UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DOS HERBICIDAS 2,4-D E METRIBUZIN EM AMOSTRAS DE SOLO UTILIZANDO UM ELETRODO COMPÓSITO DE GRAFITE-POLIURETANA

Fernanda Ramos de Andrade

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências (Área de concentração: Química Analítica).

Orientador: Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz

São Carlos - SP
2008

*Dedico este trabalho
Aos meus pais: Luzia e Lupercio, pelo amor e
incentivo para realizaçao deste trabalho e pelo
apoio em todas as etapas da minha vida. Aos
meus irmãos Luciane e Alessandro e a minha
cunhada Claudia.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela minha existência e por me dar forças pra enfrentar os problemas e os momentos mais difíceis.

Ao Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz, pela orientação neste trabalho e pela compreensão e confiança em mim depositada.

A Dra. Renata Alves Toledo pela ajuda inestimável na execução deste trabalho, pelos ensinamentos e amizade, meus sinceros agradecimentos.

Ao Sr. Renê de Oste pela ajuda e dedicação, sem as quais seria impossível a realização do trabalho de campo.

Ao Sr. João Tiengo (GMEME) pela construção dos eletrodos de referência e contra-eletrodos.

À Prefeitura Municipal de São Carlos e aos proprietários do Sítio América por ceder os espaços para realização dos experimentos de campo. E aos funcionários do Canil/Gatil Municipal pela atenção.

Aos funcionários da Embrapa: Alessandra, Álvaro, Dionísio, Gilmar, Godoy, Joana, Jorge, Kelen, Marcelo, Terezinha Arruda, Valentim, Valéria, Wilson e demais funcionários pela ajuda prestada sempre que solicitada.

Aos amigos da Embrapa: Adriana, Aline, Cleber, Edilene, Jonatas, Kelly, Larissa, Lucimar, Poliana, Robson e Úrsula, pela amizade e excelente convívio nesses anos.

Às amigas: Andréa, Cláudia, Elaine, Fabiana, Juliana Andresa, Juliana Egg, Lílíane, Rosane e Simone pela amizade e por sempre me apoiarem nos momentos difíceis.

Ao grupo de Radioquímica e Química Ambiental: Dra. Maria Olímpia de Oliveira Rezende e Maria Diva Landgraf pela ajuda com os métodos cromatográficos e empréstimo do equipamento de HPLC.

À Sílvia e à Andréia da secretaria do Serviço de Pós-Graduação e às bibliotecárias do IQSC pela ajuda sempre que necessário.

À Embrapa Instrumentação Agropecuária pela infra-estrutura e pela bolsa concedida (Projeto nº. 01.05.1.001.02.02).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO	1
1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	2
1.2. HERBICIDAS	4
1.2.1. O herbicida 2,4-D.....	4
1.2.2. O herbicida metribuzin.....	7
1.3. TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS	9
1.3.1. Voltametria cíclica	10
1.3.1.1. Sistemas reversíveis.....	10
1.3.1.2. Sistemas irreversíveis	11
1.3.2. Voltametria de onda quadrada.....	11
1.4. ELETRODOS COMPÓSITOS	14
1.5. TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS	16
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS	17
CAPÍTULO 3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
3.1. CÉLULAS ELETROQUÍMICAS	20
3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	20
3.2.1. Reagentes.....	20
3.2.2. Soluções.....	20
3.2.2.1. Solução Tampão	20
3.2.2.2. Solução estoque do herbicida 2,4-D	21
3.2.2.3. Solução estoque do herbicida metribuzin	22
3.3. ELETRODOS.....	22
3.3.1. Eletrodo de trabalho.....	22
3.3.2. Eletrodos de referência	23
3.3.2.1. Eletrodo de prata/cloreto de prata.....	23
3.3.2.2. Eletrodo de calomelano saturado.....	24
3.3.3. Eletrodo auxiliar	24
3.4. METODOLOGIA.....	24
3.4.1. Voltametria cíclica	24
3.4.2. Voltametria de onda quadrada.....	24
3.4.3. Cromatografia líquida de alta eficiência	25
3.4.4. Medidas de pH.....	26
3.4.5. Experimentos com solos – Avaliação da percolação dos herbicidas.....	26
3.4.5.1. Análise granulométrica e química	28
3.4.5.2. Métodos de extração	29
3.4.5.2.1. Extração de solução do solo	29
3.4.5.2.2. Coleta do solo no final do experimento.....	30

3.4.5.2.3. Extração do herbicida 2,4-D em amostras de solução de solo para análise por HPLC.....	30
3.4.5.2.4. Extração dos herbicidas das amostras de solo coletadas por tradagem 100 dias após o início dos experimentos	31
Herbicida 2,4-D	31
Herbicida metribuzin	31
CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1. AVALIAÇÃO DOS ELETRODOS	33
4.2. ESTUDO VOLTAMÉTRICO DO 2,4-D	34
4.2.1. <i>Voltametria cíclica do 2,4-D</i>	34
4.2.1.1. Perfil voltamétrico	34
4.2.1.2. Variação da velocidade de varredura para o 2,4-D	35
4.2.2. <i>Voltametria de onda quadrada</i>	37
4.2.2.1. Variação do pH.....	37
4.2.2.2. Variação da frequência	40
4.2.2.3. Variação da amplitude	42
4.2.2.4. Variação do incremento de varredura.....	43
4.2.2.5. Variação do tempo e do potencial de acumulação	44
4.2.2.6. Construção da curva analítica.....	45
4.3. ESTUDO VOLTAMÉTRICO DO METRIBUZIN	47
4.3.1. <i>Análise da influência do eletrólito suporte</i>	47
4.3.2. <i>Voltametria cíclica do metribuzin</i>	48
4.3.2.1. Perfil voltamétrico do metribuzin.....	48
4.3.2.2. Variação da velocidade de varredura.....	48
4.3.3. <i>Voltametria de onda quadrada do metribuzin</i>	50
4.3.3.1. Variação do pH.....	50
4.3.3.2. Variação da frequência	52
4.3.3.3. Variação da amplitude	55
4.3.3.4. Variação do incremento de varredura.....	55
4.3.3.5. Variação do tempo e potencial de acumulação	56
4.3.3.6. Construção da curva analítica.....	57
4.4. DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DOS HERBICIDAS 2,4-D E METRIBUZIN EM AMOSTRAS NATURAIS	60
4.4.1. <i>Determinação eletroanalítica do 2,4-D na solução do solo extraída por cápsula porosa</i>	61
4.4.2. <i>Determinação eletroanalítica do 2,4-D em amostras de solo coletada por tradagem</i>	65
4.4.3. <i>Determinação do 2,4-D na solução do solo extraído por cápsula porosa utilizando HPLC</i>	67
4.4.4. <i>Determinação eletroanalítica do metribuzin na solução do solo extraída por cápsula porosa</i>	70
4.4.5. <i>Determinação eletroanalítica do metribuzin em amostras de solo coletadas por tradagem</i>	74
CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES	77
CAPÍTULO 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do 2,4-D.....	4
Figura 2. Estrutura química do metribuzin.....	7
Figura 3. Esquema da redução do metribuzin proposta por Ludvik <i>et al.</i> (1998).....	9
Figura 4. Forma de aplicação dos pulsos em voltametria de onda quadrada.	13
Figura 5. Célula eletroquímica utilizada nos experimentos de voltametria cíclica e de voltametria de onda quadrada, mostrando (A) eletrodo de trabalho, (B) eletrodo de referência, (C) eletrodo auxiliar e (D) entrada de N ₂	20
Figura 6. Esquema ilustrativo (A) foto do eletrodo (B) de GPU construído e utilizado no trabalho.	23
Figura 7. Locais de experimento e distribuição das manilhas de concreto para o ponto 1 (AM1) e ponto 2 (AM2).	27
Figura 8. A – Extrator da solução do solo com cápsula porosa de carbeto de silício; B – Detalhe da cápsula porosa com as mangueiras para extração da solução do solo.....	30
Figura 9. Voltamogramas de onda quadrada para o 2,4-D (A) e metribuzin (B) obtidos em diferentes eletrodos de trabalho. Solução de 2,4-D 10,5 mg L ⁻¹ em tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 2), $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 3 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -400 \text{ mV}$. Solução de metribuzin 10,2 mg L ⁻¹ em água acidificada com H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ (pH 2), $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -300 \text{ mV}$	33
Figura 10. Voltamogramas cíclicos de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 2). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$	35
Figura 11. Voltamogramas cíclicos de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ (pH 2) para diferentes velocidades de varredura com eletrodo de GPU (A), e a relação entre as correntes de pico e velocidade (B).....	35
Figura 12. Relação logarítmica entre a corrente de pico e a velocidade de varredura para o 2,4-D os dados da Figura 6.....	37
Figura 13. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ para diferentes valores de pH. $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = 0 \text{ mV}$	38
Figura 14. Correntes (I_p) e potenciais (E_p) de pico de redução do 2,4-D em tampão BR com eletrodo de GPU.	39
Figura 15. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ para diferentes valores de frequência. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = 0 \text{ mV}$	40

Figura 16. Relações entre as correntes de pico com a frequência (A) e a raiz quadrada da frequência (B) com os voltamogramas apresentados na Figura 15.	41
Figura 17. Relação entre o potencial de pico e o logaritmo da frequência da onda quadrada para o herbicida 2,4-D.	42
Figura 18. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de amplitude (A) e variação da corrente de pico com a amplitude (B). $f = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = 0 \text{ mV}$	42
Figura 19. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de incremento de varredura. $f = 50 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = 0 \text{ mV}$	43
Figura 20. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de tempo de acumulação. $f = 50 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$ e $E_{ac} = 0 \text{ mV}$	44
Figura 21. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de potencial de acumulação. $f = 50 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$ e $t_{ac} = 10 \text{ s}$	45
Figura 22. Voltamogramas de onda quadrada em função da concentração de 2,4-D adicionada (A) e a curva analítica com a variação da corrente de pico em função da concentração (B). Eletrodo de trabalho: compósito de GPU. $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 3 \text{ mV}$, $E_{ac} = -400 \text{ mV}$ e $t_{ac} = 10 \text{ s}$	46
Figura 23. Correntes de pico (I_p) do metribuzin ($8,2 \text{ mg L}^{-1}$) em três diferentes eletrólitos suporte em função do pH.	47
Figura 24. Voltamogramas cíclicos de uma solução $8,2 \text{ mg L}^{-1}$ de metribuzin em água acidificada com H_2SO_4 1 mol L^{-1} (pH 2). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$	48
Figura 25. Voltamogramas cíclicos (A) de uma solução $8,12 \text{ mg L}^{-1}$ de metribuzin em água Milli-Q acidificada com H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) para diversos valores de velocidade de varredura e a variação da corrente (I_p) e do potencial (E_p) do pico de redução em função da velocidade de varredura (B).	49
Figura 26. Relação entre o logaritmo da corrente de pico (I_p) e da velocidade de varredura (v) para o metribuzin, obtidos dos voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 25A.	50
Figura 27. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $8,12 \text{ mg L}^{-1}$ de metribuzin com H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte, para diferentes valores de pH. $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$	51
Figura 28. Relação entre potencial de pico de redução do metribuzin e o pH, com os dados obtidos dos voltamogramas de onda quadrada apresentados na Figura 27.	52

Figura 29. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução 8,12 mg L ⁻¹ de metribuzin em água acidificada com H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ (pH 2) para diferentes valores de frequência. $a = 50$ mV, $\Delta E_i = 1$ mV, $t_{ac} = 0$ s e $E_{ac} = 0$ V.	53
Figura 30. Variação da corrente de pico de redução do metribuzin com a frequência de aplicação do potencial obtidos dos voltamogramas de onda quadrada da Figura 29.	54
Figura 31. Relação entre os potenciais de pico (E_p) de redução do metribuzin e o logaritmo da frequência de onda quadrada obtidos dos voltamogramas de onda quadrada da Figura 29.	54
Figura 32. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução 8,12 mg L ⁻¹ de metribuzin em água acidificada com H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ para diferentes valores de amplitude. $f = 50$ mV, $\Delta E_i = 1$ mV, $t_{ac} = 0$ s e $E_{ac} = 0$	55
Figura 33. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução 8,12 mg L ⁻¹ de metribuzin em água acidificada com H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ (pH 2) para diferentes valores de incremento de varredura. $f = 50$ mV, $a = 50$ mV, $t_{ac} = 0$ s e $E_{ac} = 0$	56
Figura 34. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução 8,12 mg L ⁻¹ de metribuzin em água acidificada com H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ (pH 2) para diferentes valores de tempo de acumulação. $f = 50$ mV, $a = 50$ mV, $\Delta E_i = 1$ mV e $E_{ac} = 0$	56
Figura 35. Voltamogramas de onda quadrada (A) de uma solução 8,12 mg L ⁻¹ de metribuzin em água acidificada com H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ (pH 2) para diferentes valores de potencial de acumulação (E_{ac}) e variação das correntes de pico com E_{ac} (B). $f = 50$ mV, $a = 50$ mV, $\Delta E_i = 1$ mV e $t_{acc} = 10$ s.	57
Figura 36. Voltamogramas de onda quadrada (A) variando-se a concentração de metribuzin adicionado em H ₂ SO ₄ (pH 2) com eletrodo de GPU e média das seis curvas analíticas (B) obtidas com a adição do herbicida padrão ou comercial em amostras de soluções dos solos ou eletrólitos suporte apenas. $f = 40$ s ⁻¹ , $a = 50$ mV, $\Delta E_i = 5$ mV, $t_{ac} = 10$ s e $E_{ac} = -300$ mV.	58
Figura 37. A – Voltamogramas de onda quadrada para diferentes profundidades de solo para amostra AM 1. Soluções do solo tamponadas com TBR 0,10 mol L ⁻¹ (pH 2,0), $f = 50$ s ⁻¹ , $a = 50$ mV, $\Delta E_i = 3$ mV, $t_{ac} = 10$ s e $E_{ac} = -400$ mV. (—) Sem herbicida; (—) Branco; (—) 24 h; (—) 48 h; (—) 72 h; (—) 7 dias; (—) 14 dias; (—) 30 dias; (—) 52 dias; (—) 60 dias; (—) 71 dias; (—) 73 dias; (—) 76 dias; e (—) 85 dias. B – Decaimento da concentração em função do tempo.	63
Figura 38. A – Voltamogramas de onda quadrada para diferentes profundidades de solo para amostra AM 2. Soluções do solo tamponadas com TBR 0,10 mol L ⁻¹ (pH 2,0), $f = 50$ s ⁻¹ , $a = 50$ mV, $\Delta E_i = 3$ mV, $t_{ac} = 10$ s e $E_{ac} = -400$ mV. (—) Sem herbicida; (—) Branco; (—) 24 h; (—) 48 h; (—) 72 h; (—) 7 dias; (—) 14 dias; (—) 30 dias; (—) 52 dias; (—) 60 dias; (—) 71 dias; (—) 73 dias; (—) 76 dias; e (—) 85 dias. B – Decaimento da concentração em função do tempo.	64
Figura 39. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostras de solo com 2,4-D, 100 dias após aplicação do produto comercial, com eletrodo de GPU e curva de recuperação (B). $f = 50$ s ⁻¹ , $a = 50$ mV, $\Delta E_i = 3$ mV, $t_{ac} = 10$ s e $E_{ac} = -400$ mV.	66

Figura 40. Curva analítica do 2,4-D com a técnica de HPLC. Fase móvel: 50% Acetonitrila / 50% água + 0,1% H₃PO₄, fluxo 1,4 mL min⁻¹. Volume 20 µL. Detecção em 201 nm. 68

Figura 41. Comparação entre as medidas das concentrações de 2,4-D por SWV e HPLC nas amostras de solução do solo coletadas por cápsula porosa nos solos AM1 e AM2, para todas as profundidades e tempos de amostragem. 70

Figura 42. A – Voltamogramas de onda quadrada para diferentes profundidades de solo para amostra AM 1. Soluções do solo acidificadas com H₂SO₄ 0,10 mol L⁻¹ (pH 2,0), $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -300 \text{ mV}$. (—) Sem herbicida; (—) Branco; (—) 24 h; (—) 48 h; (—) 72 h; (—) 7 dias; (—) 14 dias; (—) 30 dias; (—) 52 dias; (—) 60 dias; (—) 71 dias; (—) 73 dias; (—) 76 dias; e (—) 85 dias. B – Decaimento da concentração em função do tempo. 71

Figura 43. A – Voltamogramas de onda quadrada para diferentes profundidades de solo para amostra AM 2. Soluções do solo acidificadas com H₂SO₄ 0,10 mol L⁻¹ (pH 2,0), $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -300 \text{ mV}$. (—) Sem herbicida; (—) Branco; (—) 24 h; (—) 48 h; (—) 72 h; (—) 7 dias; (—) 14 dias; (—) 30 dias; (—) 52 dias; (—) 60 dias; (—) 71 dias; (—) 73 dias; (—) 76 dias; e (—) 85 dias. B – Decaimento da concentração em função do tempo. 72

Figura 44. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostras de solo com metribuzin, 100 dias após aplicação, com eletrodo de GPU e curva de recuperação (B). $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -300 \text{ mV}$ 75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características dos sistemas eletroquímicos, estudados com a técnica de voltametria de onda quadrada, quanto ao grau de reversibilidade ao relacionar I_p e E_p com a frequência de aplicação de pulsos	13
Tabela 2. Procedência e pureza dos reagentes utilizados	21
Tabela 3. Resultados da análise química das amostras de solo	28
Tabela 4. Resultados da análise granulométrica das amostras de solo.....	29
Tabela 5. Corrente (I_p) e potenciais (E_p) de pico de redução do 2,4-D em função da velocidade de varredura (dados obtidos da Figura 6A)	36
Tabela 6. Valores de corrente (I_p) e potencial (E_p) de pico para o 2,4-D.....	41
Tabela 7. Valores de corrente (I_p) e potencial de pico (E_p) para a redução do 2,4-D	51
Tabela 8. Valores de corrente (I_p) e potencial (E_p) do pico de redução do metribuzin em função da frequência, obtidos dos voltamogramas de onda quadrada da Figura 24	53
Tabela 9. Parâmetros das metodologias analíticas estabelecidas para os herbicidas 2,4-D e metribuzin e os parâmetros analíticos obtidos.....	60
Tabela 10. Concentrações de 2,4-D em amostras de solução do solo obtidas por meio da aplicação da metodologia eletroanalítica desenvolvida.....	65
Tabela 11. Concentrações de 2,4-D em amostras de solo 100 dias após aplicação do herbicida	67
Tabela 12. Comparação dos resultados obtidos pelas técnicas SWV e HPLC para solução de solo com 2,4-D	69
Tabela 13: Concentrações de metribuzin em amostras de solução do solo obtidas por meio da aplicação da metodologia eletroanalítica desenvolvida.....	74
Tabela 14. Concentrações de metribuzin em amostras de solo coletadas por gradagem 100 dias após o início do experimento.....	76

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

v	- velocidade de varredura
2,4-D	- ácido 2,4-diclorofenóxiacético
A	- área do eletrodo
ACN	- acetonitrila
AM1	- amostra de solo do ponto 1
AM2	- amostra de solo do ponto 2
C	- concentração
CG	- cromatografia gasosa
CTC	- capacidade trocadora de cátion
D	- coeficiente de difusão
E_{ac}	- potencial de acumulação
ECS	- eletrodo de calomelano saturado
E_p	- potencial de pico
$E_{p/2}$	- potencial de pico a meia altura
E_{pa}	- potencial de pico anódico
E_{pc}	- potencial de pico catódico
HPLC	- cromatografia líquida de alta eficiência
I_p	- corrente de pico
I_{pa}	- corrente de pico anódica
I_{pc}	- corrente de pico catódica
LD	- limite de detecção
LQ	- limite de quantificação
M1	- mangueira curta
M2	- mangueira longa
MO	- matéria orgânica
MS	- espectrometria de massa
n	- número de mols
ND	- não detectado
RSD	- desvio padrão relativo
SA	- sem amostra
SH	- sem herbicida
SPE	- extração em fase sólida
t_{ac}	- tempo de acumulação
VC	- voltametria cíclica

RESUMO

O presente trabalho apresenta um estudo eletroquímico da redução dos herbicidas 2,4-D e metribuzin bem como o desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação destes compostos em amostras naturais. Os experimentos foram realizados sobre eletrodo compósito de grafite-poliuretana (GPU) utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV). A técnica de Voltametria Cíclica (VC) foi utilizada para diagnosticar o grau de reversibilidade da reação de redução dos herbicidas assim como a natureza do transporte da material eletroativo para a superfície do eletrodo de GPU. Os eletrólitos suportes utilizados nos experimentos foram: tampão Britton-Robinson (BR) para o 2,4-D e água acidificada com H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para o metribuzin, ambos em pH 2. Os resultados indicaram que tanto o 2,4-D quanto para o metribuzin, apresentam um único pico de redução com características de processo irreversível controlado pela adsorção de reagente na superfície do eletrodo. Os parâmetros da técnica de SWV (frequência, amplitude e incremento de varredura), bem como o tempo e potencial de acumulação foram otimizados para obtenção de maior sensibilidade analítica. Curvas analíticas dos dois herbicidas foram obtidas no intervalo de $1,5$ a $12 \mu\text{mol L}^{-1}$ para os dois herbicidas. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) obtidos para o 2,4-D, foram de $17,6 \mu\text{g L}^{-1}$ e $58,6 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Para o metribuzin, o LD foi de $1,67 \mu\text{g L}^{-1}$ e o LQ $5,56 \mu\text{g L}^{-1}$. A precisão das metodologias desenvolvidas foi avaliada por meio da repetibilidade e a reprodutibilidade e a exatidão determinada pelo erro relativo. Os testes de recuperação realizados pelo método de adição de padrão forneceram valores de 104 % para o 2,4-D e 102 % para o metribuzin. As metodologias eletroanalíticas desenvolvidas para determinação do 2,4-D e do metribuzin, foram aplicadas em um estudo para avaliação do tempo de percolação dos mesmos em dois solos com características distintas. Os resultados indicaram que os dois herbicidas apresentam alta mobilidade nos solos estudados, pois 24 horas após a aplicação já foi possível detectar a presença dos mesmos na solução do solo extraída. Para o 2,4-D, 7 dias após o início do experimento, foram encontrados apenas resíduos de herbicida, enquanto que para o metribuzin obteve-se concentrações próximas a 1 mg L^{-1} , mesmo depois de 14 dias. Após 100 dias do início do experimento observou-se um maior acúmulo de 2,4-D no solo arenoso, que pode ter ocorrido devido ao teor mais elevado de MO do solo argiloso, que proporciona uma quantidade maior de microorganismos no solo e que podem degradar o 2,4-D. Já para o metribuzin pode-se observar que este fica adsorvido nas primeiras profundidades do solo argiloso, possivelmente pelas maiores quantidades de MO e CTC. O eletrodo de GPU com a técnica de SWV apresentou bons resultados no que diz respeito à sensibilidade e ao tempo de análise, sendo uma excelente alternativa ao eletrodo de mercúrio, usualmente utilizado em medidas eletroanalíticas do 2,4-D e metribuzin. Os resultados obtidos com amostras de solo e formulação comercial dos herbicidas são bastante coerentes, considerando a dinâmica da dissipação espacial e temporal dos herbicidas no perfil do solo.

Palavras-chave: 2,4-D, metribuzin, eletrodo compósito de grafite-poliuretana, voltametria de onda quadrada, determinação analítica.

ABSTRACT

This research presents an electrochemical study of the herbicides 2,4-D and metribuzin reductions and the development of analytical methodologies for the determination of such substances in natural samples. The experiments were done with a graphite-polyurethane composite electrode (GPU) using the square wave voltammetry (SWV). The cyclic voltammetry (CV) was used to evaluate the reversibility degree of the herbicides reductions and thus the transport nature of the electroactive material to the surface of the GPU electrode. The supporting electrolytes used in the experiments were Britton-Robinson (BR) buffer for the 2,4-D and acidified water with H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ for the metribuzin, both at pH 2. Results indicated that the 2,4-D and metribuzin show one reduction peak reduction with irreversible process characteristics, which are controlled by the adsorption of the reagent in the electrode surface. The SWV technique parameters (frequency, amplitude and scanning increment) and the time and potential of accumulation were optimized in order to obtain the highest analytic sensibility. Analytical curves were obtained from $0,33 \text{ mg L}^{-1}$ to $2,62 \text{ mg L}^{-1}$ for 2,4-D and $0,32 \text{ mg L}^{-1}$ to $4,72 \text{ mg L}^{-1}$ for metribuzin. The detection (LD) and quantification limits (LQ) obtained for 2,4-D were $17,6 \mu\text{g L}^{-1}$ and $58,6 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. For metribuzin, the LD was $1,67 \mu\text{g L}^{-1}$ and the LQ was $5,56 \mu\text{g L}^{-1}$. The precision of the developed methodologies was evaluated through its repeatability and reproducibility, besides the accuracy were determined by the relative error. Recovery experiments done by the standard addition method, provided values of 104 % for the 2,4-D and 102 % for the metribuzin. The electroanalytical methodologies developed for the determination of these herbicides were applied in two different soils with distinct characteristics, one sandy and other clayed soil. Results indicate that the herbicides present high mobility in the studied soils and 24 hours after its application it was possible to detect the presence of the herbicides in the soil solution extract. For the 2,4-D, seven days after the beginning of the experiment it was measured only residues, but for the metribuzin it is possible to measure concentrations around 1 mg L^{-1} , even after fourteen days. After 100 days it was observed the highest accumulation of the 2,4-D in the sandy soil, that can be explained by the highest content of OM in the clay soil, which provides a higher content of 2,4-D degrading microorganisms. The herbicide metribuzin was adsorbed in the first layers of the clay soil, possibly due to the higher CTC and OM amounts in the soil profile. The GPU electrode with the SWV technique presented very good results when considered the sensibility and time analyses, being an excellent alternative for the mercury electrode usually used in the electroanalytical measurements of the 2,4-D and metribuzin. The obtained results with soil samples and commercial formulation of the herbicides are very consistent, considering the spatial and temporal dissipation dynamics of the herbicides in the soil.

Keywords: 2,4-D, metribuzin, graphite-polyurethane composite electrode, square wave voltammetry, electroanalytical determination.

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Existem vários fatores que contribuem direta ou indiretamente para a redução da colheita agrícola. As ervas daninhas têm uma contribuição expressiva causando efeitos negativos na produção, uma vez que competem com a cultura por espaço, água, luz e principalmente nutrientes. Por este motivo, com a finalidade de aumentar a colheita e melhorar a qualidade dos alimentos, têm-se aumentado o uso de pesticidas (herbicidas, fungicidas, inseticidas, etc.) na agricultura brasileira e mundial. Porém o uso indiscriminado, sem os devidos critérios e sem conhecimento da ação e dos efeitos secundários dos pesticidas pode acarretar danos ao meio ambiente, contaminação de alimentos, águas e solos e consequentemente intoxicações e doenças no homem e em animais ^{1, 2}.

Segundo o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG) ³ o mercado mundial de pesticidas movimenta cerca de 35 bilhões de dólares anualmente, sendo que um terço desse total é consumido pelos EUA. O Brasil é responsável pelo consumo de pouco mais de 10 % deste total, tendo comercializado e utilizado, em 2006, cerca de 400 mil toneladas, equivalente a 3,9 bilhões de dólares. Do total consumido no Brasil, 39 % são aplicados na cultura da soja, 13 % em cana-de-açúcar, 10 % em algodão, 8 % em milho, 4 % em café, 4 % em citros e 3 % em outros. Atualmente, o consumo por tipo ou classe de pesticida é de 40 % de herbicidas, 31 % de fungicidas, 24 % de inseticidas, 2% de acaricidas e 3 % de outros tipos.

Independente da forma de aplicação, o solo em geral recebe a maior parte dos pesticidas aplicados nas culturas, podendo ser ainda perdido por volatilização, lixiviação, degradação química, microbiológica ou fotodegradação ou ser arrastada com as partículas do solo por erosão para os corpos de água superficiais ². Por este motivo, é importante conhecer os mecanismos e os processos de interação dos pesticidas com o meio, de modo que essas substâncias possam ser utilizadas de forma ambientalmente segura e sem riscos para a saúde humana.

Depois da aplicação de um herbicida, vários processos físicos, químicos, físico-químicos e biológicos determinam seu comportamento. O destino de herbicidas no ambiente é governado por processos de retenção (adsorção, absorção), de transformação (decomposição, degradação) e de transporte (volatilização, lixiviação, escoamento superficial), e por interações desses processos. Além da variedade de processos envolvidos na determinação do destino ambiental de herbicidas, diferenças nas estruturas e nas propriedades das substâncias

químicas, bem como nas características e nas condições ambientais, podem também afetar esses processos. Condições meteorológicas, composição das populações de microorganismos no solo, presença ou ausência de plantas, localização do solo na topografia, e práticas de manejo dos solos podem também afetar o destino de herbicidas no ambiente. Além disso, a taxa e a quantidade de água movendo na superfície e através do perfil do solo têm um grande impacto no movimento do herbicida ⁴.

Dentre os diversos fatores que afetam a interação e o destino dos pesticidas no ambiente, destaca-se a capacidade de adsorção do pesticida com o solo, pois essa capacidade afeta a biodisponibilidade e a taxa de liberação desse material para o meio e está, portanto, relacionado com o seu potencial de degradação e lixiviação. Os fatores que influenciam a adsorção são: a estrutura molecular, textura do solo, acidez, temperatura, solubilidade e o teor da matéria orgânica presente no solo ⁵.

A maioria das metodologias analíticas desenvolvidas para a determinação de resíduos de pesticidas é baseada em técnicas cromatográficas. Estas técnicas são utilizadas para separação e quantificação de substâncias diversas, podendo também ser utilizadas como técnica de identificação, quando acopladas a um espectrômetro de massas ou a outro detector qualitativo. Suas resoluções são excelentes, sendo possível analisar várias substâncias em uma mesma amostra (multi-resíduos). A sensibilidade da cromatografia é bastante elevada. Dependendo do tipo de substância analisada e o detector empregado, podemos obter concentrações que variam de picogramas a miligramas. No entanto, na maioria das vezes é necessária a utilização de algumas etapas de preparação e pré-tratamento para remoção de contaminantes da amostra antes que ela possa ser analisada. Esta etapa é longa e complexa, o que faz aumentar o tempo e o custo das análises ^{6, 7}. Deste modo, metodologias mais rápidas e precisas de análises de pesticidas vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de tornar o custo mais baixo. Por este motivo, as técnicas eletroanalíticas têm sido bastante utilizadas para a determinação e diversos estudos em diferentes matrizes como águas naturais, solo, plantas e alimentos. Apesar de apresentar, em alguns casos, baixa seletividade e sensibilidade quando comparadas à cromatografia, as técnicas eletroanalíticas apresentam diversas vantagens, onde a principal delas é a possibilidade da medida ser realizada diretamente nas amostras sem separações prévias, bem como a possibilidade da análise de materiais coloridos ou amostras contendo partículas dispersas e o baixo custo das análises ⁸. A sensibilidade das técnicas eletroanalíticas pode variar de alguns $\mu\text{g L}^{-1}$ (ppb) ou menos, a até vários mg L^{-1} (ppm). Além disso, estas técnicas são bastante seletivas, pois cada espécie possui um potencial de oxidação

ou redução particular, em uma determinada condição, o que minimiza a interferência de outras espécies ¹.

A rapidez, o baixo custo das análises, a facilidade no manuseio da instrumentação e os baixos limites de detecção fazem das técnicas eletroanalíticas uma alternativa extremamente viável às tradicionais técnicas cromatográficas, para detecção de resíduos de pesticidas nas mais variadas matrizes ⁹.

1.2. HERBICIDAS

1.2.1. O herbicida 2,4-D

O 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenóxiacético), cuja estrutura é apresentada na Figura 1, é um herbicida seletivo para aplicação, pré e pós-emergência, no controle de plantas infestantes nas culturas de trigo, milho, soja, arroz (irrigado e de sequeiro), cana-de-açúcar e pastagens de braquiária ¹⁰. Este herbicida age como inibidor da ação da enzima acetilcolinesterase causando a morte de ervas daninhas de folhas largas ¹¹.

Figura 1. Estrutura química do 2,4-D.

É considerado um herbicida barato e bastante eficiente, mesmo em baixas concentrações. O 2,4-D apresenta classificação toxicológica I, ou seja, é extremamente tóxico e perigoso ao meio ambiente. Ao ser aplicado no ambiente, este herbicida é disperso em solos, em sedimentos e em águas. Devido ao seu uso difundido, sua persistência, natureza polar e solubilidade em água, o herbicida 2,4-D é espalhado e seus resíduos e produtos de transformação estão presentes em diversas matrizes, tais como, água, solo, cereais e outros vegetais ¹². Por este motivo, é muito recomendado o monitoramento constante desta substância e de seus produtos de degradação nas diferentes matrizes, justificando assim os

esforços realizados no sentido do desenvolvimento de métodos analíticos rápidos e sensíveis para determinação rotineira de 2,4-D em amostras de solo e água.

Devido ao fato do 2,4-D ser altamente tóxico, o herbicida pode causar sérias irritações nas pessoas que estão envolvidas com sua aplicação na agricultura. Em humanos, a respiração prolongada de herbicida causa tosse, queimadura, vertigem e diminuição temporária na coordenação dos músculos. Por esta razão, métodos analíticos sensíveis são desenvolvidos para a determinação rotineira deste herbicida em amostras naturais ¹².

Os principais métodos de análise deste poluente orgânico requerem primeiramente a derivatização da molécula. Em seguida são aplicadas outras técnicas para análise quantitativa, tais como a cromatografia gasosa (CG), a cromatografia acoplada à espectroscopia de massa (CG/MS) ^{13, 14} ou a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) ¹⁵ com espectrofotometria de UV-Vis ^{16, 17} ou massa ¹⁸. Tais técnicas requerem uma separação dos compostos antes da detecção e, frequentemente, um processo de extração elaborado ¹⁹. Além disso, a instrumentação é sofisticada, os métodos são trabalhosos, tornando assim o tempo de análise longo e em alguns casos o limite de detecção é alto ¹².

Em substituição aos métodos cromatográficos, observa-se um aumento expressivo no emprego de métodos baseados em ensaios imunoenzimáticos (ELISA) ^{20, 21, 22, 23, 24}. No entanto, o uso deste tipo de sensor é bastante restrito pelo alto custo, tempo de desenvolvimento e baixa potencialidade de multi-análise ¹².

Metodologias eletroanalíticas têm sido desenvolvidas para determinação de inúmeros pesticidas disponíveis no mercado, no entanto, até o momento, existe um número muito restrito de trabalhos utilizando técnicas eletroanalíticas para determinação de 2,4-D. Isso se deve ao fato de não ter sido ainda verificada a eletroatividade deste composto em eletrodos sólidos comuns como o eletrodo de carbono vítreo, platina e ouro ¹¹. Um destes trabalhos foi realizado por Simões *et al.* (2004) ¹¹ no qual utilizou eletrodos de pasta de carbono modificados com polianilina para determinação do herbicida 2,4-D. Foram utilizados três procedimentos diferentes para obtenção dos eletrodos de trabalho, sendo eles, eletropolimerização *in-situ* de polianilina na superfície de pasta de carbono, mistura de pó de polianilina na pasta de carbono e polimerização química *in-situ* de polianilina em pó de grafite. As medidas eletroquímicas foram realizadas por voltametria cíclica em tampão acetato (0,01 mol L⁻¹) pH 6,23. A melhor resposta foi obtida com o eletrodo modificado com a polimerização química *in-situ* de polianilina em pó de grafite, devido à configuração do compósito de grafite, o qual melhora a transferência de elétron do processo redox da anilina

pelo eletrodo. A pior resposta foi obtida com a modificação pela eletropolimerização *in-situ* de polianilina na superfície de pasta de carbono, devido à alta resistividade da eletropolimerização do filme de anilina que cobre toda a superfície do eletrodo, inibindo a transferência de elétron pelo eletrodo.

Outro método foi proposto por Mazzei *et al.* (2004) ²⁵ no qual utilizou um sistema bioeletroquímico para determinação de 2,4-D por meio de inibição da enzima fosfatase alcalina (ALP). A determinação do herbicida foi realizada pela imersão do biosensor ALP em solução Tris-HCl 0,1 mol L⁻¹ + 1 mmol L⁻¹, pH 8,0, a uma temperatura de 37°C e adicionando 3-indoxil fosfato a concentração final de 0,4 mmol L⁻¹. O limite de detecção obtido foi de 0,5 – 6,0 µg L⁻¹.

Chaivasith *et al.* (2005) ¹⁹ utilizaram eletrodo de carbono vítreo modificado com cloreto de cobalto (III) protoporfirina IX, para determinação eletrocatalítica do herbicida 2,4-D e de seus derivados. A melhor resposta do sensor, monitorado por cronoamperometria, foi obtida em -1,12 V (vs. Ag/AgCl) em uma mistura de ACN/H₂O (1:3 v/v), contendo 0,1 mol L⁻¹ de KCl como eletrólito suporte. O limite de detecção alcançado foi de 0,98 µmol L⁻¹.

Maleki *et al.* (2005) ¹² propuseram um método para determinação eletroquímica indireta do 2,4-D em amostras de água e de solo. Neste trabalho, o método é baseado na adsorção e na dessorção do pesticida no eletrodo de mercúrio. A determinação do herbicida foi conduzida em tampão Britton-Robinson (pH 3,2) pelo método tensiométrico. O limite de detecção obtido foi de 50 µmol L⁻¹ e as recuperações em amostras de água e de solo ficaram em torno de 70 a 95 %.

Weetall *et al.* (2005) ²⁶ caracterizaram membranas poliméricas dopadas com 2,4-D sobre eletrodos de ouro, que apresentaram uma intensidade de corrente dependente do 2,4-D quando comparadas com os contra eletrodos não dopados com polímero. A intensidade na mudança de corrente para ambos os eletrodos, polímero dopado com 2,4-D e o contra eletrodo com polímero, aumenta linearmente com a concentração de 2,4-D. Esta resposta registrada no contra eletrodo é provavelmente devido a interações eletrostáticas de superfície entre o polímero não dopado e o 2,4-D, demonstrando que a intensidade de corrente para o eletrodo coberto com polímero dopado com 2,4-D foi seletiva para o 2,4-D.

Simões *et al.* (2006) ²⁷ investigaram a interação entre polímeros condutores (polipirrol e polianilina) e o 2,4-D por sorção e processos de dopagem para avaliar a possibilidade de detecção do herbicida utilizando voltametria cíclica e eletrodos de pasta de carbono modificados com estes polímeros. O eletrólito suporte utilizado foi o tampão fosfato (0,05

molL⁻¹) pH 6,9. Os autores verificaram que para o caso do polipirrol como agente modificante a melhor resposta eletroanalítica foi obtida com eletrodos com 5% de polipirrol misturado diretamente a pasta de carbono.

Wang *et al.* (2006) ²⁸ desenvolveram um sensor voltamétrico por meio da eletropolimerização de orto-fenilenediamina e resorcinol em eletrodo de carbono vítreo na presença da molécula padrão (2,4-D). A determinação direta do herbicida 2,4-D foi conduzida em solução de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. A curva analítica obtida com o sensor voltamétrico obteve um coeficiente de correlação igual a 0,996 e um limite de detecção igual a 7 x 10⁻⁵ mol L⁻¹.

1.2.2. O herbicida metribuzin

O metribuzin (4-amino-b-*tert*-butil-3-metiltio-1,2,4-triazina-5(4H)-ona), cuja estrutura é mostrada na Figura 2, é um herbicida pertencente ao grupo das triazinonas e possui uma classificação toxicológica entre III e IV, dependendo da formulação utilizada, ou seja, não é muito tóxico e o intervalo de segurança é alto ²⁹.

Figura 2. Estrutura química do metribuzin.

Este pesticida é utilizado no pré e pós-plantio em pré-emergência, bem como no plantio direto, para controle de ervas daninhas em culturas de soja e em pós-plantio nas culturas de batata, cana-de-açúcar, aspargo, tomate, café, mandioca e trigo. Sua forma de ação é por meio da inibição do transporte de elétrons no fotossistema II, além de causar um acúmulo de elétrons no ponto de inibição (proteína QB), que por sua vez promove uma peroxidação dos lipídios.

No ambiente (solo e água) o metribuzin apresenta persistência (meia-vida) de 1 a 2 meses, dependendo da textura do solo e das condições climáticas. Este herbicida é moderadamente adsorvido na maioria dos solos, apresenta alta afinidade com a matéria orgânica do solo e é adsorvido com menor intensidade nas argilas. A adsorção diminui com o

aumento do pH. Além disso, é lixiviável em terrenos arenosos com baixo teor de matéria orgânica e possui potencial intermediário de lixiviação em solos de textura média e é imóvel em solos pesados, com alto teor de matéria orgânica³⁰.

Uma explicação para os processos de redução dos pesticidas contendo o anel 1,2,4-triazina é muito importante, pois tais processos estão diretamente envolvidos com a degradação de pesticidas desta classe. Além disso, o melhor entendimento do processo de redução é essencial para o desenvolvimento de técnicas eletroanalíticas que possibilitam análises em amostras biológicas³¹.

Na literatura são encontrados inúmeros trabalhos para determinação de metribuzin em amostras de solo e água. Os principais métodos de análise são os cromatográficos, tais como a cromatografia gasosa (CG)^{32, 33, 34}, cromatografia líquida (LC)³⁵, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)³⁶, cromatografia líquida de alta eficiência com espectrometria de massa³⁷, além da cromatografia eletrocínica micelar³⁸ e cromatografia líquida com detecção amperométrica³⁹.

Ao contrário da grande quantidade de trabalhos utilizando técnicas cromatográficas para determinação de metribuzin, encontram-se somente dois trabalhos utilizando os métodos eletroquímicos tanto para o estudo mecanístico da reação de redução eletroquímica do metribuzin, como também para o desenvolvimento de metodologia eletroanalítica^{31, 40}.

Ludvik *et al.* (1998)³¹, realizaram um estudo mecanístico da redução eletroquímica do herbicida metribuzin em solução 30% v/v de acetonitrila/água com o eletrodo de gota suspensa de mercúrio, utilizando a polarografia de corrente direta, voltametria cíclica e de eletrólise a potencial controlado. Segundo os autores, o herbicida é reduzido em duas etapas envolvendo dois elétrons cada, como mostrado na Figura 3. Na primeira etapa, a forma protonada da ligação azometina (1,6) é reduzida à amina correspondente e posteriormente, em um potencial mais negativo, a forma protonada da ligação azometina (2,3) é reduzida.

Skopalová *et al.* (2001)⁴⁰ avaliaram também o processo redox do metribuzin, bem como o estabelecimento de um procedimento voltamétrico de análise utilizando a polarografia de corrente direta e estática, voltametria cíclica e de pulso diferencial e coulometria a potencial controlado em soluções aquosas com pH variável. Em meio ácido, o herbicida apresentou dois picos de redução com características de processo irreversível. A primeira etapa de redução foi utilizada para o desenvolvimento de uma metodologia analítica e o limite de detecção alcançado foi de 0,27 µg L⁻¹. A metodologia apresentou boa reprodutibilidade (2,53 % para

uma solução de metribuzin igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$) e foi empregada para a análise de metribuzin em amostras de águas de rio, com recuperações em torno de 97 %.

Como pode ser observado, a metodologia eletroanalítica desenvolvida para a análise do metribuzin emprega como eletrodo de trabalho o mercúrio, o que dificulta o seu uso mais amplo devido a restrições da toxidez do mercúrio. Assim torna-se necessário o desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para determinação do metribuzin com o uso de outros tipos de eletrodos sólidos como uma alternativa ao mercúrio.

Figura 3. Esquema da redução do metribuzin proposta por Ludvik *et al.* (1998).

1.3. TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS

A voltametria compreende um grupo de métodos eletroquímicos que se baseia nos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a camada fina de solução adjacente a essa superfície. Os métodos eletroanalíticos fazem uso das propriedades elétricas mensuráveis (corrente, potencial e carga) de um analito quando este é submetido a uma diferença de potencial entre eletrodos em uma célula eletroquímica e a relação destas propriedades com os parâmetros químicos do analito. A voltametria é muito utilizada para estudar os processos de redução e de oxidação em vários meios, processos de adsorção em superfícies e mecanismos de transferência de elétrons em superfícies de

eletrodos quimicamente modificados ⁴¹. O uso destas medidas elétricas, para fins analíticos, apresenta inúmeras aplicações, tais como monitoramento ambiental, controle de qualidade em indústrias e análise biomédica ⁴².

1.3.1. Voltametria cíclica

A voltametria cíclica (VC) é uma técnica mais comumente usada para adquirir informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos. A eficiência desta técnica resulta na sua habilidade de fornecer rapidamente informações sobre a termodinâmica do processo redox, da cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons e sobre reações químicas acopladas a processos adsorptivos. Esta técnica é frequentemente o primeiro experimento utilizado em um estudo eletroquímico, pois oferece rapidamente a localização do potencial redox da espécie eletroativa e avaliação conveniente do efeito do meio no processo redox.

A VC consiste na varredura linear de potencial de um eletrodo de trabalho estacionário, utilizando uma variação de potencial de forma triangular, de maneira que a varredura se inicia em valor de potencial no qual nenhuma reação ocorre, seguindo até o potencial de inversão e retornando, geralmente ao potencial inicial ⁴².

1.3.1.1. Sistemas reversíveis

Para uma reação reversível, ou seja, uma reação que ocorre com velocidade suficientemente alta para estabelecer um equilíbrio dinâmico na interface, o processo redox segue exatamente as condições previstas pela equação de Nernst (Equação 1), pois como a cinética da reação de transferência de carga é rápida, apenas a etapa de transferência de massa irá determinar as regras do processo.

$$E = E^0 + \frac{2,3RT}{nF} \times \log \frac{C_{Ox}}{C_{Red}} \quad [1]$$

Neste caso, a corrente de pico é dada pela equação de Randles-Sevcik (Equação 2).

$$I_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} ACD^{1/2} \nu^{1/2} \quad [2]$$

onde: n é o número de elétrons envolvidos no processo, A é a área do eletrodo (cm^2), D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), C é a concentração da espécie eletroativa no interior da solução (mol cm^{-3}) e v é a velocidade de varredura (V s^{-1})⁴².

Existem vários critérios para diagnosticar se um sistema eletroquímico comporta-se reversivelmente ou não, dentre eles⁴³:

- I_p é proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura;
- E_p é independente da velocidade de varredura;
- $|E_p - E_{p/2}| = 59/n$ (mV);
- $|I_{pa} - I_{pc}| = 1$;
- $E_{pa} - E_{pc} = 59/n$ (mV).

1.3.1.2. Sistemas irreversíveis

Para processos irreversíveis, a velocidade de transferência de carga é lenta quando comparada com a velocidade de varredura, e as concentrações das espécies oxidadas (Ox) e reduzidas (Red) não serão mais função apenas do potencial, portanto não possui um comportamento Nernstiano. Neste caso, o coeficiente (α) e a velocidade de transferência de carga devem ser considerados. Nestas circunstâncias, a equação que descreve a corrente de pico é dada pela Equação 3.

$$I_p = (2,99 \times 10^5) n (cm)^{1/2} ACD^{1/2} v^{1/2} \quad [3]$$

Os critérios eletroquímicos para diagnosticar um sistema irreversível são⁴³:

- Ausência de pico na varredura reversa de potencial;
- I_p é proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura;
- E_p desloca-se de $30/n\alpha$ (mV) para cada 10 vezes de aumento na velocidade de varredura;
- $|E_p - E_{p/2}| = 48/n\alpha$ (mV);

1.3.2. Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *square wave voltammetry*) foi desenvolvida por Baker^{43, 44, 45} em 1952 e no decorrer dos anos sofreu modificações instrumentais aliadas ao desenvolvimento de novas teorias que foram responsáveis pelo

estabelecimento da técnica para análise de traços e na obtenção de dados relacionados à cinética e ao mecanismo de reações químicas sob várias condições ⁴⁶.

Esta é uma das técnicas de pulso mais rápida e sensível, apresentam menor consumo de espécie eletroativa, diminuição dos problemas associados ao bloqueio da superfície do eletrodo por produtos de reação, e os limites de detecção podem ser comparados, em determinadas situações, aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Além disso, a análise dos resultados também possibilita a avaliação cinética e mecanística considerando-se espécies adsorvidas ou não à superfície do eletrodo de trabalho ^{44, 46}. A facilidade desta técnica está na apresentação da corrente gerada na forma de um pico simétrico, de maior intensidade que as ondas obtidas por polarografia de corrente direta ou voltametria cíclica e a habilidade em medir as correntes faradaicas em um tempo em que as correntes capacitivas são negligenciáveis ⁴⁷. A SWV tem sido aplicada em reações de adsorção de compostos orgânicos e estuda a redução total e irreversível dos materiais adsorvidos ⁴⁸.

Na SWV, a forma da curva corrente-potencial é proveniente da aplicação de potenciais de altura ΔE_i (incremento de varredura de potenciais) que varia de acordo com uma escada de potencial com largura a (amplitude do pulso) e duração de τ (período). Na curva de potencial-tempo, a largura de pulso ($\tau/2$) é chamada t e a frequência de aplicação dos pulsos é chamada de f e é dada por $(1/t)$. As correntes elétricas são amostradas duas vezes, uma ao final do pulso direto, quando a direção do pulso é igual à direção da varredura, e outro ao final do pulso reverso, onde a direção do pulso é contrária à direção da varredura. O sinal é obtido como uma intensidade de corrente resultante (ΔI) de forma diferencial, e apresenta excelente sensibilidade, pois esta amostragem garante uma minimização da contribuição da corrente capacitiva sobre a corrente resultante ⁴⁶. A forma de aplicação dos pulsos de potencial é apresentada na Figura 4.

As curvas de corrente-potencial apresentam um perfil bem definido e são, geralmente, simétricas, isso porque as correntes são medidas somente no final de semiperíodo e as variações na altura e na largura do pulso de potencial são sempre constantes, para um determinado intervalo de potenciais ⁴⁶.

Os parâmetros eletroquímicos, corrente de pico (I_p) e potencial de pico (E_p), fornecem informações importantes quando relacionados com a frequência de aplicação de pulsos de potencial ⁴⁶. Para sistemas reversíveis, I_p varia linearmente com a raiz quadrada da frequência, por outro lado, varia linearmente com a frequência para sistemas irreversíveis. Para sistemas quase-reversíveis, a relação I_p e a frequência não é linear. O coeficiente angular (θ) dos

gráficos de E_p vs. o logaritmo da frequência, para sistemas reversíveis sem adsorção do produto, tem um valor de $-29/n$ mV e com adsorção do produto e do reagente não há relação linear. Para sistemas irreversíveis, o coeficiente angular tem o valor de $-59/\alpha n$ mV. Na Tabela 1 são resumidas as principais características dos sistemas eletroquímicos quanto ao grau de reversibilidade ao relacionar I_p e E_p com a frequência de aplicação de pulsos.

Figura 4. Forma de aplicação dos pulsos em voltametria de onda quadrada.

Tabela 1. Características dos sistemas eletroquímicos, estudados com a técnica de voltametria de onda quadrada, quanto ao grau de reversibilidade ao relacionar I_p e E_p com a frequência de aplicação de pulsos

Sistema	Relação de f e I_p	Relação de $\log f$ vs. E_p
Irreversível	$I_p = k f$	$\theta = -59/\alpha n$ mV
Sem adsorção do produto		
$\theta = -29/n$ mV		
Reversível	$I_p = k f^{1/2}$	Com adsorção do produto
e do reagente:		
relação não linear		
Quase-reversível	Não linear	Relação não linear

1.4. ELETRODOS COMPÓSITOS

A utilização de eletrodos sólidos é muito citada na literatura, e estes vem sendo muito utilizados na eletroquímica até mesmo antes do mercúrio ⁴⁹. No entanto, a modificação de superfície dos eletrodos vem ocupando um lugar de destaque, pois em geral possibilita o aumento da sensibilidade, seletividade e do tempo de vida do eletrodo para análise de diversos compostos nas mais variadas matrizes ⁵⁰.

A denominação eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi inicialmente utilizada por Moses *et al.* ⁵¹ (1975) para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, convenientemente imobilizadas na superfície desses dispositivos. O principal objetivo desta modificação é atribuir novas características físico-químicas à sua superfície, como uma forma de alterar a reatividade e seletividade do sensor base, favorecendo assim, o desenvolvimento de eletrodos para vários fins e aplicações, desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas até a transferência de elétrons em moléculas de interesse ⁵².

Um EQM consiste de duas partes, um eletrodo base e uma camada de modificador químico e sua forma de preparação é determinada pelas características analíticas desejadas no sensor. O uso de agentes modificadores sobre a superfície do eletrodo base tem sido a forma mais comum de modificar a superfície do eletrodo. De maneira geral, os métodos mais importantes utilizados para introdução de um agente modificador sobre o eletrodo base consistem na adsorção simples e rápida de compostos em uma grande variedade de eletrodos base, na ligação covalente a sítios específicos da superfície do eletrodo pela manipulação da reatividade dos grupos funcionais existentes nesta superfície, na eletrodeposição de policamadas de filmes poliméricos ou ainda na preparação de materiais compósitos que permitem a modificação interna do eletrodo ^{50, 52}.

Um eletrodo compósito pode ser definido como material que consiste de pelo menos uma fase condutora combinada com pelo menos uma fase isolante ⁵³, no qual cada fase mantém suas características individuais, porém a mistura pode apresentar novas características físicas, químicas ou biológicas, químicas ou biológicas diferentes de cada fase individual.

Materiais à base de carbono formam fases condutoras ideais na elaboração de materiais compósitos, o que os torna muito empregados em sensores amperométricos, pois estes materiais são bastante inertes quimicamente, apresentam grande intervalo de potencial de trabalho, além de possuir baixa resistência e baixa corrente residual ⁵².

As propriedades elétricas do compósito dependem da natureza de cada componente, sua quantidade relativa e sua distribuição. A resistência elétrica é determinada pela conectividade das partículas do condutor no interior do material. Isso significa que a quantidade de cada componente do compósito deve ser estudada para a determinação da composição ideal.

O uso de eletrodos compósitos, baseados na fase condutora dispersa em matrizes poliméricas, tem levado a um importante avanço em análises eletroquímicas, principalmente aqueles em que atuam como sensores. Além disso, esse tipo de eletrodo pode ser amplamente utilizado em medidas voltamétricas e amperométricas devido às propriedades elétricas da grafite e também a facilidade no manuseio dos polímeros, apresentando algumas vantagens quando comparados aos eletrodos clássicos, como ouro, platina e mercúrio, dentre elas: melhoria na relação sinal/ruído, elevada resistência mecânica e estabilidade em sistemas de fluxo, relativa simplicidade na preparação e renovação da superfície e baixo custo ^{49, 50}.

Desde a utilização de polímeros provenientes das reações uretanas desenvolvidas por BAYER, a partir das propostas de Wurtz em 1849, a quantidade de materiais desenvolvidos a partir deste tipo de polimerização cresceu grandemente, envolvendo atualmente diferentes segmentos de aplicação. A partir da década de 40, surgiram os primeiros trabalhos com poliuretanas derivadas de óleo de mamona, nos quais foram sintetizados polímeros para serem aplicados em tintas e vernizes. No entanto, a partir da década de 50, as pesquisas com este tipo de material deram lugar ao desenvolvimento de materiais mais nobres como os polióis poliéteres, devido estes apresentarem como principal característica o baixo custo por se tratarem de subprodutos derivados do petróleo.

As pesquisas com poliuretanas de origem vegetal foram retomadas devido à tendência mundial para a procura de materiais biodegradáveis e não poluentes, abrindo assim novas perspectivas para o seu desenvolvimento.

As principais vantagens do uso de compósitos preparados a partir de grafite e poliuretana de origem vegetal são: reduzir riscos ao meio ambiente, devido ao uso de matéria-prima natural e renovável; apresentar baixa temperatura para o processo de cura; facilidade na incorporação de modificadores, bastando apenas uma homogeneização; fácil de manusear e moldar; possibilidade de uso em solventes não aquosos; ser produzida no Brasil, reduzindo custos de importação e independência tecnológica ^{54, 49}.

O eletrodo compósito a base de grafite e poliuretana (GPU), desenvolvido por Mendes *et. al.* (2002), apresenta reprodutibilidade, boa resistência mecânica e resistência elétrica

apropriada, fácil preparação e renovação de superfície ⁵⁵. Este eletrodo foi aplicado com sucesso na determinação analítica da hidroquinona ⁵⁵, dopamina ⁵⁶, de antidepressivos tricíclicos ⁵⁷, de atenolol ⁵⁸, flavonóides ⁵⁹ e do ácido indol-3-acético ⁶⁰ com boa sensibilidade e seletividade, tornando-se, portanto, um material promissor para ser utilizado no desenvolvimento de novas metodologias analíticas para de terminação de outros compostos, tais como os pesticidas.

1.5. TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

A cromatografia é um método físico-químico de separação. Esta técnica está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura que ocorre devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária. A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias torna-a uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação ⁶¹.

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é a mais usada de todas as técnicas analíticas de separação. As razões para a popularidade deste método é a sensibilidade, a fácil adaptação para determinações quantitativas acuradas, sua adequação a separação de espécies não-voláteis ou termicamente frágeis e, acima de tudo, sua ampla aplicabilidade a substâncias de grande interesse para a indústria, para muitos campos da ciência e para o público. Além disso, esta técnica pode ser empregada na identificação qualitativa e quantitativa das espécies separadas. A posição dos picos no eixo do tempo é utilizada como critério de identificação dos componentes da amostra (análise qualitativa) e as áreas dos picos podem ser utilizadas para análise quantitativa de cada um destes componentes ⁴¹.

CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo geral desenvolver metodologias eletroanalíticas para a determinação dos herbicidas 2,4-D e metribuzin utilizando o eletrodo composto de grafite-poliuretana (GPU) com a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV) e testá-las em experimentos simulando condições reais de aplicação desses herbicidas na cultura da soja em dois tipos de solos (arenoso e argiloso). Para atingir esse objetivo são realizadas as seguintes etapas:

- Estudo voltamétrico dos herbicidas, onde o desempenho do eletrodo composto GPU é comparado com o de outros eletrodos de carbono (carbono vítreo e pasta de carbono) e são realizados experimentos para avaliar o grau de reversibilidade da reação e verificar a presença ou não de processos de adsorção na superfície do eletrodo;
- Otimização dos parâmetros da metodologia eletroanalítica (eletrólito, pH, velocidade, amplitude, passo de potencial, frequência, tempo e potencial de pré-accumulação) e o grau de interferência da matriz do solo na resposta analítica;
- Determinação dos parâmetros de desempenho da metodologia (Limites de detecção e quantificação, precisão, exatidão e recuperação);
- Aplicação dos herbicidas em formulações comerciais em dois tipos de solos com características distintas (arenoso e argiloso) e a medida da concentração dos herbicidas em amostras coletadas do experimento em função tempo e da profundidade, utilizando as metodologias eletroanalíticas desenvolvidas. Comparação dos resultados com medidas usando técnicas cromatográficas.

CAPÍTULO 3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. CÉLULAS ELETROQUÍMICAS

Os experimentos de voltametria cíclica e de voltametria de onda quadrada foram realizados em uma célula convencional confeccionada com vidro de boro-silicato. A célula tem capacidade de 25 mL e é equipada com tampa de Teflon[®], contendo orifícios para o posicionamento do eletrodo de trabalho, referência e auxiliar e também para a entrada de N₂, como mostrado na Figura 5.

Figura 5. Célula eletroquímica utilizada nos experimentos de voltametria cíclica e de voltametria de onda quadrada, mostrando (A) eletrodo de trabalho, (B) eletrodo de referência, (C) eletrodo auxiliar e (D) entrada de N₂.

3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

3.2.1. Reagentes

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de pureza analítica (PA) e foram usados sem purificação prévia. Na Tabela 2, são apresentados as suas procedências e o grau de pureza. A água utilizada para preparação das soluções foi purificada em sistema Milli-Q da Millipore[®].

3.2.2. Soluções

3.2.2.1. Solução Tampão

A solução tampão Britton-Robinson (BR) 0,10 mol L⁻¹ foi preparada a partir do ácido acético (0,04 mol L⁻¹), ácido fosfórico (0,04 mol L⁻¹) e ácido bórico (0,04 mol L⁻¹). O valor do

pH desejado nos experimentos foi ajustado pela adição de uma solução de hidróxido de sódio 1 mol L^{-1} .

Tabela 2. Procedência e pureza dos reagentes utilizados

Reagentes	Fórmula química	Procedência	Pureza (%)
2,4-D	$\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_3$	Riedel-de Häen	99,6
Acetato de etila	$\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$	J. T. Baker	HPLC
Acetona	CH_3COCH_3	J. T. Baker	HPLC
Acetonitrila	CH_3CN	J. T. Baker	HPLC
Ácido acético	CH_3COOH	J. T. Baker	99,9
Ácido bórico	H_3BO_3	Mallinckodt	99,5
Ácido clorídrico	HCl	Synth	36,5-38
Ácido fosfórico	H_3PO_4	Synth	85
Ácido sulfúrico	H_2SO_4	Synth	95-98
Cloreto de potássio	KCl	Synth	99,0
Cloreto de sódio	NaCl	J. T. Baker	99,7
Hexano	C_6H_{14}	J. T. Baker	HPLC
Hidróxido de sódio	NaOH	Synth	97,0
Metanol	CH_3OH	J. T. Baker	HPLC
Metribuzin	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_4\text{OS}$	Riedel-de Häen	99,3

3.2.2.2. Solução estoque do herbicida 2,4-D

A solução padrão estoque do herbicida 2,4-D foi preparada com concentração igual a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (221 mg L^{-1}) em meio de metanol para total solubilização do composto e conservada sob refrigeração e proteção de luz.

A formulação comercial do herbicida 2,4-D (DMA 806 BR) foi adquirida no comércio local e, segundo o rótulo do produto, a formulação contém uma concentração de 2,4-D de 670

g L^{-1} . A solução estoque do herbicida comercial foi preparada numa concentração $1,8 \text{ mol L}^{-1}$ (402 mg L^{-1}) em meio aquoso.

3.2.2.3. Solução estoque do herbicida metribuzin

A solução padrão estoque do herbicida metribuzin foi preparada a uma concentração igual a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($214,29 \text{ mg L}^{-1}$) em meio aquoso para total solubilização do composto e conservada sob refrigeração e proteção da luz.

A formulação comercial do herbicida metribuzin (Sencor 480) foi adquirida no comércio local e, segundo o rótulo do produto, a formulação contém uma concentração do herbicida igual a 480 g L^{-1} . A solução estoque do herbicida comercial foi preparada numa concentração $0,9 \text{ mol L}^{-1}$ (192 mg L^{-1}), também em meio aquoso.

3.3. ELETRODOS

3.3.1. Eletrodo de trabalho

Foram utilizados vários eletrodos de trabalho, dentre eles, o eletrodo compósito de grafite-poliuretana (GPU), o compósito de GPU com nanotubos de carbono (NTC), o carbono vítreo e a pasta de carbono. A utilização dos diferentes eletrodos de trabalho teve como objetivo avaliar, a princípio, a eletroatividade dos herbicidas em cada superfície eletródica. Constatada a eletroatividade, o eletrodo de trabalho foi selecionado dentre às superfícies que apresentassem maior sensibilidade analítica para determinado herbicida estudado.

Todos os eletrodos mencionados foram construídos no próprio laboratório.

O tarugo de carbono vítreo ($\phi = 5 \text{ mm}$, $A_{\text{geo}} = 0,19 \text{ cm}^2$) foi inserido, sem utilização de resina, na extremidade de um tubo de Teflon[®] e o contato elétrico foi feito por um fio de cobre. Os eletrodos foram submetidos a um tratamento superficial prévio com lixa de granulação 1500, seguido do polimento com suspensões de alumina de $0,25 \mu\text{m}$ e $0,05 \mu\text{m}$ em uma politriz motorizada Struers modelo DPU-10 até se obter uma superfície espelhada.

O eletrodo de pasta de carbono foi preparado por meio da mistura de 25% de óleo mineral (Nujol) e 75% de pó de grafite e homogeneizado em almofariz. A pasta produzida foi colocada em uma seringa para insulina de 1 mL com um fio de cobre para o contato elétrico com a pasta de carbono.

O eletrodo compósito a base de grafite-poliuretana foi confeccionado por uma mistura de resina de poliuretana de origem vegetal proveniente da Poliquil, Araraquara-SP,

misturando-se 0,85 partes do pré-polímero (A-249) e 1 parte do poliol (B-471). A resina foi então homogeneizada com pó de grafite (Acheson-38 da Fisher) a fim de se obter 60% (m/m) de grafite no compósito. A mistura foi inserida em uma prensa extrusora para a obtenção de um tarugo com diâmetro de 3 mm ($A_{\text{geo}} = 0,07 \text{ cm}^2$) e comprimento de 1,5 cm. Este tarugo foi conectado a um fio de cobre por meio de cola de epóxido de prata. O conjunto foi então inserido em um tubo de vidro de 0,4 cm de diâmetro e 7 cm de comprimento. O interior do tubo de vidro foi preenchido com resina de poliéster. O excesso de resina foi removido com uma lixa de granulação 600 para expor o compósito. A Figura 6 mostra um esquema ilustrativo e uma foto do eletrodo de GPU construído.

A caracterização eletroquímica destes eletrodos de GPU foi efetuada em soluções de ferrocianeto de potássio $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

O procedimento para preparação do eletrodo compósito de GPU com nanotubos de carbono foi o mesmo utilizado para preparação do eletrodo de GPU. No entanto, para obtenção destes tarugos foram adicionados 50 % de grafite e 10 % de NTC para a mesma quantidade de resina.

Figura 6. Esquema ilustrativo (A) foto do eletrodo (B) de GPU construído e utilizado no trabalho.

3.3.2. Eletrodos de referência

3.3.2.1. Eletrodo de prata/cloreto de prata

O eletrodo de referência utilizado nos experimentos do herbicida 2,4-D foi o Ag/AgCl/KCl, consistindo de um fio de prata anodizado imerso em uma solução de AgCl e KCl 3 mol L^{-1} em meio aquoso.

3.3.2.2. Eletrodo de calomelano saturado

O eletrodo de referência utilizado nos experimentos do herbicida metribuzin foi o de calomelano saturado (ECS) consistindo de uma solução saturada de cloreto de mercúrio (I) (calomelano) e KCl 3 mol L⁻¹. Um fio de platina mergulhado no mercúrio proporciona o contato elétrico com o outro condutor e uma ponte salina até o segundo eletrólito completa o circuito.

3.3.3. Eletrodo auxiliar

Como eletrodo auxiliar foi utilizado um fio de platina de 0,3 mm de diâmetro.

3.4. METODOLOGIA

A instrumentação empregada para realização dos experimentos eletroquímicos consistiu de um potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT 30 conectado a um microcomputador tipo PC-Desktop e um software GPES (versão 4.9).

3.4.1. Voltametria cíclica

A técnica de voltametria cíclica foi empregada para o estudo preliminar da reação de oxiredução dos herbicidas 2,4-D e metribuzin. Primeiramente, foram realizados testes com diferentes eletrodos, no intervalo de potencial adequado a cada um, com o intuito de avaliar a resposta voltamétrica dos herbicidas.

Os experimentos de voltametria cíclica caracterizaram-se pela variação da velocidade de varredura e os voltamogramas foram registrados no intervalo de 0 a -1100 mV para os dois herbicidas estudados.

3.4.2. Voltametria de onda quadrada

A técnica de voltametria de onda quadrada foi utilizada para os estudos das reações de oxiredução eletroquímica do 2,4-D e metribuzin, bem como para o desenvolvimento de metodologia analítica para determinação destes herbicidas em amostras naturais. Os experimentos foram realizados com eletrodo de GPU e caracterizaram-se pelo estudo da variação da concentração hidrogeniônica do meio (pH) e também dos parâmetros da técnica, dentre eles, a frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), a amplitude do pulso (a) e o

incremento de varredura (ΔE_i). No caso onde se verificou que a aplicação de um potencial de acumulação (E_{ac}) por um determinado tempo resultara em um aumento da intensidade de corrente dos herbicidas, o potencial (E_{ac}) e o tempo (t_{ac}) de acumulação foram também otimizados.

Para determinação analítica dos compostos, curvas analíticas com padrões analíticos de cada herbicida foram construídas em intervalos de concentração estabelecidos de acordo com o interesse analítico. A sensibilidade das metodologias foi avaliada pelos cálculos dos limites de detecção e de quantificação. A precisão foi verificada por meio do cálculo do desvio padrão relativo (RSD) para as análises sucessivas durante um dia de experimento (precisão *intra-day* ou repetibilidade) também para as análises em dias diferentes de experimento (precisão *inter-day* ou precisão intermediária), a partir de soluções com concentrações estabelecidas para cada herbicida. A exatidão das metodologias foi avaliada pelo cálculo do erro relativo (bias %), o qual descreve o desvio dos resultados esperados nos experimentos de recuperação dos herbicidas (Equação 4).

$$bias = \frac{C_{enc} - C_{adic}}{C_{adic}} \times 100\% \quad [4]$$

onde C_{enc} é a concentração de herbicida encontrada e C_{adic} é a concentração de herbicida adicionada.

3.4.3. Cromatografia líquida de alta eficiência

As medidas foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu LC-10ADVP, com detector UV-VIS SPD-10AVP e forno CTO-10AVP. A coluna utilizada foi Supelcosil LC-18 (4,6 mm; 150 mm, 5 μ m).

A fase móvel utilizada na determinação do herbicida 2,4-D foi constituída de uma mistura de 50% acetonitrila e 50 % ácido fosfórico 0,1 %. A vazão da fase móvel foi de 1,4 mL min⁻¹ ⁶² e detecção realizada em 201 nm ⁶³. O volume de amostra injetado foi de 20 μ L e a temperatura do forno de 30°C.

3.4.4. Medidas de pH

Nas medidas de pH, foi empregado um pH-metro modelo PM-608 (Analion) com eletrodo de vidro. A calibração do aparelho é realizada diariamente, utilizando-se uma solução tampão de citrato-ácido clorídrico (pH 4,0) e uma solução tampão fosfato (pH 7,0), ambas comerciais.

3.4.5. Experimentos com solos – Avaliação da percolação dos herbicidas

Os dois herbicidas (2,4-D e metribuzin) foram aplicados em dois solos com diferentes texturas (arenosa e argilosa) para se avaliar o transporte e a percolação desses herbicidas nesses solos, utilizando as metodologias eletroanalíticas previamente estabelecidas. O objetivo foi de se testar a validade das metodologias estabelecidas em uma condição bem próxima da real com interação herbicida/solo/plantas/microorganismos.

Para aplicação dos herbicidas, foram escolhidos dois solos representativos do Estado de São Paulo: um solo de textura arenosa da classe de Neossolo Quartzarênico e outro de textura argilosa da classe de Latossolo Vermelho Distroférico. Os locais dos experimentos foram selecionados com o critério de localização próxima, disponibilidade de infra-estrutura (energia elétrica, água) e fácil acesso com veículo. Foi selecionada uma área do antigo matadouro municipal, pertencente à Prefeitura Municipal de São Carlos, com solo arenoso e uma outra área privada próxima ao matadouro, mas com solo argiloso. Essas duas áreas não tinham histórico de cultivo prévio e eram, portanto, isentas de resíduos da agroquímicos. As amostras de solo foram acondicionadas em manilhas de concreto utilizadas em tubulações de esgoto, com capacidade é de 1 m³. A percolação dos herbicidas foi monitorada em três profundidades (25, 50 e 75 cm) por três meses (agosto a novembro) utilizando extratores de solução do solo com cápsula porosa, instalados em cada uma das manilhas, nas três profundidades. Após os três meses de experimento, amostras de solo foram coletadas com trado, nas três profundidades em todas as manilhas para determinação da quantidade dos herbicidas residuais nos perfis dos solos.

Os herbicidas comerciais foram aplicados nas superfícies do solo, com regador, nas dosagens máximas recomendadas pelos fabricantes (50,3 mg L⁻¹ para o 2,4-D e 24,0 mg L⁻¹ para o metribuzin). A Figura 7 apresenta fotos dos experimentos com aplicação do 2,4-D e metribuzin no solo arenoso e argiloso.

O experimento de campo foi realizado em três repetições e um branco (sem aplicação dos herbicidas) para cada herbicida nas duas amostras de solo, com delineamento casual. Essa distribuição pode ser visualizada na Figura 7.

Figura 7. Locais de experimento e distribuição das manilhas de concreto para o ponto 1 (AM1) e ponto 2 (AM2).

Após a instalação das manilhas e dos extratores de solução do solo, os solos foram saturados com água para a estruturação do mesmo. No dia seguinte, foram coletadas as primeiras amostras de solução do solo sem herbicida (SH). Em seguida, foi realizada a aplicação dos herbicidas comerciais. Os herbicidas foram aplicados em 2 litros de caldo ($50,25 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ de 2,4-D e $24,0 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ de metribuzin) e em seguida os solos foram irrigados com aproximadamente 6 litros de água. Foram realizadas 12 coletas após a aplicação dos herbicidas, sendo elas, 24, 48 e 72 horas, 7, 14, 30, 52, 60, 71, 73, 76 e 85 dias.

Devido à dificuldade de coletar as soluções do solo através da cápsula porosa de carbeto de silício, misturaram-se as de soluções do solo coletadas nas mesmas profundidades e de manilhas diferentes, formando-se assim uma amostra composta.

Após a coleta e homogeneização das soluções do solo, as amostras foram preparadas para serem analisadas pela metodologia eletroanalítica desenvolvida neste trabalho e por cromatografia líquida de alta eficiência.

As concentrações dos herbicidas nas amostras de solução do solo foram obtidas pela extrapolação das correntes de pico e áreas dos picos nas respectivas curvas analíticas construídas para cada técnica aplicada neste estudo.

3.4.5.1. Análise granulométrica e química

Anteriormente à aplicação dos herbicidas, foram coletadas amostras de solo para a realização de análises químicas (pH CaCl_2 , teor de matéria orgânica (MO), acidez potencial dos solos, teor de alumínio, e capacidade trocadora de cátions (CTC)) e granulométrica (areia, silte e argila) nas três profundidades estudadas. Estas análises foram realizadas pelo PIRASOLO – Laboratório Agrotécnico Piracicaba, Piracicaba – SP. As Tabelas 3 e 4 apresentam os resultados dessas análises. Verifica-se a grande diferença nos teores de argila desses solos (cerca de 40 % para o solo argiloso – AM 2 e 6 % para o solo arenoso – AM 1). Os valores de pH desses solos são muito próximos, mas o mais argiloso (AM 2) possui maiores teores de matéria orgânica e CTC com aumento da profundidade.

Tabela 3. Resultados da análise química das amostras de solo

Amostra	pH CaCl_2	M.O. * (g dm^{-3})	H + Al (mmol _c dm^{-3})	Al (mmol _c dm^{-3})	CTC ** (mmol _c dm^{-3})
AM1 0-25 cm	5,1	12	18	0	44
AM1 25-50 cm	5,3	3	13	0	29
AM1 50-75 cm	5,2	6	15	0	37
AM2 0-25 cm	5,1	21	38	0	74
AM2 25-50 cm	5,2	15	31	0	67
AM2 50-75 cm	5,4	8	25	0	58

* Matéria orgânica

** Capacidade trocadora de cátions.

Tabela 4. Resultados da análise granulométrica das amostras de solo

	Argila	Silte	Areia grossa	Areia fina
Amostra	<0,002 mm	0,053-0,002 mm	2,00-0,210 mm	0,210-0,053 mm
	----- % -----			
AM1 0-25 cm	6,2	0,8	61,0	32,0
AM1 25-50 cm	7,1	0,9	41,0	51,0
AM1 50-75 cm	6,1	1,9	59,0	33,0
AM2 0-25 cm	36,9	10,1	17,0	36,0
AM2 25-50 cm	42,8	12,2	18,0	27,0
AM2 50-75 cm	39,9	12,1	23,0	25,0

3.4.5.2. Métodos de extração

3.4.5.2.1. Extração de solução do solo

Em cada manilha foram instalados três extratores (Figura 8) de solução do solo, nas profundidades 25, 50 e 75 cm. Cada extrator é composto de uma cápsula porosa de carbetto de silício, a qual foi acoplada um tubo de PVC e uma tampa de PVC, esta com dois orifícios pelos quais serão introduzidas duas mangueiras plásticas de tamanhos diferentes, de forma que a mais longa atinja o líquido coletado na cápsula, e a mais curta ficará um pouco acima da primeira (Figura 8B). A extração da solução do solo é feita por meio da aplicação de vácuo, com bomba elétrica, na mangueira mais curta (M1) por cerca de 5 minutos e posteriormente a bomba de vácuo é desconectada e essa mangueira é vedada com pinça de Mohr, fazendo com que o vácuo seja mantido no interior do reservatório da cápsula. Desta forma, a solução do solo flui para dentro do reservatório formado pela cápsula porosa e o tubo de PVC. Durante o período de extração a mangueira M1 mantém-se fechada. Para a transferência da solução do solo coletada no reservatório da cápsula porosa basta desconectar a pinça de Mohr da mangueira M1 e a solução fluirá naturalmente pela mangueira mais longa (M2) até o frasco de coleta. Após a coleta, os frascos são armazenados em geladeira para posterior análise pelas metodologias eletroanalíticas desenvolvidas para os dois herbicidas.

Figura 8. A – Extrator da solução do solo com cápsula porosa de carbeto de silício; B – Detalhe da cápsula porosa com as mangueiras para extração da solução do solo.

3.4.5.2.2. Coleta do solo no final do experimento

As amostras de solo foram coletadas por gradagem nas mesmas profundidades em que foram coletadas as soluções de solo. Essas amostras foram secas em estufa à aproximadamente 35°C por 24 h. Em seguida, foram peneiradas mecanicamente em peneira 2 mm.

3.4.5.2.3. Extração do herbicida 2,4-D em amostras de solução de solo para análise por HPLC

A extração em fase sólida (SPE) do herbicidas 2,4-D das amostras de solução de solo foram realizadas em cartuchos SPE-C18 (500 mg, 6 mL) provenientes da Agilent Technologies. Estes cartuchos foram pré-condicionados com 5 mL de acetona, 5 mL de metanol e 5 mL de água grau HPLC, consecutivamente.

As amostras foram passadas pelo cartucho de SPE numa vazão igual a 3 mL min⁻¹ utilizando um sistema à vácuo. Após a eluição das amostras, os cartuchos foram lavados com aproximadamente 10,0 mL de cada solvente, sendo eles hexano, acetato de etila e metanol.

Alíquotas de 5 mL da amostra de solução de solo foram hidrolizadas a pH 11 por 1h com hidróxido de sódio 1 mol L⁻¹. Em seguida, o pH foi ajustado a 2,5 com ácido clorídrico concentrado.

Com a bomba à vácuo desligada, a amostra de solução de solo foi adicionada à coluna e aspirada. A amostra foi eluída com 2 x 1 mL de metanol. O eluente foi diluído para 5 mL com água grau HPLC.

3.4.5.2.4. Extração dos herbicidas das amostras de solo coletadas por gradagem 100 dias após o início dos experimentos

Herbicida 2,4-D

Sub-amostras de 5 g de solo foram tratadas com 1 mL de água acidificada a pH 1 (H₂SO₄ 9 mol L⁻¹) e 15 mL de diclorometano. O composto foi extraído por ultra-som durante 1 h. Este procedimento foi repetido mais uma vez com a amostra de solo. Os extratos foram combinados e filtrados em papel quantitativo. Em seguida, o extrato final foi reduzido em rota evaporador até 1 mL, seco com N₂ e diluído em 1 mL de metanol.

Para as análises por SWV, foi realizado o mesmo procedimento de extração. No entanto, o extrato final foi diluído, após redução em rota evaporador, para 20 mL de tampão BR pH 2.

Herbicida metribuzin

Sub-amostras de 5 g de solo foram extraídas com 10 mL de metanol por meio de agitação mecânica por 30 min. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 5 min a 1000 rpm e filtradas sob pressão reduzida. O filtrado foi concentrado em rota evaporador até 1 mL e o resíduo diluído em 1 mL de metanol.

Para as análises por SWV foi realizado o mesmo procedimento de extração e adicionalmente, a amostras foi diluída para 20 mL com água acidificada com H₂SO₄ (0,1 mol L⁻¹) pH 2.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. AVALIAÇÃO DOS ELETRODOS

A etapa inicial do estudo consistiu em realizar testes com diferentes eletrodos de trabalho, dentre eles o eletrodo de GPU (60% grafite, 40% poliuretana), GPU + NTC (50% grafite, 10% NTC e 40% poliuretana), carbono vítreo e pasta de carbono, aplicando a técnica de voltametria de onda quadrada. Estes testes foram necessários para avaliar a eletroatividade dos herbicidas 2,4-D e metribuzin em diferentes superfícies eletródicas e consequentemente estabelecer qual o eletrodo de trabalho seria utilizado no decorrer do desenvolvimento das metodologias eletroanalíticas. Na Figura 9 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada obtidos nos diferentes eletrodos de trabalho para o 2,4-D (A) e o metribuzin (B).

Figura 9. Voltamogramas de onda quadrada para o 2,4-D (A) e metribuzin (B) obtidos em diferentes eletrodos de trabalho. Solução de 2,4-D $10,5 \text{ mg L}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 3 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -400 \text{ mV}$. Solução de metribuzin $10,2 \text{ mg L}^{-1}$ em água acidificada com H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2), $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -300 \text{ mV}$.

Ao analisar a Figura 9, verifica-se que o herbicida 2,4-D não apresenta eletroatividade nas superfícies de carbono vítreo e também na pasta de carbono. No entanto, observa-se um pico em aproximadamente $-0,55 \text{ V vs. } E_{Ag/AgCl}$ quando é utilizado os eletrodos compósitos de GPU e GPU+NTC. Esta constatação é bastante significativa, uma vez que não existem relatos na literatura sobre a determinação eletroanalítica direta do herbicida 2,4-D. O eletrodo compósito de GPU já foi utilizado na determinação eletroanalítica de várias moléculas orgânicas com boa sensibilidade e seletividade^{49, 50, 60}. De acordo com estes trabalhos, a poliuretana de origem vegetal não estaria atuando apenas como um isolante, ou seja, é

sugerido que ocorra uma interação de natureza hidrofóbica entre a poliuretana e o analito, a qual seria responsável pela eletroatividade do 2,4-D.

Como pode ser observado também, a inserção de 10% de NTC no eletrodo de GPU não promoveu um aumento da sensibilidade analítica e assim o eletrodo de GPU foi selecionado como eletrodo de trabalho para a determinação analítica do 2,4-D.

O herbicida metribuzin não apresentou eletroatividade na superfície do eletrodo de pasta de carbono, porém, foi observado um pico em aproximadamente -0,90 V ao utilizar o eletrodo de carbono vítreo. No entanto, o herbicida apresentou um pico de redução mais bem definido, em -0,65 V, com o eletrodo de GPU. Ao inserir 10% de NTC, observou-se que a intensidade da corrente de pico não mudou significativamente e assim o eletrodo de GPU foi também selecionado para as determinações eletroanalíticas do metribuzin.

4.2. ESTUDO VOLTAMÉTRICO DO 2,4-D

4.2.1. Voltametria cíclica do 2,4-D

O tampão BR foi escolhido como eletrólito de suporte para realização destes experimentos, devido a existência de um trabalho na literatura, no qual utiliza a técnica eletroanalítica e este tampão como eletrólito suporte para determinação indireta do herbicida 2,4-D ¹².

4.2.1.1. Perfil voltamétrico

A Figura 10 apresenta três voltamogramas cíclicos sucessivos de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR, pH 2, com eletrodo de GPU. Observa-se um pico de redução do herbicida em -0,55 V *vs.* E_{Ag/AgCl} com características de processo irreversível, devido a ausência de pico na varredura reversa do potencial, verifica-se também que o processo é controlado pela adsorção do reagente e/ou produto na superfície do eletrodo, devido à diminuição da corrente de pico do primeiro para os demais ciclos.

Figura 10. Voltamogramas cíclicos de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

4.2.1.2. Variação da velocidade de varredura para o 2,4-D

O experimento de variação da velocidade de varredura foi realizado, no intervalo de 10 a 500 mV s^{-1} , para avaliar o grau de reversibilidade da reação e a natureza do transporte de material eletroativo para a superfície do eletrodo.

Na Figura 11 são apresentados os voltamogramas cíclicos de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) em diferentes velocidades de varredura. A Tabela 5 apresenta os valores das correntes e dos potenciais do pico de redução do 2,4-D.

Figura 11. Voltamogramas cíclicos de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) para diferentes velocidades de varredura com eletrodo de GPU (A), e a relação entre as correntes de pico e velocidade (B).

Tabela 5. Corrente (I_p) e potenciais (E_p) de pico de redução do 2,4-D em função da velocidade de varredura (dados obtidos da Figura 6A)

v (mV s ⁻¹)	I_p (μA)	E_p (V)
10	1,89	0,49
20	2,81	0,50
50	4,34	0,52
100	5,78	0,55
200	7,33	0,58
500	10,0	0,60

Os valores de corrente de pico foram obtidos traçando-se a tangente e subtraindo os valores de corrente e o potencial de pico obtido diretamente no pico.

Com o objetivo de evitar a passivação do eletrodo pela adsorção de produtos da reação, os voltamogramas cíclicos para diferentes velocidades de varredura foram obtidos efetuando-se o polimento em feltro e sílica diluída a cada medida.

No intervalo de velocidade estudado, verificou-se que a redução do 2,4-D apresenta características de processo irreversível, o qual pode ser constatado pela ausência de pico na varredura reversa de potencial (Figura 10 e Figura 11), pelo deslocamento dos potenciais de pico com o aumento da velocidade de varredura (Figura 11, Tabela 5) e também pela não linearidade entre a corrente de pico (I_p) e a velocidade de varredura (v) (Figura 11).

Além da irreversibilidade da reação, a relação existente entre I_p vs. v (Figura 11B) também indica a natureza do transporte de massa que governa o processo redox. A relação não linear obtida entre I_p vs. v indica que a etapa determinante da velocidade é controlada pela difusão das espécies na superfície do eletrodo. O valor do coeficiente angular ($\tan \theta$) do gráfico $\log(I_p)$ vs. $\log(v)$ foi de 0,42 (Figura 12), confirma a natureza do transporte de massa por processos difusionais. Segundo a literatura para processos difusionais $\tan \theta$ é igual a 0,5 e para processos controlados por adsorção, $\tan \theta$ é próximo de 1⁶⁴.

Figura 12. Relação logarítmica entre a corrente de pico e a velocidade de varredura para o 2,4-D os dados da Figura 6.

4.2.2. Voltametria de onda quadrada

Os estudos voltamétricos de onda quadrada do herbicida 2,4-D foram realizados utilizando-se tampão BR 0,1 mol L⁻¹. As análises foram realizadas após as amostras serem borbulhadas com N₂ (White Martins®) durante 10 min.

Um passo importante no desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica é a otimização dos parâmetros que normalmente influenciam na resposta voltamétrica. Para isto, foi realizado um estudo do pH do meio e dos parâmetros da voltametria de onda quadrada, como frequência (f), amplitude do pulso (a) e incremento de varredura (ΔE_i), buscando, desta forma, o melhor sinal analítico.

4.2.2.1. Variação do pH

O estudo da variação do pH do meio foi realizado no intervalo de 2 a 8, com o objetivo de verificar em que valor registra-se a maior resposta de corrente para fins analíticos, e também avaliar o número de prótons envolvidos na reação de redução do 2,4-D.

A Figura 13 apresenta os voltamogramas de onda quadrada para os valores de pH estudados e a Tabela 5 os valores das correntes e potenciais de pico de redução do herbicida 2,4-D.

Figura 13. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de pH. $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = 0 \text{ mV}$.

Observa-se que os potenciais e as intensidades das correntes de pico de redução mostraram-se dependentes do pH do meio. O pH de trabalho selecionado foi 2 por apresentar melhor perfil voltamétrico (Figura 13) e uma maior intensidade de corrente de pico (Figura 14).

A Tabela 5 apresenta as correntes e potenciais de pico em função do pH determinado a partir dos voltamogramas da Figura 8. Verifica-se que no intervalo de pH de 2 a 3, ou seja, valores próximos ao $\text{pK}_a (2,8)^2$ do herbicida, os potenciais de pico deslocaram-se para valores de potenciais mais negativos com o aumento do pH, indicando que a transferência eletrônica é dependente do pH do meio.

O número de prótons envolvidos na reação de redução do 2,4-D pode ser calculado pela Equação 5.

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta \text{pH}} = - \frac{0,059 H^+}{n\alpha} \quad [5]$$

Utilizando o valor de $n\alpha$ (0,54) calculado por meio do coeficiente angular da relação E_p vs $\log f$, que será apresentado na seção 4.2.2.3, o número de prótons pode ser calculado no intervalo linear de pH pelo coeficiente angular (0,075 V/pH) do gráfico de E_p vs. pH (Figura

14), o qual corresponde ao termo $\Delta E_p/\Delta pH$. Assim, obteve-se a participação 1 próton (H^+) por molécula de 2,4-D.

Tabela 5. Correntes (I_p) e potenciais (E_p) de pico de uma solução de $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR, em função do pH, obtidos dos voltamogramas apresentados na Figura 13

pH	- I_p (μA)	- E_p (V)
2,0	7,93	0,51
2,5	5,23	0,55
3,0	6,60	0,58
3,5	5,02	0,62
4,0	6,42	0,60
4,5	5,50	0,64
6,0	3,91	0,60
7,0	4,38	0,67
8,0	1,05	0,69

Figura 14. Correntes (I_p) e potenciais (E_p) de pico de redução do 2,4-D em tampão BR com eletrodo de GPU.

4.2.2.2. Variação da frequência

A frequência é um dos parâmetros mais importantes na voltametria de onda quadrada, pois é ela que determina a intensidade dos sinais analíticos e, conseqüentemente, a sensibilidade do método.

A Figura 15 apresenta os voltamogramas de onda quadrada obtidos para o 2,4-D em função da variação da frequência. Observa-se que com o aumento da frequência, ocorre um aumento proporcional na intensidade de corrente e um pequeno deslocamento dos potenciais de pico para regiões mais negativas. No entanto, como pode ser observado nesta mesma figura e na Tabela 6, frequências acima de 50 s^{-1} não influenciam de maneira significativa na intensidade do sinal. Por este motivo, a frequência de trabalho escolhida foi de 50 s^{-1} , pois se obteve um voltamograma bem definido e com maior intensidade de corrente de pico.

Figura 15. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1\text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de frequência. $a = 50\text{ mV}$, $\Delta E_i = 1\text{ mV}$, $t_{ac} = 10\text{ s}$ e $E_{ac} = 0\text{ mV}$.

As relações existentes entre a corrente de pico e a frequência ou raiz quadrada da frequência fornecem informações quanto ao grau de reversibilidade e a existência ou não de processos de adsorção na superfície do eletrodo. Na Figura 16 são apresentadas essas relações de corrente e frequência para o herbicida 2,4-D.

Tabela 6. Valores de corrente (I_P) e potencial (E_P) de pico para o 2,4-D

f (s^{-1})	$-I_P$ (μA)	$-E_P$ (V)
10	3,62	0,49
20	4,29	0,50
30	5,19	0,52
40	5,93	0,53
50	6,68	0,55
70	6,19	0,56
100	6,14	0,57

Figura 16. Relações entre as correntes de pico com a frequência (A) e a raiz quadrada da frequência (B) com os voltamogramas apresentados na Figura 15.

Como pode ser observado, a linearidade entre I_P vs. f e a não linearidade entre I_P vs. $f^{1/2}$ confirmam a irreversibilidade da reação de redução do 2,4-D, bem como a adsorção de reagente na superfície do eletrodo.

A Figura 17 apresenta a relação entre E_P e $\log$ de (f) para o 2,4-D, com os dados dos voltamogramas apresentados na Figura 10. O coeficiente angular ($\tan \theta$) da relação entre E_P vs. $\log$ (f), para processos irreversíveis, permite calcular, pela equação de Lovric (Equação 6), o valor de αn que neste caso foi de 0,54 (Figura 17).

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta \log f} = -\frac{59}{\alpha n} \quad [6]$$

Figura 17. Relação entre o potencial de pico e o logaritmo da frequência da onda quadrada para o herbicida 2,4-D.

4.2.2.3. Variação da amplitude

A amplitude do pulso é um dos parâmetros da SWV a ser otimizado, pois, para sistemas totalmente irreversíveis, a sensibilidade analítica é influenciada pela variação da amplitude. A Figura 18 mostra o efeito da variação deste parâmetro para valores entre 10 e 50 mV.

Figura 18. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de amplitude (A) e variação da corrente de pico com a amplitude (B). $f = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = 0 \text{ mV}$.

Ao variar a amplitude no intervalo de 10 a 50 mV, observa-se um aumento linear na intensidade da corrente de pico (Figura 18B) e assim optou-se por utilizar uma amplitude de 50 mV nos experimentos subsequentes com o 2,4-D.

4.2.2.4. Variação do incremento de varredura

A velocidade efetiva na voltametria de onda quadrada é o resultado do produto da frequência pelo incremento de varredura. Deste modo, um incremento de varredura maior pode aumentar o sinal obtido e, assim, melhorar a sensibilidade do método. Na Figura 19 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada para um solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do herbicida 2,4-D ao variar o incremento de varredura de 1 a 5 mV.

Figura 19. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de incremento de varredura. $f = 50 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = 0 \text{ mV}$.

Pela análise da Figura 19, verifica-se que ao variar o incremento de varredura de 1 a 5 mV ocorre o deslocamento do potencial de pico para potenciais mais negativos e que, para incrementos maiores que 3 mV, a intensidade de corrente não sofre um aumento muito significativo, além do fato de que ao aumentar o incremento observa-se um alargamento do pico, o qual está relacionado com a perda na seletividade. Desta forma, optou-se em trabalhar com incremento de varredura igual a 3 mV.

4.2.2.5. Variação do tempo e do potencial de acumulação

Além dos parâmetros da técnica de voltametria de onda quadrada, foram otimizados o potencial e o tempo de acumulação, uma vez que foi constatado nos testes preliminares a necessidade de se pré-acumular o analito na superfície do eletrodo de GPU.

Na Figura 20 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada para tempos de acumulação de 0 a 30 s.

Figura 20. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de tempo de acumulação. $f = 50 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$ e $E_{ac} = 0 \text{ mV}$.

Ao analisar a Figura 20, pode-se observar que não há resposta voltamétrica do 2,4-D quando não existe a acumulação do herbicida na superfície do eletrodo de GPU ($t = 0$), ou seja, é imprescindível que ocorra uma etapa de pré-acumulação do analito na superfície do eletrodo. Ao aplicar 10 s obteve-se um voltamograma bem definido e com maior intensidade de corrente de pico. Deve-se salientar que um tempo de acumulação superior a 10 s não promove um aumento na corrente de pico devido à saturação da superfície do eletrodo.

Na Figura 21 é apresentado o efeito da variação do potencial de acumulação, entre 0 e -700 mV, fixando o tempo de acumulação em 10 s.

Pode-se observar que há um deslocamento do potencial de pico para potenciais catódicos ao aplicar potenciais de acumulação mais negativos que -500 mV e que o melhor sinal analítico é obtido para potencial de acumulação igual a -400 mV.

Figura 21. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 2,4-D em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de potencial de acumulação. $f = 50 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$ e $t_{ac} = 10 \text{ s}$.

4.2.2.6. Construção da curva analítica

Depois de estabelecidas as melhores condições experimentais para a determinação do herbicida 2,4-D, curvas analíticas ($n = 6$) foram construídas no intervalo de $0,33$ a $2,62 \text{ mg L}^{-1}$ (ppm) utilizando eletrólito suporte e solução dos dois solos estudados, assim como herbicida padrão e comercial. Na Figura 22 são mostrados os voltamogramas de onda quadrada obtidos neste intervalo de concentração (A), as seis curvas analíticas obtidas (B) e curva analítica média com variação da corrente de pico com a concentração de 2,4-D adicionado (C).

A equação linear da média dos seis experimentos foi: $I_p (\mu\text{A}) = 0,4 + 4,9 \times C_{2,4\text{-D}} (\text{mg L}^{-1})$ com R^2 igual a $0,992$.

A sensibilidade da metodologia analítica estabelecida foi avaliada por meio do cálculo dos limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) obtidos pelas Equações 7 e 8.

$$LD = 3 \frac{S_b}{\text{tg } \theta} \quad [7]$$

$$LQ = 10 \frac{S_b}{\text{tg } \theta} \quad [8]$$

onde S_b é o desvio padrão da média dos brancos ($n = 10$) e $\text{tg } \theta$ é o coeficiente angular da curva analítica. Assim, obteve-se LD igual a $17,6 \mu\text{g L}^{-1}$ (ppb) e LQ igual a $58,6 \mu\text{g L}^{-1}$.

Figura 22. Voltamogramas de onda quadrada em função da concentração de 2,4-D adicionada (A), curvas analíticas (B) curva analítica média com a variação da corrente de pico em função da concentração (C). Eletrodo de trabalho: composto de GPU. $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 3 \text{ mV}$, $E_{ac} = -400 \text{ mV}$ e $t_{ac} = 10 \text{ s}$.

A precisão da metodologia foi avaliada por meio de 10 medidas sucessivas de uma solução igual a $0,33 \text{ mg L}^{-1}$ de 2,4-D. Para a precisão *intra-day* (repetibilidade), a qual foi calculada por meio de análises sucessivas durante um dia ($n = 10$), o RSD foi igual a 2,5 %. A precisão *inter-day* (precisão intermediária) foi calculada por meio de análises em dias diferentes o RSD foi igual a 3,9 %, para $n = 6$.

A exatidão foi avaliada pelo cálculo do erro relativo (bias = 3,8 %), o qual descreve o desvio dos resultados esperados nos experimentos de recuperação do herbicida no eletrólito suporte.

Os experimentos de recuperação foram realizados em triplicata. Para a construção das curvas de recuperação, uma quantidade conhecida de 2,4-D foi adicionada ao eletrólito

suporte e, a seguir, a concentração do 2,4-D adicionada foi determinada pelo método de adição padrão. O resultado obtido referente ao teste recuperação foi de 104 %.

Os resultados obtidos foram bastante satisfatórios, pois os limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão obtidas foram similares aos obtidos pela maioria dos métodos eletroanalíticos para determinação de pesticidas em eletrodos dos mais variados tipos, tais como mercúrio, pasta de carbono, diamante^{65, 66, 67}, dentre outros. Isso sugere, em função dos trabalhos da literatura, que a metodologia terá boa aplicabilidade em análises de amostras de solos.

4.3. ESTUDO VOLTAMÉTRICO DO METRIBUZIN

4.3.1. Análise da influência do eletrólito suporte

Vários eletrólitos suporte foram testados, dentre eles o tampão BR, o tampão acetato e água Milli-Q acidificada com ácido sulfúrico (1 mol L⁻¹). A água acidificada com H₂SO₄ (1 mol L⁻¹) foi o eletrólito que apresentou uma melhor resposta voltamétrica para a redução do herbicida metribuzin com picos bem definidos e intensidades de corrente ligeiramente maiores para o caso do pH mais baixo avaliado (pH 2) (Figura 23). Portanto, o H₂SO₄ foi escolhido como eletrólito suporte, no pH 2, para as medidas subsequentes do metribuzin.

Figura 23. Correntes de pico (I_p) do metribuzin (8,2 mg L⁻¹) em três diferentes eletrólitos suporte em função do pH.

4.3.2. Voltametria cíclica do metribuzin

4.3.2.1. Perfil voltamétrico do metribuzin

Após a escolha do eletrodo de trabalho e do eletrólito suporte, o perfil voltamétrico do metribuzin foi obtido por meio de sucessivas ciclagens de potencial, como mostrado na Figura 24.

Os voltamogramas cíclicos do metribuzin exibem um pico de redução -680 mV *vs.* E_{SCE} , pH 2, com características de processo irreversível controlado pela adsorção de reagente e/ou produto na superfície do eletrodo de GPU.

Figura 24. Voltamogramas cíclicos de uma solução $8,2 \text{ mg L}^{-1}$ de metribuzin em água acidificada com H_2SO_4 1 mol L^{-1} (pH 2). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

4.3.2.2. Variação da velocidade de varredura

Um dos experimentos iniciais para o estudo de redução do herbicida metribuzin consistiu na variação da velocidade de varredura no intervalo de 10 a 500 mV s^{-1} , com o objetivo de avaliar o grau de reversibilidade da reação e a natureza do transporte de material eletroativo para a superfície do eletrodo.

A Figura 25 apresenta os voltamogramas cíclicos de uma solução de $8,14 \text{ mg L}^{-1}$ de metribuzin (A), pH 2 (H_2SO_4 1 mol L^{-1}) para vários valores de velocidade de varredura e os valores das correntes (I_p) e potenciais (E_p) de redução do metribuzin em função da velocidade de varredura (B).

As correntes de pico foram obtidas traçando-se a tangente e subtraindo os valores de corrente e o potencial de pico obtido diretamente no pico, nos voltamogramas da Figura 25A.

Entre cada medida dos voltamogramas cíclicos para diferentes velocidades de varredura efetuou-se o polimento do eletrodo de GPU em lixa 1200, com o objetivo de evitar a passivação do mesmo pela adsorção de produtos da reação.

Observa-se na Figura 25 que com o aumento da velocidade de varredura há um deslocamento dos potenciais de pico para potenciais mais catódicos, fato este característico de processos irreversíveis. Além disso, a ausência de pico na varredura reversa de potencial e a não linearidade entre a corrente de pico e a velocidade de varredura, confirmam a irreversibilidade do processo.

Figura 25. Voltamogramas cíclicos (A) de uma solução 8,12 mg L⁻¹ de metribuzin em água Milli-Q acidificada com H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ (pH 2) para diversos valores de velocidade de varredura e a variação da corrente (I_p) e do potencial (E_p) do pico de redução em função da velocidade de varredura (B).

Além da informação sobre a irreversibilidade da reação, a relação existente entre I_p vs. v (Figura 25) também indica a natureza do transporte de massa que governa o processo redox. A relação não linear entre I_p vs. v sugere que a etapa determinante da velocidade é controlada pela difusão das espécies na superfície do eletrodo. A linearidade da relação log I_p e log v para o metribuzin e o valor do coeficiente angular (tg θ) do gráfico log (I_p) vs. log (v) de 0,64, mostrado na Figura 26, confirma a natureza do transporte de massa, que segundo a literatura é igual a 0,50 para processos difusionais e aproxima-se de 1 para processos controlados por adsorção⁶⁴.

Figura 26. Relação entre o logaritmo da corrente de pico (I_p) e da velocidade de varredura (v) para o metribuzin, obtidos dos voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 25A.

4.3.3. Voltametria de onda quadrada do metribuzin

Os estudos voltamétricos de onda quadrada do herbicida metribuzin foram realizados utilizando-se água Milli-Q acidificada com H_2SO_4 1 mol L^{-1} (pH 2). As soluções analisadas foram desoxigenadas borbulhando-se N_2 (White Martins[®]) durante 10 min.

4.3.3.1. Variação do pH

A Figura 27 apresenta os voltamogramas de onda quadrada de uma solução 8,12 mg L^{-1} de metribuzin com a variação de pH entre 2 e 5 e a Tabela 7 os valores das correntes (I_p) e potenciais (E_p) de pico da redução observada. Verifica-se que o herbicida metribuzin é reduzido somente em valores de pH menores que 3. Além disso, observa-se também que ao aumentar o pH do meio, os valores de potencial de pico deslocam-se para valores menos negativos, revelando que a transferência eletrônica é dependente do pH do meio. A maior resposta de corrente para fins analíticos foi obtida em pH 2 e portanto este foi o valor de pH escolhido para desenvolvimento da metodologia analítica para determinação do metribuzin.

Figura 27. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução 8,12 mg L⁻¹ de metribuzin com H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte, para diferentes valores de pH. $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$.

A Figura 28 apresenta a relação entre o potencial do pico de redução do metribuzin e o pH, o qual permite a determinação do número de prótons envolvidos na redução, utilizando a Equação 5. Utilizando-se o valor do coeficiente angular ($\text{tg } \theta$) da relação E_p vs. pH obtida na Figura 28 (118,5 mV/pH) e o valor de $n\alpha$ igual a 1,28, obtido da relação entre E_p e f (apresentado na seção 4.3.3.2) obtém-se que o número de prótons envolvidos na reação é de aproximadamente igual a 2.

Tabela 7. Valores de corrente (I_p) e potencial de pico (E_p) para a redução do 2,4-D

pH	- I_p (μA)	- E_p (V)
2,0	7,95	0,63
2,2	5,15	0,65
2,5	2,66	0,69
2,7	1,15	0,72
3,0	0,50	0,75
4,0	-	-
5,0	-	-

Figura 28. Relação entre potencial de pico de redução do metribuzin e o pH, com os dados obtidos dos voltamogramas de onda quadrada apresentados na Figura 27.

4.3.3.2. Variação da frequência

Em voltametria de onda quadrada, a variação da frequência de aplicação de potencial é de fundamental importância, pois, para a maioria dos processos eletródicos, a corrente de pico é diretamente proporcional à frequência. Além disso, a variação deste parâmetro permite obter informações importantes a respeito do grau de reversibilidade da reação, do número de elétrons (sistemas reversíveis) e do valor de αn (sistemas irreversíveis).

Na Figura 29 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada para variação da frequência no intervalo de 10 a 100 s^{-1} e na Tabela 8 os valores das correntes e dos potenciais de pico para cada valor de frequência registrado.

Como pode ser observado na Figura 29 e também na Tabela 8, houve um aumento proporcional na intensidade de corrente de pico até uma frequência igual a 40 s^{-1} . Acima deste valor verifica-se que não há diferença significativa nas intensidades de correntes. Além disso, observa-se um pequeno deslocamento dos potenciais de pico para regiões mais catódicas. Desta forma, a frequência igual a 40 s^{-1} foi escolhida para as aplicações analíticas.

Pode-se observar que em alguns voltamogramas da Figura 29 aparece um pré-pico de redução do herbicida metribuzin próximo a -0,55 V. Como este pico não é muito definido escolheu-se para fins analíticos deste trabalho somente o pico mais catódico, ou seja, o pico próximo a -0,68 V.

Figura 29. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $8,12 \text{ mg L}^{-1}$ de metribuzin em água acidificada com H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) para diferentes valores de frequência. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$, $t_{ac} = 0 \text{ s}$ e $E_{ac} = 0 \text{ V}$.

A linearidade entre intensidade de corrente de pico e a frequência de varredura (Figura 30), para valores de f entre 10 e 40 s^{-1} , confirma a irreversibilidade do processo de redução do herbicida metribuzin obtida nos experimentos de voltametria cíclica. Verifica-se também que o processo de redução do metribuzin é irreversível, controlado por difusão, com reagentes e/ou produtos adsorvidos na superfície do eletrodo.

Tabela 8. Valores de corrente (I_p) e potencial (E_p) do pico de redução do metribuzin em função da frequência, obtidos dos voltamogramas de onda quadrada da Figura 24

$f (\text{s}^{-1})$	$-I_p (\mu\text{A})$	$-E_p (\text{V})$
10	1,47	0,66
20	2,27	0,66
30	3,21	0,67
40	3,77	0,67
50	3,72	0,68
70	3,82	0,69
100	2,38	0,69

Figura 30. Variação da corrente de pico de redução do metribuzin com a frequência de aplicação do potencial obtidos dos voltamogramas de onda quadrada da Figura 29.

A Figura 31 apresenta a dependência do potencial de pico com o logaritmo da frequência para o metribuzin. Observa-se um comportamento linear com coeficiente angular ($\text{tg } \theta$) igual a 45,99. A equação de Lovric (Equação 6), permite a determinação de αn , que com os dados da Figura 31, forneceu um valor de 1,28.

Figura 31. Relação entre os potenciais de pico (E_p) de redução do metribuzin e o logaritmo da frequência de onda quadrada obtidos dos voltamogramas de onda quadrada da Figura 29.

4.3.3.3. Variação da amplitude

Uma outra forma de melhorar a sensibilidade analítica da SWV é variar a amplitude dos pulsos de potencial. Na Figura 32, são apresentados os voltamogramas de onda quadrada de uma solução 8,12 mg L⁻¹ de metribuzin com valores de amplitude variando de 10 a 50 mV.

Figura 32. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução 8,12 mg L⁻¹ de metribuzin em água acidificada com H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ para diferentes valores de amplitude. $f = 50$ mV, $\Delta E_i = 1$ mV, $t_{ac} = 0$ s e $E_{ac} = 0$.

O maior sinal analítico foi obtido para uma amplitude de 50 mV, assim, este valor foi utilizado no decorrer dos experimentos para o desenvolvimento da metodologia analítica para determinação do herbicida metribuzin.

4.3.3.4. Variação do incremento de varredura

A Figura 33 apresenta os voltamogramas de onda quadrada para valores de incremento de varredura no intervalo de 1 a 5 mV.

Verifica-se na Figura 33 que ao aumentar o incremento de varredura ocorre um aumento da intensidade da corrente sem ocasionar o alargamento do pico. Assim, optou-se por trabalhar com um incremento de varredura igual a 5 mV.

Figura 33. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $8,12 \text{ mg L}^{-1}$ de metribuzin em água acidificada com H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) para diferentes valores de incremento de varredura. $f = 50 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$, $t_{ac} = 0 \text{ s}$ e $E_{ac} = 0$.

4.3.3.5. Variação do tempo e potencial de acumulação

Assim como para o herbicida 2,4-D, também foram otimizados o tempo e o potencial de acumulação para a redução voltamétrica do herbicida metribuzin.

Na Figura 34 estão apresentados os voltamogramas de onda quadrada para tempos de acumulação no intervalo de 0 a 60 s.

Figura 34. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $8,12 \text{ mg L}^{-1}$ de metribuzin em água acidificada com H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) para diferentes valores de tempo de acumulação. $f = 50 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$ e $E_{ac} = 0$.

Observa-se na Figura 34, que há um aumento na intensidade de corrente quando se aplica um tempo de acumulação de 10 a 20 s, e que ao aumentar o tempo de acumulação ocorre uma diminuição da corrente de pico devido à saturação da superfície do eletrodo de GPU. Não houve diferença significativa entre os tempos de acumulação iguais a 10 e 20 segundos, por este motivo, optou-se por utilizar o tempo de 10 s.

A Figura 35 apresenta o efeito da variação do potencial de acumulação no intervalo de 0 a -700 mV. Verifica-se na Figura 35B, que o melhor sinal analítico é obtido para potencial de acumulação igual a -300 mV.

Figura 35. Voltamogramas de onda quadrada (A) de uma solução $8,12 \text{ mg L}^{-1}$ de metribuzin em água acidificada com H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2) para diferentes valores de potencial de acumulação (E_{ac}) e variação das correntes de pico com E_{ac} (B). $f = 50 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$ e $t_{acc} = 10 \text{ s}$.

4.3.3.6. Construção da curva analítica

Estabelecidas as melhores condições para determinação do pico de redução mais catódico do herbicida metribuzin, curvas analíticas foram construídas em eletrólito suporte e soluções dos dois solos estudados por adição de padrão e de herbicida comercial. Como não houve diferença significativa entre as seis curvas analíticas construídas, utilizou-se uma curva com a média das correntes de pico obtidas nos seis experimentos. Os voltamogramas de onda quadrada obtidos por adição de metribuzin no eletrólito (H_2SO_4), no intervalo de concentração de $0,32$ a $4,72 \text{ mg L}^{-1}$ são apresentados na Figura 36A. As seis curvas analíticas obtidas com eletrólito (H_2SO_4) e soluções do solo com adição de herbicida padrão e comercial são apresentados na Figura 36B e uma média das curvas analíticas obtidas está apresentada na Figura 36C. A resposta da corrente de pico foi linear para a faixa de concentração utilizada e

não houve diferença significativa entre as amostras (eletrólito ou solução do solo) e herbicida (padrão ou comercial).

A equação linear da média dos seis experimentos foi: $I_P (\mu A) = 0,22 + 1,67 \times C_{\text{metrib.}}$ (mg L^{-1}) com R^2 igual a 0,998.

Figura 36. Voltamogramas de onda quadrada (A) variando-se a concentração de metribuzin adicionado em H_2SO_4 (pH 2) com eletrodo de GPU. Curvas analíticas (B) e média das curvas (C) obtidas com a adição do herbicida padrão ou comercial em amostras de soluções dos solos e eletrólitos suporte. $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -300 \text{ mV}$.

Para determinação do limite de detecção (LD), que é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob condições experimentais estabelecidas⁶⁸, utilizou-se o desvio padrão da média da intensidade de corrente de pico de dez brancos e a Equação 7. Desta forma, o LD obtido foi igual a $1,67 \mu\text{g L}^{-1}$.

O LQ é a menor quantidade de analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. Mostra o desempenho ou sensibilidade do instrumento utilizado nas análises ⁶⁸. Considerando-se a metodologia proposta o valor de LQ é dado pela Equação 8. Com isso, o LQ encontrado foi igual a $5,56 \mu\text{g L}^{-1}$.

A precisão do método foi avaliada por meio da precisão *intra-day* ou repetibilidade (RSD = 1,9 %), a qual foi determinada por medidas sucessivas durante um dia (n = 10) de uma solução de $1,28 \text{ mg L}^{-1}$ de metribuzin, e pela precisão *inter-day* ou precisão intermediária (RSD = 3,9 %) que foi calculada por meio de análises em dias diferentes (n = 6).

A exatidão do método, o qual descreve a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro, foi avaliada por meio do erro relativo (Bias) que foi igual a 1,9 %.

Após a obtenção das curvas analíticas foram realizados testes de recuperação aparente com uma amostra de $5,96 \mu\text{g L}^{-1}$ de metribuzin em H_2SO_4 (pH 2). Estes experimentos foram realizados em triplicata e o resultado obtido foi de 102 %, ou seja, houve uma excelente recuperação para a faixa de concentração avaliada.

A Tabela 9 apresenta os parâmetros de SWV otimizados e os resultados obtidos com a metodologia SWV/GPU para os herbicidas 2,4-D e metribuzin.

Tabela 9. Parâmetros das metodologias analíticas estabelecidas para os herbicidas 2,4-D e metribuzin e os parâmetros analíticos obtidos

Parâmetros otimizados	2,4-D	Metribuzin	Parâmetros otimizados	2,4-D	Metribuzin
Eletrodo	GPU	GPU	Curva analítica	$C^* = \frac{I_p^{**} - 0,4}{4,9}$	$C = \frac{I_p - 0,22}{1,67}$
Eletrólito	Tampão BR	Água + H ₂ SO ₄ 0,1 molL ⁻¹	Coefficiente de correlação	0,992	0,998
E _p (mV)	- 550	- 684	DP do branco	2,87 x 10 ⁻⁸ A	9,29 x 10 ⁻¹⁰ A
pH	2	2	LD	17,6 µg L ⁻¹	1,67 µg L ⁻¹
<i>f</i> (s ⁻¹)	50	40	LQ	58,6 µg L ⁻¹	5,56 µg L ⁻¹
<i>a</i> (mV)	50	50	Precisão <i>inter-day</i>	3,9 %	3,9 %
ΔE _i (mV)	3	5	Precisão <i>intra-day</i>	2,5 %	1,9 %
<i>t</i> _{ac} (s)	10	10	Bias %	3,8	1,9
E _{ac} (mV)	- 400	- 300	Recuperação	104 %	102 %

* C – concentração em mg L⁻¹; ** I_p – corrente de pico em µA.

4.4. DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DOS HERBICIDAS 2,4-D E METRIBUZIN EM AMOSTRAS NATURAIS

A etapa seguinte do estudo consistiu na aplicação das metodologias eletroanalíticas desenvolvidas na análise do 2,4-D e metribuzin, com eletrodo de GPU, em amostras de solo com aplicação dos herbicidas em formulações comerciais, para avaliar o tempo de percolação destes dois herbicidas em dois solos com características distintas (arenoso e argiloso).

Antes da aplicação dos herbicidas nos solos, amostras foram coletadas para análises químicas (pH CaCl₂, teor de matéria orgânica (MO), acidez potencial dos solos, Al e CTC) e granulométrica (areia, silte e argila) nas três profundidades estudadas. Os resultados obtidos nestas análises estão apresentados na Tabela 3.

De acordo com os resultados obtidos nestas análises, não há diferença significativa de pH CaCl₂ entre as duas amostras estudadas. Pode-se observar na Tabela 3 que as quantidades

de matéria orgânica (M.O.), H + Al e capacidade de troca catiônica (CTC) diminuem conforme aumenta a profundidade.

Nesta mesma tabela observa-se que, conforme esperado, o solo AM1, de textura argilosa, apresenta maior quantidade de argila e menores quantidades de silte e areia que o solo AM2, de textura arenosa.

4.4.1. Determinação eletroanalítica do 2,4-D na solução do solo extraída por cápsula porosa

Nas Figuras 37 e 38 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada para as soluções do solo onde foi aplicado o herbicida 2,4-D, para os solos AM1 (arenoso) e AM2 (argiloso), respectivamente. As correntes de pico dos voltamogramas de cada amostra foram calculadas pelo método da tangente e convertidos para valores de concentração por meio da curva analítica apresentada no item 4.2.2.6, Figura 22. Os valores de concentração de 2,4-D encontrados nas diferentes profundidades, amostras de solo e dias de coleta para os dois solos são apresentados na Tabela 10. As amostras sem herbicida (SH) são soluções do solo coletadas antes da aplicação do herbicida, e as amostras branco (BR) são soluções coletadas na manilha onde não foi aplicado 2,4-D comercial.

O 2,4-D é potencialmente móvel, mas a rápida degradação no solo e a remoção do solo pelas plantas, minimizam a lixiviação desse produto. Este herbicida apresenta um K_{OC} médio de 20 mL g^{-1} para formulações ácidas e sais DMA (dimetilamina) e a estimativa para formulações ésteres é de 100 mL g^{-1} ³⁰. No caso do presente estudo foi utilizado a formulação dimetilamina.

Analisando os resultados obtidos, verifica-se que o 2,4-D atinge rapidamente profundidades de 75 cm de solo, pois após 24 horas de aplicação já é possível detectar a presença deste herbicida, tanto em solo de textura arenosa (AM1) quanto em solo de textura argilosa (AM2). Além disso, pode-se verificar que as maiores concentrações do herbicida em solução do solo são obtidas nos três primeiros dias após a aplicação. Após uma semana as intensidades de corrente de pico são muito baixas e próximas às obtidas em amostras do branco e sem herbicida.

Os herbicidas de ácido fraco, como o 2,4-D (pK_a 2,8), perdem próton e estão predominantemente aniônicos no solo, os quais possuem um pH entre 5 e 8. Desse modo, quando o pH da solução é igual ao pK_a do produto, 50 % da molécula encontra-se na forma dissociada e 50 % na forma molecular. No entanto, quando o pH for maior que o pK_a do

produto, como no caso dos solos estudados, a porcentagem da molécula na forma ionizada aumenta podendo diminuir a sorção. Por este motivo, a adsorção destes herbicidas é de magnitude muito menor do que a adsorção de herbicidas catiônicos ou básicos, uma vez que as cargas das argilas dos solos são predominantemente negativas^{69, 70}.

Figura 37. A – Voltamogramas de onda quadrada para diferentes profundidades de solo para amostra AM 1. Soluções do solo tamponadas com TBR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0), $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 3 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -400 \text{ mV}$. (—) Sem herbicida; (—) Branco; (—) 24 h; (—) 48 h; (—) 72 h; (—) 7 dias; (—) 14 dias; (—) 30 dias; (—) 52 dias; (—) 60 dias; (—) 71 dias; (—) 73 dias; (—) 76 dias; e (—) 85 dias. B – Decaimento da concentração em função do tempo.

Figura 38. A – Voltamogramas de onda quadrada para diferentes profundidades de solo para amostra AM 2. Soluções do solo tamponadas com TBR 0,10 mol L⁻¹ (pH 2,0), $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 3 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -400 \text{ mV}$. (—) Sem herbicida; (—) Branco; (—) 24 h; (—) 48 h; (—) 72 h; (—) 7 dias; (—) 14 dias; (—) 30 dias; (—) 52 dias; (—) 60 dias; (—) 71 dias; (—) 73 dias; (—) 76 dias; e (—) 85 dias. B – Decaimento da concentração em função do tempo.

Tabela 10. Concentrações de 2,4-D em amostras de solução do solo obtidas por meio da aplicação da metodologia eletroanalítica desenvolvida

Coletas	Concentrações de 2,4-D (mg L ⁻¹)					
	AM 1			AM 2		
	25 cm	50 cm	75 cm	25 cm	50 cm	75 cm
SH	ND*	ND	ND	ND	ND	ND
BR	0,02 ± 0,03	SA **	ND	SA	SA	AS
24 h	1,07 ± 0,01	SA	0,26 ± 0,05	1,52 ± 0,03	0,28 ± 0,05	0,73 ± 0,02
48 h	0,67 ± 0,07	SA	SA	1,02 ± 0,07	1,19 ± 0,03	0,85 ± 0,06
72 h	0,86 ± 0,08	SA	0,62 ± 0,03	0,62 ± 0,02	SA	0,55 ± 0,07
7 dias	0,08 ± 0,02	SA	SA	0,09 ± 0,02	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,03
14 dias	0,11 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,11 ± 0,03	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,05
30 dias	0,09 ± 0,00	0,17 ± 0,05	0,10 ± 0,10	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	ND
52 dias	0,01 ± 0,02	ND	0,01 ± 0,01	SA	0,02 ± 0,02	0,04 ± 0,01
60 dias	0,03 ± 0,03	0,04 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	ND	ND
71 dias	0,11 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01	SA	0,16 ± 0,03	ND
73 dias	ND	SA	ND	ND	0,18 ± 0,13	0,05 ± 0,06
76 dias	ND	0,08 ± 0,09	0,01 ± 0,02	0,02 ± 0,01	ND	ND
85 dias	0,02 ± 0,03	ND	ND	ND	SA	ND

* ND: concentração abaixo do limite de quantificação da técnica; ** SA: Sem amostra – quantidade de amostra coletada insuficiente para análise.

Os resultados das concentrações obtidas para os dois solos são equivalentes em termos de dissipação espacial e, portanto, pode-se afirmar que não houve diferenciação no comportamento do 2,4-D pelo tipo de solo argiloso ou arenoso e pelas diferenças nos teores de matéria orgânica e CTC desses dois solos.

Segundo a literatura ³⁰, o herbicida 2,4-D apresenta baixa persistência no solo, aproximadamente 10 dias. Os resultados obtidos comprovam esta evidência, já que a partir de sete dias após a aplicação do herbicida, pode-se observar somente resíduos do mesmo nas soluções do solo.

4.4.2. Determinação eletroanalítica do 2,4-D em amostras de solo coletada por tradagem

Após 100 dias de do início do experimento, amostras de solo foram coletadas para análise da quantidade remanescente de 2,4-D. Primeiramente, realizaram-se experimentos de

recuperação (Figura 39) aparente para avaliar o desempenho do método de extração do herbicida em amostras de solo, no qual se obteve 95,5 % de recuperação.

Figura 39. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostras de solo com 2,4-D, 100 dias após aplicação do produto comercial, com eletrodo de GPU e curva de recuperação (B). $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 3 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -400 \text{ mV}$.

As concentrações de herbicida nas três profundidades coletadas (25, 50, 75 cm) foram determinadas por meio de experimentos de recuperação, em triplicata. Um exemplo de curva de recuperação para este experimento está apresentado na Figura 39. Devido à presença de picos nas amostras do branco, com potências de pico próximo a $-0,59 \text{ V}$, optou-se por subtrair as correntes de pico das amostras com herbicida daquelas obtidas das amostras do branco.

As concentrações de 2,4-D obtidas pelas amostras de solo são apresentadas na Tabela 11. Observa-se uma diferença significativa nas quantidades residuais do 2,4-D entre os dois solos. Em todo o perfil do solo (0 a 75 cm de profundidade) obteve-se um valor médio de $0,69 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,38 \text{ mg L}^{-1}$ para os solos AM1 (arenoso) e AM2 (argiloso), respectivamente. Isso significa que houve um maior acúmulo de 2,4-D no solo arenoso 100 dias após a aplicação do herbicida comercial na superfície do solo, que pode ter ocorrido por uma combinação de fatores, dentre eles o teor mais elevado de matéria orgânica do solo AM2, que proporciona uma quantidade maior de microorganismos no solo e que podem degradar o 2,4-D. Outro fator importante é a maior capacidade do solo arenoso (AM1) em percolar a água e também o 2,4-D para camadas mais profundas. Outro aspecto que pode ter contribuído para esse comportamento é o fato do solo argiloso e com maior quantidade de matéria orgânica

adsorver mais fortemente o 2,4-D, podendo ter havido uma fração ligada fortemente, que não pode ser extraído pelo procedimento de extração utilizado.

Tabela 11. Concentrações de 2,4-D em amostras de solo 100 dias após aplicação do herbicida

	Profundidade	C _{2,4-D} (mg L ⁻¹)
AM 1	0 – 25 cm	0,40 ± 0,21
	25 – 50 cm	0,76 ± 0,04
	50 – 75 cm	0,91 ± 0,07
AM 2	0 – 25 cm	0,58 ± 0,03
	25 – 50 cm	0,50 ± 0,13
	50 – 75 cm	0,08 ± 0,06

4.4.3. Determinação do 2,4-D na solução do solo extraído por cápsula porosa utilizando HPLC

Além das medidas voltamétricas, foram realizadas medidas com as mesmas amostras de solo usando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) a fim de se comparar com os resultados obtidos com o uso das metodologias eletroanalíticas desenvolvidas. Dentre as diversas técnicas cromatográficas utilizadas para determinação de pesticidas escolheu-se a de HPLC por ser largamente utilizada para análise destes compostos.

A determinação cromatográfica do herbicida 2,4-D foi realizada após averiguação de um método proposto na literatura. A fase móvel utilizada foi acetonitrila/água + 0,1 % H₃PO₄ na proporção 50/50 v/v, com fluxo de 1,4 mL min⁻¹, forno 30 °C e detecção no comprimento de onda 201 nm. Para estas condições experimentais o herbicida apresentou um tempo de retenção igual a 4,01 minutos. A Figura 40 ilustra a curva analítica obtida para diferentes concentrações de 2,4-D no intervalo de 0,1 a 2,5 mg L⁻¹, que apresentou a equação de calibração: Área = 6081,5 + 1,48 C_{2,4-D} (mg L⁻¹).

O limite de detecção LD foi calculado pelo método baseado nos parâmetros da curva analítica, de acordo com a equação 5, com o termo σ referindo-se ao desvio padrão do menor valor que intercepta o eixo y na curva analítica (coeficiente linear da curva analítica para uma média de duas curvas) e tg θ ao coeficiente angular da curva analítica. O limite de quantificação ficou estabelecido como sendo o primeiro ponto da curva analítica. Nessas condições obtiveram-se valores de LD e LQ de 47,1 µg L⁻¹ e 100 µg L⁻¹, respectivamente.

Figura 40. Curva analítica do 2,4-D com a técnica de HPLC. Fase móvel: 50% Acetonitrila / 50% água + 0,1% H₃PO₄, fluxo 1,4 mL min⁻¹. Volume 20 µL. Detecção em 201 nm.

Foram realizados experimentos de recuperação para avaliar o desempenho de métodos de extração do 2,4-D nas amostras de solo propostos na literatura. Com o método sugerido por Hoke *et al.* (1986)⁷¹ para extração do 2,4-D de amostras de água e solução do solo obteve-se uma recuperação de 97,5 %. Para amostras de solo a recuperação do método⁷² foi igual a 94,4 %. Os resultados obtidos para as amostras de solução do solo com herbicida 2,4-D e a técnica HPLC estão apresentados na Tabela 12.

Das 36 amostras de solução de solo, não houve material suficiente para as análises por SWV e HPLC em quatro delas e em 30 o material coletado foi suficiente apenas para as medidas de SWV. Uma comparação gráfica direta das medidas das concentrações de 2,4-D com as duas técnicas é apresentada na Figura 41. Verifica-se que não há boa correlação entre as duas técnicas sendo que algumas discrepâncias podem ser observadas na Tabela 12, como por exemplo, a obtenção de valores não nulos para amostras sem herbicida, nos dois solos, com a técnica de HPLC. Além disso, os resultados das concentrações de 2,4-D em função da profundidade e do tempo são muito mais coerentes (considerando a dinâmica da dissipação espacial e temporal do herbicida no perfil do solo) para a técnica de SWV do que para a de HPLC. Isso indica que pode ter havido problemas durante a realização das medidas de HPLC, levando a alguns resultados inconsistentes.

Tabela 12. Comparação dos resultados obtidos pelas técnicas SWV e HPLC para solução de solo com 2,4-D

Amostras	Profundidade	C _{2,4-D} (mg L ⁻¹) SWV	C _{2,4-D} (mg L ⁻¹) HPLC
AM1	Sem Herbicida	25 cm	ND *
		50 cm	0,12 ± 0,07
		75 cm	0,03 ± 0,001
	24 horas	25 cm	ND
		50 cm	SA **
		75 cm	SA
	48 horas	25 cm	1,07 ± 0,01
		50 cm	0,05 ± 0,04
		75 cm	0,26 ± 0,05
	14 dias	25 cm	0,03 ± 0,02
		50 cm	1,03 ± 0,36
		75 cm	SA
	52 dias	25 cm	SA
		50 cm	SA
		75 cm	SA
	76 dias	25 cm	0,11 ± 0,03
		50 cm	ND
		75 cm	0,19 ± 0,02
	Sem Herbicida	25 cm	0,10 ± 0,02
		50 cm	SA
		75 cm	SA
AM2	Sem Herbicida	25 cm	0,01 ± 0,02
		50 cm	0,03 ± 0,002
		75 cm	0,04 ± 0,02
	24 horas	25 cm	0,16 ± 0,02
		50 cm	0,01 ± 0,01
		75 cm	0,02 ± 0,001
	48 horas	25 cm	ND
		50 cm	0,08 ± 0,08
		75 cm	0,07 ± 0,01
	14 dias	25 cm	0,01 ± 0,02
		50 cm	0,09 ± 0,06
		75 cm	0,02 ± 0,03
	52 dias	25 cm	ND
		50 cm	0,09 ± 0,02
		75 cm	0,05 ± 0,001
	76 dias	25 cm	0,05 ± 0,02
		50 cm	0,07 ± 0,01
		75 cm	0,02 ± 0,01
	Sem Herbicida	25 cm	1,52 ± 0,03
		50 cm	0,54 ± 0,02
		75 cm	0,28 ± 0,05
	24 horas	25 cm	0,07 ± 0,01
		50 cm	0,73 ± 0,02
		75 cm	0,02 ± 0,01
	48 horas	25 cm	1,02 ± 0,07
		50 cm	0,01 ± 0,01
		75 cm	ND
	14 dias	25 cm	0,85 ± 0,06
		50 cm	5,90 ± 0,28
		75 cm	0,11 ± 0,03
	52 dias	25 cm	0,03 ± 0,01
		50 cm	0,08 ± 0,01
		75 cm	0,06 ± 0,01
	76 dias	25 cm	0,08 ± 0,05
		50 cm	SA
		75 cm	SA
	Sem Herbicida	25 cm	0,02 ± 0,02
		50 cm	SA
		75 cm	SA
	24 horas	25 cm	0,04 ± 0,01
		50 cm	0,06 ± 0,04
		75 cm	0,02 ± 0,003
	48 horas	25 cm	0,02 ± 0,01
		50 cm	0,02 ± 0,003
		75 cm	0,06 ± 0,02
	14 dias	25 cm	ND
		50 cm	0,02 ± 0,01
		75 cm	0,06 ± 0,02
	52 dias	25 cm	0,02 ± 0,01
		50 cm	0,06 ± 0,02
		75 cm	0,02 ± 0,01

* ND: concentração abaixo do limite de quantificação da técnica; ** SA: Sem amostra – quantidade de amostra coletada insuficiente para análise.

Já para as amostras de solo coletadas por gradagem após 100 dias do início dos experimentos não foi detectada a presença do 2,4-D em nenhuma profundidade dos dois solos pela técnica de HPLC, ao passo que, por SWV foram detectados resíduos nas três profundidades, como já mostrado na Tabela 11. Isso reforça ainda mais a hipótese de que

tenha ocorrido problema durante as medidas de 2,4-D nas amostras de solo pela técnica de HPLC.

Figura 41. Comparação entre as medidas das concentrações de 2,4-D por SWV e HPLC nas amostras de solução do solo coletadas por cápsula porosa nos solos AM1 e AM2, para todas as profundidades e tempos de amostragem.

4.4.4. Determinação eletroanalítica do metribuzin na solução do solo extraída por cápsula porosa

As Figuras 42 e 43 apresentam os voltamogramas de onda quadrada para as soluções do solo AM1 e AM2, respectivamente, nos quais foi aplicada a formulação comercial do herbicida metribuzin. Ao analisar estas figuras, pode-se observar que os voltamogramas do metribuzin obtidos apresentam perfil voltamétrico diferente dos voltamogramas obtidos com a otimização dos parâmetros de SWV e também das curvas analíticas (Figura 36). Além disso, o potencial de pico está deslocado para potenciais menos negativos, próximo de -0,57 V, diferindo assim em aproximadamente -0,11 V do potencial do pico de redução do herbicida metribuzin (-0,68 V) tanto em tampão como na solução do solo.

Figura 42. A – Voltamogramas de onda quadrada para diferentes profundidades de solo para amostra AM 1. Soluções do solo acidificadas com H_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0), $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -300 \text{ mV}$. (—) Sem herbicida; (—) Branco; (—) 24 h; (—) 48 h; (—) 72 h; (—) 7 dias; (—) 14 dias; (—) 30 dias; (—) 52 dias; (—) 60 dias; (—) 71 dias; (—) 73 dias; (—) 76 dias; e (—) 85 dias. B – Decaimento da concentração em função do tempo.

Figura 43. A – Voltamogramas de onda quadrada para diferentes profundidades de solo para amostra AM 2. Soluções do solo acidificadas com H_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0), $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -300 \text{ mV}$. (—) Sem herbicida; (—) Branco; (—) 24 h; (—) 48 h; (—) 72 h; (—) 7 dias; (—) 14 dias; (—) 30 dias; (—) 52 dias; (—) 60 dias; (—) 71 dias; (—) 73 dias; (—) 76 dias; e (—) 85 dias. B – Decaimento da concentração em função do tempo.

Pode-se observar nas Figuras 42 e 43 e a Tabela 13 que o metribuzin apresenta alta mobilidade nos solos estudados, pois em apenas 24 horas após a aplicação da formulação comercial o mesmo já atinge profundidades de 75 cm. Baseado nos resultados contidos nesta tabela pode-se concluir que há uma redução significativa da concentração de metribuzin 30 dias após o início do experimento. As altas concentrações de metribuzin detectadas nas amostras de solução do solo podem ser devido à alta solubilidade deste herbicida em água ⁷³.

O metribuzin é fracamente adsorvido no solo, portanto é facilmente lixiviável para alturas profundas dos mesmos ³³. Este herbicida possui um baixo valor de pK (1 – 1,1), isso indica que em pH abaixo de 3 o mesmo é protonado, podendo ser facilmente adsorvido pelos colóides do solo, enquanto que para valores de pH maiores que 3 este herbicida é fracamente adsorvido ⁷⁴. Desta forma, nos solos estudados pouca quantidade de metribuzin é adsorvida. O herbicida apresenta um K_{OC} médio de 60 mg L⁻¹ e meia-vida de 1 a 2 meses, dependendo da textura do solo e das condições climáticas. A degradação microbiana é a principal forma de dissipação do metribuzin nos solos e essa degradação é maior em condições aeróbicas ³⁰.

Tabela 13: Concentrações de metribuzin em amostras de solução do solo obtidas por meio da aplicação da metodologia eletroanalítica desenvolvida

Coletas	Concentrações de Metribuzin (mg L ⁻¹)					
	AM 1			AM 2		
	25 cm	50 cm	75 cm	25 cm	50 cm	75 cm
SH	ND*	ND	ND	ND	ND	ND
BR	ND	SA **	ND	SA	SA	SA
a24 h	3,57 ± 0,24	3,00 ± 0,06	2,81 ± 0,06	SA	2,42 ± 0,09	2,35 ± 0,17
48 h	2,45 ± 0,04	1,67 ± 0,11	2,34 ± 0,06	SA	2,95 ± 0,09	2,26 ± 0,12
72 h	2,34 ± 0,12	2,86 ± 0,31	2,24 ± 0,13	SA	2,75 ± 0,17	2,95 ± 0,26
7 dias	1,09 ± 0,06	1,22 ± 0,06	1,72 ± 0,17	1,78 ± 0,12	1,71 ± 0,15	1,53 ± 0,02
14 dias	1,25 ± 0,12	1,09 ± 0,05	0,95 ± 0,07	1,12 ± 0,08	1,23 ± 0,06	1,29 ± 0,14
30 dias	0,60 ± 0,06	0,63 ± 0,05	0,63 ± 0,08	0,68 ± 0,08	0,23 ± 0,06	0,40 ± 0,06
52 dias	0,20 ± 0,03	ND	0,37 ± 0,13	SA	0,18 ± 0,04	0,12 ± 0,02
60 dias	0,12 ± 0,04	0,10 ± 0,02	0,15 ± 0,09	SA	0,24 ± 0,04	0,13 ± 0,01
71 dias	0,24 ± 0,05	SA	0,11 ± 0,14	0,12 ± 0,02	0,14 ± 0,06	0,15 ± 0,06
73 dias	0,27 ± 0,06	0,21 ± 0,02	SA	SA	0,10 ± 0,03	0,13 ± 0,04
76 dias	0,14 ± 0,04	0,14 ± 0,16	SA	SA	ND	0,04 ± 0,01
85 dias	SA	SA	SA	SA	SA	ND

* ND: concentração abaixo do limite de quantificação da técnica; ** SA: Sem amostra – quantidade de amostra coletada insuficiente para análise.

4.4.5. Determinação eletroanalítica do metribuzin em amostras de solo coletadas por tradagem

Após 100 dias de aplicação do metribuzin, amostras de solo foram coletadas para determinar a quantidade remanescente do herbicida nestas amostras. Foram realizadas recuperações do método de extração do mesmo em amostras de solo, nos quais se alcançou 96,1 %. Os resultados obtidos com a extração em amostras de solo estão apresentados na Tabela 14. As concentrações do herbicida foram obtidas por meio de experimentos de recuperação (n = 3), como mostrado na Figura 44.

Apesar de ser pouco adsorvido na maioria dos solos, o metribuzin possui alta afinidade com a matéria orgânica e afinidade moderada com os minerais de argila ³⁰.

Figura 44. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostras de solo com metribuzin, 100 dias após aplicação, com eletrodo de GPU e curva de recuperação (B). $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -300 \text{ mV}$.

Analisando os resultados obtidos com solo AM2 verifica-se que o metribuzin fica mais adsorvido nas primeiras profundidades do solo, uma vez que este solo apresenta maior quantidade de matéria orgânica e também maior CTC. Segundo Fuscaldó *et al.* (1999)⁷⁴, os herbicidas pertencentes à classe das triazinonas são bases fracas os quais são protonados em solos ácidos, e deste modo adsorvidos pelas cargas negativas dos colóides do solo, diminuindo sua concentração na solução do solo.

No solo AM1 o herbicida atinge alturas mais profundas do solo, pois a percolação do mesmo é facilitada pela maior quantidade de areia e menor quantidade de argila presente neste solo. A persistência dos herbicidas no solo está relacionada ao conteúdo de matéria orgânica, pH, CTC e textura. Trabalhos realizados com metribuzin e outros herbicidas da classe das triazinas, determinaram que a matéria orgânica é o fator principal da persistência dos mesmos, e a CTC e teor de argila de menos importância. Portanto, o grau de adsorção destes pesticidas está positivamente relacionado com o conteúdo de matéria orgânica e negativamente com a persistência.

Tabela 14. Concentrações de metribuzin em amostras de solo coletadas por gradagem 100 dias após o início do experimento

Amostras		Profundidade	C (mg L ⁻¹)
AM 1	Branco	0-25 cm	ND
		25-50 cm	ND
		50-75 cm	ND
	Metribuzin	0-25 cm	0,12 ± 0,02
		25-50 cm	0,50 ± 0,10
		50-75 cm	0,44 ± 0,05
AM 2	Branco	0-25 cm	ND
		25-50 cm	ND
		50-75 cm	ND
	Metribuzin	0-25 cm	0,71 ± 0,05
		25-50 cm	0,08 ± 0,02
		50-75 cm	0,09 ± 0,01

CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES

Foram desenvolvidas metodologias eletroanalíticas para a determinação dos herbicidas 2,4-D e metribuzin em amostras de solo empregando a técnica de SWV e o eletrodo composto de GPU. Tanto o 2,4-D quanto o metribuzin apresentaram um único pico de redução com características de processo irreversível sobre o eletrodo de GPU, verificados por voltametria cíclica com a variação da velocidade de varredura e da análise do comportamento dos voltamogramas de onda quadrada com a variação da frequência dos pulsos.

Para o desenvolvimento da metodologia de análise do 2,4-D foram otimizados os seguintes parâmetros: eletrólito suporte: tampão BR, pH = 2 e os parâmetros da técnica de SWV: $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 3 \text{ mV}$ e o tempo e o potencial de acumulação: $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -400 \text{ mV}$. Curvas analíticas foram obtidas com adição do herbicida padrão ou comercial no eletrólito ou em solução do solo, sendo os resultados muito similares, ou seja, não houve inibição dos picos por efeito de matriz da amostra de solo. A sensibilidade da metodologia foi avaliada por meio dos cálculos do LD ($17,6 \mu\text{g L}^{-1}$) e o LQ ($58,6 \mu\text{g L}^{-1}$). Foram avaliadas a repetibilidade (2,5 %), a reprodutibilidade (3,9 %) e a exatidão pelo erro relativo (bias = 3,8 %).

Para o metribuzin foram otimizados os mesmos parâmetros que para o 2,4-D e as melhores respostas foram obtidas para pH = 2 (eletrólito H_2SO_4), $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$, $t_{ac} = 10 \text{ s}$ e $E_{ac} = -300 \text{ mV}$. As curvas analíticas nas mesmas condições daquelas para o 2,4-D (padrão e comercial, eletrólito e solução do solo) também não apresentaram efeito de matriz significativo na amostra de solo. O LD e LQ obtidos foram $1,67 \mu\text{g L}^{-1}$ e $5,56 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A precisão da metodologia foi avaliada pelo cálculo da repetibilidade (1,9 %) e da reprodutibilidade (3,9 %) e a exatidão pelo cálculo do erro relativo (bias = 1,9 %).

Os testes de recuperação forneceram valores de 104 % para o 2,4-D e 102 % para o metribuzin.

As metodologias desenvolvidas para os herbicidas estudados foram aplicadas na análise de amostras de solo com características distintas (arenoso e argiloso). Os resultados obtidos mostraram que o 2,4-D e o metribuzin apresentam alta mobilidade nos solos estudados e que 100 dias após a aplicação foi possível detectar a presença de resíduos dos herbicidas adsorvidos nesses solos. Os resultados da dinâmica da infiltração dos herbicidas (mediadas temporais e ao longo do perfil do solo) nos dois solos mostraram-se bastantes consistentes com as propriedades de adsorção e degradação desses solos. O método de extração da solução do solo com cápsula porosa de carvão de silício e bomba de vácuo mostrou-se bastante adequada para a coleta das amostras de forma mais indestrutível possível.

De uma forma geral, pode-se concluir que o eletrodo de GPU apresentou ótimos resultados na determinação do 2,4-D e metribuzin em amostras de solo, sendo uma alternativa viável em substituição ao eletrodo de mercúrio, que é normalmente utilizado neste tipo de análise.

CAPÍTULO 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. VAZ, C.M.P.; CRESTANA, S.; MACHADO, S.A.S.; MAZO, L.H.; MASSAROPI, M.R.C.; AVACA, L.A. Determinação de pesticidas por técnicas eletroanalíticas. **Pesticidas R. Téc. Cient.**, v. 6, p. 56-74, 1996.
2. VIEIRA, E. M.; PRADO, A. G. S.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. O. Estudo da adsorção/dessorção do ácido 2,4-diclorofenóxiacético (2,4-D) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. **Quím. Nova**, v. 22, n. 3, p. 305-308, 1999.
3. SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA AGRÍCOLA. Base de dados. Disponível em: <www.sindag.com.br>. Acesso: 28 mai. 2008.
4. SPADOTTO, C. A. Comportamento e destino ambiental de herbicidas. Comitê de meio ambiente, Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. 2002. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/herbicidas>>. Acesso: 31 jul. 2006.
5. RIBEIRO, M. L.; LOURENCETTI, C.; PEREIRA, S. Y.; MARCHI, M. R. R. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: Avaliação preliminar. **Quím. Nova**, vol. 30, n. 3, p. 688-694, 2007.
6. COLLINS, C. H. **Introdução a métodos cromatográficos**. Campinas: Ed. UNICAMP, 1990. p. 13, 158.
7. VAZ, C.M.P.; CRESTANA, S.; MACHADO, S.A.S.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A. Adsorption isotherms for atrazine on soils measured by differential pulse polarography. **Electroanalysis**, v. 9, n. 12, p. 956-958, 1997.
8. CASTANHO, G.M.; VAZ, C.M.P.; MACHADO S.A.S. Electroanalytical procedure for determination of methylparathion in soil suspensions and application for sorption studies with Brazilian soils. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14. n. 4, p. 594-600, 2003.
9. GALLI, A.; SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Quím. Nova**, v. 29, n. 1, p. 105-112, 2006.
10. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Base de Dados. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/portarias/10_85.htm>. Acesso: 10 abr. 2006.
11. SIMÕES, F. R.; MATTOSO, L. H. C.; VAZ, C. M. P. Modified carbon paste-polyaniline electrodes for the electrochemical determination of the herbicide 2,4-D. **Sens. Lett.**, v. 2, p. 221-225, 2004.
12. MALEKI, N.; SAFAVI, A.; SHAHBAAZI, H.R. Electrochemical determination of 2,4-D at a mercury electrode. **Anal. Chim. Acta**, v. 530, p. 69-74, 2005.
13. VINK, M.; VAN DER POLL, J.M. Gas chromatographic determination of acid herbicides in surface water with electrode-capture detection and mass spectrometric confirmation. **J. Chromatogr. A**, v. 733, p. 361-366, 1996.

-
14. DING, W.-H.; LIU, C.-H.; YEH, S.-P. Analysis of chlorophenoxy acid herbicides in water by large-volume on-line derivatization and gas chromatography-mass spectrometry. **J. Chromatogr. A**, v. 896, p. 111-116, 2000.
15. AMARANTE Jr., O. P.; BRITO, N. M.; SANTOS, T. C. R.; NUNES, G.S.; RIBEIRO, M. L. Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its major transformation product in soil samples by liquid chromatographic analysis. **Talanta**, v. 60, p. 115-121, 2003.
16. HOGENDOORN, E. A.; HULS, R.; DIJKMAN, E.; HOOGERBRUGGE, R. Microwave assisted solvent extraction and coupled-column reversed-phase liquid chromatography with UV detection. Use of an analytical restricted-access-medium column for the efficient multi-residue analysis of acidic pesticides in soils. **J. Chromatogr. A**, v. 938, p. 23-33, 2001.
17. ROSALES-CONRADO, N.; LÉON-GONZÁLES, M. E.; PÉREZ-ARRIBAS, L. V., POLO-DÍEZ, L. M. Determination of chlorophenoxy acid herbicides and their esters in soil by capillary high performance liquid chromatography with ultraviolet detection, using large volume injection and temperature gradient. **Anal. Chim. Acta**, v. 470, p. 147-154, 2002.
18. VEGA, A. B.; FRENICH, A. G.; VIDAL, J. L. M. Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 538, p. 117-127, 2005.
19. CHAIYASITH, S.; TANGKUARAM, T.; CHAIYASITH, P. Electrocatalytic of chlorophenoxy-carboxylic acids at a protoporphyrin IX cobalt(III) chloride modified glassy carbon electrode. **J. Electroanal. Chem.**, v. 581, p. 104-110, 2005.
20. DZANTIEV, B.B.; ZHERDEV, A.V.; YULAEV, M.F.; SITDIKOV, R.A.; DMITRIEVA, N.M.; MOREVA, I.Yu. Electrochemical immunosensors for determination of the pesticides 2,4-dichlorophenoxyacetic and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acids. **Biosens. & Bioelectron.**, v. 11, p. 179-185, 1996.
21. MEDYANTSEVA, E.P.; VERTLIB, M.G.; KUTYREVA, M.P.; KHALDEEVA, E.I.; BUDNIKOV, G.K.; EREMIN, S.A. The specific immunochemical detection of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid pesticides by amperometric cholinesterase biosensors. **Anal. Chim. Acta**, v. 347, p. 71-78, 1997.
22. KALÁB, T.; SKLÁDAL, P. A disposable amperometric immunosensor for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **Anal. Chim. Acta**, v. 304, p. 361-368, 1995.
23. DENG, A.-P.; HUANG, H.-J. Application of a multichannel electrochemical detector coupled with an ELISA microtiter plate for immunoassay of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **Talanta**, 2005. In press.
24. DEQUAIRE, M.; DEGRAND, C.; LIMOGES, B. An immunomagnetic electrochemical sensor based on a perfluorosulfonate-coated screen-printed electrode for determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **Anal. Chem.**, v. 71, p. 2571-2577, 1999.
25. MAZZEI, F.; BOTRÈ, F.; MONTILLA, S.; PILLOTON, R.; PODESTÀ, E.; BOTRÈ, C. Alkaline phosphatase inhibition based electrochemical sensors for the detection of pesticides. **J. Electroanal. Chem.**, v. 574, p. 95-100, 2004.

-
26. WEETALL, H. H.; HATCHETT, D. W.; ROGERS, K. R. Electrochemically deposited polymer-coated gold electrodes selective for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **Electroanalysis**, v. 17, n. 19, p. 1789-1794, 2005.
27. SIMÕES, F. R.; MATTOSO, L. H. C.; VAZ, C. M. P. Conducting polymers as sensor materials for the electrochemical detection of pesticides. **Sens. Lett.**, v. 4, p. 319-324, 2006.
28. WANG, Z.; KANG, J.; LIU, X. MA, Y. Voltammetric response of 2,4-D-molecularly imprinted film modified glassy carbon electrodes. **Indian J. Chem.**, v. 45A, p. 1848-1851, 2006.
29. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Base de Dados. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/portarias/10_85.htm. Acesso: 10 abr. 2006.
30. RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 5 ed. Londrina: Grafmarke Editora Gráfica, 2005. p. 373-377.
31. LUDVIK, J.; RIEDL, F.; LISKA, F.; ZUMAN, P. Electrochemical reduction of metribuzin. **Electroanalysis**, v. 10, n. 13, p. 869-876, 1998.
32. OLNESS, A.; BASTA, N. T.; RINKE, J. Redox effects on resin extraction of herbicides from soil. **Talanta**, v. 57, p. 383-391, 2002.
33. MAJUMDAR, K.; SINGH, N. Effect of soil amendments on sorption and mobility of metribuzin in solis. **Chemosphere**, v. 66, p. 630-637, 2007.
34. SELIM, H. M.; ZHOU, L.; ZHU, H. Herbicide retention in soil as affected by sugarcane mulch residue. **J. Environ. Qual.**, v. 32, p. 1445-1454, 2003.
35. PAPADAKIS, E. M.; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Determination of metribuzin and major conversion products in soils by microwave-assisted water extraction followed by liquid chromatographic analysis of extracts. **J. Chromatogr. A**, v. 962, p. 9-20, 2002.
36. WELLS, M. J. M.; RIEMER, D. D. WELLS-KNECHT, Development and optimization of a solid-phase extraction scheme for determination of pesticides metribuzin, atrazine, metolachlor and esfenvalerate in agricultural runoff water. **J. Chromatogr. A**, v. 659, p. 337-348, 1994.
37. HENRIKSEN, T.; SVENSMARK, B.; JUHLER, R. K. Analysis of metribuzin and transformation products in soil by pressurized liquid extraction and chromatographic-tandem mass spectrometry. **J. Chromatogr. A**, v. 957, p. 79-87, 2002.
38. HUERTAS-PÉREZ, J. F.; IRUELA, M. O.; GARCÍA-CAMPANÃ, A. M.; GONZÁLEZ-CASADO, A.; SÁNCHEZ-NAVARRO, A. Determination of the herbicide metribuzin and its major conversion products in soil by micellar electrokinetic chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 1102, p. 280-286, 2006.

39. ERENCHUN, N. R.; GOICOLEA, M. A.; BALUGERA, Z. G.; PORTELA, M. J.; BARRIO, R. J. Determination of herbicides by reductive amperometric detection in liquid chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 763, p. 227-235, 1997.
40. SKOPALOVÁ, J.; LEMR, K.; KOTOUCEK, M.; CÁP, L.; BARTÁK, P. Electrochemical behavior and voltammetric determination of the metribuzin at mercury electrodes. **Anal. Chem.**, v. 370, p. 963-969, 2001.
41. SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Princípios de análise instrumental**. 5 ed. Porto Alegre: Editora Brookman, 2002. p. 566-593.
42. WANG, J. **Analytical electrochemistry**. New York: VCH publishers, 1994. p. 1, 161-173.
43. BRETT, A.; M.O.; BRETT, C.M.A. **Eletroquímica: princípios, métodos e aplicações**. Coimbra: Oxford University Press, 1993. p. 241.
44. RAMALEY, L.; KRAUSE, M.S. Theory of square wave voltammetry. **Anal. Chem.**, v. 41, n. 11, p. 1362-1369, 1969.
45. NUWER, M.J.; O'DEA, J.J.; OSTERYOUNG, J. Analytical and kinetic investigations of totally irreversible electron transfer reactions by square wave voltammetry. **Anal. Chim. Acta**, v. 251, p. 13-25, 1991.
46. SOUZA, D.; MACHADO, S.A.S.; AVACA, L.A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Quím. Nova**, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.
47. SILVA, M. R. C. **Utilização de metodologia eletroanalítica para estudos de adsorção de pesticidas triazínicos em amostras de sedimentos do rio Mogi-Guaçu – SP**. 2006. 135f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
48. O'DEA, J.J.; RIBES, A. OSTERYOUNG, J.G. Square wave voltammetry applied to the totally irreversible reduction of adsorbate. **J. Electroanal. Chem.**, v. 345, p. 3287-301, 1993.
49. MENDES, R.K. **Desenvolvimento e aplicação de eletrodos compósitos à base de poliuretana e grafite**. 2002. 92f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.
50. TOLEDO, R.A. **Estudo eletroquímico e desenvolvimento de novas metodologias eletroanalíticas para determinação de antidepressivos tricíclicos e neurotransmissores**. 2006. 146f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
51. MOSES, P.R.; WIER, P.; MURRAY, R.W. Chemically modified tin oxide electrode. **Anal. Chem.**, v. 47, n. 12, p. 1882-1886, 1975.
52. PEREIRA, C.A.; SANTOS, S.A.; KUBOTA, L.T. Tendências em modificações de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Quím. Nova**, v. 25, n. 6A, p. 1012-1021, 2002.

-
53. TALMANN, D.E.; PETERSEN, S.L. Composite electrode for electroanalysis: principles and applicatios. **Electroanalysis**, v. 2, p. 499, 1990.
54. MENDES, R. K.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. The use of a graphite-castor oil polyurethane composite electrode for the determination of hydroquinone in photographic developers. **Talanta**, v. 68, p. 708-712, 2006.
55. MENDES, R. K.; CLARO-NETO, S.; CAVALHEIRO, E. T. H. Evaluation of a new rigid carbon-castor oil polyurethane composite as na electrode material. **Talanta**, v. 57, p. 909-917, 2002.
56. TOLEDO, R.A.; SANTOS, M.C.; CAVALHEIRO, E.T.G. Determination of dopamine in synthetic cerebrospinal fluid by SWV with a graphitepolyuretane composite electrode. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 381, p. 1161-1166, 2005.
57. TOLEDO, R.A.; SANTOS, M.C.; SILVA, A.B.F.; HONÓRIO, K.M.; CAVALHEIRO, E.T.G.; MAZO, L.H. Use os graphite polyuretane composite electrode for imipramine oxidation – mechanism proposal and electroanalytical determination. **Anal. Lett.**, v. 39, p. 507-520, 2006.
58. CERVINI, P; RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determination of atenolol at a graphite-polyuretane composite electrode. **Talanta**, v. 72, p. 206-209, 2007.
59. MALAGUTTI, A. R.; ZUIN, V. G.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L. H. Determination of rutin in green tea infusions using square wave voltammetry with a rigid carbon-polyurethane composite electrode. **Electroanalysis**, v. 18, n. 10, p. 1028-1034, 2006.
60. TOLEDO, R. A.; VAZ, C. M. P. Use of a graphite-polyurethane composite electrode for electroanalytical determination of indole-3-acetic acid in soil samples. **Microchem. J.**, v. 86, p. 161-165, 2007.
61. CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G. **Desenvolvimento de métodos por HPLC: fundamentos, estratégias e validação**. São Carlos: EdUFSCar, 2001. 77p. (Série Apontamentos).
62. 2,4-D PESTANAL[®] Registrante/Formulador Riedel-de Haën. Seelze: [Honeywell Specialty Chemicals Seelze GmbH, Analytical Department], 2003. Certificate of analysis/Inspection Certificate. Bula de defensivo agrícola.
63. FARIA, L. J. S. **Avaliação de diferentes sorventes na extração em fase sólida de pesticida em água**. 2004. 79f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2004.
64. GOSSER JUNIOR, D. K. **Cyclic voltammetry**: simulation and analysis of reaction mechanisms. New York: VCH, 1993. p. 98-99.
65. OLIVEIRA, R. T. S.; MACHADO, S. A. S. Quantificação do pesticida diclorvos por voltametria de onda quadrada em águas puras e naturais. **Quím. Nova**, v. 27, n. 6, p. 911-915, 2004.

-
66. EL MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; CHTAINI, A. Electrochemical studies and square wave voltammetry of paraquat at phosphate modified carbon paste electrode. **J. Haz. Mat.**, v. 145, p. 1-7, 2007.
67. PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L. AVACA, L. A. Determinação voltamétrica de 4-clorofenol sobre o eletrodo de diamante dopado com boro utilizando a voltametria de onda quadrada. **Quím. Nova**, v. 26, n. 6, p. 844-849, 2003.
68. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03.htm. Acesso: 15 abr. 2008.
69. OLIVEIRA Jr., R. S.; KOSKINEN, W. C.; FERREIRA, F. A. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. **Weed Res.**, v. 41, p. 97-110, 2001.
70. WEED, S. B.; WEBER, J. B. Pesticide-organic matter interaction. In: GUENZI, W. D., ed. **Pesticides in soil and water**. Madison: Soil Science Society of America, 1990, p. 39-66.
71. HOKE, S. H.; BRUEGGEMANN, E. E.; BAXTER, L. J.; TRYBUS, T. Determination of phenoxy acid herbicides using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 357, p. 429-432, 1986.
72. AMARANTE JUNIOR, O. P.; BRITO, N. M.; SANDOS, T. C. R.; NUNES, G. S.; RIBEIRO, M. L. Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its major transformation product in soil samples by liquid chromatographic analysis. **Talanta**, v. 60, p. 115-121, 2003.
73. SELIM, H. M. Retention and runoff losses of atrazine and metribuzin in soil. **J. Environ. Qual.**, v. 32, p. 1058-1071, 2003.
74. FUSCALDO, F.; BEDMAR, F.; MONTERUBBIANESI, G. Persistence of atrazine, metribuzin and simazine herbicides in two soils. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 34, n. 11, p. 2037-2044, 1999.