



**Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química**

***ESTUDOS PARA A DETERMINAÇÃO
ELETROQUÍMICA DE ARIL N-METIL
CARBAMATOS TOTAIS EM ÁGUAS EM SISTEMA
DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO***

AUTOR: Eduardo Ferreira de Azevedo

ORIENTADORA: Profa. Dra. Yaico D. Tanimoto de Albuquerque

**Uberlândia
-2007-**



**Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química**

***ESTUDOS PARA A DETERMINAÇÃO
ELETROQUÍMICA DE ARIL N-METIL
CARBAMATOS TOTAIS EM ÁGUAS EM SISTEMA
DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO***

Dissertação de mestrado apresentada à
Comissão de Pós-Graduação do Instituto
de Química da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito para a
obtenção do título de Mestre em Química.

AUTOR: Eduardo Ferreira de Azevedo

ORIENTADORA: Profa. Dra. Yaico D. Tanimoto de Albuquerque

CURSO: QUÍMICA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA ANALÍTICA

Uberlândia

-2007-

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A994e Azevedo, Eduardo Ferreira de, 1982-
Estudos para a determinação eletroquímica de aril N-metil carbamatos totais em águas em sistema de análise por injeção em fluxo / Eduardo Ferreira de Azevedo. - 2008.
93 f. : il.

Orientador: Yaico D. Tanimoto de Albuquerque.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.
Inclui bibliografia.

1. Química analítica - Teses. 2. Pesticidas - Teses. 3. Eletroquímica - Teses. I. Albuquerque, Yaico D. Tanimoto de. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 543



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Química
Programa de Pós Graduação em Química- MESTRADO
E-mail: cpgquimica@ufu.br - Fone: 3239-4385

ALUNO(A): EDUARDO FERREIRA DE AZEVEDO

NÚMERO DE MATRÍCULA: 5052409

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA

PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA: NÍVEL MESTRADO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

***“Estudos para a determinação eletroquímica de aril N-
metilcarbamatos totais em águas em sistema de análise por injeção
em fluxo”***

ORIENTADOR:

PROF^a DRA. YAICO DIRCE TANIMOTO ALBUQUERQUE

A Dissertação foi **APROVADA** em apresentação pública realizada no Anfiteatro do Bloco 1X, no Campus Santa Mônica, no dia 14 de dezembro de 2007, às 14 horas, tendo como Banca Examinadora:

NOME:

ASSINATURA:

Prof^a Dra. Yaico Dirce Tanimoto Albuquerque

(Instituto de Química / UFU)

Prof. Dr. Luiz Antônio de Faria

(Instituto de Química / UFU)

Prof^a Dra. Maria Valnice Boldrin Zanoni

(UNESP)

Uberlândia, 14 de dezembro de 2007.

AGRADECIMENTOS

- *A Deus que sempre esteve comigo iluminando meus caminhos.*
- *Aos meus pais pelo apoio, confiança e amor, estando sempre presentes ao meu lado durante toda essa jornada.*
- *Aos meus irmãos pelo carinho, amizade e companheirismo.*
- *A minha noiva Luciana, mulher da minha vida, pelo amor e dedicação, compartilhando sempre comigo, não apenas os bons momentos, mas também as dificuldades e momentos tristes. Também a toda a sua família.*
- *Aos meus familiares, que sempre acreditaram e torceram pelo meu sucesso.*
- *A minha orientadora Professora Dra. Yaico D. Tanimoto de Albuquerque pela orientação, dedicação e confiança, e acima de tudo, pela amizade e apoio dado durante a transposição dos diversos obstáculos que encontrei até a conclusão do presente trabalho.*
- *Ao meu amigo Daniel, companheiro desde os tempos de infância, primeira pessoa a me mostrar a importância de cursar uma faculdade.*
- *Ao Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter pela amizade e grande contribuição no presente trabalho.*
- *Aos meus grandes amigos e colegas de laboratório: Wallans, Diego, Adriano, Humberto, Rodrigo, Edimar, Adriângela e todos os demais, obrigado pelo apoio.*
- *Aos grandes amigos e mestres, que me passaram muitos conhecimentos e sempre torceram pela minha vitória: Domingos, Helder, Otávio, Manuel, Carlão, Faria, Reinaldo, Francisco, Eduardo, Ângela, Maria Lucia, Yaico, Wallans, Wellington, Rodrigo, Borgato, Douglas, Fernando, Irene, e a todos os demais o meu muito obrigado.*
- *Em especial aos Prof. Dr. Luiz Antônio de Faria e Otávio Luiz Bottecchia pelas valiosas contribuições dadas à conclusão do presente trabalho.*
- *Aos membros da banca pela aceitação e contribuições ao aprimoramento deste trabalho.*

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original."

Albert Einstein

ÍNDICE

	p.
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
Índice de Figuras.....	v
Índice de Tabelas	ix
Lista de Abreviações	x
Trabalhos provenientes da dissertação	xii
CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
1.1 – Considerações gerais	2
1.2 – Métodos de determinação de carbamatos	7
1.3 – Análise por injeção em fluxo	11
1.4 – Estrutura e características físico-químicas do Carbofuran.....	13
1.5 – Objetivos.....	15
CAPÍTULO 2: PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	17
2.1 – Soluções e reagentes	18
2.2 – Sistema usado no controle da vazão das análises em sistema FIA	18
2.3 – Instrumentação	19
2.4 – Eletrodos	20
2.5 – Comportamento Eletroquímico do Benzofuranol	21
2.6 – Investigação da Detecção Voltamétrica de Benzofuranol, sob condições hidrodinâmicas	21
2.7 – Detecção amperométrica de Benzofuranol em sistema FIA	23
2.7.1 – Efeito do eletrólito suporte, vazão e volume da alça de amostragem	23
2.7.2 – Estudos da estabilidade da resposta para Benzofuranol e da reprodutividade dos parâmetros analíticos da metodologia em sistema FIA.....	24
2.8 – Estudos da recuperação de Carbofuran de amostras fortificadas.....	25
2.9 – Estudo de interferentes.....	25

CAPÍTULO 3: RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
3.1 – Comportamento eletroquímico do Benzofuranol, obtido da hidrólise alcalina de Carbofuran	28
3.2 – Investigação da Detecção Voltamétrica de Benzofuranol, sob condições hidrodinâmicas.....	31
3.2.1 – Detecção de Benzofuranol usando Voltametria de Varredura Linear (VVL) em sistema FIA	32
3.2.2 – Detecção de Benzofuranol usando Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) em sistema FIA	34
3.3 – Detecção amperométrica de Benzofuranol em sistema FIA	36
3.3.1 – Influência do eletrólito suporte no sinal amperométrico	36
3.3.2 – Estudo da repetitividade do sinal analítico e reprodutividade da curva analítica	38
3.3.3 – Investigação do sinal amperométrico de Benzofuranol em função da vazão do carregador e do volume da alça de amostragem..	42
3.4 – Determinação indireta de Carbofuran em sistema FIA	46
3.5 – Estudo de Interferentes.....	48
3.6 – Recuperação de Carbofuran (CF) de amostra de água natural fortificada com CF e 2,6-diclorofenol.....	53
 CAPÍTULO 4: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	 56
4.1 – Conclusões.....	57
4.2 – Propostas de continuidade	58
 CAPÍTULO 5: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 59

RESUMO

Foi investigado um método para a determinação eletroquímica indireta de aril N-metilcarbamatos totais em águas, baseado na oxidação do derivado fenólico produzido na hidrólise alcalina desses pesticidas. Como pesticida modelo foi utilizado o Carbofuran que produz na hidrólise alcalina um derivado fenólico, denominado Benzofuranol (BF). O comportamento eletroquímico e os parâmetros analíticos da determinação de BF foram investigados utilizando-se as técnicas voltametria de varredura linear, voltametria de pulso diferencial e amperometria em sistema FIA. Os melhores resultados da determinação de BF foram obtidos com a amperometria, em sistema FIA. O sistema FIA era composto basicamente de um injetor comutador de acrílico, uma célula eletroquímica em fluxo de três eletrodos, tipo “wall jet”, e um sistema propulsor para impulsionar o eletrólito carregador e a solução amostra para a célula eletroquímica. O sistema propulsor era constituído de um mini-compressor de ar usado em aquários, associado a uma coluna de água, para controlar a vazão da solução carregadora.

As melhores condições para a determinação amperométrica de BF em sistema FIA foram: tampão acetato como solução carregadora (eletrólito suporte) sob vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$, alça de amostragem de $200 \text{ }\mu\text{L}$ e potencial aplicado de $0,75 \text{ V vs Ag/AgCl}$. O eletrodo de pasta de carbono (EPC) foi avaliado em termos de estabilidade do sinal analítico e reprodutividade da curva analítica. As alturas da corrente de pico de um conjunto de 18 injeções consecutivas de solução de BF apresentaram um desvio padrão relativo de $2,6 \%$. A sensibilidade da resposta do eletrodo praticamente não variou, mostrando o bom desempenho do eletrodo nas condições experimentais utilizadas. Nas melhores condições para a determinação amperométrica de BF em sistema FIA obteve-se uma faixa linear de resposta de $1,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de Carbofuran, e limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) iguais a $7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente.

A interferência de compostos fenólicos eventualmente presentes em amostras de águas naturais foi investigada usando o 2,6-diclorofenol como composto modelo. Foi mostrado que essa interferência pode ser eliminada por medida diferencial do sinal analítico da solução amostra, antes e após tratamento com $\text{NaOH } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$. O

Carbofuran (CF) contribui para a corrente amperométrica somente quando a solução amostra era previamente tratada com NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, pois é formado o derivado fenólico BF. O 2,6-diclorofenol ao contrário, contribui para o sinal analítico antes e após o tratamento da solução amostra com NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. A diferença entre os sinais analíticos da amostra antes e após esta ser hidrolisada corresponde ao sinal devido unicamente ao pesticida.

Estudos de recuperação de Carbofuran foram conduzidos utilizando-se amostra de água natural (rio Uberabinha – Uberlândia-MG) fortificada com Carbofuran $2,07 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ + 2,6-diclorofenol $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Uma eficiência de recuperação de 98,5% foi encontrada. Esses resultados mostraram que a metodologia investigada pode ser usada para a determinação de aril N-metilcarbamatos totais em amostras de águas naturais que contém compostos fenólicos interferentes.

Palavras chave: determinação eletroquímica, sistema FIA, aril-N-metilcarbamatos.

ABSTRACT

A method was investigated for the indirect electrochemistry determination of total aryl N-methylcarbamates in water through the oxidation of the phenolic derivative produced in the alkaline hydrolysis of these pesticides. As model pesticide was used Carbofuran that produces in the alkaline hydrolysis the phenolic derivative denominated as Benzofuranol (BF).

The electrochemical behaviour and the analytical parameters of the determination of BF were investigated by using linear voltammetry, differential pulse voltammetry and amperometry in FIA system. The FIA system was composed by an acrylic injector switch, a flowing electrochemical cell of three electrodes, on wall-jet mode, and a propulsion system of carrier electrolyte and of sample solution towards electrochemical cell. The propulsion system was constituted by an air mini-compressor used in aquarium associated to the a water column to control the flow of carrier electrolyte.

The best conditions of the amperometric determination of BF in FIA system were: acetate buffer as carrier electrolyte under flow of 2.0 ml L^{-1} , sample volume of $200 \mu\text{L}$ and applied potential of 0.75 V vs Ag/AgCl. Carbon paste electrode (CPE) was evaluated in terms of stability of the analytical signal and reproducibility of the analytical curve.

The peaks current of a group of 18 consecutives injections of BF solution showed a relative standard deviate of 2.6%. The sensibility of electrode response was stable, showing the good performance of the carbon paste electrode in these experimental conditions. The amperometric signal was linear over the concentration range 1.4×10^{-7} to $7.1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ of Carbofuran with detection limit and of quantification limit of $7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ and $2,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, respectively.

The interference of phenolic compounds possibly present in natural water samples was investigated by using 2,6-dichlorophenol as model compound. It was showed that the interference can be eliminated by differential measurements of the analytical signal of the sample solution, before and after treatment with $\text{NaOH } 0.05 \text{ mol L}^{-1}$.

Carbofuran contributes for the amperometric signal only when the sample solution was previously treated with NaOH 0.05 mol L^{-1} because of the formation of BF. Differently, the 2,6-dichlorophenol contributes to both amperometric signal of the sample solution, before and after the treatment with NaOH 0.05 mol L^{-1} . The difference between these amperometric signals is due to the Carbofuran in the sample.

Recovery studies of Carbofuran was carried out by using this methodology and natural water sample (Uberabinha river- Uberlândia-MG) fortified with Carbofuran $2.07 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ plus 2,6-diclorofenol $1.5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. A recovery efficiency of 98.5% was found from triplicate analysis. These results shown that the methodology can be used for determination of total aryl-N-methylcarbamates in natural water samples which contains interferent phenolic compounds.

Keywords: determination electrochemistry, system FIA, aryl-N-methylcarbamate.

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Esquema de montagem para utilização da pressão gerada por uma coluna de água no controle de vazão de sistemas em fluxo. (A) Mini-compressor de ar; (B, C) Válvulas usadas em aquarismo para divisão e controle de fluxo de ar; (D) Junção de acrílico tipo T; (E) Tubo de PVC – coluna de água; (F) Reservatório do carregador; (G) Vista ampliada da conexão do tubo de polietileno ao reservatório com eletrólito.....18
- Figura 2:** Célula eletroquímica de três eletrodos (tipo “wall jet”), constituída de (EA) eletrodo auxiliar de platina, (ER) eletrodo referência de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) e (ET) eletrodo de trabalho.....19
- Figura 3:** Esquema do sistema FIA utilizado: sistema propulsor (Figura 1). (A) Injetor comutador de acrílico [108]; (B) Seringa utilizada para preencher a alça de amostragem do sistema; e detector eletroquímico (Figura 2).....22
- Figura 4:** Voltamograma das soluções (a) BF* em NaOH 0,05 mol L⁻¹ (b) NaOH 0,05 mol L⁻¹ ambos sobre EPC; e (c) BF* em NaOH 0,05 mol L⁻¹ (d) NaOH 0,05 mol L⁻¹ ambos sobre ECV. Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹. *Solução de BF foi obtida da hidrólise de CF 9,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹28
- Figura 5:** Voltamograma das soluções (a) BF* em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ (b) tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ ambos sobre EPC; e (c) BF* em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ (d) tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ ambos sobre ECV. Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹. *Solução de BF foi obtida da hidrólise de CF 9,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹29
- Figura 6:** Voltamogramas de 500 µL de soluções tamponadas, previamente hidrolisadas em NaOH 0,05 mol L⁻¹, de: (—) Carbofuran 2x10⁻⁵ mol L⁻¹; (—) Carbaril 2,2x10⁻⁵ mol L⁻¹; (—) Propoxur 2,1x10⁻⁵ mol L⁻¹; (—) Mistura de Carbofuran 2x10⁻⁵ mol L⁻¹ + Carbaril 2,2x10⁻⁵ mol L⁻¹ + Propoxur 2,1x10⁻⁵ mol L⁻¹, sob condições hidrodinâmicas. Solução carregadora: tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, sob vazão de 1,0 mL min⁻¹32

- Figura 7:** Voltamogramas de 500 μL de soluções de (---) tampão acetato 0,05 mol L^{-1} e de BF* obtido da hidrólise de CF nas seguintes concentrações: (—) 0,56 ; (—) 1,13 ; (—) 2,26 ; (—) 4,52 e (—) $9,04 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} , sob condições hidrodinâmicas. Solução carregadora: tampão acetato 0,05 mol L^{-1} , sob vazão de 1,0 mL min^{-1} . *Solução de BF em tampão acetato 0,05 mol L^{-1}33
- Figura 8:** Curva Analítica obtida dos voltamogramas apresentados na Figura 7.....34
- Figura 9:** VPD de 500 μL de soluções de (---) tampão acetato 0,05 mol L^{-1} e de BF* obtida da hidrólise de CF nas seguintes concentrações: (—) 0,56 ; (—) 1,13 ; (—) 2,26 ; (—) 4,52 e (—) $8,22 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} , sob condições hidrodinâmicas. Solução carregadora: tampão acetato 0,05 mol L^{-1} , sob vazão de 1,0 mL min^{-1} . *Solução de BF em tampão acetato 0,05 mol L^{-1}35
- Figura 10:** Curva Analítica obtida dos voltamogramas VPD da Figura 9.....36
- Figura 11:** (A) Diagrama obtido de injeções sucessivas de 100 μL de soluções de BF* obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (a) 0,56 ; (b) 1,13; (c) 2,26; (d) 4,52 e (e) $9,04 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} . $E_{ap} = 0,4$ V. Solução carregadora: NaOH 0,05 mol L^{-1} , sob vazão de 1 mL min^{-1} . *Solução de BF em NaOH 0,05 mol L^{-1} . (B) Curva analítica obtida do diagrama apresentado em (A).....37
- Figura 12:** (A) Diagrama obtido de injeções sucessivas de 100 μL de soluções de BF* obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (a) 0,51 ; (b) 1,03 ; (c) 2,05 ; (d) 4,11 e (e) $8,22 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} . $E_{ap} = 0,75$ V. Solução carregadora: tampão acetato 0,05 mol L^{-1} . *Solução de BF em tampão acetato 0,05 mol L^{-1} . (B) Curva analítica obtida do diagrama apresentado em (A)....38
- Figura 13:** Injeções repetitivas de 100 μL de soluções de BF obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (A) $5,64 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} e (B) $8,22 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} . $E_{ap} = 0,4$ V. Solução carregadora: NaOH 0,05 mol L^{-1} , sob vazão de 1,0 mL min^{-1}39

- Figura 14:** Injeções repetitivas de 100 μ L de soluções de BF obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (A) $5,64 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (B) e (C) $8,22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $E_{ap} = 0,75 \text{ V}$. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$40
- Figura 15:** Curvas analíticas obtidas com (A) mesmo EPC e (B) EPC diferentes. Solução carregadora: NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. As demais condições experimentais são iguais às da Figura 13.....41
- Figura 16:** Curvas analíticas obtidas com (A) mesmo EPC e (B) EPC diferentes. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. As demais condições experimentais são iguais às da Figura 14.....42
- Figura 17:** Altura dos sinais amperométricos em função da vazão da solução carregadora (tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$). Alça de amostragem de $200 \mu\text{L}$43
- Figura 18:** Altura dos sinais amperométricos em função do volume da alíquota de solução de BF* injetada no sistema FIA. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ mantida sob vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. * A solução de BF foi obtida da hidrólise de CF $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$44
- Figura 19:** Zona da amostra no instante da injeção e no momento que atinge o detector.....45
- Figura 20:** Diagrama de alíquotas de $200 \mu\text{L}$ de soluções tamponadas de BF, obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (a) 1,4 ; (b) 2,1 ; (c) 3,2; (d) 4,7 e (e) $7,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e (f) amostra de água de rio fortificada com CF $1,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, após hidrólise alcalina e correção do pH com ácido acético. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. $E_{ap} = 0,75 \text{ V}$. Eletrodo de trabalho: EPC.....47
- Figura 21:** Curva analítica obtida do diagrama apresentado na Figura 20.....47

- Figura 22:** Voltamogramas obtidos, sob condições hidrodinâmicas, de 500 μL de soluções de (—) 4-clorofenol; (—) 2,6-diclorofenol e (—) 2,4,6-triclorofenol, todos em concentração $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura 100 mV s^{-1} . Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,7, sob vazão $1,0 \text{ mL min}^{-1}$49
- Figura 23:** Amperogramas obtidos da injeção de 200 μL de solução amostra (em triplicata) em dois pulsos de potencial aplicados (—) $+0,75 \text{ V}$ e (—) $-0,2 \text{ V}$, durante 100 ms cada. (A) 4-clorofenol $3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (B) 2,6-diclorofenol $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (C) 2,4,6-triclorofenol $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$50
- Figura 24:** Amperogramas obtidos de injeções de 200 μL de: (A) CF $4,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ + 2,6-diclorofenol $4,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7); (B) CF $4,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ + 2,6-diclorofenol $4,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, após hidrólise alcalina em NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e então correção do pH para tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7); (C) CF $4,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, após hidrólise alcalina em NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e então correção do pH para tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7). Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Potencial aplicado: $+0,75 \text{ V vs Ag/AgCl}$52
- Figura 25:** Diagrama obtido da injeção sucessiva de alíquotas de 200 μL de soluções tamponadas de Benzofuranol (BF), obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (a) 1,9; (b) 2,9; (c) 4,4; (d) 6,5; (e) $9,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$; (f) amostra de água de rio tamponada e fortificada com CF $2,07 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ + 2,6-diclorofenol $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (g) amostra de água de rio fortificada com CF $2,07 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ + 2,6-diclorofenol $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, após hidrólise alcalina e correção do pH para tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. ET = EPC.....54
- Figura 26:** Curva analítica obtida para Carbofuran, a partir dos sinais amperométricos apresentados na Figura 25.....54

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Alguns carbamatos, principais aplicações, LD₅₀ e classe de toxicidade.....5

Tabela 2: Principais características físico-químicas e estruturais do pesticida
Carbofuran.....14

LISTA DE ABREVIACOES

A – Ampere

AChE – Acetilcolinesterase

ANDEF – Associação Nacional de Defensivos Agrícolas

BF – Benzofuranol

CB's – Carbamatos

CF - Carbofuran

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

DAP – Detecção Amperométrica Pulsada

d.i – Diâmetro Interno

DPR – Desvio Padrão Relativo

E – Potencial

EPA – Agência de Proteção Ambiental - EUA

EA – Eletrodo Auxiliar

E_{ap} – Potencial Aplicado

E_{pa} – Potencial de Pico Anódico

EPC – Eletrodo de Pasta de Carbono

ER – Eletrodo de Referência

ET – Eletrodo de Trabalho

FIA – Flow Injection Analysis

I_p – Corrente de pico

I_{pa} – Corrente de Pico Anódico

i – Corrente

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

L - Litros

LD – Limite de Detecção

LD₅₀ – dose em mg Kg⁻¹ capaz de matar 50% da população testada (ratos)

LQ – Limite de Quantificação

min – minuto

mL – mililitro

ms – milisegundos

nA - nanoampere

OF's – Organofosforados

R – Coeficiente de correlação linear

s – Segundo

SINDAG – Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola

UV – Ultravioleta

V – Volt

VPD – Voltametria de Pulso Diferencial

VVL – Voltametria de Varredura Linear

μ - Micro

TRABALHOS PROVENIENTES DESTA DISSERTAÇÃO

- 1 - Eduardo F. de Azevedo; Wallans T. Pio dos Santos e Yaico D. Tanimoto de Albuquerque, *Determinação De Metil Paration: Cromatografia Líquida/Uv Vs Detecção Eletroquímica*, Livro de Resumos do XV Sibe, Londrina, Brasil, **2006**.

- 2 - Wallans T. P. dos Santos, Eduardo F. de Azevedo, Yaico D. T. de Albuquerque, Eduardo M. Richter, *Investigação para Determinação de Metil Paration por Técnicas Voltamétricas*, Anais do I Encontro de Química do Triangulo Mineiro e Alto Paranaíba, IV mostra de Pós Graduação e III Jornada Científica de Química, ISBN: 978-85-98616-11-7, Uberlândia, Brasil, **2006**.

- 3 - Eduardo F. de Azevedo, Wallans T. P. dos Santos, Adriângela G. de Paula, Yaico D. T. de Albuquerque, Eduardo M. Richter, *Investigação da Determinação Eletroquímica de Carbofuran Empregando Técnicas Amperométricas*, Anais do I Encontro de Química do Triangulo Mineiro e Alto Paranaíba, IV mostra de Pós Graduação e III Jornada Científica de Química, ISBN: 978-85-98616-11-7, Uberlândia, Brasil, **2006**.

- 4 - Wallans T. P. Santos, Eduardo F. Azevedo, Adriangela Guimarães de Paula e Yaico D. T. Albuquerque, *Avaliação das Etapas de Separação e Concentração na Recuperação de Pesticidas Carbamatos e Organofosforados de Amostras de Alimentos*, CD de Resumos do XIII ENQA e I CIAQA, Niterói, Rio de Janeiro, **2005**.

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 – Considerações gerais

Apesar de vivermos num planeta com 70,8% de sua superfície coberta de água, a disponibilidade de água doce para uso é de apenas 0,3% dos escassos 2,2% de água doce existente [1]. A disponibilidade de água doce é ainda reduzida por inúmeras fontes de poluição. Aproximadamente 2 milhões de toneladas de lixo por dia são dispostos em águas receptoras, incluindo resíduos industriais, lixo doméstico e resíduos agrícolas (fertilizantes, pesticidas e resíduos de pesticidas). Estima-se que um volume próximo de 1500 km³ de água poluída seja produzido em escala global. Considerando que 1 litro de água poluída polui 8 litros de água doce, o volume real de água poluída passa a ser de 12000 km³[2].

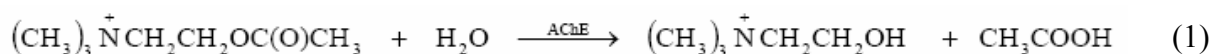
O uso intensivo de grandes quantidades de águas superficiais e subterrâneas para o desenvolvimento das atividades domésticas, industriais, agrícolas e pecuárias é um dos principais problemas a ser enfrentado nas próximas décadas. A contaminação dos recursos hídricos associada à sua escassez em muitas regiões no mundo justifica essa previsão alarmante [2]. Deve-se considerar ainda a disparidade na disponibilidade de água existente nos continentes. Por exemplo, o continente asiático, que suporta mais da metade da população mundial, possui só 36% das reservas de água doce do mundo [2]. Isso explica a preocupação com a contaminação dos ecossistemas aquáticos superficiais e das águas subterrâneas por metais pesados, fertilizantes e compostos orgânicos tóxicos, como os pesticidas [3]. Desde a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, ECO-92, realizada no Rio de Janeiro em 1992, os países participantes reconheceram a necessidade de implementarem programas de gestão integrada dos recursos hídricos, para garantir o uso sustentável da água e o desenvolvimento econômico das nações, a produção de alimentos e, especialmente, preservar a qualidade deste recurso natural para o consumo humano [1].

A utilização de uma grande diversidade de pesticidas na agricultura é justificada pelo aumento da produção agrícola e da necessidade de combater a grande variedade de pragas e ervas daninhas [4]. No entanto, o uso extensivo de fertilizantes, pesticidas, fungicidas e herbicidas tem contaminado os alimentos e o solo podendo ainda ser carregados pela água da chuva e se infiltrarem no solo, contaminando águas superficiais,

mananciais subterrâneos e os lençóis freáticos [5]. O Brasil é um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo [6]. Dados estatísticos da Associação Nacional de Defensivos Agrícolas (ANDEF) mostram que o uso de pesticidas dobrou de volume na década de 90. A venda total de agrotóxicos, em 2004, atingiu US\$ 4,495 bilhões, 43,3% a mais em faturamento do que em 2003, de acordo com o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG) [4].

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) [7] define pesticidas como substâncias ou mistura de substâncias utilizadas para prevenir, controlar ou destruir qualquer peste, incluindo espécies de animais ou plantas que interferem ou prejudicam a produção, processamento, armazenamento, transporte ou venda de alimentos, artigos agrícolas, madeiras ou produtos de madeira. Essa definição compreende ainda substâncias utilizadas no combate a insetos domésticos ou de qualquer agente que previna a ação de vetores transmissores de doenças como febre amarela, doença de Chagas, malária ou dengue [4,8]. Entre os pesticidas usados atualmente, destacam-se duas classes importantes, carbamatos (CB's) e organofosforados (OF's). Estes pesticidas foram introduzidos mundialmente na década de 1950, como substituintes dos compostos organoclorados, que são persistentes no meio ambiente. Apesar de serem, de modo geral, mais tóxicos que os organoclorados, os CB's e OF's são extensamente usados na agricultura por causa de sua atividade inseticida e por apresentarem persistência relativamente baixa. Esses compostos podem ser degradados pela ação da luz, pelo O₂ do ar ou por reação com a água [9-12].

A ação tóxica dos OF's e CB's ocorre devido à inibição da atividade da acetilcolinesterase (AChE), uma enzima envolvida na transmissão dos impulsos nervosos para as células musculares e neuro-musculares nos organismos vivos [13]. A acetilcolina é o neurotransmissor responsável pela transmissão de impulsos entre as sinapses, o qual, logo após participar dessa transmissão sináptica é hidrolisado pela enzima AChE [14], conforme a seguinte reação:



A inibição da AChE causa um acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica, levando a uma hiperestimulação colinérgica. E os sintomas provenientes dessa intoxicação vão desde enjôos, náuseas ou fraqueza, considerados leves, até sintomas mais graves como cianose, convulsão, paralisia ou coma [14]. A inibição de AChE provocada por CB's é transitória, com duração curta e reversível. Em contraste, a inibição produzida por OF's é irreversível [14,15].

Os CB's são pesticidas derivados do ácido carbâmico, suas estruturas são baseadas em ésteres do ácido carbâmico N-substituído ($R_1\text{OCONR}_2\text{R}_3$), onde R_1 é tipicamente um grupo fenil ou um anel aromático heterocíclico, R_2 um substituinte metil e R_3 o hidrogênio, metil ou outro grupo mais complexo. Quinze N-metilcarbamatos formam uma importante família de inseticidas, os quais, devido ao amplo espectro de atividade biológica são largamente aplicados no tratamento de sementes, solo e lavouras [16]. Carbofuran e Carbaril são dois N-metilcarbamatos amplamente utilizados em residências e agricultura [15].

Na biotransformação dos carbamatos, as reações mais importantes são a hidroxilação do grupamento metil ligado ao nitrogênio e a hidroxilação do anel aromático. A biotransformação de alguns carbamatos gera produtos mais tóxicos, enquanto outros geram produtos menos tóxicos como no caso do Carbaril [14]. Dessa forma os carbamatos são rapidamente metabolizados pelos organismos humanos e eliminados pela urina, não se acumulando nesses [17].

Apesar do baixo potencial de bioacumulação [10] os CB's causam, além da inibição reversível da AChE, outros efeitos bioquímicos e farmacológicos, incluindo o decréscimo da atividade metabólica do fígado, alterações dos níveis de serotonina no sangue e um decréscimo da atividade da glândula tireóide [18,19]. Esses compostos são também suspeitos de serem carcinógenos e mutagênicos [16]. Na tabela 1 encontram-se alguns pesticidas carbamatos e suas principais aplicações.

Tabela 1: Alguns carbamatos, principais aplicações, LD₅₀ e classe de toxicidade

Composto	Aplicações	LD ₅₀	Classe
Carbaril	Agricultura de soja, manga, banana e batata em jardins e gramados	300	II
Carbofuran	Agricultura de arroz, batata, cereais, tubérculos, hortaliças e tratamento de sementes	8	Ib
Aldicarb	Agricultura de algodão, beterraba, amendoim, cana-de-açúcar e algumas frutas cítricas	0,93	Ia

LD₅₀ = representa a dose em mg Kg⁻¹ capaz de matar 50% da população testada (ratos). Classe Ia: extremamente tóxico; Classe Ib: altamente tóxico; Classe II: moderadamente tóxico.

Tendo-se em vista a toxicidade e os impactos ambientais decorrentes do uso de pesticidas CB's, os órgãos de proteção ambiental de diversos países têm estabelecido limites para esses compostos nos corpos d'água utilizados para abastecimento público. No Brasil, de acordo com a classificação das águas, os níveis máximos de concentração de diversos pesticidas são estabelecidos pela Resolução CONAMA N^o 357/05. Em todo o Território Nacional as águas doces, salinas ou salobras são classificadas conforme a qualidade requerida para os seus usos prioritários, perfazendo um conjunto de treze classes [20]. As classes de água destinada ao abastecimento doméstico são as seguintes:

Águas doces

- ✓ Classe especial: águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção; à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e, à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.
- ✓ Classe 1: águas que podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho; à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película; e à proteção das comunidades aquáticas em terras indígenas.

- ✓ Classe 2: águas que podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e à aquicultura e à atividade de pesca.
- ✓ Classe 3: águas que podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca amadora; à recreação de contato secundário; à dessedentação de animais.

Águas salobras

- ✓ Classe 1: águas que podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; à recreação de contato primário; à proteção das comunidades aquáticas; à aquicultura e à atividade de pesca; à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, e à irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto.

A Resolução CONAMA 357/05 define os limites máximos para alguns OF's (Paration, Demeton e Malation), mas no caso dos CB's, somente o Carbaril tem limite máximo definido, sendo de $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ para águas doces Classes 1 e 2; $70 \mu\text{g L}^{-1}$ para águas doces Classe 3 e $0,32 \mu\text{g L}^{-1}$ para águas salinas e salobras Classes 1 e 2. A resolução CONAMA 357/05 não define limites de concentração para OF's e CB's totais, sendo esses limites, definidos pela Resolução CONAMA 20/86. Valores máximos de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ são estabelecidos para águas Classe Especial, 1 e 2, e de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ para águas Classe 3 [21]. Outra norma importante que também estabelece padrões de qualidade para a água destinada ao consumo humano é a Portaria 518/ 04 do Ministério de Estado da Saúde. Esta norma infelizmente não contém padrões para muitos CB's usados no Brasil [22].

Em virtude da inexistência de limites máximos permitidos para os pesticidas CB's em águas, na legislação brasileira, e considerando o impacto que esses compostos podem causar ao meio ambiente e à saúde humana [23,24], faz-se necessário buscar padrões estabelecidos em legislações internacionais. A Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA) estabelece 40 ppb como limite máximo de Carbofuran (CF) em águas destinadas ao consumo humano [25].

Apesar dos padrões estabelecidos por legislações ambientais, a análise de alimentos, águas e solos agrícolas têm indicado a existência de vários resíduos de pesticidas, em níveis de ppb [26,27]. Somado a isso, a maior conscientização da sociedade nas últimas duas décadas sobre os efeitos tóxicos e os impactos ambientais causados pelos CB's e OF's, têm exigido dos analistas o desenvolvimento de métodos analíticos mais sensíveis, seletivos, mais rápidos e que utilizem equipamentos simples e práticos [23,28].

1.2 – Métodos de determinação de carbamatos

Pesticidas N-metilcarbamatos são termicamente instáveis e apresentam baixa volatilidade, o que dificulta a determinação direta destes por métodos de cromatografia gasosa. Por esta razão, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção ultravioleta (UV) é o método mais explorado para a determinação de CB's [29-33], apesar desse modo de detecção não ser sensível o bastante para análises de traços de resíduos [16].

Métodos cromatográficos acoplados a sistemas de detecção mais sensíveis e altamente específicos, tais como a cromatografia gasosa com espectrometria de massas (CG-MS) ou cromatografia líquida com espectrometria de massas (CL-MS) estão descritos na literatura para a detecção de CB's em alimentos e amostras ambientais [26,34]. Esses métodos, porém, têm como principais desvantagens o elevado custo da instrumentação e manutenção, além da necessidade de pessoal altamente treinado, condições que dificilmente são encontradas em países em desenvolvimento. Outra dificuldade é a impossibilidade de uso em campo.

Métodos CLAE com derivatização pós-coluna e detecção por fluorescência aumenta a sensibilidade da detecção em no mínimo uma ordem de grandeza em relação à detecção

UV. Embora essa metodologia seja adotada pela Agência de Proteção Ambiental – EUA (EPA) para a determinação de CB's, a mesma requer uma etapa de derivatização pós-coluna e também utiliza instrumentação de custo relativamente elevado, além da necessidade de pessoal qualificado [32,35,36].

Os métodos cromatográficos, em geral, exigem procedimentos laboriosos de extração das espécies de interesse, ou dos interferentes, que podem adsorver irreversivelmente sobre a coluna de separação cromatográfica, ou ser eluídos com tempos de retenção próximos aos das espécies de interesse (analito) e interferir no sinal monitorado. Os procedimentos de separação do analito das espécies interferentes (*clean-up*) e de pré-concentração aumentam o risco de perdas do analito, consomem tempo da análise e constituem na principal fonte de erros e discrepâncias dos resultados de análises realizadas em laboratórios diferentes [27,31,37,38]. Por essas razões, os químicos analíticos consideram o *clean-up* da amostra o passo determinante dos métodos de análise de N-metilcarbamatos por CLAE [36].

Outros métodos bem estabelecidos para a detecção de praguicidas são os Biossensores baseados na inibição de enzimas. Os biossensores baseados na enzima AChE com transdutores amperométricos, condutimétricos ou potenciométricos têm sido extensivamente explorados em aplicações ambientais [9,37,39].

Os biossensores enzimáticos envolvem a medida da atividade da enzima na solução do substrato, na ausência do inibidor, seguida da incubação do biossensor na solução contendo o inibidor em concentração definida, durante um determinado período de tempo. Após esse período de tempo, mede-se a inibição da atividade da enzima. O decréscimo da atividade enzimática está relacionado com a concentração do pesticida presente na amostra [27,40]. Dentre as vantagens que o uso de biossensores pode trazer destacam-se a alta seletividade, tempo de resposta rápido, instrumentação de baixo custo e portátil, habilidade para detectar os inibidores em níveis de ppb, além da elevada frequência analítica [29,41,42]. Entretanto, esses métodos apresentam desvantagens como a falta de especificidade para um determinado analito ou classe de compostos, e as diferenças no grau de inibição produzido por substâncias diferentes, podem levar à produção de inibição não aditiva quando a amostra contiver mais de um inibidor [11,29,37].

Detecção eletroquímica associada a métodos cromatográficos ou isoladamente é também utilizada para a determinação de CB's. O grande avanço desses métodos deve-se à elevada sensibilidade da detecção eletroquímica, quando comparada à maioria das técnicas espectroscópicas [5]. Tal fato é atribuído aos avanços tecnológicos da instrumentação eletroquímica que têm contribuído para a melhoria da sensibilidade das técnicas voltamétricas [43]. Outra vantagem da detecção eletroquímica é a maior seletividade desse modo de detecção, possibilitando a determinação direta do analito na solução ou extrato da amostra, com boa exatidão e eliminando a etapa de separação ou pré-concentração da espécie de interesse [16,44,45]. Em razão dessas vantagens, os métodos eletroanalíticos têm se apresentado como uma alternativa bastante viável para a determinação de uma grande diversidade de analitos orgânicos e inorgânicos, pois envolvem menor tempo de análise, utilizam instrumentação de baixo custo e maior simplicidade operacional [46-48]. Assim sendo, inúmeros métodos baseados na detecção eletroquímica encontram-se descritos na literatura para a determinação de pesticidas, principalmente OF's e herbicidas, em amostras de composição química complexa como alimentos, águas, solos e sedimentos [49-56].

Em contraste, um menor número de métodos eletroanalíticos foi proposto para a determinação de CB's, pois a maioria desses compostos não é eletroativa ou envolve elevado potencial de eletrodo para a reação eletroquímica [16,32]. Em função desse fato, a maioria dos métodos eletroanalíticos desenvolvidos para a determinação dos N-arilcarbamatos como, por exemplo, propoxur, isoprocarb, carbaryl e carbofuran, estão baseados na detecção voltamétrica dos respectivos derivados fenólicos formados na hidrólise alcalina dos referidos carbamatos [16,57]. A proximidade dos valores de potencial de eletrodo, no qual ocorre a oxidação eletroquímica dos derivados fenólicos, impossibilita a determinação desses compostos em separado, o que é uma desvantagem comparada com os métodos cromatográficos. Por outro lado, a alta sensibilidade e a elevada seletividade da detecção voltamétrica, onde somente compostos eletroativos podem ser determinados [58,48], associadas à detecção dos produtos da hidrólise alcalina, são fatores que contribuem significativamente para a determinação de CB's totais em amostras de composição química complexa, uma vez que simplificam a etapa de preparação da amostra, reduzindo o tempo da análise. Além disso, o uso dos métodos quimiométricos para resolver

a sobreposição dos voltamogramas, tem contribuído de modo significativo para o avanço das metodologias voltamétricas de determinação de misturas de carbamatos [16,57].

Apesar das vantagens dos métodos eletroquímicos decorrentes da maior sensibilidade e seletividade, esses métodos têm como principal limitação a contaminação da superfície do eletrodo devido à adsorção do analito ou das espécies formadas na reação eletroquímica, bem como de interferentes presentes na amostra. Esse fenômeno pode levar a problemas de estabilidade da resposta do eletrodo e, conseqüentemente, afetar a reprodutibilidade dos resultados [5]. A contaminação ou passivação da superfície do eletrodo pode ser contornada por meio da modificação do eletrodo, em geral com substâncias poliméricas, que minimizam a adsorção ou a formação de produtos que podem ser adsorvidos, ou os dois processos simultaneamente [12]. A detecção eletroquímica em sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) é outra alternativa que tem sido usada para contornar ou até eliminar problemas causados pela contaminação do eletrodo de trabalho ou do sensor eletroquímico [5,59-62].

Em sistema FIA, o modo de detecção eletroquímica mais explorado é a amperometria [59,63-68]. Nesse modo de detecção o sensor eletroquímico é mantido num potencial constante (em relação a um eletrodo de referência), que possibilita a oxidação ou a redução eletroquímica dos compostos eletroativos de interesse. As principais vantagens da detecção amperométrica em sistema FIA sobre os métodos voltamétricos convencionais são a maior sensibilidade do sinal eletroquímico e os menores efeitos da contaminação da superfície do eletrodo, uma vez que o tempo de contato da amostra com o eletrodo é bastante reduzido e o eletrólito suporte flui continuamente durante a realização da análise [5,59]. Com isso, uma maior estabilidade da resposta do detector e, conseqüentemente, uma maior reprodutibilidade dos resultados será obtida. Em virtude da instrumentação simples e do baixo custo, a detecção amperométrica vem sendo também bastante explorada em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a análise de diversas substâncias eletroativas [69-73].

Atualmente, alguns equipamentos possibilitam o uso da amperometria no modo pulsado. Essa técnica permite a aplicação de até 10 pulsos de potencial, durante tempos

muito curtos (ms), os quais podem ser escolhidos numa seqüência que garanta a maior seletividade, sensibilidade e estabilidade do sinal amperométrico.

A detecção amperométrica pulsada (DAP) possibilita a limpeza e reativação da superfície do eletrodo, depois de um ciclo de medida, através da polarização catódica e anódica alternada, sem a necessidade de polimento mecânico [74-76]. A DAP tem sido usada para aumentar a seletividade da detecção eletroquímica [77,78], quando os compostos eletroativos apresentam pelo menos um dos processos eletroquímicos (de redução ou de oxidação) em potenciais distintos.

1.3 – Análise por injeção em fluxo

A análise por injeção em fluxo foi proposta por Ruzicka & Hansen em 1975 como um novo conceito de análises químicas [79,80]. Esse modo de análise, identificado pela sigla FIA (do inglês “Flow Injection Analysis”), tem sido explorada com sucesso na análise de uma grande diversidade de substâncias, pois proporciona diversas vantagens, tais como, uso de instrumentação versátil e de baixo custo, elevada frequência analítica, pequeno consumo de reagentes e, conseqüentemente, menor produção de resíduos, além da possibilidade de automação [81-90].

A configuração básica de um sistema FIA consiste de uma bomba peristáltica, tubos de polietileno, injetor de amostra e um detector. Os primeiros procedimentos analíticos com sistema FIA foram realizados utilizando detecção por absorção molecular [81], mas devido aos avanços tecnológicos, outros modos de detecção foram explorados para finalidades diversas, tais como, absorção atômica com atomização eletrotérmica [91], fluorescência [92], quimiluminescência [93], potenciometria [94], voltametria [58], amperometria [59,61,63,95], além de outros.

Os detectores ópticos em sistema FIA, como os espectrofotométricos e fluorimétricos, têm vantagens sobre os eletroquímicos porque as oscilações da vazão da solução transportadora não causam oscilações significativas no sinal analítico. Isto se deve ao fato da medida do sinal nos detectores ópticos envolver toda a solução que passa pelo caminho do detector. Nos detectores eletroquímicos, ao contrário, o sinal monitorado é

governado pela quantidade de espécies eletroativas que alcançam a superfície do eletrodo, onde ocorre a reação eletroquímica para produzir o sinal do detector. Assim sendo, o sinal é sensivelmente dependente da taxa de transporte de massa para a interface eletrodo/solução. Portanto, nos detectores eletroquímicos é desejável que a vazão da solução carregadora não apresente qualquer oscilação, pois se isso ocorrer, compromete-se a estabilidade do sinal analítico e o nível de ruído da linha de base, afetando a reprodutibilidade e o limite de detecção do método [58,96].

A maioria dos sistemas de análise em fluxo utiliza bombas peristálticas para realizar o transporte da solução carregadora (eletrólito suporte) e das soluções amostra e padrão. Estas bombas produzem pulsações devido à alternância dos roletes propulsores, os quais afetam a vazão da solução transportadora, prejudicando o desempenho dos detectores eletroquímicos. Outras desvantagens das bombas peristálticas são o custo relativamente elevado do equipamento (~US\$ 1500,00), a queda gradual da vazão após longos períodos de operação em virtude da fadiga e deformação dos tubos peristálticos, e a limitação no ajuste da vazão dos diferentes canais, causada pela limitação da disponibilidade de tubos com diâmetros internos diferentes [96].

A pulsação do fluido transportador nos sistemas FIA pode ser evitada por meio do uso de amortecedores pneumáticos. Além dos amortecedores de pulso, outras alternativas são o uso de bombas isentas de pulsações, semelhantes às empregadas em CLAE [97,98], utilização da pressão gerada por pistão de seringa [99,100], e o uso da força da gravidade para controlar a vazão das soluções [101-105]. Essa última alternativa não é útil para trabalhos que exigem mudanças de vazão.

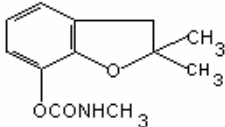
Matos e colaboradores investigaram um propulsor pneumático versátil e isento de pulsação para sistemas de análise em fluxo [96]. Nesse trabalho foi utilizado um mini-compressor de ar do tipo bomba de diafragma, que normalmente é empregado na oxigenação da água de aquários domésticos. Esse sistema, além de apresentar baixo custo, foi eficiente na geração de fluxo sem pulsação, o que garantiu o seu uso em outros estudos [106-112]. A principal desvantagem dos mini-compressores é a necessidade de ajuste da vazão após qualquer alteração feita no sistema da análise em fluxo como, por exemplo, mudança do comprimento do tubo de polietileno entre o injetor e o detector [96].

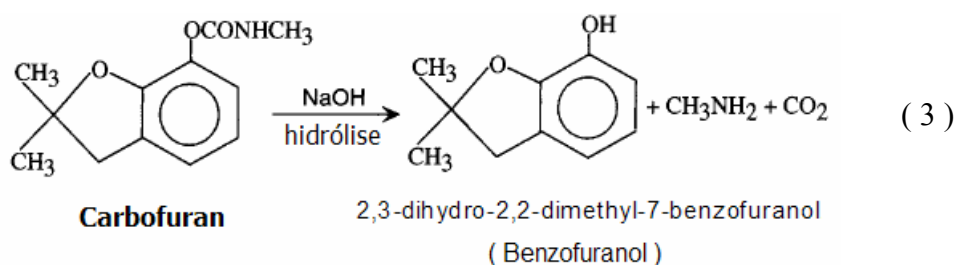
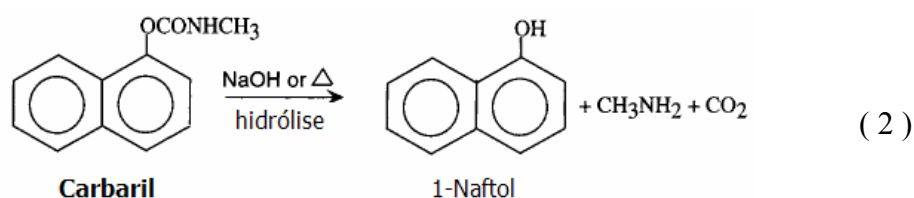
Santos e colaboradores [5] investigaram a utilização da pressão gerada por uma coluna de água acoplada a um mini-compressor como mecanismo de controle da vazão de um sistema de análise em fluxo. Os autores demonstraram que um mini-compressor de ar do tipo bomba de diafragma usado em aquários, acoplado a uma coluna de água, pode ser usado com eficiência para controlar a vazão da solução transportadora, mesmo após longos períodos de operação. Os autores demonstraram ainda que existe uma relação linear reprodutível entre a altura da coluna de água e a vazão obtida. Dessa forma, basta determinar experimentalmente a vazão numa determinada altura de coluna e, por relação direta, pode-se obter as demais. Esse sistema foi usado com sucesso pelos autores no controle da vazão do sistema de análise FIA com detecção eletroquímica, pois diminuiu drasticamente os ruídos da linha base e controlou eficientemente a vazão durante longos períodos de análise. Além disso, o sistema proposto é de baixo custo e de fácil operação [5].

1.4 – Estrutura e características físico-químicas do Carbofuran

Na Tabela 2 encontra-se a estrutura e as principais características físico-químicas do Carbofuran, um carbamato usado na proteção de uma grande variedade de culturas. Os aril N-metilcarbamatos são relativamente polares e termicamente instáveis. Por essas razões, os principais métodos empregados na determinação desses compostos são os baseados na cromatografia líquida com detecção espectrofotométrica, apesar desse modo de detecção oferecer baixa sensibilidade e seletividade para aplicações em amostras ambientais e de alimentos. Em soluções alcalinas, os aril N-metilcarbamatos são rapidamente hidrolisados formando derivados fenólicos [16,57], como mostram as equações (2) e (3) envolvidas na hidrólise do Carbaril e Carbofuran.

Tabela 2: Principais características físico-químicas e estruturais do pesticida Carbofuran

Estrutura	
Fórmula Molecular	$C_{12}H_{15}NO_3$
Massa Molecular (g mol⁻¹)	221,3
Nomenclatura da IUPAC	2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofuran-7-il metilcarbamato
Nomes Comerciais	Carbofuran, Furadan e Niagara
Solubilidade em água (mg L⁻¹)	700
Ponto de Fusão	150 °C
Densidade (g cm⁻³)	1,18



O derivado fenólico é eletroativo [16], podendo sofrer oxidação eletroquímica sobre eletrodos de carbono em baixas potências, ao redor de +0,8 V vs Ag/AgCl. Estes potenciais são bem menores que os E de oxidação dos carbamatos, que ocorre em potenciais muito elevados, 1,45 V vs Ag/AgCl [32]. Os elevados potenciais envolvidos na oxidação direta do nitrogênio do grupo amida dos pesticidas carbamatos limitam a seletividade da detecção,

devido à interferência causada pela oxidação eletroquímica da água à O_2 , além da interferência de outras espécies eletroativas. Os potenciais elevados requeridos na detecção dos carbamatos afeta também os limites de detecção por causa das elevadas correntes residuais.

Diante dos fatos apresentados, os métodos de determinação de carbamatos, baseados na hidrólise alcalina seguida da detecção eletroquímica do derivado fenólico oferecem vantagens sobre a detecção eletroquímica direta dos carbamatos, bem como sobre a detecção espectrofotométrica, em termos de maiores sensibilidade e seletividade.

1.5 – Objetivos

O objetivo deste trabalho foi investigar um método eletroquímico de baixo custo, de elevada sensibilidade e seletividade para a determinação de pesticidas aril N-metilcarbamatos totais em águas naturais. Para tanto, os estudos dos parâmetros analíticos envolvidos no desenvolvimento da metodologia, em sistema de análise por injeção em fluxo contínuo (FIA), foram realizados utilizando-se o Carbofuran (CF) como pesticida modelo. Os seguintes estudos foram conduzidos:

- ✓ Investigação do comportamento eletroquímico do derivado fenólico formado Benzofuranol (BF), em sistemas estacionários, usando as técnicas voltamétricas de varredura cíclica e linear.
- ✓ Investigação dos parâmetros analíticos da detecção eletroquímica do derivado fenólico, em sistema de análise por injeção em fluxo (FIA), usando Voltametria de Varredura Linear (VVL), Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) e amperometria.
- ✓ Otimização dos parâmetros que controlam a sensibilidade e a reprodutibilidade do sinal amperométrico em sistema de análise FIA, tais como: tipo de eletrodo de trabalho, tipo de eletrólito suporte, vazão da solução carregadora (eletrólito suporte) e volume da alça de amostragem.

- ✓ Aplicação da metodologia na análise de amostras de água natural (rio Uberabinha) fortificadas com Carbofuran $1,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, nas condições experimentais otimizadas, e avaliação da percentagem de recuperação de Carbofuran.
- ✓ Estudo da interferência de fenólicos na metodologia de determinação de Aril-N-metilcarbamatos e aplicação da metodologia na análise de amostras de água natural (rio Uberabinha) fortificadas com Carbofuran $2,07 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ + 2,6-diclorofenol $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, nas condições experimentais otimizadas.

CAPÍTULO 2

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1 – Soluções e reagentes

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) obtida de sistema de purificação Milli-Q.plus (Millipore). As soluções, usadas como eletrólito suporte para os estudos eletroquímicos e as medidas em sistema FIA foram preparadas a partir dos reagentes de grau analítico (Merck). As seguintes soluções foram preparadas: hidróxido de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, tampão ácido acético/acetato de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) e tampão ácido cítrico/citrato de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0).

As soluções padrão estoque de Carbofuran, Carbaril, Propoxur, 4-clorofenol, 2,6-diclorofenol e 2,4,6-triclorofenol (Sigma) foram preparadas em concentração de 1000 mg L^{-1} , em acetonitrila. Esse solvente foi utilizado para estabilizar os padrões. Soluções padrão de trabalho desses compostos foram preparadas por diluição da solução estoque nos eletrólitos suporte, antes do uso.

2.2 – Sistema utilizado no controle da vazão das análises em sistema FIA

A Figura 1 apresenta o esquema de montagem para utilização da pressão gerada por uma coluna de água no controle de vazão em sistemas em fluxo.

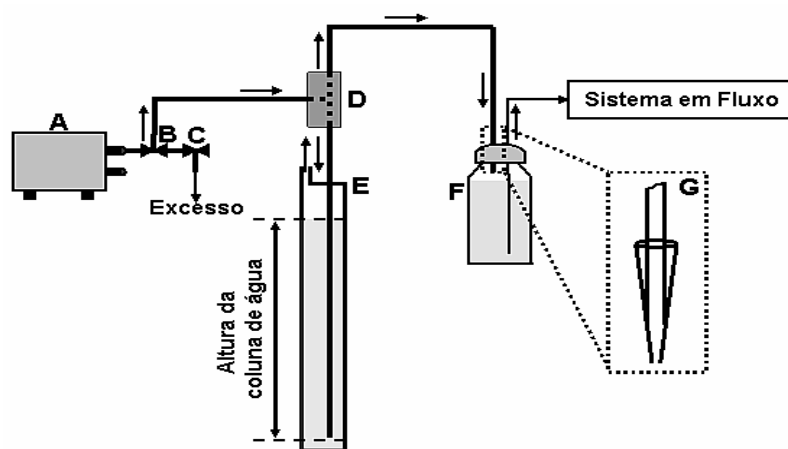


Figura 1: Esquema de montagem para utilização da pressão gerada por uma coluna de água no controle de vazão de sistemas em fluxo. (A) Mini-compressor de ar; (B, C) Válvulas usadas em aquarismo para divisão e controle de fluxo de ar; (D) Junção de acrílico tipo T; (E) Tubo de PVC – coluna de água; (F) Reservatório do carregador; (G) Vista ampliada da conexão do tubo de polietileno ao reservatório com eletrólito.

O sistema consiste em um mini-compressor (A), de duas válvulas para divisão e controle grosseiro do fluxo de ar (B, C), um divisor de fluxo tipo T em acrílico (D), tubo de PVC de 10 cm de diâmetro interno e 160 cm de altura (E) e de um reservatório para a solução transportadora (eletrólito) (F). O diâmetro interno da tubulação usada entre o mini-compressor e a coluna de água, e entre essa e o reservatório da solução transportadora é de 3,0 mm. A vazão é controlada com o deslocamento do tubo no interior da coluna de água (E). Quanto mais profundo estiver o tubo, maior será a coluna de água, a resistência oferecida ao fluxo de ar, a pressão transferida ao reservatório contendo a solução transportadora (F) e a vazão do carregador. O fluxo de ar produzido pelo mini-compressor é dividido em quatro com o auxílio de válvulas simples, adquiridas em lojas para aquarismo. O sistema de análise em fluxo é constituído de um injetor e de um detector eletroquímico.

2.3 – Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando-se o equipamento Potenciostato/Galvanostato PGSTAT 20 da Autolab (Eco Chemie) e uma célula eletroquímica (tipo “wall-jet”) de três eletrodos, construída no próprio laboratório (Figura 2).

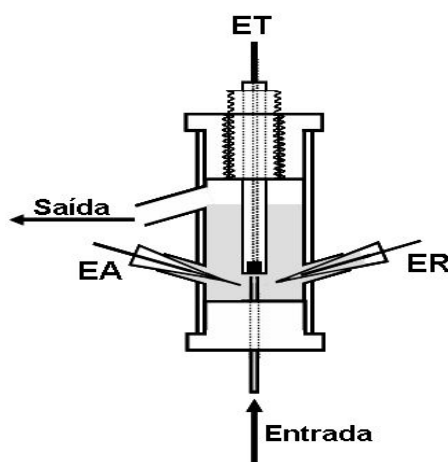


Figura 2: Célula eletroquímica de três eletrodos (tipo “wall jet”), constituída de eletrodo auxiliar de platina (EA), eletrodo referência de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) (ER) e eletrodo de trabalho (ET).

O detector eletroquímico foi construído a partir de um tubo de vidro de 7 cm de comprimento e com 1,5 cm de diâmetro interno. Inicialmente, foram efetuados três orifícios laterais no tubo de vidro. Em cada orifício foi soldado um tubo de vidro (1,5 cm de comprimento) com menor diâmetro interno. Os dois tubos inferiores (4 mm d.i.) foram usados para fixação, sob simples pressão, dos eletrodos de referência e auxiliar (ambos de formato cônico) e o tubo superior (7 mm d.i.) serve para saída da fase móvel (resíduo). Uma peça de teflon (sob medida), com um canal (orifício) centralizado (1,5 mm d.i.), foi fixada na parte inferior da célula. Na parte superior da célula, outra peça de teflon (sob medida) foi fixada. Esta peça também possui um canal (orifício) centralizado (com rosca interna) de 12 mm de diâmetro para a fixação do eletrodo de trabalho na célula. Este eletrodo foi adaptado dentro de um tubo de teflon com rosca externa, o qual foi rosqueado na peça de teflon da parte superior da célula, dando origem a uma célula do tipo “wall-jet”. Como eletrodos de referência e auxiliar foram usados Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) e um fio de platina, respectivamente.

Um mini-compressor de ar de duas vias (Friska) foi usado para propelir a solução carregadora no sistema em fluxo. Foi usado um software gráfico para os tratamentos de dados obtidos neste trabalho.

2.4 – Eletrodos

Os eletrodos de trabalho utilizados foram o de pasta de carbono (EPC) e carbono vítreo (ECV), todos de 2,0 mm de diâmetro, sendo o último da Metrohm. Já o EPC foi preparado pela mistura de 0,100 g de grafite puro (Fluka), em pó, com 20 µL de óleo mineral em um almofariz de ágata, até completa homogeneização. A pasta obtida foi colocada no interior da extremidade inferior de um tubo de vidro de 2,0 mm de d.i, numa espessura de 1,0 mm. Um fio de cobre foi usado como contato elétrico.

O eletrodo de referência foi preparado pela eletrodeposição de AgCl sobre a superfície de um fio de Ag metálica (3,0 mm x 0,1 mm de diâmetro), a partir da eletrólise em solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹, sob corrente constante de 0,2 mA, durante 2h, utilizando-se o Potenciostato PGSTAT 20 da Autolab (Eco Chemie).

2.5 – Comportamento eletroquímico do Benzofuranol (BF), obtido da hidrólise de Carbofuran

A hidrólise de Carbofuran (CF) foi realizada em solução de hidróxido de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. O comportamento eletroquímico do Benzofuranol (BF) produzido foi investigado utilizando-se a Voltametria Cíclica e a Voltametria de Varredura Linear, na faixa de trabalho de 0 a $1,0 \text{ V vs Ag/AgCl}$, nos seguintes eletrólitos suportes: hidróxido de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, tampão ácido acético/acetato de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) e tampão ácido cítrico/citrato de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0).

2.6 – Investigação da detecção voltamétrica de Benzofuranol, sob condições hidrodinâmicas

Este estudo foi conduzido utilizando-se um sistema FIA de linha única, conforme apresentado na Figura 3. Foi usado um tubo de polietileno de $0,5 \text{ mm}$ de diâmetro interno e de 100 cm de comprimento para o transporte da solução carregadora e das soluções amostra e padrão. Para a alça de amostragem foi usado um tubo de polietileno de $0,5 \text{ mm}$ de diâmetro interno e de comprimento suficiente para proporcionar um volume variável, de 100 a $500 \text{ }\mu\text{L}$.

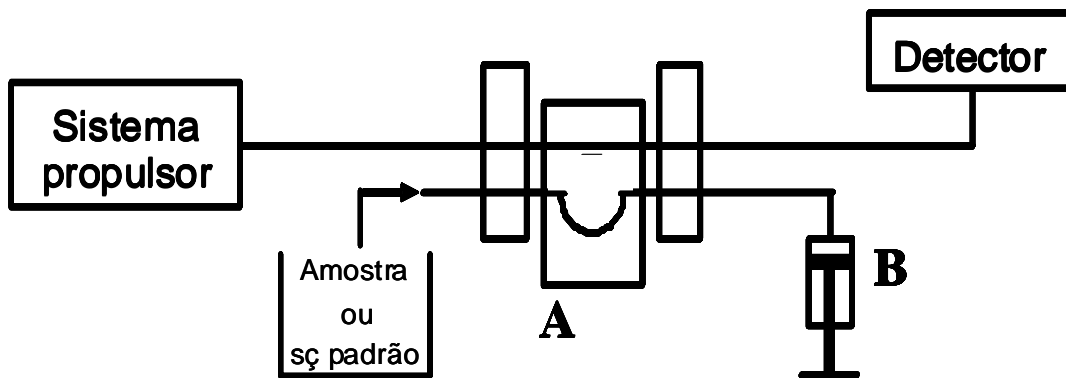


Figura 3: Esquema do sistema FIA utilizado: sistema propulsor (Figura 1). (A) Injetor comutador de acrílico [113]; (B) Seringa utilizada para preencher a alça de amostragem do sistema; e detector eletroquímico (Figura 2).

A hidrólise de CF foi realizada adicionando 100 μL de solução estoque desse pesticida (1000 ppm em acetonitrila) em 10 mL de solução de hidróxido de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, seguida da homogeneização com agitação, e por diluição foram obtidas soluções de CF hidrolisado em varias concentrações.

A solução de CF hidrolisada em hidróxido de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ foi injetada no sistema FIA para obter os respectivos voltamogramas da solução em fluxo, na faixa de 0,5 a 0,8 V vs Ag/AgCl. Foram obtidos voltamogramas de varredura linear e voltametria de pulso diferencial das soluções hidrolisadas de CF nas seguintes concentrações: 0,56; 1,13; 2,26; 4,52 e $8,22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Os estudos em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão citrato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ foram realizados utilizando-se soluções de BF preparadas nos respectivos eletrólitos. Estas soluções foram obtidas pela adição de quantidade controlada de, respectivamente, ácido acético e de ácido cítrico à solução hidrolisada de CF para se obter na solução final uma concentração de tampão de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e um pH ao redor de 5,0. Nas medidas eletroquímicas programou-se o Potenciostato/Galvanostato PGSTAT 20 da Autolab (Eco Chemie) para que, 10 s após injetar a amostra no percurso do carregador, esse iniciasse a varredura de potencial. Esse intervalo de tempo foi necessário para permitir que a varredura de potencial ocorresse durante a passagem da zona central da amostra injetada. Para garantir esta condição de medida do sinal voltamétrico empregou-se uma alça de amostragem de $500 \mu\text{L}$.

Os estudos da detecção amperométrica de BF em sistema FIA foram realizados utilizando-se procedimento semelhante ao descrito anteriormente, diferenciando-se apenas no modo de detecção, no volume da alça de amostragem e vazão da solução carregadora.

O comportamento eletroquímico das soluções de pesticidas Carbaril e Propoxur hidrolisadas com hidróxido de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ foi também investigado, sob condições hidrodinâmicas, após correção do meio para tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, usando o mesmo procedimento descrito para as soluções de Carbofuran. Voltamogramas de Varredura Linear (VVL) e voltamogramas cíclicos (VC) foram obtidos na faixa de 0,4 a 1,0 V vs Ag/AgCl, usando EPC como eletrodo de trabalho e velocidade de varredura igual a 100 mV s^{-1} .

2.7 – Detecção amperométrica de Benzofuranol em sistema FIA

2.7.1 – Efeito do eletrólito suporte, vazão e volume da alça de amostragem

Este estudo foi conduzido utilizando-se soluções padrão de CF hidrolisadas em solução de hidróxido de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções alcalinas foram injetadas no sistema FIA da Figura 3 para se investigar a estabilidade do sinal amperométrico de BF em NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções alcalinas foram corrigidas com ácido acético ou ácido cítrico, conforme descrito no item 2.6, para realizar os estudos do sinal amperométrico de BF em função do tipo de eletrólito suporte, vazão da solução carregadora e volume da alça de amostragem. Nos estudos do sinal amperométrico de BF, tendo o hidróxido de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ como solução carregadora aplicou-se um potencial constante de 0,4 V. Quando a solução carregadora foi tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ou tampão citrato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, o potencial aplicado foi de 0,75 V. O eletrodo de trabalho utilizado foi o de pasta de carbono (EPC).

Os estudos do efeito da vazão da solução carregadora e do volume da alça de amostragem sobre a magnitude do sinal amperométrico de BF foram conduzidos utilizando-se solução deste analito em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. A solução de BF foi obtida da hidrólise de CF $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, seguida da correção do pH com ácido acético como descrito anteriormente. Nos estudos da vazão, o volume da alça de amostragem foi mantido em $200 \mu\text{L}$ e a solução carregadora foi tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Um potencial

de 0,75 V foi aplicado ao sensor amperométrico. A vazão da solução carregadora foi variada de 0,5 mL min⁻¹ a 3,0 mL min⁻¹ através da modificação da altura da coluna de água.

Os estudos da dependência do sinal amperométrico com o volume de amostra injetada no sistema FIA foram conduzidos variando-se o volume da alça de amostragem de 50 a 500 µL. A solução carregadora foi a de tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, mantida sob vazão de 2,0 mL min⁻¹ e o potencial aplicado ao sensor amperométrico foi de 0,75 V.

2.7.2 – Estudos da estabilidade da resposta para Benzofuranol e da reprodutividade dos parâmetros analíticos da metodologia em sistema FIA

Estudos da estabilidade da resposta do eletrodo frente ao BF, em hidróxido de sódio 0,05 mol L⁻¹ e em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, foram realizados monitorando-se o sinal amperométrico após injeções sucessivas de 100µL de soluções de BF nas concentrações de 5,64 x 10⁻⁷ mol L⁻¹ e 8,22 x 10⁻⁶ mol L⁻¹. As soluções de BF foram preparadas a partir da hidrólise alcalina de CF. Para os estudos em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, corrigiu-se o pH das soluções de BF com ácido acético, conforme descrito no item 2.6. Um potencial constante de 0,4 V foi aplicado quando a solução carregadora era hidróxido de sódio 0,05 mol L⁻¹ e um potencial de 0,75 V quando a solução carregadora era tampão acetato 0,05 mol L⁻¹. Estudos da reprodutividade do sinal amperométrico em função da concentração de BF foram realizados nos dois eletrólitos, hidróxido de sódio 0,05 mol L⁻¹ e tampão acetato 0,05 mol L⁻¹. Esses estudos foram conduzidos com o mesmo EPC e com diferentes EPC, utilizando-se as condições descritas no item 2.7.1. A partir da magnitude das correntes de pico obtidas dos diagramas, construiu-se as respectivas curvas I_{pa} vs concentração de CF, e a partir dessas obteve-se as respectivas sensibilidades da resposta do eletrodo para a espécie de interesse.

Os parâmetros analíticos para a determinação amperométrica indireta de CF em sistema FIA foram obtidos utilizando-se tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ como eletrólito suporte, sob vazão de 2,0 mL min⁻¹, alça de amostragem de 200 µL e aplicando-se um potencial de 0,75 V. Neste estudo monitorou-se o sinal amperométrico em função da concentração CF na faixa de concentração de 1,4 x 10⁻⁷ a 7,1 x 10⁻⁷ mol L⁻¹. Através dos

fiagramas obteve-se a curva analítica e o limite de quantificação. O limite de detecção (LD) foi obtido multiplicando-se o valor do desvio padrão do branco por três, e dividindo esse valor pelo coeficiente angular da curva de calibração [114]. O limite de quantificação foi obtido multiplicando o LD por 3,33 [114].

2.8 – Estudos da recuperação de Carbofuran de amostras fortificadas

Os estudos de recuperação do sinal amperométrico de CF pela metodologia proposta foram conduzidos utilizando-se amostras de água de rio fortificadas com CF $1,8 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. As amostras foram coletadas no Rio Uberabinha, à margem da Avenida Rondon Pacheco nº 505 no Praia Clube S/C, no dia 26 de maio de 2007 na cidade de Uberlândia. As amostras foram coletadas e armazenadas em frascos de polietileno, filtradas em filtro Millipore 0,45 µm e mantidas à 5 °C até a realização da medida que foi um dia após a coleta. Esses frascos foram previamente limpos com ácido nítrico 10% e cuidadosamente enxaguados com água destilada. As medidas do sinal amperométrico da amostra antes e após a fortificação com CF foram realizadas nas condições experimentais descritas no item 2.7.2.

2.9 – Estudo de interferentes

O comportamento eletroquímico de três compostos fenólicos 4-clorofenol, 2,6-diclorofenol e 2,4,6-triclorofenol na concentração $2,4 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, foi investigado em tampão acetato, usando EPC como eletrodo de trabalho. Foram obtidos voltamogramas cíclicos, sob estado estacionário, na faixa de -0,3 a 1,3 V vs Ag/AgCl, e sob condições hidrodinâmicas, descritas no item 2.6, foram obtidos os respectivos voltamogramas lineares, na faixa de 0,2 a 1,3 V. A existência do processo de redução da quinona, formada no processo de oxidação dos compostos fenólicos 4-clorofenol, 2,6-diclorofenol e 2,4,6-triclorofenol, foi investigada usando a técnica Detecção Amperométrica Pulsada (DAP). Foram monitoradas as correntes amperométricas das soluções de 4-clorofenol 3×10^{-5} mol L⁻¹, 2,6-diclorofenol $2,4 \times 10^{-5}$ e 2,4,6-triclorofenol 2×10^{-5} mol L⁻¹ em dois pulsos de potencial, +0,75 V e -0,2 V, aplicados seqüencialmente durante 100 ms cada um.

Estudos da interferência de fenólicos na metodologia de determinação de Carbofuran foram conduzidos utilizando-se a detecção amperométrica a potencial constante (em +0,75 V) e solução de Carbofuran $4,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ + 2,6-diclorofenol $4,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. A recuperação do sinal amperométrico devido ao Benzofuranol (BF), derivado fenólico formado na hidrólise alcalina de CF, foi investigada por medida diferencial do sinal analítico da solução, antes e após a hidrólise alcalina em NaOH 0,05 mol L⁻¹. As medidas do sinal amperométrico foram conduzidas após ajustar o pH da solução para tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ (pH 4,7). Essa mesma metodologia foi aplicada na recuperação de Carbofuran de uma amostra de água de rio fortificada com CF $2,07 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ + 2,6-diclorofenol $1,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Utilizando-se as condições experimentais citadas no item 2.7.2, soluções padrão de CF, de $1,9$ a $9,8 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, previamente hidrolisadas em NaOH 0,05 mol L⁻¹ foram injetadas no sistema FIA para a obtenção da curva analítica.

CAPÍTULO 3
RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 – Comportamento eletroquímico do Benzofuranol, obtido da hidrólise alcalina de Carbofuran

Este estudo foi conduzido realizando-se a hidrólise prévia do pesticida em hidróxido de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, à temperatura ambiente. Investigações da hidrólise alcalina de CF para produzir o respectivo derivado fenólico foram realizadas por voltametria de varredura linear em função do tempo. Os voltamogramas obtidos da solução alcalina de CF mostraram que a magnitude da corrente de pico anódica se mantinha estável durante o período de tempo investigado (1 a 40 min), indicando que a taxa de hidrólise máxima ocorre em menos de 1 min. Estudos do comportamento eletroquímico do BF sobre eletrodos de pasta de carbono (EPC) e carbono vítreo (ECV) foram conduzidos por voltametria de varredura linear e voltametria cíclica (VC) em função da natureza do eletrólito suporte: NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e em tampão acetato (pH 4,7) e citrato (pH 4,0). Os estudos de BF em tampão acetato e citrato foram feitos pela neutralização completa do OH^- presente na solução obtida da hidrólise de CF, ácido acético e ácido cítrico, respectivamente, foram adicionados em volumes suficientes para obter o pH desejado. Os voltamogramas de soluções de CF hidrolisado em função do tipo de eletrólito suporte estão apresentados nas Figuras 4 e 5.

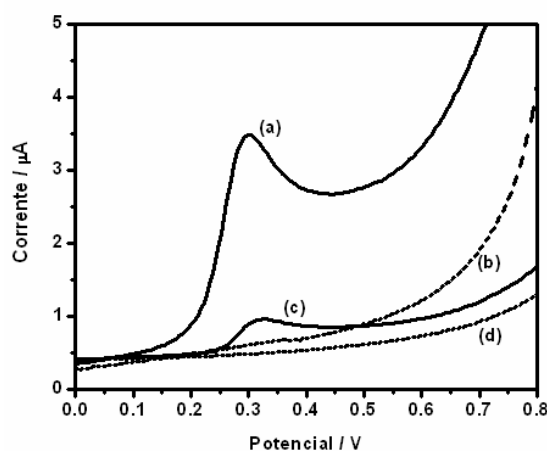


Figura 4: Voltamograma de varredura linear das soluções (a) BF* em NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (b) NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ambos sobre EPC; e (c) BF* em NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (d) NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ambos sobre ECV. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . *Solução de BF foi obtida da hidrólise de CF $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

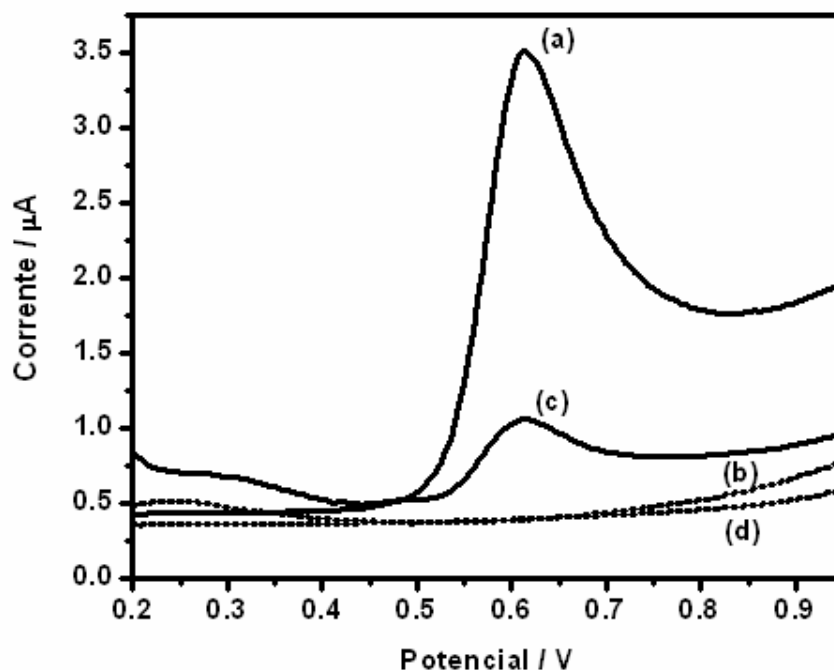
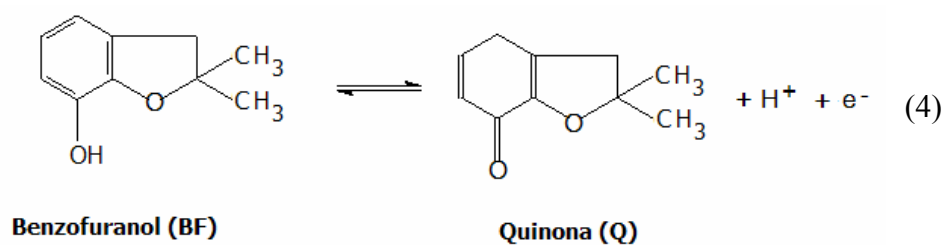


Figura 5: Voltamograma das soluções (a) BF* em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ e (b) tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, ambos sobre EPC; (c) BF* em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ e (d) tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, ambos sobre ECV. Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹. *Solução de BF foi obtida da hidrólise de CF 9,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹.

Observa-se pelos voltamogramas da Figura 4 que a oxidação eletroquímica do BF em NaOH 0,05 mol L⁻¹, como eletrólito suporte, inicia-se num potencial próximo de + 0,15 V, atingindo um potencial de pico anódico (E_{pa}) ao redor de + 0,3 V vs Ag/AgCl. Em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, um deslocamento positivo do processo de oxidação é observado (Figura 5), que inicia ao redor de + 0,5 V, atingindo E_{pa} ao redor de + 0,6V vs Ag/AgCl. Esse deslocamento está em concordância com dados da literatura [57]. BF é eletroquimicamente oxidado de acordo com a seguinte equação [16]:



De acordo com a equação (4), o potencial do processo eletroquímico depende da concentração de íons H^+ presente na solução. A equação de Nernst para a oxidação do grupo fenol pode ser escrita como:

$$E = E^{\circ} - 0,059 \log \frac{[BF]}{[Q][H^+]} \quad (5)$$

que pode ser rearranjada para:

$$E = E^{\circ} - 0,059 \log \frac{[BF]}{[Q]} - 0,059 \text{ pH} \quad (6)$$

sendo que E° é o potencial formal do par BF/Q.

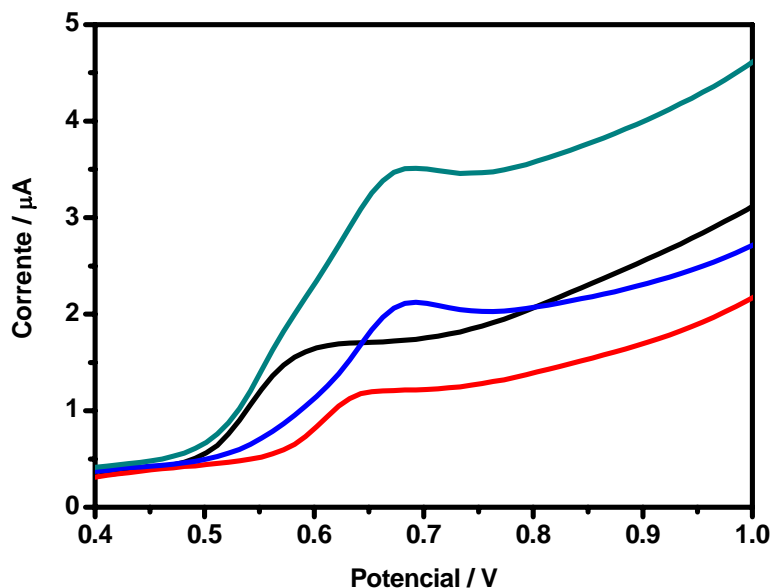
A equação da reação (4) e a equação de Nernst (6) indicam que a oxidação de benzofuranol à quinona é desfavorecida pela presença de íons H^+ . Tal fato pode ser evidenciado pelo deslocamento positivo do potencial de pico anódico (E_{pa}) com a diminuição do pH, observado pelos voltamogramas das Figuras 4 e 5. Os voltamogramas das Figuras 4 e 5 demonstram ainda que o EPC proporciona uma sensibilidade maior na detecção de BF, tanto em meio alcalino, NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, quanto em meio ácido, tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, quando comparado com os respectivos voltamogramas obtidos com ECV. Isso se deve a maior área ativa do EPC. A corrente de pico anódico (I_{pa}) usando EPC é aproximadamente 3,5 vezes superior a (I_{pa}) obtida com emprego de ECV. Dessa forma o EPC foi escolhido para a realização dos estudos posteriores. Com a finalidade de verificar se o tipo de eletrólito afetava E_{pa} e I_{pa} foram obtidos voltamogramas de BF também em tampão citrato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Observou-se que os voltamogramas das soluções de BF em tampão acetato e em tampão citrato apresentavam E_{pa} e I_{pa} bastante próximos. O comportamento eletroquímico do BF em hidróxido de sódio e em tampão acetato foi também estudado pela técnica de voltametria cíclica, na faixa de $-0,2$ a 1 V , com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Nenhum processo de redução foi observado, confirmando os resultados descritos na literatura [16].

A principal desvantagem observada na detecção voltamétrica de BF foi a diminuição do pico de oxidação do BF e o aparecimento de novos picos de oxidação, à medida que o

mesmo eletrodo era usado na obtenção de novos voltamogramas da solução de BF. A diminuição da corrente de oxidação e o aparecimento de novos picos com o número de varreduras devem-se à contaminação ou à adsorção de produtos da oxidação de BF, incluindo os polifenólicos, sobre a superfície do eletrodo [16,32,57]. Como consequência, uma perda da reprodutividade da resposta e da sensibilidade do eletrodo foi encontrada, principalmente quando as medidas eram realizadas com a solução tamponada de BF, confirmando a limitação da detecção eletroquímica já observada em outros trabalhos descritos na literatura [12,34,61].

3.2 – Investigação da Detecção Voltamétrica de Benzofuranol, sob Condições Hidrodinâmicas

Com objetivo de contornar o problema da contaminação da superfície do eletrodo, investigou-se a determinação voltamétrica dos produtos da hidrólise alcalina de aril N-metilcarbamatos em sistema de análise por injeção em fluxo (FIA). Para tanto, foram obtidos voltamogramas de varredura linear das soluções de Carbaril, Carbofuran e Propoxur, previamente hidrolisadas em NaOH 0,05 mol L⁻¹ e então corrigidas para tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, com a finalidade de se comparar as respostas eletroquímicas, sob condições hidrodinâmicas, dos derivados fenólicos formados. Estes voltamogramas foram obtidos injetando-se 500 µL de cada solução de carbamato no sistema de análise por injeção em fluxo (FIA), descrito no Procedimento Experimental, item 2.6. Os voltamogramas das soluções alcalinas de Carbofuran, Carbaril, Propoxur e de uma solução alcalina contendo a mistura os três pesticidas estão apresentados na Figura 6.



Fiura 6: Voltamogramas de varredura linear de 500 μL de soluções tamponadas, previamente hidrolisadas em NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, de: (—) Carbofuran $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (—) Carbaril $2,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (—) Propoxur $2,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (—) Mistura de Carbofuran $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ + Carbaril $2,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ + Propoxur $2,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sob condições hidrodinâmicas. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Eletrodo de trabalho: EPC.

Os voltamogramas da Figura 6 mostram que esses três pesticidas sofrem hidrólise alcalina e produzem derivados fenólicos, que podem sofrer oxidação sobre o eletrodo de carbono. A oxidação do derivado fenólico produzido pelo Carbaril inicia em potencial mais baixo, próximo de $+0,5 \text{ V}$. Esses resultados mostram também a similaridade que existe entre seus comportamentos eletroquímicos, o que possibilita o desenvolvimento de um método eletroquímico para a determinação de pesticidas totais dessa classe (aril N-metilcarbamatos).

3.2.1 – Detecção de Benzofuranol usando Voltametria de Varredura Linear (VVL) em sistema FIA

A performance analítica do EPC na determinação, sob condições hidrodinâmicas, dos derivados fenólicos formados da hidrólise de aril N-metilcarbamatos foi investigada utilizando-se o Carbofuran como pesticida modelo. Os voltamogramas obtidos da injeção

sucessiva de 500 μL indicaram que era possível minimizar e até evitar o problema da contaminação da superfície do eletrodo. Os voltamogramas obtidos de injeções sucessivas de solução de BF, sob condições de fluxo, estão apresentados na Figura 7.

A respectiva Curva Analítica obtida para CF (Figura 8) apresentou linearidade com bom coeficiente de correlação (0,999). No entanto, a injeção de soluções de BF em concentrações inferiores a $5,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (123 ppb) (limite de carbamatos totais definido pela legislação era 10 ppb [21] revogada por [20]) apresentaram sinais de corrente similar ao da solução carregadora, demonstrando que a técnica voltamétrica não apresenta sensibilidade suficiente para realizar a determinação de carbamatos nos níveis de concentração definidos pela legislação brasileira.

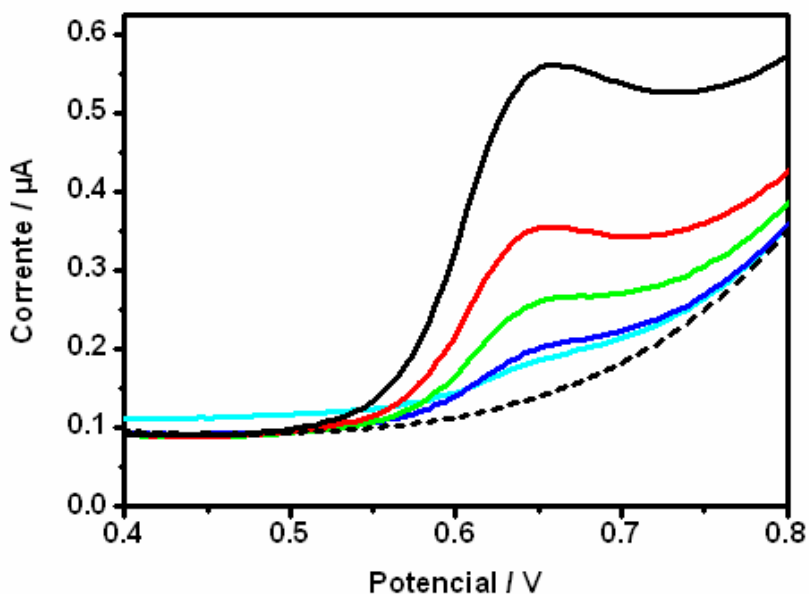


Figura 7: Voltamogramas de 500 μL de soluções de (---) tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e de BF* obtido da hidrólise de CF nas seguintes concentrações: (—) $0,56$; (—) $1,13$; (—) $2,26$; (—) $4,52$ e (—) $9,04 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sob condições hidrodinâmicas. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. *Solução de BF em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

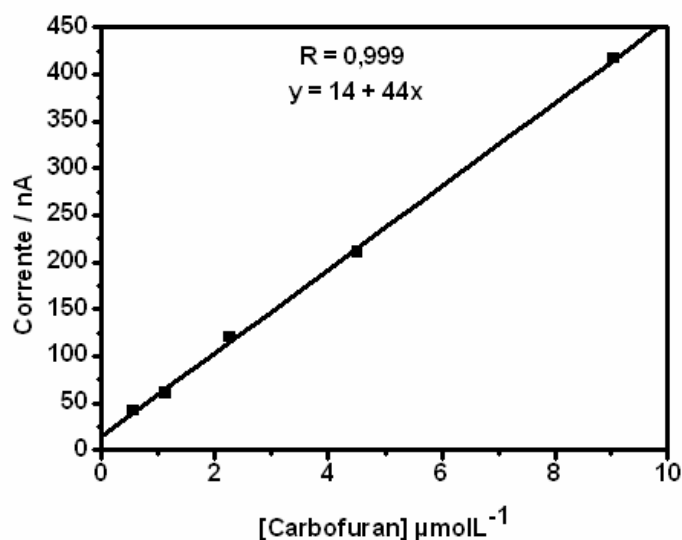


Figura 8: Curva Analítica obtida dos voltamogramas apresentados na Figura 7

3.2.2 – Detecção de Benzofuranol usando a Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) em sistema FIA

Todas as técnicas voltamétricas envolvem a aplicação de uma perturbação de potencial, após a qual a corrente resultante é avaliada. Assim os parâmetros fundamentais são potencial, corrente e tempo. As várias técnicas existentes distinguem-se, basicamente, no modo como a variação de potencial é aplicada, sendo isto determinante para a sensibilidade da análise [115].

Os pobres limites de detecção alcançados pela Voltametria de Varredura Linear contribuíram para o declínio do uso desta técnica nas últimas décadas, abrindo caminho para o avanço das técnicas voltamétricas de pulso, como a Voltametria de Pulso Diferencial VPD [116]. Na VPD, são aplicados pulsos de potencial de igual amplitude e a corrente é medida no final da aplicação do pulso de E, quando a diferença entre as correntes faradaica e capacitiva é grande, minimizando a contribuição da corrente capacitiva no sinal obtido [117], aumentando a sensibilidade do método. A corrente capacitiva não depende da concentração da espécie em estudo.

Tendo em vista essas vantagens, investigou-se também neste trabalho a determinação de carbamatos, utilizando a técnica Voltamétrica de Pulso Diferencial (VPD), em sistema de análise por injeção em fluxo. A Figura 9 apresenta os voltamogramas obtidos com VPD para BF no sistema FIA esquematizado na Figura 3.

Apesar de a VPD fornecer picos de corrente mais definidos, e também uma curva analítica com coeficiente angular maior, quando comparado com a VVL, os resultados apresentados nas Figuras 9 e 10, indicam que a técnica VPD não forneceu um ganho considerável de sensibilidade na determinação de BF. Para a injeção de $500 \mu\text{L}$ de solução de BF, obtida da hidrólise alcalina de CF $5,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, a técnica VPD produziu uma corrente de pico anódico (I_{pa}) praticamente igual a (I_{pa}) obtida por Voltametria de Varredura Linear.

Dessa forma, essa técnica, associada ao sistema FIA proposto, também se mostrou insuficiente para determinar carbamatos em águas nos níveis de concentração definidos pela legislação brasileira. Assim sendo, novos estudos foram realizados a fim de melhorar o desempenho da detecção eletroquímica, os quais estão apresentados nos itens seguintes.

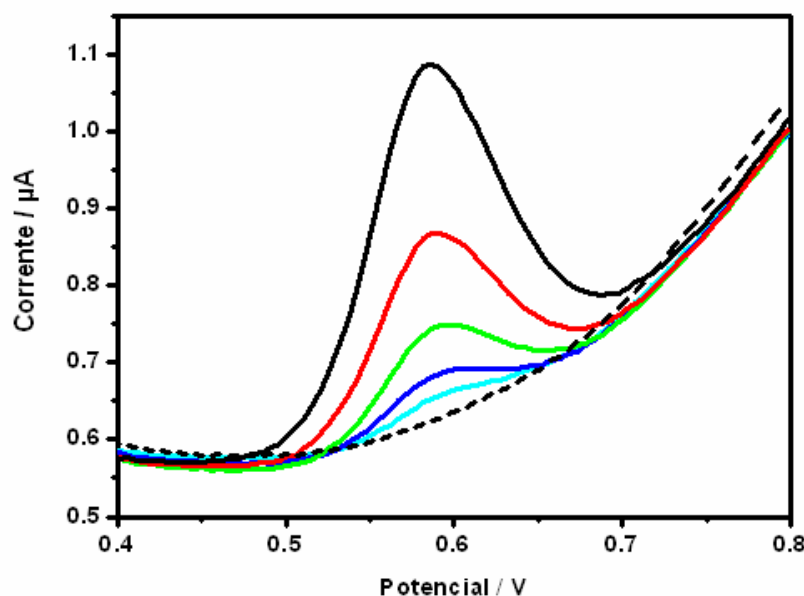


Figura 9: VPD de $500 \mu\text{L}$ de soluções de (---) tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e de BF* obtida da hidrólise de CF nas seguintes concentrações: (—) $0,56$; (—) $1,13$; (—) $2,26$; (—) $4,52$ e (—) $8,22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, sob condições hidrodinâmicas. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. *Solução de BF em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Amplitude de pulso = 50 mV ; $\Delta E = 5 \text{ mV}$, Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

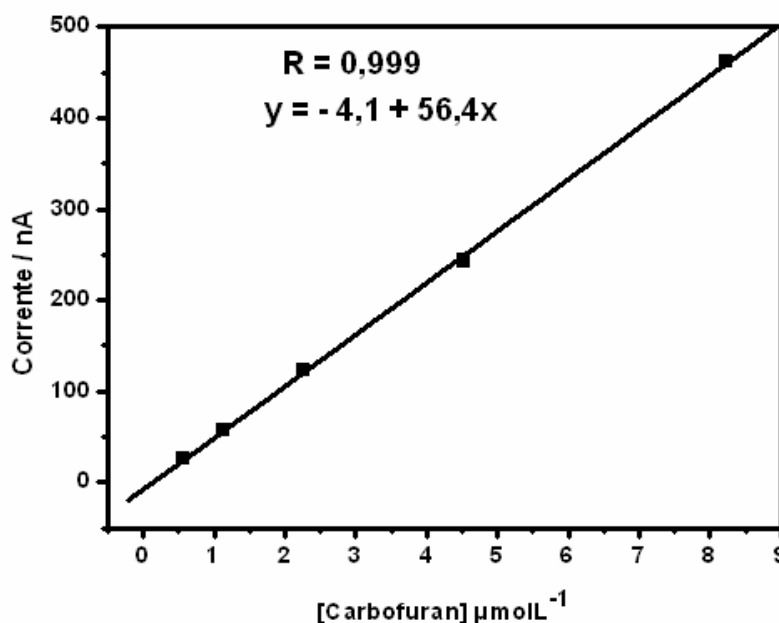


Figura 10: Curva Analítica obtida dos voltamogramas VPD da Figura 9.

3.3 – Detecção Amperométrica de Benzofuranol em sistema FIA

Na amperometria o sinal analítico monitorado também é a corrente de processos de oxidação ou de redução. No entanto, ao contrário da voltametria, em que se realiza uma varredura de potencial, na amperometria o potencial é mantido num valor constante.

Amperometria em conjunto com sistema FIA é uma técnica bastante explorada na determinação de diversas substâncias, e tendo em vista sua simplicidade e os bons resultados obtidos em estudos prévios [59,63,95], foi proposto utilizá-la também neste trabalho como um método de determinação de carbamatos totais. Como eletrodo de trabalho foi usado EPC, e baseado em resultados prévios de estudo voltamétrico [57] assim como naqueles apresentados nas Figuras 4 e 5, os potenciais de trabalho foram fixados em 0,75 V para as medidas em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ e tampão citrato 0,05 mol L⁻¹, e 0,4 V para aquelas em que o eletrólito suporte foi NaOH 0,05 mol L⁻¹. Esses potenciais são suficientes para provocar a oxidação do Benzofuranol (equação 4), gerando um sinal transiente de corrente. As demais condições experimentais da detecção amperométrica de BF foram investigadas e são apresentadas nos itens seguintes.

3.3.1 – Influência do Eletrólito Suporte no Sinal Amperométrico

Neste estudo, investigou-se o sinal amperométrico de Benzofuranol em três eletrólitos suportes como solução carregadora: NaOH 0,05 mol L⁻¹, tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ e tampão citrato 0,05 mol L⁻¹. Os resultados obtidos em NaOH 0,05 mol L⁻¹ e em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ estão apresentados nas Figuras 11 e 12, uma vez que os resultados obtidos em tampão citrato 0,05 mol L⁻¹ foram semelhantes aos obtidos com tampão acetato 0,05 mol L⁻¹.

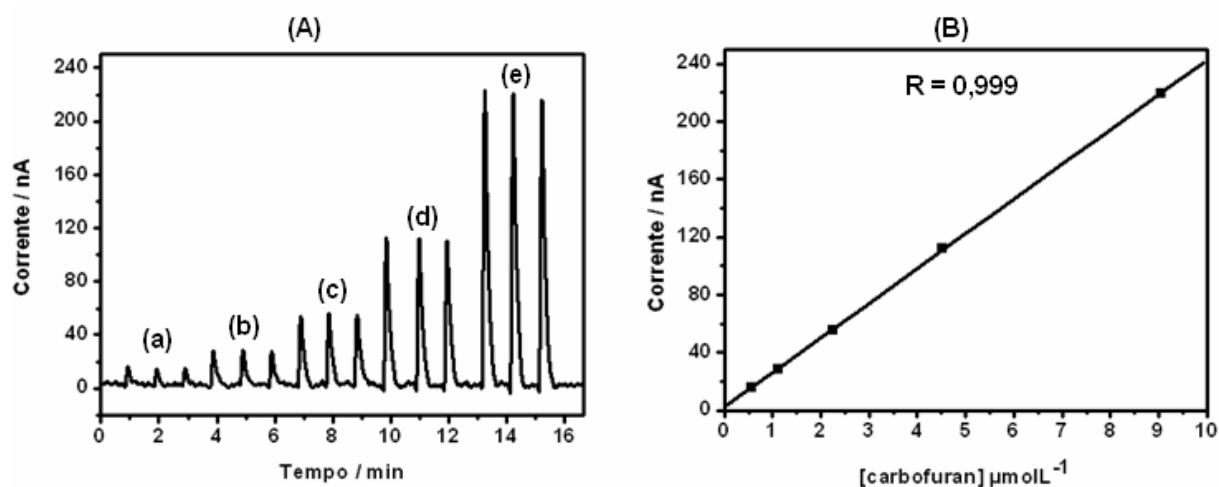


Figura 11: (A) Diagrama obtido de injeções sucessivas de 100µL de soluções de BF* obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (a) 0,56 ; (b) 1,13 ; (c) 2,26 ; (d) 4,52 e (e) 9,04 x 10⁻⁶ mol L⁻¹. E_{ap} = 0,4 V. Solução carregadora: NaOH 0,05 mol L⁻¹, sob vazão de 1,0 mL min⁻¹. *Solução de BF em NaOH 0,05 mol L⁻¹. (B) Curva analítica obtida do diagrama apresentado em (A).

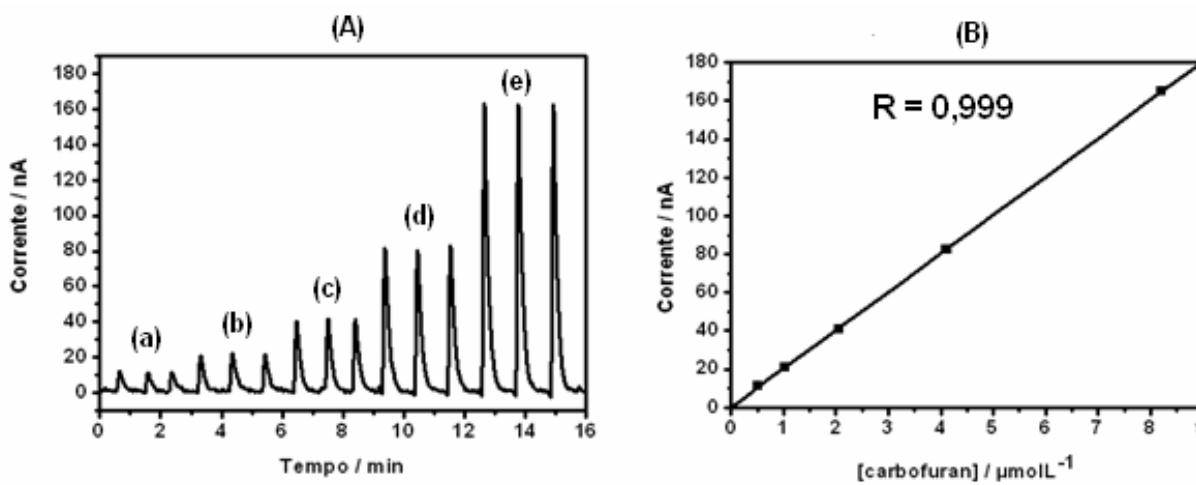


Figura 12: (A) Fiograma obtido de injeções sucessivas de 100µL de soluções de BF* obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (a) 0,51 ; (b) 1,03 ; (c) 2,05 ; (d) 4,11 e (e) 8,22 x 10⁻⁶ mol L⁻¹. E_{ap}= 0,75 V. Solução carregadora: tampão acetato 0,05 mol L⁻¹. *Solução de BF em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹. (B) Curva analítica obtida do fiograma apresentado em (A).

Analisando-se os sinais amperométricos das Figuras 11 e 12, verifica-se que com ambos os eletrólitos obtêm-se curvas analíticas para BF com bom coeficiente de correlação ($R = 0,999$). No entanto, o uso de tampão acetato como solução carregadora forneceu uma linha de base mais estável e com menor ruído, características que contribuem para se obter um menor limite de detecção.

3.3.2 – Estudo da repetitividade do sinal analítico e reprodutividade da curva analítica

Em metodologias eletroanalíticas é desejável que, ao longo de uma análise, o eletrodo de trabalho apresente uma resposta estável e reprodutível em função da concentração do analito de interesse. Com a finalidade de verificar se o EPC pode ser utilizado como sensor amperométrico na determinação de carbamatos em sistema FIA, investigou-se a resposta deste eletrodo numa seqüência de injeções de solução de BF em dois níveis de concentração.

Na Figura 13 estão apresentados os sinais amperométricos resultantes de injeções sucessivas de 100 µL de soluções de CF em duas concentrações distintas: 5,64 x 10⁻⁷ mol L⁻¹

e $8,22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, após hidrólise em NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Essas concentrações foram escolhidas porque são iguais, respectivamente, à menor e maior concentração de Carbofuran da Curva Analítica mostrada na Figura 10.

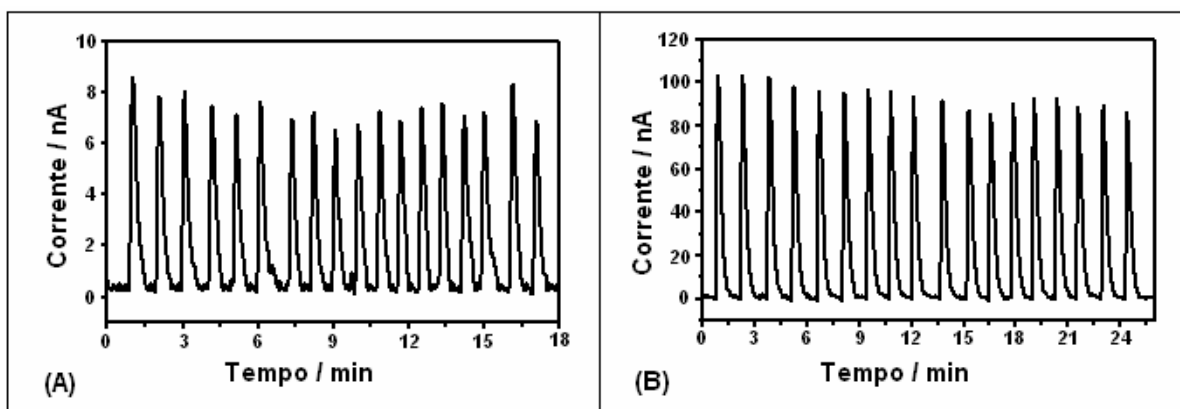


Figura 13: Injeções repetitivas de $100\mu\text{L}$ de soluções de BF obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: **(A)** $5,64 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e **(B)** $8,22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $E_{ap} = 0,4 \text{ V}$. Solução carregadora: NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Os resultados da Figura 13 indicaram que a estabilidade do sinal é afetada pelo uso de NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte, havendo uma considerável dispersão na altura dos picos. Observou-se ainda uma menor dispersão quando soluções hidrolisadas de CF em maior concentração eram injetadas. Com o conjunto de sinais amperométricos ($n = 18$) obtidos da injeção de soluções hidrolisadas de CF $5,64 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ obteve-se um desvio padrão relativo (DPR) de 7,48%, e com o conjunto de sinais amperométricos ($n = 18$) obtidos da injeção de soluções hidrolisadas de CF $8,22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ obteve-se um desvio padrão relativo (DPR) de 6%.

Investigou-se também a estabilidade do sinal analítico para BF em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, tendo-se em vista que esse eletrólito é frequentemente utilizado em trabalhos descritos na literatura [16,57,95]. Os sinais amperométricos obtidos das injeções repetitivas de soluções de BF em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, obtidas da hidrólise alcalina de CF nas concentrações de $5,64 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $8,22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ estão apresentados na Figura 14.

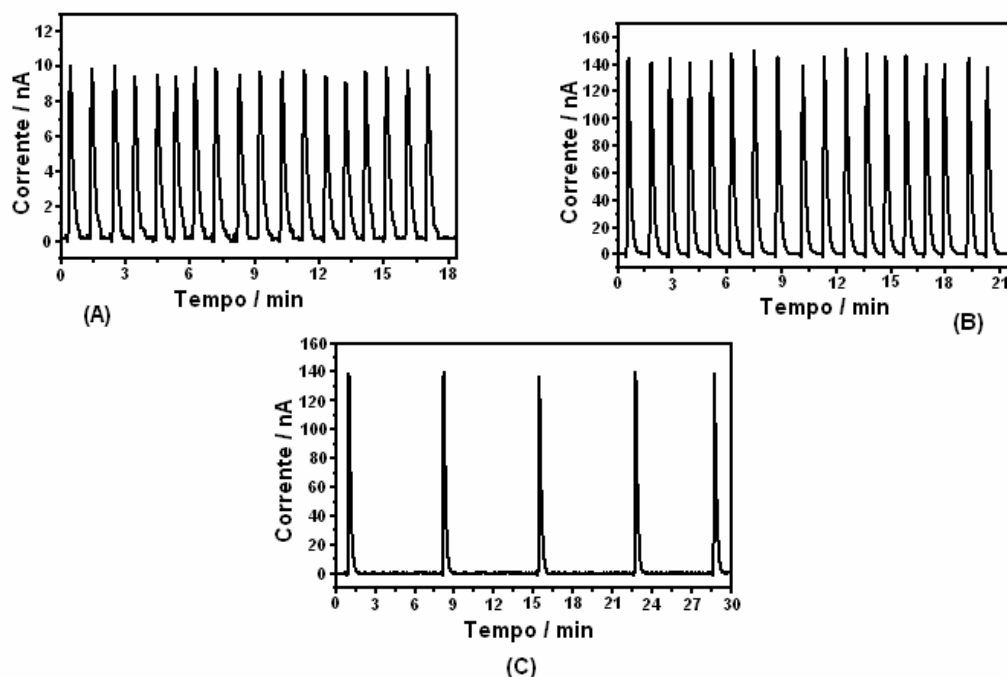


Figura 14: Injeções repetitivas de 100 μ L de soluções de BF obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (A) $5,64 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (B) e (C) $8,22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $E_{ap} = 0,75 \text{ V}$. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Os sinais amperométricos apresentados na Figura 14 mostram que tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ é o eletrólito mais adequado para efetuar a detecção amperométrica de BF em sistema FIA, pois combina maiores estabilidades do sinal da linha de base e da resposta do eletrodo. A pequena dispersão da corrente de pico, comprovada pelos menores DPR obtidos nos três conjuntos de medidas, associada à grande estabilidade da linha de base, explicam o melhor desempenho desse eletrólito. Com o conjunto de sinais amperométricos ($n = 18$) obtidos da injeção de soluções hidrolisadas de CF $5,64 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e de $8,22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ obteve-se desvio padrão relativo (DPR) de 2,6%. Observou-se ainda que a estabilidade do sinal analítico era muito maior quando as injeções eram realizadas em intervalos de tempo maiores. A Figura 14 (C) apresenta os resultados obtidos, sendo o desvio padrão relativo igual a 0,94% ($n = 5$).

Os diagramas da Figura 14 sugerem que o tempo de contato da solução carregadora com a superfície do eletrodo de trabalho afeta a estabilidade da resposta do eletrodo. A

passagem contínua do eletrólito contribui para a recuperação da superfície do eletrodo e, conseqüentemente, para a repetitividade do sinal analítico.

Investigou-se a reprodutibilidade da resposta do EPC em função da concentração de BF, em meio alcalino e em meio tampão acetato, para três conjuntos de medidas, usando o mesmo EPC e diferentes EPC. As respectivas curvas analíticas obtidas neste estudo estão apresentadas nas Figuras 15 e 16.

Comparando-se as curvas das Figuras 15.A e 16.A, com o mesmo EPC, observa-se que o melhor desempenho é obtido em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, pois, se obtém praticamente a mesma sensibilidade de resposta, nas três medidas. Em $\text{NaOH } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$, por outro lado, as curvas analíticas apresentaram uma considerável variação em suas inclinações. Estes resultados indicam que em tampão acetato tem-se maior estabilidade e reprodutibilidade da resposta do eletrodo para BF. A comparação das respostas de EPC diferentes, nos dois eletrólitos sob estudo, Figuras 15.B e 16.B, indica que as maiores diferenças na sensibilidade da resposta do eletrodo para BF podem ser explicadas pela dificuldade em se produzir EPC's idênticos, de modo artesanal, com iguais superfícies e áreas ativas.

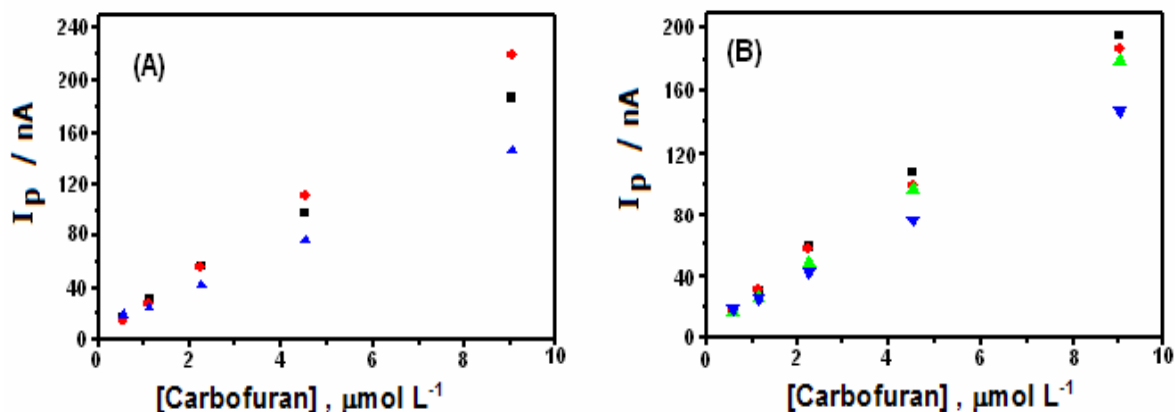


Figura 15: Curvas analíticas obtidas com (A) mesmo EPC na seguinte ordem \bullet 1^a \blacksquare 2^a e \blacktriangle 3^a e (B) EPC diferentes. Solução carregadora: $\text{NaOH } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$. As demais condições experimentais são iguais às da Figura 13.

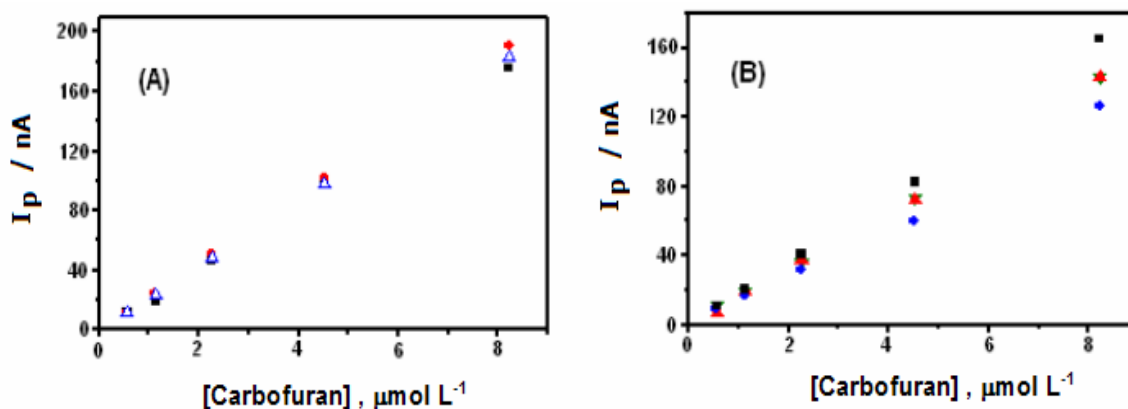


Figura 16: Curvas analíticas obtidas com (A) mesmo EPC na seguinte ordem: ● 1^a; ■ 2^a e △ 3^a e (B) EPC diferentes. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $1,0 \text{ ml min}^{-1}$. As demais condições experimentais são iguais às da Figura 14.

3.3.3 – Investigação do sinal amperométrico de Benzofuranol em função da vazão do carregador e do volume da alça de amostragem

O efeito da vazão da solução carregadora foi investigado utilizando-se solução carregadora de tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. O potencial de trabalho foi fixado em $0,75 \text{ V}$ e a alça de amostragem usada inicialmente foi de $200 \mu\text{L}$. Os sinais amperométricos obtidos da injeção sucessiva de solução tamponada de BF, obtidas da hidrólise alcalina de CF, em função da vazão da solução carregadora estão apresentados na Figura 17.

Os resultados apresentados na Figura 17 indicam que quanto maior for a vazão da solução carregadora, maior será o sinal devido à oxidação de BF. O aumento da intensidade do sinal de oxidação deve-se ao maior número de moléculas de BF que alcança a superfície do eletrodo por unidade de tempo à medida que aumenta-se a vazão da solução carregadora. Quanto maior a vazão, maior será a fração do transporte de massa por convecção, o que contribui para a diminuição da espessura da camada de difusão. Assim, ficando o gradiente de concentração limitado a uma região muito próxima da superfície do

eletrodo, um maior número de moléculas pode alcançar a superfície do eletrodo por unidade de tempo.

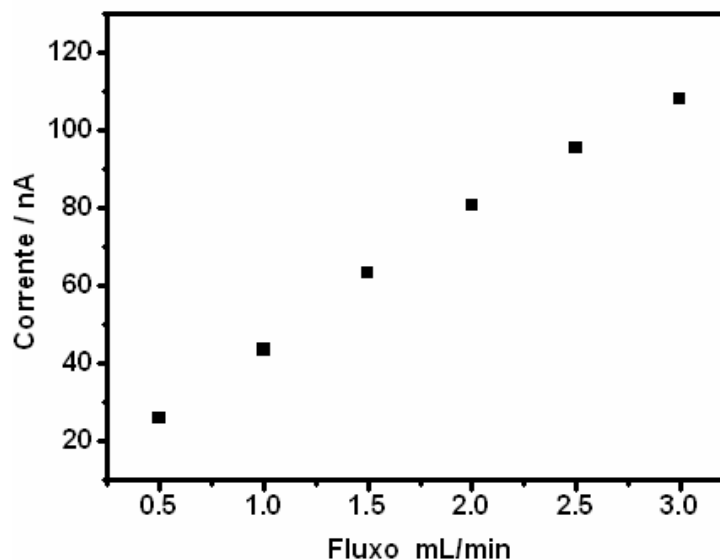


Figura 17: Altura dos sinais amperométricos em função da vazão da solução carregadora (tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$). Alça de amostragem de $200 \mu\text{L}$.

Apesar de haver, em toda a faixa de vazão investigada ($0,5$ a $3,0 \text{ mL min}^{-1}$), um aumento do sinal analítico quando se aumenta a vazão da solução carregadora, selecionou-se a vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ para ser utilizada neste método, condição que possibilita um sinal analítico alto com menor consumo de eletrólito, e que produz menor volume de solução residual quando comparado com o uso da vazão de $3,0 \text{ mL min}^{-1}$. Estudos da dependência dos sinais amperométricos com o volume da alíquota da amostra (alça de amostragem) foram também realizados, utilizando-se solução carregadora de tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 18 contém os sinais analíticos obtidos da injeção de solução de BF obtido da hidrólise de CF $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em função do volume da alça de amostragem.

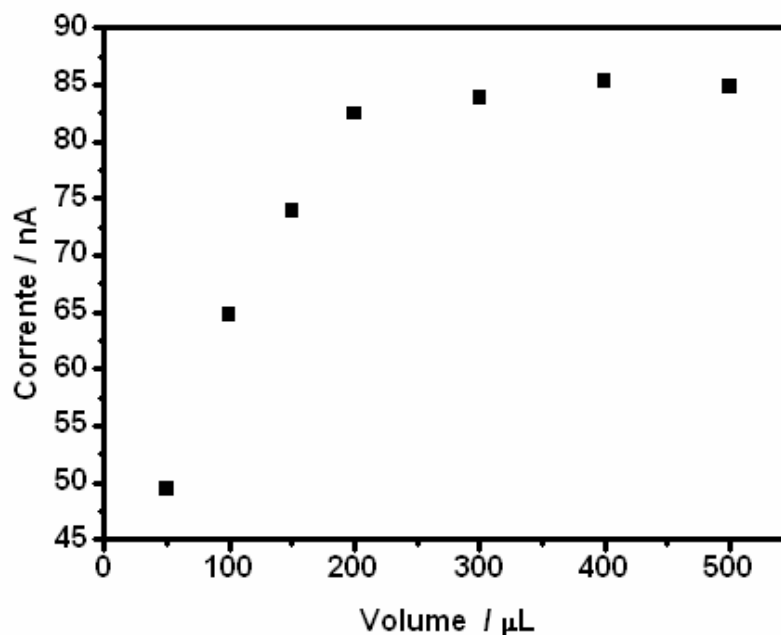


Figura 18: Altura dos sinais amperométricos em função do volume da alíquota de solução de BF* injetada no sistema FIA. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ mantida sob vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. * A solução de BF foi obtida da hidrólise de CF $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Observa-se que os sinais amperométricos da Figura 18 aumentam com o aumento do volume da alíquota até $200 \mu\text{L}$. Após esse volume, os sinais amperométricos mantêm-se constantes. Esse comportamento pode ser explicado pelo menor efeito de dispersão das moléculas do analito durante o percurso da zona da amostra até o detector eletroquímico. A dispersão é uma característica intrínseca das análises em sistemas por injeção em fluxo [118], causada pelo surgimento de um gradiente de concentração da espécie química de interesse nas duas extremidades da zona da amostra, que se estende à medida que aumenta o percurso entre o ponto de injeção e o detector. Para uma maior compreensão deste fenômeno encontram-se disponíveis na literatura uma diversidade de textos sobre o assunto, que discute os aspectos teóricos da dinâmica de fluídos [118]. A dispersão do analito nas extremidades da zona da amostra, em direção às zonas do eletrólito carregador, causará maior efeito de diluição quanto menor for o volume da alíquota injetada. Assim, quanto menor o volume da alíquota injetada, menor será a magnitude do sinal amperométrico,

devido à rápida difusão das moléculas de BF da zona da amostra para as zonas do eletrólito carregador. A partir de 200 μL os gradientes de concentração que ocorrem nas extremidades da zona da amostra não alcançam a região central desta, produzindo, portanto, o mesmo sinal analítico. A Figura 19 ilustra o efeito de dispersão nas extremidades da zona de amostra num sistema de análise por injeção em fluxo.

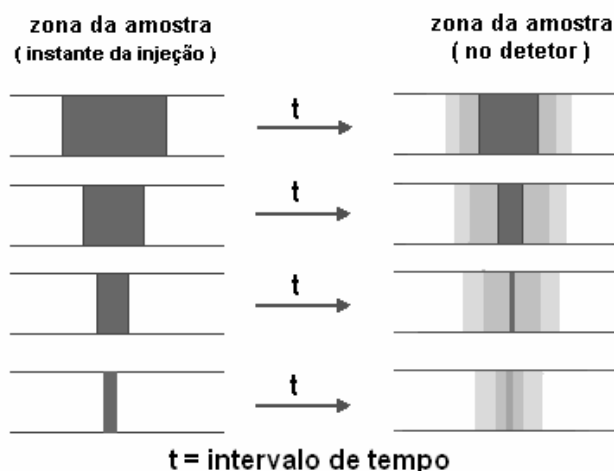


Figura 19: Zona da amostra no instante da injeção e no momento que atinge o detector.

Na Figura 19, a região mais escura representa a região da zona da amostra que não sofreu efeito de dispersão, que se mantém inalterada (nesta zona o analito se encontra na concentração da solução original). As regiões mais claras representam a região da zona da amostra que sofreu efeito de dispersão, que está diluída (nesta zona o analito se encontra em concentração inferior à da solução original). Quanto mais clara mais diluída está a amostra.

Assim sendo, as melhores condições encontradas para a realização da análise em sistema FIA foram: alça de amostragem de 200 μL e vazão da solução de eletrólito suporte de 2,0 mL min^{-1} .

3.4 – Determinação indireta de Carbofuran em sistema FIA

As condições experimentais otimizadas no item 3.3 foram usadas para investigar a faixa de concentração e o limite de detecção para CF. Uma relação linear entre sinal amperométrico e a concentração de Carbofuran foi obtida na faixa de $1,4$ a $7,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) encontrados por essa metodologia foram, respectivamente, $7,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. O LD e o LQ foram definidos como a concentração de analito que produz um sinal amperométrico igual a três vezes e dez vezes o desvio padrão do branco, respectivamente, dividido pela sensibilidade do método.

A metodologia foi aplicada na análise de uma amostra de água de rio (rio Uberabinha) fortificada com CF $1,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. A injeção da amostra de rio não fortificada forneceu um sinal muito próximo do sinal da solução carregadora. O respectivo fiograma obtido das injeções das soluções padrão de CF e da solução amostra fortificada com CF, após hidrólise alcalina e correção do pH com ácido acético, está apresentado na Figura 20. A partir dos sinais amperométricos das soluções padrão obteve-se a curva analítica apresentada na Figura 21, que obedece a seguinte equação: $I_p \text{ (nA)} = -0,098 + 19,95 [\text{CF}] \text{ (}\mu\text{mol L}^{-1}\text{)}$, com $R = 0,999$. A partir dessa curva calculou-se a percentagem de recuperação de CF da amostra fortificada. Uma recuperação de 98% foi encontrada, com um desvio padrão de 1,5%.

Os resultados obtidos nesse trabalho indicam que a metodologia investigada apresenta elevada sensibilidade, e pode ser usada na determinação de carbamatos totais em águas destinadas ao abastecimento público, com uma frequência analítica de 12 amostras h^{-1} , sem a necessidade de etapa prévia de pré-concentração exigida pelos métodos cromatográficos com detecção UV.

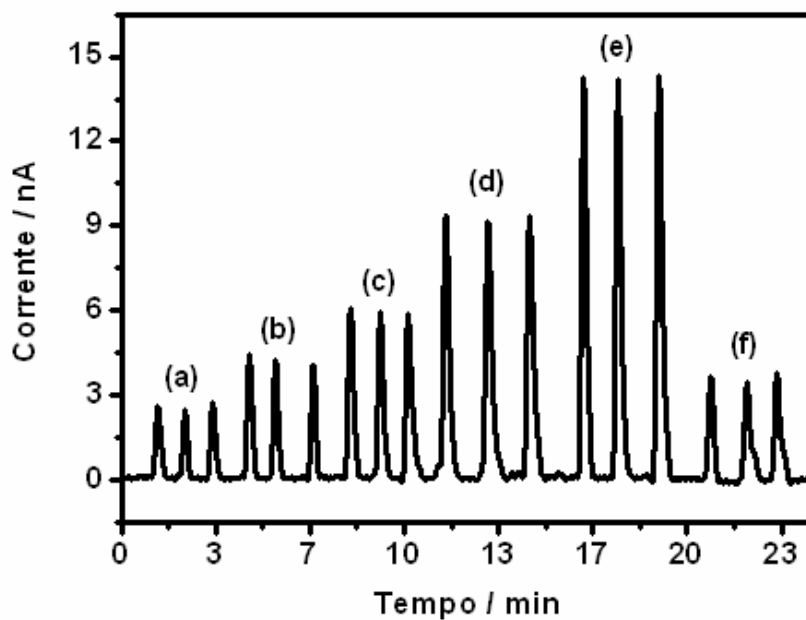


Figura 20: Diagrama de alíquotas de 200 μ L de soluções tamponadas de BF, obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (a) 1,4 ; (b) 2,1 ; (c) 3,2 ; (d) 4,7 e (e) $7,1 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$ e (f) amostra de água de rio fortificada com CF $1,8 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$, após hidrólise alcalina e correção do pH com tampão acetato. Solução carregadora: tampão acetato 0,05 mol L $^{-1}$, sob vazão de 2,0 mL min $^{-1}$. $E_{ap} = 0,75$ V. Eletrodo de trabalho: EPC.

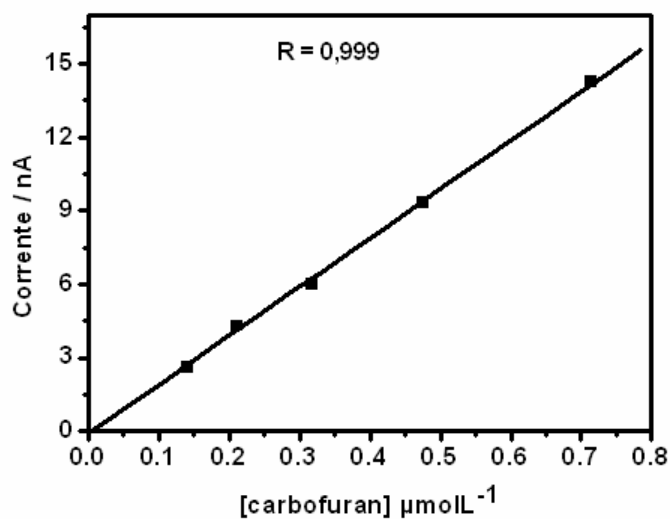


Figura 21: Curva analítica obtida do diagrama apresentado na Figura 20.

$$(I_p = -0,098 + 19,95 [CF]).$$

3.5 – Estudo de Interferentes

As investigações conduzidas até então mostraram que a metodologia pode ser usada na determinação eletroquímica indireta de aril N-metilcarbamatos totais em águas naturais e, por apresentar elevada sensibilidade, não necessita de etapas de pré-concentração, normalmente exigidas em muitos métodos empregados na determinação destes compostos. Entretanto, a metodologia apresenta limitações, pois compostos fenólicos, comumente presentes em amostras de águas naturais, podem sofrer oxidação no potencial usado para a detecção eletroquímica dos derivados fenólicos produzidos na hidrólise dos referidos carbamatos. Em razão desse fato, a injeção da solução de amostra hidrolisada, no sistema em fluxo, pode produzir um sinal analítico em +0,75V, quando em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, que tem a contribuição dos compostos fenólicos interferentes. Buscando-se avaliar a contribuição destes interferentes no sinal eletroquímico de interesse investigou-se o comportamento eletroquímico de três compostos fenólicos, 4-clorofenol, 2,6-diclorofenol e 2,4,6-triclorofenol, sob condições estacionárias e hidrodinâmicas definidas na Parte Experimental (item 2.6), utilizando-se as técnicas voltametria cíclica, voltametria linear e a amperometria pulsada. Esses compostos fenólicos foram escolhidos, pois estão listados na Diretiva 76/464/EEC da Comunidade Européia e na EPA como substâncias perigosas, potencialmente tóxicas e de persistência moderada nos ambientes aquáticos [119]. Tais compostos são normalmente introduzidos nos ambientes aquáticos por meio de despejos de águas residuárias não tratadas, oriundos de processos industriais diversos.

Os voltamogramas de varredura linear obtidos para os três compostos em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ (pH 4,7) estão apresentados na Figura 22. Observa-se que os três compostos exibem um processo de oxidação, que inicia ao redor de 0,7 V, com corrente de pico anódico (I_{pa}) entre +0,8 e +0,9 V, correspondente à oxidação do derivado fenólico à respectiva quinona.

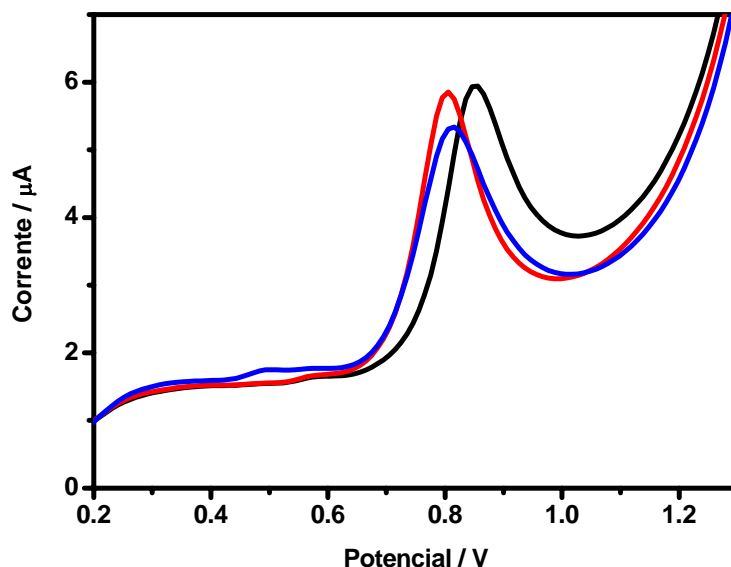


Figura 22: Voltamogramas obtidos, sob condições hidrodinâmicas, de 500 μL de soluções de (—) 4-clorofenol; (—) 2,6-diclorofenol e (—) 2,4,6-triclorofenol, todos em concentração $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura 100 mV s^{-1} . Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,7, sob vazão $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Os resultados confirmam que esses compostos, se presentes na solução amostra, produzirão um sinal de corrente amperométrica que interferirá no sinal analítico de interesse, nas condições experimentais utilizadas para a determinação eletroquímica de aril N-metilcarbamatos sobre eletrodo de pasta de carbono (EPC).

Os voltamogramas cíclicos obtidos das soluções dos referidos compostos, sob condições estacionárias (não mostrados), evidenciaram, como esperado, o processo de oxidação do grupo fenólico, com E_{pa} ao redor de $+0,8 \text{ V}$. Contudo, o processo de redução atribuído à redução da quinona foi nitidamente observado somente para o composto 2,6-diclorofenol, na faixa de potencial de $-0,3$ a $1,3 \text{ V}$. Observou-se ainda pelos voltamogramas cíclicos sucessivos da solução de 2,6-diclorofenol, a ocorrência de contaminação da superfície do eletrodo a partir da segunda varredura cíclica. A

contaminação do eletrodo foi evidenciada por meio do aumento da corrente residual, tanto na região anódica como catódica, além do aparecimento de outros processos de oxidação na região de potencial anterior à da oxidação do grupo fenólico.

Para confirmar a existência ou não de processo de redução devido à quinona, produzida na oxidação dos respectivos compostos fenólicos investigados, utilizou-se a detecção amperométrica pulsada (DAP), que permite o monitoramento seqüencial da corrente em até 10 pulsos de potencial, aplicados durante período de tempo que pode ser tão baixo quanto 30 ms. A corrente é medida no final da aplicação de cada pulso. Na presente investigação, pulsos de +0,75 V e -0,2 V foram aplicados seqüencialmente, durante 100 ms cada pulso, antes, durante e após a injeção da alíquota da amostra. As correntes amperométricas anódica (em +0,75 V) e catódica (em -0,2 V), obtidas da injeção de alíquotas da solução amostra, em triplicata, estão apresentadas na Figura 23.

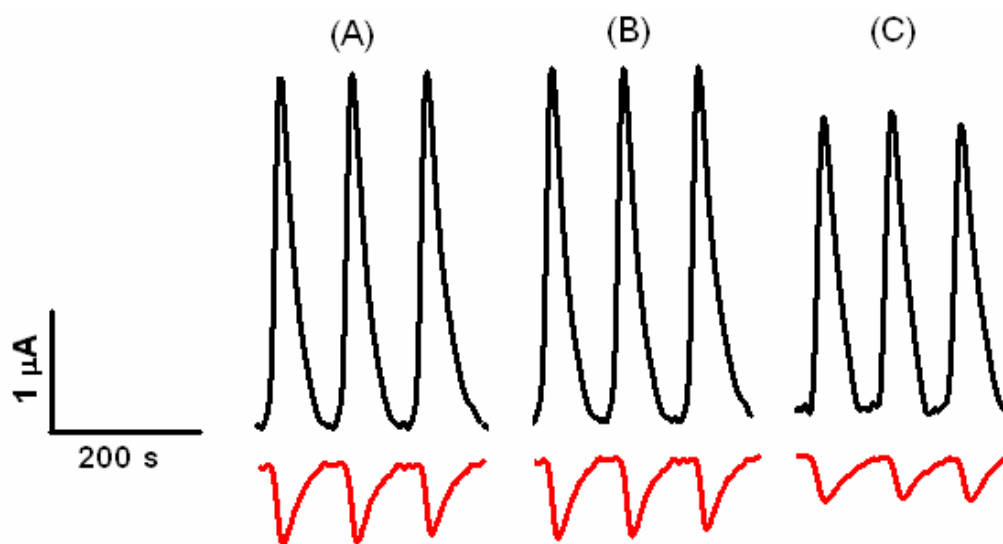


Figura 23: Amperogramas obtidos da injeção (em triplicata) de $200 \mu\text{L}$ de solução tamponada de: (A) 4-clorofenol $3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (B) 2,6-diclorofenol $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (C) 2,4,6-triclorofenol $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em dois pulsos de potencial aplicados (—) +0,75 V e (—) -0,2 V, durante 100 ms cada. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Observa-se pela Figura 23 que todos os compostos fenólicos apresentam corrente de redução em $-0,2$ V, devido à redução da quinona produzida. O 2,4,6-tricolorofenol apresentou o menor sinal analítico, tanto em $+0,75$ V como em $-0,2$ V.

A existência do sinal de redução em $-0,2$ V pode ser usado para discriminar a presença de clorofenólicos interferentes dos fenólicos oriundos da hidrólise dos carbamatos de interesse. No entanto, a baixa intensidade das correntes de redução obtidas em $-0,2$ V limita o uso deste procedimento de discriminação uma vez que a relação sinal/ruído diminui significativamente à medida que a concentração dos clorofenólicos diminui. É provável que o maior incremento do ruído comparado ao sinal analítico (em $-0,2$ V) seja causado pela contaminação da superfície do eletrodo, como resultado da adsorção de intermediários formados durante as aplicações alternadas e sequenciais de pulsos de potencial anódico ($+0,75$ V) e catódico ($-0,2$ V). Além da baixa relação sinal/ruído, em $-0,2$ V, que impossibilita a detecção amperométrica dos clorofenólicos investigados, quando em baixas concentrações, o monitoramento do sinal de redução da quinona é um procedimento de discriminação de fenólicos interferentes que oferece limitações porque nem todos os fenólicos apresentam o processo de redução da quinona.

Considerando-se os fatos apresentados, investigou-se outro procedimento para discriminar o sinal analítico dos carbamatos de interesse, baseado na medida do sinal amperométrico diferencial (em $+0,75$ V), antes e após o tratamento da solução amostra com NaOH. Para tanto, investigou-se inicialmente a extensão da hidrólise do carbamato, em tampão acetato $0,05$ mol L⁻¹ (pH 4,7) usando Carbofuran (CF) como carbamato modelo. Esse estudo foi realizado monitorando-se, durante 1 hora, as correntes amperométricas (em $+0,75$ V) antes e após a injeção de alíquotas (200 μ L) de soluções de CF $4,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, preparadas em tampão acetato. Nenhum sinal amperométrico foi observado após injeções sucessivas da solução de CF, sugerindo que a hidrólise de CF não deve ocorrer em meio levemente ácido. Ou seja, nenhum derivado fenólico é produzido em tampão acetato $0,05$ mol L⁻¹ (pH 4,7) durante o período de tempo monitorado. Tal resultado sugere que o sinal amperométrico devido aos carbamatos de interesse pode ser discriminado do sinal amperométrico devido aos compostos fenólicos interferentes, pois em meio levemente

ácido, (pH 4,7), apenas os interferentes eventualmente presentes na solução amostra sofrerão oxidação em 0,75 V.

Investigações da metodologia de determinação de aril N-metil carbamatos totais em amostras contendo clorofenólicos foram conduzidas utilizando-se solução constituída por CF como carbamato modelo e 2,6 diclorofenol como clorofenólico modelo. Os sinais amperométricos obtidos da injeção em triplicata de soluções de (CF + 2,6-diclorofenol), antes e após a hidrólise alcalina, estão apresentados na Figura 24. Como esperado, os sinais da solução (CF + 2,6 diclorofenol) previamente hidrolisada com NaOH 0,05 mol L⁻¹ produz, em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, um sinal amperométrico (em +0,75 V) que tem a contribuição do clorofenólico e do derivado fenólico (Benzofuranol, BF) produzido na hidrólise do CF.

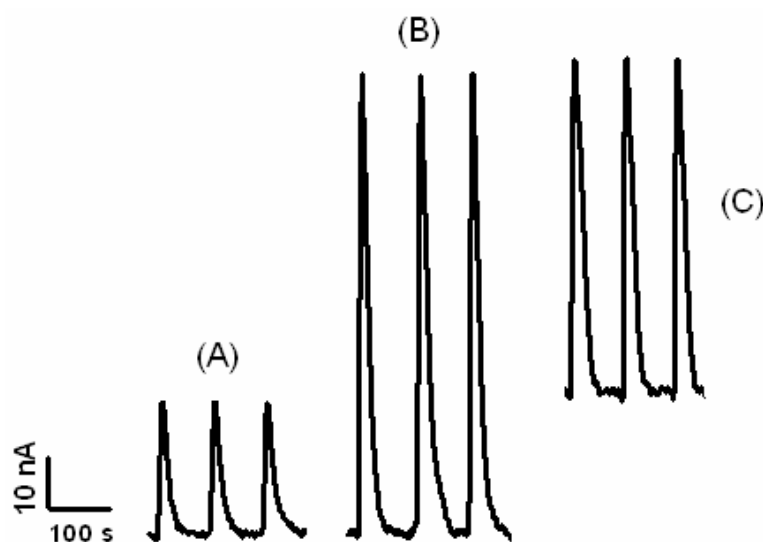


Figura 24: Amperogramas obtidos de 200 µL de soluções: (A) CF $4,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ + 2,6-diclorofenol $4,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ (pH 4,7); (B) CF $4,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ + 2,6-diclorofenol $4,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, após hidrólise alcalina em NaOH 0,05 mol L⁻¹ e então correção do pH para tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ (pH 4,7); (C) CF $4,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, após hidrólise alcalina em NaOH 0,05 mol L⁻¹ e então correção do pH para tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ (pH 4,7). Solução carregadora: tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, sob vazão de 1,0 mL min⁻¹. Potencial aplicado: +0,75 V vs Ag/AgCl.

Observa-se que a diferença entre os sinais (B) e (A) produz sinais de magnitude comparáveis aos sinais (C), devido somente ao BF produzido na hidrólise alcalina de CF. Este resultado sugere que a metodologia permite determinar CF na presença de interferentes fenólicos. Uma recuperação de 102 % foi obtida.

3.6 – Recuperação de Carbofuran (CF) de amostra de água natural fortificada com CF e 2,6-diclorofenol

Utilizando-se as condições de análise em fluxo descritas no item 3.4 e a metodologia discutida no item 3.5, investigou-se a recuperação de CF de uma amostra de água natural (rio Uberabinha) fortificada com CF $2,07 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e 2,6-diclorofenol $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. A injeção de alíquotas da amostra de rio não fortificada, em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, forneceu um sinal analítico muito próximo ao da solução carregadora, indicando a ausência de interferentes eletroativos.

Injeções em triplicata da amostra de rio fortificada com CF $2,07 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e 2,6-diclorofenol $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, produziram os sinais amperométricos (f) apresentados no fiagrama da Figura 25. Em seguida, a amostra de rio fortificada foi tratada com NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e o pH corrigido para tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. A injeção em triplicata desta solução produziu os sinais amperométricos (g) apresentados no fiagrama da Figura 25. Nesta Figura estão mostrados também os sinais amperométricos (a – e), em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), de soluções padrão de CF previamente hidrolisadas com NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. A respectiva curva analítica obtida está apresentada na Figura 26 e obedece à seguinte equação: $I_p (\text{nA}) = 0,48 + 29,8 [\text{CF}] (\mu\text{mol L}^{-1})$.

A diferença entre os sinais (g) e (f) corresponde ao sinal de oxidação de BF, derivado da hidrólise de CF. Usando a curva analítica da Figura 26, obtém-se a concentração de CF na solução amostra fortificada. Os resultados forneceram uma eficiência de recuperação de CF de 98,5 % da amostra de rio fortificada com CF + 2,6-diclorofenol.

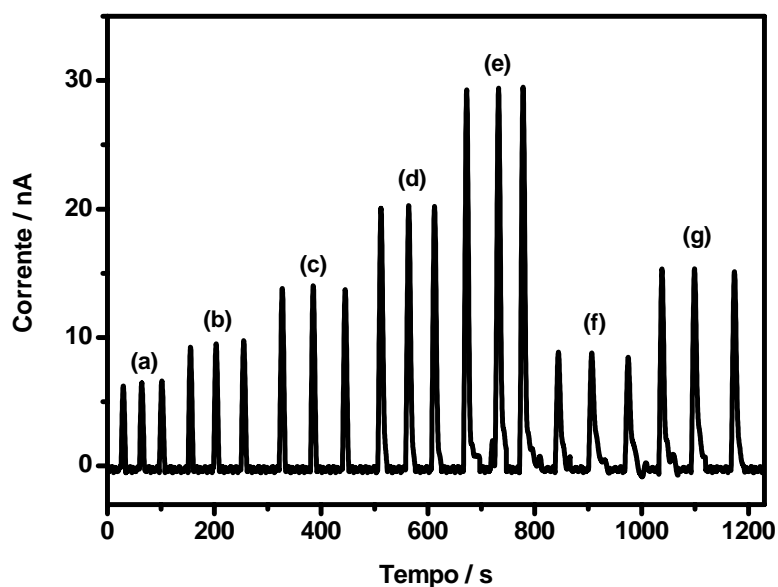


Figura 25: Sinais amperométricos obtido da injeção sucessiva de alíquotas de 200 μL de soluções tamponadas de BF, obtidas da hidrólise alcalina de CF nas seguintes concentrações: (a) 1,9; (b) 2,9; (c) 4,4; (d) 6,5; (e) $9,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$; (f) amostra de água de rio tamponada e fortificada com CF $2,07 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ + 2,6-diclorofenol $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (g) amostra de água de rio fortificada com CF $2,07 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ + 2,6-diclorofenol $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, após hidrólise alcalina e correção do pH para tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Solução carregadora: tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, sob vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$.

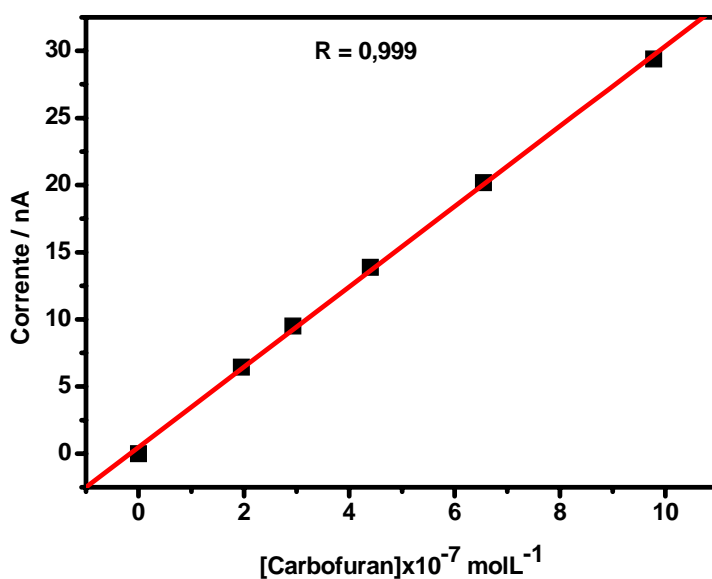


Figura 26: Curva analítica para Carbofuran (obtida da Figura 25).

Os resultados apresentados neste estudo mostraram que a metodologia investigada pode ser usada para a determinação de aril N-metilcarbamatos totais em amostras de águas naturais que contêm compostos fenólicos interferentes. Cabe ressaltar que, além dos interferentes fenólicos, cátions metálicos como Fe^{2+} e Mn^{2+} , possivelmente presentes em amostras de água, sob determinadas condições de E_h , podem também interferir no sinal amperométrico monitorado, dependendo das concentrações em que se encontram. Contudo, é pouco provável que esses íons estejam na forma livre e em concentrações apreciáveis, pois estes podem ser re-oxidados para estados de maior oxidação e formar compostos poucos solúveis como $\text{Fe}(\text{OH})_3$ e MnO_2 , bem como ser adsorvidos na superfície de partículas coloidais dissolvidas ou em suspensão e então serem posteriormente sedimentados.

Além disso, é muito provável que a interferência causada por algumas espécies inorgânicas, se estas espécies estiverem presentes em concentrações suficientemente elevadas para tal, seja contornada por medida diferencial do sinal amperométrico da solução amostra, antes e após a hidrólise alcalina. Investigações posteriores serão conduzidas para confirmar que este tipo de interferência pode ser também eliminado por medida diferencial do sinal amperométrico. Se confirmado esse fato, a metodologia que vem sendo investigada neste trabalho poderá ser usada como método *screening* para discriminar entre amostras contaminadas e não contaminadas com aril-N-metilcarbamatos. Esta informação pode ser suficiente para determinadas finalidades. Além disso, quando se deseja a discriminação dos carbamatos presentes, o conhecimento prévio da presença e do nível de concentração destes nas amostras orientará os procedimentos de análise cromatográfica a serem empregados.

CAPÍTULO 4
CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

4.1 – Conclusões

A metodologia investigada neste trabalho para a determinação de carbamatos totais em sistema FIA apresenta elevada sensibilidade, oferecendo ainda vantagens como, maior simplicidade e baixo custo. Este método é baseado na hidrólise alcalina dos carbamatos para produzir derivados fenólicos que são eletroquimicamente detectados em baixos potenciais de oxidação. Os estudos da metodologia proposta foram conduzidos utilizando-se Carbofuran (CF), que na hidrólise produz o derivado Benzofuranol (BF), que sofre oxidação sobre eletrodo de carbono em potenciais próximos de +0,75 V em pH = 4,7. Sob condições hidrodinâmicas, a detecção amperométrica de BF apresentou maior sensibilidade e menores efeitos de passivação da superfície do eletrodo do que a detecção de BF pelas técnicas de voltametria de varredura linear e voltametria de pulso diferencial (VPD). Estudos da sensibilidade e da reprodutibilidade do sinal amperométrico do eletrodo para BF foram conduzidos em função dos seguintes parâmetros: tipo de eletrólito, vazão da solução carregadora e volume do *loop* da amostra. Os resultados mostraram que o uso de tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ como solução carregadora fornece sinais amperométricos mais estáveis e de maior sensibilidade, além de oferecer baixas correntes residuais e menor ruído da linha de base. Essas vantagens podem ser explicadas pelos menores efeitos da contaminação da superfície do eletrodo pelos produtos da oxidação de BF, incluindo a adsorção de polifenólicos. A otimização do volume da alça de amostragem e da vazão da solução carregadora produziu sinais amperométricos mais intensos, possibilitando determinar CF em níveis de concentração muito baixos, na faixa de $1,4$ a $7,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de detecção (LD) de $7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.

Estudos da interferência de compostos fenólicos na determinação de aril-N-metilcarbamatos foram também conduzidos. Os resultados deste estudo mostraram que a interferência de compostos fenólicos pode ser contornada por medida diferencial do sinal amperométrico da solução amostra, antes e após o tratamento com NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. O aril N-metilcarbamato só produz sinal após a hidrólise alcalina enquanto os compostos fenólicos presentes nas amostras produzem sinal em ambas as condições. A diferença entre os sinais permite determinar o CB presente na solução. As investigações conduzidas com

amostra de rio fortificada com CF $2,07 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ + 2,6-diclorofenol $1,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ mostraram que o sinal devido a CF pode ser recuperado com uma eficiência de 98,5%.

As investigações conduzidas neste trabalho demonstraram que a metodologia proposta apresenta elevada sensibilidade e poderá ser usada como método *screening* para discriminar entre amostras contaminadas e não contaminadas com aril-N-metilcarbamatos.

4.2 – Propostas de continuidade

Estudos da interferência de cátions metálicos e de ânions inorgânicos, bem como os limites de concentração a partir do qual estas espécies interferem, deverão ser conduzidos posteriormente. Outra investigação a ser conduzida é adaptar a célula eletroquímica em fluxo na saída da coluna cromatográfica para aumentar a sensibilidade e a seletividade da determinação cromatográfica de carbamatos em amostras de águas, solos e alimentos.

CAPÍTULO 5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ***Geo Brasil Recursos Hídricos: Componente da Série de Relatórios sobre o Estado e Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil.*** Disponível em <http://www.ana.gov.br/bibliotecavirtual/>, acesso em 16/06/2007.
- 2- ***Relatório da ONU sobre o Desenvolvimento Mundial da Água: Água para os Povos, Água para Vida.*** Disponível em http://www.unesco.org/water/wwap/wwdr/ex_summary, **2003**, acesso em 15/06/2007.
- 3- Dores, E.F.G.C; De-Lamonica-Freire, E.M; ***Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: Águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso – Análise Preliminar, Química. Nova, 2001***, 24, 27-36.
- 4- Coutinho, C. F. B.; Tanimoto, S. T.; Galli, A.; Garbellini, G. S.; Takayama, M.; Amaral, R. B.; Mazo, L.H.; Avaca, L. A.; Machado, S. A. S.; ***Pesticidas: Mecanismo de ação, degradação e toxidez, Ecotoxicologia e Meio Ambiente, 2005***, 15, 64-72.
- 5- Santos, W.T.P; ***Estudos para a Determinação Amperométrica de Nitrofosforados Totais em Águas em Sistema de Análise por Injeção em Fluxo.*** Dissertação de Mestrado. Uberlândia: Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, **2007**.
- 6- ***Cartilha Meio Ambiente, Saúde e Trabalho***, Comissão de Meio Ambiente - CUT-RJ, Disponível em <http://www.sindipetro.org.br/extra/cartilha-cut/11agrototoxicos.htm>, acesso em 10/06/2007.
- 7- Stephenson, G.R.; Ferris, I.G.; Holland, P.T.; Nordberg, M.; ***Glossary of Terms Relating to Pesticides, International Union of Pure and Applied Chemistry, 2006***, 78, 2075-2154.

- 8- Galli, A.; Souza, D.; Garbellini, G. S.; Coutinho, C. F.B.; Mazo, L. H.; Avaca L. A.; Machado, S. A. S.; *Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos*, *Química. Nova*, **2006**, 29, 105-112.
- 9- Del Carlo, M; Mascini, M.; Pepe, A.; Diletti, G.; Compagnone, D.; *Screening of food samples for carbamate and organophosphate pesticides using an electrochemical bioassay*, *Food Chemistry*, **2004**, 84, 651-656.
- 10- Mickova, B.; Zrostlikova, J.; Hajslova, J.; Rauch, P.; Moreno, M.J.; Abad, A.; Montoya, A.; *Correlation study of enzyme-linked immunosorbent assay and high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry for the determination of N-methylcarbamate insecticides in baby food*, *Analytica Chimica Acta*, **2003**, 495, 123-132.
- 11- Bachmann, T.T.; Leca, B.; Vilatte, F.; Marty, J.L.; Fournier, D.; Schmid, R.D.; *Improved multianalyte detection of organophosphates and carbamates with disposable multielectrode biosensors using recombinant mutants of Drosophila acetylcholinesterase and artificial neural networks*, *Biosensors & Bioelectronics*, **2000**, 15, 193–201.
- 12- Ferreira, L.F; *Biossensor Amperométrico à Base de Tirosinase Aplicado na Determinação de Compostos Orgânicos em Amostras Ambientais*, Dissertação de Mestrado. Uberlândia: Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, **2005**.
- 13- Kandell, E. R.; Schwartz, J.H.; Jessel, T. M.; *Fundamentos da Neurociência e do Comportamento*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, **2000**.
- 14- Caldas, L.Q.A. *Manual sobre Intoxicações Exógenas Agudas por Carbamatos, Organofosforados, Compostos Bipiridílicos e Piretróides*, Disponível em <http://www.cepis-ops-oms.org/tutorial2/fulltex/intoxicacoes.pdf>, acesso em 15/06/2007.

- 15- Petropoulou, S.S.E.; Tsarbopoulos, A.; Siskos, P.A.; *Determination of carbofuran, carbaryl and their main metabolites in plasma samples of agricultural populations using gas chromatography–tandem mass spectrometry*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2006**, 385, 1444-1456.
- 16- Ni, Y.; Qiu, P.; Kokot, S.; *Simultaneous voltammetric determination of four carbamate pesticides with the use of chemometrics*, *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 537, 321-330.
- 17- Baird, C.; *Química Ambiental*, 2^a ed. Porto Alegre, Bookman, **2002**, 622.
- 18- Alloway, B. J.; Ayres, D. C. *Chemical Principles of Environmental Pollution*, 2nd Ed. London: Blackie Academic & Professional, **1997**.
- 19- Patil, V.B.; Shingare, M.S.; *Thin-layer chromatographic detection of carbaryl using phenylhydrazine hydrochloride*, *Journal of Chromatography A*, **1993**, 653, 181-183.
- 20- **Resolução Conama N^o 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Publicado no publicada no Diário Oficial da União de 18/03/2005, Seção 1, páginas 58 a 63, disponível em <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res357/res35705.html>, acesso em 16/06/2007.
- 21- **Resolução Conama N^o 20, de 18 de junho de 1986**. Classifica as águas doces, salobras e salinas essencial à defesa de seus níveis de qualidade, avaliados por parâmetros e indicadores específicos, de modo a assegurar seus usos preponderantes. Publicado no DOU de 30/07/86, disponível em <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res2086.html>, acesso em 16/06/2007.

- 22- **Portaria Ministério da Saúde N° 518, de 25 de março de 2004.** Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Disponível em <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-518.htm>, acesso em 7/08/2007.
- 23- Pogacnik, L.; Franko, M.; ***Determination of organophosphate and carbamate pesticides in spiked samples of tap water and fruit juices by a biosensor with photothermal detection***, *Biosensors & Bioelectronics*, **1999**,14, 569-578.
- 24- Chuang, J.C.; Pollard, M.A.; Misita, M.; Van Emon, J.M.; ***Evaluation of analytical methods for determining pesticides in baby food***, *Analytica Chimica Acta*, **1999**, 399, 135-142.
- 25- ***Ground Water & Drinking Water, Consumer Factsheet on: Carbofuran.*** Disponível em <http://www.epa.gov/safewater/dwh/c-soc/carbofur.html>, acesso em 15/06/2007.
- 26- Jan, M.R.; Shah, J.; Khan, H.; ***Investigation of new indirect spectrophotometric method for the determination of carbofuran in carbamate pesticides***, *Chemosphere*, **2003**, 52, 1623-1626.
- 27- Suwansa-ard, S.; Kanatharana, P.; Asawatreratanakul, P.; Limsakul, C.; Wongkittisuksa, B.; Thavarungkul, P.; ***Semi disposable reactor biosensors for detecting carbamate pesticides in water***, *Biosensors and Bioelectronics*, **2005**, 21, 445-454.
- 28- Bacigalupo, M.A.; Meroni, G.; Longhi, R.; ***Determination of carbofuran in water by homogeneous immunoassay using selectively conjugate mastoparan and terbium/dipicolinic acid fluorescent complex***, *Talanta*, **2006**, 69, 1106-1111.

- 29- Nunes, G.S.; Skládal, P.; Yamanaka, H.; Barceló, D.; *Determination of carbamate residues in crop samples by cholinesterase-based biosensors and chromatographic techniques*, *Analytica Chimica Acta*, **1998**, 362, 59-68.
- 30- Nunes, G.S.; Ribeiro, M.L.; Polese, L.; Barceló D.; *Comparison of different clean-up procedures for the determination of N-methylcarbamate insecticides in vegetable matrices by highperformance liquid chromatography with UV detection*, *Journal of Chromatography A*, **1998**, 795, 43-51.
- 31- Fernández, J.M.; Vázquez, P.P.; Vidal, J.L.M.; *Analysis of N-methylcarbamates insecticides and some of their main metabolites in urine with liquid chromatography using diode array detection and electrospray mass spectrometry*, *Analytica Chimica Acta*, **2000**, 412, 131-139.
- 32- Rao, T.N.; Loo, B.H.; Sarada, B.V.; Terashima C.; Fujishima A.; *Electrochemical Detection of Carbamate Pesticides at Conductive Diamond Electrodes*, *Analytical Chemistry*, **2002**, 74, 1578-1583.
- 33- Petropoulou, S.S.E.; Gikas, E.; Tzarbopoulos, A.; Siskos, P.A.; *Gas chromatographic-tandem mass spectrometric method for the quantitation of carbofuran, carbaryl and their main metabolites in applicators' urine*, *Journal of Chromatography A*, **2006**, 1108, 99-110.
- 34- Bachmann, T.T.; Schmid, R.D.; *A disposable multielectrode biosensor for rapid simultaneous detection of the insecticides paraoxon and carbofuran at high resolution*, *Analytica Chimica Acta*, **1999**, 401, 95-103.
- 35- Brunete, C.S.; Rodriguez, A.; Tadeo, J.L.; *Multiresidue analysis of carbamate pesticides in soil by sonication-assisted extraction in small columns and liquid chromatography*, *Journal of Chromatography A*, **2003**, 1007, 85-91.

- 36-Abad, A.; Moreno, M.J.; Pelegrí R.; Martínez, M.I.; Sáez, A.; Gamón, M.; Montoya, A.; *Determination of carbaryl, carbofuran and methiocarb in cucumbers and strawberries by monoclonal enzyme immunoassays and highperformance liquid chromatography with fluorescence detection An analytical comparison*, *Journal of Chromatography A*, **1999**, 833, 3-12.
- 37-Bucur, B.; Fournier, D.; Danet, A.; Marty, J.L.; *Biosensors based on highly sensitive acetylcholinesterases for enhanced carbamate insecticides detection*, *Analytica Chimica Acta*, **2006**, 562, 115-121.
- 38-Nogueira, J.M.F.; Sandra, T.; Sandra, P.; *Multiresidue screening of neutral pesticides in water samples by high performance liquid chromatography–electrospray mass spectrometry*, *Analytica Chimica Acta*, **2004**, 505, 209-215.
- 39-Ivanov, A.; Evtugyn, G.; Budnikov, H.; Ricci, F.; Moscone, D.; Palleschi, G.; *Cholinesterase sensors based on screen-printed electrodes for detection of organophosphorus and carbamic pesticides*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2003**, 377, 624-631.
- 40-Nikolelis, D.P.; Simantirakia, M.G.; Siontorou, C.G.; Toth, K.; *Flow injection analysis of carbofuran in foods using air stable lipid film based acetylcholinesterase biosensor*, *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 537, 169-177.
- 41-Kok, F.N.; Hasirci, V.; *Determination of binary pesticide mixtures by an acetylcholinesterase–choline oxidase biosensor*, *Biosensors and Bioelectronics*, **2004**, 19, 661-665.
- 42-Solná, R.; Dock, E.; Christenson, A.; Winther-Nielsen, M.; Carlsson, C.; Emnéus, J.; Ruzgas, T.; Skládal, P.; *Amperometric screen-printed biosensor arrays with co-immobilised oxidoreductases and cholinesterases*, *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 528, 9-19.

- 43-De Souza, D.; Codognoto, L.; Malagutti, A. R.; Toledo, R. A.; Pedrosa, V. A.; Oliveira, R. T. S.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; Machado, S. A. S.; ***Square Wave Voltammetry. Second Part: Applications, Química Nova, 2004, 27, 790.***
- 44-Galli, A.; Souza, D.; Garbellini, G. S.; Coutinho, C. F.B.; Mazo, L. H.; Avaca L. A.; Machado, S. A. S.; ***Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos, Química. Nova, 2006, 29, 105-112.***
- 45-Quintino, M.S.M.; Angnes, L.; ***Fast BIA-amperometric determination of isoniazid in tablets, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, 42, 400-404.***
- 46-Shi, M.; Xu, J.; Zhang, S.; Liu, B.; Kong, J.; ***A mediator-free screen-printed amperometric biosensor for screening of organophosphorus pesticides with flow-injection analysis (FIA) system, Talanta, 2006, 68, 1089-1095.***
- 47-Quintino, M.S.M.; Angnes, L.; ***Bia-amperometric quantification of salbutamol in pharmaceutical products, Talanta, 2004, 62, 231-236.***
- 48-Charoenraks, T.; Palaharn, S.; Grudpan, K.; Siangproh, W.; Chailapakul, O.; ***Flow injection analysis of doxycycline or chlortetracycline in pharmaceutical formulations with pulsed amperometric detection, Talanta, 2004, 64, 1247-1252.***
- 49-Massaroppi, M. R. C.; Machado, S. A. S.; ***Electroanalytical determination of the herbicide picloram in natural waters by square wave voltammeter,y Journal of Brazilian Chemical Society, 2003, 14, 113-119.***
- 50-Tsai, Y. C.; Coles, B. A.; Houte, K.; Foord, J. S.; Marken, F.; Compton, R.G.; ***Microwave-Enhanced Anodic Stripping Detection of Lead in a River Sediment Sample. A Mercury-Free Procedure Employing a Boron-Doped Diamond Electrode, Electroanalysis, 2001, 13, 831-835.***
- 51-Oskan, S. A.; Uslu, B.; ***Electrochemical study of fluvastatin sodium - analytical application to pharmaceutical dosage forms, human serum, and simulated gastric juice, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2002, 372, 582-586.***

- 52- Ni Y.; Qiu P.; Kokot S.; *Simultaneous determination of three organophosphorus pesticides by differential pulse stripping voltammetry and chemometrics*, *Analytica Chimica Acta*, **2004**, 516, 7–17.
- 53- Yilmaz, S.; Uslu, B.; Oscan, S. A.; *Anodic oxidation of etodolac and its square wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum*, *Talanta*, **2001**, 54, 351-360.
- 54- Liu, G.; Lin, Y.; *Electrochemical stripping analysis of organophosphate pesticides and nerve agents*, *Electrochemistry Communications*, **2005**, 7, 339–343.
- 55- Liu, G.; Lin, Y.; *Electrochemical Sensor for Organophosphate Pesticides and Nerve Agents Using Zirconia Nanoparticles as Selective Sorbents*, *Analytical Chemistry*, **2005**, 77, 5894-5901.
- 56- Zen, J. M.; Jou, J. J.; Kumar, A. S.; *A sensitive voltametric method for the determination of parathion insecticide*, *Analytica Chimica Acta*, **1999**, 396, 39-44.
- 57- Guiberteau, A.; Diaz, T.G.; Salinas, F.; Ortiz, J.M.; *Indirect voltammetric determination of carbaryl and carbofuran using partial least squares calibration*, *Analytica Chimica Acta*, **1995**, 305, 219-226.
- 58- Alpízar, J.; Cladera, A.; Cerdà, V.; Lastres, E.; García, L.; Catasús, M.; *Simultaneous flow injection analysis of cadmium and lead with differential pulse voltammetric detection*, *Analytica Chimica Acta*, **1997**, 340, 149- 158.
- 59- Catarino, R.I.L.; Conceição, A.C.L.; Garcia, M.B.Q.; Gonçalves, M.L.S.; Lima, J.L.F.C.; Santos, M.M.C.; *Flow amperometric determination of pharmaceuticals with on-line electrode surface renewal*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2003**, 33, 571-580.

- 60-Lowinsohn, D.; Bertotti, M.; *Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos*, *Química Nova*, **2006**, 29, 1318-1325.
- 61-Roy, P.R.; Okajima, T.; Ohsaka, T.; *Simultaneous electrochemical detection of uric acid and ascorbic acid at a poly(N,N-dimethylaniline) film-coated GC electrode*, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2004**, 561, 75-82.
- 62-Ivaska, A.; Ryan, T. H.; *Application of a Voltametric Flow-Through Cell to Flow-Injection-Analysis (FIA)*, *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, **1981**, 46, 2865-2970.
- 63-Muñoz, R.A.A.; Matos, R.C.; Angnes, L.; *Gold electrodes from compact discs modified with platinum for amperometric determination of ascorbic acid in pharmaceutical formulations*, *Talanta*, **2001**, 55, 855-860.
- 64-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*, *Química Nova*, **2003**, 26, 839-843.
- 65-Fanjul, P. B.; Gonzalez, M. B. G.; Costa, A. C.; *Flow screen-printed amperometric detection of p-nitrophenol in alkaline phosphatase-based assays*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2006**, 385,1202-1208.
- 66-Lu, W.; Wallace, G.G.; Imisides, M. D.; *Development of Conducting Polymer Modified Electrodes for the Detection of Phenol*, *Electroanalysis*, **2002**, 14, 325-332.
- 67-Paixão, T. R. L. C.; Corbo D.; Bertotti. M.; *Amperometric determination of ethanol in beverages at copper electrodes in alkaline medium*, *Analytica Chimica Acta*, **2002**, 472, 123-131.

- 68-Richter, E. M., Augelli, M. A.; Kume, G. H.; Mioshi, R. N.; Angnes, L.; ***Gold electrodes from recordable CDs for mercury quantification by flow injection analysis, Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 2000, 366, 444-448.***
- 69-Krause, R.T.; ***High-performance liquid chromatographic determination of aryl N-methylcarbamate residues using postcolumn hydrolysis electrochemical detection, Journal of Chromatography, 1988, 442, 333-343.***
- 70-Mayer, W.J.; Greenberg, M.; ***Determination of some carbamate pesticides by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, Journal of Chromatography, 1981, 208, 295-304.***
- 71- Sánchez-Ortega, A.; Sampedro, M.C.; Unceta, N.; Goicolea, M.A.; Barrio, R.J.; ***Solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography using on-line diode-array and electrochemical detection for the determination of fenitrothion and its main metabolites in environmental water samples, Journal of Chromatography A, 2005, 1094, 70-76.***
- 72-Xia, J.; Kotani, A.; Hakamata, H.; Kusu, F.; ***Determination of hesperidin in Pericarpium Citri Reticulatae by semi-micro HPLC with electrochemical detection, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, 41, 1401-1405.***
- 73-Sato, N.; Okuma, H.; ***Amperometric simultaneous sensing system for D-glucose and L-lactate based on enzyme-modified bilayer electrodes, Analytica Chimica Acta, 2006, 565, 250-254.***
- 74-Charoenraks, T.; Palaharn, S.; Grudpan, K.; Siangproh, W.; Chailapakul, O.; ***Flow injection analysis of doxycycline or chlortetracycline in pharmaceutical formulations with pulsed amperometric detection, Talanta, 2004, 64, 1247-1252.***

- 75-Giuriati, C.; Cavalli, S.; Gorni, A.; Badocco, D.; Pastore, P.; *Ion chromatographic determination of sulfide and cyanide in real matrices by using pulsed amperometric detection on a silver electrode*, *Journal of Chromatography A*, **2004**, 1023, 105-112.
- 76-Guzmán, A.; Agüí L.; Pedrero M.; Yáñez-Sedeño, P.; Pingarrón, J.; *Flow injection and HPLC determination of furosemide using pulsed amperometric detection at microelectrodes*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2003**, 33, 923-933.
- 77-Palaharn, S.; Charoenraks, T.; Wangfuengkanagul, N.; Grudpan, K.; Chailapakul, O.; *Flow injection analysis of tetracycline in pharmaceutical formulation with pulsed amperometric detection*, *Analytica Chimica Acta*, **2003**, 499, 191-197.
- 78-Sato, K.; Jin J.Y.; Takeuchi, T.; Miwa, T.; Suenami, K.; Takekoshi, Y.; Kanno, S.; *Integrated pulsed amperometric detection of glufosinate, bialaphos and glyphosate at gold electrodes in anion-exchange chromatography*, *Journal of Chromatography A*, **2001**, 919, 313-320.
- 79-Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Part I. A new concept of fast continuous flow analysis*, *Analytica Chimica Acta*, **1975**, 78, 145-157.
- 80-Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Flow injection analysis : Part X. theory, techniques and trends*, *Analytica Chimica Acta*, **1978**, 99, 37-76.
- 81-Ruzicka, J.; Stewart, J. W. B.; *Flow injection analysis: Part II. Ultrafast determination of phosphorus in plant material by continuous flow spectrophotometry*, *Analytica Chimica Acta*, **1975**, 79, 79-91.
- 82-Stewart, J. W. B.; Ruzicka, J.; Bergamin, H. F.; Zagatto, E.A.; *Flow injection analysis: Part III. Comparison of continuous flow spectrophotometry and potentiometry for the rapid determination of the total nitrogen content in plant digests*, *Analytica Chimica Acta*, **1976**, 81, 371-386.

- 83-Ruzicka, J.; Stewart, J. W. B.; Zagatto, E.A.; *Flow injection analysis: Part IV. Stream sample splitting and its application to the continuous spectrophotometric determination of chloride in brackish waters*, *Analytica Chimica Acta*, **1976**, 81, 387-396.
- 84-Ruzicka, J.; Stewart, J. W. B.; *Flow injection analysis: Part V. Simultaneous determination of nitrogen and phosphorus in acid digests of plant material with a single spectrophotometer* , *Analytica Chimica Acta*, **1976**, 82, 137-144.
- 85-Hansen, E. H.; Ruzicka, J.; *Flow injection analysis: Part VI. The determination of phosphate and chloride in blood serum by dialysis and sample dilution*, *Analytica Chimica Acta*, **1976**, 87, 353-363.
- 86-Ruzicka, J.; Stewart, J. W. B.; Zagatto, E.A.; *Flow injection analysis : Part VII. Use of ion-selective electrodes for rapid analysis of soil extracts and blood serum. Determination of potassium, sodium and nitrate*, *Analytica Chimica Acta*, **1977**, 88, 1-16.
- 87-Hansen, E. H.; Ruzicka, J.; Rietz, B.; *Flow injection analysis : Part VIII. Determination of glucose in blood serum with glucose dehydrogenase*, *Analytica Chimica Acta*, **1977**, 89, 241-254.
- 88-Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; Mosbaeck, H.; *Flow injection analysis : Part IX. A New Approach to Continuous Flow Titrations*, *Analytica Chimica Acta*, **1977**, 92, 235-239.
- 89-Kumar, M.A.; Chouhan, R.S.; Thakur, M.S.; Rani, B.E.A.; Mattiasson, B.; Karanth, N.G.; *Automated flow enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system for analysis of methyl parathion*, *Analytica Chimica Acta*, **2006**, 560, 30-34.
- 90-Hlabangana, L.; Hernández-Cassou, S.; Saurina, J.; *Multicomponent Determination of Drugs Using Flow-Injection Analysis*, *Current Pharmaceutical Analysis*, **2006**, 2, 127-140.

- 91-Zagatto, E.A.G.; Krug, F.J.; Bergamin Filho, H.; Reis, B.F.; *Merging Zones in flow injection analysis .2. Determination of calcium, magnesium and potassium in plant material by continuous-flow injection atomic-absorption and flame emission spectrometry*, *Analytica Chimica Acta*, **1979**, 104, 279-284.
- 92-Zaitsev, K.; Nakayama, M.; Ohkura, Y.; *Sensitive flow-injection determination of lactate in human blood with immobilized enzyme columns and fluorimetric detection*, *Analytica Chimica Acta*, **1987**, 201, 351-355.
- 93-Zheng, X. W.; Zhang, Z. J.; *Flow-injection chemiluminescence determination of isoniazid using on-line electrogenerated BrO^- as oxidant*, *Analyst*, **1999**, 124, 763-766.
- 94-De Andrade, J. C.; Pasquini, C.; Baccan, N.; Vanloon, J. C.; *Cold vapor atomic-absorption determination of mercury by flow-injection analysis using a teflon membrane phase separator coupled to the absorption cell*, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, **1983**, 38, 1329-1338.
- 95-Portela, D.C.; Pereira, I.M.F.; Paíga, P.; Delerue-Matos, C.; Vaz, M.C.V.F.; *Amperometric and spectrophotometric determination of carbaryl in natural waters and commercial formulations*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2003**, 377, 356-361.
- 96-Matos, R. C.; Gutz, I. G. R.; Angnes, L.; Fontenele, R. S.; Pedrotti, J. J.; *A versatile and pulsation free pneumatic impeller for flow analysis systems*, *Química Nova* **2001**, 24, 795-798.
- 97-Macpherson J. V.; Unwin, P. R.; *Radial flow microring electrode: Development and characterization* *Analytical Chemistry*, **1998**, 70, 2914-2921.
- 98-Macpherson J. V.; Simjee, N.; Unwin, P. R.; *Hydrodynamic ultramicroelectrodes: kinetic and analytical applications*, *Electrochimica Acta*, **2001**, 47, 29-45.

- 99- Kubiak, W. W.; Strozik, M. M.; J. *Study of the flow dependence of microelectrode and semi-microelectrode voltammetric signals*, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1996**, 417, 95-103.
- 100- Chaniotakis, N. A.; Tsagatakis, J. K.; Moschou, E. A.; West, S. J.; Wen, X. W.; *Magnesium ion-selective electrode: optimization and flow injection analysis application*, *Analytica Chimica Acta*, **1997**, 356, 105-111.
- 101- Albertus, F.; Horstkotte, B.; Cladera, A.; Cerda, V.; *A robust multisyringe system for process flow analysis - Part I. On-line dilution and single point titration of protolytes* *Analyst*, **1999**, 124, 1373-1381.
- 102- Du, W. B.; Fang, Q.; He, Q. H.; Fang, Z. L.; *High-throughput nanoliter sample introduction microfluidic chip-based flow injection analysis system with gravity-driven flows*, *Analytical Chemistry*, **2005**, 77, 1330-1337.
- 103- Cai, Z. X.; Chen, H. W.; Chen, B.; Huang, C. B.; *A gravity driven micro flow injection wetting film extraction system on a polycarbonate chip*, *Talanta*, **2006**, 68, 895-901.
- 104- Vieira, J. A.; Raimundo, I. M.; Reis, B. F.; *Turbidimetric determination of sulphate employing gravity flow-based systems*, *Analytica Chimica Acta*, **2001**, 438, 75-
- 105- Matos, R. C.; Augelli, M. A.; Lago, C. L.; Angnes, L.; *Flow injection analysis- amperometric determination of ascorbic and uric acids in urine using arrays of gold microelectrodes modified by electrodeposition of palladium*, *Analytica Chimica Acta*, **2000**, 404, 151-157.
- 106- Azevedo, C. M.N.; Araki, K.; Toma, H. E.; Angnes, L.; *Determination of sulfur dioxide in wines by gas-diffusion flow injection analysis utilizing modified electrodes with electrostatically assembled films of tetraruthenated porphyrin*, *Analytica Chimica Acta*, **1999**, 387, 175-180.

- 107- Daniel, D.; Gutz, L. G. R.; *Electronic micropipettor: A versatile fluid propulsion and injection device for micro-flow analysis*, *Analytica Chimica Acta* **2006**, 571, 218-227.
- 108- Matos, R. C.; Coelho, E. O.; de Souza, C. F.; Guedes, F. A.; Matos, M. A.; *Peroxidase immobilized on Amberlite IRA-743 resin for on-line spectrophotometric detection of hydrogen peroxide in rainwater*, *Talanta* **2006**, 69, 1208-1214.
- 109- Da Silva, I. S.; Richter, E.M.; do Lago, C. L.; Gutz, I. G. R.; Tanaka, A. A.; Angnes L.; *FIA-potentiometry in the sub-Nernstian response region for rapid and direct chloride assays in milk and in coconut water*, *Talanta* **2005**, 67, 651-657.
- 110- De Oliveira, A. C. A.; Assis, V.C.; Matos, M. A. C.; Matos, R. C.; *Flow-injection system with glucose oxidase immobilized on a tubular reactor for determination of glucose in blood samples*, *Analytica Chimica Acta* **2005**, 535, 213-217.
- 111- Richter, E. M.; Rocha, F. R. P.; Angnes, L.; *Multímetro interfaceado de baixo custo para aquisição de dados*, *Química Nova*, **2004**, 27, 313-314.
- 112- Paixão, T. R. L. C.; Matos, R.C.; Bertotti, M.; *Development of a dual-band amperometric detector for determination of ascorbic acid and glucose*, *Electroanalysis*, **2003**, 15, 1884-1889.
- 113- Reis, B. F.; Bergamin H. F.; *Evolução dos Injetores Empregados em Sistemas de Análise Química por Injeção em Fluxo*, *Química Nova*, **1993**, 6, 570-574.
- 114- Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; *Princípios de Análise Instrumental*, 5^a ed. Porto Alegre, Bookman, **2002**, 27.
- 115- Wang, J.; *Analytical Electrochemistry*; VCH Publishers: New York, 1994.
- 116- Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; *Princípios de Análise Instrumental*, 5^a ed. Porto Alegre, Bookman, **2002**, 586.

- 117- Souza, D.; Machado, S.A. S.; Avaca, L.A.; *Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos, Química Nova*, **2003**, 26, 81-89.
- 118- Fox, R.W.; McDownald, A.T.; *Introdução à Mecânica de Flúidos*, editora Guanabara Dois, 1981.
- 119- Puig, D.; Barceló, D.; *Determination of phenolic compounds in water and waste water, Trends in Analytical Chemistry*, **1996**, 15, 362-375.