UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

*Desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para determinação
de pesticidas em óleo essencial de laranja*

Fernanda Ramos de Andrade

Tese apresentada ao Instituto de Química de
São Carlos, da Universidade de São Paulo,
para obtenção do Título de Doutor em
Ciências, área de concentração Química
Analítica e Inorgânica.

Exemplar revisado

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

Orientador: Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz
Embrapa Instrumentação - São Carlos

São Carlos – SP
2014

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.

Assinatura:

Data:

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

Andrade, Fernanda Ramos De

Desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para determinação de pesticidas em óleo essencial de laranja. / Fernanda Ramos De Andrade. — São Carlos, 2014.

117 f.

Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica) — Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Carlos, 2014.

Edição revisada

Orientador: Prof. Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz

1. Pesticidas. 2. Eletrodo de GPU. 3. Voltametria de onda quadrada. 4. Determinação eletroanalítica. 5. Óleo essencial de laranja. I. Título.

*Referências Bibliográficas
conferidas pelo SBI/IQSC*

*Dedico este trabalho
Aos meus pais: Lupercio e Luzia, pelo
amor e incentivo para realizaçao deste
trabalho e pelo apoio em todas as etapas
da minha vida. Aos meus irmãos Luciane
e Alessandro, pelo estímulo e carinho. Aos
meus cunhados Claudia e Eduardo, e meus
sobrinhos, Sofia, Pedro, Miguel e Beatriz.*

AGRADECIMENTOS

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

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

A CAPES, pela bolsa concedida.

Ao Grupo Fisher (CITROSUCO) pela parceria neste trabalho.

Ao Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva, pela colaboração e ensinamentos.

A Dra. Renata Alves de Toledo, pela inestimável amizade, competência, dedicação e ensinamentos de sempre.

À Dra. Clarissa Silva Pires de Castro e Gabriella Magarelli (Laboratório de Tecnologias para a Segurança Alimentar - Embrapa Cenargen), pelo auxílio e disponibilização do autolab.

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

À Dra. Djenaine de Souza pelo auxílio na construção dos eletrodos de amálgama de prata.

Ao Dr. Giancarlo R. S. Banda e a Dra. Luíza Nunes pelo empréstimo dos eletrodos de diamante dopado com boro e microeletrodo de ouro, respectivamente. E ao Luiz Carlos Soares de Figueiredo Filho pela ajuda no preparo das soluções e auxílio nos primeiros experimentos com o eletrodo de filme de bismuto.

Aos amigos da Embrapa Instrumentação: Adriana Thomazi, Alexandra Manzoli, Alice Raabe, Aline Segnini, Cleber Hilário, Cristiane Farinas, Ednaldo Ferreira, Elaine Inácio Pereira, Elaine Paris, Fábio Plotegher, Francys Moreira, Gabriela Byzynski, Gabriela Carósio, Gabriela Libanori, Humberto Takeda, Jacqueline Bartolomeu Barreiro, Joana Bresolin, Kelly Narimoto, Larissa Macedo dos Santos, Lilian Martelli, Livia Favoretto, Luiz Mattêo, Marcos Lorevice Porpeta, Matheus Postigo, Maria Célia Furlanetto, Poliana Macedo dos Santos, Rafaela Takehara, Robson da

Silva, Silvíane Hubinger, Terezinha Arruda, Ursula Zúñiga, Vanessa Scagion, Viviane Grassi, Viviane Soares, William Ferreira, por toda a ajuda e amizade, e principalmente, pelos momentos de lazer e descontração. E a todos os funcionários pela ajuda prestada sempre que solicitada.

As amizades que fiz durante todos esses anos em São Carlos: Daniel Scooby, Edilene Ferreira, Fabiana Tessari, Herik Conceição, Jéssica Thaise, Juliana Andresa, Juliana Lukiantchukí, Líliane Batirolla, Luciana Montanari, Luciano de Aquino Melo, Marcos Fernandes, Marieli Lukiantchukí, Rodrigo Sartori Jabur, Ronaldo Montes, Simone Furegatti, pela amizade e excelente convívio.

Aos amigos: Adriana Quatrin, Andréa Gonçalves, Claudia Carnevalle, Daniela Soster, Dayse Leite, Elaine Mattos, Geraldo Moreira, Juliana Andresa, Juliana Egg, Renato Egg, Rosane Eugênia, Valeska Pereira, pela amizade e por sempre me apoiarem nos momentos difíceis.

Aos amigos da Embrapa Cerrados: Aline Rodrigues Rabello, Ana Lucia Mundin, Daniella Almeida, Darlan Quinta, Diana Zuim, Francisco Delvico, Francisco Bastos, Giovana Alcântara Maciel, Gracieli Belon, Jéssica Lopes, Jomara Moreno, Joseane Andrade, Josias Matos, Juliana Hiromi Sato, Luciano de Almeida Pinheiro, Manaira Xavier, Sayuri Takada, Suelen Dessaune, Vanessa Pieniz, Vilderete Castro Alves, pela amizade, paciência e incentivo.

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

À Embrapa Instrumentação pela infraestrutura e empréstimo do autolab para finalização deste trabalho.

A todos que colaboraram de alguma forma, para concretização deste trabalho.

Muito obrigada!!!!

*Não há garantia de que a pesquisa
resolverá todos os problemas, mas nenhum
problema será resolvido sem pesquisa.*

Anthony H. Purcell

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	i
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	xi
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	2
1.1. PESTICIDAS ESTUDADOS	7
1.1.1. Piridafention.....	7
1.1.2. Cihexatina	8
1.1.3. Bromopropilato	9
1.2. TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS	10
1.2.1. Voltametria Cíclica	12
1.2.2. Voltametria de Onda Quadrada.....	13
1.3. DIFERENTES MATERIAS ELETRÓDICOS UTILIZADOS	14
1.3.1. Eletrodos compósitos	15
1.3.2. Eletrodo de amálgama de prata	16
1.3.3. Eletrodo de diamante dopado com boro	17
1.3.4. Ultramicroeletrodo de ouro	18
1.3.5. Eletrodo de filme de bismuto	18
2. OBJETIVOS	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1. CÉLULAS ELETROQUÍMICAS.....	23
3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES	24
3.3. ELETRODOS	25
3.3.1. Eletrodos de trabalho	25
3.3.2. Eletrodo de referência e auxiliar	26
3.4. METODOLOGIA	27
3.4.1. Técnicas eletroquímicas utilizadas.....	27
3.4.2. Avaliação da estabilidade do filme de bismuto sobre cobre	28
3.4.3. Experimentos com óleo essencial de laranja.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ELETROATIVIDADE DOS PESTICIDAS EM DIVERSOS ELETRODOS.....	33
4.2. ESTUDO VOLTAMÉTRICO DA CIHEXATINA.....	36

4.2.1. Voltametria cíclica	36
4.2.2. Estudo da estabilidade do filme de bismuto.....	39
4.3. ESTUDO VOLTAMÉTRICO DO PIRIDAFENTION	42
4.3.1. Voltametria cíclica	42
4.3.2. Voltametria de onda quadrada	44
4.3.2.1. Separação das componentes de corrente	44
4.3.2.2. Variação de pH.....	45
4.3.2.3. Influência da frequência de aplicação do pulso	46
4.3.2.4. Influência da amplitude.....	49
4.3.2.5. Efeito do incremento de varredura.....	49
4.3.2.6. Construção da curva analítica	50
4.4. DETERMINAÇÃO DO INSETICIDA PIRIDAFENTION EM AMOSTRAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA.....	53
4.4.1. Procedimento 1	54
4.4.2. Procedimento 2	57
4.4.3. Procedimento 3	61
4.4.4. Procedimento 4	62
5. CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do inseticida piridafention.	7
Figura 2. Fórmula estrutural do acaricida cihexatina.	9
Figura 3. Fórmula estrutural do acaricida bromopropilato.	9
Figura 4. Forma de aplicação dos pulsos em voltametria de onda quadrada.	14
Figura 5. Célula eletroquímica utilizada nos experimentos de voltametria cíclica e de voltametria de onda quadrada, mostrando (A) eletrodo de trabalho, (B) eletrodo de referência, (C) eletrodo auxiliar e (D) entrada de N ₂	24
Figura 6. Separação das fases aquosa e oleosa. A – Logo após agitação, antes da separação das fases. B – Durante a separação das fases. C – Extrato final.	30
Figura 7. Voltamogramas cíclicos de uma solução 58,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR (pH 2,0) e do eletrólito suporte (branco) obtidos em eletrodo de GPU (A), amálgama de prata (B); DDB (C) e microeletrodo de ouro (D). 1º ciclo, $\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$	34
Figura 8. Voltamogramas cíclicos de soluções 51,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina em tampão BR (pH 2,0) e do eletrólito suporte (branco), obtidos em eletrodo de GPU (A), amálgama de prata (B); DDB (C), microeletrodo de ouro (D), filme de bismuto (E) e cobre (F). 1º ciclo, $\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$	36
Figura 9. Voltamogramas cíclicos de uma solução 46,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de bromopropilato em tampão BR (pH 2,0) e do eletrólito suporte branco, obtidos em eletrodo de GPU (A), amálgama de prata (B); DDB (C) e microeletrodo de ouro (D). 1º ciclo 1, $\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$	36
Figura 10. Voltamogramas cíclicos de uma solução 26,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina em tampão BR pH 1 e do branco em eletrodo de filme de bismuto. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	37
Figura 11. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução 26,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina em tampão BR para diferentes valores de pH. A – Redução. B – Oxidação. Eletrodo de filme de bismuto, $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$	37
Figura 12. Correntes (I_p) e potenciais (E_p) de pico de redução (A) e de oxidação (B), obtidos dos voltamogramas da Figura 11, para variação de pH do eletrólito suporte para análise de cihexatina em tampão BR com eletrodo de filme de bismuto.	38
Figura 13. Voltamogramas cíclicos de uma solução 26,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina em tampão BR (pH 1) para diferentes valores de velocidade de varredura (A). Variação da corrente (I_p) e do potencial (E_p) de pico de redução em função da velocidade de varredura para três experimentos realizados (B).	39
Figura 14. Variação das correntes de pico em função do número de medidas para diferentes eletrodopósitos de bismuto. A – 6,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e B – 26,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina. Tampão BR, pH 1, $f = 60 \text{ s}^{-1}$, $a = 40 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$	40

- Figura 15. Voltamogramas cíclicos consecutivos de uma solução $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR (pH 1). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 42
- Figura 16. Voltamogramas cíclicos de uma solução $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR (pH 1) para diferentes velocidades de varredura com eletrodo de GPU (A), e relação entre as correntes de pico e a velocidade de varredura (B) e correntes de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura (C). 43
- Figura 17. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR pH 1, mostrando as componentes de corrente direta, reversa e resultante. Eletrodo de GPU, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 45
- Figura 18. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR para diferentes valores de pH. Eletrodo de GPU, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 46
- Figura 19. Correntes (I_p) e potenciais (E_p) de pico de redução do piridafention em tampão BR com eletrodo de GPU obtidos dos voltamogramas apresentados na Figura 18. 46
- Figura 20. Voltamogramas de onda quadrada de um solução $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR pH 1, para diferentes valores de frequência. $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 47
- Figura 21. Relações entre as correntes de pico (I_p) e a frequência (A) e com a raiz quadrada da frequência (B), obtidos dos voltamogramas apresentados na Figura 20. 47
- Figura 22. Relação entre potencial de pico e logaritmo da frequência da onda quadrada para o piridafention. 48
- Figura 23. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR, pH 1, para diferentes valores de amplitude (A) e variação da corrente de pico com a amplitude (B). $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 49
- Figura 24. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR, pH 1, para diferentes valores de incremento de varredura. $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ 50
- Figura 25. Voltamogramas de onda quadrada para diversos valores de concentração do inseticida piridafention obtidos por adição padrão (A) e curva analítica média (B) de 3 repetições ($r^2 = 0,998$). Eletrodo de trabalho GPU ($\phi = 3,0 \text{ mm}$). $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 50
- Figura 26. Voltamogramas de onda quadrada para diversos valores de concentração do inseticida piridafention obtidos por adição padrão (A) e curva analítica média (B) de 3 repetições ($r^2 = 0,995$). Eletrodo de trabalho GPU ($\theta = 3,0 \text{ mm}$), $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 53
- Figura 27. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostra do “branco” do procedimento de extração 1, e curva de recuperação (B): - $I_p (\mu\text{A}) = 1,37 + 2,86 C (\mu\text{mol L}^{-1})$, $r^2 = 0,996$. Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 54

Figura 28. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 1, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$55

Figura 29. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 1, para a concentração de piridafention adicionada de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$56

Figura 30. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 1, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$57

Figura 31. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostra do “branco” do procedimento de extração 2 e curva de recuperação (B): $-I_p (\mu\text{A}) = 0,76 + 2,94 C (\mu\text{mol L}^{-1})$, $r^2 = 0,998$. Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$58

Figura 32. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 2, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$59

Figura 33. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 2, para a concentração de piridafention adicionada de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$59

Figura 34. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 2, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$60

Figura 35. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostra do “branco” do procedimento de extração 3 e curva de recuperação (B): $-I_p (\mu\text{A}) = 0,25 + 0,76 C (\mu\text{mol L}^{-1})$, $r^2 = 0,997$. Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$61

Figura 36. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 3, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$61

Figura 37. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostra do “branco” do procedimento de extração 4 com 0,5, 1, 2 e 3 horas de agitação e curva de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$63

- Figura 38. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 30 minutos de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 64
- Figura 39. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 1 hora de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 64
- Figura 40. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 2 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 65
- Figura 41. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 3 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 65
- Figura 42. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 30 minutos de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 67
- Figura 43. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 1 hora de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 67
- Figura 44. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 2 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 68
- Figura 45. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 3 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 68
- Figura 46. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostra do “branco” do procedimento de extração 4 com 5 minutos de agitação e curva de recuperação (B): $-I_p (\mu\text{A}) = 0,31 + 1,54 C (\mu\text{mol L}^{-1})$, $r^2 = 0,999$. Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 70
- Figura 47. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 3 experimentos, utilizando o procedimento de extração 4 com 5 minutos de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 71

Figura 48. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 3 experimentos, utilizando o procedimento de extração 4 com 30 minutos de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 71

Figura 49. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 3 experimentos, utilizando o procedimento de extração 4 com 1 hora de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 71

Figura 50. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 3 experimentos, utilizando o procedimento de extração 4 com 2 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 72

Figura 51. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 3 experimentos, utilizando o procedimento de extração 4 com 3 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ 72

Figura 52. Comparação entre as concentrações de piridafention adicionadas nas amostras de óleo essencial e os valores medidos após a extração com os diferentes procedimentos, considerando todas as 3 repetições (A) e os valores médios (B)..... 76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidades de óleos essenciais de laranja exportados pelo Brasil entre 1997 e 2013	3
Tabela 2. Principais características e propriedades ambientais dos pesticidas piridafention, cihexatina e bromopropilato	10
Tabela 3. Procedência e pureza dos reagentes utilizados	25
Tabela 4. Média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das correntes de pico da cihexatina ($6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) para conjuntos de 10 varreduras sucessivas (Figura 14A), para diferentes eletrodepósitos de bismuto (experimento 1 a 6)	41
Tabela 5. Média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das correntes de pico da cihexatina ($26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) para conjuntos de 10 varreduras sucessivas (Figura 14B), para diferentes eletrodepósitos de bismuto (experimento 1 a 6)	41
Tabela 6. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention, com concentração adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$	52
Tabela 7. Parâmetros obtidos com o desenvolvimento da metodologia para análise de piridafention utilizando eletrodo de GPU e a técnica de SWV	52
Tabela 8. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 1 na concentração de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado	55
Tabela 9. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 1 e concentração $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado ..	56
Tabela 10. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 1 e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	57
Tabela 11. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 2 e concentração $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	59
Tabela 12. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 2 e concentração $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	60
Tabela 13. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 2 e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	60

Tabela 14. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 3 e concentração 5,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	62
Tabela 15. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 30 minutos, e concentração 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	65
Tabela 16. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 1 hora, e concentração 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	66
Tabela 17. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 2 horas, e concentração 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	66
Tabela 18. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 3 horas, e concentração 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	66
Tabela 19. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 30 minutos, e concentração 2,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	68
Tabela 20. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 1 hora, e concentração 2,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	69
Tabela 21. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 2 horas, e concentração 2,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	69
Tabela 22. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 3 horas, e concentração 2,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	69
Tabela 23. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 5 minutos, e concentração 5,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	72
Tabela 24. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 30 minutos, e concentração 5,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	73
Tabela 25. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 1 hora, e concentração 5,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	73
Tabela 26. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 2 horas, e concentração 5,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado.....	73

Tabela 27. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 3 horas, e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado 74

Tabela 28. Resultados médios das 3 repetições de extração e medida do piridafention para os 4 procedimentos utilizados, com os respectivos tempos de agitação 75

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- v - velocidade de varredura
- a – amplitude do pulso
- A – área do eletrodo
- BR – Britton-Robinson
- C – concentração
- C_{adic} – concentração adicionada
- C_{enc} – concentração encontrada
- CG – cromatografia gasosa
- D – coeficiente de difusão
- DDB – eletrodo de diamante dopado com boro
- dPSA – redissolução potenciométrica derivativa
- dSCP – redissolução cronopotenciométrica derivativa
- ECS – eletrodo de calomelano saturado
- ELISA – ensaio imunoenzimáticos
- E_p – potencial de pico
- $E_{p/2}$ – potencial de pico a meia altura
- E_{pa} – potencial de pico anódico
- E_{pc} – potencial de pico catódico
- EPH – eletrodo padrão de hidrogênio
- EQM – eletrodo quimicamente modificado
- f – frequência de aplicação do pulso
- FPD – detector de fotometria de chama
- GCMFC – eletrodo de carbono vítreo com filme fino de mercúrio
- GC-MS – cromatografia gasosa com espectrômetro de massas
- GPU – eletrodo compósito de grafite-poliuretana
- HMDE – eletrodo de gora suspensa de mercúrio
- HPLC – cromatografia líquida de alta eficiência
- I_d – corrente direta
- I_p – corrente de pico

I_{pa} – corrente de pico anódica

I_{pc} – corrente de pico catódica

I_r – corrente reversa

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry

K_{oc} – coeficiente de distribuição por unidade de carbono

K_{ow} – coeficiente de partição octanol-água

LD, LOD – limite de detecção

LD_{50} – dose letal para 50% da população

LQ, LOQ – limite de quantificação

MDIC – Ministério do Desenvolvimento Industrial e Comércio Exterior

MS – espectrometria de massa

n – número de elétrons

n – número de mols

NPD – detector de nitrogênio-fósforo

PA – pureza analítica

pH – concentração hidrogeniônica

RMSE (*root mean square error*) – erro quadrático médio

RSD – desvio padrão relativo

SPE – extração em fase sólida

SWV – voltametria de onda quadrada

T – período

VC – voltametria cíclica

ΔE_i – incremento de varredura

ΔI – corrente resultante

RESUMO

A citricultura, introduzida no Brasil na época da colonização e explorada comercialmente a partir dos anos 30 do século passado, é um setor de grande importância para o agronegócio brasileiro. Atualmente, o Brasil detém 50% da produção mundial de laranja e cerca de 85% de toda exportação mundial, representando uma captação de divisas de cerca de 2,5 bilhões de dólares por ano, devido principalmente à exportação do suco de laranja. Apesar do suco ser o principal produto de exportação da citricultura, vários subprodutos com valor comercial são obtidos durante seu processo de produção, tais como os óleos essenciais cítricos. Esses subprodutos localizam-se na casca da fruta e são obtidos durante o processo de extração do suco de laranja por prensagem a frio. Devido ao uso intensivo de pesticidas na citricultura e que muitas vezes se acumula na casca da fruta é comum a obtenção de óleos essenciais com resíduos de pesticidas, o que reduz seu preço de mercado internacional e limita sua inserção em mercados exigentes como o Europeu, Japonês e Americano, por exemplo. Este trabalho propõe o desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para a determinação de alguns pesticidas amplamente utilizados na citricultura brasileira e que têm sido encontrados nos óleos essenciais produzidos pelas indústrias de processamento. Inicialmente, foram realizados testes para avaliação da eletroatividade de três pesticidas (piridafention, cihexatina e bromopropilato) amplamente utilizados no Brasil, mas que são proibidos na maioria dos países importadores, sendo, portanto, de importância estratégica. Utilizando-se a técnica de voltametria cíclica verificou-se que o piridafention apresenta resposta sobre o eletrodo compósito de grafite-poliuretana (GPU), a cihexatina apresentou eletroatividade sobre o eletrodo de filme de bismuto e o bromopropilato não foi eletroativo nas superfícies eletródicas testadas. Varreduras realizadas com voltametria cíclica mostraram que o piridafention apresenta um pico de redução em $-0,80\text{ V (vs. E}_{\text{ECS}})$ sobre eletrodo compósito de GPU em meio ácido (tampão Britton-Robinson $0,1\text{ mol L}^{-1}$) com características de processo irreversível. Em seguida, desenvolveu-se uma metodologia eletroanalítica, utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV), com a otimização do pH da solução (1,0) e demais parâmetros da SWV como a frequência (80 s^{-1}), amplitude do pulso (50 mV) e incremento de varredura ($\Delta E_i = 5\text{ mV}$). Curvas analíticas foram obtidas no intervalo de $1,46$ a $17,1\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, apresentando boa linearidade, com coeficiente de determinação (r^2) de $0,998$. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) obtidos foram de $0,27\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,92\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. A precisão da metodologia desenvolvida foi avaliada por meio da repetibilidade e a reprodutibilidade e a exatidão determinada pelo erro relativo. Os testes de recuperação realizados pelo método de adição de padrão forneceram valores de 98%. A metodologia eletroanalítica desenvolvida para determinação do piridafention foi aplicada em amostras de óleo essencial de laranja, contaminadas com três níveis de concentração $1,5$, $2,9$ e $5,9\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Foram avaliados quatro procedimentos de extração líquido-líquido, utilizando água Milli-Q como extrator: i) agitação manual da mistura (10 mL de óleo e 10 mL de água) por 4 minutos com repetição do procedimento por 3 vezes; ii) agitação magnética da mistura (5 mL de óleo e 50 mL de água) por 20 minutos em uma única etapa, à temperatura ambiente; iii) agitação magnética da mistura (5 mL de óleo e 50 mL de água) por 20 minutos em uma única etapa, à temperatura de 45°C ; iv) agitação da mistura em mesa orbital com tempo de agitação variando de 5 até 180 minutos. Os melhores resultados foram obtidos com o procedimento utilizando a agitação por mesa orbital (iv), sendo recomendado, portanto, para extração do piridafention em amostras de óleo essencial de laranja. No caso da cihexatina, os testes realizados visando à determinação de uma metodologia eletroanalítica mostraram uma

baixa reprodutibilidade do eletrodo filme de bismuto inviabilizando a sua aplicação na eletroanálise da cihexatina. Entretanto, devido à importância da cihexatina e do bromopropilato recomenda-se a realização de mais estudos eletroquímicos com o objetivo de se estabelecer novos métodos de análise.

Palavras-chave: piridafention, cihexatina, bromopropilato, eletrodo compósito de grafite-poliuretana, eletrodo de filme de bismuto, voltametria de onda quadrada, eletroanálise, óleo essencial de laranja.

ABSTRACT

The citrus production introduced in Brazil during the colonization period and commercially exploited since 1930, is very important for the Brazilian agribusiness. Currently, Brazil is responsible for 50% of the total world citrus production and for about 85% of the citrus world exportation trade, representing an income of about 2.5 billion dollars for the country yearly. The orange juice is the major product of the citrus industry, but other commercially valuable byproducts can be obtained during the manufacturing process, such as the citrus essential oils. These byproduct, located at the orange fruit exocarp, are extracted during the juice production process by cold pressing. Due to the use of pesticides in the citrus production, these agrochemicals can be occasionally presented in extracted essential oil products as unwished residues, which significantly reduce their values in the international market and restrict their insertion in exigent markets as the European, Japanese and North American, for instance. This study aim to develop electroanalytical methodologies for the determination of some pesticides widely employed in the Brazilian citrus production and that has been found in the essential oils produced by the processing industries. Preliminar tests were conducted to evaluate the electroactivity of three pesticides (pyridaphention, cyhexatin and bromopropylate) widely applied in Brazil, but not regulated for use in most of the importing countries. Using the cyclic voltammetry technique, these experiments showed that pyridaphention presented a good electrochemical response on the graphite-polyurethane composite electrode (GPU), cyhexatin showed electroactivity on thin bismuth film electrode and bromopropylate was not electroactive on the tested electrodes. Studies conducted using cyclic voltammetry showed that pyridaphention presents a reduction peak in -0.8 V (vs. E_{SCE}) on GPU in acidic medium (Britton - Robinson buffer 0.1 mol L^{-1} (BR)) with features of an irreversible process. The electroanalytical methodology for pyridaphention analysis was developed using square wave voltammetry (SWV) with optimization of pH (1.0) and the SWV scanning parameters, as pulse frequency (80 s^{-1}), amplitude (50 mV), and increment ($\Delta E_i = 5\text{ mV}$). An analytical curve was obtained for concentrations ranging from 1.46 a $17.1\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, showing good linearity expressed in the determination coefficient (r^2) of 0.998 . The detection limit (LOD) and quantification limit (LOQ) obtained were $0.27\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ and $0.92\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The precision was evaluated by means its repeatability and reproductibility, while accuracy was assessed by means relative error. Recovery experiments conducted using the standard addition method provided a concentration recovering level of 98% . The electroanalytical methodology developed for pyridaphention was applied in citrus essential oil samples spiked with three concentration levels 1.5 , 2.9 and $5.9\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Four liquid-liquid extraction procedures were evaluated using only Milli-Q purified water as extracting agent: i) manual stirring of the mixture (10 mL of essential oil and 10 mL of water) during 4 minutes, repeating the procedure three times; ii) magnetic stirring of the mixture (5 mL of essential oil and 50 mL of water) during 20 minutes, in a single step, at room temperature; iii) magnetic stirring of the mixture (5 mL of essential oil and 50 mL of water) during 20 minutes, in a single step, at 45° C ; iv) orbital shaking of the mixture (5 mL of essential oil and 50 mL of water) for different period of times varying from 5 to 180 minutes. The best results were obtained with the procedure using the orbital shaking table (iv), which is, therefore, recommended for extraction of pyridaphention residues in citrus essential oils samples. For the cyhexatin, studies carried out aiming to determine an electroanalytical methodology, showed low reproducibility of the bismuth film, preventing its application in the electroanalysis of cyhexatin. However, due to the importance of these pesticides in citrus

essential oils production it is recommended additional studies regarding the electrochemistry and electroanalysis of these chemicals.

Keywords: pyridaphenthion, cyhexatin, bromopropylate, graphite-polyurethane composite electrode, bismuth film electrode, square wave voltammetry, electroanalytical determination, orange essential oil.

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A citricultura, introduzida no Brasil na época de sua colonização, é um setor de grande importância no agronegócio brasileiro. Porém, no início, a produção era somente para consumo interno, mas com o aumento da área de produção, em 1911 foi realizada a primeira exportação de laranja. Com a expansão e consolidação da indústria de suco de laranja concentrado, na década de 70, a citricultura passou a ter um papel de destaque na economia brasileira. Isto fez com que o Brasil chegasse à primeira posição mundial entre os produtores de laranja e sucos cítricos ¹. Atualmente, o Brasil detém mais de 50% da produção mundial de laranja e cerca de 85% de toda exportação mundial ². Os Estados de São Paulo no Brasil e da Flórida nos EUA dominam a oferta mundial, um caso raríssimo em se tratando de *commodities* agrícolas. O sistema agroindustrial citrícola brasileiro movimenta cerca de 9 bilhões de reais por ano e gera mais de 400 mil empregos diretos e indiretos. Inovações em pesquisa, tecnologia e logística estão na base da eficiência e liderança do Brasil nesse setor. Da produção brasileira de laranja, cerca de 20% é vendida para consumo *in natura* e 80% para industrialização.

O Brasil exporta anualmente 2,5 bilhões de reais em suco de laranja, o que representa a impressionante fatia de 80% do mercado mundial, cujo consumo cresce a uma taxa de 2% a 4% ao ano. Dois terços das exportações do suco de laranja brasileiro vão para a União Européia e 15% para os EUA, que apesar da grande produção, enfrenta problemas climáticos eventuais como geadas e furacões e uma crescente infestação de pragas. Além disso, a Ásia tem um grande potencial de aumento de consumo ³.

Além do suco há uma gama de outros produtos de alto valor agregado proveniente do processamento industrial da laranja, tais como os óleos essenciais, o d'limoneno, os terpenos cítricos e o farelo de polpa ² com um excelente mercado externo. Esses subprodutos possuem diferentes aplicações às quais incluem fabricação de produtos químicos e solventes, aromas e fragrâncias, substâncias para aplicação em indústrias de tintas, cosméticos, complemento para ração animal, dentre outros ³. O Brasil, juntamente com a Índia, China e Indonésia, ocupa um lugar de destaque na produção de óleos essenciais, com destaque para os óleos essenciais de frutas cítricas ⁴.

É na casca da laranja que os óleos essenciais são encontrados. Estes são extraídos por arraste de vapor ou pela prensagem do pericarpo de frutas cítricas. Normalmente, esta

prensagem é feita a frio, que é o método mais empregado. Neste caso, o óleo é extraído em uma única operação juntamente com o suco de laranja. Durante o processo de prensagem da laranja, o óleo é liberado, lavado e separado, por fortes jatos de água, tudo nesta mesma ação^{4, 5}.

Na Tabela 1 são apresentadas as quantidades de óleos essenciais exportados de 1996 a 2013, de acordo com dados do Ministério do Desenvolvimento Industrial e Comércio Exterior (MDIC). Como pode ser verificado, a exportação tem apresentado uma tendência de crescimento consistente nesse período.

Tabela 1. Quantidades de óleos essenciais de laranja exportados pelo Brasil entre 1997 e 2013

Ano	Quantidade (ton.)	Ano	Quantidade (ton.)
1997	20.885	2006	42.439
1998	23.025	2007	46.165
1999	22.864	2008	46.894
2000	24.464	2009	45.545
2001	27.264	2010	52.012
2002	29.561	2011	54.424
2003	32.113	2012	54.627
2004	37.605	2013	55.850
2005	39.699		

Fonte: AliceWeb - MDIC

Os óleos essenciais de citros são uma mistura de mais de 200 componentes, que podem ser agrupados em duas frações. Uma fração volátil, que constitui aproximadamente 85 a 99% do óleo, que contém monoterpenos e hidrocarbonetos sesquiterpenos e seus derivados oxigenados, juntamente com aldeídos alifáticos, álcoois e ésteres. A segunda fração, que varia de 1 a 15%, é constituída de compostos não voláteis, como hidrocarbonetos, ácidos graxos, esteróis, carotenóides, ceras, cumarinas e flavonoides⁶. Essa fração é denominada de subproduto do óleo essencial da casca de citros e tem o limoneno como seu principal constituinte. Como esses compostos possuem altas quantidades de componentes aromáticos com sabores característicos de frutas cítricas, são utilizados como elementos aditivos em condimentos de padarias, bebidas, sucos cítricos, dentre outros. Além disso, podem ser utilizados como aditivos em outros produtos, tais como perfumes, sabão, cosméticos, loções e

outros similares. Os óleos essenciais concentrados também são usados pelas indústrias alimentícia e farmacêutica. Por este motivo, são necessários baixos níveis de contaminação e a análise e confirmação da ausência de produtos tóxicos como os pesticidas, por exemplo, é extremamente importante para a venda desses produtos em mercados externos e internos exigentes.

As glândulas que contêm o óleo essencial ficam situadas na região logo abaixo da epiderme do fruto. Estas glândulas apresentam diâmetros de aproximadamente 0,5 mm e suas paredes são compostas de restos de matéria celular, sem aberturas ou saídas excretoras. As glândulas de óleo são rodeadas por células contendo solução aquosa rica em sais, açúcares e coloides ⁷. Os óleos essenciais obtidos da casca de fruta cítricas, tais como a toranja, laranja, mandarim, dentre outros, são óleos voláteis que são retirados da casca das frutas cítricas ^{1, 8}. Quando a casca entra em contato com a água e torna-se intumescida, as glândulas ficam sob pressão em todas as direções, com isso, se a casca for submetida a um processo mecânico, as glândulas são rompidas e o óleo é liberado. Os métodos de extração de óleo essencial levam em conta estes fatores, por isso, o processo mecânico é sempre realizado com sob fortes jatos de água que lavam o óleo, evitando que seja reabsorvido pelas partes porosas do fruto ³.

Mesmo destacando-se como grande produtor mundial de óleos essenciais cítricos, o Brasil sofre com a falta de manutenção do padrão de qualidade deste produto ⁴. Tanto que, no início de 2012, a exportação de suco de laranja para os Estados Unidos sofreu uma redução, devido à presença de carbendazim ⁴ em alguns lotes de sucos de laranja exportados para aquele país. Infelizmente, pequenas, porém significativas, quantidades de pesticidas também são frequentemente encontradas nos óleos essenciais extraídos de cascas de frutas cítricas. Os pesticidas, se aplicados durante o período de formação das frutas podem ser diretamente absorvidos na cutícula das mesmas e, além disso, alguns poucos pesticidas de aplicação no solo podem ser absorvidos pelas raízes das plantas e serem concentradas nas cascas das frutas. Durante o processo de extração do óleo, os pesticidas podem ser liberados juntamente com o óleo e ficar retido no material extraído. Dependendo das quantidades de pesticidas presentes, o valor e a utilidade dos óleos podem ser significativamente reduzidos ⁸.

O Brasil é atualmente o maior usuário de pesticidas em termos de volume total consumindo 19% dos pesticidas utilizados mundialmente. Entretanto, quando considerado o volume de investimentos em dólar por quilo de alimento produzido o Brasil vem em sexto lugar, atrás dos EUA, Argentina, Comunidade Europeia, França e Japão (1º lugar).

Existem diversas formas de se minimizar ou resolver o problema de contaminação dos óleos essenciais por pesticidas. Primeiramente, realizando uma aplicação racional e equilibrada dos pesticidas nas plantações, respeitando a indicação e recomendação técnica do produto (produtos autorizados, dosagens e períodos recomendados, etc.) e obedecendo ao tempo de carência entre a aplicação, a colheita e o processamento da fruta. Entretanto, como a indústria de processamento compra frutas de um número grande de fornecedores, muitas vezes não se tem o controle da qualidade do material recebido e não há uma forma rápida e de baixo custo de se avaliar os lotes recebidos, com relação à presença de pesticidas, antes da entrada na linha de processamento. Outra possibilidade é a retirada desses pesticidas dos óleos essenciais por processos químicos e/ou físico-químicos após o seu processamento. Entretanto, não há processos estudados e validados que possibilitem a extração dos pesticidas dos óleos, para a maioria dessas substâncias utilizadas na citricultura.

A avaliação de resíduos de pesticidas em óleos essenciais têm sido objetos de estudos desde a década de 60, quando Stevens informou a presença de inseticidas organofosforados em óleo cítrico produzidos na Flórida e Califórnia. Na mesma década, Guenther encontrou resíduos de malation e paration em amostras de óleos essenciais extraídos de laranjas obtidas no comércio. Já na década de 70, Dupuis relatou grande quantidade de metidationa em óleos essenciais de laranja ⁹.

Dugo e colaboradores ⁹ apresentam resultados qualitativos e quantitativos de contaminação por organofosforados e organoclorados em óleos essenciais produzidos na Itália entre os anos de 1983 até 1992. As análises de organofosforados foram realizadas diretamente no óleo, sem pré-tratamento, utilizando cromatografia gasosa com detectores de nitrogênio-fósforo (NPD) e fotometria de chama (FPD). Essas análises foram realizadas em óleo de limão, laranja, mandarina e bergamota, utilizando padrões internos dos inseticidas. Observou-se nesses trabalhos maiores teores para os inseticidas organofosforados metil paration e etil paration. O trabalho demonstrou também uma redução acentuada nos teores dos resíduos de pesticidas nos óleos essenciais avaliados a partir do ano de 1988, devido ao maior controle quanto à aplicação desses produtos.

Saitta e colaboradores ¹⁰ realizaram um estudo sobre a contaminação com inseticidas organoclorados em óleo essencial de citros produzidos na Itália entre os anos de 1991 e 1996. Foram estudados os óleos de limão, laranja, mandarina e bergamota, em 539 amostras de óleo obtidas por prensagem a frio. Todas as amostras passaram por um processo de *clean-up* e foram analisadas por cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons e confirmação

da presença de resíduos realizada por cromatografia gasosa com espectrômetro de massas (GC-MS). Da mesma forma que Dugo e colaboradores ⁹ confirmaram em seus resultados que as concentrações dos resíduos dos inseticidas diminuíram com o passar dos anos, mostrando que os produtores tendem a racionalizar o uso de pesticidas, quando comparado ao uso excessivo previamente encontrado.

Barrek e colaboradores ¹¹ desenvolveram um método seguro e robusto para a análise de resíduos de vinte pesticidas em óleos essenciais de limão. Dois grupos de pesticidas foram formados, sendo o primeiro deles contendo doze analitos, foram analisados por meio da técnica de GC-MS, e o segundo, contendo dez pesticidas, foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas por eletrospray. Porém, dois dos pesticidas, o carbofuran e o clorpirifós, foram analisados pelas duas técnicas. Nos dois casos, os vinte resíduos foram extraídos e separados por meio de extração em fase sólida (SPE) utilizando cartuchos contendo uma mistura de Florisil e C18. O método foi eficiente na análise de todos os pesticidas estudados, numa faixa de medida de 2 a 30 mg L⁻¹ e com limites de detecção entre 0,02 e 0,50 mg L⁻¹.

Díaz et al. ¹² desenvolveram um método para determinação do inseticida/acaricida organofosforado dimetoato em amostras de azeite de oliva. Para isso, foi utilizada a técnica de voltametria de onda quadrada por redissolução anódica e eletrodo de gota pendente de mercúrio. Primeiramente, realizaram estudos com diferentes procedimentos de extração, extração líquido-líquido com diferentes solventes, e diferentes métodos de extração sólido-líquido. Para tal, percebeu-se a necessidade de a solução extratora conter maior quantidade de água do que solvente orgânico, a fim de reduzir a extração das substâncias oleosas, capazes de interferir na adsorção do dimetoato no mercúrio, já que os óleos são solúveis em solventes orgânicos e não em água. Em seguida, foram avaliados os processos de *clean-up* com cartuchos C18. Foram construídas curvas analíticas em meio aquoso e na solução obtida no processo de extração, onde foram observadas diferenças significativas nas tangentes das retas, indicando um efeito de matriz. Por este motivo, foi necessário utilizar o método de adição padrão para determinação do dimetoato. O limite de detecção obtido foi de 3 µg L⁻¹.

Existem outros estudos na literatura nos quais são realizadas análises de pesticidas em diferentes variedades de óleo. Dentre eles, pode-se citar o realizado por Li e colaboradores ¹³, no qual foi desenvolvido um método de extração e *clean-up* das amostras para determinação de 14 pesticidas organofosforados por GC-FPD. Além dos estudos realizados para determinação de pesticidas em azeite de oliva ^{14, 15, 16, 17}.

Visando contribuir com o desenvolvimento de métodos rápidos e de baixo custo para a análise de amostras de matriz complexa, como é a de óleo essencial de laranja, este trabalho tem como objetivo avaliar a eletroatividade e desenvolver métodos eletroanalíticos para a determinação de alguns pesticidas em amostras de óleos essenciais de laranja. A seleção dos pesticidas foi realizada em função do seu amplo uso na citricultura e da sua restrição quanto à presença no óleo essencial exportado para mercados exigentes, como dos EUA, Japão e Comunidade Europeia.

1.1. PESTICIDAS ESTUDADOS

1.1.1. Piridafention

O inseticida piridafention [O-1,6-dihidro-6-oxo-1-phenylpyridazin-3-yl) O,O-diethyl phosphorothioate], cuja estrutura é apresentada na Figura 1, apresenta classificação toxicológica IV e pertence à classe dos organofosforados¹⁸. Os inseticidas deste grupo são amplamente utilizados na agricultura brasileira e agem como inibidores das colinesterases, principalmente a acetilcolinesterase, aumentando o nível de acetilcolina nas sinapses, causando a morte dos insetos. A ingestão acidental ou intencional do piridafention pode causar intoxicações graves em animais e humanos¹⁹.

Figura 1. Fórmula estrutural do inseticida piridafention.

Este inseticida/acaricida, conhecido comercialmente como Ofunack 400 CE, é um concentrado emulsionável de aplicação foliar, medianamente tóxico, porém muito perigoso para o ambiente²⁰, tóxico para organismos aquáticos e abelhas. Na presença de fogo, pode se decompor, formando produtos como, óxidos de carbono, óxidos de nitrogênio (NO_x), óxidos de enxofre e de fósforo²¹.

Assim como a maioria dos pesticidas, o piridafention é geralmente analisado por cromatografia líquida e cromatografia gasosa com diferentes tipos de detectores, dentre eles pode-se citar o detector de nitrogênio-fósforo^{22, 23}, detector de arranjo de diodo²², espectrometria de massa^{22, 11}, termospray-espectrometria de massa²⁴ e detector por captura

de elétron ²⁵. Além dos métodos cromatográficos é possível a aplicação de métodos baseados em ensaios imunoenzimáticos (ELISA) para determinação desse inseticida ²⁶.

Os métodos eletroanalíticos também podem ser empregados na determinação do piridafention graças à presença do grupo reduzível azometina. No entanto, o único estudo eletroquímico do piridafention foi realizado por Sampedro e colaboradores (1998) no qual utilizaram o eletrodo de gota suspensa de mercúrio (HMDE) com a técnica de voltametria de pulso diferencial com pré-acumulação e redissolução para a determinação do inseticida em amostras de vinho, água e solo. O limite de detecção alcançado foi igual a 0,17 µg L⁻¹. Recuperações do piridafention em amostras ambientais foram maiores que 92% com desvio padrão relativo menor que 3%. Neste trabalho observa-se que o inseticida adsorve fortemente na superfície do eletrodo, já que após varreduras sucessivas, o pico catódico desaparece completamente ²⁷.

1.1.2. Cihexatina

A cihexatina (tricyclohexyltin hydroxide), cuja estrutura está apresentada na Figura 2, é um pesticida pertencente à classe dos organoestânicos, que apresenta classificação toxicológica II e é utilizado na aplicação foliar das culturas de berinjela, café, citros, maçã, morango e pêssago ¹⁸¹⁸. Os compostos organoetânicos são caracterizados pela presença de uma ou mais ligações carbono-estanho e apresentam fórmula geral R_nSnX_{4-n} , onde R é um grupo alquil ou aril, X é uma espécie aniônica, como cloreto, hidróxido ou outro grupo funcional, e n varia de 1 a 4. A atividade biológica máxima ocorre na série dos organoestânicos onde $n = 3$, por este motivo, estes compostos são utilizados comercialmente como biocidas em várias áreas. Na agricultura, os compostos trifenilestânicos, tal como a cihexatina, são largamente utilizados, em geral como acaricidas, pois apresentam baixa fitotoxicidade ²⁸.

Na literatura consta somente um trabalho para análise desta classe de pesticida em amostras ambientais. Neste trabalho foi utilizada a cromatografia gasosa capilar com detecção por espectrometria de massa ²⁹.

Figura 2. Fórmula estrutural do acaricida cihexatina.

1.1.3. Bromopropilato

O bromopropilato (isopropyl 4,4'-dibromobenzilate) (Figura 3) pertence à classe toxicológica III e é indicado para controle de pragas nas culturas de algodão e citros. Assim como os outros pesticidas, a maioria dos métodos utilizados para determinação do bromopropilato é a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) ^{30, 31, 32} e a cromatografia gasosa (GC) ^{33, 34, 35, 36}.

Cámara e colaboradores (1991) ³⁷ estudaram a evolução e persistência do bromopropilato, aplicado em condições de boa prática agrícola, como indicado pelo fabricante, em pomar de limão (variedade *Verna*). Foram realizados dois tipos de tratamentos consecutivos e duas doses de ingrediente ativo para se estudar a variação dos níveis residuais no decorrer do tempo. A determinação do resíduo do acaricida foi feita por cromatografia gasosa e detector por captura de elétrons. O limite de detecção alcançado foi de 4 µg L⁻¹. Observou-se que as curvas de dissipação dos resíduos obedecem a uma cinética de primeira ordem em uma única etapa. Somente em alguns casos, os resultados mostraram que se excedeu 1,0 mg L⁻¹ em fruto inteiro, sendo, entretanto, este valor era alcançado apenas no dia da aplicação do produto.

Figura 3. Fórmula estrutural do acaricida bromopropilato.

Uma síntese das principais características e propriedades dos três pesticidas estudados neste trabalho é apresentada na Tabela 2, com dados da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*).

Tabela 2. Principais características e propriedades ambientais dos pesticidas piridafention, cihexatina e bromopropilato

Parâmetro	Piridafention	Cihexatina	Bromopropilato
Tipo	inseticida	inseticida/acaricida	acaricida
Classe	organofosforado	organoestânico	benzilato
Massa molar (g mol ⁻¹)	340,3	385,2	428,1
Solubilidade, 20°C (mg L ⁻¹)	100	1	0,1
K _{ow} , 20 °C, pH 7	1,58x10 ³	6,92x10 ⁴	2,51x10 ⁵
Pressão de vapor	5x10 ⁻⁶	1,15x10 ⁻³	1,1x10 ⁻²
Degradação no solo (dias)	18	50	51
K _{oc} no solo (L kg ⁻¹)	7211	4365	6309
LD ₅₀ mamíferos (mg kg ⁻¹)	769	265	> 5000

K_{ow}: coeficiente de partição octanol-água; K_{oc}: coeficiente de distribuição por unidade de carbono; LD₅₀: dose letal para 50% da população.

Fonte: sitem.herts.ac.uk.

1.2. TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS

As técnicas voltamétricas compreendem um grupo de métodos eletroquímicos e eletroanalíticos nos quais as informações do analito são obtidas por meio de medidas de corrente em função do potencial aplicado, em condições que estimulam a polarização de um eletrodo de trabalho, ou seja, ela faz uso das propriedades elétricas mensuráveis (corrente, potencial, carga) de um analito quando este é submetido a uma diferença de potencial entre eletrodos em uma célula eletroquímica e a relação destas propriedades com os parâmetros químicos do analito ³⁸. A voltametria é muito utilizada para estudar os processos de redução e oxidação em vários meios, processos de adsorção em superfícies e mecanismos de transferência de elétrons em superfícies de eletrodos quimicamente modificados ³⁹. O uso dessas medidas elétricas, para fins analíticos, apresenta inúmeras aplicações, tais como monitoramento ambiental, controle de qualidade em indústrias e análises biomédicas ³⁸.

A voltametria e a amperometria estão entre os métodos eletroanalíticos mais usados. Estas técnicas são interessantes para o monitoramento ambiental de substâncias eletroquimicamente ativas em vários tipos de matrizes, pois apresentam baixo custo, em geral, possuem alta sensibilidade, são adequados para especiação química, assim, apresentam-se como uma alternativa aos métodos espectrométricos e técnicas de separação ⁴⁰.

Dentre as vantagens analíticas das várias técnicas voltamétricas pode-se citar a boa sensibilidade analítica em um amplo intervalo de concentração, tanto para espécies inorgânicas como para orgânicas, a extensa variedade de solventes e eletrólitos, o tempo relativamente curto das análises, a determinação simultânea de vários analitos, a possibilidade de se determinar a cinética e mecanismo das reações, e também a possibilidade da medida direta na amostra, sem separações prévias. Além disso, é possível realizar análises em materiais coloridos ou amostras contendo partículas sólidas dispersas ⁴¹. Essas características fizeram destas técnicas uma ótima ferramenta para a realização de estudos de contaminantes e processos em amostras naturais (solos, águas naturais, plantas), alimentos e fluidos biológicos ³⁸.

A Voltametria Cíclica (VC) e a Voltametria de Onda Quadrada (SWV, do inglês *square wave voltammetry*) estão entre as técnicas voltamétricas mais utilizadas nas aplicações eletroanalíticas e eletrocinéticas, pois além de fácil utilização, baixo custo e rápidas, fornecem importantes informações sobre a reversibilidade da reação redox ⁴². Entretanto, percebe-se uma tendência atual por uma maior utilização da SWV em substituição à VC em estudos dos mecanismos de reações eletródicas, pois a SWV é capaz de discriminar a corrente de carga bem como fornecer uma visão sobre meias reações ⁴³. Osteryoung et al. ⁴⁴ propuseram o uso da SWV nos estudos de diagnóstico das reações muito semelhante à da VC. Realmente, a SWV promove um alto conteúdo informativo, especialmente quando se considera os voltamogramas das varreduras direta e reversa, além de analisar o processo eletródico em uma ampla faixa de potenciais em tempos razoáveis. Isso se deve principalmente à sua habilidade de suprimir a corrente residual e os sistemas poderem ser examinados em uma concentração muito menor que na VC. Além disso, a SWV é melhor que a VC na avaliação dos parâmetros quantitativos de sistemas que são bem compreendidos mecanisticamente ⁴⁵.

No entanto, a SWV apresenta também desvantagens em relação à VC, pois nesta última, a interpretação em termos químicos é mais clara e também, a reversão na VC cobre uma faixa de potenciais maior e pode evidenciar ligações entre os processos que ocorrem em potenciais muito separados ⁴².

1.2.1. Voltametria Cíclica

A VC é uma técnica eletroanalítica amplamente usada para se obter as primeiras informações sobre o processo eletródico. Esta técnica tem como vantagens a habilidade de se obter informações sobre a termodinâmica dos processos redox, da cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons e sobre reações químicas acopladas a processos adsorptivos. Por esses motivos é, normalmente, a primeira técnica utilizada na investigação de um sistema eletroquímico.

Ela consiste na varredura linear de potencial de um eletrodo de trabalho estacionário, utilizando uma variação de potencial de forma triangular, de maneira que a varredura se inicia em valor de potencial no qual nenhuma reação ocorre, seguindo até o potencial de inversão e retornando, geralmente ao potencial inicial³⁹. Os parâmetros mais importantes obtidos de um voltamograma cíclico são os potenciais de pico (E_p) e as correntes de pico (I_p) catódico e anódico.

Alguns dos critérios de VC usados para diagnosticar se o sistema eletroquímico é reversível ou não, são⁴⁶:

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

Para os processos irreversíveis, a velocidade de transferência de carga é lenta quando comparada com a velocidade de varredura, e as concentrações das espécies oxidadas e reduzidas não serão mais função apenas do potencial, portanto não possui um comportamento Nernstiano. Neste caso, o coeficiente (α) e a velocidade de transferência de carga devem ser considerados. Nestas circunstâncias, a equação que descreve a corrente de pico é dada pela Equação 1.

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

onde: n é o número de elétrons envolvidos no processo, A é a área geométrica do eletrodo (cm^2), C é a concentração da espécie eletroativa no interior da solução (mol cm^{-3}), D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) e v é a velocidade de varredura (V s^{-1})³⁹.

Os critérios eletroquímicos usados para diagnosticar um sistema irreversível são^{46,46}:

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

1.2.2. Voltametria de Onda Quadrada

A SWV foi desenvolvida por Baker^{46, 47, 48} em 1952 e no decorrer dos anos sofreu modificações instrumentais aliadas ao desenvolvimento de novas teorias que foram responsáveis pelo estabelecimento da técnica para análise de traços e na obtenção de dados relacionados à cinética e ao mecanismo de reações químicas sob várias condições⁴⁹.

Esta técnica pode ser vista como a combinação das melhores características dos vários métodos de voltametria de pulso, incluindo a minimização da corrente capacitiva, a sensibilidade da voltametria de pulso diferencial, o poder diagnóstico da voltametria de pulso normal, tempos de varreduras muito mais rápidos e aplicabilidade em uma ampla faixa de materiais eletródicos e sistemas⁴².

Além disso, esta técnica apresenta menor consumo das espécies eletroativas, diminuindo os problemas associados com o bloqueio da superfície do eletrodo pelos produtos das reações, e, portanto, diminuindo os limites de detecção a valores comparáveis, em algumas situações, aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Ainda, a análise dos resultados também possibilita a avaliação cinética e mecanística considerando-se as espécies adsorvidas ou não à superfície do eletrodo de trabalho^{47, 49}. A facilidade desta técnica está na apresentação da corrente gerada na forma de um pico simétrico, de maior intensidade que as ondas obtidas por polarografia de corrente direta ou voltametria cíclica e a habilidade em medir as correntes faradaicas em um tempo em que as correntes capacitivas são negligenciáveis. A SWV tem sido aplicada em reações de adsorção de compostos orgânicos e estuda a redução total e irreversível dos materiais adsorvidos⁵⁰.

Na SWV, a forma da curva corrente-potencial é proveniente da aplicação de potenciais de altura ΔE_i (incremento de varredura de potenciais) que varia de acordo com uma escada de potencial com largura a (amplitude do pulso) e duração de τ (período). Na curva de potencial-tempo, a largura de pulso ($\tau/2$) é chamada t e a frequência de aplicação dos pulsos representada por f , dada por $(1/t)$. As correntes elétricas são amostradas duas vezes, uma ao final do pulso direto, quando a direção do pulso é igual à direção da varredura, e outro ao final do pulso reverso, onde a direção do pulso é contrária à direção da varredura. O sinal é obtido como uma intensidade de corrente resultante (ΔI) de forma diferencial, e apresenta excelente sensibilidade, pois esta amostragem garante uma minimização da contribuição da corrente capacitiva sobre a corrente resultante ⁴⁹. A forma de aplicação dos pulsos de potencial é apresentada na Figura 4.

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

As curvas de corrente-potencial apresentam um perfil bem definido e são, geralmente, simétricas, isso porque as correntes são medidas somente ao final de cada semi período e as variações na altura e na largura do pulso de potencial são sempre constantes, para um determinado intervalo de potenciais ^{49,49}.

1.3. DIFERENTES MATERIAIS ELETRÓDICOS UTILIZADOS

Apesar das diversas limitações quanto ao uso do mercúrio, o eletrodo de mercúrio ainda é bastante utilizado na área de eletroanalítica, nas formas de eletrodos gotejante, de gota

pendente (estático) ou filme fino depositado eletroquimicamente ⁵¹. No entanto, uma das principais limitações técnicas é o fato desses eletrodos serem aplicados somente em potenciais negativos, e, obviamente, as restrições ambientais quanto à alta toxicidade e proibição de uso em alguns países ⁵². Por esses motivos, os eletrodos sólidos tendem a substituir os eletrodos de mercúrio na maioria das aplicações, notadamente na região anódica. Dentre os eletrodos sólidos mais utilizados, podem-se citar os de metais nobres, como a platina, ouro e prata. Porém, os que mais receberam atenção para aplicações eletroanalíticas são as diversas formas de eletrodos à base de carbono, como por exemplo, o carbono vítreo, grafite pirolítico e a pasta de carbono. Uma das principais vantagens do eletrodo de mercúrio é a possibilidade de renovação da superfície pela troca da gota com alta reprodutibilidade em termos de área, o que não ocorre com os eletrodos sólidos, que utilizam outros procedimentos de limpeza e renovação da superfície menos reprodutível. No entanto, estes eletrodos sólidos apresentam outras vantagens sobre o eletrodo de mercúrio, dentre elas, a ampla janela de potencial e simplicidade de operação ⁵³.

A utilização de eletrodos sólidos é muito citada na literatura, e estes vem sendo muito utilizados na eletroquímica até mesmo antes do mercúrio ⁵⁴. Além disso, a modificação de superfície dos eletrodos vem ocupando um lugar de destaque, pois em geral possibilita o aumento da sensibilidade, seletividade e do tempo de vida do eletrodo para análise de diversos compostos nas mais variadas matrizes ⁵⁵.

A denominação eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi usada primeiramente por Moses e colaboradores (1975) para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, convenientemente imobilizadas na superfície desses dispositivos. A manipulação proposital e controlada das propriedades superficiais dos eletrodos permitiu que se criasse uma ampla variedade de novos sensores eletroquímicos, que apresentam características diversas e atrativas. A modificação de um eletrodo visa atribuir novas características físico-químicas à sua superfície, como uma forma de alterar a reatividade e seletividade do sensor base, favorecendo assim o desenvolvimento de eletrodos para vários fins e aplicações, desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas até a transferência de elétrons em moléculas de interesse ⁵⁶.

1.3.1. Eletrodos compósitos

Um eletrodo compósito pode ser definido como material que consiste de pelo menos uma fase condutora combinada com pelo menos uma fase aglutinante ^{40, 57}, no qual cada fase

mantém suas características individuais, porém a mistura pode apresentar novas características físicas, químicas ou biológicas de cada fase individual.

Materiais a base de carbono formam fases condutoras ideais na elaboração de materiais compósitos, o que os tornam muito empregados em sensores amperométricos, por exemplo, estes materiais são inertes quimicamente, além de apresentar grande intervalo de potencial de trabalho e possuir baixas resistência e corrente residual ⁵⁸.

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

O uso de eletrodos compósitos, baseados na fase condutora dispersa em matrizes poliméricas, tem levado a um importante avanço em análises eletroquímicas, principalmente aqueles em que atuam como sensores. Além disso, esse tipo de eletrodo pode ser utilizado em medidas voltamétricas e amperométricas devido às propriedades elétricas do grafite e também a facilidade no manuseio dos polímeros, apresentando algumas vantagens quando comparados aos eletrodos clássicos, como ouro, platina e mercúrio, como melhoria na relação sinal/ruído, elevada resistência mecânica e estabilidade em sistemas de fluxo, relativa simplicidade na preparação e renovação da superfície e baixo custo ^{54, 59}.

O eletrodo compósito de grafite-poliuretana (GPU), desenvolvido por Mendes e colaboradores (2002) ⁶⁰, apresenta boa reprodutibilidade, resistência mecânica e resistência elétrica apropriadas, além de fácil preparação e renovação da superfície. Esse eletrodo foi aplicado com sucesso na determinação analítica da hidroquinona ⁶⁰, dopamina ⁶¹, de antidepressivos ⁶², atenolol ⁶³, flavonoides ⁶⁴, ácido indol-3-acético ⁶⁵, e também dos pesticidas 2,4-D ⁶⁶ e metribuzin ⁶⁷, com boa sensibilidade e seletividade, constituindo-se, assim, de um material extremamente versátil para utilização no desenvolvimento de metodologias analíticas.

1.3.2. Eletrodo de amálgama de prata

O uso do mercúrio, não só como eletrodo, mas em qualquer ocasião, tem sido de grande preocupação devido a sua alta toxicidade. Além disso, seu uso como eletrodo apresenta outras desvantagens, como a dificuldade de ser usado em análises de campo, sua utilização em indústrias e sistemas em fluxos, o uso em análises de compostos em potenciais

positivos, e principalmente a formação de resíduos tóxicos^{68, 69, 70}. Por este motivo, existe um grande interesse na busca por materiais alternativos na substituição do mercúrio líquido e amálgamas líquidas. Com isso, a partir dos anos 2000, houve um crescimento no uso dos eletrodos de amálgamas. Estes eletrodos são definidos como eletrodos compostos por uma liga metálica, composta de mercúrio e um ou mais metais, tais como, o cobre, a prata, ouro, irídio, platina, cádmio e bismuto, onde a escolha adequada do metal depende do tipo de analito de interesse⁷¹.

Os eletrodos de amálgama podem ser preparados de duas maneiras, por amalgamação natural ou mecânica. No primeiro procedimento, o pó metálico é inserido em um tubo com diâmetro apropriado, que pode ser de vidro, cerâmica ou plástico. A extremidade deste tubo é imersa no mercúrio líquido e deixada em repouso até que o mercúrio penetre entre as partículas metálicas e forme uma fase sólida e compacta. Já o segundo método, é baseado no procedimento usado para o preparo de amálgamas dentárias, onde uma determinada massa do pó metálico é misturada com uma massa pré-definida de mercúrio líquido. Esta mistura é homogeneizada mecanicamente e em seguida, a pasta é inserida e compactada em um capilar de vidro com diâmetro adequado. O contato elétrico é feito com um fio de cobre e cola de prata⁷¹.

Os eletrodos de amálgama de prata, produzidos por amalgamação mecânica, apresentam algumas vantagens, tais como, fácil renovação da superfície eletródica, que pode ser feita por meio de polimento mecânico ou eletroquimicamente, apresenta alta estabilidade mecânica, superfície homogênea e boa durabilidade⁶⁹, além da completa ausência do mercúrio líquido, o que o torna praticamente não tóxico⁷¹.

1.3.3. Eletrodo de diamante dopado com boro

Os eletrodos de diamante dopado com boro (DDB) têm recebido atenção especial nos últimos anos devido às propriedades eletroquímicas que os diferenciam de outros eletrodos de carbono, tais como, o carbono vítreo, pasta de carbono e grafite pirolítico. Os DDB apresentam baixa e estável corrente de fundo, ampla janela de potencial em meios aquosos e não aquosos, podendo chegar a 3,5 V, estabilidade morfológica e microestrutural a altas temperaturas e densidades de corrente, boa resposta a alguns analitos aquosos e não aquosos, sem qualquer pré-tratamento convencional, e fraca adsorção de moléculas polares, o que melhora a resistências do eletrodo à desativação ou envenenamento, estabilidade na resposta em longo prazo^{72, 73, 74, 75}.

Devido a estas características, seu uso torna-se de grande valia em eletroanálises, na determinação de compostos orgânicos, tais como o 4-nitrofenol ^{72,73}, e 4-clorofenol ⁷⁶, compostos inorgânicos e íons metálicos ⁷⁵.

1.3.4. Ultramicroeletrodo de ouro

O surgimento dos ultramicroeletrodos, na década de 70, possibilitou o melhor conhecimento dos processos de eletrocatalise *in vivo* e *in natura*, o uso de eletrólito suporte pouco condutor e até mesmo a sua ausência, possibilitando o uso de solventes orgânicos e não polares. Além disso, permitiu as eletrodeposições de núcleos isolados, monitoramento de reações com cinética rápida e de espécies instáveis com altas velocidades de varredura, sem provocar distorção significativa no sinal voltamétrico, e eletrocatalise envolvendo desprendimento de gases ^{77, 78}.

O nome ultramicroeletrodos é dado, não somente devido às suas dimensões micrométricas ou nanométricas, mas pelo fato de, em uma determinada condição experimental, sua dimensão seja comparável ou menor que a camada de difusão. Estes eletrodos apresentam um comportamento eletroquímico diferenciado, com voltamogramas de perfil sigmoidal, e o modo predominante de transporte de massa é a difusão esférica ^{77, 79}.

Devido às características citadas, os ultramicroeletrodos têm sido aplicados em determinações de contaminantes ambientais e metais pesados, dentre outras aplicações. Os microeletrodos mais comumente usados são de platina, ouro, níquel, fibra de carbono, irídio, entre outros ⁸⁰.

Os ultramicroeletrodos de ouro já foram aplicados na determinação eletroanalíticas de diversos analitos, tais como, chumbo ⁷⁸, dopamina ⁸¹, além dos pesticidas, paraquat ^{82, 83}, e thiram ⁸⁴.

1.3.5. Eletrodo de filme de bismuto

O bismuto é um material usado na construção de eletrodos caracterizados por sua baixa toxicidade e por possuir características similares ao eletrodo de mercúrio. Com isso, estes eletrodos representam uma alternativa atraente ao tradicional eletrodo de mercúrio por não apresentar riscos ambientais, além de apresentarem um excelente desempenho analítico ^{85, 86}. Este eletrodo apresenta outras vantagens, tais como, preparo simples, sensível, sinal bem

definido e não distorcido, excelente resolução de picos vizinhos e uma ampla janela catódica de potencial ⁸⁷.

O bismuto pode ser aplicado nos mesmos substratos que o mercúrio, ou seja, sobre as diferentes formas de eletrodos à base de carbono, dentre outros. Entre os substratos de carbono, o que gera menor corrente de fundo é o carbono vítreo, porém, este material é de alto custo. Entre os materiais de baixo custo estão os eletrodos de pasta de carbono, que são facilmente preparados e ativados, e também os grafites para lapiseiras e os eletrodos *screen-printed*. O bismuto pode ser aplicado aos substratos de três maneiras diferentes, deposição *ex situ* ou *in situ* ou adicionado ao material do eletrodo. A deposição *ex situ* é feita a partir de uma solução contendo íons bismuto, e em seguida o eletrodo é empregado na solução com o analito de interesse, e a deposição *in situ* é feita na própria solução contendo os íons a ser analisados, na qual são adicionados íons de bismuto. E o terceiro método é baseado na modificação do eletrodo com um precursor de bismuto, como por exemplo, o Bi_2O_3 ⁸⁸.

Wang et al. (2000) ⁸⁵ foram os primeiros no uso do eletrodo de filme de bismuto em substituição ao eletrodo de mercúrio. Neste trabalho, os autores depositaram o filme *in situ* sobre a superfície de carbono vítreo para determinação de Pb e Cd, por voltametria de redissolução. Os limites de detecção para Pb e Cd foram de 1,1 e 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Neste mesmo ano, Wang e colaboradores (2000) ⁸⁹ realizaram estudos para determinação de níquel por voltametria de redissolução adsortiva, no qual o filme de bismuto apresentou um melhor desempenho analítico frente ao eletrodo de gota pendente de mercúrio.

Legeai e Vittori (2006) ⁹⁰ prepararam um eletrodo a base de cobre e bismuto modificado com membrana de nafion (Cu/Nafion/Bi) para aplicação em análises de metais pesados (Zn, Pb e Cd) em amostras de águas naturais, utilizando a técnica de voltametria de redissolução anódica. Curvas analíticas foram obtidas no intervalo de concentração de 2 a 12 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o cádmio e de 2 a 18 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o chumbo. Os desvios padrões relativos foram menores que 5% e os limites de detecção obtidos foram de 0,68 e 0,62 $\mu\text{g L}^{-1}$, para Cd e Pb, respectivamente. A principal vantagem da utilização da membrana de nafion foi de que a mesma levou a um aumento da corrente capacitiva devido a um aumento na espessura da camada de difusão eletrodo/eletrólito. No entanto, essa membrana foi favorável somente na análise de traços dos metais Pb e Cd, não sendo possível a análise do Zn.

Outro trabalho utilizando filme de bismuto recoberto com Nafion foi desenvolvido por Xu et. al. (2008) ⁹¹, no qual realizaram a determinação de Pb (II), Cd (II) e Zn (II) em baixos níveis de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) por meio da técnica de voltametria de pulso diferencial com

redissolução anódica. A potencialidade do método analítico foi avaliada para determinação simultânea dos metais em solução não desaeradas, com limites de detecção iguais a $0,30 \mu\text{g L}^{-1}$ para o Zn, $0,17 \mu\text{g L}^{-1}$ para o Cd e Pb. A alta reprodutibilidade para o eletrodo foi indicada pelos baixos desvios padrões relativos (Pb 2,4 %, Cd 2,0 % e Zn 3,4 %). O eletrodo foi aplicado com sucesso na determinação dos metais citados em amostras de vegetais e os resultados obtidos estavam de acordo com os obtidos com a técnica de espectrometria de absorção atômica.

CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo geral desenvolver metodologias eletroanalíticas para a determinação dos pesticidas piridafention, cihexatina e bromopropilato, utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV) e sugerir métodos de extração dos pesticidas de amostras de óleos essenciais de citros.

Como objetivos específicos, tem-se:

- Estudo da eletroatividade dos pesticidas sobre diferentes superfícies eletródicas;
- Estudo voltamétrico dos pesticidas, para avaliar o grau de reversibilidade da reação e verificar a presença ou não de processos de adsorção na superfície do eletrodo;
- Otimização dos parâmetros da metodologia eletroanalítica (pH, velocidade, amplitude, frequência, incremento de varredura);
- Determinação dos parâmetros de desempenho da metodologia (Limites de detecção e quantificação, precisão, exatidão e recuperação);
- Avaliar diferentes processos para extração de resíduos de pesticidas dos óleos essenciais de citros (descontaminação);
- Avaliar o desempenho das metodologias eletroanalíticas desenvolvidas, para a determinação de pesticidas em amostras de óleo essencial de citros.

CAPÍTULO 3. MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Dentre os 39 ingredientes ativos autorizados para a produção integrada de citros ⁹², foram selecionados três deles para o estudo proposto, considerando as exigências de mercados consumidores como o europeu, americano e japonês quanto à presença de resíduos de pesticidas nos óleos essenciais de laranja comprados do mercado brasileiro e na intensidade e importância quanto ao uso na cultura de citros no Estado de São Paulo. Em reunião realizada com técnicos da empresa Fisher-Citrosuco, forneceu-se inicialmente uma lista dos ingredientes ativos de pesticidas mais relevantes, baseados nesses dois critérios e, posteriormente, foram selecionados os acaricidas cihexatina, da classe dos organoestânicos, e bromopropilato da classe dos benzilatos e o inseticida organofosforado piridafention, para o estudo proposto. No entanto, a cihexatina foi banida do mercado brasileiro em 2011, seguindo uma providência tomada por outros países, tais como Estados Unidos, Reino Unido, Canadá, Japão, China, dentre outros ⁹³.

A primeira etapa do trabalho consistiu em um estudo de viabilidade onde se avaliou a eletroatividade desses 3 pesticidas em diferentes eletrodos de trabalho, como o eletrodo de GPU, ultramicroeletrodo de ouro, amálgama de prata e eletrodo de filme de bismuto. Esse estudo inicial foi importante devido à quase total ausência de trabalhos prévios sobre a determinação eletroanalítica ou eletroatividade desses compostos, principalmente a cihexatina e o bromopropilato.

Posteriormente, realizou-se uma avaliação mais detalhada da eletroatividade com os eletrodos selecionados para cada composto, utilizando a voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada, com a otimização dos parâmetros de varredura e a obtenção de curvas analíticas para a determinação desses pesticidas em amostras de óleo essencial de laranja. A seguir são descritos os materiais, as técnicas e os procedimentos experimentais utilizados.

3.1. CÉLULAS ELETROQUÍMICAS

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em uma célula eletroquímica convencional confeccionada com vidro boro-silicato, com capacidade de 25 mL e tampa Teflon[®] com orifícios para a introdução dos eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, e entrada de N₂ (Figura 5).

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

3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de pureza analítica (PA) e foram usados sem purificação prévia (Tabela 3). A água utilizada para preparação das soluções foi purificada em sistema Milli-Q da Millipore[®].

O eletrólito suporte utilizado em todas as medidas eletroquímicas foi o tampão BR, preparado a partir dos ácidos acético (0,04 mol L⁻¹), fosfórico (0,04 mol L⁻¹) e bórico (0,04 mol L⁻¹). O valor do pH desejado nos experimentos foi ajustado pela adição de hidróxido de sódio (1,0 mol L⁻¹) ou ácido sulfúrico (1,0 mol L⁻¹).

As soluções estoque padrões dos pesticidas foram preparadas da seguinte maneira: 200 mg L⁻¹ de piridafention em metanol, 200 mg L⁻¹ de cihexatina em etanol e 200 mg L⁻¹ de bromopropilato em etanol. Nessas condições houve solubilização total dos pesticidas. Essas soluções estoques foram conservadas em frascos âmbar sob refrigeração.

Tabela 3. Procedência e pureza dos reagentes utilizados

Reagentes	Fórmula química	Procedência	Pureza (%)
Ácido acético	CH ₃ COOH	J. T. Baker	99,9
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	Mallinckodt	99,5
Ácido clorídrico	HCl	Synth	36,5-38 *
Ácido fosfórico	H ₃ PO ₄	Synth	85,0 *
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄	Synth	95-98 *
Bromopropilato	C ₁₇ H ₁₆ Br ₂ O ₃	Riedel-de Häen	99,2
Cihexatina	C ₁₈ H ₃₄ OSn	Fluka	99,8
Etanol	CH ₃ CH ₂ OH	Vetec	99,8
Metanol	CH ₃ OH	Vetec	HPLC
Piridafention	C ₁₄ H ₁₇ N ₂ O ₄ PS	Fluka	99,7

*: Estes valores indicam a concentração do reagente e não pureza.

3.3. ELETRODOS

Os eletrodos de trabalho utilizados foram o eletrodo compósito de grafite-poliuretana (GPU), de diamante dopado com boro (DDB), de amálgama de prata e de filme de bismuto, cujos procedimentos de construção são apresentados a seguir, bem como os eletrodos de referência e auxiliar utilizados.

3.3.1. Eletrodos de trabalho

O eletrodo de GPU foi confeccionado por meio de uma mistura de resina poliuretana de origem vegetal, proveniente da Poliquil (Araraquara, SP) misturando-se 0,85 partes do pré-polímero (A-249) com 1 parte do poliol (B-471). A resina foi então homogeneizada com pó de grafite (Acheson-38 da Fisher) a fim de se obter 60% (m/m) do grafite no compósito. Esta mistura foi inserida em uma prensa extrusora para a obtenção de um tarugo com diâmetro de 3 mm ($A_{\text{geométrica}} = 0,07 \text{ cm}^2$) e comprimento de 1,5 cm. Este tarugo foi conectado a um fio de cobre por meio de cola de epóxido de prata e o conjunto foi inserido em um tubo de vidro ou seringa para insulina com seu interior sendo preenchido com resina Araldite[®]. O excesso de

resina foi removido com uma lixa de granulação 600, seguida de 1200, para expor o compósito e realizar o polimento.

O eletrodo de DDB foi confeccionado colando-se o material do eletrodo em uma placa de cobre com cola de prata e posteriormente preenchido por resina Araldite[®], deixando exposta somente a superfície do diamante⁹⁴. Este eletrodo foi submetido a um pré-tratamento em solução de H₂SO₄ (0,5 mol L⁻¹) antes do início dos experimentos. Primeiramente, o eletrodo foi polarizado catódicamente em -3,0 V (vs. EPH) por 10 segundos e em seguida polarizado anódicamente em +3,0 V por 30 segundos.

O eletrodo de amálgama de prata foi preparado pela mistura de pó de prata e mercúrio na razão de 30/70 (Ag/Hg, m/m) como descrito por De Souza et al. (2010)⁷⁰. Antes do início dos experimentos ou após pausa de 1 hora, estes eletrodos foram submetidos a um potencial de condicionamento de -2,2 V (vs. Ag/AgCl) por 300 segundos, seguido de varreduras cíclicas de 0 a -2,2 V, com velocidade de varredura igual a 0,5 V s⁻¹, em uma solução de KCl (0,2 mol L⁻¹), até total estabilização do eletrodo⁹⁴.

O filme de bismuto foi depositado sobre eletrodo de cobre ($\varnothing = 3,5$ mm) por meio de deposição *ex situ*, de acordo com a metodologia descrita por Nunes et al.⁹⁵ e Figueiredo-Filho et al.⁹⁶. A deposição foi realizada utilizando-se cronoamperometria, em potencial igual a -0,23 V (vs. ECS) por 200 s. A solução de eletrodeposição foi preparada por meio da mistura de 0,02 mol L⁻¹ de nitrato de bismuto e 0,08 mol L⁻¹ de citrato de sódio em meio de ácido clorídrico 1,0 mol L⁻¹^{95,96}. Para obtenção dos voltamogramas, as varreduras iniciaram-se em um potencial 50 mV mais negativo para evitar a re-oxidação do bismuto e a perda da eficiência do eletrodo.

O microeletrodo de ouro ($\varnothing = 25$ μ m) foi confeccionado da seguinte maneira, o microfio de ouro foi soldado em um fio de cobre utilizando solda de ponto, inserido em um capilar de vidro e preenchido com resina epóxi. Inicialmente, estes eletrodos passaram por um processo de condicionamento, o qual foi realizado em solução de H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ e a técnica de Voltametria Cíclica. Foi feita uma ciclagem inicial de 0 até +1,8 V à 100 mV s⁻¹ e em seguida, foi realizada uma ciclagem por 200 vezes de 0 até -1,2 V à 500 mV s⁻¹.

3.3.2. Eletrodo de referência e auxiliar

O eletrodo de referência utilizado nos experimentos foi o de calomelano saturado (ECS) consistindo em um depósito de mercúrio em contato com uma solução saturada de cloreto de mercúrio (I) (calomelano) e solução de KCl 3 mol L⁻¹. Um fio de platina

mergulhado no mercúrio proporciona o contato elétrico com o outro condutor e uma ponte salina até o segundo eletrólito completa o circuito. Como eletrodo auxiliar foi utilizado um fio de platina de 0,3 mm de diâmetro.

3.4. METODOLOGIA

A instrumentação empregada para realização dos experimentos eletroquímicos consistiu de um potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT 30 conectado a um microcomputador tipo PC-Desktop e um software GPES (versão 4.9). Nas medidas de pH, foi empregado um pH-metro modelo PM-608 (Analion) com eletrodo de vidro. A calibração do aparelho é realizada diariamente, utilizando-se uma solução tampão de citrato-ácido clorídrico (pH 4,0) e uma solução tampão fosfato (pH 7,0), ambas comerciais. A seguir são descritos os procedimentos empregados nos estudos eletroquímicos e eletroanalíticos utilizando as técnicas de VC e SWV, bem como os procedimentos de extração dos pesticidas do óleo essencial de laranja.

3.4.1. Técnicas eletroquímicas utilizadas

A técnica de VC foi empregada para o estudo preliminar da reação de oxiredução dos pesticidas piridafention, cihexatina e bromopropilato. Primeiramente, foram realizados testes com os eletrodos de GPU, DDB, amálgama de prata e filme de bismuto, com o intuito de avaliar a resposta voltamétrica dos pesticidas. Os experimentos de voltametria cíclica caracterizaram-se pela variação da velocidade de varredura e os voltamogramas foram registrados no intervalo de potencial adequado para cada eletrodo de trabalho utilizado, em eletrólito suporte tampão BR, solução do branco e concentração de 29,4 e 58,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o piridafention, 26,0 e 51,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina e 23,3 e 46,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o bromopropilato, o que representa 10 e 20 mg L^{-1} , respectivamente, de cada pesticida.

A técnica de SWV foi utilizada no desenvolvimento das metodologias eletroanalíticas para determinação do piridafention, cihexatina e bromopropilato em amostras de óleo essencial de laranja e nos estudos das reações de oxiredução dos 3 pesticidas.

As medidas para a otimização dos parâmetros para a determinação eletroanalítica dos pesticidas consistiram na avaliação do efeito da variação da concentração hidrogeniônica do meio (pH) e dos parâmetros de varredura da técnica, como a frequência de potencial (f) e a amplitude dos pulsos (a) e o incremento de varredura (ΔE_i).

Para determinação analítica dos pesticidas, obtiveram-se curvas analíticas com os padrões analíticos em intervalos de concentração entre zero e 17,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o piridafention. A sensibilidade da metodologia foi avaliada pelos cálculos dos limites de detecção e de quantificação. A precisão foi verificada por meio do cálculo do desvio padrão relativo (RSD) para as análises sucessivas durante um dia de experimento (precisão *intra-day* ou repetibilidade) também para as análises em dias diferentes de experimento (precisão *inter-day* ou precisão intermediária), a partir de soluções com concentrações estabelecidas para o piridafention. A exatidão da metodologia foi avaliada pelo cálculo do erro relativo (bias %), o qual descreve o desvio dos resultados esperados nos experimentos de recuperação do pesticida pela seguinte relação:

$$bias = \frac{C_{enc} - C_{adic}}{C_{adic}} \times 100\%$$

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

3.4.2. Avaliação da estabilidade do filme de bismuto sobre cobre

Foram realizados experimentos para se avaliar a estabilidade do filme de bismuto sobre cobre, a serem utilizados na medidas com o pesticida cihexatina.

Para tanto, foram feitas 50 medidas sucessivas para um mesmo eletrodepósito de bismuto, e 6 experimentos utilizando diferentes eletrodepósitos. Estes experimentos foram realizados utilizando-se dois valores de concentração da cihexatina, 6,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (2,5 mg L^{-1}) e 26 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (10 mg L^{-1}).

Os valores de I_p encontrados para cada medida foram separados em blocos de 10 medidas, na qual foi calculada a média, o desvio padrão e os coeficientes de variação, para posterior comparação entre os seis experimentos realizados.

3.4.3. Experimentos com óleo essencial de laranja

O óleo essencial de laranja sem contaminantes foi obtido comercialmente da Sigma-Aldrich. Este material foi contaminado com três concentrações diferentes dos pesticidas, sendo elas 1,5 2,9 e 5,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (0,5, 1,0 e 2,0 mg L^{-1} , respectivamente) e, em seguida,

submetidas a diferentes procedimentos de extração. Todos os procedimentos de extração foram aplicados em amostras contaminadas com o pesticida e em amostras não contaminadas (brancos).

Ao final de cada extração, o pH das fases aquosas obtidas foram ajustados para 1,0, utilizando H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, as metodologias desenvolvidas foram aplicadas na determinação dos pesticidas nos extratos do óleo essencial de laranja. A seguir são descritos os procedimentos de extração utilizados.

Todos os procedimentos de extração foram realizados em triplicata.

3.4.4. Métodos de extração

Os métodos de extração foram baseados naqueles realizados por Sampedro et al. (1998) ²⁷, no qual utilizaram uma extração líquido-líquido para a determinação do inseticida piridafention em amostras de água e vinho.

Como o óleo essencial de laranja é miscível em solventes orgânicos, optou-se por realizar as extrações com água Milli-Q[®], como descrito nos procedimentos a seguir.

As etapas de extração estão apresentadas na Figura 6.

3.4.4.1. Procedimento 1

Neste procedimento foram utilizadas soluções de 10 mL de óleo contaminado nas concentrações de 1,5, 2,9 e 5,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O pesticida foi extraído com 10 mL de água Milli-Q, com agitação manual da mistura por 4 minutos e posterior repouso para separação das fases, por funil, conforme ilustrado na Figura 6. O procedimento de extração com água foi repetido 3 vezes visando a extração completa do pesticida do óleo essencial.

Após a junção das fases aquosas, o pH da mesma foi ajustado para pH 1,0. Em seguida, separou-se uma alíquota de 10 mL do extrato para ser analisado, ou seja, amostra onde foi realizado o experimento de adição padrão, para determinação da concentração de piridafention no óleo essencial de laranja. Esta ultima parte também foi realizada nos procedimentos de extração descritos a seguir.

Figura 6. Separação das fases aquosa e oleosa. A – Logo após agitação, antes da separação das fases. B – Durante a separação das fases. C – Extrato final.

3.4.4.2. Procedimento 2

Para este procedimento, foram utilizados 5 mL de óleo essencial contaminado nas 3 concentrações de pesticida e a extração foi realizada com 50 mL de água Milli-Q em agitação magnética por 20 minutos e posterior separação das fases com funil, da mesma forma do procedimento 1.

3.4.4.3. Procedimento 3

Este procedimento foi similar ao procedimento 2, em termos de volume de óleo essencial e água Milli-Q utilizados, bem como do método de agitação, porém com o uso de água aquecida à temperatura de 45°C. Após o resfriamento, esta mistura foi transferida para

um funil de separação e deixada em repouso até separação das fases. Neste procedimento utilizou-se apenas uma concentração de pesticida no óleo essencial ($5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$).

3.4.4.4. *Procedimento 4*

Neste procedimento, amostras de 5 mL de óleo essencial de laranja, contaminadas nas 3 concentrações, foram extraídas com 50 mL de água Milli-Q, em agitação com mesa orbital, em erlenmeyers de 250 mL. Neste caso, avaliou-se também a dinâmica da extração e, para tanto, foram preparadas quatro (4) repetições para cada nível de contaminação, e mais uma para a concentração de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, completando um total de 18 amostras, sendo 13 contaminadas com pesticida e 5 amostras sem pesticida (branco).

Cada uma das repetições, por concentração, foi coletada após 30 minutos, 1, 2 e 3 horas e transferidas para o funil de separação de fases para a obtenção das amostras. Além disso, para a concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, também foi coletada após 5 minutos. Para cada tempo, foi feita uma amostra do branco, perfazendo um total de 5 brancos.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ELETROATIVIDADE DOS PESTICIDAS EM DIVERSOS ELETRODOS

A etapa inicial do estudo consistiu em realizar testes em diferentes superfícies eletródicas, para avaliar a eletroatividade dos pesticidas piridafention, cihexatina e bromopropilato e definir os eletrodos a serem utilizados no trabalho. Nas Figura 7, 8 e 9 são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos de GPU, amálgama de prata, DDB e microeletrodo de ouro para os pesticidas supracitados. No caso da cihexatina sua resposta também foi avaliada com os eletrodos de filme de bismuto e cobre. Todas as medidas foram realizadas em tampão BR pH 2, em uma janela de potencial maior do que a apresentada, porém, para facilitar a visualização, os voltamogramas estão apresentados em uma janela de potencial menor.

Pelos testes iniciais realizados por VC, observou-se que o piridafention (Figura 7) apresentou apenas um pico de redução em torno de -0,8 V (vs. ECS) em eletrodo de GPU, e também em amálgama de prata (aproximadamente -0,9 V). Os eletrodos de DDB e ouro não apresentaram picos de oxidação e redução nas condições avaliadas. Como a resposta obtida no eletrodo de GPU foi mais intensa e devido à sua facilidade de preparação e renovação da superfície, o mesmo foi selecionado como eletrodo de trabalho para os estudos do piridafention em amostras de óleo essencial de laranja.

A cihexatina não apresentou picos nos eletrodos de GPU, amálgama de prata, DDB, ouro ou cobre, mas no eletrodo de filme de bismuto, observaram-se dois picos, um de oxidação em aproximadamente -0,45 V e outro de redução, em -0,40 V (Figura 8). Segundo Hubert et.al. (2010) ⁹⁷, o estanho, metal presente na estrutura do pesticida, apresenta um pico de oxidação (Sn^{2+} a Sn^{4+}) e outros dois picos de redução (Sn^{2+} a $\text{Sn}(\text{Hg})$ e Sn^{4+} a $\text{Sn}(\text{Hg})$) sobre a superfície de mercúrio. Dessa forma, com relação ao eletrodo de amálgama de prata, supõe-se que ocorra a formação de amálgama com o estanho presente na estrutura do pesticida, na superfície do eletrodo, dificultando a utilização desse eletrodo para medidas sucessivas deste pesticida. Já o eletrodo de filme de bismuto apresentou picos de redução e oxidação mais intensos e foi, portanto, selecionado para estudos posteriores com a cihexatina.

Na Figura 9 observa-se que o bromopropilato não apresenta eletroatividade sobre os eletrodos testados, portanto, não foi possível o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para determinação do mesmo.

Figura 7. Voltamogramas cíclicos de uma solução 58,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafenton em tampão BR (pH 2,0) e do eletrólito suporte (branco) obtidos em eletrodo de GPU (A), amálgama de prata (B); DDB (C) e microeletrodo de ouro (D). 1º ciclo, $v = 200 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 8. Voltamogramas cíclicos de soluções $51,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina em tampão BR (pH 2,0) e do eletrólito suporte (branco), obtidos em eletrodo de GPU (A), amálgama de prata (B); DDB (C), microeletrodo de ouro (D), filme de bismuto (E) e cobre (F). 1º ciclo, $\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 9. Voltamogramas cíclicos de uma solução $46,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ de bromopropilato em tampão BR (pH 2,0) e do eletrólito suporte (branco), obtidos em eletrodo de GPU (A), amálgama de prata (B); DDB (C) e microeletrodo de ouro (D). 1º ciclo 1, $\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$.

4.2. ESTUDO VOLTAMÉTRICO DA CIHEXATINA

4.2.1. Voltametria cíclica

Após a escolha do eletrodo de trabalho, o perfil voltamétrico da cihexatina em filme de bismuto, foi obtido por meio de sucessivas ciclagens de potencial, como mostrado na Figura 10.

Figura 10. Voltamogramas cíclicos de uma solução $26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina em tampão BR pH 1 e do branco em eletrodo de filme de bismuto. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A cihexatina apresentou dois picos, um de redução e outro de oxidação, sem adsorção do reagente e/ou produto na superfície do eletrodo de filme de bismuto, pois praticamente não houve variação nas intensidades das correntes de pico nas varreduras sucessivas.

Figura 11. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina em tampão BR para diferentes valores de pH. A – Redução. B – Oxidação. Eletrodo de filme de bismuto, $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$.

Figura 12. Correntes (I_p) e potenciais (E_p) de pico de redução (A) e de oxidação (B), obtidos dos voltamogramas da Figura 11, para variação de pH do eletrólito suporte para análise de cihexatina em tampão BR com eletrodo de filme de bismuto.

Pela análise das Figuras 11 e 12, observa-se que os maiores valores de I_p foram obtidos para pH 1,0, tanto para redução, quanto para oxidação. No entanto, o pico de redução nesse valor de pH, mesmo apresentando menor intensidade de corrente, é mais definido do que o pico de oxidação, por este motivo, optou-se por desenvolver a metodologia utilizando o pico de redução da cihexatina.

Após o estudo de pH (Figura 11), um dos experimentos consistiu na variação da velocidade de varredura no intervalo de 10 a 500 mV s^{-1} , com o objetivo de avaliar o grau de reversibilidade da reação e a natureza do transporte de material eletroativo para superfície do eletrodo. A Figura 13A apresenta os voltamogramas cíclicos de uma solução 26,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (10 mg L^{-1}) de cihexatina (Tampão BR pH 1) para os diferentes valores de velocidade de varredura estudados e a Figura 13B apresenta os valores de correntes (I_p) e potenciais (E_p) de pico de redução da cihexatina em função da velocidade de varredura. Este experimento foi realizado em triplicata para cada velocidade de varredura avaliada e está representado na Figura 13B como experimentos 1, 2 e 3. Todos os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 13A são os primeiros ciclos das varreduras, sendo realizados 5 ciclos para cada experimentos.

As correntes de pico foram obtidas pelo método da tangente e os potenciais de pico obtidos diretamente dos voltamogramas apresentados na Figura 13A. Observa-se nesses dados que a corrente de pico varia de forma linear com a velocidade de varredura. Mas verifica-se também uma variação muito grande dos valores de corrente de pico entre as três medidas independentes. Isso remete à necessidade de se avaliar a reprodutibilidade da

resposta voltamétrica e, portanto, estabilidade do eletrodo de filme de bismuto na determinação da cihexatina, que será a próxima etapa apresentada.

Figura 13. Voltamogramas cíclicos de uma solução $26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina em tampão BR (pH 1) para diferentes valores de velocidade de varredura (A). Variação da corrente (I_p) e do potencial (E_p) de pico de redução em função da velocidade de varredura para três experimentos realizados (B).

4.2.2. Estudo da estabilidade do filme de bismuto

Para a avaliação da estabilidade do filme de bismuto depositado sobre a superfície do cobre, foram realizados experimentos com varreduras sucessivas em um mesmo eletrodepósito de bismuto para duas concentrações diferentes ($6,5$ e $26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$), com 6 repetições para cada concentração. Em cada um dos experimentos um novo filme era depositado. Esses experimentos tiveram como objetivo avaliar a reprodutibilidade dos filmes de bismuto depositados e a possibilidade de utilização desse eletrodo para múltiplas medidas sem a necessidade da renovação do filme.

A Figura 14 apresenta as correntes de pico obtidas em função do número de medidas sucessivas, para concentrações iguais a $6,5$ (A) e $26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (B), respectivamente. Observa-se desses resultados que mesmo utilizando-se as condições idênticas de eletrodeposição do bismuto na superfície do cobre, há variações consideráveis nas correntes de pico para um mesmo e para diferentes eletrodepósitos. Em geral, verifica-se um rápido aumento da corrente de pico até as 5 primeiras varreduras e depois uma diminuição mais lenta e gradual de I_p , especialmente na concentração de $6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. Já no experimento concentração de $26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ a queda de I_p foi mais acentuada após o incremento inicial e os

comportamentos em alguns filmes foi mais aleatório (experimentos 4 e 6 da Figura 14B, por exemplo).

Figura 14. Variação das correntes de pico em função do número de medidas para diferentes eletrodopósitos de bismuto. A – $6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ e B – $26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina. Tampão BR, pH 1, $f = 60 \text{ s}^{-1}$, $a = 40 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 1 \text{ mV}$.

As Tabela 4 e 5 apresentam as médias das correntes de pico dos experimentos apresentados na Figura 14, para grupos de dez medidas consecutivas, nas concentrações iguais a $6,5$ e $26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Analisando-se os gráficos da Figura 14 e os dados contidos nas Tabela 4 e 5, pode-se observar que o filme de bismuto apresenta um comportamento menos variável para o experimento de menor concentração ($6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina), onde os valores médios, desvios padrão e coeficientes de variação das corrente de pico foram mais próximos quando comparados em grupos de dez varreduras. Já na concentração de $26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cihexatina, observa-se uma diminuição consistente dos valores médios dos grupos de 10 medidas após cerca de 20 varreduras, mostrando uma maior variabilidade, que pode ser verificada pelos maiores valores de coeficientes de variação (CV) entre 20 e 50 varreduras (Tabela 5).

Os resultados obtidos para a cihexatina com eletrodo de filme de bismuto evidenciam uma grande limitação para aplicações analíticas desse eletrodo, devido à baixa reprodutibilidade e estabilidade do filme de bismuto.

Tabela 4. Média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das correntes de pico da cihexatina ($6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) para conjuntos de 10 varreduras sucessivas (Figura 14A), para diferentes eletrodepósitos de bismuto (experimento 1 a 6)

Experimento	Varreduras sucessivas				
	0 a 10	11 a 20	21 a 30	31 a 40	41 a 50
	I_p médio (μA)				
1	2,57	2,43	2,73	2,07	1,75
2	3,98	4,75	4,34	4,12	3,84
3	4,04	4,02	4,36	4,24	3,76
4	4,64	4,63	4,11	3,80	3,65
5	6,82	8,17	6,85	6,32	6,39
6	4,94	5,60	5,45	5,43	4,69
média	4,50	4,93	4,64	4,33	4,01
Desvio padrão	1,40	1,91	1,39	1,46	1,51
CV (%)	31	39	30	34	38

Tabela 5. Média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das correntes de pico da cihexatina ($26,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) para conjuntos de 10 varreduras sucessivas (Figura 14B), para diferentes eletrodepósitos de bismuto (experimento 1 a 6)

Experimento	Varreduras sucessivas				
	0 a 10	11 a 20	21 a 30	31 a 40	41 a 50
	I_p médio (μA)				
1	29,3	19,7	16,2	15,4	13,9
2	31,7	30,7	21,3	15,5	14,4
3	25,8	23,6	22,9	19,9	17,8
4	44,9	54,6	27,1	235	17,9
5	40,7	33,3	26,9	26,6	25,7
6	33,4	44,5	48,5	46,8	44,2
média	34,3	34,4	27,2	24,6	22,3
desvio padrão	7,18	13,1	11,2	11,7	11,5
CV (%)	20,9	38,1	41,2	47,6	51,7

Uma alternativa visando à melhoria da reprodutibilidade na medida da cihexatina seria a utilização de eletrodos de mercúrio. Entretanto, para a aplicação foco deste trabalho, que é a análise de óleos essenciais, o uso do mercúrio traz restrições importantes, principalmente considerando-se a busca de métodos que possam ser utilizados na linha de produção da indústria de processamento. Devido à importância da análise da cihexatina nos óleos essenciais e a total ausência de um método eletroanalítico, é importante que se continue a busca por novos materiais eletródicos para a análise e também por procedimentos adequados para o eletrodepósito do filme de bismuto, inclusive em outros substratos.

4.3. ESTUDO VOLTAMÉTRICO DO PIRIDAFENTION

Inicialmente, avaliou-se o procedimento limpeza da superfície do eletrodo de GPU. Os métodos de limpeza testados foram os seguintes, limpeza eletroquímica, alumina, lixa 600, lixa 600 e 1200, lixa 400 e 1200, lixa, 400, 600 e 1200, e polimento consecutivo em três lixas diferentes de granulometria 1200, sendo que neste último são realizadas 30 polimentos em forma de “8” em cada lixa. A melhor resposta foi obtida para o último experimento citado.

4.3.1. Voltametria cíclica

A técnica de VC foi aplicada para avaliar em que região de potenciais o piridafention apresenta atividade eletroquímica. Este inseticida apresentou um pico de redução em -0,80 V (vs. E_{ECS}) sobre o eletrodo de GPU em meio ácido (tampão BR pH 1) com características de processo irreversível, devido a ausência de pico na varredura reversa na técnica de voltametria cíclica, como mostrado na Figura 15 e também como foi constatado por Sampedro e colaboradores ²⁷.

Também com a técnica de VC, foi realizado o experimento de variação da velocidade de varredura, no intervalo de 10 a 500 mV s^{-1} , para avaliar a natureza da transferência de massa (material eletroativo) para superfície do eletrodo. Na Figura 16A são apresentados os voltamogramas cíclicos de uma solução de 29,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR (pH 1) para velocidades de varredura distintas. As relações entre a corrente de pico (I_p) e velocidade de varredura (v), e entre I_p e $v^{1/2}$, são apresentadas nas Figura 16B e Figura 16C, respectivamente.

Figura 15. Voltamogramas cíclicos consecutivos de uma solução 29,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR (pH 1). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 16. Voltamogramas cíclicos de uma solução 29,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR (pH 1) para diferentes velocidades de varredura com eletrodo de GPU (A), e relação entre as correntes de pico e a velocidade de varredura (B) e correntes de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura (C).

Os valores das correntes de pico foram obtidos pelo método da tangente e o potencial de pico obtido diretamente dos voltamogramas.

Para evitar a passivação do eletrodo pela adsorção de produtos da reação, o mesmo foi polido em três lixas d'água de granulometria 1200, consecutivamente, antes da obtenção dos voltamogramas cíclicos para diferentes velocidades de varredura.

No intervalo de velocidade estudado, confirmou-se que a redução do piridafention apresenta características de processo irreversível (Figura 15 e Figura 16), pelo deslocamento dos potenciais de pico com o aumento da velocidade de varredura (Figura 16A) e também pela não linearidade entre I_p e v (Figura 16B e 16C).

Além da irreversibilidade da reação, a relação existente entre I_p vs. v (Figura 16B) também indica a natureza do transporte de massa que governa o processo redox. A relação não linear obtida entre I_p vs. v indica que a etapa determinante da velocidade é controlada pela difusão das espécies na superfície do eletrodo.

4.3.2. Voltametria de onda quadrada

Os estudos voltamétricos de onda quadrada do inseticida piridafention foram realizados utilizando-se tampão BR. As análises foram realizadas após as amostras serem borbulhadas com N_2 (White Martins®) durante 10 min.

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

4.3.2.1. Separação das componentes de corrente

Na técnica de voltametria de onda quadrada, a corrente é dada de forma diferencial (ΔI) entre as correntes direta (I_d) e reversa (I_r), como mostrado na Equação 2.

$$\Delta I = I_d - I_r \quad [2]$$

Esta separação das correntes é uma ferramenta utilizada no diagnóstico do tipo de reação do sistema. Assim, o critério para analisar inicialmente o grau de reversibilidade é a separação de corrente resultante, em suas três componentes. A Figura 17 apresenta as componentes de corrente obtidas para o piridafention. Observa-se nesta figura que a intensidade da corrente resultante ($\Delta I = 30,1 \mu A$) é praticamente igual à intensidade da corrente direta ($I_d = 30,6 \mu A$), o que indica que a contribuição da corrente reversa (I_r) para a resultante é mínima, provocando uma variação quase insignificante ao final da análise. A coincidência de ΔI e I_d confirma a irreversibilidade da reação de redução do piridafention. A corrente resultante só não é totalmente coincidente com a corrente direta por uma pequena contribuição de uma corrente reversa residual.

Figura 17. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR pH 1, mostrando as componentes de corrente direta, reversa e resultante. Eletrodo de GPU, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

4.3.2.2. Variação de pH

O estudo da variação do pH do eletrólito de suporte utilizado (tampão BR) foi realizado no intervalo de 2 a 10, com o objetivo de verificar em que valor registra-se a maior resposta de corrente para fins analíticos, e também avaliar o número de prótons (calculado no próximo item) envolvidos na reação de redução do piridafention. No entanto, como observou-se uma boa intensidade de I_p para valor de pH mais ácido, optou-se por acidificar a solução do eletrólito suporte para pH 1, mesmo a solução perdendo sua função de tampão. Nesse caso, utilizou-se também a nomenclatura de Tampão BR para o eletrólito somente para tornar mais simples a descrição do texto. A Figura 18 apresenta os voltamogramas de onda quadrada para os diversos valores de pH estudados.

Nas Figuras 18 e 19 observa-se que os potenciais e intensidades de corrente de pico de redução mostraram-se dependentes do pH do meio. No intervalo de pH estudado, a resposta com o melhor perfil voltamétrico (Figura 18) e maior intensidade de corrente de pico (Figura 19) foi obtido em pH 1, valor este utilizado nos experimentos subsequentes.

Figura 18. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR para diferentes valores de pH. Eletrodo de GPU, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 19. Correntes (I_p) e potenciais (E_p) de pico de redução do piridafention em tampão BR com eletrodo de GPU obtidos dos voltamogramas apresentados na Figura 18.

4.3.2.3. Influência da frequência de aplicação do pulso

A frequência, que está relacionada com a velocidade efetiva na SWV, quando é aumentada causa um aumento na resposta de corrente e consequentemente, uma melhora na sensibilidade. No entanto, este aumento pode diminuir a reversibilidade da reação, e a corrente de pico passa a crescer exponencialmente, o que deve ser levado em conta em uma curva analítica ⁴⁹.

A Figura 20 apresenta os voltamogramas de onda quadrada obtidos para o piridafention em função da frequência. Observa-se que com o aumento da frequência, ocorre um aumento na intensidade de corrente e um pequeno deslocamento dos potenciais de pico

para regiões mais negativas para frequências de até 100 s^{-1} . Para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica, foi selecionado a frequência de 80 s^{-1} .

Figura 20. Voltamogramas de onda quadrada de um solução $29,4\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR pH 1, para diferentes valores de frequência. $a = 50\text{ mV}$, $\Delta E_i = 5\text{ mV}$.

As relações existentes entre a corrente de pico e a frequência ou raiz quadrada da frequência fornecem informações quanto ao grau de reversibilidade e a existência ou não de processos de adsorção na superfície do eletrodo. Na Figura 21 são apresentadas essas relações de corrente e frequência para o piridafention, na qual a linearidade entre I_p vs. f confirmam a irreversibilidade do processo.

Figura 21. Relações entre as correntes de pico (I_p) e a frequência (A) e com a raiz quadrada da frequência (B), obtidos dos voltamogramas apresentados na Figura 20.

A Figura 22 apresenta a relação E_p e $\log(f)$ para o piridafention, com os dados dos voltamogramas apresentados na Figura 20. O coeficiente angular ($\text{tg } \theta$) da relação entre E_p vs. $\log(f)$, para processos irreversíveis, permite calcular, pela equação de Lovric (Equação 3), o valor de αn , que neste caso foi de 1,12 (Figura 22).

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta \log f} = - \frac{59}{\alpha n} \quad [3]$$

A partir disso, é possível calcular o número de prótons envolvidos na reação de redução do piridafention pela Equação 4.

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta \text{pH}} = - \frac{0,059 H^+}{n \alpha} \quad [4]$$

Utilizando o valor de αn determinado (1,12) por meio do coeficiente angular da relação E_p vs. $\log f$, pode-se calcular o número de prótons para os intervalos lineares do gráfico E_p vs. pH (0,123 V/pH e 0,041 V/pH), para a primeira e segunda região linear, respectivamente (Figura 19), o qual corresponde ao termo $\Delta E_p / \Delta \text{pH}$. Assim, constata-se o envolvimento de 2 prótons ou 1 próton na reação, dependendo da faixa de pH da solução.

Figura 22. Relação entre potencial de pico e logaritmo da frequência da onda quadrada para o piridafention.

4.3.2.4. Influência da amplitude

A amplitude do pulso é outro parâmetro da voltametria de onda quadrada a ser otimizado, pois para sistemas irreversíveis a sensibilidade analítica é influenciada pela variação da amplitude ⁴⁹. A Figura 23 mostra o efeito da variação deste parâmetro para valores entre 10 e 50 mV.

Figura 23. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução 29,4 μmol L⁻¹ de piridafention em tampão BR, pH 1, para diferentes valores de amplitude (A) e variação da corrente de pico com a amplitude (B). $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Ao variar a amplitude no intervalo de 10 a 50 mV, observa-se um aumento linear na intensidade de corrente de pico e assim, optou-se por utilizar uma amplitude de 50 mV nos experimentos subsequentes com o piridafention.

4.3.2.5. Efeito do incremento de varredura

A velocidade efetiva na voltametria de onda quadrada é o resultado do produto da frequência pelo incremento de varredura. Deste modo, um incremento de varredura maior pode aumentar o sinal obtido e, assim, melhorar a sensibilidade do método. Na Figura 24 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada para uma solução 29,4 μmol L⁻¹ de piridafention ao variar o incremento de varredura de 1 a 5 mV.

Observa-se um aumento da corrente com uma melhor definição do pico para os incrementos maiores e assim selecionou-se o incremento de 5 mV.

Figura 24. Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention em tampão BR, pH 1, para diferentes valores de incremento de varredura. $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$.

4.3.2.6. Construção da curva analítica

Após serem estabelecidas as melhores condições experimentais para a determinação do piridafention, curvas analíticas ($n = 3$) foram construídas no intervalo de concentração de $1,5$ a $17,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($0,5$ a $5,8 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente) de piridafention (padrão analítico) em tampão BR. Na Figura 25A são apresentados os voltamogramas de onda quadrada registrados no intervalo de concentração estudado e na Figura 25B a curva analítica média, com a barra de erros representando o desvio padrão das 3 curvas obtidas.

Figura 25. Voltamogramas de onda quadrada para diversos valores de concentração do inseticida piridafention obtidos por adição padrão (A) e curva analítica média (B) de 3 repetições ($r^2 = 0,998$). Eletrodo de trabalho GPU ($\phi = 3,0 \text{ mm}$). $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

A equação da reta para a curva analítica média é dada por: $-I_p (\mu A) = -0,45 + 0,97 C_{\text{piridafention}} (\mu\text{mol L}^{-1})$, com coeficiente de correlação igual a 0,998. Para avaliar a sensibilidade da metodologia analítica, o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram calculados de acordo com as Equações 5 e 6, respectivamente.

$$LD = 3 \frac{S_b}{\theta} \quad [5]$$

$$LQ = 10 \frac{S_b}{\theta} \quad [6]$$

Para determinação do LD, que é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob condições experimentais estabelecidas ⁴⁹, utilizou-se o desvio padrão do intercepto da curva analítica ($S_b = 0,089 \mu A$) e a inclinação da mesma (θ). Para o cálculo do LQ, que é a menor quantidade de analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas ⁹⁸, utilizou-se os mesmos parâmetros usados no cálculo do LQ. Assim, o LD e o LQ foram calculados como sendo iguais a $0,27 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($0,09 \text{ mg L}^{-1}$) e $0,92 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($0,31 \text{ mg L}^{-1}$), respectivamente.

A precisão da metodologia foi avaliada por meio de 10 medidas sucessivas de uma solução 10 mg L^{-1} de piridafention. Para a precisão *intra-day* (repetibilidade), a qual foi calculada por meio de análises sucessivas durante um dia ($n = 10$), o RSD foi igual a 2,7%. A precisão *inter-day* (precisão intermediária) foi calculada por meio de análises em 6 dias diferentes ($n = 6$), com RSD igual a 3,3%.

Além disso, foram realizados experimentos de recuperação ($n = 3$). Para a construção das curvas de recuperação, uma quantidade conhecida de piridafention ($5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$) foi adicionada ao eletrólito suporte e a concentração do inseticida foi determinada pelo método de adição padrão. O resultado obtido referente a esses testes de recuperação foi de 98%. Os valores referentes a 3 recuperações e seus respectivos desvios são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention, com concentração adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação	Bias
1	5,57	94,5 %	5,6 %
2	6,05	102,7 %	2,8 %
3	5,74	97,3 %	2,4 %
média	5,79 ($\pm 0,24$)	98,2 % ($\pm 4,2$)	3,6 % ($\pm 1,7$)

Por meio dos resultados obtidos com os experimentos de recuperação, foi possível calcular o erro relativo (bias = 3,6%) que indica a exatidão do método e que descreve o desvio dos resultados esperados nos experimentos de recuperação do inseticida no eletrólito suporte.

Os resultados obtidos foram bastante satisfatórios, pois os LD e LQ, precisão e exatidão foram similares aos obtidos pela maioria dos métodos eletroanalíticos para determinação de outros pesticidas em eletrodos dos mais variados tipos, tais como mercúrio, pasta de carbono, diamante^{99, 100, 7676}, dentre outros. Isso sugere, em função dos trabalhos da literatura, que a metodologia terá boa aplicabilidade em análises do piridafention em diferentes matrizes.

A Tabela 7 apresenta um resumo dos parâmetros otimizados e os parâmetros analíticos obtidos no desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação do inseticida piridafention.

Tabela 7. Parâmetros obtidos com o desenvolvimento da metodologia para análise de piridafention utilizando eletrodo de GPU e a técnica de SWV

Eletrólito	Tampão BR
Parâmetros otimizados	pH = 1; $f = 80 \text{ s}^{-1}$; $a = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$
Coefficiente de correlação	0,998
Limite de detecção	$0,27 \mu\text{mol L}^{-1}$
Limite de quantificação	$0,92 \mu\text{mol L}^{-1}$
Repetibilidade (<i>intra-day</i>) ^a	2,7 %
Reprodutibilidade (<i>inter-day</i>) ^b	3,3 %
Bias (%)	3,6 %
Recuperação ($5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$)	98,2 %

4.4. DETERMINAÇÃO DO INSETICIDA PIRIDAFENTION EM AMOSTRAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA

A curva analítica apresentada na Figura 25 foi obtida para uma concentração máxima de $17,1 \mu\text{mol L}^{-1}$. Entretanto, como os parâmetros e varredura da SWV foram otimizados em uma concentração de $29,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention, realizou-se outro experimento para obtenção de uma nova curva analítica para uma faixa maior de concentrações até $44,1 \mu\text{mol L}^{-1}$, com o objetivo de verificar a linearidade da resposta para uma faixa mais ampla de concentrações. A Figura 26 apresenta os voltamogramas obtidos (Figura 26A) e as respostas de corrente de pico em função das concentrações adicionadas (Figura 26B), onde se verifica a reprodução da linearidade para essa nova faixa mais ampliada de concentrações.

A equação da reta para a nova curva analítica média foi: $-I_p (\mu\text{A}) = -0,67 + 1,05 C_{\text{piridafention}} (\mu\text{mol L}^{-1})$, ou seja, bastante similar à anterior, obtida para uma faixa menor de concentrações.

Figura 26. Voltamogramas de onda quadrada para diversos valores de concentração do inseticida piridafention obtidos por adição padrão (A) e curva analítica média (B) de 3 repetições ($r^2 = 0,995$). Eletrodo de trabalho GPU ($\theta = 3,0 \text{ mm}$), $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Posteriormente, a metodologia eletroanalítica proposta para determinação do piridafention foi aplicada para análise de amostras de óleo essencial de laranja. Para tanto, amostras de óleo essencial foram contaminadas com três concentrações de piridafention, ($1,5$, $2,9$ e $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$), e em seguida, essas amostras passaram por procedimentos de extração, conforme apresentados a seguir. Os mesmos procedimentos de extração foram aplicados também em amostras de óleo essencial sem contaminação de piridafention, denominada de amostra “branco”, para avaliação de efeitos de matriz. O objetivo desse estudo foi, portanto,

de verificar a aplicabilidade do procedimento desenvolvido para amostras “reais” de óleo essencial, bem como de verificar a eficiência de alguns procedimentos de extração de resíduos de piridafention no óleo essencial, que pudessem ser aplicados para a limpeza desses resíduos dos óleos essenciais cítricos.

Nos experimentos realizados com as amostras “branco” observou-se pequenas correntes de pico em potencial bem próximo ao pico de redução do piridafention, o que pode ser atribuído a efeitos de matriz ou mesmo a alguma contaminação durante o processo de extração ou da análise por SWV. Para efeitos práticos, optou-se por subtrair esse pequeno valor da corrente de pico da amostra “branco” das correntes de pico medidas nas amostras contaminadas e extraídas para cada um dos procedimentos avaliados, visando uma quantificação mais precisa do piridafention.

4.4.1. Procedimento 1

Os resultados obtidos das análises do piridafention da extração utilizando o procedimento 1, para as amostras do branco (sem contaminação) e as concentrações de 1,5, 2,9 e 5,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention são apresentados nas Figuras 27 a 30, respectivamente. Na Figura 28 são apresentados os voltamogramas (A) e curva média de recuperação (B – correntes de pico para as diversas concentrações adicionadas) obtida nos três experimentos para a concentração de 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention.

Figura 27. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostra do “branco” do procedimento de extração 1, e curva de recuperação (B): $-I_p (\mu\text{A}) = 1,37 + 2,86 C (\mu\text{mol L}^{-1})$, $r^2 = 0,996$. Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Como mencionado anteriormente, observa-se na Figura 27 um pico residual, na mesma região de potencial de pico de redução do piridafention, o qual equivale a um pequeno valor de concentração de piridafention de $0,48 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Na Tabela 8, estão apresentados os valores de recuperação obtidos para a concentração de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention, com o procedimento 1, cujo exemplo de voltamogramas e gráfico médio de recuperação são apresentados na Figura 28. Na mesma Tabela também estão apresentados os valores de concentrações encontradas, recuperações, bias, equações da reta e os coeficientes de correlação para as três repetições. Apesar do valor médio da concentração encontrada ($1,86 \mu\text{mol L}^{-1}$) estar relativamente próximo do valor adicionado ($1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) os valores percentuais de recuperação (127%) e Bias (21%) não são satisfatórios. Esse erro relativamente alto obtido deve-se ao fato do valor da concentração analisada ($1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) ser da mesma ordem de grandeza do limite de quantificação do método.

Tabela 8. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 1 na concentração de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	1,87	127	21	- $I_p = 7,64 + 3,25 C$	0,999
2	1,79	122	18	- $I_p = 7,42 + 3,27 C$	0,999
3	1,93	131	24	- $I_p = 7,71 + 3,20 C$	0,999
média	1,86 ($\pm 0,07$)	127 (± 5)	21 (± 3)		

r^2 : coeficiente de correlação

Figura 28. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 1, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Os dados obtidos a partir da Figura 29 para a concentração igual a $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, estão apresentados na Tabela 9. Estes resultados foram melhores que para $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, pois estão dentro da faixa esperada, com valores de recuperação entre 70-120% e $\text{RSD} \leq 20\%$. Entretanto, para a concentração de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado (Figura 30 e Tabela 10) os valores de concentração recuperados estão também um pouco abaixo do esperado. Considerando as 3 concentrações avaliadas, obteve-se uma média de recuperação de 98% e bias de 21%, ou seja, os resultados utilizando o procedimento 1, embora um pouco fora da faixa recomendada, foram satisfatórios.

Figura 29. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 1, para a concentração de piridafention adicionada de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Tabela 9. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 1 e concentração $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{concentrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	2,6	88	13,0	$-I_p = 10,4 + 3,37 C$	0,997
2	2,9	92	8,5	$-I_p = 10,6 + 3,31 C$	0,998
3	2,7	90	13,1	$-I_p = 10,5 + 3,35 C$	0,996
média	2,7 ($\pm 0,2$)	90 ($\pm 1,8$)	11,5 ($\pm 2,6$)

Figura 30. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 1, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Tabela 10. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 1 e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	C _{concentrada} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	4,3	73	36	$-I_p = 13,4 + 2,80 C$	0,992
2	4,2	71	41	$-I_p = 13,3 + 2,85 C$	0,991
3	4,7	80	26	$-I_p = 14,1 + 2,74 C$	0,990
média	4,4 ($\pm 0,3$)	75 (± 4)	34 ($\pm 7,8$)		

4.4.2. Procedimento 2

Para este procedimento, o efeito de matriz representado pelo pequeno pico do voltamograma (Figura 31) na mesma região de potencial de redução do piridafention foi menor ($0,26 \mu\text{mol L}^{-1}$ Figura 31B), o qual será subtraído das medidas de adição de padrão subsequentes para o procedimento 2.

Figura 31. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostra do “branco” do procedimento de extração 2 e curva de recuperação (B): $-I_p (\mu A) = 0,76 + 2,94 C (\mu mol L^{-1})$, $r^2 = 0,998$. Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 s^{-1}$, $a = 50 mV$, $\Delta E_i = 5 mV$.

A Figura 32 apresenta os voltamogramas e o gráfico das correntes de pico para as várias concentrações adicionadas para a amostra de $1,5 \mu mol L^{-1}$ de piridafention adicionado. Observa-se nesse caso, uma saturação do sinal para concentrações adicionadas maiores que $8,7 \mu mol L^{-1}$ para os 3 experimentos. Esse comportamento pode ser devido ao efeito da matriz, bem como de algum problema com o eletrodo de GPU. Entretanto, como a região inicial até $8,7 \mu mol L^{-1}$ foi linear, utilizou-se esta faixa de concentração para a determinação da concentração de piridafention. Com isso, obteve-se um valor médio de concentração de $0,76 mg L^{-1}$, equivalente a uma recuperação de 150%.

No caso das concentrações adicionadas de 2,9 e 5,9 $\mu mol L^{-1}$ não foi observado o problema da saturação do sinal observado para a amostra com $1,5 \mu mol L^{-1}$, conforme mostrado nas Figura 34 e 34. Os valores de concentração determinados pelo método da adição de padrão foram, na média, de 3,01 e 5,87 $\mu mol L^{-1}$ (Tabelas 12 e 13), respectivamente, equivalentes a recuperações de 102,4 e 100,2%, com erros relativos baixos (bias de 3 e 0,7%) e excelente repetibilidade entre as 3 repetições. O valor médio das recuperações considerando as 3 concentrações avaliadas foi de 118% e o bias médio de 12%.

Figura 32. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 2, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Tabela 11. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 2 e concentração $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{concentrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}$, $C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	2,45	167	40,0	$-I_p = 10,1 + 3,72 C$	0,993
2	2,01	134	26,9	$-I_p = 8,73 + 3,85 C$	0,991
3	2,18	148	32,6	$-I_p = 9,22 + 3,78 C$	0,991
média	2,21 ($\pm 0,22$)	150 ($\pm 16,5$)	33,2 ($\pm 6,6$)

Figura 33. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 2, para a concentração de piridafention adicionada de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 34. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 2, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Tabela 12. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 2 e concentração $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{concentrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	2,94	99,9	0,0	$-I_p = 10,6 + 3,33 C$	0,997
2	2,97	101,1	1,0	$-I_p = 10,7 + 3,31 C$	0,998
3	3,12	106,0	5,8	$-I_p = 11,1 + 3,29 C$	0,997
média	3,01 ($\pm 0,10$)	102,4 ($\pm 3,2$)	2,7 ($\pm 2,7$)		

Tabela 13. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 2 e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{concentrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	5,87	99,9	0,2	$-I_p = 13,2 + 2,15 C$	0,995
2	5,81	99,8	1,2	$-I_p = 13,1 + 2,16 C$	0,993
3	5,92	100,9	0,8	$-I_p = 13,4 + 2,11 C$	0,997
média	5,87 ($\pm 0,06$)	100,2 ($\pm 0,6$)	0,7 ($\pm 0,5$)		

4.4.3. Procedimento 3

O valor de concentração residual equivalente encontrado para a amostra de branco (Figura 35) neste procedimento de extração foi de $0,33 \mu\text{mol L}^{-1}$, ou seja, bem próximo dos obtidos para os demais procedimentos anteriores ($0,48$ e $0,26 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Figura 35. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostra do “branco” do procedimento de extração 3 e curva de recuperação (B): $-I_p (\mu\text{A}) = 0,25 + 0,76 C (\mu\text{mol L}^{-1})$, $r^2 = 0,997$. Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Para este procedimento os experimentos de extração foram realizados também em triplicata, mas apenas para um valor de concentração de piridafention adicionado ($5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$). Os voltamogramas de onda quadrada e a curva média de recuperação, para este procedimento são apresentados na Figura 36.

Figura 36. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 3, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Os gráficos de adição de padrão mostraram boas linearidades (Figura 36B), mas observa-se uma deformação dos voltamogramas (Figura 36A) e um deslocamento de cerca de -75 mV, quando comparado com os outros procedimentos de extração. Isso se deve provavelmente, pelo uso da água aquecida, que pode ter provocado à degradação do piridafention ou à extração de outros componentes do óleo, que não são extraídos com a água à temperatura ambiente. Nesse caso, observa-se um baixo valor de recuperação (55%) e um alto erro relativo (bias = 81%), conforme apresentado na Tabela 14. Assim, pode-se concluir que o procedimento com o uso de água aquecida não é adequado, tanto para a eletroanálise do piridafention em amostras e óleo essencial, quanto para a limpeza desse resíduo do óleo.

Tabela 14. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 3 e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{concentrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	3,23	54,9	82,0	- $I_p = 4,78 + 1,34 C$	0,994
2	3,41	58,0	72,4	- $I_p = 4,80 + 1,28 C$	0,994
3	3,12	53,1	88,5	- $I_p = 4,64 + 1,34 C$	0,992
média	3,25 ($\pm 0,15$)	55,3 (± 3)	81,0 ($\pm 8,1$)		

4.4.4. Procedimento 4

Nesse procedimento variou-se o tempo de agitação em mesa orbital, de 30 minutos, 1, 2 e 3 horas. Assim, realizaram-se medidas do branco nessas mesmas condições de tempo de agitação e os voltamogramas obtidos e gráficos das adições são apresentados na Figura 37.

Figura 37. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostra do “branco” do procedimento de extração 4 com 0,5, 1, 2 e 3 horas de agitação e curva de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Os voltamogramas de onda quadrada das amostras extraídas dos óleos contaminados com piridafention na concentração de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ com tempos de agitação de 0,5, 1, 2 e 3 horas são apresentados nas Figura 38, 39, 40 e 41, respectivamente, e os resultados das concentrações medidas, recuperações e bias nas Tabela 15, 16, 17 e 18, respectivamente. Observa-se nesses casos recuperações de 42 a 134% para os diversos tempos de agitação, com média de 89%. Verifica-se uma diminuição das concentrações medidas em função do aumento do tempo de agitação e, em princípio, tempos maiores que 1 hora devem ser evitados. Contudo, deve-se considerar que esse valor de concentração ($1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) é da ordem do limite de quantificação da técnica e é, portanto, sujeito a erros maiores de determinação.

Figura 38. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 30 minutos de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 39. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 1 hora de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 40. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 2 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 41. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 3 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, e curva média de recuperação (B). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Tabela 15. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 30 minutos, e concentração $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	1,73	117,9	15,0	$-I_p = 5,32 + 2,67 C$	0,999
2	1,77	120,5	17,0	$-I_p = 5,40 + 2,66 C$	0,999
3	1,72	117,1	14,5	$-I_p = 5,28 + 2,66 C$	0,999
média	1,74 ($\pm 0,03$)	118,5 ($\pm 1,8$)	15,5 ($\pm 1,3$)		

Tabela 16. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 1 hora, e concentração $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	1,80	122,7	18,3	- $I_p = 6,75 + 3,16 C$	0,995
2	1,96	133,6	25,0	- $I_p = 6,96 + 3,03 C$	0,995
3	2,04	139,0	27,9	- $I_p = 7,24 + 3,05 C$	0,991
média	1,93 ($\pm 0,12$)	133,8 ($\pm 8,34$)	23,8 ($\pm 4,9$)		

Tabela 17. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 2 horas, e concentração $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	0,62	42,4	137,1	- $I_p = 6,50 + 5,27 C$	0,999
2	0,59	40,3	149,2	- $I_p = 6,32 + 5,26 C$	0,999
3	0,61	42,0	141,0	- $I_p = 6,58 + 5,37 C$	0,998
média	0,61 ($\pm 0,02$)	41,6 ($\pm 1,10$)	142,4 ($\pm 6,15$)		

Tabela 18. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 3 horas, e concentração $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	0,84	57,1	75,0	- $I_p = 6,53 + 4,39 C$	0,999
2	0,91	62,0	61,5	- $I_p = 6,66 + 4,32 C$	0,999
3	0,93	63,0	58,1	- $I_p = 6,79 + 4,36 C$	0,999
média	0,89 ($\pm 0,05$)	60,7 ($\pm 3,15$)	65,0 ($\pm 8,95$)		

Os voltamogramas obtidos para as amostras extraídas dos óleos essenciais contaminados com piridafention na concentração de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ (1 mg L^{-1}) para os tempos de 0,5, 1, 2 e 3 horas são apresentados nas Figura 42, 43, 44 e 45, respectivamente e os

resultados das concentrações medidas, recuperações, bias nas Tabela 19, 20, 21 e 22. Observa-se nesses casos bons resultados de recuperação para todos os tempos de agitação, com recuperações entre 77 e 93%, com média de 86% para os diferentes tempos de agitação da amostra contaminada.

Figura 42. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 30 minutos de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de 2,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 43. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 1 hora de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de 2,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 44. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 2 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 45. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 1 dos 3 experimentos utilizando o procedimento de extração 4 com 3 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Tabela 19. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 30 minutos, e concentração $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	C _{encontrada} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}$, $C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	2,60	88,3	13,3	$-I_p = 10,2 + 3,56 C$	0,999
2	2,67	90,7	10,1	$-I_p = 10,4 + 3,56 C$	0,999
3	2,56	87,2	14,8	$-I_p = 10,0 + 3,54 C$	0,999
média	2,61 ($\pm 0,06$)	88,7 ($\pm 1,8$)	12,7 ($\pm 2,4$)		

Tabela 20. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 1 hora, e concentração $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	2,79	94,9	5,4	- $I_p = 10,9 + 3,48 C$	0,996
2	2,67	90,8	10,1	- $I_p = 10,7 + 3,58 C$	0,993
3	2,74	93,5	7,0	- $I_p = 10,5 + 3,41 C$	0,998
média	2,73 ($\pm 0,06$)	93,1 ($\pm 2,1$)	7,5 ($\pm 2,4$)		

Tabela 21. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 2 horas, e concentração $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	2,49	84,8	18,1	- $I_p = 10,8 + 3,50 C$	0,999
2	2,58	87,8	14,0	- $I_p = 10,9 + 3,42 C$	0,999
3	2,41	82,0	22,0	- $I_p = 10,8 + 3,57 C$	0,998
média	2,49 ($\pm 0,09$)	84,9 ($\pm 2,9$)	18,0 ($\pm 4,0$)		

Tabela 22. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 3 horas, e concentração $2,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	2,26	77,0	30,7	- $I_p = 10,2 + 3,54 C$	0,998
2	2,17	73,8	35,5	- $I_p = 10,1 + 3,60 C$	0,998
3	2,34	79,6	25,6	- $I_p = 10,4 + 3,51 C$	0,998
média	2,26 ($\pm 0,09$)	76,8 ($\pm 2,9$)	30,4 ($\pm 4,9$)		

A seguir são apresentados os resultados do procedimento 4 para a concentração de contaminação de piridafention de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($2,0 \text{ mg L}^{-1}$). Para esta concentração, utilizou-

se também um tempo menor de agitação, de 5 minutos, que é da mesma ordem de tempo utilizado no procedimento 1.

Os voltamogramas e curva média de adição para a amostra do branco para o tempo de agitação de 5 minutos estão apresentados na Figura 46, onde pode-se verificar uma concentração residual equivalente de piridafention de $0,18 \mu\text{mol L}^{-1}$, ou seja, bastante similar às obtidas nos demais tratamentos.

Figura 46. Voltamogramas de onda quadrada (A) para amostra do “branco” do procedimento de extração 4 com 5 minutos de agitação e curva de recuperação (B): $-I_p (\mu\text{A}) = 0,31 + 1,54 C (\mu\text{mol L}^{-1})$, $r^2 = 0,999$. Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Os voltamogramas de onda quadrada das amostras extraídas dos óleos contaminados com piridafention na concentração de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ com os tempos de agitação de 5 e 30 minutos, 1, 2 e 3 horas são apresentados nas Figura 48, 49, 50 e 51, respectivamente. Os resultados das recuperações obtidas (Tabelas 23, 24, 25, 26 e 27) foram muito bons, variando de 87 a 100% para todos os tempos de extração, incluindo o de 5 minutos.

Figura 47. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 3 experimentos, utilizando o procedimento de extração 4 com 5 minutos de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 48. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 3 experimentos, utilizando o procedimento de extração 4 com 30 minutos de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 49. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 3 experimentos, utilizando o procedimento de extração 4 com 1 hora de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 50. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 3 experimentos, utilizando o procedimento de extração 4 com 2 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Figura 51. Voltamogramas de onda quadrada (A) para 3 experimentos, utilizando o procedimento de extração 4 com 3 horas de agitação, para a concentração de piridafention adicionada de $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e curvas individuais de recuperação (B) para cada experimento e média (C). Eletrodo de GPU. Tampão BR pH 1, $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$.

Tabela 23. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 5 minutos, e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	5,44	92,5	8,1	$-I_p = 12,2 + 2,16 C$	0,995
2	5,12	87,0	14,8	$-I_p = 11,7 + 2,22 C$	0,998
3	4,81	81,9	22,2	$-I_p = 11,3 + 2,26 C$	0,995
média	5,12 ($\pm 0,32$)	87,1 ($\pm 5,3$)	15,1 ($\pm 7,1$)		

Tabela 24. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 30 minutos, e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	5,43	92,3	8,3	- $I_p = 8,39 + 1,48 C$	0,996
2	5,40	91,9	8,9	- $I_p = 8,33 + 1,47 C$	0,997
3	5,43	92,4	8,3	- $I_p = 8,46 + 1,49 C$	0,994
média	5,42 ($\pm 0,02$)	92,2 ($\pm 0,3$)	8,5 ($\pm 0,4$)		

Tabela 25. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 1 hora, e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	5,29	90,0	11,2	- $I_p = 8,41 + 1,50 C$	0,996
2	5,51	93,7	6,7	- $I_p = 8,60 + 1,47 C$	0,995
3	5,42	92,2	8,8	- $I_p = 8,46 + 1,47 C$	0,996
média	5,41 ($\pm 0,11$)	92,0 ($\pm 1,9$)	8,8 ($\pm 2,2$)		

Tabela 26. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 2 horas, e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	5,87	99,8	0,17	- $I_p = 13,9 + 2,15 C$	0,999
2	5,41	92,1	8,7	- $I_p = 13,3 + 2,21 C$	0,999
3	6,32	107,5	7,0	- $I_p = 14,4 + 2,07 C$	0,999
média	5,87 ($\pm 0,46$)	99,9 ($\pm 7,8$)	5,3 ($\pm 4,5$)		

Tabela 27. Valores obtidos nos experimentos de recuperação do piridafention em óleo essencial de laranja para o Procedimento 4, 3 horas, e concentração $5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention adicionado

Experimento	$C_{\text{encontrada}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Bias (%)	Equação da reta $I_p / \mu\text{A}, C / \mu\text{mol L}^{-1}$	r^2
1	5,51	93,6	6,7	- $I_p = 11,5 + 1,87 C$	0,996
2	4,85	82,5	21,2	- $I_p = 10,7 + 1,95 C$	0,997
3	5,89	100,1	0,17	- $I_p = 11,9 + 1,83 C$	0,994
média	5,42 ($\pm 0,53$)	92,1 ($\pm 8,9$)	9,4 ($\pm 10,8$)		

Para uma melhor comparação entre todos os procedimentos de extração utilizados, a Tabela 28 apresenta uma síntese com as médias obtidas em cada um dos tratamentos e a Figura 52 mostra uma comparação gráfica entre as medidas das concentrações adicionadas e as determinadas pelo método eletroanalítico para todos os experimentos (A) e a média deles (B) para cada uma das 3 concentrações avaliadas.

Por esse dados observa-se que o tratamento 3 não é adequado, pois possivelmente o uso de água aquecida provoca a degradação ou extração de outros componentes do óleo que interferem mais na análise, que quando utilizada água a temperatura ambiente.

Tabela 28. Resultados médios das 3 repetições de extração e medida do piridafention para os 4 procedimentos utilizados, com os respectivos tempos de agitação

Procedimento	C _{adicionada}	t	C _{encontrada} [#]	DP [#]	CV [#]	Recuperação [#]	Bias [#]	
	μmol L ⁻¹	min.	μmol L ⁻¹		%	%	%	
1	1,5	4	1,7	0,1	5,9	127	21	
	2,9		2,7	0,2	7,4	90	12	
	5,9		4,4	0,3	6,8	75	34	
	média			0,2	6,7	97	22	
2	1,5	20	2,2	0,2	9,1	150	33	
	2,9		3,0	0,1	3,3	102	2,7	
	5,9		5,9	0,1	1,7	100	0,7	
	média			0,1	4,7	117	11	
3	5,9	20	3,3	0,2	4,5	55	81	
4	1,5	30	1,7	0,03	1,8	119	16	
		60	1,9	0,12	6,3	133	24	
		120	0,6	0,02	3,3	42	142	
		180	0,9	0,05	5,6	61	65	
		média			1,2	0,06	4,3	89
	2,9	30	2,6	0,1	3,8	89	13	
		60	2,7	0,1	3,7	93	7,5	
		120	2,5	0,1	4,0	85	18	
		180	2,3	0,1	4,3	77	30	
		média			2,5	0,1	4,0	86
	5,9	5	5,1	0,3	5,9	87	15	
		30	5,4	0,02	0,4	92	8,5	
		60	5,4	0,1	1,9	92	8,8	
		120	5,9	0,5	8,5	100	5,3	
		180	5,4	0,5	9,3	92	9,4	
	média			5,4	0,3	5,2	93	9,4

[#] valores médios de 3 repetições; t: tempo de agitação; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação

Figura 52. Comparação entre as concentrações de piridafention adicionadas nas amostras de óleo essencial e os valores medidos após a extração com os diferentes procedimentos, considerando todas as 3 repetições (A) e os valores médios (B).

Quanto aos demais tratamentos, o de número 1, que utilizou a agitação manual, verifica-se um maior erro, o que pode ser verificado pelo erro quadrático médio (RMSE – *root mean square error*) maior apresentado na Figura 52B. Além disso, verifica-se que o maior erro foi obtido para a maior concentração de contaminação ($5,9 \mu\text{mol L}^{-1}$), provavelmente devido a uma maior dificuldade de extração das concentrações maiores. Assim, os melhores tratamentos foram o de número 2 e 4 com os menores RMSE.

Os coeficientes de correlação (r^2) obtidos nas curvas de recuperação para as amostras contaminadas com piridafention variaram entre 0,991 e 0,999, indicando um bom ajuste linear para os seis pontos. O mesmo aconteceu para as curvas de recuperação do branco (sem contaminante), nos quais os coeficientes de correlação ficaram entre 0,987 e 0,999.

De um modo geral, verificam-se também maiores erros relativos em todos os procedimentos de extração, para a concentração de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de piridafention, o que já era esperado, já que este valor está muito próximo ao LD da metodologia desenvolvida.

Por esse dados observa-se que o tratamento 3 não é adequado, pois possivelmente o uso de água aquecida provoca a degradação ou extração de outros componentes do óleo que interferem mais na análise, que quando utilizada água a temperatura ambiente.

Com relação ao tempo de agitação, não foram observadas diferenças significativas quando avaliado entre 5 e 180 minutos, para o procedimento 4, com o uso de mesa orbital. Assim, pode-se recomendar o menor tempo empregado (5 minutos). Entretanto, devem-se considerar também as diferentes relações de volumes de óleo e água utilizados, pois em um

processo industrial, deseja-se a economia de água utilizada. Esse é inclusive um aspecto que deveria ser mais bem explorado em trabalhos futuros.

CAPÍTULO 5. CONCLUSÃO

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi desenvolvido um procedimento eletroanalítico para a determinação do inseticida piridafention utilizando a voltametria de onda quadrada (SWV) em eletrodo de compósito grafite-poliuretana (GPU). Esta metodologia eletroanalítica desenvolvida apresentou boa sensibilidade, levando-se em consideração o uso de um eletrodo sólido e de tamanho convencional para determinação do inseticida em uma matriz complexa como o óleo essencial de laranja.

A metodologia foi aplicada na análise de amostras de óleo essencial de laranja, obtidas comercialmente. Pelos resultados obtidos, concluiu-se que todos os procedimentos utilizados foram eficientes para extração do piridafention nas amostras de óleo essencial, usando apenas água como extrator. Isso indica que não se faz necessário o uso de solventes orgânicos para a extração do piridafention. Além disso, os procedimentos são rápidos, não demandando muito tempo do operador para se realizar as análises dos óleos nas indústrias de processamento. Porém, devem-se considerar as diferentes relações de volumes de óleo e água utilizados, para o processo industrial, já que a economia de água é um fator importante a ser considerado.

No caso dos outros dois pesticidas avaliados, o bromopropilato não apresentou eletroatividade nas superfícies eletródicas avaliadas. A cihexatina foi eletroativa em eletrodo de filme de bismuto, mas os resultados obtidos mostraram baixa estabilidade do filme, limitando a sua aplicação analítica. Assim, sugere-se a continuidade dos estudos para esses dois pesticidas, devido às suas importâncias na cadeia citrícola.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ¹ MAIA, M. L. **Citricultura Paulista**: Evolução, estrutura e acordos de preços. In: Coleção Estudos Agrícolas. Instituto de economia agrícola; São Paulo, 1996. 157p.
- ² CITROS. **Exportação brasileira de cítrico**. 2010. Disponível em: <http://www.citrusbr.com>. Acesso em: 07 fev. 2014.
- ³ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE CÍTRICOS. 2008. Disponível em: http://www.abecitrus.com.br/subprodutos_br.html>. Acesso em: 21 maio 2008.
- ⁴ BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 23, n. 3, p. 588-594, 2009.
- ⁵ GESTÃO NO CAMPO. **Extração do óleo essencial de laranja**. 2013. Disponível em: <http://www.gestaonocampo.com.br/biblioteca/3958/>>. Acesso em: 06 out. 2013.
- ⁶ MONDELLO, L.; ZAPPIA, G.; DUGO, P.; DUGO, G. Advanced analytical techniques for study of citrus oils. In: DUGO, G.; DI GIACOMO, G. (Ed.) **Citrus: the genus *citrus***. Boca Raton: Taylor & Francis, 2002. p. 179-200.
- ⁷ DI GIACOMO, A.; DI GIACOMO, G. Essential oil production. In: DUGO, G.; DI GIACOMO, G. (Ed.) **Citrus: the genus *citrus***. Boca Raton: Taylor & Francis, 2002. p. 114-147.
- ⁸ MURALDIHARA, H. S. **Removal of pesticides from citrus peel oil**. USA n. 5.558.893, 24 set. 1996.
- ⁹ DUGO, G.; SAITTA, M.; DI BELLA, G.; DUGO, P. Organophosphorus and organochlorine pesticide residues in Italian citrus oil. **Perfum. Flavor**, v. 22, p. 33-44, 1997.
- ¹⁰ SAITTA, M.; DI BELLA, G.; SALVO, F.; LO CURTO, S.; DUGO, G. Organochlorine pesticide residues in Italian citrus essential oils, 1991 – 1996. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 797-801, 2000.
- ¹¹ BARREK, S.; PAISSE, O.; GRENIER-LOUSTALOT, M.-F. Analysis of pesticide residues in essential oils citrus fruit by GC-MS and HPLC-MS after solid-phase extraction. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 376, p. 157-161, 2003.
- ¹² GALEANO DÍAZ, T.; GUIBERTEAU, A.; LÓPEZ SOTO, M. D.; ORTIZ, J. M. Determination of dimethoate in olive oil by adsorptive stripping Square-Wave Voltammetry. **Electroanalysis**, v. 18, n. 7, p. 695-702, 2006.

-
- ¹³ LI, L.; ZHOU, Z.; PAN, C.; QIAN, C.; JIANG, S.; LIU, F. Determination of organophosphorus pesticides in soybean oil, peanut oil and sesame oil by low-temperature extraction and GC-FPD. **Chromatographia**, v. 66, p. 625-629, 2007.
- ¹⁴ AMVRAZI, E. G. & ALBANIS T. A. Multiclass pesticide determination in olives and their processing factors in olive oil: Comparison of different olive oil extractions systems. **J.Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 5700-5709, 2008.
- ¹⁵ ARAMENDÍA, M. A.; BORAU, V.; LAFONT, F.; MARINAS, A.; MARINAS, J. M.; MORENO, J. M.; URBANO, F. J. Determination of herbicide residues in olive oil by gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Chem.**, v. 105, p. 855-861, 2007.
- ¹⁶ FRENICH, A. G.; MORENO, J. L. F.; VIDAL, J. L. M.; LIÉBANAS, F. J. A. Application of gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry for the multiresidue analysis of pesticide in olive oil. **J.Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 8346-8352, 2007.
- ¹⁷ HERNANDO, M. D.; FERRER, C.; ULASZEWSKA, M.; GARCÍA-REYS, J. F.; MOLINA-DÍAS, A.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Application of high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with a quadrupole/linear ion trap instrument for the analysis of pesticide residues in olive oil. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 389, p. 1815-1831, 2007.
- ¹⁸ AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Banco de dados**. 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/10_85.htm>. Acesso em: 15 maio 2008.
- ¹⁹ CAVALIERE, M. J.; CALORE, E. E.; PEREZ, N. M.; PUGA, F. R. Miotoxicidade por organofosforados. **Rev. Saúde Pública**, v. 30, n. 3, p. 267-272, 1996.
- ²⁰ AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Relatório do agrotóxico**. 2003. Disponível em: <http://200.198.201.74/AGROSIA/asp/fm_dados_agrotoxico.asp?iVarAux=1&MarcaCod=377>. Acesso em: 17 set. 2008.
- ²¹ SIGMA-ALDRICH. **Material safety data sheet**. 2011. Disponível em: <<http://sigma-aldrich.com>>. Acesso em: 25 ago. 2014.
- ²² LACORTE, S.; LARTIGES, S. B.; GARRIGUES, P.; BARCELÓ, D. Degradation of organophosphorus pesticides and their transformation products in estuarine waters. **Environ. Sci. Technol.**, v. 29, p. 431-438, 1995.
- ²³ LACORTE, S.; MOLINA, C.; BARCELÓ, D. Screening of organophosphorus pesticides in environmental matrices by various gas chromatographic techniques. **Anal. Chim. Acta**, v. 281, p. 315-319, 1993.
- ²⁴ LACORTE, S.; BARCELÓ, D. Determination of organophosphorus pesticides and their transformation products in river waters by automated on-line solid-phase extraction followed by thermospray liquid chromatography-mass spectrometry. **J. Chromatog. A**, v. 712, p. 103-112, 1995.

-
- ²⁵ GAMÓN, M.; SÁEZ, E.; GIL, J.; BOLUDA, R. Direct and indirect exogenous contamination by pesticides of rice-farming soils in a mediterranean wetland. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 44, p. 141-151, 2003.
- ²⁶ OUBIÑA, A.; GASCÓN, J.; BARCELÓ, D. Determination of the cross-reactivities of immunoassays: Effect of common cross-reactants for chlorpyrifos-ethyl in water matrices using magnetic particle-based ELISA. **Environ. Sci. Technol.**, v. 30, p. 513-516, 1996.
- ²⁷ SAMPEDRO, M. C.; BALUGERA, Z. G.; BARRIO, R. J. Determination of insecticide pyridafenthion in river water, soils and wine by adsorptive stripping voltammetry. **Food Addit. Contam.**, v. 15, p. 793-800, 1998.
- ²⁸ GODOI, A. F. L.; FAVORETO, R.; SANTIAGO-SILVA, M. Contaminação ambiental por compostos organoestânicos. **Quím. Nova**, v. 26, n. 5, p. 708-716, 2003.
- ²⁹ VERCAUTEREN, J.; MEESTER, A.; SMAELE, T.; VANHAECKE, F.; MOENS, L.; DAMS, R.; SANDRA, P. Headspace solid-phase microextraction-cappillary gas chromatography-ICP mass spectrometry for the determination of the organotin pesticide fentin in environmental samples. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 15, p. 651-656, 2000.
- ³⁰ MARTEL, A. C.; ZEGGANE, S. Determination of acaricides in honey by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. **J. Chromatog. A**, v. 954, p. 173-180, 2002.
- ³¹ ADAMCZYK, S.; LÁZARO, R.; PÉREZ-ARQUILLUÉ, C.; HERRERA, A. Determination of synthetic acaricides residues in beeswax by high-performance liquid chromatography with photodiode array detector. **Anal. Chim. Acta**, v. 581, p. 95-101, 2007.
- ³² CORTA, E.; BAKKALI, A.; BARRANCO, A.; BERRUETA, L. A.; GALLO, B.; VICENTE, F.; BOGDANOV, S. Study of the degradation products of bromopropylate, chlordimeform, coumaphos, cymiazole, flumethrin and tau-fluvalinate in aqueous media. **Talanta**, v. 52, p. 169-180, 2000.
- ³³ LEKKAS, T. D.; NIKOLAOU, A. D. Determination of bromopropylate in grapes by chromatography: Evaluation of two analytical methods. **Int. J. Environ. Anal. Chem.**, v. 86, p. 25-32, 2006.
- ³⁴ CORREIA, M.; DELERUE-MATOS, C.; ALVES, A. Development of SPME-GC-ECD methodology for selected pesticides in must and wine samples. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 369, p. 647-651, 2001.
- ³⁵ RIAL-OTERO, R.; GASPAR, E. M.; MOURA, I.; CAPELO, J. L. Gas chromatography mass spectrometry determination of acaricides from honey after a new fast ultrasonic-based solid-phase micro-extraction sample treatment. **Talanta**, v. 71, p. 1906-1914, 2007.
- ³⁶ JÍMENEZ, J. J.; BERNAL, J. L.; DEL NOZAL, M. J.; ALONSO, C. Liquid-liquid extraction followed by solid-phase extraction for the determination of lipophilic pesticides in beeswax by gas chromatography-electron-capture detection and matrix-matched calibration. **J. Chromatog. A**, v. 1048, p. 89-97, 2004.

-
- ³⁷ CÁMARA, M. A.; BARBA, A.; NAVARRO GÁRCIA, S. N.; CALLIZO, F. J.; ESCRIBANO, J. A.; LÓPEZ DE HIERRO, N. Resíduos de bromopropilato en citrus limon, *variedad Verna*. **Bol. San. Veg. Plagas**, v. 17, p. 165-171, 1991.
- ³⁸ WANG, J. **Analytical electrochemistry**. New York: VCH, 1994. 223 p.
- ³⁹ SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Brookman, 2002. p. 566-593.
- ⁴⁰ NAVRATIL, T.; BAREK, J. Analytical applications of composite solid electrodes. **Crit. Rev. Anal. Chem.**, v. 39, n. 3, p. 131-147, 2009.
- ⁴¹ RUPP, E. B.; ZUMAN, P. Polarographic determination of some pesticides. Application to a study of their adsorption on lignin. **J. Agri. Food Chem.**, v. 40, n. 10, p. 2016-2021, 1992.
- ⁴² BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: fundamentals and applications**. New York: Wiley, 2001. p. 226.
- ⁴³ GULABOSKI, R.; MIRCESKI, V.; LOVRIC, M.; BOGESKI, I. Theoretical study of a surface electrode reaction preceded by a homogeneous chemical reaction under conditions of square wave voltammetry. **Electrochem. Communications**, v. 7, p. 515-522, 2005.
- ⁴⁴ OSTERYOUNG, J.; O'DEA, J. J. Square-wave voltammetry. In BARD, J. (Ed.) **Electroanalytical chemistry**. Marcel Dekker, 1986. p. 209-320.
- ⁴⁵ KOUNAVES, S. P.; O'DEA, J. J.; CHANDRESEKHAR, P.; OSTERYOUNG, J. Square wave voltammetry at mercury electrode: The theoretical treatment. **Anal. Chem.**, v. 58, p. 3199-3202, 1986.
- ⁴⁶ BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. **Eletroquímica: princípios, métodos e aplicações**. Coimbra: Oxford University, 1993. p. 198.
- ⁴⁷ RAMALEY, L.; KRAUSE, M. S. Theory of square wave voltammetry. **Anal. Chem.**, v. 41, n. 11, p. 1362-1369, 1969.
- ⁴⁸ NUWER, M. J.; O'DEA, J. J.; OSTERYOUNG, J. Analytical and kinetic investigations of totally irreversible electron transfer reactions by square wave voltammetry. **Anal. Chim. Acta**, v. 251, p. 13-25, 1991.
- ⁴⁹ DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Quím. Nova**, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.
- ⁵⁰ O'DEA, J. J.; RIBES, A.; OSTERYOUNG, J. G. Square wave voltammetry applied to the totally irreversible reduction of adsorbate. **J. Electroanal. Chem.**, v. 345, p. 287-301, 1993.
- ⁵¹ ALEIXO, L. M. **Voltametria: conceitos e técnicas**. 2003. Disponível em: <http://www.chemkeys.com/bra/ag/tda_8/vcet_14/vcet_14.htm>. Acesso em: 05 maio 2011.

-
- ⁵² DE SOUZA, D.; MELO, L. C.; CORREIA, A. N.; LIMA-NETO, P.; FATIBELLO-FILHO, O.; MASCARO, L. H. Utilização de eletrodos sólidos de amálgama para a determinação analítica de compostos orgânicos e inorgânicos. **Quim. Nova**, v. 34, n. 3, p. 487-496, 2011.
- ⁵³ RICHTER, E. M.; JESUS, D. P.; NEVES, C. A.; LAGO, C. L.; ANGNES, L. Aplicações eletroanalíticas com eletrodos de prata confeccionados a partir de CDs graváveis. **Quim. Nova**, v. 26, n. 6, p. 839-843, 2003.
- ⁵⁴ 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.
- ⁵⁵ TOLEDO, R. A. **Estudo eletroquímico e desenvolvimento de novas metodologias eletroanalíticas para determinação de antidepressivos tricíclicos e neurotransmissores**. 2006. 146f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- ⁵⁶ PEREIRA, C. A.; SANTOS, S. A.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificações de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Quim. Nova**, v. 25, n. 6A, p. 1012-1021, 2002.
- ⁵⁷ TALMANN, D. E.; PETERSON, S. L. Composite electrode for electroanalysis: Principles and applications. **Electroanalysis**, v. 22, n. 7, p. 499-510, 1990.
- ⁵⁸ MOSES, P. R.; WIER, P.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Anal. Chem.**, v. 47, n. 12, p. 1882-1886, 1975.
- ⁵⁹ O'DEA, J. J.; RIBES, A. OSTERYOUNG, J. G. Square wave voltammetry applied to the totally irreversible reduction of adsorbate. **J. Electroanal. Chem.**, v. 345, p. 3287-301, 1993.
- ⁶⁰ 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, p. 909-917, 2002.
- ⁶¹ TOLEDO, R. A.; SANTOS, M. C.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L. H. Determination of dopamine in synthetic cerebrospinal fluid by SWV with a graphite-polyurethane composite electrode. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 381, p. 1161-1166, 2005.
- ⁶² TOLEDO, R. A.; SANTOS, M. C.; SILVA, A. B. F.; HONÓRIO, K. M.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L. H. Use of graphite polyurethane composite electrode for imipramine oxidation – mechanism proposal and electroanalytical determination. **Anal. Lett.**, v. 39, p. 507-520, 2006.
- ⁶³ CERVINI, P.; RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determination of atenolol at a graphite-polyurethane composite electrode. **Talanta**, v. 72, p. 206-209, 2007.
- ⁶⁴ 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.

-
- ⁶⁵ TOLEDO, R. A.; VAZ, C. M. P. Use of a graphite-polyurethane composite electrode for electroanalytical determination of indole-3-acetic acid in soil samples. **Microchem. J.**, v. 86, p. 161-165, 2007.
- ⁶⁶ ANDRADE, F. R.; TOLEDO, R. A.; VAZ, C. M. P. Electroanalytical methodology for the direct determination of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid in soil samples using a graphite-polyurethane electrode. **Int. J. Electrochem.**, v. 2014, p. 1-8, 2014.
- ⁶⁷ ANDRADE, F. R. **Determinação eletroanalítica dos herbicidas 2,4-D e metribuzin em amostras de solo utilizando um eletrodo compósito de grafite-poliuretana**. 2008. 99f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
- ⁶⁸ MIKKELSEN, O.; SCHRODER, K. H. Amalgam electrodes for electroanalysis. **Electroanalysis**, v. 15, n. 8, p. 679-687, 2003.
- ⁶⁹ MELO, L. C.; SALAZAR-BANDA, G. R.; MACHADO, S. A. S.; LIMA-NETO, P.; SOUZA, D.; CORREIA, A. N. A simple and sensitive detection of diquat herbicide using a dental amalgam electrode – A comparison using the chromatographic technique. **Talanta**, v. 79, p. 1216-1222, 2009.
- ⁷⁰ DE SOUZA, D.; MASCARO, L. H.; FATIBELLO-FILHO, O. The effect of composition of solid silver amalgam electrodes on their electrochemical response. **J. Solid. State Electrochem.**, v. 15, p. 2023-2029, 2011.
- ⁷¹ DE SOUZA, D.; MELO, L. C.; CORREIA, A. N.; LIMA-NETO, P.; FATIBELLO-FILHO, O.; MASCARO, L. H. Utilização de eletrodos sólidos de amálgama para a determinação analítica de compostos orgânicos e inorgânicos. **Quim. Nova**, v. 34, n. 3, p. 487-496, 2011.
- ⁷² PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L.; AVACA, L. A. Electroanalytical determination of 4-nitrophenol by square wave voltammetry on Diamond electrodes. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 4, p. 530-535, 2003.
- ⁷³ CARVALHO, A. E. **Caracterização eletroquímica de eletrodos de diamante dopado como boro em função de seu pré-tratamento**. 2007. 150f. Tese (Doutorado) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.
- ⁷⁴ MEDEIROS, R. A.; CARVALHO, A. E.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação voltamétrica de ciclamato de sódio em produtos dietéticos empregando um eletrodo de diamante dopado com boro. **Quim. Nova**, v. 31, n. 6, p. 1405-1409, 2008.
- ⁷⁵ LOURENÇO, A. S.; SANCHES, F. A. C.; MAGALHÃES, R. R.; COSTA, D. J. E.; RIBEIRO, W. F.; BICHINHO, K. M.; SALAZAR-BANDA, G. R.; ARAÚJO, M. C. U. Electrochemical oxidation and electroanalytical determination of xylitol at a boron-doped diamond electrodes. **Talanta**, v. 119, p. 509-516, 2014.
- ⁷⁶ PEDROSA, V.A.; CODOGNOTO, L.; AVACA, L. A. Determinação voltamétrica de 4-clorofenol sobre eletrodo de diamante dopado como boro utilizando a voltametria de onda quadrada. **Quim. Nova**, v. 26, n. 6, p. 844-849, 2003.

-
- ⁷⁷ CORREIA, A. N.; MASCARO, L. H.; MACHADO, S. A. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A. Ultramicroeletrodos. Parte I: Revisão teórica e perspectivas. **Quim. Nova**, v.18, n. 5, p. 475-480, 1995.
- ⁷⁸ SALLES, M. O. **Desenvolvimento de sensor eletroquímico para monitoramento de chumbo em resíduos de disparos de armas de fogo**. 2011. 142f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- ⁷⁹ PAIXÃO, T. R. L. C. **Fabricação e utilização de microeletrodos para determinações amperométricas em micro-ambientes**. 2007. 245f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- ⁸⁰ SILVA, S. M.; ALVES, C. R.; CORREIA, A. N.; MARTINS, R. M.; NOBRE, A. L. R.; MACHADO, S. A. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A. Ultramicroeletrodos. Parte II: Construção e aplicações. **Quim. Nova**, v. 21, n. 1, p. 78-85, 1998.
- ⁸¹ ZACHEK, M. K.; HERMANS, A.; WIGHTMAN, R. M.; McCARTY, G. S. Electrochemical dopamine detection: Comparing gold and carbon fiber microelectrodes using background subtracted fast scan cyclic voltammetry. **J. Electroanal. Chem.**, v. 614, p. 113-120, 2008.
- ⁸² DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; PIRES, R. C. Multiple square wave voltammetry for analytical determination of paraquat in natural water, food, and beverages using microelectrodes. **Talanta**, v. 69, p. 1200-1207, 2006.
- ⁸³ DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S. Electrochemical detection of herbicide paraquat in natural water and citric juices using microelectrodes. **Anal. Chim. Acta**, v. 546, p. 85-91, 2005.
- ⁸⁴ HERNÁNDEZ-OLMOS, M. A.; AGÜÍ, L.; YÁÑES-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J. M. Analytical voltammetry in low-permittivity organic solvents using cylindrical microelectrodes. Determination of thiram ethyl acetate. **Electrochim. Acta**, v. 46, p. 289-296, 2000.
- ⁸⁵ WANG, J.; LU, J.; HOCEVAR, S. B.; FARIAS, P. A. M., Bismuth-coated carbon electrodes for anodic stripping voltammetry. **Anal. Chem.**, v. 71, p. 3218-3222, 2000.
- ⁸⁶ VYTRAS, K.; SVANCARA, I.; METELKA, R. A novelty in potentiometric stripping analysis: Total replacement of mercury by bismuth. **Electroanalysis**, v. 14, n. 19-20, p. 1359-1364, 2002.
- ⁸⁷ CHANG, C. H.; LUO, H. Q.; LI, N. B. A stannum/bismuth/poly(p-aminobenzene sulfonic acid) film electrode for measurement of Cd(II) using square wave anodic stripping voltammetry. **J. Electroanal. Chem.**, v. 651, n. 1, p. 19-23, 2011.
- ⁸⁸ ECONOMOU, A. Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis. **Trends in Anal. Chem.**, v. 24, n. 4, p. 334-340, 2005.
- ⁸⁹ WANG, J.; LU, J. Bismuth film electrodes for adsorptive stripping voltammetry of trace nickel. **Electrochem. Commun.**, v. 2, p. 390-393, 2000.

-
- ⁹⁰ LEGEAI, S.; VITTORI, O. A Cu/Nafion/Bi electrode for on-site monitoring of trace heavy metals in natural waters using anodic stripping voltammetry: an alternative to mercury-based electrodes. **Anal. Chim. Acta**, v. 560, p. 184-190, 2006.
- ⁹¹ XU, H.; ZENG, L.; HUANG, D.; XIAN, Y.; JIN, L. A Nafion-coated bismuth filme electrode for the determination of heavy metals in vegetable using differential pulse anodic voltammetry: an alternative to mercury-based electrodes. **Food. Chem.**, v. 109, p. 834-839, 2008.
- ⁹² FUNDAÇÃO DE DEFESA DA CITRICULTURA. 2014. Disponível em: <<http://www.citrusbr.com/exportadores-citricos/sanidade/lista-de-pesticidas-257395-1.asp>>. Acesso em: 22 maio 2014.
- ⁹³ AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. 2009. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/170609_1.htm>. Acesso em 22 maio 2014.
- ⁹⁴ SALAZAR-BANDA, G. R. **Estudos da eletroquímica do diamante dopado com boro e da sua superfície modificada com catalisadores para a oxidação de metanol e etanol**. 2006. 191f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- ⁹⁵ NUNES, L. M. S.; FARIA, R. C. The influence of the electrodeposition conditions on the electroanalytical performance of the bismuth film electrode for lead determination. **Electroanalysis**, v. 20, n. 20, p. 2259-2263, 2008.
- ⁹⁶ FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; SANTOS, V. B.; JANEGITZ, B. C.; GUERREIRO, T. B.; FATIBELLO-FILHO, O.; FARIA, R. C.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H. Differential pulse voltammetric determination of paraquat using a bismuth-film electrode. **Electroanalysis**, v. 22, n. 11, p. 1260-1266, 2010.
- ⁹⁷ HUBERT, C.; ZIÉMONS, E.; ROZET, E.; BREUER, A.; LAMBERT, A.; JASSELETTE, C.; DE BLEYE, C.; LEJEUNE, R.; HUBERT, P. H. Development and validation of a quantitative method for selective determination of tin species in tin octoate by differential pulse polarography. **Talanta**, v. 80, p. 1413-1420, 2010.
- ⁹⁸ AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia de validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03.htm>. Acesso: 15 abr 2008.
- ⁹⁹ OLIVEIRA, R. T. S.; MACHADO, S. A. S. Quantificação do pesticida diclorvos por voltametria de onda quadrada em águas puras e naturais. **Quím. Nova**, v. 27, n. 6, p. 911-915, 2004.
- ¹⁰⁰ EL MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; CHTAINI, A. Electrochemical studies and square wave voltammetry of paraquat at phosphate modified carbon paste electrode. **J. Haz. Mat.**, v. 145, p. 1-7, 2007.