UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

THIAGO MATHEUS GUIMARÃES SELVA

**Métodos eletroanalíticos visando análises qualitativa e
quantitativa de pesticidas usando eletrodo de diamante
dopado com boro**

Versão corrigida da tese defendida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
06/10/2017

THIAGO MATHEUS GUIMARÃES SELVA

**Métodos eletroanalíticos visando análises qualitativa e
quantitativa de pesticidas usando eletrodo de diamante
dopado com boro**

*Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do Título de
Doutor em Ciências (No programa: Química)*

Orientador: Prof. Dr. Thiago Regis Longo Cesar da Paixão

São Paulo

2017

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

S182m Selva, Thiago Matheus Guimarães
 Métodos eletroanalíticos visando análises qualitativa e quantitativa
de pesticidas usando eletrodo de diamante dopado com boro /
Thiago Matheus Guimarães Selva. -- São Paulo, 2017.
 136p.

 Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade de
São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
 Orientador: Paixão, Thiago Regis Longo Cesar da

 1. Química analítica 2. Eletroquímica 3. Pesticidas carbamatos
4. Paraquate 5. Voltametria 6. Ferramentas quimiométricas 7.
Espectrometria de massas I. T. II. Paixão, Thiago Regis Longo
Cesar da, orientador.

543 CDD

*À minha mãe, Maria de Fátima, e
minha esposa, Jéssica, pelo apoio
constante e à minha filha, Alice,
nascida poucos meses antes
dessa conquista
Dedico!*

*Ao Professor Thiago Paixão pela amizade,
oportunidade, confiança, motivação e
ensinamentos durante este trabalho
Dedico!*

AGRADECIMENTO(S)

Agradeço primeiramente a minha mãe pelo incentivo inicial para que eu viesse para São Paulo realizar o curso de doutorado na Universidade de São Paulo.

À minha esposa Jéssica que conheci durante o curso, seu amor, motivação, companheirismo e apoio foram muito importantes para a execução deste trabalho.

À minha filha Alice, a maior motivação de todas, que me dá muitas alegrias e está me fazendo aprender coisas que jamais imaginaria.

Ao meu orientador Thiago Paixão, pela presença e orientação constante, pelos ensinamentos, pela amizade, pela compreensão, pela confiança, por fazer questão de sempre tornar o ambiente de trabalho ideal, o que tornou a execução deste trabalho menos árdua.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, em especial aos colegas Aldo Bueno, Claudia Maranhão, Eduardo Alécio, Fabiola Soraia, Fernando Cardoso, José Edson Gomes, Marcio Vilar e Suzana Lima por todo o apoio e confiança depositada, realmente sem o apoio de vocês eu nem teria conseguido iniciar este trabalho.

Ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo pela infraestrutura oferecida e em especial aos funcionários da pós-graduação por todo o auxílio dado.

Aos amigos Mônica Freire Belian, Wagner Eduardo da Silva, Hélcio José Batista e André Fernando Lavorante, professores da Universidade Federal Rural de Pernambuco, por sempre me apoiarem.

Ao amigo Williame Farias Ribeiro da Universidade Federal da Paraíba (campus Rio Tinto), que sempre me apoiou, motivou e aconselhou e mesmo distante parece sempre estar presente.

Aos colegas do Laboratório de Línguas Eletrônicas e Sensores Químicos (L₂ESQ), coordenado pelo orientador deste trabalho, em especial a José Ricardo da Silva (Zé Lindo), Letícia Francine

Mendes, Lígia Bueno, Thalita Guedes Silva, Vanessa Neiva de Ataíde, William Reis de Araújo e Wilson Akira Ameku.

Aos colegas do Laboratório de Automação e Instrumentação Analítica (LAIA) por sempre manter as portas abertas quando precisamos utilizar a excelente infraestrutura lá existente. Gostaria de agradecer em especial a Mauro Sérgio e Fernando Lopes por toda a ajuda durante esses quatro anos.

Ao Prof. Claudimir Lucio do Lago por disponibilizar gentilmente o equipamento para as análises de espectrometria de massas.

Aos colegas do Laboratório de Sensores Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos (LSEME) por estar sempre à disposição em ajudar, em especial a Abhishek Kumar, Alex Lima, Alan Lima, Anandhakumar Sukeri, Carla Santos e Gabriel Meloni.

À Professora Dr^a. Silvia Serrano e aos colegas Antônio William Oliveira Lima (in memoriam), Othon Campos e, em especial, ao Raphael Bacil Prata, do Laboratório de Bioeletroquímica e Eletroanalítica (LABEA).

À técnica de Laboratório Maria Cristina e ao ex-técnico de laboratório Marcos Kussuda pela amizade e apoio.

À ex-funcionária Nívea pela amizade e apoio com seu sagrado café da manhã e tarde, que tornou esse trabalho ainda mais prazeroso.

Finalmente, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa concedida.

RESUMO

Selva, T.M.G. **Métodos Eletroanalíticos Visando Análises Qualitativa e Quantitativa de Pesticidas Usando Eletrodo de Diamante Dopado com Boro**. 2017. 136p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Métodos analíticos empregando técnicas eletroquímicas foram desenvolvidos para o monitoramento qualitativo e quantitativo de pesticidas carbamatos. O sensor utilizado no desenvolvimento dos métodos foi o eletrodo de diamante dopado com boro pré-tratado catodicamente. No desenvolvimento do método qualitativo, foi possível discriminar e classificar cinco pesticidas carbamatos (aldicarb, carbaril, carbofurano, metomil e propoxur) com a ajuda de ferramentas quimiométricas, tais como análise de componentes principais e do algoritmo dos k -vizinhos mais próximos. Nesse método, os valores de corrente, obtidos por voltametria de onda quadrada, para os pesticidas foram utilizados como dados de entrada nas ferramentas quimiométricas. Um método eletroquímico, utilizando voltametria de pulso diferencial, para a quantificação do pesticida propoxur foi desenvolvido. Após a otimização dos parâmetros da técnica e das condições experimentais, construiu-se uma curva analítica de 1,66 a 155 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9935$) e limite de detecção estimado de 0,50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A exatidão do método foi avaliada por adição e recuperação em amostras de águas naturais, onde se alcançou níveis de recuperação na faixa de 86,7 a 103%. Para o pesticida pirimicarbe, foi realizado um amplo estudo visando elucidar o comportamento eletroquímico de oxidação desse composto, o qual foi suportado por dados de espectrometria de massas. Na faixa de pH estudada (2 a 8), o pirimicarbe apresentou três sinais de oxidação irreversíveis, sendo os dois primeiros dependentes do pH. Por outro lado, em experimento realizado em meio orgânico, evidenciou a presença de apenas um sinal de oxidação para o pesticida. Também foi desenvolvido um método eletroquímico por voltametria de pulso diferencial para a quantificação do pirimicarbe. Os parâmetros da técnica de voltametria de pulso diferencial foram otimizados utilizando planejamento experimental. A curva analítica apresentou faixa de trabalho de 2,00 a 219 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9982$) e limite de detecção estimado de 1,24 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O método de adição e recuperação juntamente com calibração externa foram utilizados para avaliação da exatidão do método em amostras de águas naturais, obtendo-se recuperações entre 88,6 e 96,3%. Adicionalmente, um método para a quantificação do pesticida paraquate foi desenvolvida utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. O pesticida apresentou dois sinais de redução reversíveis e com magnitude de corrente semelhantes, portanto, sendo possível utilizar qualquer um dos dois sinais para sua quantificação. Com a otimização dos parâmetros da técnica e das condições experimentais, foi possível obter uma curva analítica na faixa de 0,800 a 167 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9990$) e limite de detecção estimado em 70 nmol L^{-1} . O método foi aplicado em amostras de saliva humana e águas naturais e níveis de recuperação na faixa de 83,0 a 105% foram alcançados. Vale ressaltar que todos os métodos analíticos aqui propostos apresentaram simplicidade, confiança e podem ser considerados adequados tanto para análises de rotina quanto para aplicações em campo, devido à portabilidade apresentada pelos métodos eletroquímicos.

Palavras-chave: Pesticidas carbamatos; Paraquate; Voltametria; Ferramentas quimiométricas; Espectrometria de massas.

ABSTRACT

Selva, T.M.G. **Electroanalytical Methods Aiming for Qualitative and Quantitative Analysis of Pesticides Using Boron Doped Diamond Electrode**. 2017. 136p. PhD Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Electroanalytical methods were developed for the qualitative and quantitative monitoring of carbamate pesticides. The sensor used for the development of the proposed methods was the boron-doped diamond electrode cathodically pre-treated. In the development of the qualitative method, it was possible to discriminate and classify five carbamate pesticides (aldicarb, carbaryl, carbofuran, methomyl and propoxur) using chemometric tools such as principal component analysis and the *k*-nearest neighbors algorithm. In qualitative approach, current values obtained by square-wave voltammetry for pesticides were used as input data of the chemometric tools. An electrochemical method, using differential pulse voltammetry, for the quantification of pesticide propoxur was also developed. At the best conditions (parameters of the technique and the experimental conditions), an analytical curve from 1.66 to 155 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.9935$) and an estimated detection limit of 0.50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ were obtained. The accuracy of the method was evaluated by addition and recovery approach in natural waters samples and recovery levels ranging from 86.7 to 103% were reached. For the pesticide pirimicarb, a study was carried out to elucidate the electrochemical oxidation behavior of this compound, which was supported by mass spectrometry data. In the pH range (2 to 8) studied, the pirimicarb shown three irreversible oxidation signals, the first two were pH-dependent. On the other hand, in an experiment carried out in organic medium, it exhibited the presence of only one oxidation signal for the pesticide. An electrochemical method was also developed by differential pulse voltammetry for the quantification of pirimicarb. The parameters of the differential pulse voltammetry technique were optimized using experimental design. The analytical curve showed a working range from 2.00 to 219 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.9982$) and an estimated detection limit of 1.24 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The addition and recovery approach with external calibration were used to evaluate the accuracy of the method in natural water samples, obtaining recoveries values between 88.6 and 96.3%. In addition, a method for the quantification of the paraquat pesticide was developed using the square-wave voltammetry technique. The pesticide presented two reversible reduction signals with similar current magnitude, therefore, it is possible to use either of the two signals for its quantification. Under optimized parameters of the technique and the experimental conditions, it was possible to obtain an analytical curve in the range from 0.800 to 167 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.9999$) and detection limit estimated of 70 nmol L^{-1} . This method was applied for human saliva and natural water samples and recovery levels ranging from 83.0 to 105% were achieved. It should be noted that all the analytical methods proposed here exhibited simplicity, reliability and can be considered adequate for routine analysis and in-field applications due to the portability characteristics of the electrochemical methods.

Keywords: Carbamate pesticides; Paraquat; Voltammetry; Chemometric tools; Mass spectrometry.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
1.1.	Pesticidas	17
1.2.	Pesticidas Carbamatos.....	18
1.3.	Paraquate	22
1.4.	Técnicas Voltamétricas	23
1.4.1.	VOLTAMETRIA CÍCLICA	24
1.4.2.	VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL	27
1.4.3.	VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA	28
1.5.	Eletrodo de Diamante Dopado com Boro	29
1.6.	Métodos Quimiométricos visando ao Reconhecimento de Padrões	32
1.6.1.	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS	32
1.6.2.	K-ÉSIMOS VIZINHOS MAIS PRÓXIMOS.....	33
1.7.	Objetivos	35
1.7.1.	OBJETIVO GERAL	35
1.7.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	36
2.1.	Reagentes e Soluções.....	36
2.2.	Equipamentos e Eletrodos	39
2.3.	Desenvolvimento de Método Eletroquímico Visando à Discriminação e Classificação de Pesticidas Carbamatos.....	41
2.3.1.	EXPERIMENTOS EXPLORATÓRIOS DE VOLTAMETRIA CÍCLICA	41
2.3.2.	VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA	41
2.3.3.	PREPARO DAS AMOSTRAS E ANÁLISES.....	42
2.3.4.	ANÁLISES QUIMIOMÉTICAS	43
2.4.	Desenvolvimento de Método Eletroquímico para a Quantificação do Pesticida Carbamato Propoxur	44
2.4.1.	VOLTAMETRIA CÍCLICA E DE VARREDURA LINEAR.....	44
2.4.2.	VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL	45
2.4.3.	ESTUDO DE INTERFERENTES.....	46
2.4.1.	PREPARO DAS AMOSTRAS E ANÁLISES.....	46
2.5.	Estudo Eletroquímico do Pesticida Carbamato Pirimicabe e Desenvolvimento Método Eletroquímico para a sua Quantificação.....	47
2.5.1.	VOLTAMETRIA CÍCLICA	47
2.5.2.	VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA	48

2.5.3.	VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL	48
2.5.4.	ELETRÓLISE DO PMC MONITORADA POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS	49
2.5.5.	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DP A SEREM USADOS NO DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO DO PMC.....	49
2.5.6.	ESTUDO DE INTERFERENTES.....	52
2.5.7.	PREPARO DAS AMOSTRAS E ANÁLISES.....	52
2.6.	Desenvolvimento de Método Eletroquímico para a Quantificação do Pesticida Paraquate.....	53
2.6.1.	VOLTAMETRIA CÍCLICA	53
2.6.2.	VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA	54
2.6.2.1.	Estudo da Influência do pH.....	54
2.6.2.2.	Estudo da Composição do Eletrólito Suporte.....	54
2.6.2.3.	Estudo dos Parâmetros da Técnica de Voltametria de Onda Quadrada.....	55
2.6.3.	PARÂMETROS ANALÍTICOS	55
2.6.4.	ESTUDO DE INTERFERENTES.....	56
2.6.5.	COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA E SALIVA	56
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
3.1.	Desenvolvimento de Método Eletroquímico Visando à Discriminação e Classificação de Pesticidas Carbamatos.....	58
3.1.1.	VOLTAMETRIA CÍCLICA DOS PESTICIDAS CARBAMATOS	58
3.1.2.	VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA E ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS	61
3.1.3.	CLASSIFICAÇÃO SUPERVISIONADA UTILIZANDO <i>k</i> -NN.....	72
3.2.	Desenvolvimento de Método Eletroquímico para a Quantificação do Pesticida Carbamato Propoxur	74
3.2.1.	VOLTAMETRIA CÍCLICA E DE VARREDURA LINEAR.....	74
3.2.2.	ESTUDO DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL	76
3.2.3.	DESEMPENHO ANALÍTICO	79
3.2.4.	ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS E ESTUDO DE INTEFERENTES	81
3.3.	Estudo Eletroquímico do Pesticida Carbamato Pirimicarbe e Desenvolvimento de Método Eletroquímico para a sua Quantificação.....	84
3.3.1.	COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DO PIRIMICARBE.....	84
3.3.2.	AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE ELETRO-OXIDAÇÃO DO PMC SOBRE A SUPERFÍCIE DO DDB.....	90
3.3.3.	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DP A SEREM UTILIZADOS NO DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO DO PMC	98
3.3.4.	DESEMPENHO ANALÍTICO	103

3.3.5.	ANÁLISES EM AMOSTRAS REAIS E ESTUDO DE INTERFERENTES	104
3.4.	Desenvolvimento de Método Eletroquímico para a Quantificação do Pesticida Paraquate.....	105
3.4.1.	VOLTAMETRIA CÍCLICA	105
3.4.2.	ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO pH	109
3.4.3.	ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DO ELETRÓLITO SUPORTE... ..	109
3.4.4.	ESTUDO DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA	110
3.4.5.	DESEMPENHO ANALÍTICO	114
3.4.6.	ESTUDO DE INTERFERENTES E ANÁLISE EM AMOSTRAS REAIS DE SALIVA E ÁGUA	116
4.	CONCLUSÕES.....	118
5.	PERSPECTIVAS.....	120
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	121

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química genérica do ácido carbâmico e dos carbamatos.	19
Figura 2. Estruturas químicas dos pesticidas carbamatos utilizados neste trabalho.	21
Figura 3. Estrutura química do Paraquate.	23
Figura 4. Sinais de excitação e resposta para a voltametria cíclica.	26
Figura 5. Sinal de excitação, E vs. t (A) e resposta, I vs. E (B) da voltametria de pulso diferencial. ΔE_s , degrau de potencial; ΔE_a , amplitude do pulso; τ , período do pulso; τ' , período total de um ciclo.	28
Figura 6. Sinal de excitação, E vs. t (A) e de resposta, I vs. E para um sistema reversível (B) para voltametria de onda quadrada. ΔE_s , degrau de potencial; ΔE_a , amplitude do pulso; τ , período.	29
Figura 7. Medida de ângulo de contato em superfícies de diamante dopado com boro H-terminado e O-terminado. Retirado com permissão do trabalho de Macpherson (61).	31
Figura 8. Célula eletroquímica, construída em Teflon®, acoplada ao eletrodo de diamante dopado com boro (8000 ppm).	40
Figura 9. Voltamogramas cíclicos registrados em Na_2SO_4 0,1 mol L ⁻¹ na presença e ausência de Aldicarbe 1 mmol L ⁻¹ . $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	58
Figura 10. Voltamogramas cíclicos registrados em Na_2SO_4 0,1 mol L ⁻¹ na presença e ausência de carbaril 1 mmol L ⁻¹ . $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	59
Figura 11. Voltamogramas cíclicos registrados em Na_2SO_4 0,1 mol L ⁻¹ na presença e ausência de carbofurano 1 mmol L ⁻¹ . $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	59
Figura 12. Voltamogramas cíclicos registrados em Na_2SO_4 0,1 mol L ⁻¹ na presença e ausência de metomil 1 mmol L ⁻¹ . $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	60
Figura 13. Voltamogramas cíclicos registrados em Na_2SO_4 0,1 mol L ⁻¹ na presença e ausência de propoxur 1 mmol L ⁻¹ . $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	60
Figura 14. Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodo de DDB para os cinco pesticidas carbamatos na concentração de 1 mmol L ⁻¹ em Na_2SO_4 0,1 mol L ⁻¹ . Parâmetros da voltametria SW: $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $\Delta E_a = 50 \text{ mV}$ e $f = 100 \text{ s}^{-1}$	62
Figura 15. Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodo de ouro para os cinco pesticidas carbamatos na concentração de 1 mmol L ⁻¹ em Na_2SO_4 0,1 mol L ⁻¹ . Parâmetros da voltametria SW: $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $\Delta E_a = 50 \text{ mV}$ e $f = 100 \text{ s}^{-1}$	63
Figura 16. Gráficos de escores das PCA's utilizando os dados obtidos com eletrodo de ouro (A), DDB (B) e os dados em conjunto para os dois eletrodos (C) e (D) em uma única concentração dos pesticidas. Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.	64
Figura 17. Gráficos de escores das PCA's utilizando os dados obtidos com eletrodo de ouro (A), DDB (B) e os dados em conjunto para os dois eletrodos (C). Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.	65
Figura 18. Voltamogramas de onda quadrada com corrente normalizada registrados com eletrodo de DDB para os cinco pesticidas carbamatos nas concentrações de 1, 2 e 3 mmol L ⁻¹ em Na_2SO_4 0,1 mol L ⁻¹ . Parâmetros da voltametria SW: $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $\Delta E_a = 50 \text{ mV}$ e $f = 100 \text{ s}^{-1}$	66
Figura 19. Gráficos de escores das PCA's utilizando os dados normalizados obtidos com eletrodo de ouro (A), DDB (B) e em conjunto para os dois eletrodos (C). Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.	67

Figura 20. Gráficos de escores 2D (A) e 3D (B) da PCA utilizando os dados obtidos com eletrodo de DDB. Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.	68
Figura 21. Gráficos de escores das PCA's utilizando os dados obtidos com eletrodo de DDB com o pré-processamento de normalização (A) e com os pré-processamentos de correção de linha de base e normalização. Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.	69
Figura 22. Voltamogramas SW com linha de base corrigida e corrente normalizada registrados com eletrodo de DDB para os cinco pesticidas carbamatos em concentrações de 50 a 3000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para CBF, MTM e PPX; de 500 a 3000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para ALD e de 500 a 2200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para CAR em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} . Parâmetros da voltametria SW: $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $\Delta E_a = 50 \text{ mV}$ e $f = 100 \text{ s}^{-1}$	70
Figura 23. Gráficos de escores 2D (A) e 3D (B) da PCA utilizando os dados com correção de linha de base e normalizados obtidos com eletrodo de DDB. Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.	71
Figura 24. Gráfico da análise de agrupamentos hierárquicos para os pesticidas carbamatos.	72
Figura 25. Gráfico da exatidão da validação cruzada em relação ao número de vizinhos mais próximos.	73
Figura 26. Voltamogramas cíclicos registrados com eletrodo de DDB numa solução de PPX 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes soluções tampão com força iônica de pelo menos 0,1 mol L^{-1} . $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. pH 2 (—), pH 3 (—), pH 5 (—) e pH 7 (—). A linha preta foi registrada na ausência de PPX numa solução tampão com valor de pH 5. O gráfico inserido traz o potencial (E) e a corrente de pico (I) vs. pH para as triplicatas.....	75
Figura 27. Voltamogramas de varredura linear registrados com eletrodo de DDB em solução de PPX 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão acetato (pH 5, $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em diferentes velocidades de varredura: (a) 5, (b) 10, (c) 25, (d) 50, (e) 100, (f) 200 e (g) 300 mV s^{-1} . O gráfico inserido é da corrente de pico (I) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$).	76
Figura 28. Gráficos dos valores de corrente de pico obtida pela oxidação do PPX sobre a superfície de DDB vs. amplitude de potencial (A), velocidade de varredura (B) e degrau de potencial (C) utilizando a técnica de voltametria DP.	77
Figura 29. Esquema da proposta de mecanismo de oxidação do PPX sobre superfície de DDB.	78
Figura 30. Voltamogramas DP com linha de base normalizada registrados para sucessivas adições de alíquotas da solução estoque de PPX em tampão acetato (pH 5, $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em eletrodo de DDB. (a) branco; (b) 1,66; (c) 3,32; (d) 4,98; (e) 6,62; (f) 9,90; (g) 16,4; (h) 32,3; (i) 47,6; (j) 76,9; (k) 104; (l) 130; (m) 155 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Parâmetros da voltametria DP: Degrau de potencial = 8 mV, Amplitude de potencial = 70 mV e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Gráfico inserido: Curva analítica.....	80
Figura 31. Voltamogramas DP registrados para quantificação de PPX em Bolfo® (a) pelo método de adição de padrão e três adições consecutivas de solução estoque de PPX para concentrações de 7,94 (b); 15,8 (c) e 23,4 (d) $\mu\text{mol L}^{-1}$. Gráfico inserido: Curva analítica obtida por adição de padrão nas mesmas condições da Figura 30.	82
Figura 32. Voltamogramas cíclicos registrados em soluções de PMC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com diferentes valores de pH. O voltamograma na ausência de PMC (linha preta) foi obtido numa solução tampão fosfato de pH 7. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	85
Figura 33. Voltamogramas cíclicos registrados numa solução de PMC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato (pH 7) em diferentes velocidades de varredura: (a) 10, (b) 25, (c) 50, (d) 100, (e) 200 e (f) 300 mV s^{-1} . O gráfico inserido é das correntes de pico (I) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$).....	86

Figura 34. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em soluções de PMC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH. Parâmetros da voltametria DP: Degrau de potencial = 10 mV, Amplitude de potencial = 50 mV e $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	87
Figura 35. Gráfico dos potenciais de pico (E_p) para os processos de oxidação do PMC versus o pH. Inclinações: $E_{p1} = 64$; $E_{p2} = 55$; $E_{p3} = 14$; e $E_{p4} = 10 \text{ mV pH}^{-1}$	88
Figura 36. Diagrama de distribuição de espécies simulado do PMC para diferentes valores de pH.	89
Figura 37. Voltamograma SW registrados em uma solução de PMC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão acetato (pH 5,5). Parâmetros da voltametria SW: Degrau de potencial = 10 mV, Amplitude de potencial = 70 mV e $f = 50 \text{ s}^{-1}$. I_T , corrente total resultante; I_d , corrente da varredura direta; I_r , corrente da varredura reversa.	90
Figura 38. Gráficos de $\log I_p$ vs. $\log \nu$ e E_p vs. $\log \nu$ para os quatro processos de oxidação do PMC: (a) E_{p1} ; (b) E_{p2} ; (c) E_{p3} e (d) E_{p4} . Estes dados foram obtidos por voltametria cíclica numa solução de PMC 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão acetato (pH 4).....	91
Figura 39. A) Voltamogramas DP registrados usando um eletrodo de DDB em diferentes misturas de solvente contendo PMC 0,5 mmol L^{-1} a) 100% meio orgânico, b) 75:25% meio misto orgânico:aquoso, c) 50:50% meio misto orgânico:aquoso e d) 25:75% meio misto orgânico:aquoso. Eletrólitos usados no meio orgânico e aquoso foram TBATFB 0,1 mol L^{-1} em acetonitrila e tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7). B) Voltamogramas DP registrados na ausência (- -) e presença (-) de PMC 0,5 mmol L^{-1} em meio misto orgânico:aquoso (25:75%). Parâmetros da voltametria DP: Degrau de potencial = 10 mV, Amplitude de potencial = 50 mV e $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	94
Figura 40. Voltamogramas DP registrados usando um eletrodo de DDB em diferentes soluções tampão na ausência de PMC. Eletrólitos usados: Tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 2,0 e 3,0), tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0 e 5,0) e tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 6,5 e 7,0). Parâmetros da voltametria DP: Degrau de potencial = 10 mV, Amplitude de potencial = 50 mV e $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Gráfico inserido: E_p vs. pH.	95
Figura 41. Espectro de massas das eletrólises do PMC em 1,2 V (A) e 1,8 V (B).....	96
Figura 42. Proposta de mecanismo de oxidação do PMC na superfície do eletrodo de DDB.	98
Figura 43. Gráficos de Pareto mostrando quais efeitos são significativos para os modelos linear e quadrático.....	100
Figura 44. Superfície de resposta obtida pelo planejamento composto central.	102
Figura 45. Voltamogramas DP com linha de base normalizada registrados em eletrodo de DDB para adições sucessivas da solução estoque de PMC 1,00 mmol L^{-1} em meio de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7). Parâmetros da voltametria DP: Degrau de potencial = 13 mV; Amplitude de potencial = 132 mV; e $\nu = 21 \text{ mV s}^{-1}$. (a) branco; (b) 2,00; (c) 3,98; (d) 5,96; (e) 7,94; (f) 11,9; (g) 19,6; (h) 38,5; (i) 56,6; (j) 74,1; (l) 107; (m) 138; (n) 167; (o) 219 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Gráfico inserido: curva analítica.	103
Figura 46. Voltamogramas cíclicos registrados na ausência e na presença de PQ 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em KCl 0,1 mol L^{-1} com pH ajustado para 9 em eletrodos de DDB, carbono vítreo, ouro e platina. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	106
Figura 47. Voltamogramas cíclicos registrados numa solução de PQ 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em KCl 0,1 mol L^{-1} com pH ajustado para 9 em eletrodo de DDB em diferentes velocidades de varredura: 10 (a); 25 (b); 50 (c); 100 (d); 200 (e); 400 (f) mV s^{-1} . Gráficos da corrente de pico I vs. $\nu^{1/2}$ para os picos P_{1c} e P_{1a} e P_{2c} e P_{2a}	108
Figura 48. Voltamogramas de onda quadrada com linha de base normalizada registrados para uma solução de PQ 74 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em soluções tampão com diferentes valores de pH (ver Tabela 2). Parâmetros da voltametria SW: Amplitude de potencial = 70 mV; Degrau de potencial = 2 mV; $f = 60 \text{ s}^{-1}$	109

Figura 49. Voltamogramas de onda quadrada com linha de base normalizada registrados numa solução de PQ $74 \mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes eletrólitos suporte com concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH ajustado para 9. Parâmetros da voltametria SW: Amplitude de potencial = 70 mV ; Degrau de potencial = 2 mV ; $f = 60 \text{ s}^{-1}$	110
Figura 50. Estudo da amplitude de potencial (ΔE_a). Voltamogramas para os valores de Amplitude de potencial = $30, 40, 50, 60$ e 70 mV ; Degrau de potencial = 4 mV e $f = 25 \text{ s}^{-1}$ (A). Gráfico de I vs. E_a . $C_{\text{PQ}} = 74 \mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9).....	111
Figura 51. Estudo da influência do degraú de potencial (ΔE_s). Voltamogramas para os valores de Degrau de potencial = $2, 4, 6, 8$ e 10 mV ; Amplitude de potencial = 70 mV e $f = 25 \text{ s}^{-1}$ (A). Gráfico de I vs. E_s (B). $C_{\text{PQ}} = 74 \mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9).	112
Figura 52. Estudo da frequência (f). Voltamogramas para os valores de $f = 20, 40, 60, 80$ e 100 s^{-1} ; Amplitude de potencial = 70 mV e Degrau de potencial = 2 mV (A). Gráfico de I vs. f (B). $C_{\text{PQ}} = 74 \mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9).	112
Figura 53. Gráfico da corrente de pico (I) vs. raiz quadrada da frequência ($f^{1/2}$).	113
Figura 54. Voltamogramas de onda quadrada com linha de base normalizada registrados em eletrodo de DDB para adições sucessivas de uma solução estoque de PQ $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9) (A). Parâmetros da voltametria SW: $f = 60 \text{ s}^{-1}$; Amplitude de potencial = 70 mV e Degrau de potencial = 2 mV . (a) 0,800; (b) 1,60; (c) 2,39; (d) 3,19; (e) 3,98; (f) 7,94; (g) 11,9; (h) 15,7; (i) 19,6; (j) 23,4; (k) 27,2; (l) 34,7; (m) 42,1; (n) 49,4; (o) 56,6; (p) 74,1; (q) 90,9; (r) 107; (s) 123; (t) 138; (u) 153; (v) 167 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Gráficos inseridos (B) e (C) traz as curvas analíticas para os picos P_1 e P_2	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Limites máximo residuais de pesticidas de alguns carbamatos para alguns dos alimentos com maior nível de agrotóxicos (19,20).	22
Tabela 2. Relação de reagentes utilizados mostrando a pureza e a procedência de cada.	36
Tabela 3. Composição e pH de soluções tampão com controle da força iônica (I) de pelo menos $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ajustadas com sulfato de sódio. Diluição para 100 mL.	38
Tabela 4. Composição e pH de soluções tampão utilizadas no método eletroquímico para quantificação de PQ. Diluição final para 100 mL.	39
Tabela 5. Planejamento composto central para otimização dos parâmetros da voltametria DP para a quantificação de PMC. Os experimentos com (C) representam os pontos centrais.	51
Tabela 6. Classificação das amostras de pesticidas reais pelo modelo do k-NN.	74
Tabela 7. Parâmetros da voltametria DP otimizados univariadamente para a quantificação de PPX.	78
Tabela 8. Parâmetros analíticos do método proposto para quantificação de PPX.	80
Tabela 9. Testes de recuperação em amostras reais ($N = 3$).	83
Tabela 10. Picos m/z identificados usando espectrometria de massas durante a eletrólise do PMC.	96
Tabela 11. Fatores, níveis e valores de resposta do planejamento experimental completo 2^3 composto central para otimização dos parâmetros da voltametria DP para a quantificação de PMC.	99
Tabela 12. Tabela de análise da variância (ANOVA) para o modelo quadrático ajustado a corrente de pico para oxidação do PMC baseado na variação do degrau, amplitude e velocidade de varredura.	101
Tabela 13. Parâmetros analíticos do método proposto para quantificação de PMC.	104
Tabela 14. Resultados da recuperação de PMC em amostras reais ($N = 3$).	105
Tabela 15. Parâmetros da voltametria SW otimizados de forma univariada para a quantificação de PQ.	114
Tabela 16. Parâmetros analíticos do método proposto para quantificação de PQ.	116
Tabela 17. Testes de recuperação em amostras reais utilizando pico P_1 ($N = 3$).	117

1. INTRODUÇÃO

1.1. Pesticidas

Pesticidas são compostos químicos utilizados mundialmente com o objetivo de proteger as plantações contra infestações devido a suas propriedades físico-químicas em controlar determinadas pragas (1) tais como ácaros, bactérias, fungos, ervas daninhas, insetos, vermes, roedores ou moluscos. Embora o intuito do uso dos pesticidas seja de aumentar a qualidade dos alimentos (2), tais substâncias podem ser extremamente nocivas aos seres humanos bem como aos animais, podendo causar sérios danos à saúde e levando até mesmo a morte (3,4).

O rápido crescimento populacional é apontado como o principal fator para o aumento no uso de pesticidas em produtos de origem agrícola e o uso desses produtos muitas vezes é realizado de forma indiscriminada (5,6). Um levantamento realizado pela World Health Organization (WHO) em 2014 aponta que a cada ano cerca de 800 mil pessoas morrem por suicídio e que o envenenamento por pesticidas está entre uma das principais causas. Isso se deve ao fácil acesso a esses produtos, o que fica ainda mais evidente em países subdesenvolvidos como é o caso do Brasil (7). De acordo com o site worldatlas.com, atualmente o Brasil é o quinto país que mais utiliza pesticidas, só perdendo para China, Estados Unidos, Argentina e Tailândia. O site ainda afirma que apenas 2% dos pesticidas usados atingem efetivamente o alvo, sendo assim, os 98% restantes acabam se tornando poluentes do ar, água e solo (8).

O alto grau de toxicidade apresentado pela maioria dos pesticidas tem chamado a atenção de autoridades, principalmente no que diz respeito à contaminação do meio ambiente e alimentos (3). Além disso, estudos mostram que os pesticidas podem estar intimamente relacionados ao

surgimento de câncer e de problemas mutagênicos em seres humanos (3). Recentemente na Europa, constatou-se que ovos de galinha estavam contaminados com um pesticida que é justamente utilizado para eliminar parasitas das galinhas, o fipronil. Os países que identificaram a contaminação descartaram os ovos e sacrificaram as galinhas. Esse pesticida é considerado moderadamente tóxico pela Organização Mundial de Saúde e pode causar vômito e até problemas neurológicos, dependendo do nível de intoxicação (9).

Inseticidas e herbicidas são duas das classes de pesticidas dentre as várias existentes. A primeira diz respeito a compostos utilizados com a finalidade de controle populacional de insetos, enquanto que a segunda está relacionada aos compostos utilizados no controle de ervas daninhas. Tanto insetos quanto as ervas daninhas podem ser prejudiciais para a agricultura, o que justificaria o uso e importância dos pesticidas. Por outro lado, estima-se que cada brasileiro atualmente consome cerca de 5 L de pesticida a cada ano (9). Portanto, o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis, de baixo custo e fácil operação, tanto para identificação como para o monitoramento dos níveis de pesticidas em diferentes matrizes, é de fundamental importância.

1.2. Pesticidas Carbamatos

Os pesticidas carbamatos estão entre as três maiores classes de pesticidas, os quais são principalmente usados como inseticidas ou fungicidas para fins agrícolas (10,11). O uso de tais compostos está crescendo cada vez mais devido ao aumento da demanda por alimentos (6,12).

Carbamatos são compostos orgânicos derivados do ácido carbâmico, cuja estrutura está apresentada na Figura 1, em que R^1 , R^2 e R^3 são hidrogênios no ácido carbâmico, enquanto nos

carbamatos R^1 é geralmente um anel aromático, R^2 é tipicamente o grupo metil e o R^3 pode ser hidrogênio, metil ou outro grupo de maior complexidade.

Figura 1. Estrutura química genérica do ácido carbâmico e dos carbamatos.

Desde a década de 1950, os carbamatos são usados como pesticidas para o controle de pragas. As principais vantagens do seu uso são o relativo baixo tempo de vida no meio ambiente, a efetividade e a vasta atividade biológica (3). Dentre os pesticidas carbamatos, o mais conhecido é provavelmente o Aldicarbe, conhecido popularmente pelo nome de “chumbinho”, o qual é vendido ilegalmente para uso como raticida no Brasil (13). Os carbamatos agem no sistema nervoso central dos seres vivos inibindo a ação da enzima acetilcolinesterase (AChE), a qual desempenha o papel de remover o excesso do neurotransmissor acetilcolina. A redução da atividade biológica da AChE causa um aumento de acetilcolina e leva o indivíduo a ter uma sinapse nervosa, podendo desencadear outros problemas de saúde tais como náusea, vômito, insuficiência respiratória e até mesmo a morte (14–16).

Os efeitos causados pela exposição aos carbamatos nos humanos, bem como em animais e no meio ambiente, têm gerado motivação com relação ao desenvolvimento de métodos analíticos para o monitoramento/quantificação dessa classe de compostos. Devido à instabilidade térmica apresentada pelos carbamatos, a cromatografia gasosa (CG) acoplada à diferentes detectores torna-se inviável visando à quantificação dessa classe de compostos (3). Contudo, vários métodos são

apresentados na literatura, sendo que a maioria deles reporta a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, *do inglês High Performance Liquid Chromathography*) utilizando detecção UV-Vis e amperométrica (17,18). Contudo, vale destacar que essas técnicas são dispendiosas, requerem equipe de trabalho especializada, envolvem diversas etapas para preparação das amostras (como pré-concentração), além de equipamentos sofisticados e de elevado custo.

Dessa forma, o desenvolvimento de métodos analíticos que permitam o monitoramento remoto dessas substâncias tanto no meio ambiente, quanto em alimentos, bem como em ambientes aquáticos a fim de monitorar e controlar seus níveis, é de extrema importância no que diz respeito à saúde humana e ao meio ambiente (3,4). Vale destacar que a simples determinação qualitativa dessas substâncias já seria de grande valia para definir rapidamente uma solução para a amostra problema, como por exemplo, escolha de um tipo de tratamento mais adequado daquele corpo aquático entre dois tipos de processos físico-químicos de tratamento.

A Figura 2 apresenta as estruturas dos pesticidas carbamatos aldicarbe, carbaril, carbofurano, metomil, propoxur e pirimicarbe, que foram utilizados no desenvolvimento deste trabalho. Todos esses pesticidas possuem autorização para serem utilizados no Brasil, com restrição ao aldicarbe, que possui apenas autorização de uso somente por agricultores cadastrados nos estados da Bahia, Minas Gerais e São Paulo (19).

Figura 2. Estruturas químicas dos pesticidas carbamatos utilizados neste trabalho.

A ANVISA possui uma classificação de grau toxicológico para os pesticidas que vai do I, extremamente tóxicos, ao IV, pouco tóxico. Os pesticidas aldicarbe, carbofurano e metomil estão na classificação I, enquanto que carbaril, pirimicarbe e propoxur são classificados na classe II. Portanto os pesticidas utilizados nesse trabalho são extremamente ou altamente tóxicos.

A Tabela 1 apresenta os limites máximos residuais (LMR) permitidos para quatro dos seis pesticidas carbamatos da Figura 2 em seis dos dez alimentos com maior nível de agrotóxicos de acordo com a ANVISA. Apenas para o aldicarbe e propoxur não serão apresentados, pois o uso do primeiro só é permitido em culturas de café, cana-de-açúcar e laranja, enquanto que o uso do segundo, conhecido comercialmente como Bolfo®, só é permitido em produtos de origem veterinária.

Tabela 1. Limites máximo residuais de pesticidas de alguns carbamatos para alguns dos alimentos com maior nível de agrotóxicos (19,20).

Pesticida	Limite máximo residual (mg kg ⁻¹)					
	Abacaxi	Alface	Cenoura	Couve	Pepino	Tomate
Carbaril	0,5	-	-	-	0,02	0,1
Carbofurano	-	-	0,5	-	-	0,1
Metomil	-	-	-	3,0	-	1,0
Pirimicarbe	-	1,0	-	1,0	1,0	1,0

1.3. Paraquate

O paraquate (dicloreto de 1,1-dimetil-4,4-bipiridílio, PQ), Figura 3, é um herbicida do tipo bipiridílio, também conhecido como metil-viologeno por apresentar coloração azul ou violeta na forma reduzida (21). É considerado um dos herbicidas mais usados e mais tóxicos no mundo (22). Apresenta alta solubilidade em água (620 g L⁻¹ a 25 °C) (23) devido ao fato de ser um sal quaternário de amônio e, portanto, apresenta elevada polaridade, o que o torna um potencial agente de contaminação de águas para abastecimento e mananciais. O uso do PQ é autorizado no Brasil (19), já nos Estados Unidos seu uso está sob revisão (24), enquanto na Europa seu uso é proibido (25). A agência de vigilância sanitária (ANVISA) classifica o PQ na classe toxicológica I, que é o grupo onde se encontram os compostos mais tóxicos tanto para o meio ambiente como para os humanos (19). Dentre os dez alimentos com maior nível em agrotóxicos segundo a Anvisa (20), o uso do PQ é permitido em dois deles, abacaxi e beterraba (19). Atualmente o uso do PQ está sob processo de reavaliação pela ANVISA (26).

Figura 3. Estrutura química do Paraquate.

O desenvolvimento de métodos analíticos para o monitoramento do PQ em diversas matrizes é de extrema importância, uma vez que o herbicida apresenta alta toxicidade e persistência no meio ambiente, além de possuir elevada solubilidade em água, e portanto pode ser lixiviado facilmente para o solo, rios e lençóis freáticos acarretando na contaminação desses reservatórios.

Diversos métodos para o monitoramento de PQ já foram reportados na literatura, dentre os quais podemos destacar os métodos baseados em cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas (27–29) e espectrofotométrica (30–32); cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (33,34); espectrofotometria (35,36); fluorescência (37); análise por injeção sequencial com detecção voltamétrica (38) e análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica (39–41) e potenciométrica (42); eletroforese capilar com detecção espectrofotométrica (29,43,44); e voltametria (45–50).

1.4. Técnicas Voltamétricas

Os métodos oficiais e mais utilizados para detecção e quantificação de pesticidas carbamatos, bem como de paraquate, estão baseados em cromatografia líquida de alta eficiência (3) associados a diversos tipos de detectores. Essa técnica apresenta alguns inconvenientes, tais como alto custo tanto do equipamento quanto dos itens consumíveis (colunas cromatográficas,

solventes ultrapuros, etc.), a falta de portabilidade dos instrumentos e a necessidade de mão de obra altamente especializada.

Dentre as técnicas eletroanalíticas, o conjunto das técnicas voltamétricas merece destaque por sua versatilidade, pois essas técnicas podem ser aplicadas para os mais diversos tipos de analitos e em diferentes meios. Além disso, essas técnicas possuem aplicações que vão além das analíticas. O requisito fundamental para a utilização direta desta técnica é que o analito apresente eletroatividade, o que pode depender da origem do substrato usado (eletrodo), do meio em que o analito está disperso (eletrólito suporte) e do próprio analito em si. Por outro lado, o uso indireto dessas técnicas também pode ser realizado, desde de que o analito não-eletroativo reaja com outra espécie química que seja eletroativa ou ainda que forneça um produto de reação que apresente eletroatividade. Os métodos eletroanalíticos são uma excelente alternativa frente aos cromatográficos, pois apresentam várias vantagens, como menor custo, sensibilidade, facilidade de automação e portabilidade (3,14).

1.4.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA

As técnicas voltamétricas permitem investigar processos redox ao avaliar relações entre a corrente elétrica (I) e o potencial (E) aplicado entre dois eletrodos, sendo um dos eletrodos o de trabalho (onde se deseja monitorar o comportamento eletroquímico do analito) e o outro de referência, ambos imersos em uma solução eletrolítica (51). Vale destacar que os sistemas potenciostáticos utilizam o sistema de três eletrodos, ou seja, além dos dois eletrodos mencionados anteriormente, há um terceiro eletrodo chamado de auxiliar ou contra eletrodo. Assim, a corrente que fluiria no eletrodo de referência, o qual é ligado à entrada de um amplificador operacional

(AO), irá fluir pelo eletrodo auxiliar, o qual é ligado à saída do AO. Os AO's possuem a característica de possuírem alta impedância de entrada, enquanto que a de saída é baixa. Desta maneira, nenhuma corrente significativa flui pelo eletrodo de referência, mantendo sua composição inalterada, o que mantém seu potencial constante. Dentre as técnicas voltamétricas, a voltametria cíclica (VC) é a mais utilizada na investigação de processos eletródicos, seja devido a sua relativa simplicidade no que diz respeito a quantidade de parâmetros (janela de potencial, sentido da varredura, velocidade de varredura e degrau de potencial), seja por fornecer rapidamente uma gama de informações termodinâmicas e cinéticas sobre uma reação redox (52,53). Assim, a VC é a primeira técnica voltamétrica a ser utilizada no estudo de um determinado sistema.

A VC consiste, em geral, em aplicar uma varredura de linear de potencial em função do tempo a um eletrodo de trabalho imerso em um solução e, assim, monitorar a corrente elétrica gerada pelo sistema em estudo. Na VC, é utilizada uma janela de potencial, que se inicia em um determinado potencial (E_0) e vai até outro valor de potencial, chamado de potencial do vértice (E_v), no qual o sentido da varredura é invertido e o ciclo é finalizado, geralmente, no potencial inicial. Assim, o sinal de excitação da VC possui a forma de uma onda triangular de potencial, obtendo-se como resposta a tal perturbação programada um gráfico de Corrente *vs.* Potencial (53,54). Na Figura 4 é possível observar gráficos do sinal de excitação e de sinais de resposta para a voltametria cíclica de um sistema reversível, quando há onda direta e reversa, e outro irreversível, quando não há onda reversa. Contudo, a ausência de onda reversa não indica necessariamente que se trata de um sistema irreversível, tendo em vista que um sistema reversível pode estar acoplado a uma reação química homogênea, gerando uma espécie que pode ou não ser eletroativa.

Figura 4. Sinais de excitação e resposta para a voltametria cíclica.

Outra técnica voltamétrica um pouco mais simples que a VC é a voltametria de varredura linear (VVL), a única diferença é que na VVL a varredura é realizada em um único sentido, ou seja, de um potencial inicial (E_0) até um final (E_f). É importante destacar que, devido à área do eletrodo de trabalho ser relativamente pequena (da ordem de 10^{-9} a 10^{-3} m²) frente ao volume de da solução e ao tempo, durante os experimentos voltamétricos sem convecção a quantidade de material consumida (oxidada ou reduzida) no processo é desprezível, ou seja, a concentração da solução permanece “inalterada” mesmo se o processo for irreversível e, desta forma, as técnicas de VC e VVL podem ser consideradas como técnicas não destrutivas de análise.

Há muitos casos em que o processo redox na superfície do eletrodo não é favorável eletroquimicamente, podendo haver o aparecimento de um par de picos (catódico e anódico) distantes entre si (quase-reversível) ou de apenas um pico (não-reversível). Além disso, dependendo da natureza da substância eletroativa, é possível que haja mais do que um processo redox, resultando em dois ou mais picos de corrente.

A VC é comumente utilizada com finalidade exploratória, a fim de se obter rapidamente diversos parâmetros físico-químicos de um determinado sistema. Por outro lado, seu uso para fins analíticos quantitativos é raro, devido à baixa sensibilidade apresentada pela técnica, resultado de

maior contribuição da corrente capacitiva. Assim, a busca por minimizar a contribuição da corrente capacitiva, aumentando a discriminação em relação a faradaica, deu origem às chamadas técnicas pulsadas, tais como voltametria de pulso normal (*do inglês, Normal Pulse Voltammetry*), voltametria de pulso diferencial (*do inglês, Differential Pulse Voltammetry*) e voltametria de onda quadrada (*do inglês, Square-Wave Voltammetry*). A diferença entre estas técnicas está na forma como os potenciais são aplicados em função do tempo ao eletrodo de trabalho. Neste texto, vamos comentar alguns detalhes e características apenas das voltametrias de pulso diferencial (voltametria DP) e de onda quadrada (voltametria SW).

1.4.2. VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL

Na voltametria DP um pulso de potencial de amplitude ΔE_a sobreposto a um sinal com o formato de escada com degraus (ΔE_s) é aplicado pelo sistema à célula. A Figura 5 apresenta a forma do sinal de excitação, bem como o de resposta obtida por essa técnica. A medição da corrente é realizada imediatamente antes da aplicação do pulso e bem próximo ao fim do pulso e a subtração entre esses dois valores de correntes é registrada em um voltamograma DP (55). Cada ciclo (τ') se inicia no momento da aplicação do pulso até o momento da aplicação do próximo pulso, enquanto que o período do pulso é representado por τ , o qual tem que ser obrigatoriamente menor que τ' . Na voltametria DP o sinal de resposta apresenta o formato de pico, como pode ser visto na Figura 5B. A voltametria DP é bastante útil para se determinar a quantidade de elétrons envolvida no processo redox, seja o sistema reversível ou irreversível, que obedece à equação $W_{1/2} = 90,4/n$, em que $W_{1/2}$ é a largura de pico a meia altura e n o número de elétrons envolvidos (52).

Figura 5. Sinal de excitação, E vs. t (A) e resposta, I vs. E (B) da voltametria de pulso diferencial. ΔE_s , degrau de potencial; ΔE_a , amplitude do pulso; τ , período do pulso; τ' , período total de um ciclo.

1.4.3. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

A voltametria de onda quadrada é uma técnica de pulso cujo uso vem crescendo nos últimos anos. Na Figura 6A é possível observar o sinal de excitação da voltametria SW, o qual é constituído pela sobreposição de um sinal em forma de escada de potencial com o de uma onda quadrada (pulsos de potencial direto e reverso). Desta maneira, os valores de corrente que compõem um voltamograma de onda quadrada é a diferença entre as correntes medidas a alguns milissegundos do final do pulso direto e reverso, como é possível observar na Figura 6B. Assim, numa única varredura são obtidos três voltamogramas SW, um relativo aos dados de corrente obtidos durante a varredura direta (I_1), outro obtido na varredura reversa (I_2) e um terceiro, que é a resultante das subtração dos valores de corrente obtidos anteriormente ($\Delta I = I_1 - I_2$).

As estratégias de aplicação de pulsos de potencial associadas à forma como é realizada a amostragem da corrente fazem com que haja maior discriminação entre as correntes capacitiva e faradaica, tendo em vista que a corrente capacitiva diminui exponencialmente com o tempo,

enquanto a faradaica diminui numa velocidade menor ($1/t^{1/2}$, t é o tempo) (56,57). Tais características tornam as técnicas de pulso mais sensíveis quando comparadas à voltametria cíclica ou de varredura linear (58). Além disso, a técnica se torna mais atrativa para fins quantitativos em sistemas do tipo reversíveis, uma vez que a corrente resultante poderá ser aumentada, quando comparado aos processos de oxidação e redução individualmente. Aliás, a comprovação da reversibilidade ou não de um sistema é uma das aplicações mais comuns dessa técnica.

Figura 6. Sinal de excitação, E vs. t (A) e de resposta, I vs. E para um sistema reversível (B) para voltametria de onda quadrada. ΔE_s , degrau de potencial; ΔE_a , amplitude do pulso; τ , período.

1.5. Eletrodo de Diamante Dopado com Boro

O uso de diamantes sintéticos dopados em eletroquímica foi feito pela primeira vez por Pleskov e colaboradores (59), que estudaram as propriedades fotoeletroquímicas de filmes sintéticos de diamantes depositados em substrato de tungstênio.

O diamante apresenta um “bandgap” relativamente alto, maior que 5 eV, portanto, trata-se de um isolante elétrico (60). Isso é uma consequência da hibridização sp^3 dos átomos de carbono no diamante, que possuem geometria tetraédrica. Essa característica tornaria o diamante inútil para

ser utilizado na área da eletroquímica, entretanto, a inclusão de átomos diferentes (dopagem) de carbono na rede cristalina do diamante altera completamente suas propriedades elétricas. Um dos elementos mais utilizados no processo de dopagem de diamante é o Boro, um dopante do tipo p. Contudo, também é possível dopar o diamante com nitrogênio (dopante do tipo n) (60,61).

Os dois métodos mais utilizados para a produção de diamantes dopados são o de deposição por vapor químico (CVD, *do inglês Chemical Vapor Deposition*) de filmes finos de diamante dopado e o de alta pressão alta temperatura (HPHT, *do inglês High Pressure/High Temperature*) (60).

Os diamantes dopados apresentam propriedades elétricas bem distintas do diamante em si, o qual é um isolante elétrico. É importante ressaltar que a condutividade elétrica do diamante dopado é função do nível de dopagem, assim, quanto maior a dopagem, menor a resistência elétrica (R) do material (60). Os principais fatores que influenciam as propriedades eletroquímicas dos eletrodos de diamantes dopados são, além do nível de dopagem, a terminação da superfície e a quantidade de átomos de carbono não-diamante (CND, carbono sp^2). O tipo de terminação, se é terminado com hidrogênio (H-terminado) ou oxigênio (O-terminado), modifica as propriedades eletroquímicas do material. A superfície do tipo H-terminado torna o material hidrofóbico, enquanto que a O-terminado, deixa a superfície hidrofílica. Isso pode ser avaliado qualitativamente através de medidas de ângulo de contato, como pode ser visto na Figura 7.

Figura 7. Medida de ângulo de contato em superfícies de diamante dopado com boro H-terminado e O-terminado. Retirado com permissão do trabalho de Macpherson (61).

É possível controlar eletroquimicamente a terminação da superfície do eletrodo de diamante dopado com boro (BDD) utilizando polarização catódica ou anódica, que é comumente realizada em meio aquoso contendo ácido sulfúrico ou nítrico (62–65). A polarização pode ser feita pelo controle do potencial ou da densidade de corrente. A polarização catódica causa uma evolução de gás hidrogênio (redução da água) na superfície do DDB, tornando-a H-terminada, enquanto que a polarização anódica (oxidação da água) gera uma evolução de oxigênio, o que torna a superfície O-terminada. É sempre aconselhável avaliar a resposta de uma determinada espécie em ambas as superfícies, uma vez que o tipo de terminação altera a cinética de transferência eletrônica da espécie a ser avaliada (61,65).

A presença de átomos de carbono não-diamante no DDB influencia diretamente nas suas propriedades eletroquímicas. A quantidade elevada de CND causa uma diminuição na faixa de potencial de trabalho do DDB, além de aumentar a corrente capacitiva e problemas de passivação, piorando os limites de detecção do método proposto. Em adição, aumenta a capacidade de adsorção da superfície do eletrodo (61). Portanto, pode-se dizer que o nível de CND na superfície do DDB é uma espécie de atestado de qualidade do eletrodo, a qual irá depender da aplicação.

As principais propriedades do DDB que o tornam tão atraente para aplicações eletroanalíticas são: possui uma das maiores faixas de potencial em meio aquoso, podendo chegar a aproximadamente 3,5 V de janela de potencial; baixa corrente de fundo; e capacidade mínima para adsorção. É importante ressaltar, como dito anteriormente, que tais propriedades estão diretamente relacionadas ao nível de dopagem, bem como da quantidade de CND (60,61,66,67).

Na literatura é possível encontrar uma grande diversidade de trabalhos com o DDB para fins eletroanalíticos, o que comprova que esse material é bastante robusto e muito promissor. O eletrodo de DDB já foi aplicado à quantificação de uma vasta gama de analitos e em diversas amostras, tais como para a quantificação de metais pesados (68–71), moléculas biológicas (72–75), fármacos (76–80), drogas (81), explosivos (82), contaminantes (83,84) e pesticidas (18,50,85–92).

1.6. Métodos Quimiométricos visando ao Reconhecimento de Padrões

1.6.1. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

Analisar e tentar reconhecer padrões a partir de informação química multivariada extraída a partir de métodos instrumentais é algo que seria bastante laborioso, tendo em vista o grande volume de informação que um voltamograma ou espectro UV-Vís pode fornecer (93). Desta maneira, a Análise de Componentes Principais (PCA, *do inglês Principal Component Analysis*) é um procedimento matemático que tem como objetivo reduzir a dimensionalidade e concentrar a maior parte da informação (variância) dos dados originais em um número menor de novas variáveis, as quais possuem um novo conjunto de coordenadas, chamadas de componentes principais, as quais são obtidas por combinações lineares dos dados originais (94). O número de

PC's geradas é igual ao número de variáveis originais, as quais são ordenadas em ordem decrescente de porcentagem de informação. Portanto, a primeira componente principal (PC1) possui a maior porcentagem de variância dos dados originais, a segunda (PC2) possui a maior porcentagem da variância restante no subespaço ortogonal a PC1, e assim por diante. Deste modo, todas as PC's são ortogonais entre si. De uma forma geral, cerca de 70% da informação dos dados originais ficam concentrados nas duas ou três primeiras componentes principais. Desta forma, a quantidade de PC's úteis é muito menor que as variáveis originais, o que facilita a interpretação do comportamento das amostras.

É importante ressaltar que a PCA é um algoritmo que não necessita de informação das amostras como dado de entrada (não supervisionado) sendo, portanto, amplamente utilizada como uma ferramenta exploratória. Através da PCA é possível estabelecer se há uma assinatura química para um determinado grupo de amostra, bem como é possível verificar se uma determinada amostra é semelhante ou não a um determinado conjunto de amostras. Isso é feito a partir da observação de um gráfico, chamado de escores. Além disso, é possível verificar qual(is) atributo(s) caracteriza(m) cada amostra. A PCA é extremamente útil para observar se há algum padrão nos dados originais e, assim, possibilitar a criação de modelo capaz de discriminar diferentes amostras utilizando outras técnicas. Numa PCA as linhas da matriz de dados corresponde aos objetos (ou amostras), enquanto que as colunas correspondem às variáveis extraídas do sistema que se deseja analisar, que no caso de voltamogramas são os valores de corrente amostrados para cada um dos potenciais da faixa utilizada.

1.6.2. *K*-ÉSIMOS VIZINHOS MAIS PRÓXIMOS

O método do k -ésimos vizinhos mais próximos (k -NN, *do inglês k-nearest neighbour*) usa informação prévia nos dados de entrada (supervisionado) para classificar uma determinada amostra. Seu algoritmo, bastante simples, usa a matriz de dados originais completa e a classificação é realizada por meio de uma medida de distância entre a amostra e um número pré-determinado de vizinhos (padrões) que estão mais próximos da amostra no espaço de n -dimensões dos dados originais. A distância mais comumente utilizada é a euclidiana. Contudo, antes da classificação, é necessário determinar o número de vizinhos que será utilizado para a classificação baseado na maior porcentagem de acertos. Isso é realizado por meio de validação cruzada, em que uma parte do conjunto de calibração (padrões) serão utilizados como se fossem amostras (conjunto teste). Existem várias formas de se escolher qual(is) padrão(ões) será(ão) usado(s) como conjunto teste, tais como *leave-one-out*, em que o software escolhe um padrão aleatoriamente para classificá-lo e o processo é repetido por uma número de vezes pré-estabelecido; *holdout*, em que os dados são separados em dois conjuntos, o de treinamento e o de teste, e tal separação é geralmente feita pelo operador do software, então o modelo irá prever a classificação dos padrões no conjunto de teste; *k-fold*, que consiste em dividir o conjunto de dados em k subconjuntos do mesmo tamanho, a seguir um desses subconjuntos é utilizado como conjunto teste, enquanto que os $k-1$ subconjuntos restantes são utilizados como conjunto de treinamento. O processo é então repetido k vezes e ao final a exatidão da predição é determinada.

A principal desvantagem do k -NN reside no fato de o modelo não conseguir informar se uma amostra em questão é muito diferente das usadas na calibração (*outlier*). Portanto, o modelo irá classificar qualquer amostra em algum dos tipos utilizados na calibração, mesmo que a composição da amostra seja completamente distinta daquelas utilizadas para a calibração (95).

1.7. Objetivos

1.7.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver métodos eletroquímicos visando à discriminação de pesticidas carbamatos e à quantificação de pesticidas (carbamatos e do paraquate) utilizando técnicas voltamétricas e eletrodo de diamante dopado com boro.

1.7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver sensor eletroquímico visando à discriminação de pesticidas carbamatos;
- Desenvolver um método eletroanalítico para a quantificação do pesticida carbamato propoxur;
- Desenvolver um método eletroanalítico para a quantificação do pesticida carbamato pirimicarbe;
- Desenvolver um método eletroanalítico para a quantificação do pesticida paraquate;

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e nenhuma purificação prévia foi realizada. Na Tabela 2 estão apresentados os reagentes utilizados, bem como a procedência e grau de pureza dos mesmos.

Tabela 2. Relação de reagentes utilizados mostrando a pureza e a procedência de cada.

Reagente	Pureza (%)	Procedência
Aldicarbe	99,9	Fluka®
Carbaril	99,9	Sigma-Aldrich®
Carbofurano	99,8	Sigma-Aldrich®
Metomil	99,9	Sigma-Aldrich®
Propoxur	99,8	Sigma-Aldrich®
Pirimicarbe	98,7	Sigma-Aldrich®
Acetonitrila	99,9	Merck®
Paraquate	98	Fluka®
Ácido Nítrico	65	Vetec®
Ácido Sulfúrico	95	Merck®
Ácido acético	99,7	Sigma-Aldrich®
Acetato de sódio	99	Nuclear®
Sulfato de sódio anidro	99	Synth®

Hidróxido de sódio	99	Merck®
Hidrogenofosfato de potássio	99	Merck®
Dihidrogenofosfato de potássio	99,5	Merck®
Tetraborato de sódio	99,5	Merck®
Cloreto de potássio	99,5	Merck®
Tetrafluorborato de tetrabutylamônio	>99%	Merck®

Soluções estoque de cada um dos pesticidas carbamatos numa concentração de 50 mmol L^{-1} foram preparadas em acetonitrila para serem utilizadas no desenvolvimento do método eletroquímico de discriminação e classificação dos carbamatos. Tal solvente foi utilizado devido à limitada solubilidade apresentada por alguns dos pesticidas.

Soluções estoque de propoxur (PPX) e pirimicarbe (PMC) $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foram preparadas em acetonitrila para a realização de estudos eletroquímicos exploratórios. Soluções de cada um dos dois pesticidas numa concentração de $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ foram preparadas em uma mistura de acetonitrila e tampão (20/80%). Para o PPX utilizou-se o tampão acetato (pH 5), enquanto que para o PMC foi utilizado o tampão fosfato (pH 7). A Tabela 3 apresenta a composição e os valores de pH das soluções tampão de concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e força iônica de pelo menos $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, ajustadas com o sal sulfato de sódio quando necessário, que foram utilizados no desenvolvimentos dos métodos eletroquímicos para o PPX e PMC.

Tabela 3. Composição e pH de soluções tampão com controle da força iônica (I) de pelo menos 0,1 mol L⁻¹ ajustadas com sulfato de sódio. Diluição para 100 mL.

Tampão	pH	Composição	Na ₂ SO ₄ / g
H ₃ PO ₄ /H ₂ PO ₄ ⁻	2	0,0052 mol H ₃ PO ₄ + 0,0048 mol H ₂ PO ₄ ⁻	0,246
H ₃ PO ₄ /H ₂ PO ₄ ⁻	3	0,0010 mol H ₃ PO ₄ + 0,0090 mol H ₂ PO ₄ ⁻	0,046
HAcO/AcO ⁻	4	0,0081 mol HAcO + 0,0019 mol AcO ⁻	0,386
HAcO/AcO ⁻	5	0,0030 mol HAcO + 0,0070 mol AcO ⁻	0,145
HAcO/AcO ⁻	5,5	0,0012 mol HAcO + 0,0088 mol AcO ⁻	0,058
H ₂ PO ₄ ⁻ /HPO ₄ ²⁻	6,5	0,0066 mol H ₂ PO ₄ ⁻ + 0,0034 mol HPO ₄ ²⁻	-
H ₂ PO ₄ ⁻ /HPO ₄ ²⁻	7	0,0037 mol H ₂ PO ₄ ⁻ + 0,0062 mol HPO ₄ ²⁻	-
H ₂ PO ₄ ⁻ /HPO ₄ ²⁻	7,5	0,0015 mol H ₂ PO ₄ ⁻ + 0,0085 mol HPO ₄ ²⁻	-
H ₂ PO ₄ ⁻ /HPO ₄ ²⁻	8	0,0005 mol H ₂ PO ₄ ⁻ + 0,0095 mol HPO ₄ ²⁻	-

A solução estoque de PQ 1,00 mmol L⁻¹ foi preparada por dissolução direta do herbicida em água deionizada obtida por sistema de purificação (Direct-Q® 5 Ultrapure Water Systems, Millipore, MA, EUA). A Tabela 4 apresenta as composições e os valores de pH das soluções tampão utilizadas no desenvolvimento do método eletroquímico para a quantificação do PQ.

Tabela 4. Composição e pH de soluções tampão utilizadas no método eletroquímico para quantificação de PQ. Diluição final para 100 mL.

pH	Composição
4	0,2 mol L ⁻¹ HAcO (75 mL) + 0,2 mol L ⁻¹ NaOAc (13,2 mL)
7	0,2 mol L ⁻¹ NaH ₂ PO ₄ (19,5 mL) + 0,2 mol L ⁻¹ Na ₂ HPO ₄ (30,5 mL)
9	0,1 mol L ⁻¹ HCl (3 mL) + 0,025 mol L ⁻¹ Na ₂ B ₄ O ₇ (50 mL)
12	0,2 mol L ⁻¹ NaOH (6 mL) + 0,2 mol L ⁻¹ KCl (25 mL)

2.2. Equipamentos e Eletrodos

As medições de pH foram realizadas em um pHmetro da Metrohm (modelo 827 pH lab) equipado com um eletrodo combinado de vidro (modelo Unitrode PT1000).

Voltamogramas cíclicos e de onda quadrada foram registrados em um potenciostato/galvanostato da Autolab (modelo PGSTAT128N) interfaceado a um microcomputador e controlado através do software NOVA 1.11. A célula eletroquímica consistiu em um sistema convencional de três eletrodos. Eletrodos de trabalho de carbono vítreo ($\phi = 1,6$ mm), platina ($\phi = 1,5$ mm), ouro ($\phi = 1,5$ mm) e diamante dopado com boro (DDB) com dopagens de 1000 ppm ($\phi = 3,0$ mm, Windsor Scientific), o qual foi utilizado no desenvolvimento do método eletroquímico para discriminação e classificação dos pesticidas carbamatos, e 8000 ppm (NeoCoat), usado no desenvolvimento dos métodos eletroquímicos para quantificação de PPX, PMC e PQ. O DDB com dopagem de 8000 ppm consiste em um filme policristalino de diamante depositado por vapor a frio sobre uma placa de silício (8×8 mm²). Portanto, uma cela foi construída em teflon para acoplar o DDB, a qual pode ser vista em detalhes na Figura 8. A célula apresentou volume de aproximadamente 5 mL. Eletrodos de fio de platina e Ag|AgCl_{sat.}|KCl (3 mol L⁻¹) (96)

foram utilizados como auxiliar e referência, respectivamente. Todos os eletrodos de trabalho, com exceção do DDB, foram polidos com suspensão de alumina ($0,3\ \mu\text{m}$) em feltro antes dos experimentos. No caso do eletrodo de DDB, antes de qualquer experimento, o mesmo era submetido a um tratamento eletroquímico que consistia em aplicar um potencial de $+3\ \text{V}$ por $5\ \text{s}$ seguido pela aplicação de $-3\ \text{V}$ por tempos de $60\ \text{s}$ até $300\ \text{s}$ em meio de ácido nítrico $1\ \text{mol L}^{-1}$ ou ácido sulfúrico $0,5\ \text{mol L}^{-1}$.

Figura 8. Célula eletroquímica, construída em Teflon®, acoplada ao eletrodo de diamante dopado com boro (8000 ppm).

Um espectrômetro de massas (6430 triple-quad mass spectrometer, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) com fonte de ionização por electrospray foi utilizado. Os parâmetros configurados para a fonte de ionização foram a pressão de $5\ \text{psi}$ para o nebulizador de N_2 , fluxo de gás N_2 seco de $6\ \text{L min}^{-1}$ a uma temperatura de $140\ ^\circ\text{C}$ e voltagem de entrada no capilar de $4,5\ \text{kV}$. O espectrômetro de massas foi operado no modo positivo e a composição do líquido auxiliar de contato foi de propionato de amônio $5\ \text{mmol L}^{-1}$ em uma mistura 1:1 de metanol e água.

2.3. Desenvolvimento de Método Eletroquímico Visando à Discriminação e Classificação de Pesticidas Carbamatos

Antes de realizar qualquer registro voltamétrico dos pesticidas carbamatos em quaisquer concentrações, os eletrodos foram submetidos a tratamentos para garantir as mesmas condições de superfície em cada medição. Para o DDB (1000 ppm), o tratamento consistia em uma polarização catódica da superfície do eletrodo através da aplicação de +3 V por 5 s seguido por -3 V por 60 s. Para os demais eletrodos (carbono vítreo, platina e ouro) foi realizado polimento manual por cerca de 2 minutos em feltro umedecido com suspensão aquosa de alumina de 0,3 μm .

2.3.1. EXPERIMENTOS EXPLORATÓRIOS DE VOLTAMETRIA CÍCLICA

Experimentos exploratórios utilizando a técnica de voltametria cíclica foram realizados a fim de se obter um panorama geral do comportamento eletroquímico dos pesticidas carbamatos na faixa anódica de potenciais. Estes experimentos serviram para decidir qual(is) seria(m) o(s) melhor(es) material(is) eletródico(s) para desenvolver o método de discriminação dos pesticidas carbamatos utilizados neste trabalho. Foram utilizados os eletrodos de DDB, carbono vítreo, platina e ouro. A velocidade de varredura aplicada foi de 100 mV s^{-1} e a concentração dos pesticidas foi de 1 mmol L^{-1} em meio de 0,1 mol L^{-1} de Na_2SO_4 como eletrólito suporte.

2.3.2. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

A voltametria de onda quadrada foi utilizada para se extrair informação eletroquímica acerca dos pesticidas carbamatos e, assim, utilizar essa informação como dados de entrada nas análises quimiométricas. Foram utilizados os seguintes parâmetros para a voltametria SW: $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $\Delta E_a = 50 \text{ mV}$ e $f = 100 \text{ s}^{-1}$. Voltamogramas eram registrados apenas na solução do eletrólito suporte ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de Na_2SO_4), antes do registro do voltamograma dos pesticidas em cada uma das concentrações, até se obter uma linha de base reprodutível, o que era conseguido com aproximadamente 6 varreduras. As concentrações padrão dos pesticidas utilizadas foram de 50, 100, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500 e $3000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para o aldicarbe (ALD), carbofurano (CBF), metomil (MTM) e propoxur (PPX). Para o carbaril (CAR) as duas maiores concentrações (2500 e $3000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) foram substituídas por uma de $2200 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, uma vez que, o pesticida apresentou problemas de solubilidade em níveis maiores de concentração.

2.3.3. PREPARO DAS AMOSTRAS E ANÁLISES

Foram adquiridos em lojas especializadas em produtos agrícolas os pesticidas comerciais Temik® 150, Furadan® 350 e Bolfo®, os quais possuem ALD, CBF e PPX, respectivamente, como principais compostos ativos. O Temik® se apresenta como um sólido granulado de coloração escura. O Furadan® é comercializado como um líquido viscoso de coloração rosa. O Bolfo® é um pó fino de coloração cinza.

Uma amostra do Temik® foi moída em um cadinho com pistilo, em seguida foi pesada uma massa adequada que possuía quantidade suficiente de ALD para gerar uma solução com concentração de ALD dentro da faixa de trabalho utilizada (50 a $3000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$). O ALD foi extraído com acetonitrila, utilizando cinco frações de 1 mL cada, as quais foram filtradas e,

posteriormente, transferidas para um balão volumétrico de 10,0 mL, o qual foi avolumado com acetonitrila.

Uma alíquota de 200 μL de Furadan® foi transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL e avolumado com acetonitrila, o qual rendeu uma solução de CBF com concentração entre o valor mínimo e máximo da faixa de trabalho utilizada (50 a 3000 $\mu\text{mol L}^{-1}$). A extração do CBF foi acelerada utilizando-se um agitador vortex.

Uma massa de Bolfo®, com quantidade suficiente de PPX para gerar 10,0 mL de solução e concentração de PPX dentro da faixa de trabalho utilizada (50 a 3000 $\mu\text{mol L}^{-1}$), foi pesada. A seguir 2 mL de acetonitrila foram adicionados a fim de extrair o PPX. A mistura foi filtrada e então transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL. O processo de extração e filtração foi repetido por mais três vezes e, por fim, o balão foi avolumado com acetonitrila.

As amostras foram analisadas de maneira similar ao usado nos padrões. De forma resumida, o eletrodo de DDB foi catodicamente polarizado e voltamogramas foram registrados na solução do eletrólito suporte até a obtenção de linha de base reprodutível. Em seguida, uma alíquota do pesticida era adicionada e seu voltamograma registrado. Para cada amostra, foram registrados voltamogramas em dois níveis de concentração.

2.3.4. ANÁLISES QUIMIOMÉTICAS

A análise de componentes principais e do k -ésimos vizinhos mais próximos foram realizadas com o software Statistica 12.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Os dados de corrente dos voltamogramas de onda quadrada registrados nas soluções contendo os pesticidas foram utilizados como dados de entrada para as análises quimiométricas. Além do pré-processamento de

auto-escalamento, que consiste em centrar na média e dividir pelo desvio padrão), que é utilizado na PCA, foram testados pré-processamentos adicionais como correção de linha de base e normalização dos valores de corrente, a fim de se obter uma melhor discriminação para os cinco pesticidas carbamatos.

No k -NN, a distância Euclidiana foi usada para classificar o conjunto teste e um procedimento de validação cruzada foi utilizado para avaliar o melhor valor de k vizinhos que resultaria na melhor exatidão. O mesmo tipo de distância foi utilizado para a classificação das amostras reais de pesticidas.

2.4. Desenvolvimento de Método Eletroquímico para a Quantificação do Pesticida Carbamato Propoxur

Antes de qualquer experimento, o eletrodo de DDB era submetido ao pretratamento catódico, o qual consistia em aplicar o potencial de 3 V por 5 s, seguido de -3 V durante, pelo menos, 60 segundos numa solução 1 mol L^{-1} de ácido nítrico. Quando era observado irreprodutibilidade dos resultados ou distorções nos sinais voltamétricos, o tempo utilizado durante a polarização catódica era aumentado até no máximo 300 s, no intuito de facilitar a transferência eletrônica entre a superfície do eletrodo e o analito.

2.4.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA E DE VARREDURA LINEAR

Os voltamogramas cíclicos foram obtidos numa faixa de potencial de 0 a 1,8 V em soluções tampão com os valores de pH 2, 3, 5 e 7 (Tabela 3) e com força iônica (I) ajustada com sulfato de

sódio para pelo menos $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, quando necessário. A velocidade de varredura utilizada foi de 100 mV s^{-1} . A Tabela 5 apresenta a composição das soluções tampão utilizadas. O estudo transporte de massa do PPX em direção à superfície do DDB foi realizado utilizando voltametria de varredura linear na mesma faixa de potencial mencionada anteriormente. A faixa velocidade de varredura utilizada foi de 5 a 300 mV s^{-1} . Nestes estudos, a concentração de PPX utilizada foi de $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

2.4.2. VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL

Antes dos experimentos de voltametria DP, o DDB era pretratado catodicamente como mencionado antes e dois conjuntos de cinco varreduras utilizando voltametria cíclica eram realizados a fim de obter uma linha de base estável e, portanto, uma melhor reprodutibilidade dos sinais de voltametria DP. As otimizações dos principais parâmetros da técnica, ou seja, velocidade de varredura (ν), degrau (ΔE_s) e amplitude (ΔE_a) de potencial foram realizados de maneira univariada. O ΔE_s foi investigado na faixa de 1 a 10 mV, enquanto que o ΔE_a foi avaliado de 20 a 100 mV e, por último, a velocidade de varredura foi investigada na faixa de 10 a 100 mV s^{-1} . A faixa de potencial utilizada na voltametria DP foi de 0,8 a 1,6 V e um potencial de condicionamento de 0 V por 5 s foi utilizado antes dos registros voltamétricos. Nestes estudos, a concentração de PPX na cela eletroquímica era de $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão acetato (pH 5, $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$)

Uma curva analítica foi obtida a partir dos parâmetros experimentais e da técnica de DPV otimizados. Na cela eletroquímica foram colocados 3,00 mL de ES tampão acetato (pH 5, $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e dez voltamogramas de pulso diferencial foram registrados. Foram adicionadas

sucessivas alíquotas de uma solução estoque $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ de PPX (20% de água e 80% de tampão acetato (pH 5)). Após as adições e antes dos registros voltamétricos, a solução era agitada por cerca de 10 s e três DP voltamogramas eram registrados para cada nível de concentração.

2.4.3. ESTUDO DE INTERFERENTES

Foram realizados experimentos a fim de avaliar se algumas espécies comumente encontradas em amostras de água natural poderiam causar interferência para o método de quantificação de PPX proposto. As espécies K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , HCO_3^- e SO_4^{2-} foram avaliadas numa proporção em concentração de 1:100 (PPX:espécie avaliada), enquanto que o cloreto foi avaliado numa proporção de 1:300. As espécies NO_2^- , Zn^{2+} , NH_4^+ , Cu^{2+} e Fe^{3+} foram avaliadas numa proporção de 1:10. As últimas duas espécies também foram avaliadas na mesma concentração do PPX. A concentração do PPX utilizada neste estudo foi de $10,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

2.4.1. PREPARO DAS AMOSTRAS E ANÁLISES

Duas amostras de água de torneira de diferentes mananciais foram coletadas. Uma amostra de um açude também foi analisada. Todas as três amostras de água foram filtradas com um filtro de membrana para seringa com diâmetro médio de poro de $0,45 \text{ } \mu\text{m}$ (Whatman®). Todas essas amostras foram coletadas na cidade de São Paulo, Brasil.

Uma formulação comercial contendo PPX como princípio ativo, conhecido como Bolfo®, foi adquirida numa loja de materiais para agricultura. O Bolfo®, um pó fino de coloração cinza, foi pesado ($0,0215 \text{ g}$) e, em seguida, o PPX foi extraído, utilizando quatro alíquotas de 2 mL de

acetonitrila como solvente extrator, seguido por filtração. O extrato foi aparado em um balão volumétrico de 50,0 mL. Posteriormente, foram adicionados cerca de 40 mL de água deionizada e o balão foi avolumado com acetonitrila.

O protocolo de análise foi realizado utilizando o método de adição de padrão. Os parâmetros da voltametria DP foram aqueles otimizados e na obtenção da curva analítica. Na célula eletroquímica, foram adicionados 500 μL de tampão acetato $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5, $I = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$) e 2,00 mL de amostra. Primeiramente, foi verificado se o sistema apresentaria algum sinal voltamétrico na região de oxidação do PPX. As amostras foram contaminadas com PPX para uma concentração final $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Após o registro de três varreduras por voltametria DP, três alíquotas da solução estoque de PPX $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ foram adicionadas e em cada adição, três voltamogramas DP eram registrados. Após cada adição e antes dos registros voltamétricos, a solução era agitada por 10 s.

2.5. Estudo Eletroquímico do Pesticida Carbamato Pirimicabe e Desenvolvimento

Método Eletroquímico para a sua Quantificação

Antes de qualquer experimento, o eletrodo de DDB foi pretratado catodicamente pela aplicação de +3 V por 5 s, seguido de -3 V por 60 s em solução de ácido sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Sempre que se observava falta de reprodutibilidade nos sinais voltamétricos, o tempo da polarização catódica era aumentado e o tempo máximo que se utilizava era de 300 s.

2.5.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA

A voltametria cíclica foi utilizada como técnica exploratória a fim de se estudar o comportamento eletroquímico do PMC em eletrodo de DDB em meio aquoso utilizando soluções tampão com os valores de pH 2, 3, 5, 7 e 8 (Tabela 3). A concentração do PMC utilizada nestes estudos foi de $500 \mu\text{mol L}^{-1}$. A faixa de potencial utilizada foi de -0,5 a 2 V e as velocidades de varredura aplicadas neste estudo variaram de 10 a 300 mV s^{-1} . No sentido de aprofundar o estudo do mecanismo de eletro-oxidação do PMC sobre a superfície de DDB, voltamogramas cíclicos foram registrados em velocidades de varredura que variaram de 20 a 1000 mV s^{-1} numa solução de PMC $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4).

2.5.2. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

A voltametria SW foi utilizada para avaliar a reversibilidade dos processos de oxidação do pirimicarbe observados por voltametria cíclica. Os voltamogramas foram registrados numa solução de PMC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão acetato (pH 5,5). Os parâmetros utilizados foram: degrau de potencial de 10 mV, amplitude 70 mV e frequência 50 s^{-1} .

2.5.3. VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL

A voltametria DP também foi utilizada para o estudo do mecanismo de oxidação do PMC, pois a técnica apresenta sensibilidade superior quando comparada à voltametria cíclica. Portanto, o uso dessa técnica pode fornecer parâmetros e novos indícios para a elucidação do mecanismo de oxidação do PMC. A faixa de potencial partiu de 0,5 V até no máximo 1,8 V e os parâmetros da DPV utilizados foram os seguintes: $\Delta E_a = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$ e $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. A concentração

de PMC utilizada neste estudo foi de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ e os voltamogramas foram registrados em soluções tampão com valores de pH que variaram de 2 a 8 (Tabela 3).

2.5.4. ELETRÓLISE DO PMC MONITORADA POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Foram realizadas duas eletrólises de uma solução de PMC $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão acetato de amônio 10 mmol L^{-1} (pH 10), uma em potencial de 1,2 V e outra em potencial de 1,8 V com o intuito de se obter mais detalhes sobre o mecanismo de oxidação do PMC na superfície do eletrodo de DDB. Na célula eletroquímica adicionaram-se 2,5 mL da solução de PMC e cada eletrólise foi realizada durante um período de 4 horas sob constante agitação por borbulhamento com gás argônio. A cada hora, uma alíquota de $100 \mu\text{L}$ era retirada da célula eletroquímica e então diluída cinco vezes. Em seguida, a solução diluída era injetada no espectrômetro de massas.

2.5.5. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DP A SEREM USADOS NO DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO DO PMC

No desenvolvimento do método para a quantificação de PMC, decidiu-se utilizar o planejamento experimental para otimizar os parâmetros da DPV a fim de aumentar a detectabilidade do PMC sobre a superfície do DDB. O planejamento experimental permite a otimização de métodos analíticos, processos químicos, etc., utilizando uma quantidade menor de experimentos, permitindo economizar tempo e reagentes (97). As variáveis escolhidas foram as

seguintes: (a) amplitude de potencial; (b) incremento de potencial; e (c) velocidade de varredura. Foi utilizado o planejamento completo 2^3 composto central com 3 replicatas no ponto central para que fosse possível estimar o erro puro. A Tabela 5 mostra os níveis superiores e inferiores utilizados, bem como os demais valores utilizados para compor o planejamento experimental. Como é possível ver na Tabela 6, foram necessários 17 experimentos, sendo 3 no ponto central para se obter o modelo que permitisse calcular os valores otimizados para os fatores que se mostraram significativos. Os experimentos foram realizados em ordem aleatória e os dados experimentais de corrente de pico foram avaliados pelo método da Análise da Variância (ANOVA). A análise dos dados foi realizada utilizando o software Statistica® 13.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

Tabela 5. Planejamento composto central para otimização dos parâmetros da voltametria DP para a quantificação de PMC. Os experimentos com (C) representam os pontos centrais.

	(1)	(2)	(3)
Experimento	Incremento de potencial (mV)	Amplitude de potencial (mV)	Velocidade de varredura (mV s^{-1})
1	6	50	10
2	6	50	30
3	6	150	10
4	6	150	30
5	14	50	10
6	14	50	30
7	14	150	10
8	14	150	30
9	3,27	100	20
10	16,73	100	20
11	10	15,91	20
12	10	184	20
13	10	100	3,18
14	10	100	36,82
15 (C)	10	100	20
16 (C)	10	100	20
17 (C)	10	100	20

Com os valores ótimos calculados pelo modelo obtido com o planejamento experimental, foi possível construir uma curva analítica para o PMC. Na cela eletroquímica foram adicionados 2,50 mL do eletrólito suporte, em seguida foram registrados dez varreduras por voltametria DP. Posteriormente, sucessivas alíquotas da solução estoque $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ de PMC foram adicionadas e a cada adição três voltamogramas DP eram registrados. Entre as varreduras a solução na cela foi agitada por 10 s.

2.5.6. ESTUDO DE INTERFERENTES

Algumas espécies comumente encontradas em água da torneira e em águas naturais foram avaliadas a fim de verificar se alguma delas poderiam interferir no sinal analítico do PMC. Neste caso também foi avaliado se dois pesticidas, sendo um carbamato (cabaril) e outro organofosforado (metil-paration) poderiam causar algum nível interferência ao método proposto. Assim, as espécies K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , NO_3^- , e SO_4^{2-} foram avaliadas numa concentração 100 vezes maior que a do PMC. As espécies Mg^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , e Fe^{3+} , além dos pesticidas carbaril e metil-paration, foram avaliados numa concentração 10 vezes maior que a do PMC. Por fim, Mg^{2+} , Cu^{2+} , e Fe^{3+} foram avaliados na mesma concentração que o PMC. A concentração do PMC utilizada nesse estudo foi de $10,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

2.5.7. PREPARO DAS AMOSTRAS E ANÁLISES

Três amostras de água, sendo duas de água da torneira e outra de um açude da cidade de São Paulo, foram utilizadas para aplicação do método proposto utilizando o método de adição e

recuperação. Uma quantidade conhecida de PMC foi adicionada às amostras e as análises foram realizadas por meio de curva analítica externa, ou seja, uma curva foi construída e a equação da reta foi obtida, em seguida as amostras foram analisadas. Nas análises, foram utilizados 2,00 mL de cada amostra adicionada na célula e em seguida foi colocada uma alíquota de 500 μL do tampão fosfato 0,5 mol L^{-1} (pH 7). Posteriormente, foram registrados três voltamogramas DP e a solução foi agitada sempre antes de cada varredura.

2.6. Desenvolvimento de Método Eletroquímico para a Quantificação do Pesticida Paraquate

Antes dos registros voltamétricos, o oxigênio era eliminado da solução do eletrólito suporte borbulhando-se argônio 99,996% por 15 minutos. O eletrodo de trabalho utilizado nos experimentos de quantificação do paraquate foi o DDB. Em adição, para obter uma repetibilidade adequada dos resultados, sempre antes do início dos experimentos e sempre que era observada falta de reprodutibilidade dos resultados, tais como perda de sinal e distorção nos voltamogramas, a superfície do DDB era submetida ao pretratamento catódico, como descrito na seção 2.2.

2.6.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA

Os voltamogramas cíclicos foram registrados numa solução de paraquate 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em KCl 0,1 mol L^{-1} com pH ajustado para 9 com NaOH 0,5 mol L^{-1} , em eletrodos de carbono vítreo, platina, ouro e DDB. A velocidade de varredura (v) foi de 100 mV s^{-1} e a faixa de potencial utilizada

foi de -0,2 a -1,3 V, com exceção do eletrodo de platina, para o qual foi utilizada uma janela de -0,2 a -0,8 V, devido ao baixo sobrepotencial para a redução da água apresentado por este eletrodo.

2.6.2. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

A voltametria SW foi utilizada no desenvolvimento do método para quantificação do PQ. Assim, condições experimentais tais como pH e composição do eletrólito suporte foram realizados utilizando esta técnica. Também foram estudados os parâmetros da técnica, ou seja, degrau de potencial (ΔE_s), amplitude de potencial (ΔE_a) e frequência (f).

2.6.2.1. Estudo da Influência do pH

A influência do pH no sinal do PQ foi estudada com as soluções da Tabela 2. Os voltamogramas SW foram realizados em uma solução de PQ $74 \mu\text{mol L}^{-1}$ para cada pH. Os seguintes parâmetros da voltametria SW foram utilizados: $\Delta E_a = 70 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 60 \text{ s}^{-1}$, o que gera uma velocidade de varredura efetiva de 120 mV s^{-1} .

2.6.2.2. Estudo da Composição do Eletrólito Suporte

A influência da composição do eletrólito suporte frente ao sinal voltamétrico do PQ foi investigada. Quatro sais foram utilizados, Na_2SO_4 , KNO_3 , KCl e $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, todos em concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH ajustado para 9 com $\text{NaOH } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Voltamogramas SW foram registrados

numa solução de PQ $74 \mu\text{mol L}^{-1}$ em cada um dos eletrólitos. Os parâmetros da voltametria SW foram os mesmos utilizados para o estudo do pH.

2.6.2.3. Estudo dos Parâmetros da Técnica de Voltametria de Onda Quadrada

Os principais parâmetros da voltametria SW foram estudados a fim de obter a melhor relação entre valor de corrente de pico e a forma do pico. Os valores de amplitude de potencial (ΔE_a) estudados foram 30, 40, 50, 60 e 70 mV. Para o degrau de potencial (ΔE_s), os valores estudados foram 2, 4, 6, 8 e 10 mV. Por fim, a frequência (f) foi investigada nos valores de 20, 40, 60, 80 e 100 s^{-1} . O estudo foi realizado de forma univariada, ou seja, variava-se apenas o parâmetro estudado, enquanto que os demais eram mantidos constantes.

2.6.3. PARÂMETROS ANALÍTICOS

Após a otimização dos parâmetros da voltametria SW e das condições experimentais, uma curva analítica foi construída. Na célula eletroquímica foram adicionados 2,5 mL do eletrólito suporte e o oxigênio dissolvido foi eliminado borbulhando-se argônio. Em seguida, foram realizadas várias varreduras utilizando a voltametria SW na solução do eletrólito suporte até a estabilização da linha de base. Posteriormente, alíquotas da solução estoque $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ foram adicionadas sucessivamente na faixa de 0,800 a $167 \mu\text{mol L}^{-1}$ e para cada adição foram registrados três voltamogramas. A repetibilidade foi avaliada através do registro de 20 voltamogramas sucessivos em uma solução de PQ $74 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram estimados estatisticamente (93) usando as equações $\text{LD} = 3\sigma/b$ e $\text{LQ} = 10\sigma/b$, onde σ é o

desvio padrão para 10 medidas do sinal do branco e S , a inclinação obtida pela curva analítica. A exatidão do método foi verificada por de ensaios de adição e recuperação.

2.6.4. ESTUDO DE INTERFERENTES

A possível interferência de algumas espécies encontradas na saliva em quantidades significativas foi estudada. As espécies avaliadas foram o ácido úrico, ácido láctico e glicose. A concentração dessas espécies foi 10 vezes maior que a concentração do PQ utilizada ($10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$).

2.6.5. COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA E SALIVA

Duas amostras de água, sendo uma de torneira e outra de um rio, foram coletadas em frasco plástico utilizado em laboratórios para acondicionamento de soluções. As amostras foram filtradas em membranas porosas de $0,45 \mu\text{m}$ (Whatman®). A seguir, uma alíquota foi contaminada com paraquate para uma concentração final $5,00 \mu\text{mol L}^{-1}$, então foi diluída 5 vezes com o eletrólito suporte.

O uso da saliva como amostra biológica apresenta uma série de vantagens e pode servir como indicativo para saber o nível de envenenamento de um indivíduo. A literatura sugere que o monitoramento de agentes tóxicos e patológicos em saliva possui um grande potencial, uma vez que a principal forma de intoxicação se dá por via oral, embora em alguns casos raros ocorra a intoxicação por inalação e por via dérmica (13,98,99). Além disso, a coleta da amostra é simples

não-invasiva (100). A literatura também reporta uma correlação entre as concentrações de agentes tóxicos no plasma e na saliva (101).

As amostras de saliva foram coletadas em tubos de falcon de cinco voluntários adultos saudáveis por meio da salivação natural. Antes de realizar a análise voltamétrica, uma determinada alíquota de cada amostra foi contaminada com PQ para uma concentração final $25,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas e uma alíquota do sobrenadante foi diluída 25 vezes, a fim de reduzir o conteúdo proteico, com a solução do eletrólito suporte.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Desenvolvimento de Método Eletroquímico Visando à Discriminação e Classificação de Pesticidas Carbamatos

3.1.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA DOS PESTICIDAS CARBAMATOS

As Figuras 9 a 13 apresentam os voltamogramas cíclicos dos pesticidas ALD, CAR, CBF, MTM e PPX, respectivamente, registrados em eletrodos de DDB, carbono vítreo, platina e ouro em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em faixas de potencial de 0 até no máximo $1,8 \text{ V}$.

Figura 9. Voltamogramas cíclicos registrados em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença e ausência de Aldicarbe 1 mmol L^{-1} . $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 10. Voltamogramas cíclicos registrados em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença e ausência de carbaril 1 mmol L^{-1} . $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 11. Voltamogramas cíclicos registrados em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença e ausência de carbofurano 1 mmol L^{-1} . $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 12. Voltamogramas cíclicos registrados em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença e ausência de metomil 1 mmol L^{-1} . $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 13. Voltamogramas cíclicos registrados em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença e ausência de propoxur 1 mmol L^{-1} . $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Pela análise dos resultados apresentados nas Figuras 9 a 13 pode-se afirmar que sobre a superfície do eletrodo de platina nenhum dos pesticidas apresentou sinal faradaico que pudesse ser aproveitado analiticamente, portanto este eletrodo foi descartado nos experimentos seguintes. Nos eletrodos de DDB e carbono vítreo, todos os pesticidas apresentaram algum sinal de oxidação na mesma região de potencial, contudo, de maneira geral os sinais observados no eletrodo de DDB foram mais intensos, além de a corrente de fundo serem bem menores ao se utilizar esse eletrodo. Assim, por se tratar de duas superfícies carbonáceas que podem gerar informações parecidas, optou-se por descartar o carbono vítreo e utilizar o eletrodo de DDB nos experimentos posteriores.

No caso do eletrodo de ouro, verifica-se em geral que os pesticidas não apresentaram necessariamente sinais redox provenientes dos pesticidas, porém, de alguma forma os pesticidas influenciavam nos sinais de oxidação e redução derivados do próprio material eletródico. Além disso, é possível observar que os voltamogramas em eletrodo de ouro na ausência dos pesticidas não apresentaram uma reprodutibilidade adequada. No entanto, decidiu-se avaliar a utilização do eletrodo de ouro em conjunto com o de DDB para extrair informação eletroquímica por voltametria de onda quadrada e, assim, tentar discriminar/classificar os pesticidas.

3.1.2. VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA E ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS

Após a escolha dos materiais eletródicos para se extrair a informação voltamétrica dos pesticidas utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, foram utilizados PCA e *k*-NN com o intuito de discriminar e classificar, respectivamente, os pesticidas. Na primeira, foram registrados voltamogramas de onda quadrada, na faixa de potencial de 1 a 1,6 V com o eletrodo de DDB e de 1,2 a 0 V para o de ouro, obtidos em triplicata para os cinco pesticidas em concentração de 1 mmol

L^{-1} . As Figuras 14 e 15 apresentam os sinais voltamétricos SW obtidos nos dois eletrodos e os dados de corrente registrados para cada potencial nas faixas mencionadas foram utilizados como dados de entrada para a PCA. Desta forma, foram analisadas três matrizes de dados, uma apenas com os dados obtidos com o eletrodo de DDB, outra apenas com os dados do eletrodo de ouro e a última contendo os dados de corrente extraídos com ambos os eletrodos. As três matrizes possuíam 15 linhas, enquanto que o número de colunas foi de 302 para o DDB, 605 para o ouro e, portanto, 907 colunas para os dados dos dois eletrodos em conjunto.

Figura 14. Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodo de DDB para os cinco pesticidas carbamatos na concentração de 1 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Parâmetros da voltametria SW: $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $\Delta E_a = 50 \text{ mV}$ e $f = 100 \text{ s}^{-1}$.

Figura 15. Voltamogramas de onda quadrada registrados com eletrodo de ouro para os cinco pesticidas carbamatos na concentração de 1 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Parâmetros da voltametria SW: $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $\Delta E_a = 50 \text{ mV}$ e $f = 100 \text{ s}^{-1}$.

A Figura 16 apresenta os gráficos de escores obtidos através da PCA para cada uma das matrizes de dados. Também é possível observar o gráfico de escores para a PCA em três dimensões, Figura 23D, para as três primeiras componentes utilizando os dados voltamétricos obtidos com os dois eletrodos. Os valores entre parênteses em cada eixo representam a porcentagem de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.

Figura 16. Gráficos de escores das PCA's utilizando os dados obtidos com eletrodo de ouro (A), DDB (B) e os dados em conjunto para os dois eletrodos (C) e (D) em uma única concentração dos pesticidas. Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.

Observando a Figura 16A, verifica-se que o eletrodo de ouro não foi capaz de fornecer uma discriminação adequada. Por outro lado, a discriminação utilizando apenas o eletrodo de DDB, Figura 16B, se mostrou bastante satisfatória. A Figura 16C, que mostra o gráfico de escores utilizando os dados obtidos com ambos os eletrodos, apresenta uma discriminação melhor que com apenas o eletrodo de ouro, só que pior quando comparado ao gráfico de escores obtido utilizando apenas o DDB. Contudo, utilizando mais informação, ou seja, mais uma PC, como pode ser visto no gráfico de escores, Figura 16D, a discriminação dos pesticidas melhorou significativamente.

A etapa seguinte consistiu em registrar voltamogramas SW dos pesticidas (não mostrados), em diferentes concentrações (1, 2 e 3 mmol L⁻¹) utilizando os eletrodos de DDB e ouro e, assim, utilizar os dados como entrada para a PCA. Na Figura 17 é possível observar os gráficos de escores utilizando os dados obtidos tanto para os eletrodos individualmente, quanto em conjunto. Verifica-

se que nenhum dos gráficos apresentou uma discriminação adequada para os pesticidas, o que pode ser explicado pelo fato da magnitude de corrente em geral ser proporcional a concentração.

Figura 17. Gráficos de escores das PCA's utilizando os dados obtidos com eletrodo de ouro (A), DDB (B) e os dados em conjunto para os dois eletrodos (C). Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.

Uma forma de solucionar o problema apresentado ao se variar a concentração é normalizar os dados de forma a eliminar tal informação. Desta maneira, os dados voltamétricos foram normalizados utilizando a equação 1 e, assim, normalizando os valores de corrente dos voltamogramas na faixa entre 0 e 1.

$$\text{Corrente normalizada} = \frac{(I - I_{\text{mín.}})}{(I_{\text{máx.}} - I_{\text{mín.}})} \quad (1)$$

A Figura 18 apresenta os voltamogramas normalizados para as três concentrações utilizadas para os pesticidas apenas em eletrodo de DDB. Verifica-se que os voltamogramas ficam sobrepostos e, portanto, a informação da concentração é prontamente eliminada.

Figura 18. Voltamogramas de onda quadrada com corrente normalizada registrados com eletrodo de DDB para os cinco pesticidas carbamatos nas concentrações de 1, 2 e 3 mmol L⁻¹ em Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. Parâmetros da voltametria SW: $\Delta E_s = 2$ mV, $\Delta E_a = 50$ mV e $f = 100$ s⁻¹.

Os gráficos de escores obtidos com os dados normalizados através da equação 1 estão apresentados na Figura 19. Vale a pena destacar que não foi possível observar discriminações adequadas para os pesticidas quando se utilizou os dados normalizados obtidos com o eletrodo de ouro, enquanto que com os dados de corrente normalizados provenientes do DDB foi possível observar os agrupamentos para cada pesticida, resultando assim em uma discriminação adequada dos pesticidas analisados. Este fato pode ser explicado, devido à alta variabilidade apresentada pelos dados obtidos com o eletrodo de ouro, o que pode ser visto observando os eixos dos gráficos de escores das Figuras 19A e C e comparando com o eixo do gráfico da Figura 19B, apenas com os

dados do DDB. Verifica-se que quando se usa os dados obtidos com eletrodo de ouro para os pesticidas, há uma maior dispersão dos dados, indicando que há uma menor repetibilidade dos sinais voltamétricos quando se utiliza este eletrodo. Portanto, decidiu-se utilizar apenas o eletrodo de DDB para a etapa posterior, bem como estender sua janela de potencial de 0 a 1,8 V, a fim de extrair mais informação sobre o comportamento voltamétrico dos carbamatos. Assim, o número de colunas da matriz com os valores de corrente dos pesticidas obtido com o eletrodo de DDB aumentou para 404.

Figura 19. Gráficos de escores das PCA's utilizando os dados normalizados obtidos com eletrodo de ouro (A), DDB (B) e em conjunto para os dois eletrodos (C). Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.

A última etapa consistiu em estender a faixa de concentração dos pesticidas para valores menores. Ao todo foram utilizados nove níveis de concentração (50, 100, 500, 750, 1000, 1500,

2000, 2500 e 3000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) para os pesticidas carbamatos, com exceção do CAR, em que não foi possível obter soluções com concentração nos dois maiores níveis, devido à baixa solubilidade do pesticida em água. Portanto, as duas maiores concentrações foram substituídas por uma de 2200 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

A Figura 20 apresenta os gráficos de escores com 2 e 3 componentes principais utilizando apenas o auto-escalamento dos dados obtidos com o eletrodo de DDB. Mais uma vez é possível constatar que sem realizar o pré-processamento de normalização torna-se inviável a discriminação dos pesticidas.

Figura 20. Gráficos de escores 2D (A) e 3D (B) da PCA utilizando os dados obtidos com eletrodo de DDB. Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.

Com os dados normalizados utilizando a equação 1, verificou-se que a discriminação apresentou uma melhora significativa, todavia, observou-se que, para todos os pesticidas, as duas menores concentrações (50 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) se apresentavam como “outliers” (não mostrado). A Figura 21A apresenta o gráfico de escores obtidos utilizando a normalização e sem as duas menores

concentrações para os pesticidas. É possível verificar que para alguns pesticidas a discriminação não se encontra adequada, como para o PPX, p. ex., em que um dos pontos está praticamente sobreposto aos do CBF. Além disso, o CBF parece se dividir em dois grupos. Na tentativa de melhorar a discriminação, foi proposto se utilizar, antes do pré-processamento de normalização e auto-escalamento, a correção de linha de base nos voltamogramas, uma vez que variações da linha de base podem ser interpretadas como informação útil, quando não deveriam ser (95). Para a correção de linha de base dos voltamogramas SW foi utilizado o algoritmo da média móvel.

Figura 21. Gráficos de escores das PCA's utilizando os dados obtidos com eletrodo de DDB com o pré-processamento de normalização (A) e com os pré-processamentos de correção de linha de base e normalização. Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.

Na Figura 21B, que apresenta o gráfico de escores obtido utilizando-se os pré-processamentos de correção de linha de base seguido de normalização, verifica-se que foi possível obter uma boa discriminação para toda a faixa de concentração trabalhada para os pesticidas CBF, MTM e PPX. Contudo, mesmo com os pré-processamentos aplicados, as menores

concentrações para os pesticidas ALD e CAR se apresentaram como “outliers”. Deste modo, estas amostras foram excluídas da matriz de dados e a PCA foi, posteriormente, recalculada.

Na Figura 22 encontram-se os voltamogramas dos pesticidas com linha de base corrigida e normalizada utilizados para o cálculo da PCA. Os gráficos de escores para as duas e três primeiras componentes são apresentados na Figura 23. É possível observar que os pesticidas ALD, MTM e PPX encontram-se bem discriminados, com seus agrupamentos apresentando uma razoável distância em relação aos demais. Os agrupamentos dos pesticidas CAR e CBF estão mais próximos um do outro, o que pode gerar um erro maior quando se pensa na questão da classificação de uma amostra contendo um dos dois pesticidas.

Figura 22. Voltamogramas SW com linha de base corrigida e corrente normalizada registrados com eletrodo de DDB para os cinco pesticidas carbamatos em concentrações de 50 a 3000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para CBF, MTM e PPX; de 500 a 3000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para ALD e de 500 a 2200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para CAR em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} . Parâmetros da voltametria SW: $\Delta E_s = 2$ mV, $\Delta E_a = 50$ mV e $f = 100$ s^{-1} .

Figura 23. Gráficos de escores 2D (A) e 3D (B) da PCA utilizando os dados com correção de linha de base e normalizados obtidos com eletrodo de DDB. Os valores em parênteses em cada eixo significam a quantidade de variância dos dados originais explicada por cada componente principal.

Os dados apresentados na Figura 23 corroboram a análise de agrupamentos hierárquicos apresentado na Figura 24, em que se observa que as amostras que constituem o grupo ALD, MTM e PPX se parecem mais entre si do que com os outros grupos. Por outro lado, as amostras constituintes dos grupos do CAR e CBF se parecem umas com as outras.

Figura 24. Gráfico da análise de agrupamentos hierárquicos para os pesticidas carbamatos.

3.1.3. CLASSIFICAÇÃO SUPERVISIONADA UTILIZANDO k -NN

O algoritmo dos k -ésimos vizinhos mais próximos (k -NN) foi utilizado a fim de realizar uma classificação supervisionada de amostras reais de pesticidas em meio aquoso e, assim, testar a capacidade do modelo em prever corretamente a presença dos pesticidas em cada amostra. O modelo do k -NN utiliza apenas a distância calculada, neste caso Euclidiana, entre os pontos para realizar a classificação e, para isso, é utilizado todo o espaço n -dimensional da matriz. Uma determinada amostra é então classificada de acordo com o maior número de votos dos k vizinhos mais próximos do conjunto utilizado para realizar a calibração do modelo. O modelo do k -NN foi treinado utilizando 40 amostras, na realidade, foi utilizada a mesma matriz usada para se calcular os gráficos de escores apresentados na Figura 23. O número k de vizinhos mais próximos utilizado na classificação foi calculado através de validação cruzada. Resumidamente, o conjunto de dados

foi separado em dois, sendo um de treinamento e outro de teste, então o modelo ajusta uma função utilizando apenas o conjunto de treinamento. Em seguida o modelo irá prever os valores de saída para o conjunto teste. A exatidão da validação cruzada foi avaliada utilizando os métodos *holdout*, em que 30 amostras foram utilizadas no conjunto de treinamento e 10 no conjunto teste, e *leave-one-out*, em que uma amostra é retirada de cada vez e, portanto, a calibração é realizada utilizando $n-1$ amostras. Assim todas as amostras são testadas.

A Figura 25 apresenta o gráfico de exatidão da validação cruzada em relação ao número de vizinhos mais próximos. O melhor resultado foi alcançado quando $k = 1$, obtendo-se cerca de 93% de exatidão.

Figura 25. Gráfico da exatidão da validação cruzada em relação ao número de vizinhos mais próximos.

O poder de predição do modelo foi então testado com três amostras de pesticidas comerciais em meio aquoso. A obtenção dos dados voltamétricos foi realizada de maneira similar aqueles utilizados para calibrar o modelo e os mesmos pré-processamentos (correção de linha de base e normalização) foram usados. Para cada amostra real foram registrados duas replicatas em níveis de

concentração diferentes e respeitando-se as faixas de concentração mencionadas anteriormente para cada pesticida. A Tabela 6 apresenta os valores da classe verdadeira contra a classe predita pelo *k*-NN para as três amostras reais de pesticidas. Como pode ser visto, as amostras de pesticidas foram classificadas corretamente, portanto nenhum falso positivo ou negativo foi observado.

Tabela 6. Classificação das amostras de pesticidas reais pelo modelo do *k*-NN.

Amostra	Predição		
	ALD	CBF	PPX
Temik® 150 (ALD)	Sim	-	-
Furadan ® 350 (CBF)	-	Sim	-
Bolfo® (PPX)	-	-	Sim

3.2. Desenvolvimento de Método Eletroquímico para a Quantificação do Pesticida Carbamato Propoxur

3.2.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA E DE VARREDURA LINEAR

A Figura 26 apresenta os voltamogramas cíclicos registrados com eletrodo de DDB em solução contendo PPX 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em soluções tampão com diferentes valores de pH. Verifica-se a presença de processo de oxidação irreversível em torno de 1,45 V independente do pH do meio. Em pH 5 o sinal de corrente foi um pouco maior quando comparado com as demais condições experimentais. Assim, o pH 5 foi eleito como a melhor condição experimental para ser usada nos

experimentos seguintes. É importante ressaltar que em soluções com valor de pH 7 ou maior o PPX apresenta taxa de hidrólise significativa (102), ou seja, haveria degradação do analito com o tempo.

Figura 26. Voltamogramas cíclicos registrados com eletrodo de DDB numa solução de PPX $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes soluções tampão com força iônica de pelo menos $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. pH 2 (—), pH 3 (—), pH 5 (—) e pH 7 (—). A linha preta foi registrada na ausência de PPX numa solução tampão com valor de pH 5. O gráfico inserido traz o potencial (E) e a corrente de pico (I) vs. pH para as triplicatas.

A voltametria de varredura linear foi utilizada para investigar a natureza do processo eletroquímico de oxidação do PPX na superfície do eletrodo de DDB. A Figura 27 apresenta os voltamogramas registrados em uma solução $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PPX em tampão acetato (pH 5) para diferentes velocidades de varredura (5, 10, 25, 50, 100, 200 e 300 mV s^{-1}). O gráfico com os valores de corrente de pico (I) vs. a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), o qual se encontra inserido na Figura 27, demonstra que a etapa limitante do processo de oxidação do PPX sobre a superfície do DDB é de natureza difusional na faixa de velocidade de varredura estudada.

Figura 27. Voltamogramas de varredura linear registrados com eletrodo de DDB em solução de PPX $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão acetato (pH 5, $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em diferentes velocidades de varredura: (a) 5, (b) 10, (c) 25, (d) 50, (e) 100, (f) 200 e (g) 300 mV s^{-1} . O gráfico inserido é da corrente de pico (I) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$).

3.2.2. ESTUDO DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL

Antes de dar início aos experimentos univariados a fim de estudar os parâmetros que forneceriam a melhor detectabilidade para o PPX, os tratamentos anódico (+3 V por 60 s) e catódico (+3 V por 5 s, seguido de -3 V por 60 s) foram avaliados. Nenhuma diferença significativa foi notada entre os tratamentos, tais como, resolução do pico e valor de corrente de pico. Contudo, nos voltamogramas registrados na ausência de PPX (branco) observou-se que havia maior corrente de fundo na região de oxidação do PPX quando se utilizou o tratamento anódico, o que poderia fornecer pior detectabilidade. Portanto, o pré-tratamento catódico foi utilizado para dar prosseguimento ao estudo dos parâmetros da voltametria DP.

Os parâmetros da voltametria DP, ou seja, velocidade de varredura, degrau e amplitude de potencial foram avaliados e os escolhidos foram aqueles que forneceram maiores valores de corrente de pico para a oxidação do PPX sem perda de resolução do pico. A Figura 28 apresenta os gráficos de corrente de pico (I) para oxidação do PPX vs. amplitude de potencial (ΔE_a), incremento de potencial (ΔE_s) e velocidade de varredura (ν). Observa-se que a corrente de pico sempre aumenta com o aumento de qualquer um dos três parâmetros estudados. Contudo, os valores considerados ótimos estão resumidos na Tabela 7, pois apesar de a corrente de pico sempre aumentar como discutido anteriormente, a resolução do pico se tornava pior (aumento do $W_{1/2}$), por isso não foram escolhidos os maiores valores.

Figura 28. Gráficos dos valores de corrente de pico obtida pela oxidação do PPX sobre a superfície de DDB vs. amplitude de potencial (A), velocidade de varredura (B) e degrau de potencial (C) utilizando a técnica de voltametria DP.

Tabela 7. Parâmetros da voltametria DP otimizados univariadamente para a quantificação de PPX.

Parâmetro	Faixa	Valor ótimo
Degrau de potencial (mV)	1 – 10	8
Amplitude de potencial (mV)	20 – 100	70
Velocidade de varredura (mV s ⁻¹)	10 – 100	50
Precondicionamento em 0 V (s)	-	5

Com o estudo dos parâmetros da voltametria DP foi possível obter a largura de pico a meia altura, 84 mV, utilizando os valores otimizados, tampão acetato (pH 5) e concentração de PPX 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Este valor é próximo ao de 90 mV, que seria o valor esperado para processos redox em superfícies de eletrodos que envolvem apenas um elétron. Essas observações são compatíveis com as de Shono *et al.* 1975 (103), é provável que a oxidação eletroquímica de PPX gere espécies radicalares, o que pode dar origem a reações químicas acopladas de acordo com o esquema apresentado na Figura 29.

Figura 29. Esquema da proposta de mecanismo de oxidação do PPX sobre superfície de DDB.

Foi verificado experimentalmente que o uso de um potencial de pré-condicionamento conferiu melhor detectabilidade para o PPX. Esse aumento no sinal de corrente de pico pode estar

relacionado a um processo de pré-adsorção, ou seja, pré-concentração do PPX na superfície carbonácea ativada (104), ainda que a estrutura do DDB seja composta majoritariamente por carbono com hibridização sp^3 , o dificulta a adsorção de espécies em sua superfície (105). No entanto, um estudo reporta a incorporação de carbono com hibridização sp^2 na estrutura do diamante proveniente de pretratamentos eletroquímicos e, portanto, forneceria sítios para processos de adsorção (65). Assim, tanto o valor de potencial de condicionamento quanto o tempo de aplicação foram estudados e os melhores valores de corrente de pico foram obtidos quando se utilizou o potencial de condicionamento de 0 V por 5 s.

3.2.3. DESEMPENHO ANALÍTICO

Com a definição das melhores condições experimentais e a otimização dos parâmetros da voltametria DP, uma curva analítica foi construída na faixa de 1,66 a 155 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9935$). A Figura 30 apresenta os voltamogramas DP para adições sucessivas de alíquotas da solução estoque de PPX 1,00 mmol L^{-1} . A curva analítica está inserida na Figura 30.

Na Tabela 8, estão listados os parâmetros analíticos para o método proposto. A repetibilidade do método foi investigada a partir de 10 varreduras sucessivas por voltametria DP numa solução de PPX 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão acetato (pH 5, $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e o desvio padrão relativo foi de 0,88%.

Figura 30. Voltamogramas DP com linha de base normalizada registrados para sucessivas adições de alíquotas da solução estoque de PPX em tampão acetato (pH 5, $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em eletrodo de DDB. (a) branco; (b) 1,66; (c) 3,32; (d) 4,98; (e) 6,62; (f) 9,90; (g) 16,4; (h) 32,3; (i) 47,6; (j) 76,9; (k) 104; (l) 130; (m) 155 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Parâmetros da voltametria DP: Degrau de potencial = 8 mV, Amplitude de potencial = 70 mV e $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Gráfico inserido: Curva analítica.

Tabela 8. Parâmetros analíticos do método proposto para quantificação de PPX.

Parâmetro	Valor
Equação da reta	$I / \mu\text{A} = 0,2145 C_{\text{PPX}} / \mu\text{mol L}^{-1} - 0,0309$
Faixa	$1,66 - 155 \mu\text{mol L}^{-1}$
R^2	0,9935
Limite de detecção	$0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$
Limite de quantificação	$1,6 \mu\text{mol L}^{-1}$
Desvio padrão relativo ^a	0,88%

^a $N = 10$ em $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PPX.

Os limites de detecção e quantificação foram estimados estatisticamente utilizando as expressões $3\sigma/S$ e $10\sigma/S$, respectivamente, onde σ é o desvio padrão de pelo menos 10 medidas na ausência do analito (branco) e S é a sensibilidade (93). Os valores obtidos para os limites de detecção e quantificação foram de 0,5 e 1,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

3.2.4. ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS E ESTUDO DE INTEFERENTES

O método de adição de padrão foi utilizado nas análises das amostras, pois permite considerar o efeito de matriz no método proposto. Portanto, o método eletroquímico proposto para a quantificação do PPX foi aplicado em amostras de águas naturais, sendo duas amostras de água de torneira de diferentes mananciais e uma de açude. O método também foi utilizado para quantificar o PPX em uma formulação comercial conhecida como Bolfo®. A Figura 31 apresenta a curva de adição de padrão obtida na análise do Bolfo®. Observa-se que tal produto provavelmente apresenta outras espécies eletroativas além do PPX, pois é possível observar dois sinais voltamétricos de oxidação que ocorrem antes da oxidação do PPX, um em 0,9 V e outro em 1,2 V.

Figura 31. Voltamogramas DP registrados para quantificação de PPX em Bolfo® (a) pelo método de adição de padrão e três adições consecutivas de solução estoque de PPX para concentrações de 7,94 (b); 15,8 (c) e 23,4 (d) $\mu\text{mol L}^{-1}$. Gráfico inserido: Curva analítica obtida por adição de padrão nas mesmas condições da Figura 30.

A exatidão do método proposto foi avaliada pelo método de adição e recuperação. Na Tabela 9, encontram-se os resultados para os testes da recuperação do PPX nas amostras reais. Os valores de recuperação alcançados se mostraram apropriados, levando em consideração o nível de concentração de PPX (106). Portanto, o método proposto apresentou boa exatidão, demonstrando ser adequado e confiável em análises laboratoriais de rotina e até mesmo em análises de campo, uma vez que os métodos eletroquímicos apresentam facilidade de portabilidade.

Tabela 9. Testes de recuperação em amostras reais ($N = 3$).

Amostra	C _{PPX} / 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹			Recuperação (%)
	Medido	Adicionado	Encontrado	
Água de torneira #1	N.d. ^a	10,0	8,8 ± 0,4	88,4
Água de torneira #2	N.d. ^a	10,0	8,7 ± 0,7	86,7
Água de açude	N.d. ^a	10,0	9,4 ± 0,3	94,4
Bolfo®	4,23 ± 0,1	10,0	14,5 ± 0,3	103

^aNão detectado.

De acordo com a embalagem do Bolfo®, o teor de PPX seria de 1% m/m. Assim, a partir da concentração encontrada no extrato de PPX contido no Bolfo® (4,23 µmol L⁻¹) foi possível chegar ao valor de aproximadamente 0,2% m/m, o qual representa apenas 20% do que é declarado na embalagem do fabricante. Uma possível explicação para isso pode estar associado ao rendimento no processo de extração do PPX contido no Bolfo® usando acetonitrila.

Nos estudos de interferentes, considerou-se que para uma determinada espécie ser considerada um interferente a relação do sinal do analito na presença e ausência da espécie em estudo deveria ser maior que 5% (107). O ânion nitrito apresentou forte interferência para o método proposto, não sendo possível observar o sinal de oxidação do PPX na proporção estudada. O cátion Fe³⁺ apresentou interferência ao método proposto tanto na proporção de 1:10 quanto de 1:1 (espécie:PPX), enquanto que o Cu²⁺ apresentou interferência apenas na proporção de 1:10. Ao contrário do nitrito, foi possível observar o sinal de oxidação do PPX na presença desses dois

cátions, assim, é aconselhável utilizar o método de adição de padrão a fim de evitar problemas com efeito de matriz causados por esses íons.

Comparando-se o método eletroquímico proposto para detectar e quantificar PPX com outros métodos já apresentados na literatura, observa-se que eles são mais sensíveis. Contudo, a maior parte deles utiliza instrumentação sofisticada e de alto custo ou ainda materiais biológicos. Portanto, o método proposto poderia ser bastante útil para fins de “*screening*” em análises em campo ou mesmo monitoramento ambiental e sem a necessidade de qualquer material biológico ou uso de algum processo de derivatização.

3.3. Estudo Eletroquímico do Pesticida Carbamato Pirimicarbe e Desenvolvimento de Método Eletroquímico para a sua Quantificação

3.3.1. COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DO PIRIMICARBE

Após a avaliação do pretratamento eletroquímico, optou-se por usar o tratamento catódico, uma vez que no tratamento anódico foram observadas correntes de fundo maiores que no catódico, o que pode comprometer a razão sinal/ruído. Portanto, o tratamento catódico foi utilizado em todos os experimentos posteriores.

A Figura 32 apresenta os voltamogramas cíclicos registrados numa velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} para soluções de PMC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em soluções tampão com diferentes valores de pH. O voltamograma registrado na ausência do PMC (somente eletrólito suporte) foi obtido na solução tampão de pH 7. É possível observar a existência de, pelo menos, três sinais voltamétricos de oxidação, pois nas soluções tampão de pH 5 ou menor é possível observar a existência de um

quarto sinal, com magnitude de corrente muito pequena, por volta de 1,5 V. Tal sinal ficará mais evidente na voltametria DP, como será visto mais à frente. Os sinais observados em torno de 1,8 V pertencem ao próprio eletrodo de DDB, pois também foram observados pelo voltamograma na ausência do PMC. Verifica-se que os processos de oxidação se deslocam para potenciais menos positivos com o aumento do pH. Outra observação que pode ser feita diz respeito à magnitude de corrente, onde em pH 7 verifica-se que foram obtidos os maiores valores. Não foi possível registrar os sinais de oxidação para o PMC em soluções tampão com valores de pH acima de 8, devido à descarga do eletrólito suporte que ocorria em torno de 1 V.

Figura 32. Voltamogramas cíclicos registrados em soluções de PMC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com diferentes valores de pH. O voltamograma na ausência de PMC (linha preta) foi obtido numa solução tampão fosfato de pH 7. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

A Figura 33 apresenta o estudo para verificar se o transporte de massa do PMC em solução para a superfície do eletrodo de DDB era difusional. O estudo foi realizado em solução tampão fosfato pH 7 e concentração de PMC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Verifica-se que na faixa de velocidade de varredura estudada, de 10 a 300 mV s^{-1} , o transporte de massa é difusional para os três primeiros

sinais de oxidação do PMC, uma vez que os gráficos de corrente de pico (I) vs. a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) se comportaram de forma linear, obedecendo à equação de Randles-Sevcik (52). Tal estudo não foi realizado para o quarto processo de oxidação, uma vez que o mesmo não pôde ser observado em solução tampão com pH 7.

Figura 33. Voltamogramas cíclicos registrados numa solução de PMC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato (pH 7) em diferentes velocidades de varredura: (a) 10, (b) 25, (c) 50, (d) 100, (e) 200 e (f) 300 mV s^{-1} . O gráfico inserido é das correntes de pico (I) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$).

Pelos voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 32, verifica-se que os sinais de oxidação do PMC são antecipados com o aumento do pH. Portanto, a fim de aprofundar o estudo sobre o mecanismo de oxidação do PMC em eletrodo de DDB, foram registrados voltamogramas DP do PMC também em soluções tampão com diferentes valores de pH (2; 3; 4; 5; 6,5; 7; 7,5 e 8). A Figura 34 apresenta os voltamogramas DP para soluções de PMC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo possível observar mais claramente o quarto processo de oxidação na faixa de pH de 2 a 5,5.

Figura 34. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em soluções de PMC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH. Parâmetros da voltametria DP: Degrau de potencial = 10 mV , Amplitude de potencial = 50 mV e $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

A Figura 35 apresenta os valores de potenciais de pico para os processos de oxidação do PMC em função do pH. É possível observar que os processos Ep_1 e Ep_2 são dependentes do pH. A inclinação da curva entre os valores de pH de 2 a 5 para o Ep_1 foi de 64 mV por unidade de pH, enquanto que o processo Ep_2 , entre os pH de 2 a 4, foi de 55 mV por unidade de pH, o que mostra uma proporção de um próton para um elétron. Os processos Ep_3 e Ep_4 apresentaram inclinações muito pequenas, o que leva a concluir que tais processos não apresentam dependência com o pH. O pK_a para o primeiro processo de oxidação do PMC é de aproximadamente 5, o qual se encontra próximo do valor encontrado na literatura, de 4,53 (108).

Figura 35. Gráfico dos potenciais de pico (Ep) para os processos de oxidação do PMC versus o pH. Inclinações: Ep₁ = 64; Ep₂ = 55; Ep₃ = 14; e Ep₄ = 10 mV pH⁻¹.

Com voltamogramas DP registrados para o PMC, foi possível fazer a deconvolução dos sinais referentes aos processos de oxidação a fim de se calcular com maior precisão as larguras de pico a meia altura, no intuito de se obter uma média de tais valores. Assim, foi possível calcular o número de elétrons envolvido em cada processo. Os valores das largura a meia altura foram aproximadamente de 95 ± 7 , 84 ± 6 , 81 ± 15 e 67 ± 6 mV para os processos de oxidação Ep₁, Ep₂, Ep₃ e Ep₄, respectivamente. Assim, é possível estimar que para os processos de oxidação Ep₁ a Ep₃ apenas um elétron é transferido em cada processo, tendo em vista que os valores se encontram próximos ao valor teórico de 90 mV. No caso do processo Ep₄ não é possível estimar com maior exatidão o número de e^- , uma vez que o valor médio (67 mV) está entre 90 e 45 mV.

A Figura 36 apresenta um gráfico simulado de distribuição de espécies em diferentes valores de pH para o PMC, o qual foi realizado usando o software Marvin®, que estima as curvas de distribuição com base na estrutura da molécula. Pelo gráfico é possível notar que o pKa do PMC está por volta do pH 5, o qual está de acordo com a perda de linearidade apresentada pelo processo de oxidação Ep₁ do PMC, como pode ser visto na Figura 35. Isso fornece uma indicação de que o

primeiro processo de oxidação do PMC ocorre no nitrogênio que está mais susceptível à protonação do anel aromático, como é possível observar nas estruturas do PMC e do PMC protonado apresentadas na Figura 36.

Figura 36. Diagrama de distribuição de espécies simulado do PMC para diferentes valores de pH.

A reversibilidade dos processos de oxidação do PMC foi avaliada por voltametria SW como pode ser visto na Figura 37 para uma solução de PMC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão acetato (pH 5,5) numa velocidade de varredura de 500 mV s^{-1} . É possível verificar pelas componentes direta e reversa do voltamograma que os três processos de oxidação observados são irreversíveis.

Figura 37. Voltamograma SW registrados em uma solução de PMC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão acetato (pH 5,5). Parâmetros da voltametria SW: Degrau de potencial = 10 mV, Amplitude de potencial = 70 mV e $f = 50 \text{ s}^{-1}$. I_T , corrente total resultante; I_d , corrente da varredura direta; I_r , corrente da varredura reversa.

3.3.2. AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE ELETRO-OXIDAÇÃO DO PMC SOBRE A SUPERFÍCIE DO DDB

Pelos voltamogramas cíclicos registrados para o PMC apresentados na Figura 33, é possível observar que os sinais de oxidação se deslocam para potenciais maiores com o aumento da velocidade de varredura, o que sugere a existência de reações químicas acopladas. Assim, para avaliar melhor estes processos foram construídos gráficos de $\log I_p$ versus $\log v$ e de E_p versus $\log v$, apresentados na Figura 38. Os dados utilizados nesse estudo foram obtidos a partir de registros de voltamogramas cíclicos de uma solução de PMC $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão acetato (pH 4), onde se variou a velocidade de varredura de 20 a 1000 mV s^{-1} (voltamogramas não apresentados).

Figura 38. Gráficos de $\log I_p$ vs. $\log v$ e E_p vs. $\log v$ para os quatro processos de oxidação do PMC: (a) Ep_1 ; (b) Ep_2 ; (c) Ep_3 e (d) Ep_4 . Estes dados foram obtidos por voltametria cíclica numa solução de PMC $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão acetato (pH 4).

Pelos gráficos da Figura 38, é possível distinguir regiões com processos difusionais e adsorptivos pelas inclinações das curvas dos gráficos de $\log I_p$ vs. $\log v$. Como previsto pela equação (2) de Randles-Sevcik para sistemas irreversíveis, a corrente de pico de um processo controlado por difusão deve ser proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura ($I_p \propto v^{1/2}$), resultando em uma inclinação de valor 0,5 (52,53).

$$I_p = (2,99 \times 10^5) n(\alpha n_a)^{1/2} ACD^{1/2} v^{1/2} \quad (2)$$

onde n é o número de elétrons, A é a área do eletrodo, C é a concentração do analito, D é o coeficiente de difusão, α é o coeficiente de transferência de carga, n_a é o número de elétrons envolvidos no passo de transferência de carga e v é a velocidade de varredura.

Quando o processo é controlado por adsorção, $I_p \propto v$, a inclinação apresentaria o valor de 1,0 (55). Nos gráficos de E_p vs. $\log v$ pode haver até três regiões distintas, uma com predominante “controle difusional” (região linear horizontal), outra com predominante “controle cinético” (região linear inclinada) e a terceira, uma região mista, onde o “controle cinético e difusional” agem igualmente (região curvada ligando as outras duas) (109).

O gráfico de $\log I_{p1}$ vs. $\log v$ da Figura 38a, referente ao processo de oxidação Ep_1 do PMC, apresenta uma inclinação de 0,41 numa determinada faixa de velocidades de varreduras, o que sugere um processo controlado por difusão. Por outro lado, a região cinética do gráfico de Ep_1 x $\log v$ (Figura 38a) apresenta um valor de inclinação inconclusivo de 84 mV dec^{-1} quando comparado ao valor esperado de 30 mV dec^{-1} para um mecanismo eletroquímico com reação química acoplada (mecanismo eletroquímico – químico) (109).

Pelo gráfico de Ip_2 x $\log v$, Figura 38b, verifica-se que a inclinação para o processo Ep_2 apresenta o valor de 0,81 até a velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , após este valor a inclinação muda para 0,29. Desta forma, o processo Ep_2 é controlado por adsorção quando $v \leq 100 \text{ mV s}^{-1}$, enquanto que em velocidades superiores o processo é controlado por difusão. Embora o perfil do gráfico de Ep_2 vs. $\log v$ possa sugerir a existência de reação química acoplada até 100 mV s^{-1} , o mesmo não pode ser utilizado para determinar o mecanismo eletroquímico envolvido, pois o processo de oxidação Ep_2 apresenta um controle adsortivo.

Para o processo de oxidação Ep_3 do PMC, o gráfico de Ep_3 vs. $\log v$, Figura 38c, apresenta inclinação de 73 mV dec^{-1} , provavelmente devido à passivação do eletrodo causada pelo processo

de oxidação anterior (Ep_2). O valor em si sugere que o processo Ep_3 seria adsortivo. Assim, da mesma forma que para Ep_2 , o caráter adsortivo inviabiliza qualquer conclusão sobre o mecanismo eletroquímico associado a este processo. Além disso, o gráfico também sugere a existência de uma reação química acoplada até a velocidade de varredura de 130 mV s^{-1} .

Finalmente, no último processo, Ep_4 , o gráfico de Ep_4 vs. $\log v$, Figura 38d, sugere que há uma reação química acoplada até a velocidade de varredura de 130 mV s^{-1} , apesar da inclinação ser de 154 mV dec^{-1} devido ao processo de adsorção anterior. O gráfico de $\log Ip_4$ vs. $\log v$ apresenta um comportamento anômalo em que não haveria difusão no processo. Assim, o processo Ep_4 poderia não pertencer ao processo de oxidação do PMC. Para avaliar essa possibilidade, foram realizados dois experimentos, no primeiro foram obtidos voltamogramas DP para o PMC em meio orgânico (TBATFB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em acetonitrila) e em meio misto, ou seja, meio orgânico e meio aquoso em diferentes proporções. No segundo, foram registrados voltamogramas DP em diferentes soluções tampão (eletrólitos suporte) com diferentes valores de pH na ausência de PMC.

Como é possível observar na Figura 39A, os voltamogramas DP em meio orgânico na presença de PMC evidenciaram apenas um processo irreversível de oxidação. Após a adição de quantidades crescentes de água ao meio eletrolítico orgânico, observou-se que os demais processos de oxidação do PMC surgiam gradativamente. Na Figura 39B é possível observar que o processo Ep_4 está presente no branco analítico.

Figura 39. A) Voltamogramas DP registrados usando um eletrodo de DDB em diferentes misturas de solvente contendo PMC $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ a) 100% meio orgânico, b) 75:25% meio misto orgânico:aqueoso, c) 50:50% meio misto orgânico:aqueoso e d) 25:75% meio misto orgânico:aqueoso. Eletrólitos usados no meio orgânico e aqueoso foram TBATFB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em acetonitrila e tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7). B) Voltamogramas DP registrados na ausência (- -) e presença (-) de PMC $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em meio misto orgânico:aqueoso (25:75%). Parâmetros da voltametria DP: Degrau de potencial = 10 mV , Amplitude de potencial = 50 mV e $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Com o objetivo de elucidar a origem do processo de oxidação Ep_4 , voltamogramas DP com o eletrodo de DDB foram registrados em soluções tampão com diferentes valores de pH na ausência de PMC, como é possível observar na Figura 40. Verificou-se que o eletrodo de DDB produz radicais hidroxila devido à oxidação da água, os quais podem interagir e facilitar o processo de eletro-oxidação de compostos orgânicos, como já foi observado por Brett *et al* (110). Desta maneira, o processo Ep_4 pode explicado pelo efeito de aprisionamento causado pelos produtos de oxidação do PMC adsorvidos na superfície do DDB, que aprisiona os radicais hidroxila produzidos na superfície do eletrodo. Assim, os produtos de oxidação do PMC continuam a sofrer degradação.

Figura 40. Voltamogramas DP registrados usando um eletrodo de DDB em diferentes soluções tampão na ausência de PMC. Eletrólitos usados: Tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0 e 3,0), tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0 e 5,0) e tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5 e 7,0). Parâmetros da voltametria DP: Degrau de potencial = 10 mV , Amplitude de potencial = 50 mV e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Gráfico inserido: E_p vs. pH.

Eletrólises do PMC em dois potenciais diferentes, 1,2 e 1,8 V, foram realizadas e monitoradas a cada hora durante quatro horas com o intuito de melhorar o entendimento acerca do mecanismo de eletro-oxidação do PMC sobre a superfície do DDB.

As duas eletrólises foram realizadas em soluções de PMC $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão acetato de amônio 10 mmol L^{-1} (pH 10) e foram acompanhadas por espectrometria de massas com ionização por eletrospray, que ioniza as espécies formadas adicionando um próton, mas não as fragmenta. Portanto, os valores de massa/carga que aparecem no espectro são de espécies que estão na solução. Foi realizado uma injeção no espectrômetro de massas antes de se iniciar a eletrólise e a cada 1 hora de eletrólise uma alíquota da solução foi retirada da cela eletroquímica para ser injetada no EM após ser diluída cinco vezes. A Figura 41 apresenta os espectros de massas registrados durante as eletrólises em potencial 1,2 e 1,8 V.

Figura 41. Espectro de massas das eletrólises do PMC em 1,2 V (A) e 1,8 V (B).

Verificou-se que antes das eletrólises que o pico com valor de m/z 239,2 estava presente, o qual foi atribuído ao PMC adicionado de um próton (M^+), que é causado devido à ionização por “eletrospray”. Ao longo das 4 horas eletrólise, verifica-se que aquele sinal intenso (m/z 239,2) diminui gradativamente, enquanto outros sinais menos intensos foram surgindo. Na Tabela 10 são apresentados os picos que foram identificados e considerados juntamente com os dados voltamétricos para a formulação do mecanismo de eletro-oxidação do PMC sobre a superfície do DDB.

Tabela 10. Picos m/z identificados usando espectrometria de massas durante a eletrólise do PMC.

Pico (m/z)	Comparação entre as condições de eletrólise
	(Potencial aplicado)
193,1 [$M^+ - 46$]	Aparece apenas em 1,2 V
225,2 [$M^+ - 14$]	Aparece e aumenta em 1,8 V
239,2 [M^+]	Diminui em ambos
253,1 [$M^+ + 14$]	Aparece e aumenta em 1,8 V

A Figura 42 apresenta o esquema do mecanismo proposto para oxidação do PMC na superfície do eletrodo de DDB. A primeira etapa (Ep_1) pode ser deduzida pela própria dependência do sinal com o pH, o qual encontra-se em concordância com o valor previsto pelo software Marvin® e está próximo do valor reportado na literatura (108). Nele ocorre a perda de um elétron e um próton, seguido de um equilíbrio homogêneo. O segundo processo (Ep_2), que também depende do pH, é atribuído a oxidação da amina terciária do PMC, formando um cátion radical seguido de desprotonação, produzindo um radical de acordo com o descrito na literatura (111,112). O terceiro processo (Ep_3) foi atribuído à oxidação do outro nitrogênio do anel aromático, produzindo um radical, o qual é estabilizado pela própria ressonância do anel. O processo Ep_4 pertence ao próprio eletrodo, o qual produz radicais hidroxila como já publicado (110). Os radicais hidroxilas podem atuar na degradação do PMC e produzir os compostos I e II.

O mecanismo da Figura 42 foi proposto a partir dos dados voltamétricos e de espectrometria de massas das soluções submetidas a eletrólise. Tal mecanismo é diferente dos mecanismos clássicos reportados na literatura para a eletro-oxidação de carbamatos (103,113,114). Outra observação que fortalece o mecanismo proposto é que o comportamento químico do PMC é diferenciado dos demais carbamatos, pois não foi observado a hidrólise desse pesticida em meio básico, e mesmo após eletrólise, ao contrário da maioria dos carbamatos.

Figura 42. Proposta de mecanismo de oxidação do PMC na superfície do eletrodo de DDB.

3.3.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DP A SEREM UTILIZADOS NO DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO DO PMC

A otimização dos parâmetros da voltametria DP utilizados visando à quantificação do PMC foi realizada por meio de planejamento experimental completo 2^3 composto central. O planejamento experimental permite extrair grande quantidade de informação do sistema em estudo com a realização de uma quantidade reduzida de experimentos, economizando tempo e reagentes. A Tabela 11 apresenta a matriz de planejamento utilizada, bem como as respostas de corrente obtidas para uma solução de PMC $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7.

Tabela 11. Fatores, níveis e valores de resposta do planejamento experimental completo 2^3 composto central para otimização dos parâmetros da voltametria DP para a quantificação de PMC.

Experimento	(1) Degrau de potencial (mV)	(2) Amplitude de potencial (mV)	(3) Velocidade de varredura (mV s^{-1})	Corrente (μA)
1	6	50	10	2,94
2	6	50	30	3,88
3	6	150	10	8,12
4	6	150	30	4,30
5	14	50	10	3,27
6	14	50	30	3,89
7	14	150	10	9,22
8	14	150	30	8,94
9	3,27	100	20	4,20
10	16,73	100	20	9,01
11	10	15,91	20	1,08
12	10	184	20	7,15
13	10	100	3,18	6,94
14	10	100	36,82	8,77
15 (C)	10	100	20	7,94
16 (C)	10	100	20	7,79
17 (C)	10	100	20	8,77

Os experimentos com (C) representam os pontos centrais

A avaliação dos fatores degrau de potencial, amplitude de potencial e velocidade de varredura, bem como de suas interações, foi realizada pelo método da Análise da Variância (ANOVA). Os modelos linear e quadrático foram comparados e verificou-se que o último apresentou menor falta de ajuste quando comparado ao modelo linear. Além disso, no modelo linear apenas degrau e amplitude foram significativos, enquanto que no quadrático o quadrado da amplitude, além do degrau e da amplitude, mostraram ser significativos, como pode ser visto na Tabela 12. Desta forma, o modelo quadrático usa mais informação dos dados experimentais para explicar o modelo, o que o torna mais confiável em relação ao linear.

Pela Figura 43, que apresenta os gráficos de Pareto para os modelos linear e quadrático é possível observar de forma mais clara quais os fatores que foram significativos. Os cálculos dos efeitos foram feitos de acordo com o descrito na literatura considerando um limite de 95% de confiança (97).

Figura 43. Gráficos de Pareto mostrando quais efeitos são significativos para os modelos linear e quadrático.

Tabela 12. Tabela de análise da variância (ANOVA) para o modelo quadrático ajustado a corrente de pico para oxidação do PMC baseado na variação do degrau, amplitude e velocidade de varredura.

Fator	Soma dos quadrados (SQ)	Graus de liberdade	Média dos Quadrados (MQ)	Valor de F calculado	p
Degrau	14,7	1	14,7	52,8	0,0184
(Degrau) ²	4,96	1	4,96	17,8	0,0518
Amplitude	52,6	1	52,6	189	0,00525
(Amplitude)²	28,9	1	28,9	96,4	0,0102
Velocidade de varredura	0,0212	1	0,0212	0,0760	0,809
(Velocidade de varredura) ²	0,553	1	0,553	1,99	0,294
Falta de ajuste	15,8	8	1,98	7,08	0,129
Erro puro	0,557	2	0,279		
Total	112	16			

Em negrito são os fatores que foram significativos.

O modelo quadrático foi então usado para representar a corrente de pico pela oxidação do PMC sobre o DDB por voltametria DP e foi possível explicar cerca de 85,9% da variância (96,2/112) pela equação 3 a seguir que representa o modelo.

$$I_p = 8,20 + 1,04 \times \text{Degrau} + 1,96 \times \text{Amplitude} - 1,54 \times (\text{Amplitude})^2 \quad (3)$$

O modelo quadrático não apresentou falta de ajuste, tendo em vista que a razão entre a média quadrática da falta de ajuste e do erro puro ($MQ_{FA}/MQ_{EP} = 7,08$) foi menor que o valor de F tabelado ($F_{8,2} = 19,37$) a um nível de 95% de confiança. Isso significa que o modelo quadrático se ajusta muito bem aos valores de corrente de pico. Assim, os valores críticos para os fatores significativos foram estimados pelo planejamento experimental completo 2^3 composto central. Desta maneira, o valor para o degrau foi de 13 mV, enquanto para a amplitude foi de 132 mV. Como a velocidade de varredura não foi estatisticamente relevante de acordo com os dados avaliados, foi escolhido o valor de 21 mV s^{-1} a fim de se manter um compromisso entre tempo de análise e resolução. Esses valores foram utilizados como parâmetros da voltametria de pulso diferencial para desenvolver o método analítico para quantificação de PMC. A Figura 44 apresenta a superfície de resposta obtida pelo planejamento experimental para os parâmetros degrau e amplitude de potencial, que foram os significativos.

Figura 44. Superfície de resposta obtida pelo planejamento composto central.

3.3.4. DESEMPENHO ANALÍTICO

Após a otimização das condições experimentais, bem como dos parâmetros da voltametria DP por meio do planejamento composto central, uma curva analítica foi obtida. Na Figura 29 estão os sinais voltamétricos por DPV e com linha de base normalizada, que foram registrados em eletrodo de DDB para adições sucessivas de alíquotas da solução estoque de PMC 1,00 mmol L⁻¹ na faixa de concentração de 2,00 a 219 µmol L⁻¹. Também é possível ver na Figura 45 a curva analítica obtida utilizando as correntes de pico.

Figura 45. Voltamogramas DP com linha de base normalizada registrados em eletrodo de DDB para adições sucessivas da solução estoque de PMC 1,00 mmol L⁻¹ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7). Parâmetros da voltametria DP: Degrau de potencial = 13 mV; Amplitude de potencial = 132 mV; e $\nu = 21 \text{ mV s}^{-1}$. (a) branco; (b) 2,00; (c) 3,98; (d) 5,96; (e) 7,94; (f) 11,9; (g) 19,6; (h) 38,5; (i) 56,6; (j) 74,1; (l) 107; (m) 138; (n) 167; (o) 219 µmol L⁻¹. Gráfico inserido: curva analítica.

A Tabela 13 sumariza os principais parâmetros analíticos obtidos para o método proposto. Os limite de detecção e quantificação foram estimados estatisticamente (93) e apresentaram valores

de 1,24 e 4,14 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O desvio padrão relativo foi estimado em 1,05% para dez medidas em uma solução de PMC 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Tabela 13. Parâmetros analíticos do método proposto para quantificação de PMC.

Parâmetro	Valor
<i>Equação da reta</i>	$I / \mu\text{A} = 0,0902 C_{\text{PMC}} / \mu\text{mol L}^{-1} - 0,4082$
<i>Faixa</i>	2,00 – 219 $\mu\text{mol L}^{-1}$
R^2	0,9982
<i>Limite de detecção</i>	1,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$
<i>Limite de quantificação</i>	4,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$
<i>Desvio padrão relativo</i> ^a	1,05%

^aN = 10 em 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PMC.

3.3.5. ANÁLISES EM AMOSTRAS REAIS E ESTUDO DE INTERFERENTES

Dentre as espécies avaliadas como possíveis interferentes, as únicas que apresentaram interferência ao método proposto foram o Fe^{3+} , Cu^{2+} , e Mg^{2+} . A interferência desses três cátions foi verificada a uma concentração 10 vezes maior que a do PMC e apenas o Mg^{2+} não apresentou interferência na mesma concentração que o PMC. Na presença dos outros dois cátions houve uma diminuição maior que 5% dos valores de corrente de pico em comparação ao sinal na ausência dos cátions.

A exatidão do método foi verificada por meio do método de adição e recuperação. Na Tabela 14 estão os resultados para os testes da recuperação de PMC em amostras de água natural. As porcentagens de recuperação obtidas estão de acordo com a literatura considerando o teor de PMC nas amostras (106). Assim, o método proposto apresentou boa exatidão e, portanto, confiável para análises laboratoriais ou mesmo em campo. Em adição, o método pode ser considerado seletivo, quando comparado a outros métodos para quantificação de pesticidas carbamatos que não usam eletrodos modificados, tendo em vista que tais pesticidas possuem comumente potenciais de oxidação maiores que 1,3 V vs. Ag|AgCl|KCl(3 mol L⁻¹), enquanto que o Ep₁ do PMC está situado em torno de 0,3 V a menos.

Tabela 14. Resultados da recuperação de PMC em amostras reais ($N = 3$).

Amostra	$C_{PMC} / 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$			Recuperação (%)
	Medido	Adicionado	Encontrado	
Água de torneira #1	N.d. ^a	29,1	$27,4 \pm 0,3$	94,2
Água de torneira #2	N.d. ^a	50,2	$48,3 \pm 0,3$	96,3
Água de açude	N.d. ^a	50,2	$44,4 \pm 0,6$	88,6

^aNão detectado.

3.4. Desenvolvimento de Método Eletroquímico para a Quantificação do Pesticida Paraquate

3.4.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA

O comportamento eletroquímico do PQ já foi bastante estudado em vários eletrodos, inclusive em eletrodo de diamante dopado com boro (115). Contudo, em buscas realizadas no Web of Science®, antes de se iniciar o desenvolvimento do método para quantificação de PQ, não havia sido encontrada nenhuma aplicação analítica com o eletrodo de diamante dopado com boro. Desta maneira, o comportamento eletroquímico do PQ foi investigado em diversos materiais eletródicos a fim de avaliar se o DDB ofereceria alguma vantagem frente aos demais materiais e, assim, utilizá-lo para desenvolver um método analítico para quantificação desse pesticida. A Figura 46 mostra os voltamogramas cíclicos registrados para uma solução de PQ em eletrodos de DDB, carbono vítreo, ouro e platina.

Figura 46. Voltamogramas cíclicos registrados na ausência e na presença de PQ 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em KCl 0,1 mol L^{-1} com pH ajustado para 9 em eletrodos de DDB, carbono vítreo, ouro e platina. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Para melhor comparação, as áreas eletroativas foram estimadas com o auxílio de uma solução 1,0 mmol L⁻¹ e da equação 4 de Randles-Sevcik para sistemas reversíveis. Assim, os voltamogramas da Figura 46 encontram-se com os valores de corrente normalizados para a densidade de corrente (*j*).

$$I_p = (2,68 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} \nu^{1/2} \quad (4)$$

É possível observar na Figura 46 que o PQ apresenta dois pares de sinais nos eletrodos de DDB, carbono vítreo e ouro (P_{1c}/P_{1a} e P_{2c}/P_{2a}). Contudo, devido a menor janela de potencial apresentada pela platina, verifica-se apenas um par de sinais (P_{1c}/P_{1a}) pouco intensos. Nos eletrodos de carbono vítreo e de ouro nota-se que o primeiro par de sinais é bem mais intenso que o segundo par. No caso do DDB, os dois pares são razoavelmente intensos quando se compara com a linha de base, além disso as razões das correntes de pico catódico e anódico para ambos os pares foram aproximadamente igual a unidade. Em adição, o valor da separação entre cada par de sinais foi de 65 mV, o qual está próximo ao valor teoricamente previsto que é 59 mV/*n*, em que *n* é o número de elétrons envolvido no processo redox. Estes dados se encontram concordantes com o que já foi descrito pela literatura (115). Portanto, o primeiro par de sinais, em -0,66 V, está associado ao processo redox representado pela equação 5, enquanto que o segundo par de sinais, em -1 V, é atribuído ao processo representado pela equação 5.

Outro fato que deve ser ressaltado está relacionado com a magnitude do sinal de corrente para o primeiro par de sinais no eletrodo de carbono vítreo, o qual é maior que no DDB. Contudo, neste último, observa-se que os dois pares de sinais são bem mais definidos, além de apresentar uma menor corrente de fundo, o que permitiria alcançar menores limites de detecção. Desta maneira, o DDB se mostrou um material eletródico adequado para o desenvolvimento do método eletroquímico para quantificação de PQ.

Foi investigado se o transporte de massa do PQ em direção à superfície do eletrodo de DDB seria difusional. A Figura 47 apresenta os voltamogramas cíclico registrados em diferentes velocidades de varredura (10 a 400 mV s^{-1}), assim como os gráficos das correntes de picos (I) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), os quais apresentam correlação linear para os dois pares de sinais. Desta forma, é possível afirmar que, na faixa de velocidade de varredura utilizada, o transporte de massa é controlado por difusão.

Figura 47. Voltamogramas cíclicos registrados numa solução de PQ $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH ajustado para 9 em eletrodo de DDB em diferentes velocidades de varredura: 10 (a); 25 (b); 50 (c); 100 (d); 200 (e); 400 (f) mV s^{-1} . Gráficos da corrente de pico I vs. $v^{1/2}$ para os picos P_{1c} e P_{1a} e P_{2c} e P_{2a} .

3.4.2. ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO pH

A influência da variação do pH referente ao sinal voltamétrico do PQ foi investigada utilizando-se soluções tampão com diferentes valores de pH. Na Figura 48 é possível observar que o pH não exerce influência sobre os valores de potenciais de pico do PQ. Contudo, é verificado que a intensidade de corrente é influenciada. Em meio ácido (pH 4) foi observado o menor valor de corrente de pico, por outro lado, em meio alcalino ($\text{pH} \geq 9$) observa-se uma maior intensidade de corrente, favorecendo, portanto, a transferência eletrônica. Desta maneira, soluções de eletrólitos suporte com $\text{pH} \geq 9$ foram utilizadas nos experimentos posteriores.

Figura 48. Voltamogramas de onda quadrada com linha de base normalizada registrados para uma solução de PQ $74 \mu\text{mol L}^{-1}$ em soluções tampão com diferentes valores de pH (ver Tabela 2). Parâmetros da voltametria SW: Amplitude de potencial = 70 mV; Degrau de potencial = 2 mV; $f = 60 \text{ s}^{-1}$.

3.4.3. ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DO ELETRÓLITO SUPORTE

Após a escolha do pH que forneceu a maior corrente de pico, foi avaliado se a composição do eletrólito de suporte exerceria influência nos sinais de corrente de pico do PQ. A Figura 49 compara os voltamogramas registrados nos eletrólitos suportes utilizados, todos na concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH ajustado para 9. Verifica-se que não houve nenhuma diferença significativa na intensidade dos sinais, entretanto, para o KCl os valores de corrente de pico se mostraram um pouco mais intensos. Portanto, a solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $\text{pH} \geq 9$ foi escolhida como eletrólito suporte para ser utilizada no experimentos seguintes.

Figura 49. Voltamogramas de onda quadrada com linha de base normalizada registrados numa solução de PQ $74 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes eletrólitos suporte com concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH ajustado para 9. Parâmetros da voltametria SW: Amplitude de potencial = 70 mV ; Degrau de potencial = 2 mV ; $f = 60 \text{ s}^{-1}$.

3.4.4. ESTUDO DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

A Figura 50 apresenta os resultados de corrente de pico que foram registrados ao se estudar o parâmetro da amplitude de potencial (ΔE_a). Observa-se que a corrente de pico, tanto P_1 quanto P_2 , aumenta linearmente com o aumento da amplitude. Porém, a linearidade começa a ser perdida para a amplitude de 70 mV , esse valor foi escolhido para ser utilizado nos próximos experimentos.

Figura 50. Estudo da amplitude de potencial (ΔE_a). Voltamogramas para os valores de Amplitude de potencial = 30, 40, 50, 60 e 70 mV; Degrau de potencial = 4 mV e $f = 25 \text{ s}^{-1}$ (A). Gráfico de I vs. E_a . $C_{PQ} = 74 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9).

Os resultados do estudo do degraú de potencial (ΔE_s), apresentados na Figura 51, revelam que as intensidades dos sinais de corrente do PQ não são significativamente afetados. No entanto, o valor de $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ se mostrou levemente melhor para P₁, enquanto que para P₂ um pouco menor quando comparado com o valor de $\Delta E_s = 8 \text{ mV}$. Portanto, optou-se por escolher o $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, uma vez que tal parâmetro influencia diretamente na velocidade de varredura, assim, valores elevados para degraú de potencial podem acarretar distorções no perfil dos voltamogramas.

Figura 51. Estudo da influência do degrau de potencial (ΔE_s). Voltamogramas para os valores de Degrau de potencial = 2, 4, 6, 8 e 10 mV; Amplitude de potencial = 70 mV e $f = 25 \text{ s}^{-1}$ (A). Gráfico de I vs. E_s (B). $C_{PQ} = 74 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 9).

Os resultados para a investigação do valor da frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f) no comportamento eletroquímico do PQ podem ser vistos Figura 52. Observa-se um aumento linear da corrente para ambos os picos quando se varia a frequência de 20 para 40 s^{-1} . Para frequências maiores que 60 s^{-1} observa-se que a intensidade dos picos de corrente do PQ não aumenta.

Figura 52. Estudo da frequência (f). Voltamogramas para os valores de $f = 20, 40, 60, 80$ e 100 s^{-1} ; Amplitude de potencial = 70 mV e Degrau de potencial = 2 mV (A). Gráfico de I vs. f (B). $C_{PQ} = 74 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 9).

A Figura 53 apresenta o gráfico da raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos em função da corrente de pico observada. Nota-se que até a frequência de 60 s^{-1} há linearidade, enquanto que para as frequências de 80 e 100 s^{-1} a linearidade é completamente perdida. Esta observação pode ser associada ao fato de perda de reversibilidade da reação sobre a superfície do eletrodo de DDB em frequências altas, o que pode prejudicar a sensibilidade para a técnica de voltametria de onda quadrada. Portanto, a frequência de 60 s^{-1} foi a escolhida para os experimentos seguintes.

Figura 53. Gráfico da corrente de pico (I) vs. raiz quadrada da frequência ($f^{1/2}$).

A Tabela 15 apresenta resumidamente as faixas estudadas para os parâmetros da voltametria SW, bem como os valores que apresentaram a melhor relação entre sinal de corrente e perfil voltamétrico.

Tabela 15. Parâmetros da voltametria SW otimizados de forma univariada para a quantificação de PQ.

Parâmetro	Faixa estudada	Valor ótimo
Amplitude de potencial (mV)	30 – 70	70
Degrau de potencial (mV)	2 – 10	2
Frequência (s ⁻¹)	20 – 100	60

3.4.5. DESEMPENHO ANALÍTICO

Após a otimização dos parâmetros da técnica e das condições experimentais para o desenvolvimento do método para quantificação de PQ, uma curva analítica foi construída. A Figura 54 apresenta os sinais voltamétricos de onda quadrada, com linha de base normalizada, registrados em eletrodo de DDB para adições sucessivas de alíquotas de uma solução estoque de PQ 1,00 mmol L⁻¹ na faixa de 0,800 a 167 µmol L⁻¹. Na Figura 15 também é possível visualizar as curvas analíticas obtidas para os picos P₁ e P₂ utilizando as intensidades dos sinais de corrente dos voltamogramas originais. Contudo, foi possível observar sinal voltamétrico para o PQ a partir da concentração 0,800 µmol L⁻¹ somente para P₁, enquanto P₂ apresentou sinal a partir de 1,60 µmol L⁻¹.

Figura 54. Voltamogramas de onda quadrada com linha de base normalizada registrados em eletrodo de DDB para adições sucessivas de uma solução estoque de PQ 1,00 mmol L⁻¹ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 9) (A). Parâmetros da voltametria SW: $f = 60 \text{ s}^{-1}$; Amplitude de potencial = 70 mV e Degrau de potencial = 2 mV. (a) 0,800; (b) 1,60; (c) 2,39; (d) 3,19; (e) 3,98; (f) 7,94; (g) 11,9; (h) 15,7; (i) 19,6; (j) 23,4; (k) 27,2; (l) 34,7; (m) 42,1; (n) 49,4; (o) 56,6; (p) 74,1; (q) 90,9; (r) 107; (s) 123; (t) 138; (u) 153; (v) 167 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Gráficos inseridos (B) e (C) traz as curvas analíticas para os picos P₁ e P₂.

Na Tabela 16 é possível verificar um resumo dos principais parâmetros analíticos obtidos para as curvas analíticas de P₁ e P₂. O limite de detecção foi estimado estatisticamente, conforme descrito na seção 2.3.3, para o P₁ foi de 70 nmol L⁻¹. A repetibilidade foi avaliada pelo registro sucessivo de 20 voltamogramas SW numa solução de PQ 74 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 9). Assim, os valores dos desvios padrão relativos estimados foram menores que 1% para ambos os picos. Outra característica do método é que as duas curvas analíticas apresentaram sensibilidades semelhantes, o que pode ser considerado uma vantagem quando se pensa na questão dos interferentes. Dessa forma, se um houver um determinado interferente na região de potencial próximo a P₁, p. ex., pode se utilizar o sinal do P₂ com praticamente a mesma confiança de P₁.

Tabela 16. Parâmetros analíticos do método proposto para quantificação de PQ.

Parâmetro	P ₁	P ₂
<i>Equação da reta</i>	$I / \mu A = 0,676 C_{PQ} / \mu mol L^{-1} - 0,0262$	$I / \mu A = 0,699 C_{PQ} / \mu mol L^{-1} - 1,79$
<i>Faixa linear ($\mu mol L^{-1}$)</i>	0,800 – 167	1,6 – 167
<i>R²</i>	0,9996	0,9995
<i>Limite de detecção ($nmol L^{-1}$)</i>	70	160
<i>Limite de quantificação ($nmol L^{-1}$)</i>	230	540
<i>Desvio padrão relativo (%)^a</i>	0,76	0,58

^a N = 20 em 74 $\mu mol L^{-1}$ de PQ

3.4.6. ESTUDO DE INTERFERENTES E ANÁLISE EM AMOSTRAS REAIS DE SALIVA E ÁGUA

No estudo dos possíveis interferentes para o método proposto, foram avaliados a glicose e os ácidos úrico e láctico, uma vez que, essas espécies estão na composição da matriz da saliva humana. Portanto, as espécies foram avaliados numa concentração 10 vezes maior que a do PQ. Para as três espécies avaliadas, nenhuma variação maior que 5% nos picos de corrente do PQ foi verificada. Por outro lado, metais pesados que podem ser encontrados em quantidades significativas em amostras de águas ambientais, poderiam representar uma fonte de interferência. Portanto, uma forma de solucionar tal problema seria realizando um pré-tratamento da amostra com um agente complexante como, por exemplo, o EDTA (116,117).

A exatidão do método foi avaliada através do teste de adição e recuperação, aplicado em amostras reais de saliva humana e água de torneira e de rio. Em nenhuma das amostras o PQ foi

detectado. Ressalte-se que este foi o primeiro método eletroquímico aplicado para quantificação de PQ em amostras de saliva humana. Como é possível ver na Tabela 17, o método apresentou recuperações adequadas de acordo com o nível de concentração utilizado (106).

Tabela 17. Testes de recuperação em amostras reais utilizando pico P₁ ($N = 3$).

Amostras	C _{PQ} (μmol L ⁻¹)		Recuperação (%)
	Adicionado	Recuperado	
Saliva humana			
Indivíduo A	1,00	0,912	91,2
Indivíduo B	1,00	0,830	83,0
Indivíduo C	1,00	0,993	99,3
Indivíduo D	1,00	1,04	104
Indivíduo E	1,00	0,895	89,5
Água de torneira	1,00	0,991	99,1
Água de rio	1,00	1,05	105

4. CONCLUSÕES

Nesse trabalho foi possível discriminar cinco pesticidas carbamatos utilizando análise de componentes principais e dados voltamétricos de corrente pré-processados (correção de linha de base e normalização) registrados com um eletrodo de DDB em soluções aquosas dos pesticidas em diferentes concentrações. Adicionalmente, um método para classificação dos cinco pesticidas foi desenvolvido, utilizando os dados voltamétricos juntamente com a ferramenta dos *k*-vizinhos mais próximos. A exatidão estimada para o método foi de 93% utilizando apenas um vizinho mais próximo.

O eletrodo de DDB também foi utilizado para o desenvolvimento de métodos eletroquímicos para quantificação dos pesticidas propoxur, pirimicarbe e paraquate. No método para o PPX, foi observado, pelo voltamograma cíclico, que o pesticida apresentou apenas um processo de oxidação irreversível por volta de 1,45 V, o qual não mostrou dependência com a variação do pH. Além disso, pelos dados de voltametria DP, foi observado que o processo de oxidação envolve apenas um único elétron. A voltametria DP também foi utilizada para o desenvolvimento do método eletroquímico para a quantificação do PPX, apresentando faixa linear de 1,66 a 155 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção estimado de 0,50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O método foi aplicado com sucesso para amostras de águas naturais e de um produto comercial, e este apresentou precisão e repetibilidade adequadas. Vale ressaltar que este é o primeiro método eletroquímico para a quantificação desse pesticida que não faz uso de biossensor nem de processo de derivatização (hidrólise em meio alcalino).

No caso do PMC, além do desenvolvimento do método eletroquímico para sua quantificação, um amplo estudo eletroquímico foi realizado a fim propor o mecanismo de oxidação.

Os voltamogramas cíclicos do PMC registrados em meio aquoso e diferentes valores de pH evidenciaram até quatro processos de oxidação. Os dois primeiros apresentaram dependência com o pH, enquanto que os dois últimos não apresentaram. O quarto processo de oxidação, o qual era possível observar apenas em soluções com valor de $\text{pH} \leq 5,5$, foi atribuído à produção de radicais hidroxila pelo eletrodo de DDB. Os dados de voltametria DP mostraram que apenas um elétron estava envolvido em cada um dos três processos de oxidação do PMC. Assim, foi proposto um mecanismo de oxidação para o PMC, o qual foi suportado por dados obtidos por espectrometria de massas durante a eletrólise do PMC. A voltametria DP foi utilizada no desenvolvimento do método eletroquímico para a quantificação do PMC. Uma faixa linear de 2,00 a 219 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um limite de detecção de 1,24 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram alcançados e o método foi aplicado em amostras de águas naturais, onde se obtiveram valores adequados de recuperação, demonstrando que o método é preciso e confiável, além de apresentar repetibilidade adequada.

A voltametria SW foi utilizada no desenvolvimento do método eletroquímico visando à quantificação do pesticida paraquate, uma vez que os experimentos voltamétricos evidenciaram a presença de dois sinais de redução reversíveis e bem definidos. Por conta disso, os dois sinais de redução podem ser utilizados para a quantificação do PQ, pois apresentaram sensibilidades semelhantes, o que torna o método versátil do ponto de vista de interferentes. A faixa linear alcançada foi de 0,800 a 167 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção de 70 nmol L^{-1} . O método foi aplicado com sucesso pela primeira vez na detecção e quantificação de PQ em amostras de saliva humana e demonstrou ser adequado também para amostras de águas naturais.

Todos os métodos eletroquímicos propostos neste trabalho apresentam baixo custo relativo, confiabilidade e possibilidade de portabilidade, o que os tornam adequados tanto para análises laboratoriais de rotina quanto para análises em campo.

5. PERSPECTIVAS

- Desenvolver um sistema de análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos utilizando eletrodo de platina para o monitoramento indireto do aldicarbe e aplicação em amostras reais;
- Desenvolver um método eletroquímico empregando calibração multivariada para determinação simultânea de pesticidas carbamatos em amostras contendo misturas de tais pesticidas;
- Desenvolver um método eletroquímico para discriminar diferentes classes de pesticidas, tais como carbamatos, organofosforados e piretróides.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Pesticide | Chemical and Waste. <http://www.unep.org/chemicalsandwaste/what-we-do/science-and-knowledge/issues-concern/pesticides>, acessado em 15 de agosto de 2017.
- 2 Cooper, J.; Dobson, H. The benefits of pesticides to mankind and the environment. **Crop Protection**, v. 26, n. 9, p. 1337–1348, 2007.
- 3 Ni, Y.; Qiu, P.; et al. Simultaneous voltammetric determination of four carbamate pesticides with the use of chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 537, n. 1–2, p. 321–330, 2005.
- 4 Mwila, K.; Burton, M.H.; et al. The effect of mixtures of organophosphate and carbamate pesticides on acetylcholinesterase and application of chemometrics to identify pesticides in mixtures. **Environmental monitoring and assessment**, v. 185, n. 3, p. 2315–27, 2013.
- 5 Azab, H. a; Duerkop, A.; et al. Fluorescence and electrochemical sensing of pesticides methomyl, aldicarb and prometryne by the luminescent europium-3-carboxycoumarin probe. **Journal of fluorescence**, v. 22, n. 2, p. 659–76, 2012.
- 6 Ni, Y.; Qiu, P.; et al. Simultaneous determination of three organophosphorus pesticides by differential pulse stripping voltammetry and chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 516, n. 1–2, p. 7–17, 2004.
- 7 First WHO report on suicide prevention. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/suicide-prevention-report/en/>, acessado em 15 de agosto de 2017.
- 8 Pariona, A. Top Pesticide Using Countries. <http://www.worldatlas.com/articles/top-pesticide-consuming-countries-of-the-world.html>, acessado em 15 de agosto de 2017
- 9 Gitel, M. Perigo na mesa: saiba quais são os alimentos com mais agrotóxicos no Brasil. <http://www.correio24horas.com.br/noticia/nid/perigo-na-mesa>, acessado em 16 de agosto de 2017.
- 10 Khodadoust, S.; Talebianpoor, M.S.; et al. Application of an optimized dispersive nanomaterial ultrasound-assisted microextraction method for preconcentration of carbofuran and propoxur and their determination by high-performance liquid chromatography with UV detection. **Journal of Separation Science**, v. 37, n. 21, p. 3117–3124, 2014.
- 11 Chýlková, J.; Tomášková, M.; et al. Determination of methiocarb pesticide using differential pulse voltammetry with a boron-doped diamond electrode. **Analytical Methods**, v. 7, n. 11, p. 4671–4677, 2015.
- 12 La Guardia, M. de; Khalaf, K.D.; et al. Clean analytical method for the determination of propoxur. **Analytica Chimica Acta**, v. 308, n. 1–3, p. 462–468, 1995.

- 13 Bucaretychi, F.; Prado, C.C.; et al. Poisoning by illegal rodenticides containing acetylcholinesterase inhibitors (chumbinho): a prospective case series. **Clinical Toxicology**, v. 50, n. 1, p. 44–51, 2012.
- 14 Moraes, F.C.; Mascaro, L.H.; et al. Direct electrochemical determination of carbaryl using a multi-walled carbon nanotube/cobalt phthalocyanine modified electrode. **Talanta**, v. 79, n. 5, p. 1406–11, 2009.
- 15 Khalaf, K.D.; Morales-Rubio, A.; et al. Simple and rapid flow-injection spectrophotometric determination of carbaryl after liquid-liquid extraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 280, n. 2, p. 231–238, 1993.
- 16 Quinn, D.M. Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. **Chemical Reviews**, v. 87, n. 5, p. 955–979, 1987.
- 17 Ni, Y.; Cao, D.; et al. Simultaneous enzymatic kinetic determination of pesticides, carbaryl and phoxim, with the aid of chemometrics. **Analytica chimica acta**, v. 588, n. 1, p. 131–9, 2007.
- 18 Rao, T.N.; Loo, B.H.; et al. Electrochemical detection of carbamate pesticides at conductive diamond electrodes. **Analytical chemistry**, v. 74, n. 7, p. 1578–83, 2002.
- 19 <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>, acessado em 21 de setembro de 2017.
- 20 Lista da ANVISA dos alimentos com maior nível de contaminação. <http://revista.rebia.org.br/2016/88/850-lista-da-anvisa-dos-alimentos-com-maior-nivel-de-contaminacao>, acessado em 17 de agosto de 2017.
- 21 Souza, D. de; Machado, S.A.S. Estudo eletroanalítico do herbicida paraquat em soluções aquosas por voltametria de onda quadrada utilizando ultramicroeletrodos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 644–647, 2003.
- 22 Li, J.; Lei, W.; et al. Fabrication of polypyrrole-grafted nitrogen-doped graphene and its application for electrochemical detection of paraquat. **Electrochimica Acta**, v. 174, p. 464–471, 2015.
- 23 Halfon, E.; Galassi, S.; et al. Selection of priority properties to assess environmental hazard of pesticides. **Chemosphere**, v. 33, n. 8, p. 1543–1562, 1996.
- 24 Paraquat Dichloride.
https://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=CHEMICALSEARCH:3:::NO:1,3,31,7,12,25:P3_XCHEMICAL_ID:3221, acessado em 16 de agosto de 2017.
- 25 <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1669>, acessado em 16 de agosto de 2017.

- 26 <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/reavaliacao-de-agrotoxicos>, acessado em 2 de outubro de 2017.
- 27 TAKINO, M.; DAISHIMA, S.; et al. Determination of Diquat and Paraquat in Water by Liquid Chromatography/Electrospray-Mass Spectrometry Using Volatile Ion-Pairing Reagents. **Analytical Sciences**, v. 16, n. 7, p. 707–711, 2000.
- 28 Aramendía, M.A.; Borau, V.; et al. Determination of diquat and paraquat in olive oil by ion-pair liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry (MRM). **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 181–188, 2006.
- 29 Carneiro, M.; Puignou, L.; et al. Comparison of silica and porous graphitic carbon as solid-phase extraction materials for the analysis of cationic herbicides in water by liquid chromatography and capillary electrophoresis. **Analytica Chimica Acta**, v. 408, n. 1–2, p. 263–269, 2000.
- 30 BRUNETTO, M.; MORALES, A.; et al. Determination of paraquat in human blood plasma using reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography with direct sample injection. **Talanta**, v. 59, n. 5, p. 913–921, 2003.
- 31 Ibáñez, M.; Picó, Y.; et al. On-line determination of bipyridylum herbicides in water by HPLC. **Chromatographia**, v. 45, n. 1, p. 402–407, 1997.
- 32 Taylor, P.J.; Salm, P.; et al. A detection scheme for paraquat poisoning: validation and a five-year experience in Australia. **Journal of analytical toxicology**, v. 25, n. 6, p. 456–60, 2001.
- 33 Moreira, P.N.; Pinho, P.G. de; et al. Quantification of paraquat in postmortem samples by gas chromatography-ion trap mass spectrometry and review of the literature. **Biomedical Chromatography**, v. 26, n. 3, p. 338–349, 2012.
- 34 Almeida, R.M. de; Yonamine, M. Gas chromatographic–mass spectrometric method for the determination of the herbicides paraquat and diquat in plasma and urine samples. **Journal of Chromatography B**, v. 853, n. 1–2, p. 260–264, 2007.
- 35 Yuen, S.H.; Bagness, J.E.; et al. Spectrophotometric determination of diquat and paraquat in aqueous herbicide formulations. **The Analyst**, v. 92, n. 1095, p. 375, 1967.
- 36 Li, C.-B.; Li, X.-H.; et al. Serum paraquat concentration detected by spectrophotometry in patients with paraquat poisoning. **World journal of emergency medicine**, v. 2, n. 3, p. 179–84, 2011.
- 37 Durán, G.M.; Contento, A.M.; et al. Use of CdSe/ZnS quantum dots for sensitive detection and quantification of paraquat in water samples. **Analytica chimica acta**, v. 801, p. 84–90, 2013.
- 38 Santos, L.B.O. dos; Infante, C.M.C.; et al. Development of a sequential injection–square wave voltammetry method for determination of paraquat in water samples employing the hanging mercury drop electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 396, n. 5, p. 1897–1903, 2010.

- 39 Maya, F.; Estela, J.M.; et al. Improved spectrophotometric determination of paraquat in drinking waters exploiting a Multisyringe liquid core waveguide system. **Talanta**, v. 85, n. 1, p. 588–595, 2011.
- 40 Jain, A.; Verma, K.K.; et al. Determination of paraquat by flow-injection spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 284, n. 2, p. 275–279, 1993.
- 41 Guijarro, E.C.; Yáñez-Sedeño, P.; et al. Determination of paraquat by flow-injection spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 199, p. 203–208, 1987.
- 42 Saad, B.; Ariffin, M.; et al. Flow injection potentiometric determination of paraquat in formulations and biological samples. **Talanta**, v. 47, n. 5, p. 1231–1236, 1998.
- 43 Vinner, E.; Stievenart, M.; et al. Separation and quantification of paraquat and diquat in serum and urine by capillary electrophoresis. **Biomedical Chromatography**, v. 15, n. 5, p. 342–347, 2001.
- 44 Lanaro, R.; Costa, J.L.; et al. Detection of Paraquat in Oral Fluid, Plasma, and Urine by Capillary Electrophoresis for Diagnosis of Acute Poisoning. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 35, n. 5, p. 274–279, 2011.
- 45 El Mhammedi, M.A.; Bakasse, M.; et al. Square-Wave Voltammetric Determination of Paraquat at Carbon Paste Electrode Modified with Hydroxyapatite. **Electroanalysis**, v. 19, n. 16, p. 1727–1733, 2007.
- 46 Mhammedi, M.A. El; Bakasse, M.; et al. Electrochemical studies and square wave voltammetry of paraquat at natural phosphate modified carbon paste electrode. **Journal of Hazardous Materials**, v. 145, n. 1–2, p. 1–7, 2007.
- 47 Lopes, I.C.; Souza, D. De; et al. Voltammetric detection of paraquat pesticide on a phthalocyanine-based pyrolytic graphite electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 388, n. 8, p. 1907–1914, 2007.
- 48 Zen, J.-M.; Jeng, S.-H.; et al. Determination of Paraquat by Square-Wave Voltammetry at a Perfluorosulfonated Ionomer/Clay-Modified Electrode. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 3, p. 498–502, 1996.
- 49 Alvarez, E.; Sevilla, M.-T.; et al. Cathodic stripping voltammetry of paraquat on a carbon paste electrode modified with amberlite XAD-2 resin. **Analytica Chimica Acta**, v. 260, n. 1, p. 19–23, 1992.
- 50 Souza, D. de; Machado, S.A.S. Electrochemical detection of the herbicide paraquat in natural water and citric fruit juices using microelectrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 546, n. 1, p. 85–91, 2005.
- 51 HARRIS, D.C. **Análise química quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC, 2012.
- 52 Bard, A.J.; Faulkner, L.R. **Electrochemical methods: Fundamentals and applications**. 124

New York: John Wiley and Sons Ltd., 1990.

53 WANG, J. **Analytical electrochemistry**. New Jersey: WILEY-VCH, 2006.

54 Holler, F.J.; Skoog, D.A.; et al. **Fundamentos de química analítica**. São Paulo: Cengage Learning, 2008.

55 Brett, C.M.A.; Brett, A.M.O. **Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications**. New York: Oxford University Press, 1993.

56 Pacheco, W.F.; Semaan, F.S.; et al. Voltametrias: Uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.

57 Souza, D. De; Machado, S.A.S.; et al. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81–89, 2003.

58 ENACHE, T.A. **Mecanismos redox de compostos aromáticos, aminoácidos e proteínas, em eléctrodos de carbono**. Tese, Universidade de Coimbra. Coimbra, p. 254, 2011.

59 Pelskov, Y.V.; Sakharova, A.Y.; et al. Photoelectrochemical properties of semiconductor diamond. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 228, n. 1–2, p. 19–27, 1987.

60 Kraft, A. Doped Diamond: A Compact Review on a New, Versatile Electrode Material - Open Access Library. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 2, n. 5, p. 355–385, 2007.

61 Macpherson, J. V. A practical guide to using boron doped diamond in electrochemical research. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 17, n. 5, p. 2935–2949, 2015.

62 Selva, T.M.G.; Araujo, W.R. de; et al. Non-Invasive Salivary Electrochemical Quantification of Paraquat Poisoning Using Boron Doped Diamond Electrode. **Electroanalysis**, v. 27, n. 7, p. 1642–1648, 2015.

63 Selva, T.M.G.; Paixão, T.R.L.C. Electrochemical quantification of propoxur using a boron-doped diamond electrode. **Diamond and Related Materials**, v. 66, p. 113–118, 2016.

64 Selva, T.M.G.; Paixão, T.R.L.C. da Boron-doped diamond as a sensor for the classification of carbamate pesticides using a chemometric approach. **New J. Chem.**, v. 40, p. 2514–2520, 2016.

65 Oliveira, S.C.B.; Oliveira-Brett, A.M. Boron doped diamond electrode pre-treatments effect on the electrochemical oxidation of dsDNA, DNA bases, nucleotides, homopolynucleotides and biomarker 8-oxoguanine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 648, n. 1, p. 60–66, 2010.

66 Yang, N.; Foord, J.S.; et al. Diamond electrochemistry at the nanoscale: A review. **Carbon**, v. 99, p. 90–110, 2016.

67 Bogdanowicz, R.; Fabiańska, A.; et al. Influence of the boron doping level on the electrochemical oxidation of the azo dyes at Si/BDD thin film electrodes. **Diamond and Related**

Materials, v. 39, p. 82–88, 2013.

68 Neodo, S.; Nie, M.; et al. Nickel-ion detection on a boron-doped diamond electrode in acidic media. **Electrochimica Acta**, v. 88, p. 718–724, 2013.

69 El Tall, O.; Jaffrezic-Renault, N.; et al. Anodic Stripping Voltammetry of Heavy Metals at Nanocrystalline Boron-Doped Diamond Electrode. **Electroanalysis**, v. 19, n. 11, p. 1152–1159, 2007.

70 Yamada, D.; Ivandini, T.A.; et al. Anodic stripping voltammetry of inorganic species of As³⁺ and As⁵⁺ at gold-modified boron doped diamond electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 615, n. 2, p. 145–153, 2008.

71 Sonthalia, P.; McGaw, E.; et al. Metal ion analysis in contaminated water samples using anodic stripping voltammetry and a nanocrystalline diamond thin-film electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 522, n. 1, p. 35–44, 2004.

72 Ribeiro, W.F.; da Costa, D.J.E.; et al. Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Trace Level Ricin in Castor Seeds Using a Boron-doped Diamond Electrode. **Electroanalysis**, v. 29, n. 7, p. 1783–1793, 2017.

73 Santos, K.D.; Braga, O.C.; et al. Electroanalytical determination of estriol hormone using a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 80, n. 5, p. 1999–2006, 2010.

74 Švorc, L.; Kalcher, K. Modification-free electrochemical approach for sensitive monitoring of purine DNA bases: Simultaneous determination of guanine and adenine in biological samples using boron-doped diamond electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 194, p. 332–342, 2014.

75 Alecrim, M.F.; Oliveira, F.M.; et al. Electrochemical behavior of the cotinine at a boron-doped diamond electrode and its determination in saliva by multiple-pulse amperometry in an FIA system. **Electrochimica Acta**, v. 222, p. 331–337, 2016.

76 Brycht, M.; Kaczmarek, K.; et al. Sensitive determination of anticancer drug imatinib in spiked human urine samples by differential pulse voltammetry on anodically pretreated boron-doped diamond electrode. **Diamond and Related Materials**, v. 68, p. 13–22, 2016.

77 Cinková, K.; Švorc, L.; et al. Simple and Rapid Quantification of Folic Acid in Pharmaceutical Tablets using a Cathodically Pretreated Highly Boron-doped Polycrystalline Diamond Electrode. **Analytical Letters**, v. 49, n. 1, p. 107–121, 2016.

78 Pop, A.; Manea, F.; et al. Non-enzymatic electrochemical detection of glycerol on boron-doped diamond electrode. **The Analyst**, v. 137, n. 3, p. 641–647, 2012.

79 Bartošová, Z.; Jirovský, D.; et al. High-performance liquid chromatographic method with amperometric detection employing boron-doped diamond electrode for the determination of sildenafil, vardenafil and their main metabolites in plasma. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 44, p. 7996–8001, 2011.

- 80 Souza, C.D.; Braga, O.C.; et al. Electroanalytical determination of sulfadiazine and sulfamethoxazole in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 135, n. 1, p. 66–73, 2008.
- 81 Freitas, J.M.; Ramos, D.L.O.; et al. A portable electrochemical method for cocaine quantification and rapid screening of common adulterants in seized samples. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 243, p. 557–565, 2017.
- 82 Sanoit, J. de; Vanhove, E.; et al. Electrochemical diamond sensors for TNT detection in water. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 24, p. 5688–5693, 2009.
- 83 Pereira, G.F.; Andrade, L.S.; et al. Electrochemical determination of bisphenol A using a boron-doped diamond electrode. **Electrochimica Acta**, v. 82, p. 3–8, 2012.
- 84 Lourenço, A.S.; Sanches, F.A.C.; et al. Electrochemical oxidation and electroanalytical determination of xylitol at a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 119, p. 509–516, 2014.
- 85 Pedrosa, V. de A.; Codognoto, L.; et al. Electroanalytical determination of 4-nitrophenol by square wave voltammetry on diamond electrodes. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 4, p. 530–535, 2003.
- 86 Stanković, D.M. Electroanalytical Approach for Quantification of Pesticide Maneb. **Electroanalysis**, v. 29, n. 2, p. 352–357, 2017.
- 87 Lima, T.; Silva, H.T.D.; et al. An Experimental Design for Simultaneous Determination of Carbendazim and Fenamiphos by Electrochemical Method. **Electroanalysis**, v. 28, n. 4, p. 817–822, 2016.
- 88 Dornellas, R.M.; Nogueira, D.B.; et al. The boron-doped diamond electrode voltammetric method for ultra-trace determination of the fungicide pyraclostrobin and evaluation of its photodegradation and thermal degradation. **Analytical Methods**, v. 6, n. 3, p. 944, 2014.
- 89 Melo, L.C.; Souza, D. De; et al. Sensitive Determination of the Diquat Herbicide in Fresh Food Samples on a Highly Boron-Doped Diamond Electrode. **Electroanalysis**, v. 22, n. 21, p. 2502–2510, 2010.
- 90 Dornellas, R.M.; Munoz, R.A.A.; et al. Electrochemical determination of picoxystrobin on boron-doped diamond electrode: Square-wave voltammetry versus BIA-multiple pulse amperometry. **Microchemical Journal**, v. 123, p. 1–8, 2015.
- 91 Pedrosa, V.A.; Codognoto, L.; et al. Is the boron-doped diamond electrode a suitable substitute for mercury in pesticide analyses? A comparative study of 4-nitrophenol quantification in pure and natural waters. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 573, n. 1, p. 11–18, 2004.
- 92 Codognoto, L.; Tanimoto, S.T.; et al. Electroanalytical Determination of Carbaryl in Natural Waters on Boron Doped Diamond Electrode. **Electroanalysis**, v. 18, n. 3, p. 253–258, 2006.
- 93 Miller, J.N.; Miller, J.C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. Gosport:

Pearson, 2010.

94 Christie, O.H.J. Introduction to multivariate methodology, an alternative way? **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 29, n. 2, p. 177–188, 1995.

95 Ferreira, M.M.C. **Quimiometria: Conceitos, Métodos e Aplicações**. Campinas: Editora Unicamp, 2015.

96 Pedrotti, J.J.; Angnes, L.; et al. Miniaturized Reference Electrodes with Microporous Polymer Junctions. **Electroanalysis**, v. 8, n. 7, p. 673–675, 1996.

97 Bruns, R.; Scarminio, I.; et al. **Statistical Design - Chemometrics**. Netherlands: Elsevier B.V., 2006.

98 Whitehead, R.D.; Montesano, M.A.; et al. Method for measurement of the quaternary amine compounds paraquat and diquat in human urine using high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 878, n. 27, p. 2548–2553, 2010.

99 Javaid, M.A.; Ahmed, A.S.; et al. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, 2015.

100 Lima, D.P.; Diniz, D.G.; et al. Saliva: reflection of the body. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 3, p. 184–188, 2010.

101 Caporossi, L.; Santoro, A.; et al. [Salivary analyses for biologic monitoring: possibility and perspectives]. **Giornale italiano di medicina del lavoro ed ergonomia**, v. 29, n. 3 Suppl, p. 532–4,

102 Propoxur (WHO Pesticides Residues Series 3).

<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v073pr19.htm>, acessado em 4 de outubro de 2017.

103 Shono, T.; Hamaguchi, H.; et al. Electroorganic Chemistry. XX. Anodic Oxidation of Carbamates. **Journal of American Chemical Society**, v. 97, n. 15, p. 4264–4268, 1975.

104 El-Dib, M.; Ramadan, F.; et al. Adsorption of Sevin and Baygon on granular activated carbon. **Water Research**, v. 9, n. 9, p. 795–798, 1975.

105 Trouillon, R.; O'Hare, D. Comparison of glassy carbon and boron doped diamond electrodes: Resistance to biofouling. **Electrochimica Acta**, v. 55, n. 22, p. 6586–6595, 2010.

106 Gustavo González, A.; Ángeles Herrador, M. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 227–238, 2007.

107 Campaña, A.M.G.; Rodriguez, L.C.; et al. Estimation of the tolerance level of interfering substances in instrumental analytical methods. **Analytical Letters**, v. 28, n. 2, p. 369–380, 1995.

- 108 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/pirimicarb#section=Decomposition>, acessado em 13 de setembro de 2017.
- 109 Pletcher, D.; Greff, R.; et al. **Instrumental Methods in Electrochemistry**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2002.
- 110 Enache, T.A.; Chiorcea-Paquim, A.M.; et al. Hydroxyl radicals electrochemically generated in situ on a boron-doped diamond electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 11, n. 7, p. 1342–1345, 2009.
- 111 Adenier, A.; Chehimi, M. M.; et al. Electrochemical Oxidation of Aliphatic Amines and Their Attachment to Carbon and Metal Surfaces. **Langmuir**, v. 20, n. 19, p. 8243–8253, 2004.
- 112 Smith, J.R.L.; Masheder, D. Amine Oxidation. Part IX. The Electrochemical Oxidation of Some Tertiary Amines: The Effect of Structure on Reactivity. **J. Chem. Soc. Perkin Trans.**, v. 2, p. 47–51, 1976.
- 113 Haya, L.; Pardo, J.I.; et al. Regioselectivity of Electrochemical C-H Functionalization Via Iminium Ion. **Electrochimica Acta**, v. 142, p. 299–306, 2014.
- 114 Haya, L.; Sayago, F.J.; et al. Quantum-chemical predictions of redox potentials of carbamates in methanol. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 39, p. 17696, 2011.
- 115 Xiao, L.; Wildgoose, G.G.; et al. Investigating the voltammetric reduction of methylviologen at gold and carbon based electrode materials. Evidence for a surface bound adsorption mechanism leading to electrode “protection” using multi-walled carbon nanotubes. **New Journal of Chemistry**, v. 32, n. 9, p. 1628, 2008.
- 116 Lu, T.-H.; Sun, I.-W. Electrocatalytic determination of paraquat using a nafion film coated glassy carbon electrode. **Talanta**, v. 53, n. 2, p. 443–451, 2000.
- 117 Farahi, A.; Achak, M.; et al. Silver particles-modified carbon paste electrodes for differential pulse voltammetric determination of paraquat in ambient water samples. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, 2014.

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Thiago Matheus Guimarães Selva

Local e data de nascimento: Recife – PE, 26 de março de 1983

EDUCAÇÃO

Ensino Fundamental e Médio: Escola Dr. Luiz Cabral de Melo, Paulista – PE, 2001

Ensino Superior: Graduação em Licenciatura Plena em Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, 2007.

Pós-Graduação: Mestrado em Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, 2010.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

Chemometrics, Carga horária: 45 horas, São Paulo – SP, Brasil, 2014.

Eletrônica Básica para Cientistas, Carga horária: 20 horas, Recife – PE, Brasil, 2012.

Análise Térmica, Carga horária: 16 horas, Recife – PE, Brasil, 2012.

Treinamento em Segurança e Qualidade em Laboratórios de Química e Microbiologia, Carga horária: 8 horas, Recife – PE, Brasil, 2011.

Alquimia X Química, Carga horária: 8 horas, Recife – PE, Brasil, 2005.

Corrosão de Metais, Carga horária: 10 horas, Recife – PE, Brasil, 2003.

Monitorias (Programa de Aperfeiçoamento do Ensino)

QFL1111 – Química Analítica I, 2014

QFL4220 – Química Analítica II, 2015

OCUPAÇÃO

Bolsista de Doutorado, Capes, novembro de 2013 a outubro de 2017

Professor do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico (D304), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, de 2010 até o presente.

PUBLICAÇÕES (Artigos Completos e Resumos em Congressos)

Artigos Completos

1. CARDOZO, C. G.; CARDOSO, R. F.; SELVA, T. M. G.; CARVALHO, A. E.; SANTOS, W. T. P.; PAIXÃO, T. R. L. C.; SILVA, R. A. B. Batch Injection Analysis-Multiple Pulse Amperometric Fingerprint: A Simple Approach for Fast On-site Screening of Drugs. **Electroanalysis**, 2017. No prelo.
2. SELVA, T. M. G.; DE ARAÚJO, W. R.; BACIL, R. P.; PAIXÃO, T. R. L. C. Study of Electrochemical Oxidation and Quantification of the Pesticide Pirimicarb Using a Boron-Doped Diamond Electrode. **ELECTROCHIMICA ACTA**, v.246, p.588 - 596, 2017.
3. SELVA, T. M. G.; PAIXÃO, T. R. L. C. Boron-doped diamond as a sensor for the classification of carbamate pesticides using a chemometric approach. **New Journal of Chemistry**, v.40, p.2514 - 2520, 2016.
4. SELVA, T. M. G.; PAIXÃO, T. R. L. C. Electrochemical quantification of propoxur using a boron-doped diamond electrode. **Diamond and Related Materials**, v.66, p.113 - 118, 2016.
5. SELVA, T. M. G.; DE ARAUJO, W. R.; PAIXÃO, T. R. L. C. Non-Invasive Salivary Electrochemical Quantification of Paraquat Poisoning Using Boron Doped Diamond Electrode. **Electroanalysis**, v.27, p.1642 - 1648, 2015.

6. NASCIMENTO, R. F.; SELVA, T. M. G.; RIBEIRO, W. F.; BELIAN, M. F.; ANGNES, L.; NASCIMENTO, V. B. Flow-injection electrochemical determination of citric acid using a cobalt(II)-phthalocyanine modified carbon paste electrode. **Talanta**, v.105, p.354 - 359, 2012.

7. RIBEIRO, W. F.; SELVA, T. M. G.; LOPES, I. C.; COELHO, E. C. S.; LEMOS, S. G.; ABREU, F. C.; NASCIMENTO, V. B.; ARAÚJO, M. C. U. Electroanalytical determination of carbendazim by square wave adsorptive stripping voltammetry with a multiwalled carbon nanotubes modified electrode. **Analytical Methods**, v.3, p.1202 - 1206, 2011.

8. NASCIMENTO, V. B.; SELVA, T. M. G.; COELHO, E. C. S.; SANTOS, F. P.; ANTONIO, J. L. S.; SILVA, J. R.; GAIÃO, E. N.; ARAÚJO, M. C. U. Automatic determination of chlorine without standard solutions using a biamperometric flow-batch analysis system. **Talanta**, v.81, p.609 - 613, 2010.

9. OLIVEIRA, S. C.; COELHO, E. C. S.; SELVA, T. M. G.; SANTOS, F. P.; ARAUJO, M. C. U.; ABREU, F. C.; NASCIMENTO, V. B. A coulometric flow cell for in-line generation of reagent, titrant or standard solutions. **Microchemical Journal**, v.82, p.220 - 225, 2006.

Capítulos de Livros Publicados

1. SELVA, T. M. G.; FERREIRA, T. L.; PAIXÃO, T. R. L. Information Extraction Techniques in Chemical Sensing In: Materials for Chemical Sensing. 1 ed. New York City: Springer International Publishing, 2017, p. 7-27.

Trabalhos Publicados em Anais de Eventos

1. SELVA, THIAGO M. G.; ARAUJO, WILLIAM R.; PAIXAO, THIAGO R. L. C. Electrochemical sensor for discrimination of carbamates and organophosphorus pesticides In: 2017 ISOCS/IEEE International Symposium on Olfaction and Electronic Nose (ISOEN), 2017, Montreal. 2017 ISOCS/IEEE International Symposium on Olfaction and Electronic Nose (ISOEN), 2017.

2. SELVA, THIAGO M.G.; PRATA, R. B.; ARAUJO, W. R.; PAIXÃO, THIAGO REGIS LONGO CESAR. Electrochemical study and quantification of pirimicarb at boron doped diamond electrode In: 68th The Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy, 2017, Chicago. 67th Pittcon Technical Program, 2017.

3. SELVA, THIAGO M.G.; ARAUJO, W. R.; BACIL, RAPHAEL PRATA; PAIXÃO, THIAGO REGIS LONGO CESAR. Estudo eletroquímico do pesticida pirimicarb em eletrodo de diamante dopado com boro e desenvolvimento de método analítico In: I Encontro de Eletroquímica e Eletroanalítica IQ-USP, 2017, São Paulo. I Encontro de Eletroquímica e Eletroanalítica IQ-USP, 2017.
4. SILVA, J. R.; SELVA, THIAGO M.G.; ARAUJO, W. R.; PAIXÃO, THIAGO REGIS LONGO CESAR. Quantificação Eletroquímica do Inseticida Metil-Paration Usando Dispositivo Analítico Fabricado em Papel In: XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2017, Natal. Resumos do XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica. , 2017.
5. SELVA, THIAGO M.G.; PAIXAO, T. R. L. C. Electrochemical Quantification of Propoxur Carbamate Pesticide using a Boron-Doped Diamond Electrode In: 67th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, 2016, The Hague. The 67th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, 2016.
6. SELVA, T. M. G.; PAIXAO, T. R. L. C. Use of a Boron Doped Diamond Electrode Sensor for Carbamate Pesticide Classification Using a Chemometric Approach In: 67th The Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy, 2016, Atlanta. PITTCON Conference and Expo, 2016.
7. SELVA, T. M. G.; ARAUJO, W. R.; PAIXAO, T. R. L. C. Determinação não invasiva de paraquat em saliva utilizando eletrodo de diamante dopado com boro In: XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2015, Uberlândia. Resumos do XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2015.
8. SELVA, T. M. G.; ARAUJO, W. R.; PAIXAO, T. R. L. C. Electrochemical Determination of Aldicarb Pesticide Using Platinum Electrode and a Derivatization Process In: 65th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, 2014, Lausanne. 65th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, 2014.
9. NASCIMENTO, R. F.; SELVA, T. M. G.; RIBEIRO, W. F.; BELIAN, M. F.; ANGNES, L.; NASCIMENTO, V. B. Flow Injection Analysis Amperometric Determination of Citric Acid with a Cobalt(II)-Phthalocyanine Modified Carbon Paste Electrode In: XIX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2013, Campos do Jordão. XIX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2013.
10. NASCIMENTO, R. F.; SELVA, T. M. G.; RIBEIRO, W. F.; BELIAN, M. F.; ANGNES, L.; NASCIMENTO, V. B. New electroanalytical method for the Determination of Citric Acid by

Square Wave Voltammetry In: XIX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2013, Campos do Jordão. XIX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2013.

11. SILVA, J. R.; SELVA, T. M. G.; NASCIMENTO, R. F.; BELIAN, M. F.; NASCIMENTO, V. B. Atividade Eletrocatalítica do Ferricianeto Imobilizado Numa Matriz de Sílica Funcionalizada Desenvolvida por Processo Sol-Gel Eletrolítico Sobre Eletrodo de Ouro In: 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011, Campos do Jordão. Resumos do 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011.

12. SILVA, J. R.; SELVA, T. M. G.; NASCIMENTO, W. S.; NASCIMENTO, V. B.; CÂMARA, C. A.; ABREU, F. C.; ANTÔNIO, J. L. S. Caracterização Eletroquímica de Derivados da 1,4-Naftoquinona que Apresentam Atividade Moluscicida In: 33a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia. Anais da 33a RASBQ, 2010.

13. SELVA, T. M. G.; NASCIMENTO, V. B.; OLIVEIRA, S. C. B.; ARAUJO, M. C. U.; ABREU, F. C. Um Sistema de Análise em Fluxo que Não Requer Padrões de Calibração In: 13º Encontro nacional de química analítica, 2005, Niterói-RJ. Anais do 13º Encontro nacional de química analítica, 2005.

14. SILVA, J. R.; SELVA, T. M. G.; NASCIMENTO, V. B.; NASCIMENTO, W. S.; CÂMARA, C. A.; ABREU, F. C. Estudo do Comportamento Eletroquímico de Derivados da 1,4-Naftoquinona Visando Propor Compostos com Potencial Atividade Moluscicidas In: Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão, 2010, Recife. Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão, 2010.

15. RIBEIRO, W. F.; LOPES, I. C.; LEMOS, S. G.; SELVA, T. M. G.; COELHO, E. C. S.; NASCIMENTO, V. B.; ARAUJO, M. C. U.; ABREU, F. C. Análise de Traços de Carbendazim por Voltametria de Onda Quadrada com Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Nanotubos de Carbono In: 15 Encontro Nacional de Química Analítica, 2009, Salvador. Trabalhos do 15 Encontro Nacional de Química Analítica, 2009.

16. SELVA, T. M. G.; SILVA, J. R.; NASCIMENTO, W. S.; NASCIMENTO, V. B.; CÂMARA, C. A.; ABREU, F. C. Estudo Eletroquímico em Meio Aprótico de Derivados da 1,4-Naftoquinona com Atividade Moluscicida In: IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE, 2009, Recife. IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE, 2009.

17. ANTÔNIO, J. L. S.; SELVA, T. M. G.; NASCIMENTO, V. B.; CÂMARA, C. A.; ABREU, F. C. Estudos Eletroquímicos da Lausona e Cinco Derivados com Atividades Moluscicida In: IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE, 2009, Recife. IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE, 2009.

18. NASCIMENTO, V. B.; SELVA, T. M. G.; ANTÔNIO, J. L. S.; CÂMARA, C. A.; ABREU, F. C. Estudos Eletroquímicos de Derivados da 1,4-Naftoquinona que Possuem Atividade Moluscicida In: 15 Encontro Nacional de Química Analítica, 2009, Salvador. Trabalhos do 15 Encontro Nacional de Química Analítica, 2009.
19. BARBOSA, E. M. O.; ANTÔNIO, J. L. S.; SELVA, T. M. G.; PAIM, A. P. S.; NASCIMENTO, V. B.; LAVORANTE, A. F. Sistema de Análise em Fluxo Empregando Geração Eletroquímica de Reagente e Detecção Biamperométrica para a Determinação de Sulfito In: IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE, 2009, Recife. IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE, 2009.
20. NEVES, I. A.; OLIVEIRA, J. C. S.; SELVA, T. M. G.; SCHWARTZ, M. O. E.; CAMARA, C. A. G. Composição química do óleo das folhas de *Lippia gracilis* Schauer de duas localidades de Pernambuco In: 30º Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, águas de Lindóia. Anais da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007.
21. NEVES, I. A.; OLIVEIRA, J. C. S.; SELVA, T. M. G.; CAMARA, C. A. G.; SILVA, L. L. D.; SCHWARTZ, M. O. E. Composição química do óleo essencial de duas espécies de *Lantana* de Matas Serranas de Pernambuco In: 30º Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia. Anais da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007.
22. PONTES, W. J. T.; SELVA, T. M. G.; CAMARA, C. A. G.; OLIVEIRA, J. C. S.; LOPES, A. C. H. R.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; SCHWARTZ, M. O. E. Composição Química e Atividade Acaricida do Óleo Essencial de Resinas de *Protium bahianum* sobre o ácaro rajado, *Tetranychus urticae* In: 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia-SP. Anais da 29º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006. v.29.
23. PONTES, W. J. T.; SELVA, T. M. G.; BARROS, R.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; OLIVEIRA, J. V.; OLIVEIRA, J. C. S.; CAMARA, C. A. G.; ASSIS, C. P. O. Efeito de extratos etanólicos de folhas e caule de quatro espécies do gênero *Croton* sobre o ácaro-rajado *Tetranychus Urticie* In: 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia-SP. Anais da 29º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006. v.29.
24. SELVA, T. M. G.; NASCIMENTO, V. B.; OLIVEIRA, S. C. B.; COELHO, E. C. S.; ABREU, F. C.; ARAUJO, M. C. U. Desenvolvimento de uma micro-célula eletrolítica para geração de reagentes em fluxo In: 28º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005, Poços de Caldas-MG. Anais da 28º Reunião Anula da Sociedade Brasileira de química, 2005.
25. SELVA, T. M. G.; OLIVEIRA, S. C. B.; NASCIMENTO, V. B.; ARAUJO, M. C. U.

Determinação de Ácido Ascórbico Utilizando um Sistema em Fluxo-Batelada que Não Requer Padrões de Calibração In: XV Congresso de Iniciação Científica, 2005, Recife. Anais do XV congresso de Iniciação Científica, 2005.

26. SELVA, T. M. G.; SILVA, A. M.; SANTOS, M. B.; OLIVEIRA, S. C. B.; NASCIMENTO, V. B.; COELHO, E. C. S. Desenvolvimento de uma célula eletrolítica para geração coulométrica de iodo em fluxo In: IV Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão, 2004, RECIFE. IV Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão, 2004.