RAQUEL BONATTO DO AMARAL

**Investigação do comportamento eletroquímico do inseticida fipronil
e desenvolvimento de metodologia eletroanalítica**

Tese apresentada ao Instituto de Química
de São Carlos, da Universidade de São
Paulo, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Química Analítica e
Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Mazo

São Carlos
2012

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Exemplar revisado

O exemplar original encontra-se em
acervo reservado na Biblioteca do IQSC-USP

*Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao
Usuário do SBI/IQSC*

Amaral, Raquel Bonatto do
Investigação do comportamento eletroquímico do inseticida fipronil e
desenvolvimento de metodologia eletroanalítica. / Raquel Bonatto do Amaral.
-- São Carlos, 2012.
123 p.

Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos / Universidade de
São Paulo, 2012.
Edição revisada

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Mazo

1. Fipronil. 2. Voltametria de onda quadrada. 3. Nanotubos de
carbono. I. Título.

*Referências Bibliográficas
conferidas pelo SBI/IQSC*

Dedico este trabalho,

*À minha maior produção, minha filha **Alice**, que tão pequena soube ser paciente e compreensiva na minha ausência, sempre com suas palavrinhas ou desenhos de incentivos fundamentais para me fortalecer. Filha, você quem deu sentido a essa longa caminhada.*

*Aos meus pais, **Antonio Jorge e Celia**, pelo amor infinito e exemplo de vida, pelo apoio em todos os momentos, da realização à concretização dos meus sonhos. Obrigada por seus ensinamentos e pela educação que me proporcionaram.*

*Aos meus queridos irmãos, **Rafael e Renata**, pelo carinho e paciência. Amo vocês!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me iluminado nos momentos mais difíceis e por ter me privilegiado por compartilhar da experiência profissional e de vida de tantas pessoas especiais ao longo desta pesquisa.

Ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, pelo apoio institucional e infraestrutura necessária para realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Mazo pela orientação, confiança e aprendizado.

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado, pelo conhecimento a cerca dos métodos eletroanalíticos.

Aos técnicos João Tiengo e Marcelo Calegari por toda a ajuda e dedicação.

À querida amiga Cláudia, pelo companheirismo, apoio e ajuda no final deste trabalho. Valeu minha amiga!

A todos os amigos que contribuíram direta e indiretamente para esta pesquisa me proporcionando muita alegria, seja em São Carlos ou em Jaú, em especial às amigas: Milena, Andressa, Alexandra, Juliana, Tatiana, Adriana e Andrea.

A todos os amigos e colegas que fiz no Grupo de Materiais Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos (GMEME) pelas horas de conversa e descontração.

A Sílvia e Andréia da secretaria da pós-graduação pelo bom atendimento.

Às funcionárias da biblioteca pela pronta ajuda sempre que necessário.

RESUMO

Essa tese de doutorado apresenta o estudo eletroquímico da oxidação do inseticida fipronil bem como o desenvolvimento de metodologias analíticas para a determinação deste composto em amostras de águas naturais. Os experimentos foram realizados sobre os eletrodos de compósito grafite-poliuretana (GPU) e carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (GC-MWCNTs) utilizando a Voltametria de Onda Quadrada (SWV). A Voltametria Cíclica (CV) foi utilizada para diagnosticar o grau de reversibilidade da reação de oxidação do inseticida assim como a natureza do transporte do material eletroativo para a superfície dos eletrodos. Os resultados dos estudos da oxidação eletroquímica do fipronil utilizando o eletrodo de GPU mostraram que a oxidação do fipronil apresenta um em 0,70 V (vs. $E_{Ag/AgCl}$) e ocorre de forma totalmente irreversível e controlada por adsorção das espécies na superfície do eletrodo. Foram obtidas curvas analíticas para o fipronil no intervalo de 2,0 a 14,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹, resultando um limite de detecção (LD) de 139 µg L⁻¹ e Limite de Quantificação (LQ) de 480 µg L⁻¹. Para a oxidação do fipronil no eletrodo GC-MWCNTs os resultados mostraram que a oxidação do fipronil apresenta apenas um pico em 0,50 V (vs. $E_{Ag/AgCl}$) e ocorre de forma totalmente irreversível e controlado por difusão a adsorção das espécies na superfície do eletrodo. Os LD e LQ obtidos foram de 26 µg L⁻¹ e 147 µg L⁻¹, respectivamente. O estudo por eletrólise a potencial controlado revelou que a oxidação do inseticida fipronil envolve a participação de um elétron. A metodologia desenvolvida para ambos os eletrodos foi aplicada em amostras de águas naturais, testes de recuperação foram realizados mostrando eficiência de recuperação 96,0% para o eletrodo de GPU e de 94,6% para o eletrodo de GC-MWCNTs.

ABSTRACT

In this thesis a study of the electrochemical oxidation of the insecticide fipronil and the development of analytical methodologies for the determination of this compound in natural water samples is presented. The experiments were performed at graphite-polyurethane composite electrodes (GPU) and a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs-GC). The electrodes were characterized using square wave voltammetry (SWV). Cyclic voltammetry (CV) was used to diagnose the degree of reversibility of the oxidation reaction of the insecticide as well as the nature of the transport of the electroactive material to the surface of the electrodes. The electrochemical oxidation of fipronil studies using the GPU electrode showed that fipronil oxidation presents a peak at 0.70 V (vs. $E_{Ag/AgCl}$) which is totally irreversible and controlled by adsorption of species on the electrode surface. Analytical curves were obtained for fipronil in the range 2.0 to $14 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, with a detection limit (LD) of $139 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ and a quantification limit (LQ) of $480 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. For the oxidation of fipronil in the GC-MWCNTs electrode the results showed that fipronil oxidation presents a peak at 0.50 V (vs. $E_{Ag/AgCl}$) which is totally irreversible and diffusion controlled the adsorption of species on the electrode surface. The LD and LQ were obtained $26 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ and $147 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The study by controlled potential electrolysis showed that oxidation of the insecticide fipronil involves the participation of one electron. The methodology developed for both electrodes was applied to natural water samples, recovery tests were performed showing recovery efficiency of 96.0% for the GPU electrode and 94.6% for MWCNTs-GC electrode.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula estrutural do Fipronil.	24
Figura 2: Caminhos de degradação do fipronil por: a) hidrólise, b) redução, c) oxidação e d) fotólise.	27
Figura 3: Forma de aplicação de pulso de potencial em voltametria de onda quadrada.	43
Figura 4: Representação esquemática das estruturas (a) SWCNT e (b) MWCNT....	49
Figura 5: Célula eletroquímica utilizada nos experimentos onde: A) eletrodo auxiliar, B) eletrodo de trabalho e C) eletrodo de referência.	53
Figura 6: Célula eletroquímica utilizada na eletrólise onde: A) eletrodo auxiliar, B) eletrodo de trabalho e C) eletrodo de referência.	54
Figura 7: Espectros de absorção na região do UV–vis de uma solução de fipronil $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (10% etanol); cubeta de 1,0 cm de caminho óptico.	64
Figura 8: Representação do sinal de absorbância na região do UV–vis vs. o tempo para uma solução de fipronil $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (10% etanol).	65
Figura 9: Voltamogramas cíclicos do eletrodo GPU (—) em eletrólito e (—) em solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrólito: solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}	66
Figura 10: Voltamogramas cíclicos de uma solução de fipronil $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v).	

Velocidades de varredura: (—) 25, (—) 50, (—) 75, (—) 100, (—) 150, (—) 200, (—) 250 e (—) 300 mV s^{-1} . Eletrodo de trabalho: GPU.	67
Figura 11: Dependência da corrente de pico vs. velocidade de varredura para o fipronil sobre o eletrodo de GPU ($r = 0,995$).	69
Figura 12: Dependência do logaritmo da intensidade de corrente de pico vs. o logaritmo da velocidade de varredura para o fipronil sobre o eletrodo de GPU ($r = 0,991$ e $b = 0,62$).	69
Figura 13: Voltamogramas cíclicos para uma solução de fipronil $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Valores de pH: (—) 4,0, (—) 5,0, (—) 6,0, (—) 7,0, (—) 8,0, (—) 9,0 e (—) 11,0. Eletrodo de trabalho: GPU. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$	70
Figura 14: Gráficos de (—) corrente de pico e (—) potencial de pico em função do pH obtidos da Tabela 6.	72
Figura 15: Voltamogramas cíclicos para a oxidação do fipronil sobre GPU ($8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em 20% etanol, $\text{pH} = 12,0$), nos seguintes eletrólitos suporte: (—) tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (—) tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e (—) $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$	73
Figura 16: Voltamograma de onda quadrada de uma solução de $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de fipronil, mostrando as componentes de corrente (—) resultante, (—) direta e (—) reversa. Eletrodo de trabalho: GPU, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	74
Figura 17: Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Frequências: (—) 10, (—) 20, (—) 40, (—) 60, (—) 80, (—) 100 s^{-1} . Eletrodo de trabalho: GPU. $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	76

Figura 18: Variação da corrente de pico (I_p) em função da frequência da onda quadrada (f) para a solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH-EtOH, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. ($r = 0,998$).	77
Figura 19: Variação da corrente de pico (I_p) em função da raiz quadrada da frequência ($f^{1/2}$) para a solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH-EtOH, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	78
Figura 20: Variação do potencial de pico (E_p) em função do logaritmo da frequência ($\log f$) para a solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH-EtOH, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. ($r = 0,997$ e $b = 55,6 \text{ mV}$).	79
Figura 21: Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Amplitudes: (—) 10, (—) 20, (—) 30, (—) 40 e (—) 50 mV. Eletrodo de trabalho: GPU. $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	80
Figura 22: Variação linear da corrente de pico de oxidação do fipronil em função da amplitude de pulso.	80
Figura 23: Voltamogramas de SWV de uma solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Incremento de varredura: (—) 2, (—) 4, (—) 6, (—) 8 e (—) 10 mV. Eletrodo de trabalho: GPU. $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$	81
Figura 24: Voltamogramas de onda quadrada variando-se a concentração de fipronil adicionada. Concentrações: (—) 0, (—) 2,0, (—) 4,0, (—) 6,0, (—) 8,0, (—) 10,0, (—) 12,0 e (—) $14,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de trabalho: GPU. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 100 \text{ s}^{-1}$	83
Figura 25: Dependência da corrente de pico com a concentração para o fipronil, sobre eletrodo de GPU ($r = 0,998$).	84

Figura 26: (A) Voltamograma de onda quadrada de uma amostra de água de córrego fortificada com fipronil em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. Amostra de água contaminada artificialmente (—),adições de fipronil nas concentrações de: (—) 10, (—) 20, (—) 30 e (—) $40 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Curvas de recuperação aparente ($r = 0,998$).87

Figura 27: Imagem de microscopia eletrônica de varredura – FEG do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas....88

Figura 28: Voltamogramas de onda quadrada para uma solução de fipronil de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20%. Eletrodos: (—) GC-MWCNTs e (—) GC. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$89

Figura 29: Voltamogramas cíclicos do eletrodo GC-MWCNTs (—) em eletrólito e (—) em solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrólito: solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1}90

Figura 30: Voltamogramas cíclicos de uma solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Velocidades de varredura: (—)10, (—)20, (—)30, (—)50, (—)75, (—)100, (—)150, (—)200 e (—)250 mV s^{-1} . Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs.....91

Figura 31: Dependência da corrente de pico vs. a velocidade de varredura para o fipronil sobre o eletrodo de GC-MWCNTs.....92

Figura 32: Dependência do logaritmo da intensidade de corrente de pico vs. o logaritmo da velocidade de varredura para o fipronil sobre o eletrodo de GC-MWCNTs. ($b = 0,77$ e $r = 0,994$).93

Figura 33: Voltamograma de onda quadrada de uma solução de $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de fipronil, mostrando as componentes de corrente (—) resultante, (—) direta e (—) reversa. Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

.....94

Figura 34: Voltamogramas de onda quadrada para uma solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Valores de pH: (—) 6,0, (—) 7,0, (—) 8,0, (—) 9,0 e (—) 10,0. Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$95

Figura 35: Gráficos de (—) corrente de pico e (—) potencial de pico em função do pH obtidos da Tabela 12.....96

Figura 36: Voltamogramas de SWV de uma solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Frequências: (—) 20, (—) 40, (—) 60, (—) 80 e (—) 100 s^{-1} . Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs. $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$98

Figura 37: Variação da corrente de pico (I_p) em função da frequência da onda quadrada (f) para a solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH-EtOH sobre GC-MWCNTs. $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. ($r = 0,997$).99

Figura 38: Variação da corrente de pico (I_p) em função da raiz quadrada da frequência ($f^{1/2}$) para a solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH-EtOH sobre GC-MWCNTs. $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$100

Figura 39: Dependência do potencial de pico com o logaritmo da frequência da onda quadrada sobre GC-MWCNTs. ($r = 0,999$, $b = 40,0 \text{ mV}$).101

Figura 40: Voltamogramas de SWV de uma solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v).

Amplitudes: (—) 25, (—) 50, (—) 75 e (—) 100 mV. Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs. $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 102

Figura 41: Voltamogramas de SWV de uma solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v).

Incremento de varredura: (—) 2, (—) 4, (—) 6, (—) 8 e (—) 10 mV. Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs. $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$ 103

Figura 42: Resposta da SWV sobre eletrodo GC-MWCNTs para diferentes

concentrações de fipronil: (—) 0, (—) 1,0, (—) 2,0, (—) 2,7, (—) 3,4, (—) 4,1, (—) 4,8, (—) 5,5, (—) 6,2, (—) 6,9, (—) $7,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$. 104

Figura 43: Curva analítica por SWV, utilizando-se o eletrodo GC-MWCNTs com

variação da concentração do fipronil no intervalo de $1,0$ a $7,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$... 106

Figura 44: Curva analítica variando a concentração de fipronil no intervalo de $2,0$ a

$10,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando os eletrodos de GPU (■) e GC-MWCNTs (●). ... 107

Figura 45: Cronoamperograma de uma solução de fipronil $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,2 \text{ V}$,

em solução BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em 10% de etanol, $\text{pH} = 8,0$. Eletrodo de trabalho:

carbono poroso. 109

Figura 46: Voltamogramas obtidos para a eletrólise do fipronil (BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em

10% etanol, $\text{pH} = 8,0$, $E = 1,2 \text{ V}$) sobre GC-MWCNTs nos tempos: (—) 0 e (—)

120 minutos..... 109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Propriedades físico-químicas do fipronil.....	25
Tabela 2- Limite máximo de resíduo (LMR) de fipronil em alimentos.....	37
Tabela 3- Características dos sistemas eletroquímicos quanto ao grau de reversibilidade ao relacionar I_p e E_p com a frequência.	45
Tabela 4- Procedência e pureza dos reagentes utilizados nos experimentos.....	55
Tabela 5- Valores de corrente de pico (I_p) e dos potenciais de pico (E_p) para a oxidação do fipronil.	68
Tabela 6- Valores de corrente (I_p) e potencial de pico (E_p) para a oxidação do fipronil em função do pH do meio.	71
Tabela 7- Variação do potencial de pico (E_p) e corrente de pico (I_p) com a frequência (f) para o pico de oxidação da solução de fipronil, referente à Figura 17.....	76
Tabela 8- Parâmetros da voltametria de onda avaliados, intervalos de estudo e valores escolhidos.....	82
Tabela 9- Valores da concentração de fipronil adicionada e a média das correntes de pico referentes à curva analítica.	83
Tabela 10- Resultados das curvas de recuperação para o fipronil, obtidos em amostras de águas naturais. Média dos experimentos realizados em triplicata.	87
Tabela 11- Valores da corrente de pico (I_p) e dos potenciais de pico (E_p) para a oxidação do fipronil.	92
Tabela 12- Valores de corrente de pico (I_p) e dos potenciais de pico (E_p) para a oxidação do fipronil.	96

Tabela 13- Variação do potencial de pico (E_p) e corrente de pico (I_p) com a frequência (f) para o pico de oxidação da solução de fipronil, referente à Figura 38.	98
Tabela 14- Parâmetros da voltametria de onda avaliados, intervalos de estudo e valores escolhidos.....	103
Tabela 15- Valores da concentração de fipronil adicionada e a média das correntes de pico referentes à curva analítica.	105
Tabela 16- Valores de intervalo linear, coeficiente de correlação e limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) obtidos para a fipronil utilizando os eletrodos de GPU e GC-MWCNTs.	108

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

a = amplitude do pulso

ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BR = tampão Britton-Robinson

CONAMA = Conselho Nacional do Meio Ambiente

CV = voltametria cíclica (*Cyclic Voltammetry*)

DDT = dicloro-difenil-tricloroetano

DMF = dimetilformamida

E_p = potencial de pico

$E_{p/2}$ = potencial de pico a meia altura

F = constante de Faraday ($9,648 \times 10^4 \text{ C mol}^{-1}$)

f = frequência

GABA = Ácido Gama Amino Butírico

GC = carbono vítreo (*Glassy Carbon*)

GC-MWCNTs = carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas

GPU = compósito grafite-poliuretana

HMDE = eletrodo de gota pendente de mercúrio (Hanging Mercury Drop Electrode)

I_p = corrente de pico

I_r = corrente reversa

I_d = corrente direta

K_{ow} = coeficiente de partição octanol-água

K_{oc} = coeficiente de adsorção ao carbono orgânico do solo

K_H = Lei de Henry

LD = limite de detecção

LQ = limite de quantificação

LMR = limite máximo de resíduo

MWCNT = Nanotubo de Carbono de Paredes Múltiplas (*Multi-Walled Carbon Nanotube*)

n = número de elétrons

NTC = nanotubos de carbono

PA = pureza analítica

PARA = Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos

P_v = pressão de vapor

pK_a = constante de ionização ácida

pK_b = constante de ionização básica

R. S. D. = desvio padrão relativo

SINDAG = Sindicato da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola

SNC = Sistema Nervoso Central

SWCNT = Nanotubo de Carbono de Parede Única (*Single-Walled Carbon Nanotube*)

SWV = voltametria de onda quadrada (*Square Wave Voltammetry*)

ΔE_p = diferença de potencial

ΔE_s = incremento de varredura

ΔI = corrente resultante

α = coeficiente de transferência de carga

v = velocidade de varredura

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 Considerações Gerais.....	20
1.2 Fipronil	23
1.2.1 Características físico-químicas.....	24
1.2.2 Modo de ação	26
1.2.3 Destino ambiental do fipronil	26
1.2.3.1- Comportamento do fipronil no meio ambiente	28
1.2.4 Toxicidade do fipronil	33
1.2.5 Uso veterinário	35
1.2.6 Valores de limites máximos de resíduos (LMR)	36
1.2.7 Determinação analítica do fipronil	37
1.3 Técnicas eletroanalíticas.....	41
1.3.1 Voltametria de Onda Quadrada (SWV)	42
1.4 Eletrodo de compósito de grafite-poliuretana (GPU).....	45
1.5 Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (GC-MWCNTs)	48
2 OBJETIVO	52
3 PARTE EXPERIMENTAL	53
3.1 Materiais e métodos.....	53

3.1.2 Células eletroquímicas	53
3.2 Reagentes e Soluções	54
3.2.1- Reagentes.....	54
3.2.2 Soluções	55
3.2.2.1 Solução estoque do inseticida fipronil.....	55
3.2.2.2 Eletrólito suporte.....	56
3.2.2.3 Amostras de águas naturais	56
3.2.2.4 Solução para limpeza do eletrodo de carbono vítreo.....	56
3.3 Eletrodos	56
3.3.1 Eletrodos de trabalho	56
3.3.1.1 Eletrodo de compósito de grafite-poliuretana (GPU)	57
3.3.1.2 Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (GC- MWCNTs)	57
3.3.2 Eletrodo de referência	58
3.3.3 Eletrodo auxiliar.....	59
3.3.4- Eletrodo para experimento de eletrólise a potencial controlado.....	59
3.4 Metodologias de trabalho	59
3.4.1 Espectrofotometria na região do ultravioleta	59
3.4.2 Voltametria cíclica	60
3.4.3 Voltametria de onda quadrada	60
3.4.4 Aplicação da metodologia para a determinação do inseticida fipronil em águas naturais.....	61

3.4.5 Eletrólise a potencial controlado	61
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4.1 Medidas espectrofotométricas do fipronil	63
4.1.1 Medidas espectrofotométricas para o fipronil utilizando NaOH	63
4.2 Estudo do comportamento voltamétrico do inseticida fipronil sobre o eletrodo de compósito 60 % grafite-poliuretana (GPU).....	65
4.2.1 Voltametria Cíclica (CV)	66
4.2.1.1 Perfil voltamétrico do fipronil.....	66
4.2.1.2 Estudo do efeito da Velocidade de Varredura	67
4.2.1.3 Efeito do pH no comportamento do fipronil.....	70
4.2.2 Voltametria de Onda Quadrada (SWV)	73
4.2.2.1 Separação das componentes das correntes	73
4.2.2.2 Variação da frequência de aplicação de pulsos de potencial (f)	75
4.2.2.3 Variação da amplitude de pulso (a)	79
4.2.2.4 Variação do incremento de varredura (ΔE_s)	81
4.2.3 Construção da curva analítica	82
4.2.3.1 Cálculos dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)	84
4.2.4 Determinação do fipronil em águas naturais	86
4.3 Eletrodo GC-MWCNTs.....	88
4.3.1 Efeito eletrocatalítico do eletrodo de GC-MWCNTs	88
4.3.2 Voltametria Cíclica (CV)	89

4.3.2.1 Perfil Voltamétrico do fipronil	89
4.3.1.2 Variação da velocidade de varredura	90
4.3.2 Voltametria de Onda Quadrada	94
4.3.2.1 Efeito do pH no comportamento do fipronil.....	94
4.3.2.2 Efeito da variação da frequência	97
4.3.2.3 Efeito da variação da amplitude de pulso (a).....	101
4.3.2.4 Efeito da variação do incremento de varredura (ΔE_s).....	102
4.3.3 Construção da curva analítica	104
4.3.3.1 Cálculos dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)	106
4.3.4 Determinação do fipronil em águas naturais	106
4.4 Comparação entre os eletrodos GPU e GC-MWCNTs	107
4.5 Eletrólise a potencial controlado	108
5 CONCLUSÕES	111
REFERÊNCIAS.....	113

1 INTRODUÇÃO

Neste capítulo são apresentados os empregos de pesticidas no combate de pragas e insetos na agricultura, as características físico-químicas e toxicológicas do inseticida fipronil, como também os aspectos históricos e alguns trabalhos publicados na determinação analítica deste pesticida, demonstrando a importância no desenvolvimento de novas metodologias precisas e sensíveis para a análise de pesticidas em diferentes meios.

Também são demonstrados um breve levantamento bibliográfico das características, construção e aplicação dos eletrodos de compósito grafite-poliuretana (GPU) e carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (GC-MWCNTs) em eletroanalítica, mostrando a importância deste trabalho.

1.1 Considerações Gerais

Os pesticidas, também conhecidos por nomes como agrotóxicos e defensivos agrícolas, são todas substâncias ou misturas de substâncias que tem como objetivo prevenir, destruir ou combater qualquer tipo de praga presente em cultivo agrícola. Os pesticidas são amplamente utilizados na agricultura, com a finalidade de aumentar a produtividade agrícola e auxiliar no controle de vetores de várias doenças. Porém, seu uso excessivo e desordenado vem provocando diversos danos para o meio ambiente, como a contaminação das águas, solos e alimentos, e consequentemente trazendo intoxicações e doenças ao homem e animais [1].

Os pesticidas são utilizados com diferentes funções, sendo algumas delas inseticidas, herbicidas, fungicidas, acaricidas, bactericidas, dentre outras. Algumas

classes químicas compreendem compostos organoclorados, carbamatos, piretroides, triazinas, organofosforados, dentre outras. As principais funções destes pesticidas na agricultura são de obter grandes produções com altas produtividades e boa qualidade dos produtos, com redução do trabalho e gastos de energia.

As primeiras substâncias utilizadas como pesticidas foram substâncias tóxicas de origem natural, tais como nicotina, piretro, além de substâncias inorgânicas como o mercúrio e enxofre. O uso de pesticidas mais modernos teve seu início por volta de 1940, quando Paul Müller descobriu o inseticida dicloro-difenil-tricloroetano (DDT). O DDT era muito eficaz, transformando-se rapidamente no pesticida mais utilizado no mundo. Entretanto, na década de 1960, descobriu-se que o DDT provocava danos à saúde de diversas espécies de aves, prejudicando sua reprodução e oferecendo grandes riscos à biodiversidade [2].

Segundo o Sindicato da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG), o uso de pesticidas dobrou desde a década de 1950, e cerca de 2,5 milhões de toneladas de pesticidas industriais são usadas agora todos os anos. As vendas de pesticidas acumuladas até Outubro de 2011, em comparação com o mesmo período de 2010, apresentaram crescimento de 10%, impulsionadas principalmente pelas culturas de soja, cana-de-açúcar, milho, algodão, café e pastagem [3].

A utilização de pesticidas para acabar com as pragas na agricultura deve ser moderado e realizado com alguns cuidados, pois pode causar a contaminação e desertificação do solo. Isto porque, quando utilizados em diferentes culturas, os pesticidas são levados para o solo pela água da chuva ou da irrigação. No solo, os pesticidas podem seguir diferentes destinos. Eles podem ser degradados pela luz do sol, calor, interação com partículas do solo, podendo gerar produtos mais perigosos.

Portanto, o uso intenso de pesticidas pode levar à degradação dos recursos naturais, em alguns casos de forma irreversível, levando a desequilíbrios biológicos e ecológicos, entre eles a contaminação dos lençóis freáticos e do próprio solo [4].

O descuido do homem com o uso dos pesticidas pode ser fatal, ocasionando danos à saúde, tais como: irritações na pele e nos olhos, problemas respiratórios, câncer em vários órgãos, distúrbios sexuais e problemas neurológicos.

No Brasil, as substâncias introduzidas na agricultura para combater pragas e doenças foram usadas principalmente após a crise de 1929 em lavouras como as de algodão, milho e cana-de-açúcar. As culturas de café e algodão foram as responsáveis pela introdução de inseticidas sintéticos. Foi na década de 70, porém, que houve a grande expansão na produção e uso de pesticidas no Brasil, em razão dos incentivos para a produção agrícola e a política de exportação [5].

Na maioria dos países, a venda ou uso de um pesticida deve ser aprovada por uma agência do governo. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), mostrou a presença de resíduos de pesticidas em alimentos [6]. No Brasil estão estabelecidos pela resolução do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), padrões de potabilidade da água destinada ao consumo humano e os limites máximos admitidos dependem do agrotóxico utilizado. Já a Comunidade Europeia estabeleceu padrões de potabilidade para águas destinadas ao consumo humano como sendo de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ para um e $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para a soma de todos os agrotóxicos presentes, incluindo seus metabólitos.

Fica evidente a problemática da utilização de pesticidas na agricultura brasileira e conseqüentemente a contaminação dos alimentos e águas, visto que esses agrotóxicos são, na sua maioria, persistentes no meio ambiente. Torna-se

necessário o desenvolvimento de métodos precisos de quantificação desses resíduos e de produtos de degradação desses compostos.

Atualmente o Brasil é um dos maiores consumidores de agrotóxicos e também o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. Na cultura da cana-de-açúcar são empregadas grandes quantidades de pesticidas, sendo o inseticida fipronil um dos mais aplicados no Estado de São Paulo [7]. O pesticida selecionado para o presente estudo pode contaminar o meio ambiente aquático, por isso há uma necessidade de monitorar corpos d'água, especialmente os destinados ao abastecimento público, quanto à presença deste composto.

1.2 Fipronil

O fipronil (5-amino-[2,6dicloro-4-(trifluorometil) fenil]-4-trifluorometil-sulfinil-1H-pirazol-3carbonitrila) é um inseticida descoberto e desenvolvido pela Rhône-Poulenc entre 1984-1987 e colocado no mercado em 1993. Ele é um novo membro da classe dos fenilpirazóis [8].

O fipronil é conhecido em mais de 70 países e utilizado em mais de 100 diferentes tipos de culturas para o controle de pestes. No Brasil sua formulação é bastante variada, indo desde iscas atrativas para o controle de formigas (Blitz[®]) até sprays utilizados no controle de carrapatos e pulgas (Frontline[®] e Top Spot[®]), além do controle de pragas da raiz do milho e do gorgulho aquático do arroz (Klap[®]) e também no controle de insetos e pragas na cultura de cana-de-açúcar (Regente[®] 800 WG) [9].

O fipronil pode ser empregado desde doses muito baixas até muito altas para controle efetivo de insetos resistentes ou tolerantes a outras famílias de inseticidas como os organofosforados, piretróides e carbamatos [8].

1.2.1 Características físico-químicas

As propriedades físico-químicas dos pesticidas são importantes parâmetros que podem ser avaliados para estabelecer um potencial risco de contaminação. O fipronil em sua forma pura é um pó branco e massa molar de 437 g mol^{-1} . Apresenta ponto de fusão de 195,5 a 203 °C, sua solubilidade de $0,0024 \text{ g L}^{-1}$ em água no pH 5,0 e $0,0022 \text{ g L}^{-1}$ no pH 9,0, sendo altamente solúvel em solventes orgânicos ($545,9 \text{ g L}^{-1}$ em acetona) [8].

A estrutura química do inseticida fipronil é mostrada na Figura 1.

Figura 1: Fórmula estrutural do Fipronil.

Cada pesticida apresenta um conjunto específico de propriedades físico-químicas. As principais propriedades dos pesticidas relacionados ao seu comportamento são as seguintes: pressão de vapor, solubilidade em água,

constante de adsorção, coeficiente de partição octanol-água, constante de ionização ácida (pK_a) ou básica (pK_b), constante da Lei de Henry, tempo de meia-vida.

A pressão de vapor (P_v), juntamente com a constante da Lei de Henry (K_H), mostra a tendência dos pesticidas à volatilização ou permanência na fase aquosa. A solubilidade em água é outra propriedade importante, pois indica o comportamento, transporte e destino do composto no ambiente. A constante de adsorção (K_{oc}) está baseada na quantidade de matéria orgânica presente no solo, moléculas altamente solúveis apresentam um K_{oc} relativamente baixo (menor que $150 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$), podendo ser rapidamente biodegradados no solo e na água. O coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) indica a tendência das moléculas em se distribuir em regiões hidrofóbicas [10,11].

Os pesticidas, cujo K_{ow} é alto e cuja solubilidade em água é baixa (natureza hidrofóbica), podem sofrer forte adsorção no solo ou sedimento, e bioacumular-se em organismos aquáticos. Na Tabela 1 apresenta algumas propriedades físico-químicas do inseticida fipronil.

Tabela 1- Propriedades físico-químicas do fipronil

Propriedades	Características
Massa Molar / g mol^{-1}	437
Classe toxicológica	II, altamente tóxico
Ponto de ebulição / $^{\circ}\text{C}$	200
Pressão de Vapor / nPa	370, não volátil
Solubilidade em água	$2,4 \text{ mg L}^{-1}$, baixa
Constante de adsorção (K_{oc}) / mL g^{-1}	803, móvel
Coeficiente de partição octanol-água (K_{ow})	$4,01 \log K_{ow}$, alto

Assim, o fipronil apresenta um caráter hidrofóbico, com forte adsorção no solo ou sedimento, sendo ligeiramente móvel em água. É estável em meio aquoso ácido e neutro e, em meio alcalino, ele é suscetível à reação de hidrólise, formando uma amida.

1.2.2 Modo de ação

Esse inseticida é extremamente ativo e atua no Sistema Nervoso Central (SNC) do inseto. O ingrediente ativo do fipronil tem um modo de ação único e exclusivo, devido à especificidade e precisão do local atingido no SNC. A transmissão do impulso nervoso nas células do SNC acontece em função da diferença de concentração de íons dentro e fora dessas células. O estabelecimento do equilíbrio iônico nas células SNC é garantido graças ao GABA (Ácido Gama Amino Butírico), uma substância que controla o fluxo de íons cloreto através da membrana da célula nervosa [12].

Pesquisas recentes mostram que o ingrediente ativo do fipronil pode reverter a ação do GABA, alterando o equilíbrio iônico nas células do SNC, com consequente morte dos insetos. O GABA é o principal neurotransmissor inibidor nos insetos, daí sua importância na regulação da atividade do SNC [13].

1.2.3 Destino ambiental do fipronil

Estudos em águas, solos e vegetações indicam que o fipronil sofre degradação química formando quatro possíveis produtos: amida, sulfeto, sulfona e dessulfenil. A Figura 2 apresenta as possíveis reações de degradação do fipronil e seus respectivos metabólitos [14].

Figura 2: Caminhos de degradação do fipronil por: a) hidrólise, b) redução, c) oxidação e d) fotólise.

O composto derivado dessufinil é formado fotoquimicamente e seu surgimento é rápido. O derivado sulfeto é formado por redução e o metabólito sulfona por oxidação do substituinte sulfinil [15].

O produto amida resulta da hidrólise do grupo nitrila do fipronil. Este metabólito apresenta uma polaridade maior que o fipronil e é mais solúvel em água, desta forma apresenta baixa afinidade pela matéria orgânica em comparação ao fipronil [16].

A formação de cada metabólito depende de alguns fatores do meio, tal como temperatura, pH, tipo de solo, presença de luz e microorganismos [17].

O fipronil, em condições anaeróbicas, se degrada lentamente em águas e sedimentos, com um tempo de meia-vida variando de 116 a 130 dias, sendo bastante estável à hidrólise em meio moderadamente ácido a neutro. Em condições aeróbicas, é lentamente degradado através de oxidação, redução e hidrólise (meio alcalino). Dependendo da quantidade de matéria orgânica, do tipo de solo e do pH, o tempo de meia-vida pode variar de 18 a 308 dias. Quando exposto à luz, o fipronil é foto-degradado, com um tempo de meia-vida de 3,6 horas em água e 34 dias em solo argiloso [18,19]. Alguns trabalhos sobre o fipronil no meio ambiente são relatados a seguir.

1.2.3.1- Comportamento do fipronil no meio ambiente

A volatilização do fipronil no ar é lenta, e foi confirmada por NGIM *et al.* [20], que determinaram experimentalmente a constante de Henry como $6,60 \times 10^{-6}$ atm mol⁻¹. O fipronil tem pressão de vapor relativamente baixa e não se volatiliza rapidamente, portanto não é encontrado no ar.

No solo, o valor médio do coeficiente de adsorção do fipronil à matéria orgânica do solo (K_{oc}) é 803 mL g⁻¹, o que confere ao composto de baixa a moderada adsorção por área de superfície. O fipronil tem baixa capacidade de dispersão na terra, mas isto não implica em baixo potencial para a contaminação das águas subterrâneas [21].

BOBÉ *et al.* observaram uma afinidade do fipronil por solos com elevado teor de matéria orgânica, isso se deve ao caráter hidrofóbico do fipronil [22]. Observaram também que a adsorção não é afetada pela variação de pH. Os fatores que alteraram a adsorção do fipronil pelas partículas do solo foram a temperatura, a presença de metanol e a razão da quantidade de solo/água.

YING e colaboradores fizeram a mesma constatação, ao estudar oito diferentes tipos de solo australiano e observaram que a adsorção do fipronil no solo aumentou com o aumento da matéria orgânica [23]. Os valores de K_{oc} variaram entre 542 a 1176 mL g⁻¹, o que indica baixa a moderada sorção. Estes resultados indicam que o fipronil é relativamente móvel no solo. Já o K_{oc} dos produtos de degradação foi mais alto que o do próprio fipronil. O tempo de meia vida do fipronil e seus metabólitos no solo foi de 113 a 350 dias, revelando que eles são persistentes.

LIN *et al.* estudaram a adsorção e degradação do fipronil em sedimentos urbanos [24]. Observaram que, em condições aeróbicas, foram encontrados os produtos de degradação sulfeto e sulfona. Em condições anaeróbicas e com presença de microorganismos, o produto de degradação encontrado foi o sulfeto. O fipronil se adsorve nos sedimentos contendo elevado teor de matéria orgânica e é levado a sistemas aquáticos.

PEI *et al.* estudaram a degradação do fipronil em amostras de solos e de folhas de vegetação chinesa *Pakchoi* [25]. O fipronil se degrada mais rapidamente na vegetação do que no solo e forma os metabólitos sulfona, sulfeto e amida. Já no solo forma os produtos sulfona e dessufinil.

RAMESH *et al.* verificaram que a mudança do pH no solo interfere na degradação do fipronil [26]. Observaram que, em solo alcalino, há uma reação de hidrólise e o fipronil se transforma em uma amida. Já em solo ácido e neutro ocorreu um acúmulo de resíduos do fipronil e um aumento na poluição das águas.

BOBÉ *et al.* observaram que o efeito da luz solar sobre o fipronil foi importante para sua degradação [27]. Verificaram que, quando exposto à radiação solar num solo de pH 5,5, a cinética de degradação foi rápida e de primeira ordem,

com um tempo de meia vida de 4 horas, formando como produto o metabólito dessufinil.

ZHU *et al.* verificaram que o tipo de solo e temperatura interferiram no tempo de meia vida do inseticida [28]. Em solo argiloso não estéril o tempo de meia vida do fipronil foi de 9,7 dias a 25 °C e 8,7 dias a 35 °C. Em solos argilosos estéreis o tempo de meia vida foi de cerca de 33 dias. Em solo arenoso o tempo de meia vida foi de 126 dias.

Outro estudo realizado pela Rhône-Poulenc mostrou que o produto de fotodegradação dessufinil é persistente no solo [29]. Dependendo do tipo de solo, o tempo de meia vida variou entre 630-693 dias.

FEUNG *et al.* estudaram o fipronil em ambiente aquático e observaram que o inseticida foi rapidamente adsorvido em sedimentos com areia contendo 8% de matéria orgânica e pH 5,8 [30]. A vida média do fipronil em condições aquáticas aeróbicas foi de 14 dias, e a maior quantidade de metabólito formado foi do sulfito, que correspondeu a 74% dos resíduos total depois de 30 dias.

AAJOUD *et al.* estudaram por 3 meses a dissipação do fipronil em um ambiente aquático e revelaram duas transformações do composto original, fotodegradado e hidrólise do sulfeto e cadeias laterais de nitrila ligados ao anel heterocíclico [31]. Observaram que as atividades inseticidas do dessufinil e da amida contra a larva do *Aedes aegypti*, foram maiores que a do fipronil.

TINGLE *et al.* viram que em condições anaeróbicas o fipronil se degrada lentamente em água [32]. O tempo de meia vida, em média, foi de 123 dias, muito mais do que qualquer solo aeróbico, onde o fipronil e seu metabólito dessufinil, mostraram tempo de meia vida de apenas 5 dias.

CONNELLY *et al.* descreveram a transformação do fipronil no meio aquático, onde o metabólito formado foi o dessufinil [33]. Este subproduto tem ação neurotóxica semelhante à molécula original do fipronil, que manteve a ação tóxica aos organismos expostos.

HUSEN *et al.* estudaram o quanto o fipronil é estável em solução aquosa, estocadas em polietileno [34]. As amostras foram analisadas em algumas condições, como na presença e ausência de luz, e em frascos de vidro e polietileno. Observaram que o melhor lugar para estocar soluções de fipronil é em frasco de polietileno por duas semanas, evitando a degradação pela luz solar.

DEMCHECK e colaboradores determinaram a contaminação por fipronil e seus metabólitos em águas de superfície e de sedimento do rio Mermentau, na Louisiana (EUA), em áreas próximas a lavouras de arroz [35]. As concentrações máximas de fipronil encontradas na água foram 5,29 e 5,19 $\mu\text{g L}^{-1}$, no final do mês de março e metade de abril, respectivamente. O metabólito detectado em maior concentração (1,13 $\mu\text{g L}^{-1}$) foi o dessufinil, no mesmo período que a mais alta concentração do fipronil, indicando que a decomposição fotocatalítica do fipronil é rápida. O produto de degradação aeróbica sulfona tem um comportamento similar, com as concentrações máximas de 0,202 e 0,205 $\mu\text{g L}^{-1}$, ocorrendo em março e abril. A mais alta concentração do sulfeto foi de 0,214 $\mu\text{g L}^{-1}$, num período posterior à concentração máxima do fipronil, o que é consistente com o processo de degradação, uma vez que esse metabólito é um produto de redução mais frequentemente detectado no solo.

RAVETON *et al.* estudaram a degradação do fipronil contido nas sementes de girassol num período de 3 meses [36]. Foram detectados os metabólitos dessufinil, sulfona e sulfeto. Devido à sua forte adsorção com as partículas do solo com

elevado teor de matéria orgânica, o fipronil foi transportado da semente pela água do solo e, em seguida, do solo para as plantas.

BOBÉ *et al.* estudaram a degradação do fipronil em solução aquosa na ausência de luz, a 22 °C e em diferentes pH [27]. O inseticida se manteve estável em solução ácida e neutra, 80% permaneceu após 100 dias. Sob condições alcalinas, pH entre 9,0 e 12,0, a degradação aumentou com o pH e seguiu uma cinética de pseudo-primeira ordem. A temperatura também influenciou na degradação hidrolítica do fipronil, o tempo de meia vida diminuiu de 114 horas para 18 horas, quando a temperatura aumentou de 22 °C para 45 °C.

WALSE *et al.* estudaram a degradação do fipronil em água e sedimentos de ambientes estuários [37]. Verificaram que, nos sedimentos, o produto de degradação encontrado foi o sulfeto e que, na água, foram encontrados os produtos sulfona e dessufinil que migram da água para os sedimentos.

PERET *et al.* estudaram a dinâmica do fipronil na Lagoa do Óleo, localizada na Estação Ecológica de Jataí [38]. Os experimentos realizados em microcosmos apontaram para uma sedimentação rápida (tempo de meia vida de 17 dias) de cerca de 30% do composto e uma degradação lenta na água (tempo de meia vida de 43 dias). No sedimento, a biodegradação contribuiu de forma eficiente para o decaimento das concentrações de fipronil (tempo de meia vida de 7 dias), sem que a toxicidade fosse reduzida.

Mesmo que utilizado de forma adequada, o fipronil pode contaminar o meio ambiente e gerar produtos de degradação mais tóxico. Torna-se importante o desenvolvimento de procedimentos analíticos para a sua determinação.

1.2.4 Toxicidade do fipronil

Segundo a ANVISA, o fipronil pertence à classe toxicológica II, altamente tóxica [39]. Ele é altamente tóxico para peixes, pássaros e invertebrados aquáticos e moderadamente tóxicos para pequenos mamíferos. Atualmente, há uma grande preocupação com a toxicidade do fipronil, principalmente com respeito às abelhas.

A sua tendência em se ligar a sedimentos e sua baixa solubilidade em água podem reduzir a sua toxicidade, o composto é pouco tóxico para minhocas, microrganismos do solo e plantas aquáticas. O foto-derivado dessufinil apresenta uma toxicidade aguda mais alta em mamíferos do que o fipronil.

O fipronil é neurotóxico para ratos e cães e, carcinogênico para ratos com doses de 300 ppm em machos e fêmeas causando câncer na tireóide. Em relação à saúde humana, existem poucos estudos, contudo células humanas foram usadas em alguns estudos de carcinogenicidade nos quais nenhum efeito adverso foi detectado [40].

A exposição por um pequeno intervalo de tempo pode causar sérios efeitos sobre o desenvolvimento de fetos, tanto de animais como de humanos e, após o nascimento são observadas sequelas como dificuldade de aprender, diminuição dos reflexos, esterilidade, além do aumento da suscetibilidade para câncer e outras doenças [41].

O fipronil é absorvido pelo trato gastrointestinal e rapidamente metabolizado. A concentração máxima do fipronil no sangue ocorre de 4 a 6 horas após sua ingestão e começa a declinar lentamente, sendo seu processo de eliminação lento. A excreção do fipronil e de seus metabólitos é realizada principalmente através das fezes e em menor quantidade através da urina. A seguir são relatados alguns trabalhos sobre a toxicidade do fipronil.

HASSANI *et al.* estudaram o efeito do fipronil em doses sub-letais no comportamento das abelhas [42]. As abelhas foram alimentadas com pólen contaminado e concluiu-se que o fipronil na concentração de 0,5 ng prejudicou a formação de memória olfativa das abelhas. A atividade locomotora não foi afetada. As abelhas morreram após 48 horas de aplicação do fipronil.

OLIVEIRA e colaboradores estudaram o efeito do fipronil em organismos não alvos [43]. Examinaram os fígados de ratos expostos a diferentes doses de fipronil (15,25 e 50 mg Kg⁻¹) e perceberam alterações nas células do fígado, levando a célula à morte por necrose.

SCHLENK *et al.* observaram a toxicidade do fipronil em camarões da espécie *Procambarus* [44]. A água utilizada na criação dos camarões provinha da irrigação de arroz que continha fipronil. Constataram traços de fipronil e dos metabólitos, sulfona, sulfeto e dessufinil na água analisada, os quais foram responsáveis pela morte de 96,4 % dos camarões.

TINGLE *et al.* observaram, em estudo com ratos, que o fipronil é rapidamente metabolizado e os resíduos distribuídos nos tecidos, particularmente em tecidos gordurosos, onde permanecem em quantias significantes uma semana após administração oral [32]. Foi confirmado em estudo semelhante na Austrália, em carne bovina, a lenta depuração do fipronil na gordura, resultando em uma acumulação leve sob constante condição de pasto. Segundo os autores, a meia vida do fipronil na gordura da carne é em torno de 18 dias.

STARK *et al.* estudaram o efeito do inseticida fipronil em *Daphnias* [45]. O fipronil apresentou uma toxicidade na dose de 0,03 mg L⁻¹, aumentando a taxa de mortalidade e diminuindo a taxa de nascimento.

LEGHAIT *et al.* estudaram a ação toxicológica do inseticida fipronil em ratos [46]. Observaram que os ratos apresentaram uma variação na taxa de hormônios da tireóide, o que favoreceu o surgimento de tumores.

BALANÇA e colaboradores observaram que doses muito baixas de fipronil ($2,0 \text{ g ha}^{-1}$) aplicadas para controle de gafanhotos teve impacto em insetos não-alvos, no caso um tipo de besouro [47]. Esses besouros são de importância agrícola, pois contribuem para o controle biológico de pragas.

1.2.5 Uso veterinário

Há uma grande aceitação da eficiência apresentada pela molécula do inseticida fipronil utilizada no controle de insetos e pragas, pois as pesquisas revelam que na maioria dos casos há resultados satisfatórios a uma grande diversidade de pestes [48-52].

Além de ser utilizado em diversos tipos de cultura, tais como, batata, cana-de-açúcar, milho, algodão, arroz, soja, cevada e feijão, o fipronil é também utilizado no uso doméstico e veterinário contra baratas, formigas, pulgas e carrapatos. Esse inseticida também é utilizado para preservar madeira de cupins. A seguir, estão relatos alguns trabalhos comprovando a eficácia do fipronil no uso veterinário.

BRESCIANI *et al.* verificaram a eficácia do inseticida fipronil (Frontline[®]) em cadelas adultas de diferentes portes infestadas por pulgas (*Ctenocephalides*) [53]. Foi observado um maior pico de eliminação de pulgas 12 horas pós-tratamento, quando foi verificada uma porcentagem de eficácia terapêutica do fipronil de 99,0%.

GENTILE *et al.* estudaram a eficácia do fipronil líquido 1,0% contra *Triatoma infestans* (bicho-barbeiro) em aves e mamíferos [54]. O fipronil foi eficaz após 7 dias,

chegando a 100,0% de mortalidade antes de 72 horas. Os animais tratados não sofreram efeitos adversos.

DAVERY *et al.* avaliaram a eficácia de uma solução de fipronil 1,0% (Topspot[®]) para o controle de carrapatos em gado [55]. Foram obtidos 100% de proteção contra infestação e controle de reprodução dos carrapatos, com uma eficiência de 99,7% e atividade residual do inseticida por 8 semanas.

Uma das maiores preocupações quanto ao uso do fipronil no combate aos carrapatos é a contaminação do leite, da carne e do meio ambiente, como por exemplo, o solo e os rios por meio do descarte dos seus resíduos.

1.2.6 Valores de limites máximos de resíduos (LMR)

Os valores de limite máximo de resíduo (LMR) são estabelecidos por agências do governo de cada país, órgãos responsáveis pela preservação do meio ambiente.

No Brasil os LMR em alimentos para o inseticida fipronil, segundo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), estão dispostos na Tabela 2 [39].

Tabela 2- Limite máximo de resíduo (LMR) de fipronil em alimentos

Alimentos	LMR (mg/Kg)/fipronil
Algodão	0,01
Arroz	0,01
Batata	0,05
Cana-de-açúcar	0,03
Cevada	0,01
Feijão	0,01
Milho	0,01
Soja	0,01
Trigo	0,01

1.2.7 Determinação analítica do fipronil

Análises do fipronil em matrizes ambientais têm sido realizadas utilizando principalmente as técnicas cromatográficas, que apresentam excelente reprodutibilidade e sensibilidade. Estas técnicas necessitam de etapas de preparo de amostras envolvendo extração dos analitos para remoção de interferentes. Diferentes tipos de amostras como água, solo, tipos de vegetação, plasma, leite, e mel foram analisados com o objetivo de determinar o inseticida fipronil.

BOBÉ e colaboradores estudaram o comportamento do fipronil em solos de Niamey, região da Nigéria [56]. Esses solos nunca tinham sido tratados com fipronil e, em cada lote, foram aplicados 2 litros (4 g L^{-1}) da formulação Adonis® e depois de

dois meses as amostras foram analisadas. A recuperação foi 85% para fipronil, 93% para o metabólito A (dessulfenil), 87% para o metabólito B (sulfeto), 96% para o D (amida) e 100% para C (sulfona). O limite de quantificação foi de 0,0001 mg Kg⁻¹ para o fipronil e para os metabólitos A, B e C. Para o metabólito D o limite foi de 0,0005 mg Kg⁻¹.

VÍLCHEZ e colaboradores utilizaram a micro-extração em fase sólida, seguida pela cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa para a determinação do inseticida fipronil em amostras de água e solo de Granada (Espanha) como também em amostras de urina humana [57]. A curva de calibração obtida para o fipronil foi linear entre 0,3-100 ng mL⁻¹ ($r = 0,9986$) e o limite de detecção alcançado foi de 0,08 ng mL⁻¹.

GOLLER e colaboradores analisaram resíduos de fipronil e de seus metabólitos em amostras de alho-poró [58]. Para realizarem suas medidas foi necessário um pré-tratamento da amostra, que foi fortificada a 0,002 mg Kg⁻¹ pelo analito, que posteriormente foi extraído com acetonitrila. Em seguida foi purificado em uma coluna C₁₈ e carvão ativo. O resíduo foi quantificado usando cromatografia gás-líquida usando detector de captura de elétrons. O limite de detecção baseado na quantidade injetada foi menor que 10 pg. Uma curva de calibração foi construída entre 0,05 e 10 mg L⁻¹ ($r = 0,99$). Foi observada uma recuperação de 70 a 100%.

YING e colaboradores estudaram a degradação do fipronil em solos. O estudo foi feito em laboratório e em campo [59]. Três metabólitos (dessulfenil, sulfeto e sulfona) foram identificados após o tratamento no solo. O limite de detecção foi 1 µg Kg⁻¹, e o limite de quantificação foram de 2 µg Kg⁻¹ para o fipronil e seus metabólitos.

MORZYCKA, usando dispersão de matriz em fase sólida e cromatografia gasosa, determinou 12 inseticidas, entre eles o fipronil em mel de abelha [60]. O inseticida foi quantificado usando cromatografia gasosa com um detector nitrogênio-fósforo. O método teve uma recuperação de 90,6%, e o limite de detecção foi de 0,02 mg Kg⁻¹.

BRONDI determinou as concentrações de agrotóxicos usados na lavoura de cana-de-açúcar, entre eles o fipronil, cujos resíduos estão presentes nas águas dos rios que abastecem a cidade de Araraquara [61]. Através da extração com fluido supercrítico utilizando suporte sólido (C₁₈) e CO₂ + modificador acetona como eluente, foi obtido uma recuperação de 97,92%. O limite de detecção foi de 1 µg L⁻¹ e de quantificação de 3,5 µg L⁻¹.

PEI e colaboradores [15] desenvolveram um método analítico para estudar resíduos de fipronil e seus metabólitos em vegetais e solo. Foi utilizada a cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons. A menor quantidade de fipronil detectada foi de 0,003 mg Kg⁻¹ e a menor concentração detectada no solo e vegetais foi de 0,002 mg Kg⁻¹. As amostras foram fortificadas e analisadas usando o método analítico desenvolvido, obteve-se uma recuperação de 88,9 % em vegetais e 91,5 % em solo.

SCHLENK e colaboradores estudaram a toxicidade do fipronil e de seus produtos de degradação em lagostim (*Procambarus sp.*) [62]. Para isso fipronil foi aplicado na água de irrigação do arroz. O fipronil é transportado via sedimentos orgânicos e o lagostim consome esses sedimentos. Os limites de detecção foram 0,5 µg L⁻¹ para fipronil e dessulfenil, 1,0 µg L⁻¹ para sulfido e 2,0 µg L⁻¹ para sulfona. O método teve uma recuperação de 94,2 % para o fipronil, 92,8 % para sulfona, 95,5 % para o sulfeto e 95,8 % para o dessulfenil.

LIU *et al.* desenvolveram uma metodologia analítica para análise dos isômeros R-(-) e S-(+) do fipronil e dos produtos de degradação em amostras de repolho [63]. Foram obtidos limites de quantificação entre 0,01 e 0,05 mg Kg⁻¹ e valores de recuperação entre 79 e 81%.

MAFFEI e colaboradores [64] determinaram resíduos de pesticidas, dentre eles o fipronil, em plasma bovino. Utilizaram a técnica de extração em fase sólida e cromatografia gasosa. Foi obtido limite de quantificação de 0,04 mg L⁻¹ para o fipronil.

SAVANT *et al.* analisaram 50 tipos de pesticidas, entre eles o fipronil, em amostras de uva, romã e manga [65]. As amostras foram analisadas por um cromatógrafo a gás com detecção por espectrofotometria de massa. Os limites de quantificação encontrados nas frutas uva, romã e manga foram 6,1 ng g⁻¹, 10,0 ng g⁻¹ e 9,0 ng g⁻¹, respectivamente.

FAOUDER e colaboradores avaliaram uma potencial transferência de resíduos de fipronil e seus metabólitos (sulfona, sulfito, fipronil dessulfonil e amida) da alimentação da vaca para o seu leite [66]. O leite foi analisado por um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrofotômetro de massa (GC-MS/MS). Os limites de quantificação encontrados foram de 0,025 µg L⁻¹ no leite e 0,05 µg kg⁻¹ nas plantas para todos os compostos, exceto para o resíduo amida onde os valores encontrados foram quatro vezes maior. Concluíram que houve a transferência de resíduos de fipronil, por meio da alimentação a partir das sementes, para o leite de vacas leiteiras.

SANCHES *et al.* determinaram resíduos de fipronil em pólen e mel de abelha [67]. Para o estudo utilizaram a cromatografia gasosa por detecção de espectrometria de massa, obtiveram para as amostras de pólen valores de

recuperação entre 91 e 103%, com limite de detecção de $0,2 \mu\text{g Kg}^{-1}$. Para as amostras de mel foram obtidos valores de recuperação entre 90 e 103%, e o limite de detecção foi de $0,1 \mu\text{g Kg}^{-1}$.

Deve causar preocupação o mau uso do inseticida fipronil, pois no Brasil existem áreas totais sendo pulverizadas, não havendo a menor preocupação com possíveis contaminações e prejuízos aos ecossistemas. Há registros sobre a redução do número de abelhas em várias partes do país. Outro forte indício do perigo de sua utilização está no fato de que seu uso vem sendo banido de vários países da Europa. A sua utilização deve ser mais bem pesquisada com o objetivo de determinar os reais riscos apresentados ao ambiente.

O risco ambiental do inseticida fipronil torna-se bastante elevado em função de que sua molécula poderá atingir os lençóis freáticos, rios e lagoas promovendo a contaminação da fauna aquática, quando utilizado para fins agrícolas. A utilização irracional de fipronil nos agro-ecossistemas poderá causar o desequilíbrio direto da população dos organismos vivos que se estabelecem em ambientes alagados.

Observando a toxicidade do inseticida fipronil no meio ambiente e a várias espécies, torna-se importante o desenvolvimento de novos procedimentos analíticos que apresentem rapidez, sensibilidade e baixo custo para o seu monitoramento.

1.3 Técnicas eletroanalíticas

Uma das mais importantes características das técnicas eletroanalíticas relaciona-se com o fato destas técnicas possibilitarem o estabelecimento de relações diretas entre a concentração do analito e alguma das propriedades elétricas como corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga elétrica [68].

Como as medidas destas propriedades são facilmente acessíveis experimentalmente, as técnicas eletroanalíticas são utilizadas na quantificação de espécies de interesse nas diferentes áreas de estudo. Uma grande vantagem destas técnicas consiste na possibilidade da medida ser realizada diretamente na amostra sem necessidade de etapas de pré-purificações ou de separações prévias [69].

Essas vantagens, aliadas ao curto tempo na realização das análises, ao volume de amostra e efluentes gerados, ao baixo custo da instrumentação e dos materiais utilizados, se comparados às técnicas cromatográficas e espectroscópicas, e a baixa sensibilidade das técnicas eletroanalíticas em relação à presença de interferentes, fazem com que elas sejam cada vez mais intensamente utilizadas. Sua crescente importância levou ao desenvolvimento de técnicas cada vez mais sensíveis às espécies em estudo, algumas inclusive com limites de detecção tão baixos que podem ser comparados aos das técnicas tradicionais utilizadas na análise de muitos compostos orgânicos e inorgânicos em matrizes ambientais, biológicas e em alimentos [70].

1.3.1 Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

Uma das técnicas eletroanalíticas mais elaboradas é a voltametria de onda quadrada (SWV). Esta técnica foi desenvolvida inicialmente por Barker, com contribuição de Osteryoung, em 1952 e, no passar dos anos, sofreu algumas modificações instrumentais aliadas ao desenvolvimento de novas teorias que foram responsáveis pelo estabelecimento da técnica para a análise de traços e também na obtenção de dados relacionados à cinética e ao mecanismo de reações químicas [70].

A SWV é uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápida e sensível, os limites de detecção podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas. Além disso, apresenta menor consumo da espécie eletroativa, diminuição das correntes residuais, diminuição dos problemas associados ao bloqueio da superfície do eletrodo por produtos de reação [71].

As formas da curva corrente-potencial para essa técnica é proveniente de aplicações de potenciais de altura ΔE_s (incremento de varredura), que varia de acordo com uma escada de potencial de altura a (amplitude do pulso) e duração de τ (período). Na curva potencial-tempo, a largura do pulso ou $\tau/2$ é denominada t_p e a frequência $1/\tau$ é designada por f [72].

As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos (sentido da varredura) e reversos (no sentido oposto da varredura) e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante ($\Delta I = I_d - I_r$) de forma diferencial e apresenta excelente sensibilidade e alta rejeição a correntes capacitivas [68]. Na Figura 3 é apresentada a forma de aplicação dos pulsos de potencial.

Figura 3: Forma de aplicação de pulso de potencial em voltametria de onda quadrada.

Os parâmetros eletroquímicos corrente de pico (I_p) e potencial de pico (E_p) fornecem dados importantes quando relacionados com a frequência (f) de aplicação de pulsos de potencial [73].

Para sistemas irreversíveis, I_p varia linearmente com a f e para sistemas reversíveis a I_p varia linearmente com a raiz quadrada de f . Para sistemas *quasi*-reversíveis a relação entre I_p e a frequência não é linear.

O coeficiente angular (θ) do gráfico E_p versus o logaritmo da frequência para sistemas irreversíveis tem o valor de $-59/\alpha n$ mV, onde α é o coeficiente de transferência de carga e n é o número de elétrons. Para sistemas reversíveis sem problemas de adsorção das espécies envolvidas na reação tem um valor de $-29/\alpha n$ mV, e com adsorção do produto ou reagente não há uma relação linear [74,75].

As correntes de pico também dependem da amplitude da onda, essa dependência é linear se $a = 20/n$ mV. Para reações irreversíveis, a sensibilidade analítica aumenta com o aumento da amplitude. Isso ocorre devido à largura de meia onda ($a_{p/2}$) se manter constante para amplitudes maiores que 20 mV. Para reações reversíveis a corrente de pico aumenta proporcionalmente somente para valores de amplitude maiores que 50 mV. Para a análise de sistemas totalmente irreversíveis, a sensibilidade pode ser aumentada usando um grande incremento de potencial e pulsos de larga amplitude [76].

Na Tabela 3 são apresentadas as principais características dos sistemas eletroquímicos quanto ao grau de reversibilidade ao relacionar E_p e I_p com a frequência de aplicação de pulsos.

Tabela 3- Características dos sistemas eletroquímicos quanto ao grau de reversibilidade ao relacionar I_p e E_p com a frequência

Sistema	Relação de I_p e f	Relação de E_p vs $\log f$
Irreversível	$I_p = K f$	$\theta = -59/n\alpha \text{ mV}$
Reversível	$I_p = K f^{1/2}$	Sem adsorção $\theta = -29/n\alpha \text{ mV}$
		Com adsorção Relação não linear
Quase-reversível	Não linear	Relação não linear

1.4 Eletrodo de compósito de grafite-poliuretana (GPU)

O objetivo da modificação de eletrodos é atribuir novas características físico-químicas à superfície, como forma de alterar a reatividade e seletividade do sensor base [77]. Atualmente os estudos sobre a modificação de superfícies eletródicas vem tendo um crescimento significativo, pois possibilita o aumento na sensibilidade, seletividade e no tempo de vida do eletrodo para análises em diversas matrizes.

A modificação de um eletrodo consiste em duas partes, ou seja, de um eletrodo base e de uma camada de modificador químico, e sua forma de preparação é determinada pelas características analíticas desejadas no sensor. Uma das formas de introduzir um agente modificador sobre o eletrodo base é pela preparação de materiais compósitos que permitem a modificação interna do eletrodo [78].

O eletrodo compósito resulta na combinação de dois ou mais componentes e pode ser definido como um material que consiste de uma fase condutora misturada a, pelo menos, uma isolante, na qual cada fase mantém suas características individuais, mas a mistura pode apresentar novas características químicas, físicas ou biológicas. Materiais a base de carbono formam fases condutoras ideais na elaboração dos compósitos, pois além de serem inertes quimicamente e apresentarem grande intervalo útil de potencial, possuem baixa resistência e baixa corrente residual [77].

A utilização dos eletrodos compósitos, baseados na fase condutora dispersa em matrizes poliméricas, tem levado a um importante avanço em análises eletroquímicas, principalmente na construção de sensores [78]. Devido às propriedades elétricas da grafite e o fácil manuseio dos polímeros, os eletrodos compósitos podem ser utilizados nas medidas voltamétricas e amperométricas.

O eletrodo compósito de grafite-poliuretana (GPU) foi desenvolvido por MENDES a partir de uma mistura de pó de grafite e de uma resina de poliuretana de óleo vegetal [79]. O eletrodo de GPU apresenta algumas vantagens quando comparado aos eletrodos clássicos, como ouro e platina, tais como: a melhoria na relação sinal/ruído, estabilidade em sistema de fluxo, elevada resistência mecânica, simplicidade na preparação e renovação da superfície do eletrodo e baixo custo [80]. Além dessas vantagens, o material possui elevada hidrofobicidade, devido à presença da resina poliuretana que lhe confere uma afinidade por moléculas orgânica e resistência química a solventes orgânicos e soluções alcalinas [81].

O eletrodo de GPU foi aplicado com sucesso como sensor amperométrico na determinação analítica de alguns fármacos e em outros tipos de amostra, com boa sensibilidade e seletividade. A seguir, estão descritos alguns trabalhos relacionados

ao eletrodo de GPU, mostrando que o material pode ser utilizado no desenvolvimento de novas metodologias analíticas, como na determinação de pesticidas.

TOLEDO e colaboradores determinaram ácido indol acético (AIA) em solo utilizando o eletrodo de GPU [82]. Obtiveram um limite de detecção de $26,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e de quantificação de $0,2 \text{ mg L}^{-1}$. A nova metodologia desenvolvida foi utilizada na determinação do AIA, onde foi obtido uma recuperação de $95,10 \pm 2,70\%$. Em outro trabalho, os autores também determinaram por voltametria de onda quadrada imipramina em fármacos [83]. Foi obtido um limite de quantificação de $3,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e valores de recuperação de $97,6\% \pm 0,9\%$.

CERVINI e colaboradores determinaram paracetamol por análise em injeção em fluxo utilizando o eletrodo de GPU como detector amperométrico [84]. Foi obtido um limite de detecção $1,9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e uma frequência de 180 determinações por hora. CERVINI *et al.*, também determinaram atenolol em formulações farmacêuticas [85]. Foi obtido um limite de detecção de $1,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e uma frequência de 90 determinações.

MALAGUTTI *et al.* determinaram o flavonóide rutina em amostra de chá verde, utilizando a voltametria de onda quadrada. Obteveram um limite de detecção de $7,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ [86].

TEIXEIRA *et al.* determinaram L-dopa utilizando o eletrodo de GPU modificado por um filme de VO-Salen como detector amperométrico para análise por injeção em fluxo [87]. Obtiveram um limite de detecção de $8,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e uma frequência de 90 determinações.

MENDES *et al.* determinaram hidroquinona em reveladores de filmes fotográficos por voltametria de pulso diferencial [81]. O limite de detecção obtido foi de 934 nmol L^{-1} com uma recuperação entre 100,1% e 100,4%.

OKUMURA estudou o comportamento eletroquímico do fipronil utilizando o eletrodo de GPU [88]. Obteve limites de detecção e quantificação de $1,0 \times 10^{-7}$ e $3,34 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

Outro trabalho relacionado ao comportamento eletroquímico do fipronil foi desenvolvido por AMARAL que utilizou os eletrodos de gota pendente de mercúrio (HMDE) para o estudo de redução, e carbono vítreo (GC) para estudo da oxidação do fipronil [89]. Foram obtidos valores de limites de detecção e quantificação de $5,0 \times 10^{-7}$ e $1,7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente para o HMDE. Para o eletrodo de GC foram obtidos limites de detecção de $4,3 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e de quantificação de $1,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

1.5 Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (GC-MWCNTs)

Pesquisas científicas envolvendo estruturas baseadas em carbono puro cresceram significativamente após a descoberta dos fulerenos, ocasionando um grande interesse no estudo dessas estruturas e levando à descoberta de uma série de novas formas, como os nanotubos de carbono (CNTs), os quais foram obtidos por IJIMA em 1991 como subprodutos na síntese de fulerenos [90].

A estrutura química básica dos nanotubos de carbono é formada por uma folha de grafite (grafeno) enrolada, em dimensões nanométricas, formando uma cavidade interna oca [91]. Os CNTs podem ser divididos em duas classes: os de

camada única, single walled carbon nanotubes (SWCNT) e os de camadas múltiplas, multi walled carbon nanotubes (MWCNT).

As Figuras 4 (a) e 4 (b) mostram uma representação esquemática das estruturas dos SWCNT e MWCNT.

Figura 4: Representação esquemática das estruturas (a) SWCNT e (b) MWCNT.

Devido às suas propriedades eletrônicas e óticas, alta condutividade térmica e alta resistência mecânica, os nanotubos de carbono possuem uma infinidade de aplicações, caracterizando-se como um material estratégico no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. A literatura mostra várias aplicações dos CNTs, podendo citar a utilização em materiais compósitos, sensores, filmes condutores, materiais nanobioteclológicos, entre outros [92-95].

Nanotubos de carbono (CNTs) apresentam excelente performance, alta relação superfície-volume e habilidade para promover reações de transferência de elétrons quando utilizados como modificadores de eletrodos em reações químicas. Essas propriedades tornam os CNTs extremamente atrativos para a fabricação de sensores e biossensores [96].

A seguir são relatados alguns trabalhos relacionados ao uso do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (GC-MWCNTs) nas análises de alguns compostos.

ZHAO *et al.* utilizaram o eletrodo de carbono vítreo modificado com MWCNTs juntamente com a voltametria de pulso diferencial na determinação de traços de luteolina em casca de amendoim [97]. Obtiveram um limite de detecção de $6,0 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$, os resultados mostraram que o eletrodo de GC-MWCNTs apresentou alta sensibilidade, baixo limite de detecção e boa reprodutibilidade.

JAIN e RATHER determinaram em formulação farmacêutica o gemifloxacin [98]. Para isso utilizaram a voltametria de onda quadrada juntamente com eletrodo de GC-MWCNTs, obtiveram um limite de detecção de $0,9 \text{ ng mL}^{-1}$ e um limite de quantificação de $3,0 \text{ ng mL}^{-1}$. O eletrodo modificado mostrou uma excelente atividade catalítica, alta sensibilidade e seletividade.

MORAES *et al.*, utilizando o eletrodo de GC-MWCNTs, juntamente com a voltametria de onda quadrada, determinaram 4-nitrofenol em águas [99]. O limite de detecção alcançado foi de $0,12 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, com uma recuperação de 96,5 %.

RIBEIRO *et al.* determinaram o fungicida carbenzadim em águas de rio utilizando um eletrodo GC-MWCNTs [100]. O método desenvolvido mostrou-se altamente sensível e confiável, com limites de detecção de 10,5 ppb e uma recuperação de $93 \pm 3\%$.

A escassez de trabalhos na literatura que abordam a determinação de fipronil utilizando técnicas eletroanalíticas como a voltametria foram premissas decisivas desse trabalho. As justificativas para o uso de técnicas eletroanalíticas como alternativa às cromatográficas, que são as mais utilizadas, deve-se a sua rapidez, seu menor custo e a possibilidade de análise de amostras sem pré-tratamentos, a

boa sensibilidade e seletividade, bem como a simplicidade dos procedimentos, não necessitando muitas vezes de purificações e extrações trabalhosas, como é usual nas técnicas cromatográficas, além de menos geração de resíduos e baixos volumes de solução durante a análise.

2 OBJETIVO

O objetivo principal deste trabalho de doutorado foi aliar as vantagens do emprego da voltametria de onda quadrada (SWV) com as vantagens obtidas pela utilização do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (GC-MWCNTs) que são: intensificação na intensidade da corrente, pequena sensibilidade à queda ôhmica e elevada relação corrente faradaica/corrente capacitiva e de desenvolver novas metodologias de trabalho para a análise de resíduos do inseticida fipronil em amostra de águas.

3 PARTE EXPERIMENTAL

Neste capítulo são apresentados, a instrumentação, os materiais e os reagentes utilizados nos testes de eletroatividade e no desenvolvimento de metodologia de análise para o pesticida fipronil. Também são apresentados aspectos gerais acerca da construção e caracterização dos eletrodos GPU e GC-MWCNTs utilizados e as metodologias de trabalho empregadas.

3.1 Materiais e métodos

3.1.2 Células eletroquímicas

Os experimentos de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada foram realizados em uma célula eletroquímica de vidro Pirex[®], com capacidade para 30 mL de solução, semelhante à mostrada na Figura 5. A tampa foi fabricada em Teflon[®] contendo orifícios para o posicionamento dos eletrodos de trabalho, referência e auxiliar.

Figura 5: Célula eletroquímica utilizada nos experimentos onde: A) eletrodo auxiliar, B) eletrodo de trabalho e C) eletrodo de referência.

Nos experimentos de eletrólise a potencial controlado, foi utilizada uma célula eletroquímica como mostrada na Figura 6, com dois compartimentos de capacidade de 40 mL, sendo um deles para o posicionamento do eletrodo auxiliar e no outro contendo os eletrodos de trabalho e referência. Os dois compartimentos são separados por placas de vidro sinterizado de porosidade média.

Figura 6: Célula eletroquímica utilizada na eletrólise onde: A) eletrodo auxiliar, B) eletrodo de trabalho e C) eletrodo de referência.

3.2 Reagentes e Soluções

3.2.1- Reagentes

O fipronil utilizado nos experimentos foi obtido pela purificação do pesticida comercial Regent[®] 800 WG (80%) da Bayer. Para isso foi adicionado acetona ao fipronil comercial e agitado por 5 minutos, em seguida filtrado e evaporado o solvente.

Os demais reagentes empregados nos experimentos são de pureza analítica (PA) e foram usados sem purificação prévia. Na Tabela 4, são apresentadas suas procedências.

Tabela 4- Procedência e pureza dos reagentes utilizados nos experimentos

Reagente	Procedência	Pureza %
Ácido Acético	Merck	99,9
Ácido Bórico	Synth	99,5
Ácido Clorídrico	J. T. Baker	-
Ácido Fosfórico	Synth	-
Ácido Nítrico	Qhemis	-
Ácido Sulfúrico	Mallinckrodt	99,0
Dimetilformamida	J. T. Baker	99,9
Hidróxido de Sódio	Mallinckrodt	98,0
Álcool Etílico	J. T. Baker	99,9
MWCNT	Aldrich	95,0
Nitrato de Prata	Merck	99,8

3.2.2 Soluções

A água utilizada para a preparação das soluções foi purificada em sistema Milli-Q da Millipore[®] (resistividade 18,1 MΩcm).

3.2.2.1 Solução estoque do inseticida fipronil

Devido à baixa solubilidade do fipronil em água, a solução estoque foi preparada em álcool etílico, numa concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Para realização das análises as amostras foram diluídas a partir da solução estoque.

3.2.2.2 Eletrólito suporte

Foram utilizados como eletrólito suporte uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v), e Britton-Robinson (BR) preparada a partir de 0,1 mol L⁻¹ em perclorato de sódio, e 0,04 mol L⁻¹ dos ácidos acético, bórico e fosfórico. Uma solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹ foi preparada para ajustar os valores de pH das soluções utilizadas no decorrer dos experimentos.

3.2.2.3 Amostras de águas naturais

As amostras de águas naturais foram coletadas no córrego Monjolinho, na cidade de São Carlos – SP. As amostras foram coletadas em frascos de polietileno de 500 mL e foram armazenadas em refrigerador até a realização dos experimentos.

3.2.2.4 Solução para limpeza do eletrodo de carbono vítreo

No polimento dos eletrodos de carbono vítreo (GC) utilizou-se suspensão de alumina 1 µm, 0,3 µm e 0,05 µm. Medidas de voltametria cíclica (CV) para assegurar a limpeza da superfície dos eletrodos de GC foram feitas em solução de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. Para recobrimento dos eletrodos de GC utilizou-se uma suspensão de 1 mg de MWCNTs tratados em 1mL de dimetilformamida (DMF).

3.3 Eletrodos

3.3.1 Eletrodos de trabalho

Os eletrodos de trabalho utilizados para o estudo eletroquímico do fipronil foram os eletrodos de compósito grafite-poliuretana 60% e carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de parede múltiplas.

3.3.1.1 Eletrodo de compósito de grafite-poliuretana (GPU)

No eletrodo GPU 60% (m/m), o compósito foi preparado seguindo o procedimento de MENDES [79] e os tarugos do compósito foram cedidos gentilmente pelo professor Éder T. G. Cavaleiro do Laboratório de Análise Térmica, Eletroanalítica e Química de Soluções do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo. Os tarugos apresentaram uma altura de 2,0 cm e diâmetro de 4,0 mm (área geométrica de 0,13 cm²).

3.3.1.2 Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (GC- MWCNTs)

✓ Tratamento para purificação, “quebra” e funcionalização dos MWCNTs

Os MWCNTs (diâmetro = 110-170 nm e comprimento = 5-9 µm) utilizados para a modificação dos eletrodos foram tratados e funcionalizados de acordo com procedimentos dos trabalhos de YANG *et al.* [101] e Liu e Lin [102] e caracterizados por RAZZINO [103] em seu trabalho de mestrado no nosso grupo de pesquisa.

Em um cadinho de porcelana adicionou-se 100 mg de MWCNTs. Os MWCNTs foram oxidados, em forno sob fluxo de O₂, a 400 °C por 30 min para remover partículas de carbono amorfo.

Em temperatura ambiente, em um béquer de 200 mL, os MWCNTs oxidados foram dispersos em 60 mL de HCl 6,0 mol L⁻¹ e submetidos à agitação ultrasônica por 4 horas para eliminar óxidos dos catalisadores do processo de síntese. Em seguida, foram filtrados em membrana de 45 µm e enxaguados com água ultrapura até o pH da solução se tornar neutro.

Em temperatura ambiente, em um béquer de 200 mL, os MWCNTs purificados foram dispersos em uma mistura de 10 mL de HNO₃ concentrado e 30 mL de H₂SO₄ concentrado e submetidos à agitação ultrasônica por 6 horas para

serem “cortados” e funcionalizados. Em seguida, foram filtrados em membrana de 45 μm e enxaguados com água ultrapura até o pH da solução se tornar neutro. Os MWCNTs foram guardados em dessecador por 12 horas.

✓ *Preparação da suspensão de MWCNTs*

Em um microtubo safe-lock Eppendorf® de 2 mL contendo 1 mg de MWCNTs tratados foi adicionado 1 mL de DMF. Esta mistura foi submetida à agitação ultrasônica para se obter uma suspensão.

✓ *Limpeza, condicionamento e recobrimento do eletrodo de GC*

O eletrodo de GC, diâmetro $\phi = 4,5 \text{ mm}$, foi polido em politriz com alumina 1 μm , 0,3 μm e 0,05 μm . Em seguida, para remover partículas de alumina, foi submetido à agitação ultrasônica por 5 minutos em água purificada, 5 minutos em etanol e mais 5 minutos em água purificada. Para assegurar a limpeza da superfície do eletrodo, o eletrodo foi submetido à aplicação de -2 V por 30 s, ciclado 10 vezes entre 0 e 1 V a 1 V s^{-1} e 2 vezes a 50 mV s^{-1} em H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} . Como o perfil voltamétrico apresentou-se satisfatório, sem a presença de impurezas, o eletrodo foi ciclado 10 vezes entre os potenciais de -300 e 800 mV a 50 mV s^{-1} em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} , pH = 8,0 [104]. O eletrodo foi seco com jato de nitrogênio e em seguida aplicou-se 15 μL da suspensão de MWCNTs (15 μg de MWCNTS).

3.3.2 Eletrodo de referência

O eletrodo de referência utilizado foi o de Ag/AgCl em uma solução de KCl 3 mol L^{-1} . Um fio de prata foi anodizado em uma solução de ácido clorídrico 0,3 mol L^{-1} . O fio de prata contendo o filme de cloreto de prata foi colocado em um tubo de vidro contendo solução de KCl 3 mol L^{-1} e 5,0 mg de nitrato de prata.

3.3.3 Eletrodo auxiliar

Para as determinações analíticas o eletrodo auxiliar foi um fio de platina, e para os experimentos de eletrólise foi uma placa de platina de 20,0 x 12,0 mm.

3.3.4- Eletrodo para experimento de eletrólise a potencial controlado

Para o experimento de eletrólise a potencial controlado, foi utilizado como eletrodo de trabalho um disco de carbono poroso de 20,0 mm de diâmetro, e espessura de 3,7 mm. O eletrodo de referência foi o de Ag/AgCl em uma solução de KCl 3,0 mol L⁻¹, descrito no item 3.3.2.

3.4 Metodologias de trabalho

A instrumentação empregada para a realização dos experimentos eletroquímicos consistiu de um potenciostato/galvanostato PGSTAT 30 da Autolab[®] acoplado a um microcomputador que contem o *software* GPES-4.9.

Um espectrofotômetro da Jasco modelo V-630 foi utilizado nas medidas de espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta.

Um medidor de pH da Qualxtrom, modelo 8010 foi utilizado para o ajuste dos valores de pH das soluções.

3.4.1 Espectrofotometria na região do ultravioleta

A técnica de espectrofotometria de absorção no UV-Vis foi empregada para a verificação do tempo de degradação do inseticida fipronil em meio alcalino. Os espectros de absorção óptica foram registrados no intervalo de 200 a 800 nm e as cubetas de quartzo utilizadas nos experimentos possuíam caminho ótico igual a 1,0 cm.

3.4.2 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica (CV) é uma técnica mais comumente utilizada para adquirir informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos. A eficiência desta técnica resulta na sua habilidade em 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 adsortivos. 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.

Estudos de voltametria cíclica foram realizados em uma solução de $6,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de fipronil em solução de NaOH/EtOH com o intuito de observar o seu comportamento eletroquímico utilizando o eletrodo de GPU, e em uma solução de 4×10^{-5} mol L⁻¹ para o eletrodo de GC-MWCNTs. A velocidade de varredura aplicada foi de 100 mV s⁻¹ e o intervalo de potencial estudado foi de -0,2 a 1,0 V para o eletrodo de GPU e 0,2 a 1,0 V para o GC-MWCNTs. O efeito do pH foi estudado com o intuito de avaliar o número de prótons envolvidos no processo eletródico. Estudo em diferentes velocidades de varredura também foram realizados para analisar o tipo de controle no transporte de massa.

3.4.3 Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada (SWV) foi utilizada para os estudos das reações de oxidação do fipronil, bem como o desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação deste inseticida em amostras de águas naturais. Os experimentos foram realizados com os eletrodos GPU e GC-MWCNTs, e caracterizaram-se pelo estudo da variação dos parâmetros da técnica, dentre eles, a

frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), amplitude do pulso (a) e incremento de varredura (ΔE_s).

Para determinação analítica do composto, curvas analíticas foram construídas em intervalos de concentração estabelecidos de acordo com o interesse analítico. A sensibilidade da metodologia foi avaliada pelos cálculos dos limites de detecção e de quantificação e, experimentos de recuperação foram realizados.

3.4.4 Aplicação da metodologia para a determinação do inseticida fipronil em águas naturais

A metodologia desenvolvida foi aplicada para amostras de águas naturais. Estas amostras foram coletadas do córrego Monjolinho, que fica no município de São Carlos – SP.

As amostras de águas naturais foram coletadas e armazenadas em geladeira, sem nenhuma etapa de tratamento. Para as análises eletroquímicas, estas amostras foram utilizadas para preparação das soluções de eletrólito suporte, sendo posteriormente utilizadas para a construção de curvas de trabalho e curvas de recuperação para o inseticida fipronil. As medidas foram realizadas em triplicata.

3.4.5 Eletrólise a potencial controlado

A eletrólise a potencial controlado foi utilizada para a determinação do número de elétrons envolvidos na reação de oxidação do fipronil.

As eletrólises foram realizadas adicionando-se à célula eletroquímica 40,0 mL de uma solução de fipronil $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em meio de BR 0,1 mol L⁻¹ (10% etanol) pH = 8,0, que foi agitada constantemente. A seguir um potencial constante de 1,2 V foi aplicado ao sistema por aproximadamente 2 horas.

Antes e após cada eletrólise, foram realizadas medidas de voltametria de onda quadrada para o acompanhamento do decaimento da corrente de pico em função do tempo utilizando-se o eletrodo de GC-MWCNTs, e a carga resultante foi calculada integrando-se as curvas obtidas. A partir destes resultados foi, então, determinado o número de elétrons envolvidos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos para o comportamento eletroquímico do fipronil, utilizando os eletrodos compósitos 60 % grafite-poliuretana (GPU) e um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (GC-MWCNTs). São mostradas as metodologias desenvolvidas para a determinação do inseticida fipronil, para cada eletrodo citado, utilizando a voltametria de onda quadrada (SWV).

As metodologias desenvolvidas para o inseticida fipronil utilizando os eletrodos GPU e GC-MWCNTs foram aplicadas na determinação deste composto em amostras de águas naturais.

4.1 Medidas espectrofotométricas do fipronil

O tempo de degradação do inseticida fipronil foi estudado por meio da técnica de espectrofotometria de absorção no UV-Vis.

Foram realizados experimentos no eletrólito suporte (NaOH), com o propósito de verificar o tempo de degradação deste pesticida nesta solução.

As medidas ocorreram variando-se o tempo em função da absorbância, onde se pôde medir o tempo de degradação do fipronil na solução de NaOH. A concentração de fipronil utilizada foi de $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em 3,0 mL de eletrólito suporte.

4.1.1 Medidas espectrofotométricas para o fipronil utilizando NaOH

O espectro de absorção óptica do fipronil em solução de NaOH, caracterizou-se por bandas em 337 nm e 280 nm. O sinal monitorado foi o pico em 337 nm, uma

vez que este apresentou decaimento com o tempo. A Figura 7 representa os espectros de absorção para o fipronil e suas respectivas bandas.

Figura 7: Espectros de absorção na região do UV-vis de uma solução de fipronil $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão NaOH 0,1 mol L⁻¹ (10% etanol); cubeta de 1,0 cm de caminho óptico.

A Figura 8 mostra o gráfico da variação da absorbância com o tempo. Verificou-se que a banda em 337 nm sofreu uma diminuição progressiva com o tempo, e após 20 minutos o sinal medido diminuiu pela metade.

Esta diminuição na absorbância medida indica uma degradação do fipronil em solução de NaOH. Esta degradação pode ocorrer tanto por hidrólise como por fotólise e a sua origem deve ser motivo para futuras investigações.

Figura 8: Representação do sinal de absorbância na região do UV-vis vs. o tempo para uma solução de fipronil $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (10% etanol).

Assim, a solução estoque foi preparada em etanol, e diluída no eletrólito de interesse apenas momentos antes do experimento eletroquímico. Este procedimento minimizou a possibilidade de degradação do pesticida durante os experimentos voltamétricos.

4.2 Estudo do comportamento voltamétrico do inseticida fipronil sobre o eletrodo de compósito 60 % grafite-poliuretana (GPU)

Foram realizados experimentos de voltametria cíclica (CV) e de voltametria de onda quadrada (SWV) com o eletrodo de GPU para a determinação do fipronil. As condições experimentais foram otimizadas visando-se desenvolver uma metodologia para a determinação do fipronil em amostras reais.

Inicialmente, foram realizados testes de eletrólito suporte e de pH, utilizando a CV, para escolher o meio em que se obtinha uma melhor resposta eletroanalítica. Também foram obtidas informações úteis sobre o processo de oxidação.

Posteriormente, foi realizado todo um estudo detalhado utilizando a SWV, para a otimização do sistema, e assim, definir um método eletroanalítico para a determinação do fipronil.

4.2.1 Voltametria Cíclica (CV)

4.2.1.1 Perfil voltamétrico do fipronil

Os estudos realizados por CV utilizando o eletrodo de GPU mostraram que o fipronil apresenta um pico de oxidação no potencial de 0,70 V (vs. $E_{Ag/AgCl}$). A Figura 9 apresenta os voltamogramas cíclicos para o eletrodo GPU na ausência e na presença de fipronil na concentração de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O eletrólito suporte foi uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v) (NaOH/EtOH).

Figura 9: Voltamogramas cíclicos do eletrodo GPU (—) em eletrólito e (—) em solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrólito: solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} .

Pode-se observar que o fipronil apresenta um único pico de oxidação com características de processo irreversível, ou seja, não apresenta pico de redução no sentido inverso.

4.2.1.2 Estudo do efeito da Velocidade de Varredura

O experimento de variação da velocidade de varredura foi realizado no intervalo de 25 a 300 mV s^{-1} , com o objetivo de avaliar o grau de reversibilidade e a natureza do transporte do material eletroativo para a superfície do eletrodo.

Os voltamogramas cíclicos do fipronil em função da velocidade de varredura podem se observados na Figura 10, e a Tabela 5 contém os valores das correntes e dos potenciais de pico para a oxidação do fipronil. Com o objetivo de evitar a passivação do eletrodo pela adsorção de produtos de reação, os voltamogramas cíclicos para diferentes velocidades de varredura foram obtidos efetuando-se o polimento em feltro umedecido com água a cada medida.

Figura 10: Voltamogramas cíclicos de uma solução de fipronil $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Velocidades de varredura: (—) 25, (—) 50, (—) 75, (—) 100, (—) 150, (—) 200, (—) 250 e (—) 300 mV s^{-1} . Eletrodo de trabalho: GPU.

Observou-se que o fipronil apresentou um pico de oxidação com característica de processo irreversível, pois não há presença de picos reversos.

Tabela 5- Valores de corrente de pico (I_p) e dos potenciais de pico (E_p) para a oxidação do fipronil

$v / \text{mV s}^{-1}$	E_p / Mv	$I_p / \mu\text{A}$
25	694	4,5
50	720	8,2
75	726	9,4
100	730	10,2
150	734	13,2
200	742	15,1
250	760	19,6
300	761	23,4

Com o aumento da velocidade de varredura há um deslocamento do potencial de pico para regiões mais positivas, sendo este fato característico de processos irreversíveis [105].

A corrente de pico varia linearmente com a velocidade de varredura no intervalo de 25 a 300 mV s^{-1} , indicando que a velocidade do processo é controlada por transferência eletrônica, como mostra a Figura 11. Este comportamento é um indicativo que o processo é controlado pela adsorção e não pela difusão das espécies à superfície eletródica.

O gráfico de logaritmo da intensidade da corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura, Figura 12, apresentou comportamento linear com inclinação de 0,62, confirmando a natureza do transporte de massa, que

segundo a literatura é igual a 0,50 para processos difusionais e aproxima-se de 1,0 para processos controlados por adsorção [106].

Figura 11: Dependência da corrente de pico vs. velocidade de varredura para o fipronil sobre o eletrodo de GPU ($r = 0,995$).

Figura 12: Dependência do logaritmo da intensidade de corrente de pico vs. o logaritmo da velocidade de varredura para o fipronil sobre o eletrodo de GPU ($r = 0,991$ e $b = 0,62$).

Portanto, o processo de oxidação do fipronil apresenta comportamento de um sistema irreversível e controlado por adsorção das moléculas na superfície do eletrodo.

4.2.1.3 Efeito do pH no comportamento do fipronil

Um estudo do efeito do pH do meio na resposta voltamétrica do fipronil, foi realizado em tampão Britton-Robinson (BR) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no intervalo de 4,0 a 11,0, com o objetivo de avaliar o número de prótons envolvidos na reação de oxidação do fipronil.

A Figura 13 apresenta os voltamogramas cíclicos e a Tabela 6 os valores de corrente de pico e potencial de pico em função do pH para a oxidação do fipronil.

Figura 13: Voltamogramas cíclicos para uma solução de fipronil $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Valores de pH: (—) 4,0, (—) 5,0, (—) 6,0, (—) 7,0, (—) 8,0, (—) 9,0 e (—) 11,0. Eletrodo de trabalho: GPU. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Pela Figura 13 pode-se observar que os voltamogramas do fipronil com valores abaixo de pH 7,0 apresentam perfis assimétricos e próximos da reação de desprendimento de oxigênio, o que os torna pouco adequados para fins analíticos.

Verifica-se pela Tabela 6 que os potenciais de pico deslocaram-se para valores menos positivos com o aumento do pH, indicando que a transferência eletrônica é dependente do pH.

Tabela 6- Valores de corrente (I_p) e potencial de pico (E_p) para a oxidação do fipronil em função do pH do meio

pH	$I_p / \mu A$	E_p / V
4	22,5	1,39
5	17,5	1,32
6	17,4	1,21
7	21,0	1,13
8	18,5	1,02
9	19,8	0,950
11	32,0	0,782

A Figura 14 apresenta um gráfico construído a partir dos valores de corrente de pico e potencial de pico em função do pH para a oxidação do fipronil.

Observou-se pela Figura 14 que em meio mais básico, pH mais elevado, se obteve uma resposta com maior intensidade de corrente de pico. Foi observado também uma relação linear entre o potencial de pico e o pH ($r = 0,999$ e $b = 0,082 V$).

Figura 14: Gráficos de (—) corrente de pico e (—) potencial de pico em função do pH obtidos da Tabela 6.

O número de prótons envolvidos (P) na oxidação do fipronil podê ser calculado pela equação:

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta pH} = \frac{59 P}{an} \quad (1)$$

Substituindo-se o valor do coeficiente angular da relação de E_p vs. pH, pôde-se estimar o número de prótons envolvidos no processo de oxidação do fipronil. Para isto, utilizou-se o valor de an (1,06), o qual foi calculado por meio do coeficiente angular da relação de E_p vs. $\log f$ que será apresentado na seção 4.2.2.2, obtém-se que o número de prótons envolvidos na reação é de aproximadamente igual a 1.

Para fins analíticos optou-se em trabalhar em meio mais básico, pois os voltamogramas apresentaram picos de oxidação simétricos e maior intensidade de corrente de pico. A Figura 15 apresenta um gráfico da variação dos eletrólitos suporte.

Figura 15: Voltamogramas cíclicos para a oxidação do fipronil sobre GPU ($8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em 20% etanol, pH = 12,0), nos seguintes eletrólitos suporte: (—) tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (—) tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e (—) NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Desta forma, para o desenvolvimento de uma nova metodologia eletroanalítica foi escolhido como eletrólito suporte uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v), onde apresentou uma melhor resposta de oxidação do fipronil com pico melhor definido e intensidade de corrente maior.

4.2.2 Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

4.2.2.1 Separação das componentes das correntes

A corrente, em voltametria de onda quadrada, é uma resultante (ΔI) entre as correntes de varredura no sentido direto (I_d) e as correntes de varredura, no sentido inverso (I_r):

$$\Delta I = I_d - I_r \quad (2)$$

A separação das correntes é uma ferramenta utilizada para o diagnóstico do tipo de reação do sistema. Assim, o critério para analisar o grau de reversibilidade é a separação da corrente resultante em suas três componentes.

Na Figura 16 está apresentado um voltamograma de onda quadrada com as diferentes correntes medidas. Observa-se que a corrente resultante coincide com a corrente direta e que a corrente reversa não apresenta pico. Este comportamento é o esperado para um sistema totalmente irreversível.

Os voltamogramas de onda quadrada obtidos para o fipronil, apresentaram um comportamento semelhante aqueles obtidos por voltametria cíclica, com somente um pico de oxidação irreversível em torno de 0,70 V (vs. $E_{\text{Ag/AgCl}}$).

Figura 16: Voltamograma de onda quadrada de uma solução de $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de fipronil, mostrando as componentes de corrente (—) resultante, (—) direta e (—) reversa. Eletrodo de trabalho: GPU, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

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 dos parâmetros da SWV, como

frequência (f), amplitude do pulso (a) e incremento de varredura (ΔE_s), buscando, desta forma, o melhor sinal analítico.

4.2.2.2 *Variação da frequência de aplicação de pulsos de potencial (f)*

A frequência é uma das variáveis mais importantes na SWV, pois é ela quem determina a intensidade dos sinais, e consequentemente, a sensibilidade que se deseja obter em uma análise. A variação da frequência de aplicação de pulsos de potencial permite obter informações importantes a respeito do grau de reversibilidade, do número de elétrons envolvidos (no caso de sistemas reversíveis) e do valor de αn (sistemas irreversíveis).

Desta forma, um estudo da variação da frequência (f) de uma solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH/EtOH foi realizado no intervalo de 10 a 100 s^{-1} , utilizando amplitude de pulso (a) de 50 mV e um incremento (ΔE_s) de 2 mV.

A Figura 17 mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos para o fipronil utilizando o eletrodo de GPU em função da variação da frequência e, na Tabela 7, são apresentados os valores de correntes e potenciais de pico para o processo.

Pode-se verificar pela Figura 17, que o aumento da frequência (f) provocou um aumento na intensidade da corrente de pico (I_p). Portanto a frequência de trabalho escolhida foi a de 100 s^{-1} onde obtêm-se um voltamograma bem definido, com maior corrente de pico.

Figura 17: Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Frequências: (—) 10, (—) 20, (—) 40, (—) 60, (—) 80, (—) 100 s^{-1} . Eletrodo de trabalho: GPU. $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Com os resultados da Tabela 7, foi possível traçar os gráfico de corrente de pico em função do aumento da frequência.

Tabela 7- Variação do potencial de pico (E_p) e corrente de pico (I_p) com a frequência (f) para o pico de oxidação da solução de fipronil, referente à Figura 17

f / s^{-1}	E_p / mV	$I_p / \mu\text{A}$
10	700	0,79
20	717	1,38
40	727	2,02
60	732	3,02
80	734	4,26
100	738	4,98

A Figura 18 mostra o comportamento da corrente de pico de oxidação do fipronil em função da frequência da onda quadrada para o fipronil.

Figura 18: Variação da corrente de pico (I_p) em função da frequência da onda quadrada (f) para a solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH-EtOH, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. ($r = 0,998$).

De acordo com a teoria da voltametria de onda quadrada, para sistemas totalmente irreversíveis com processos controlados pela adsorção das espécies, a intensidade da corrente varia linearmente com a frequência de aplicação dos pulsos de potencial [108]. Podemos observar pela Figura 18 que a intensidade da corrente de pico varia linearmente com a frequência da onda quadrada, mostrando que o processo de oxidação do fipronil, sobre o eletrodo GPU, é irreversível e controlado por adsorção.

Para sistemas totalmente irreversíveis, nos quais não ocorre adsorção e a corrente é controlada por difusão, existirá uma relação linear entre a corrente de pico e a raiz quadrada da frequência. A Figura 19 mostra a não linearidade entre a corrente de pico de oxidação do fipronil e a raiz quadrada da frequência,

confirmando a irreversibilidade da reação, bem como a adsorção de reagentes na superfície do eletrodo.

Figura 19: Variação da corrente de pico (I_p) em função da raiz quadrada da frequência ($f^{1/2}$) para a solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH-EtOH, $a = 50\text{mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Sabendo-se que a espécie é adsorvida na superfície do eletrodo e utilizando-se os critérios de diagnósticos para a técnica de voltametria de onda quadrada, foi possível determinar o valor de αn para o sistema. De acordo com os critérios de diagnósticos da voltametria de onda quadrada à dependência dos potenciais de pico (E_p) com o logaritmo da frequência ($\log f$) para reações totalmente irreversíveis com reagentes e/ou produtos adsorvidos é linear e apresenta uma inclinação de [109]:

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta \log f} = \frac{2,3 RT}{\alpha n F} \quad (3)$$

onde: E_p é o potencial de pico, $\log f$ é o logaritmo da frequência, α é o coeficiente de transferência de elétrons e n o número de elétrons envolvidos na reação eletródica.

A Figura 20 mostra o comportamento do potencial de pico (E_p) em função do logaritmo da frequência ($\log f$) para o fipronil.

Figura 20: Variação do potencial de pico (E_p) em função do logaritmo da frequência ($\log f$) para a solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH-EtOH, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. ($r = 0,997$ e $b = 55,6 \text{ mV}$).

Observa-se um comportamento linear com inclinação de $55,6 \text{ mV}$. Aplicando-se a equação 3 tem-se que an é igual a $1,06$. Estes resultados sugerem que a oxidação do fipronil na superfície do eletrodo de GPU envolve um elétron e um próton com adsorção de espécies.

4.2.2.3 Variação da amplitude de pulso (a)

A amplitude de pulso é um dos parâmetros da SWV a serem otimizados, pois para sistemas totalmente irreversíveis, a sensibilidade analítica é influenciada pela variação da amplitude.

A Figura 21 mostra o efeito da variação deste parâmetro para valores entre 10 e 50 mV .

Figura 21: Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Amplitudes: (—) 10, (—) 20, (—) 30, (—) 40 e (—) 50 mV. Eletrodo de trabalho: GPU. $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Ao variar a amplitude no intervalo de 10 a 50 mV, observa-se um aumento linear na intensidade da corrente de pico, Figura 22, e assim optou-se por utilizar uma amplitude de 50 mV nos experimentos com fipronil. Para amplitudes maiores causaram uma deformação dos picos observados.

Figura 22: Variação linear da corrente de pico de oxidação do fipronil em função da amplitude de pulso.

4.2.2.4 Variação do incremento de varredura (ΔE_s)

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, portanto melhorar a sensibilidade do método. No entanto, para incrementos maiores podem ocorrer alargamentos nos picos obtidos, e assim a resolução do voltamograma pode ser comprometida.

Na Figura 23 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada para uma solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH/EtOH ao variar o incremento de varredura de 2 a 10 mV.

Figura 23: Voltamogramas de SWV de uma solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Incremento de varredura: (—) 2, (—) 4, (—) 6, (—) 8 e (—) 10 mV. Eletrodo de trabalho: GPU. $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$.

Pela análise da Figura 23, verifica-se que, ao variar o incremento de varredura, há um aumento da resposta de corrente, porém observa-se um alargamento dos picos, o qual está relacionado com a perda na seletividade. Desta

forma foi escolhido um incremento de 2 mV por ser considerado como melhor valor de incremento de varredura.

A Tabela 8 apresenta um resumo da otimização dos parâmetros da voltametria de onda quadrada: frequência de pulsos, amplitude de pulsos e incremento de varredura, o intervalo de valores estudados e os valores escolhidos.

Tabela 8- Parâmetros da voltametria de onda avaliados, intervalos de estudo e valores escolhidos

Parâmetro	Intervalo de estudo	Valor escolhido
Frequência	10-100 s ⁻¹	100 s ⁻¹
Amplitude	10-50 mV	50 mV
Incremento	2-10 mV	2 mV

4.2.3 Construção da curva analítica

Depois de estabelecidas as melhores condições experimentais para a determinação do inseticida fipronil foram obtidos três voltamogramas variando-se a concentração de fipronil no intervalo de $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $14,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Na Figura 24, são mostrados os voltamogramas de onda quadrada registrados neste intervalo de concentração e a Tabela 9, são apresentados os valores da média das correntes de pico para cada concentração.

Figura 24: Voltamogramas de onda quadrada variando-se a concentração de fipronil adicionada. Concentrações: (—) 0, (—) 2,0, (—) 4,0, (—) 6,0, (—) 8,0, (—) 10,0, (—) 12,0 e (—) 14,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹. Eletrodo de trabalho: GPU. $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 2$ mV e $f = 100$ s⁻¹.

Pode-se observar que a corrente de pico aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração de fipronil e que ocorre um pequeno deslocamento dos potenciais de pico.

Tabela 9- Valores da concentração de fipronil adicionada e a média das correntes de pico referentes à curva analítica

$C_{\text{fipronil}} / 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$I_p \text{ média} / \mu\text{A}$
2,0	0,50
4,0	0,83
6,0	1,20
8,0	1,65
10,0	2,00
12,0	2,43
14,0	2,48

A Figura 25 corresponde à curva analítica, onde foi observado um aumento linear da corrente de pico com a concentração no intervalo de $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $12,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A equação da reta para a curva analítica é dada pela equação $I_p (\mu\text{A}) = 3,9 \times 10^{-8} + 0,02 \times C_{\text{fipronil}} (10^{-5} \text{ mol L}^{-1})$ com coeficiente de correlação linear (r) igual a 0,998.

Figura 25: Dependência da corrente de pico com a concentração para o fipronil, sobre eletrodo de GPU ($r = 0,998$).

Para concentrações a cima de $12,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, a corrente de pico torna-se praticamente constante. Isto é provavelmente devido à saturação da superfície eletródica pelas espécies adsorvidas.

4.2.3.1 Cálculos dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Para a determinação do limite de detecção (LD), que é a menor concentração de um analito detectada, mas não quantificada, utilizou-se desvio padrão da média

aritmética de dez voltamogramas do branco respectivo a cada amostra, e a relação [110]:

$$LD = \frac{3S_b}{b} \quad (4)$$

onde S_b é o desvio padrão da média aritmética da correntes do voltamogramas do branco, no potencial equivalente ao do pico do fipronil e b o valor do coeficiente angular da curva analítica.

Além do limite de detecção, o limite de quantificação (LQ) foi também avaliado. O LQ mostra o desempenho ou a sensibilidade do instrumento utilizado para análise. O valor de LQ é definido como sendo o menor valor determinado para a metodologia proposta onde se considera que o limite do equipamento ainda não foi atingido, mas a confiabilidade atingida é de 99%. Considerando-se a metodologia proposta o valor de LQ é dado pela relação [110]:

$$LQ = \frac{10S_b}{b} \quad (5)$$

Assim os valores de LD e LQ obtidos para o fipronil foram: $3,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ou $139 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (ppb) e $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ou $480 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (ppb), respectivamente.

Os valores de limite de detecção e quantificação obtidos com o eletrodo de GPU estão abaixo do limite máximo de fipronil permitido pela Environmental Protection Agency (EPA) [111].

As medidas de repetibilidade (*intra-day*) foram realizadas em uma série de 5 medidas ($n = 5$) numa mesma solução, na concentração de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de fipronil, sendo o coeficiente de variação de 1,30 %. Para os testes de reprodutibilidade (*inter-day*) do método foram efetuadas 5 medidas ($n = 5$) em soluções diferentes, com concentração de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de fipronil, onde o coeficiente de variação foi de 3,30 %. Para cada situação obteve-se os valores de corrente de pico (I_p), calculou-se a média e o desvio padrão, o qual está indicado pelos coeficientes de variação em porcentagem.

4.2.4 Determinação do fipronil em águas naturais

Após a construção da curva analítica do fipronil sobre o eletrodo de GPU em água pura, foram realizados os estudos utilizando-se as águas coletadas no córrego Monjolinho, em São Carlos - SP.

Como não foi realizado um teste de interferentes, a quantidade de fipronil recuperada não pode ser obtida direto da curva analítica. Deste modo, as amostras foram dopadas com uma quantidade conhecida de fipronil e utilizando o método de adição de padrão para determinar experimentalmente a quantidade de fipronil adicionada.

Foram feitas três determinações. Essa quantidade foi calculada pela extrapolação, no eixo x, da reta do gráfico de I_p média em função da concentração do padrão adicionado.

A Figura 26 apresenta os voltamogramas de recuperação da amostra de água do córrego analisada pela metodologia eletroanalítica desenvolvida. Os valores de recuperação para o fipronil estão apresentados na Tabela 10.

Figura 26: (A) Voltamograma de onda quadrada de uma amostra de água de córrego fortificada com fipronil em solução NaOH 0,1 mol L⁻¹ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. Amostra de água contaminada artificialmente (—),adições de fipronil nas concentrações de: (—) 10, (—) 20, (—) 30 e (—) 40 $\times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Curvas de recuperação aparente ($r = 0,998$).

O valor de recuperação obtido foi de $(96,0 \pm 2,0) \%$, com R. S. D. de 1,95 % para $n = 3$.

Tabela 10- Resultados das curvas de recuperação para o fipronil, obtidos em amostras de águas naturais. Média dos experimentos realizados em triplicata

Quantidade Adicionada	Quantidade Recuperada	% de Recuperação
$5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$4,78 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$96,0 \pm 2,0$

Para $n = 3$

A metodologia proposta apresentou sensibilidade, rapidez e eficiência na análise do inseticida fipronil em amostras de água com resultados satisfatórios. O efeito de matriz foi mínimo, o que resultou em bons resultados de recuperação.

4.3 Eletrodo GC-MWCNTs

A investigação da reação de oxidação eletroquímica do fipronil foi iniciada por meio do estudo voltamétrico sobre o eletrodo GC-MWCNTs. Foram realizados experimentos de voltametria cíclica e de onda quadrada para a determinação do fipronil. As condições experimentais foram otimizadas visando-se desenvolver uma metodologia para a quantificação do inseticida em águas naturais.

Por meio da análise dos parâmetros eletroquímicos foi possível conhecer o grau de reversibilidade da reação e o número de prótons consumidos nas etapas de oxidação da molécula estudada.

4.3.1 Efeito eletrocatalítico do eletrodo de GC-MWCNTs

A Figura 27 mostra a imagem do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas.

Figura 27: Imagem de microscopia eletrônica de varredura – FEG do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas.

A Figura 28 mostra os voltamogramas de onda quadrada do eletrodo de carbono vítreo (GC) e do eletrodo de GC-MWCNTs para uma solução de fipronil

$6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v).

Figura 28: Voltamogramas de onda quadrada para uma solução de fipronil de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20%. Eletrodos: (—) GC-MWCNTs e (—) GC. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Pode-se observar pela Figura 28 que o eletrodo de GC-MWCNTs apresentou maior intensidade de corrente e um deslocamento de potencial para valores menos positivos.

4.3.2 Voltametria Cíclica (CV)

4.3.2.1 Perfil Voltamétrico do fipronil

Estudos realizados previamente utilizando a CV mostraram que no voltamograma para uma solução $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de fipronil sobre o eletrodo GC-MWCNTs foi observado somente um pico de oxidação em torno de $0,5 \text{ V}$ (vs. $E_{\text{Ag/AgCl}}$).

A Figura 29 apresenta os voltamogramas cíclicos para o eletrodo GC-MWCNTs na ausência e na presença de fipronil na concentração de $4,1 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. O eletrólito suporte foi uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v) (NaOH/EtOH).

Figura 29: Voltamogramas cíclicos do eletrodo GC-MWCNTs (—) em eletrólito e (—) em solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Eletrólito: solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹.

4.3.1.2 Variação da velocidade de varredura

Um estudo da variação da velocidade de varredura sobre o potencial de pico (E_p) e corrente de pico (I_p), de uma solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em NaOH 0,1 mol L⁻¹ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v) foi realizado, utilizando-se a voltametria cíclica em eletrodo de GC-MWCNTs.

O experimento da velocidade de varredura foi realizado no intervalo de 10 a 250 mV s⁻¹, com o objetivo de avaliar o grau de reversibilidade e a natureza do transporte do material eletroativo para a superfície do eletrodo.

Os voltamogramas cíclicos do fipronil em função da velocidade de varredura podem ser observados na Figura 30. A Tabela 11 contém os valores das correntes de pico e dos potenciais de pico para a oxidação do fipronil.

Figura 30: Voltamogramas cíclicos de uma solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Velocidades de varredura: (—)10, (—)20, (—)30, (—)50, (—)75, (—)100, (—)150, (—)200 e (—)250 mV s^{-1} . Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs.

Observou-se que o fipronil apresentou um pico de oxidação com características de processo irreversível, pois não há presença de pico reverso.

Com o aumento da velocidade de varredura há um deslocamento dos potenciais de pico para regiões mais positivas. Sendo este fato característico de processos irreversíveis.

Tabela 11- Valores da corrente de pico (I_p) e dos potenciais de pico (E_p) para a oxidação do fipronil

v (mV s^{-1})	I_p (μA)	E_p (mV)
10	2,46	470
20	2,50	490
30	5,64	500
50	8,50	520
75	9,90	530
100	14,3	540
150	18,3	550
200	21,1	560
250	21,1	560

A natureza do transporte de massa que governa o processo de oxidação estudado pode ser conhecida pela relação existente entre I_p vs. v , a qual é mostrada na Figura 31.

Figura 31: Dependência da corrente de pico vs. a velocidade de varredura para o fipronil sobre o eletrodo de GC-MWCNTs.

Pode-se observar que há uma relação não linear entre a corrente de pico e a velocidade de varredura, isto sugere que a etapa determinante da velocidade é controlada pela difusão das espécies na superfície do eletrodo.

A linearidade da relação logaritmo da intensidade de corrente em função do logaritmo da velocidade de varredura para o fipronil e o valor do coeficiente angular (b) do gráfico $\log I_p$ vs. $\log v$ de 0,77, mostrado na Figura 32, confirma a natureza do transporte de massa, que segundo a literatura é igual 0,50 para processos difusionais e próximos de 1 para processos controlados por adsorção.

Figura 32: Dependência do logaritmo da intensidade de corrente de pico vs. o logaritmo da velocidade de varredura para o fipronil sobre o eletrodo de GC-MWCNTs. ($b = 0,77$ e $r = 0,994$).

Portando, os estudos por voltametria cíclica mostraram que o fipronil apresenta comportamento irreversível e controlado por difusão e adsorção.

4.3.2 Voltametria de Onda Quadrada

Os voltamogramas de onda quadrada apresentaram um comportamento semelhante àqueles obtidos por voltametria cíclica, apresentando um pico de oxidação em torno de 0,5 V vs. $E_{\text{Ag/AgCl}}$.

Na Figura 33 está apresentado um voltamograma de onda quadrada para o fipronil em GC-MWCNTs com a separação das componentes de corrente.

Figura 33: Voltamograma de onda quadrada de uma solução de $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de fipronil, mostrando as componentes de corrente (—) resultante, (—) direta e (—) reversa. Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Nota-se pela Figura 33 que a intensidade da corrente resultante apresenta um valor próximo da corrente direta, portanto o fipronil apresenta um comportamento de um sistema irreversível sobre o eletrodo de GC-MWCNTs.

4.3.2.1 Efeito do pH no comportamento do fipronil

O efeito da variação da acidez na resposta voltamétrica do fipronil no eletrodo de GC-MWCNTs foi estudado em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no intervalo de 6 a 10, com o objetivo de avaliar o número de prótons envolvidos na oxidação do fipronil.

A Figura 34 apresenta os voltamogramas de onda quadrada para uma solução de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de fipronil sobre eletrodo de GC-MWCNTs para os valores de pH estudados, e a Tabela 12 os valores das correntes e potenciais de pico para a oxidação do fipronil.

Figura 34: Voltamogramas de onda quadrada para uma solução de fipronil $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Valores de pH: (—) 6,0, (—) 7,0, (—) 8,0, (—) 9,0 e (—) 10,0. Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs. $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Verificou-se que ao aumentar o pH, os valores de potencial do pico do fipronil deslocaram-se para valores menos positivos, revelando que a transferência eletrônica é dependente do pH do meio.

Tabela 12- Valores de corrente de pico (I_p) e dos potenciais de pico (E_p) para a oxidação do fipronil

pH	$I_p / \mu A$	E_p / V
6	7,86	1,02
7	24,2	0,945
8	5,88	0,909
9	19,0	0,832
10	26,1	0,770

Com dados da Tabela 12 construiu-se o gráfico da corrente de pico (I_p) e do potencial do pico (E_p) em função do pH do meio, Figura 35.

Figura 35: Gráficos de (—) corrente de pico e (—) potencial de pico em função do pH obtidos da Tabela 12.

Observou-se pela Figura 35 que em meio mais básico se obteve uma resposta com maior intensidade de corrente de pico. Foi observado também uma relação linear entre o potencial de pico e o pH ($r = 0,996$ e $b = 0,059$ V).

O número de prótons envolvidos na oxidação do fipronil pôde ser calculado pela Equação 1. Para isto, utilizou-se o valor de an (1,3), o qual foi calculado por meio do coeficiente angular da relação de E_p vs. $\log f$ o qual será apresentado na seção 4.3.2.2. Assim, obteve-se a participação de 1 próton por molécula de fipronil.

Como o coeficiente angular foi igual a 59 mV para a oxidação do fipronil, constata-se que estão envolvidos no processo de oxidação do composto um número igual de prótons e elétrons.

4.3.2.2 Efeito da variação da frequência

Um estudo da variação da frequência (f) de uma solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em NaOH/EtOH foi realizado no intervalo de 20 a 100 s⁻¹, utilizando amplitude de pulso (a) de 50 mV e um incremento (ΔE_s) de 2 mV.

A Figura 36 mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos para o fipronil em função da variação da frequência e na Tabela 13 são apresentados os valores de correntes e potenciais de pico para o processo.

Os dados mostram que aumentando-se o valor de f , há um aumento proporcional dos valores de corrente de pico (I_p).

Figura 36: Voltamogramas de SWV de uma solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Frequências: (—) 20, (—) 40, (—) 60, (—) 80 e (—) 100 s^{-1} . Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs. $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

O crescimento contínuo da I_p com o aumento da frequência de aplicação dos pulsos de potencial mostrou que é muito vantajosa a escolha das frequências mais elevadas para este trabalho. Com isto, seleccionou-se a frequência de 100 s^{-1} para os estudos realizados.

Tabela 13- Variação do potencial de pico (E_p) e corrente de pico (I_p) com a frequência (f) para o pico de oxidação da solução de fipronil, referente à Figura 36

f / s^{-1}	E_p / mV	$I_p / \mu\text{A}$
20	458	3,70
40	470	6,43
60	478	9,66
80	482	11,63
100	490	14,00

Com os resultados da Tabela 13, foi possível traçar o gráfico de corrente de pico em função do aumento da frequência.

A Figura 37 mostra o comportamento da corrente de pico de oxidação do fipronil em função da frequência da onda quadrada para o fipronil

Figura 37: Variação da corrente de pico (I_p) em função da frequência da onda quadrada (f) para a solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH-EtOH sobre GC-MWCNTs. $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. ($r = 0,997$).

De acordo com a teoria, para sistemas totalmente irreversíveis com processos controlados por adsorção, a intensidade de corrente varia linearmente com a frequência de aplicação dos pulsos de potencial. Observa-se que a intensidade de corrente de pico varia linearmente com a frequência de onda quadrada, mostrando que o processo de oxidação do fipronil sobre o eletrodo GC-MWCNTs é irreversível e controlada por adsorção.

Para sistemas totalmente irreversível, onde não ocorre adsorção e a corrente é controlada por difusão, existirá uma relação linear entre a corrente de pico e a raiz quadrada da frequência.

A Figura 38 revela uma relação não linear em função da raiz quadrada da frequência ($f^{1/2}$), o que sugere a existência do fenômeno de adsorção.

Figura 38: Variação da corrente de pico (I_p) em função da raiz quadrada da frequência ($f^{1/2}$) para a solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH-EtOH sobre GC-MWCNTs. $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Na Figura 39 está apresentado o comportamento do potencial de pico em função do logaritmo da frequência para o fipronil. Observou-se um comportamento linear com coeficiente angular de $0,040 \text{ V}$. Aplicando-se a Equação 3, tem-se an igual a 1,1.

Figura 39: Dependência do potencial de pico com o logaritmo da frequência da onda quadrada sobre GC-MWCNTs. ($r = 0,999$, $b = 40,0 \text{ mV}$).

Considerando $\alpha = 1,0$, o número de elétrons para a etapa determinante da velocidade da reação é de aproximadamente 1. O número de elétron estimado deverá ser comprovado por meio de eletrólises exaustivas.

4.3.2.3 Efeito da variação da amplitude de pulso (a)

A influência da variação da amplitude da onda quadrada na corrente de pico de oxidação do fipronil foi analisada e podem ser vistos na Figura 40. A variação de amplitude foi realizada no intervalo de 25 a 100 mV. Os valores de frequência e incremento de varredura foram fixados em 100 s^{-1} e 2 mV, respectivamente.

Figura 40: Voltamogramas de SWV de uma solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Amplitudes: (—) 25, (—) 50, (—) 75 e (—) 100 mV. Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs. $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A variação da amplitude mostrou que as correntes de pico aumentaram com o aumento da amplitude até 75 mV. A partir do valor de amplitude de 50 mV, há um deslocamento de potencial. Desta forma, o valor escolhido para aplicações analíticas foi a amplitude de 50 mV.

4.3.2.4 Efeito da variação do incremento de varredura (ΔE_s)

Os valores de incremento de varredura foram investigados no intervalo de 2 a 10 mV. Os valores de frequência e amplitude de pulsos foram fixados em 100 s^{-1} e 50 mV, respectivamente.

A Figura 41 apresenta os voltamogramas de onda quadrada para o estudo da variação do incremento de onda.

Figura 41: Voltamogramas de SWV de uma solução de fipronil $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). Incremento de varredura: (—) 2, (—) 4, (—) 6, (—) 8 e (—) 10 mV. Eletrodo de trabalho: GC-MWCNTs. $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$.

Para fins analíticos o valor de 2 mV pode ser considerado como melhor valor de incremento de varredura, isto porque para valores superiores ocorreu um alargamento do sinal voltamétrico.

A Tabela 14 apresenta um resumo da otimização dos parâmetros da voltametria de onda quadrada: frequência de pulsos, amplitude de pulsos e incremento de varredura, o intervalo de valores estudados e os valores escolhidos.

Tabela 14- Parâmetros da voltametria de onda avaliados, intervalos de estudo e valores escolhidos

Parâmetro	Intervalo de estudo	Valor escolhido
Frequência	$10\text{-}100 \text{ s}^{-1}$	100 s^{-1}
Amplitude	10-50 mV	50 mV
Incremento	2-10 mV	2 mV

4.3.3 Construção da curva analítica

A partir dos parâmetros otimizados, utilizando-se o método das adições de padrão, foi construída uma curva analítica usando SWV, utilizando-se o eletrodo GC-MWCNTs e variando-se a concentração do fipronil no intervalo de $1,0$ a $7,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A Figura 42 mostra os voltamogramas obtidos para a oxidação do fipronil nas diferentes concentrações, em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v), e a Tabela 15, são apresentados os valores da média das correntes de pico para cada concentração.

Figura 42: Resposta da SWV sobre eletrodo GC-MWCNTs para diferentes concentrações de fipronil: (—) 0, (—) 1,0, (—) 2,0, (—) 2,7, (—) 3,4, (—) 4,1, (—) 4,8, (—) 5,5, (—) 6,2, (—) 6,9, (—) $7,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v). $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$.

Tabela 15- Valores da concentração de fipronil adicionada e a média das correntes de pico referentes à curva analítica

$C_{\text{fipronil}} / 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$I_p \text{ média} / \mu\text{A}$
1,0	2,8
2,0	5,0
2,7	7,4
3,4	9,4
4,1	11,4
4,8	13,7
5,5	15,8
6,2	17,4
6,9	18,8
7,6	20,5

Na Figura 43 observa-se a curva analítica referentes aos voltamogramas da Figura 42, onde os dados mostram um aumento linear da corrente de pico de oxidação do fipronil em função do aumento da sua concentração no intervalo de 1,0 a $7,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Esta relação é descrita pela equação de reta $I_p (\mu\text{A}) = -4,4 \times 10^{-8} + 0,27 \times C_{\text{fipronil}} (10^{-5} \text{ mol L}^{-1})$ com coeficiente de correlação linear (r) igual a 0,999.

Figura 43: Curva analítica por SWV, utilizando-se o eletrodo GC-MWCNTs com variação da concentração do fipronil no intervalo de $1,0$ a $7,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

4.3.3.1 Cálculos dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os valores de LD e LQ foram obtidos pelas equações 4 e 5, respectivamente. Os valores obtidos para o fipronil foram: $6,13 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ($26,0 \mu\text{g L}^{-1}$) para o limite de detecção e de $3,36 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ($147,0 \mu\text{g L}^{-1}$) para o limite de quantificação.

A precisão da metodologia foi checada por meio de 5 medidas sucessivas de uma solução de $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Para a precisão intra-day (repetibilidade), a qual foi calculada por meio de análises sucessivas durante um dia ($n = 5$), o R.S.D. foi igual a 1,2%. A precisão inter-day (reprodutibilidade), calculada em dias diferentes (5 dias diferentes), o R.S.D. foi igual a 2,5%.

4.3.4 Determinação do fipronil em águas naturais

Após a construção da curva analítica do fipronil sobre o eletrodo de GC-MWCNTs em água pura, foram realizados os estudos utilizando-se as águas coletadas no córrego Monjolinho.

A metodologia proposta foi aplicada em águas naturais, idem ao item 4.2.4, realizando-se testes de recuperação pelo método de adição padrão. O valor obtido foi de $(94,60 \pm 2,00) \%$, com R. S. D. de $1,47 \%$ para $n = 3$.

Os resultados obtidos com a metodologia eletroanalítica do GC-MWCNTs/SWV são bastante satisfatório para a determinação direta do fipronil em amostras de águas naturais.

4.4 Comparação entre os eletrodos GPU e GC-MWCNTs

A Figura 44 mostra as curvas analíticas variando a concentração de fipronil no intervalo de $2,0$ a $10,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando os eletrodos GPU e GC-MWCNTs.

Figura 44: Curva analítica variando a concentração de fipronil no intervalo de $2,0$ a $10,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando os eletrodos de GPU (■) e GC-MWCNTs (●).

A Tabela 16 faz uma comparação entre os resultados encontrados para eletrodo de compósito de grafite-poliuretana e para o eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubo de carbono.

Tabela 16- Valores de intervalo linear, coeficiente de correlação e limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) obtidos para a fipronil utilizando os eletrodos de GPU e GC-MWCNTs

Eletrodo	Intervalo linear (10^{-5} mol L^{-1})	r	LD= $3S_b/B$ (mol L^{-1})	LQ= $10S_b/B$ (mol L^{-1})
GPU	2,0 a 10,0	0,996	$3,2 \times 10^{-7}$	$1,1 \times 10^{-6}$
GC-MWCNTs	2,0 a 10,0	0,999	$6,1 \times 10^{-8}$	$3,3 \times 10^{-7}$

Pode-se comprovar pelos dados obtidos pela Tabela 16 que o eletrodo de GC-MWCNTs mostrou-se mais sensível que o GPU, demonstrando, portanto a viabilidade para estudos analíticos com a metodologia proposta.

4.5 Eletrólise a potencial controlado

O estudo da reação de oxidação do fipronil foi realizado utilizando-se eletrólises a potencial controlado em 1,2 V, após a oxidação do pico. Antes e após cada eletrólise realizou-se medidas por voltametria de onda quadrada, a fim de acompanhar o decaimento do sinal analítico.

As eletrólises foram realizadas em uma solução BR 0,1 mol L $^{-1}$, 10 % etanol, em pH = 8,0, com concentração inicial de fipronil de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L $^{-1}$.

Os resultados obtidos mostraram que, depois de aproximadamente 2 horas de eletrólise, houve o consumo de fipronil e a formação de possíveis produtos de reação, por meio de um decaimento exponencial da corrente em função do tempo eletrólise (Figura 45).

Figura 45: Cronoamperograma de uma solução de fipronil $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a 1,2 V, em solução BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em 10% de etanol, pH = 8,0. Eletrodo de trabalho: carbono poroso.

As análises voltamétricas foram feitas no início e ao final de cada eletrólise. Na Figura 46 estão apresentados os voltamogramas obtidos. Observou-se um decaimento dos sinais do fipronil, sem o surgimento de novos picos.

Figura 46: Voltamogramas obtidos para a eletrólise do fipronil (BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em 10% etanol, pH = 8,0, E = 1,2 V) sobre GC-MWCNTs nos tempos: (—) 0 e (—) 120 minutos.

Durante o experimento de eletrólise, foi observada uma mudança de coloração da solução de incolor para amarela clara devido à formação de um produto de oxidação do fipronil. Observou-se que em 120 minutos de eletrólise cerca de 90% da concentração inicial do fipronil foi consumida. O valor de n foi calculado pela utilizando a Equação de Faraday (Equação 6):

$$Q = n \Delta N F \quad (6)$$

no qual, Q é a carga em coulombs, n é o número de elétrons, ΔN é a variação de número de mols durante a eletrólise e F é a constante de Faraday.

O valor de ΔN foi calculado a partir da diferença entre o número de mols antes e após eletrólise. Este cálculo foi efetuado por meio das correntes de pico dos voltamogramas de onda quadrada. O valor de ΔN foi de $3,6 \times 10^{-6}$ mols. O valor de carga foi de 0,27 C.

Aplicando a Equação 6, o número de elétrons envolvidos na oxidação do fipronil foi igual a 1.

Um estudo químico-quântico mostrou que o átomo de nitrogênio do grupo pirazol é o sítio mais provável para a oxidação da molécula do fipronil (trabalho enviado para publicação)¹.

Para completar este trabalho e propor um mecanismo de oxidação eletroquímica do fipronil são necessários um estudo de RMN e espectrometria de massa.

¹ FABIANO OKUMURA, RAQUEL BONATTO DO AMARAL, EDNILSON ORESTES, SYLVIO CANUTO AND LUIZ HENRIQUE MAZO. **Electrochemical and chemical quantum investigations of the insecticide fipronil**. A ser editado pela Analytical Letters, 2012.

5 CONCLUSÕES

O comportamento eletroquímico do inseticida fipronil foi estudado em NaOH 0,1 mol L⁻¹ preparada em solução aquosa de etanol 20% (v/v) sobre os eletrodos de compósito de grafite-poliuretana 60% (GPU) e carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (GC-MWCNTs).

Os melhores resultados analíticos obtidos pela voltametria de onda quadrada foram com uma frequência da onda quadrada de 100 s⁻¹, amplitude da onda quadrada de 50 mV e incremento de 2 mV. Nestas condições o fipronil apresentou somente um pico de oxidação em 0,70 V vs. E_{Ag/AgCl} para o eletrodo de GPU, e 0,5 V vs. E_{Ag/AgCl} para o eletrodo de GC-MWCNTs, com características de processo irreversível e controlado por adsorção das espécies na superfície eletródica. Foi verificado pela eletrólise que a oxidação do fipronil envolve a perda de 1 elétron.

Os limites de detecção e quantificação obtidos com o eletrodo de GPU foram de 139 µg L⁻¹ e 480 µg L⁻¹, respectivamente. Para o eletrodo de GC-MWCNTs foi obtido um limite de detecção de 26 µg L⁻¹ e um limite de quantificação de 147 µg L⁻¹. A utilização do eletrodo de GC-MWCNTs promoveu um aumento do sinal do processo de oxidação eletroquímica do fipronil e uma diminuição no potencial de oxidação, eliminando a resposta de interferentes. O eletrodo de GC-MWCNTs apresentou um limite de detecção menor que o eletrodo de GPU, melhorando a sensibilidade e estabilidade.

As metodologias desenvolvidas foram aplicadas no córrego da cidade de São Carlos, com uma recuperação de 96,0% para o eletrodo de GPU e de 94,6% para o eletrodo de GC-MWCNTs.

A utilização da voltametria de onda quadrada juntamente com os eletrodos de GPU e de GC-MWCNTs mostrou-se muito eficiente para a determinação do fipronil em águas naturais.

Desta forma, pode-se concluir que a metodologia proposta para determinação de fipronil em águas naturais pode ser utilizada para análise de rotina, como alternativa ao emprego das técnicas cromatográficas.

REFERÊNCIAS

- [1] VAZ, C.P.M; CRESTANA, S.; MACHADO, S.A.S.; MAZO, L.H.; MASSAROPI, M.R.C.; AVACA, L.A. Determinação de pesticidas por técnicas eletroanalíticas. **Pesticidas: Revista Técnico Científica**, v. 6, p. 56-74, 1996.
- [2] JONATAN, T. **Introduction of environmental studies**. 3. ed. New York: Saunders College, 1989. 304p.
- [3] SINDICATO DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA AGRÍCOLA (SINDAG). Disponível em: < http://www.sindag.com.br/dados_mercado.php>. Acesso em: 20 dez. 2011.
- [4] JOHNSTON, A. E. Soil organic-matter, effects on soils and crops. **Soil Use Management**, v. 2, p. 97-105, 1986.
- [5] LARA, W.H.; BATISTA, G.C. Pesticidas. **Química Nova**, v. 15, n. 2, p. 161-166, 1992.
- [6] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA)**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/pdf/150409_para.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2011.
- [7] SINDICATO DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA AGRÍCOLA (SINDAG). **Vendas de defensivos agrícolas por cultura de destinação e classes**. SINDAG, 2006. p.1.
- [8] BASF. Disponível em: <<http://www.agro.basf.com.br/produtos>>. Acesso em: 15 mar. 2008.
- [9] TINGLE, C.C.D.; ROTHER, J.A; DEWHURST,C.F.; LAUER,S.; KING, W.J. **Health and environmental effects of fipronil**. Disponível em: <<http://www.pan-uk.org/archive/Publications/Briefing/fipronil.pdf>>. Acesso em: 08 ago. 2010.
- [10] BARCELÓ, D.; HENNION, M. C. **Trace determination of pesticide and their degradation products in water**. 3 ed. Amsterdam: Elsevier, 1997. 542p.

- [11] DORES, E. F. G. C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M.; Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: Águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso – análise preliminar. **Química Nova**, v. 24, p. 27-36, 2001.
- [12] COLE, L. M.; NICHOLSON, R. A.; CASIDA, J. E. Action of phenylpyrazole Insecticides at the GABA-gated chloride channel. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, p. 47 - 54, 1993.
- [13] GRANT, D. B.; CHALMERS, A.; WOLFF, M.; HOFFMAN, H.; BUSHEY, D. Fipronil: action at the GABA receptor. **Reviews in Toxicology**, v. 2, p. 147-156, 1998.
- [14] BOBÉ, A.; COOPER, J. F.; COSTE, C. M.; MULLER, M. A. Behaviors of fipronil in soil under sahelian plain field conditions. **Pesticide Science**, v. 52, p. 275 - 281, 1998.
- [15] PEI, Z.; YITONG, L.; BAOFENG, L.; GAN, J. Dynamics of fipronil residue in vegetable field ecosystem. **Chemosphere**, v. 57, p. 1691 - 1696, 2004.
- [16] MASSUTI, C. S. M.; MERMUT, A. R. Degradation of Fipronil under laboratory conditions in a tropical soil from Sirinhaém Pernambuco, Brazil. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 42, p. 33-43, 2007.
- [17] NEGIM, K. K.; MABURY, S. A.; CROSBY, D. G. Elucidation of fipronil photodegradation pathways. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 4661 - 4665, 2000.
- [18] HAINZL, D.; CASIDA, J. E. Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. **Proceedings of National Academy of Science of the United States of America**, v. 93, p. 12764 - 12767, 1996.
- [19] HAINZL, D.; COLE, L. M.; CASIDA, J. E. Mechanisms for selective toxicity of fipronil insecticide and its sulfone metabolite and desulfinyl photoproduct. **Chemical Research and Toxicology**, v. 11, p. 1529 - 1535, 1998.
- [20] NGIM, K. K.; CROSBY, D. G. Abiotic processes influencing fipronil and desthiofipronil dissipation in California, USA, rice fields. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 20, p. 972-977, 2001.

- [21] MEDE, K; RHÔNE-POULENC AGRICULTURAL LIMITE. **Fipronil: Aquatic Field Dissipation**. Rhône-Poulenc Agricultural Limite, 1997. Data Package ID N° 169043-45. DPR Document N° 52062-240. Pt. 1.
- [22] BOBÉ, A.; COSTE C. M.; COOPER, J. Factors influencing the adsorption of fipronil on soils. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p.4861-4865, 1997.
- [23] YING, G.G.; KOOKANA, R. S. Sorption of fipronil and its metabolites on soils from south Australia. **Journal of Environmental Science Health**, v. 36, p. 545-558, 2001.
- [24] LIN, K.; HAVER, D.; OKI, L.; GAN, G. Transformation and sorption of fipronil in urban streams sediments. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, p. 8594-8600, 2008.
- [25] PEI, Z.; YITONG, L.; BAOFENG, L.; GAN, J. Dynamics of fipronil residue in vegetable field ecosystem. **Chemosphere**, v. 57, p.1691 - 1696, 2004.
- [26] RAMESH, A.; BALASUBRAMANIAN, M. Kinetics and hydrolysis of fenamiphos, fipronil, and trifluralin in aqueous buffer solutions. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 47, n. 8, p. 3367-3371, 1999.
- [27] BOBÉ, A.; MEALLIER, P.; COOPER, J.F.; COSTE, C. M. Kinetics and mechanisms of abiotic degradation of fipronil (hydrolysis and photolysis). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 46, p. 2834-2839, 1998.
- [28] ZHU, G.; WU, H.; GUO, J.; KIMARO, F. M. E. Microbial degradation of fipronil in clay loam soils. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 153, p. 35-44, 2004.
- [29] CALIFORNIA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (CAL/EPA). **Environmental fate of fipronil**. Sacramento, CA, 2007. Disponível em: <<http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/fipronilrev.pdf>>. Acesso em: 20 dez. 2011.
- [30] FEUNG, C. S.; YENNE, S. P. **Fipronil: Aerobic Aquatic Metabolism**. Rhône-Poulenc Agricultural Limited, 1997. Data Package ID N° 169043. DPR Document N° 52062-180.

[31] AAJOUD, A.; RAVANEL, P.; TISSUT, M. Fipronil metabolism and dissipation in a simplified aquatic ecosystem. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p.1347-1352, 2003.

[32] TINGLE, C. C.; ROTHER, J. A.; DEWHUST, C. F.; LAUER, S.; KING, W. J. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.176, p.1-66, 2003.

[33] CONNELLY, P. **Environmental fate of fipronil: California Environmental Protection Agency**. Department of Pesticide Regulation. Disponível em: <<http://la.water.usgs.gov/pdfs/NAWQA-fipronil.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2010.

[34] HUSEN, T. J.; SPOMER, N. A.; KAMBLE, S. T. Degradation of fipronil (Termidor®) in aqueous solution stored in polyethylene tanks exposed to sunlight or shade. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 82, n. 5, p. 605-609, 2009.

[35] DEMCHECK, D. K.; SKROBIALOWSKI, S. C. **Fipronil and degradation products in the rice-producing areas of the mermentau river basin, Louisiana, february-september 2000**. Disponível em: <<http://la.water.usgs.gov/publications/pdfs/FS-010-03.pdf>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

[36] RAVETON, M.; AAJOUD, A.; WILLISON, J.; CHERIFI, M.; TISSUT, M.; RAVANEL, P. Soil distribution of fipronil and its metabolites originating from a seed-coated formulation. **Chemosphere**, v. 69, p. 1124-1129, 2007.

[37] WALSE, S. S.; PENNINGTON, P. L.; SCOTT, G. I.; FERRY, J. L. The fate of fipronil in modular mesocosm. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 6, p. 58-64, 2004.

[38] PERET, A. M.; OLIVEIRA, L. F.; BIANCHINI, I.; SELEGHIM, M. H. R.; PERET, A. C.; MOZETO, A. A. Dynamics of fipronil in Óleo Lagoon in Jataí Ecological Station, São Paulo-Brazil. **Chemosphere**, v. 78, p.1225–1229, 2010.

[39] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Monografias autorizadas**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias.pdf>>. Acesso em: 08 ago. 2009.

[40] PESTICIDE ACTION NETWORK UK (PAN UK). **Fipronil**. Disponível em: <<http://www.pan-uk.org/pestnews/Actives/fipronil.htm>>. Acesso em: 08 ago. 2009.

- [41] LYONS, G. **Mixed messages: pesticides that confuse hormones**. Disponível em: <<http://www.pan-uk.org/briefing/mixedmes.pdf>>. Acesso em: 08 ago. 2009.
- [42] HASSANI, A., K. E.; DACHER, M.; GAUTHIER, M.; ARMENGAUD, C. Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 82, p. 30-39, 2005.
- [43] OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; DENARDI, S. E.; OLIVEIRA, R. J.; MATHIAS, M. I. C. Cytotoxicity of fipronil on mice liver cells. **Microscopy Research and Technique**, v. 75, p. 28-35, 2011.
- [44] SCHLENK, D.; HUGGETT, D. B.; ALLGOOD, J.; BENNETT, E.; RIMOLDI, J.; BEELER, A. B.; BLOCK, D.; HOLDER, A. W.; HOVINGA, R.; BEDIENT, P. Toxicity of fipronil and its degradations products to *Procambarus sp.*: field and laboratory studies. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 41, p. 325-332, 2001.
- [45] STARK, D. J.; VARGAS I. R. Toxicity and hazard assessment of fipronil to *Daphnia pulex*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 62, p. 11–16, 2005.
- [46] LEGHAIT, J.; GAYRARD, V.; PICARD-HAGEN, N.; CAMP, M.; PERDU, E.; TOUTAIN, P.; VIGUIÉ, C. Fipronil induce disruption of thyroid function in rats is mediated by increased total and free thyroxine clearances concomitantly to increase activity of hepatic enzymes. **Toxicology**, v. 255, p. 38-44, 2009.
- [47] BALANÇA, G.; VISSCHER, M. M. Effects of very low fipronil doses on grasshoppers and non-target insects following field trials for grasshopper control. **Crop Protection**, v. 16, p. 553 - 564, 1997.
- [48] RACHADI, T.; FOUCART, A. Barrier treatment with fipronil to control desert locust *Schistocerca gregaria* hopper bands intesting a large area in Mauritania. **International Journal of Pest Management**, v. 45, p. 263 - 273, 1999.
- [49] COLLIOT, F.; HUHOROWSKI, K. A.; HAWKINS, D. W.; ROBERTS, D. A. Fipronil: A new soil and foliar broad spectrum insecticide. **Brighton Crop Protection Conference**, v. 2, p. 29 - 34, 1992.
- [50] ESTER, A.; VOGEL, R.; BOUMA, E. Controlling *Trips tabaci* in leek by film coating seeds with insecticides. **Crop Protection**, v. 16, p. 673 - 677, 1997.

[51] HERDERSON, G.; FORSCHLER, B.T. Termite bait test. **Louisiana Agriculture**, v. 40, p. 9 - 11, 1997.

[52] COLLINS, H. L.; CALLCOTT, A. M.A. Fipronil: an ultra low dose bait toxicant for control of red imported fire ants (*Hymenoptera: Formicidae*). **Florida Entomologist**, v. 81, p. 407 - 415, 1998.

[53] BRESCIANI, K. D. S.; SANTOS, T. R.; MARTINELI, T. M.; VERONES, V. A.; PERRI, S. H. V. Eficácia do fipronil e do imidacloprid "top spot" contra puvlgas (*ctenocephalides*) em cães naturalmente infestados. **Ars Veterinaria**, v. 20, p. 100-106, 2004.

[54] GENTILE, A. G.; SARTINI, J. L.; CAMPO, M. C.; SÁNCHEZ, J. F. Eficacia del Fipronil en el control del ciclo peridomiciliario de *Triatoma infestans* en un área con resistencia a la Deltametrina. **Caderno de Saúde Pública**, v. 20, n. 5, p. 1240-1248, 2004.

[55] DAVEY, R. B.; AHRENS, E. H.; GEORGE, H. E.; HUNTER III, J. S.; JEANNIN, P. Therapeutic and persistent efficacy of fipronil against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 74, p. 261-276, 1998.

[56] BOBÉ, A.; COOPER, J.F.; COSTE, C. M.; MULLER, M. A. Behaviour of fipronil in soil under sahelian plain field conditions. **Pesticide Science**, v. 52, p. 275 - 281, 1998.

[57] VÍLCHEZ, J. L.; PRIETO, A.; ARAUJO, L.; NAVALON, A. Determination of fipronil by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 919, p. 215 - 221, 2001.

[58] GOLLER, G.; DUCHENE, P.; MAESTRACCI, M. **Residue analysis of fipronil and its metabolites observed in leek samples**. Disponível em: <<http://www.chemsoc.org/chempest/html/7B-0053.html>> Acesso em: 04 set. 2009.

[59] YING, G.; KOOKANA, R. Laboratory and field studies on the degradation of fipronil in a soil. **Journal Soil Residue**, v. 40, p. 1095 - 1102, 2002.

[60] MORZYCKA, B. Simple method for the determination of trace levels of pesticides in honeybees using matrix solid-phase dispersion and gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 982, p. 267 - 273, 2002.

[61] BRONDI, S. H. **Determinação de multirresíduos de agrotóxicos em águas de abastecimento do município de Araraquara: Ribeirão das Cruzes, Ribeirão das Anhumas e Córrego do Paiol**. 2000. 133 f. Tese (Doutorado)- Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

[62] SCHLENK, D.; HUGGETT, D. B.; ALLGOOD, J.; BENNET, E.; RIMOLDI, J. M. Toxicity of fipronil and its degradation products to *Procambarus sp.*: Field and laboratory studies. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 41, p. 325-332, 2001.

[63] LIU, D.; WANG, P.; ZHU, H.; GU, X.; ZHOU, W.; ZHOU, Z. Enantioselective degradation of fipronil in Chinese cabbage (*Brassica pekinenses*). **Food Chemistry**, v. 110, p. 399-405, 2008.

[64] MAFFEI, D. F.; NOGUEIRA, A. R. A.; BRONDI, S. H. G. Determinação de resíduos de pesticidas em plasma bovino por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, p. 1713-1716, 2009.

[65] SAVANT, R. H.; BANERJEE, K.; UTTURE, S. C.; PATIL, S. H.; DASGUPTA, S.; GHASTE, S. M.; ADSULE, P. G. Multiresidue Analysis of 50 pesticides in grape, pomegranate, and mango by gas chromatography-Ion trap mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 1447-1454, 2010.

[66] FAOUDER, J. L.; BICHON, E.; BRUNSCHWIG, P.; LANDELLE, R.; ANDRE, F.; BIZEC, B.L. Transfer assessment of fipronil residues from feed to cow Milk. **Talanta**, v. 73, p. 710-717, 2007.

[67] SANCHES, B. C.; MIGUEL, E.; ALBERO, B.; TADEO, J. L. Determination of fipronil residues in honey and pollen by gas chromatographic. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 6, p. 7-14, 2008.

[68] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. 5. ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1998. 917 p.

[69] RUPP, E. B.; ZUMAN, P.; SESTAKOVA, I.; HORAK, V. Polarographic – determination of some pesticide – application to a study of their adsorption on lignin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 2016-2020, 1992.

[70] SOUZA, D.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Voltametria de onda quadrada. primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81 - 89, 2003.

[71] RAMALEY, L.; KRAUSE JUNIOR, M. S. Analytical application of square wave voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 1365 - 1369, 1969.

[72] RAMALEY, L.; KRAUSE JUNIOR, M. S. Theory of square wave voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 1362 - 1365, 1969.

[73] O'DEA, J. J.; RIBES, A.; OSTERYOUNG, J. G. Square-wave voltammetry applied to the totally irreversible reduction of adsorbate. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 345, p. 287-301, 1993.

[74] MIRCESKI, V.; LOVRIC, M. Square-wave voltammetry of a cathodic stripping reaction complicated by adsorption of the reacting ligand. **Analytical Chimica Acta**, v. 386, n. 1-2, p. 47-62, 1999.

[75] LOVRIC, M.; BRANICA, M. Square-wave voltammetry peak current enhancements by adsorption and reversibility of the redox reaction. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 226, p. 239-251, 1987.

[76] FATOUROS, N.; KRULIC, D. Contribution to study of square wave voltammetry in the case of simple irreversible reactions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 443, p. 262-265, 1998.

[77] PEREIRA, C. A.; SANTOS, S. A.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificações de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química nova**, v. 25, n. 6A, p. 1012-1021, 2002.

[78] TALMANN, D. E.; PETERSEN, S. L. Composite electrode for electroanalysis: principles and application. **Electroanalysis**, v. 2, p. 499, 1990.

[79] 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.

[80] MENDES, R. K.; CLARO-NETO, S.; CAVALHEIRO, E. T. G. Evaluation of a new rigid carbon-castor oil polyurethane composite as an electrode material. **Talanta**, v. 57, n. 5, p. 909-917, 2002.

[81] MENDES, R. K.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. The use of graphite-castor oil polyurethane composite electrode for the determination of hydroquinone in photographic developers. **Talanta**, v. 68, n. 3, p. 708-712, 2006.

[82] TOLEDO, R. A.; VAZ, C. M. P. Use of graphite-polyurethane for electroanalytical determination of indole -3-acetic acid in soil samples. **Microchemical Journal**, v. 86, p. 161-165, 2007.

[83] TOLEDO, R. A.; SANTOS, M. C.; HONÓRIO, K. M.; DA SILVA, A. B. F.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L.H. Use of graphite-polyurethane composite electrode for imipramine oxidation – mechanism proposal an electroanalytical determination. **Analytical Letters**, v. 39, p. 507-520, 2006.

[84] CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determination of paracetamol at a graphite-polyurethane electrode as an amperometric flow detector. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 109, n. 5, p. 836-841, 2008.

[85] CERVINI, P.; RAMOS, L. H.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determination of atenolol at a graphite-polyurethane composite electrode. **Talanta**, v. 76, p. 206-209, 2007.

[86] 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.

[87] TEIXEIRA, M. F. S.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H., FATIBELLO-FILHO, O.; DOCKAL, E. R.; BERGAMINI, M. F. An electrochemical sensor for L-dopa based on oxovanadium-salen thin film electrode applied flow injection system. **Sensors and Actuators**, v. 122, p. 549-555, 2007.

[88] OKUMURA, Fabiano. **Estudo voltamétrico e desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação do inseticida fipronil utilizando o eletrodo compósito de grafite-poliuretana**. 2009. 83f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

[89] AMARAL, Raquel Bonatto. **Estudo voltamétrico e desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação do inseticida fipronil**. 2005. 87f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

[90] IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, v. 354, p.56-58, 1991.

[91] AJAYAN, P. M. Nanotubes from Carbon. **Chemical Reviews**, v. 99, p.1787-1800, 1999.

[92] CALVERT, P. Nanotube composites: A recipe for strength. **Nature**, v. 399, p.210-211, 1999.

[93] KONG, J., FRANKLIN, N. R., ZHOU, C., CHAPLINE, M. G., PENG, S., CHO, K., DAI, H. Nanotube molecular wires as chemical sensors. **Science**, v. 287, p.622-625, 2000.

[94] WU, Z., CHEN, Z., DU, X., LOGAN, J. M., SIPPEL, J., NIKOLOU, M., KAMARAS, K., REYNOLDS, J. R., TANNER, D. B., HEBARD, A. F., RINZLER, A. G. Transparent, conductive carbon nanotube films. **Science**, v. 305, p.1273-1276, 2004.

[95] MARTIN, C. R., KOHLI, P. The emerging field of nanotube biotechnology. **Nature Review Drug Discovery**, v. 2, p.29-37, 2003.

[96] OU, C.; CHEN, S.; YUAN, R.; CHAI, Y.; ZHONG, X. Layer-by-layer self-assembled multilayer films of multi-walled carbon nanotubes and platinum–Prussian blue hybrid nanoparticles for the fabrication of amperometric immunosensor. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 624, p. 287–292, 2008.

[97] ZHAO, D.; ZHANG, X.; FENG, L.; QI, Q.; WANG, S. Sensitive electrochemical determination of luteolin in peanut hulls using multi-walled carbon nanotubes modified electrode. **Food Chemistry**, v. 127, p. 694-698, 2011.

[98] JAIN, R.; RATHER, J.A. Voltammetric determination of antibacterial drug gemifloxacin in solubilized systems at multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 83, p. 340-346, 2011.

[99] MORAES, F. C.; TANIMOTO, S. T.; SALAZAR-BANDA, G. R.; MACHADO, S. A. S.; MASCARO, L. H. A new indirect electroanalytical method to monitor the contamination of natural waters with 4-Nitrophenol using multiwall carbon nanotubes. **Electroanalysis**, v. 21, p. 1091-1098, 2009.

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

[101] YANG, M.; JIANG, J.; YANG, Y.; CHEN, X.; SHEN, G.; YU, R. Carbon nanotube/cobalt hexacyanoferrate nanoparticle-biopolymer system for the fabrication of biosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 21, n. 9, p. 1791-1797, 2005.

[102] LIU, G.; LIN, Y. Amperometric glucose biosensor based on self-assembling glucose oxidase on carbon nanotubes. **Electrochemistry Communications**, v. 8, p. 251-256, 2006.

[103] RAZZINO, CLAUDIA. **Desenvolvimento, caracterização e utilização de um nonobiossensor enzimático para a determinação de carbaril**. 2007. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.2007.

[104] RIVAS, G. A.; MISCORIA, S. A.; DESBRIERES, J.; BARRERA, G. D. New biosensing platforms based on the layer-by-layer self-assembling of polyelectrolytes on Nafion/carbon nanotubes-coated glassy carbon electrodes. **Talanta**, v. 71, n. 1, p. 270-275, 2007.

[105] BARD, A.J.; FAULKNER, L.R. **Electrochemical methods**: fundamentals and applications. New York: John Wiley, 2001. 389p.

[106] BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. **Eletroquímica**: princípios, métodos e aplicações. Coimbra: Livraria Almedina, 1996. 471p.

[107] GROSSER JUNIOR, D.K. **Cyclic voltammetry**: simulation and analysis of reaction mechanisms. New York: VCH, 1993. p.98-99.

[108] OSTERYOUNG, J. G.; O'DEA, J. J. Square-wave voltammetry. In: BARD, A. J. **Electroanalytical chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1982. v. 14, p. 459.

[109] LOVRIC, M.; LOVRIC, K. S. Square wave voltammetry of an adsorbed reactant. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 248, p. 239 - 253, 1988.

[110] KRULL, I.; SWARTZ, M. Determining limits of detection and quantification. **LC-CG**, v. 15, n. 10, p. 923-924, 1998.

[111] FIPRONIL; **Pesticide tolerance**. Disponível em:
< <http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-PEST/1998/July/Day-17/p18987.htm>>. Acesso em: 29 abr. 2010.