
95. DE SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MACHADO, S.A.S. & AVACA, L.A., "Electroanalytical determination of the herbicide paraquat in natural water and

- commercial tea samples with gold electrodes obtained from recordable compact disc". *Anal. Lett.* **38**(2): 331, 2005.
96. SAAD, B.; ARIFFIN, M. & SALEH, M.I., "Flow injection potentiometric determination of paraquat in formulations and biological samples". *Talanta.* **47**(5): 1231, 1998.
 97. 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". *Anal. Chim. Acta.* **260**(1): 19, 1992.
 98. DE 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". *J. Braz. Chem. Soc.* **15**(5): 735, 2004.
 99. GOUVEIA, S.T.; FATIBELLO, O. & NOBREGA, J.D., "Flow-injection spectrophotometric determination of cyclamate in low-calorie soft drinks and sweeteners". *Analyst.* **120**(7): 2009, 1995.
 100. CHICHILA, T.M. & WALTERS, S.M., "Liquid-chromatographic determination of paraquat and diquat in crops using a silica column with aqueous ionic mobile phase". *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **74**(6): 961, 1991.
 101. NUNES, L.M.D.S., *Desenvolvimento de eletrodo de filme de bismuto depositado sobre cobre para aplicações eletroanalíticas*, in *Departamento de Química*. 2007, Universidade Federal de São Carlos São Carlos p. 73.
 102. LU, T.H. & SUN, I.W., "Electrocatalytic determination of paraquat using a nafion film coated glassy carbon electrode". *Talanta.* **53**(2): 443, 2000.