

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

“Determinação de Mancozebe em defensivos agrícolas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) e análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica”

RENATA APARECIDA GONÇALVES SILVA

Dissertação de Mestrado

Profa. Dra. Aline Carlos de Oliveira

Orientadora

Uberlândia

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

“Determinação de Mancozebe em defensivos agrícolas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) e análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica”

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para a obtenção do título de mestre em Química.

Aluna: Renata Aparecida Gonçalves Silva

Orientadora: Profa. Dra. Aline Carlos de Oliveira

Área de Concentração: Química Analítica

Uberlândia

Agosto de 2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S586d
2014 Silva, Renata Aparecida Gonçalves, 1988-
 Determinação de Mancozebe em defensivos agrícolas utilizando
 eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) e análise por injeção em
 batelada (BIA) com detecção amperométrica / Renata Aparecida
 Gonçalves Silva. - 2014.
 74 f. : il.

 Orientadora: Aline Carlos de Oliveira.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
 Programa de Pós-Graduação em Química.
 Inclui bibliografia.

 1. Química - Teses. 2. Fungicidas - Teses. 3. - Teses. 4. - Teses. I.
 Oliveira, Aline Carlos de. II. Universidade Federal de Uberlândia,
 Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 54



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 202/PPQUI.

DATA: 28/8/2014

DISCENTE: Renata Aparecida Gonçalves Silva

MATRÍCULA: 11212QMI014

TÍTULO DO TRABALHO: Determinação de Mancozebe em defensivos agrícolas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) e análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química


LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada.

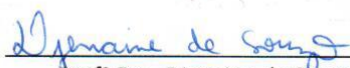
PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para a determinação de pesticidas em defensivos agrícolas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) e análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica.

Às quatorze horas do dia vinte e oito de agosto do ano dois mil e quatorze, no Auditório do Bloco 3C do Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Robson Tadeu Soares de Oliveira Júnior, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Djenaine de Souza, da Faculdade de Ciências Integradas do Pontal e Aline Carlos de Oliveira, do Instituto de Química da UFU, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

Determinação de mancozebe em defensivos agrícolas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) e análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 45 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof. Dr. Robson Tadeu S. de Oliveira Júnior
UFTM


Profª Dra. Djenaine de Souza
FACIP/UFU


Orientador(a): Prof. Dr. Aline Carlos de Oliveira – IQUFU

Universidade Federal de Uberlândia - Avenida João Naves de Ávila, nº 2121, Bairro Santa Mônica - 38.408-144 - Uberlândia - MG

+55 - 34 - 3239-4385

cpqquimica@ufu.br

<http://www.cpqquimica.iq.ufu.br>

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

ALBERT EINSTEIN

Dedico este trabalho,

Aos meus pais, Ronaldo e Sandra,

pelo exemplo de força e determinação, e que sempre me incentivaram.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, pelo dom da vida e por estar sempre ao meu lado.

Aos meus pais, a minha irmã Raíssa, ao meu sobrinho Vito, e aos meus familiares pelo apoio incondicional.

Ao Rodrigo pelo companheirismo, carinho, paciência e atenção.

A Profa. Dra. Aline Carlos de Oliveira pela orientação, paciência, pelos conhecimentos transmitidos e incentivo, contribuindo para o meu aprendizado.

Ao Prof. Eduardo Mathias Richter, pela paciência e ajuda.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz e a Profa. Dra. Djenaine de Souza por todas as contribuições e apoio para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós Graduação de Química da UFU pela oportunidade de realização do mestrado.

Aos meus amigos e companheiros: Sabrina, Patrícia, Leandro, Joyce, Júlia, pelos conselhos, pelas palavras de incentivos, atenção, e pelos momentos de descontração.

Todos os colegas e amigos de laboratório: Helieder, Polyana Fernandes, Poliana Freire, Rodrigo Montes, Mariana, Rafael Cunha, Dalyelli, Jéssica, Denise, Thiago Tormin, Gracy Faria, Polyana Luíza, Jhonys, Eduardo Almeida, Rafael Melo, Thiago Costa e todos os demais que ficarão guardados na memória. E em especial, ao Luiz André e ao José Reinaldo, pela contribuição, companhia e ajuda em diversos experimentos deste trabalho.

Ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia pelo espaço físico concedido.

A empresa Ourofino e aos colegas de trabalho pelo incentivo e motivação.

Aos membros da Comissão Examinadora pela aceitação e contribuição para este trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELA	vi
LISTA DE ABREVIACÕES E SIMBOLOS.....	vii
CAPÍTULO	1
INTRODUÇÃO	1
1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Eletrodo de Diamante Dopado com Boro	8
1.2 Amperometria	12
1.3 Análise por Injeção em Batelada.....	14
1.4 Objetivo.....	18
CAPÍTULO 2.....	19
PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	19
2.1 Reagentes e Soluções	20
2.1.1 Eletrólitos Suporte.....	20
2.1.2 Solução de $2,50 \times 10^{-2}$ mol L ⁻¹ de EDTA.....	21
2.1.3 Solução Padrão.....	21
2.1.4 Preparo das amostras analisadas	21
2.2 Equipamentos	22
2.3 Célula eletroquímica	22
2.4 Eletrodos	24
2.4.1 Eletrodo de diamante dopado com boro (DDB).....	24
2.4.2 Eletrodo de referência	24
2.4.3 Eletrodo auxiliar.....	25
2.5 Metodologia	25

2.5.1 Voltametria cíclica	25
2.5.2 Voltametria de onda quadrada.....	25
2.5.3 Otimização dos parâmetros de amperometria e BIA.....	26
2.5.4 Amperometria	26
2.5.5 Curva analítica	27
2.5.6 Efeito de interferentes sobre a determinação de Mancozebe	27
2.5.7 Determinação de Mancozebe em amostra de defensivo agrícola.....	28
CAPÍTULO 3	30
RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
3.1 Comportamento eletroquímico do Mancozebe	31
3.2 Determinação de mancozebe usando BIA com detecção amperométrica e eletrodo DDB... 39	
3.3 Estudos de interferentes na determinação de Mancozebe	46
3.4 Quantificação do fungicida Mancozebe	49
CAPÍTULO 4	51
CONCLUSÕES.....	51
CAPÍTULO 5	53
REFERÊNCIAS	53

RESUMO

O Mancozebe é um fungicida pertencente à classe dos ditiocarbamatos (DTC) amplamente empregado na agricultura como fungicida não sistêmico, controlando uma grande variedade de fungos em culturas de arroz, batata, citros e tomate. Atualmente, as indústrias agroquímicas quantificam o teor de Mancozebe em seus produtos comerciais utilizando titulação iodométrica. O maior inconveniente dessa metodologia é o tempo de análise (cerca de duas horas e trinta minutos), o que acarreta tempo de inatividade, mão-de-obra ociosa e atrasos na aprovação do produto final, gerando problemas no fluxo de produção e atrasos na entrega. Desta forma, esta dissertação apresenta um método eletroanalítico para a quantificação do fungicida Mancozebe em defensivos agrícolas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) e análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica. Para tanto, foram realizados estudos com relação à escolha do eletrólito suporte (solução fosfato pH 9,0) e do potencial aplicado (+0,3 V). Após esta etapa, parâmetros do sistema BIA tais como velocidade de injeção e volume injetado foram otimizados. Em relação à quantificação de Mancozebe foi obtida uma curva analítica com limite de detecção de $5,14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de quantificação $1,71 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Estudos de interferentes foram realizados e obteve-se coeficientes de recuperação entre 88,7 e 109 %. O teor de mancozebe foi determinado em defensivos agrícolas com erro relativo inferior a 1,85 %, e com a alta frequência analítica, cerca de 90 injeções por hora.

Palavra chave: Mancozebe. Ditiocarbamatos. Amperometria. BIA. DDB.

ABSTRACT

The Mancozeb is a fungicide belonging to the class of dithiocarbamates (DTCs) widely used in agriculture and non- systemic fungicide controlling a wide variety of fungi in crops of rice, potato, tomato, and citrus. Nowadays, the agrochemical industries quantify the content of Mancozeb in their commercial products using iodometric titration. The biggest drawback of this methodology is the analysis time (about two hours and thirty minutes), which causes downtime, hand labor and idle delays in approving the final product, creating problems in the flow of production and delays in delivery. This work presents the application electroanalytical method for the determination the fungicide Mancozeb in pesticides using boron-doped diamond electrode (BDD) and batch injection analysis (BIA) with amperometric detection. Studies regarding the choice of the electrolyte (phosphate solution pH 9.0) and potential applied (+0.3 V) were performed. And, the BIA system parameters such as injection rate and injected volume were optimized. Regarding the quantification of Mancozeb, an analytical curve with a detection limit of $5.14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ and limit of quantification $1.71 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ was obtained. Interfering studies were performed and yielded recovery coefficients between 88.70 and 108.7 %. The content of mancozeb was determined in samples of pesticides with relative error lower than 1.85 %, another advantages associated to the developed method is high analytical frequency (90 injections per hour).

Keywords: Mancozeb. Dithiocarbamates. Amperometric. BIA. BDD

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular do fungicida Mancozebe.	4
Figura 2. Estrutura molecular da ETU.	4
Figura 3. A) Perturbação aplicada, variando de E_i a E_f . B) resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial.	13
Figura 4. Diagrama esquemático da célula BIA. (A) eletrodo de trabalho; (B) eletrodo auxiliar; (C) eletrodo de referência; (D) ponteira da micropipeta; (E) orifício para preenchimento da célula; (F) barra de agitação; (G) dreno.	15
Figura 5. Etapas da aquisição do sinal transiente por BIA. [31]	16
Figura 6. A) Esquema da célula BIA. Volume total da célula: 180 mL; B) Imagem real em perspectiva da célula.	23
Figura 7. Vista dos componentes individuais da célula BIA: (1) Borboletas (porcas) para fixação nos parafusos imobilizados na base da célula; (2) placa metálica de reforço; (3) placa de circuito impresso de cobre; (4) placa de DDB (0,7 x 0,7 cm); (5) anel de borracha “o-ring” ($\varnothing_{\text{interno}} = 8$ mm); (6) tubo de vidro inserido em polietileno; (7) tampa da célula (8) , ponteira da micropipeta eletrônica (1,0 mL).	23
Figura 8. Sistema de vidrarias para a digestão ácida de Mancozebe.	29
Figura 9. Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo DDB em: (—) solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em solução fosfato pH 9,00; (—) solução fosfato pH 9,00. Velocidade de varredura: 50,0 mV s ⁻¹ .	31
Figura 10. Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em solução fosfato pH 9,00. Velocidade de varredura: 50,0 mV s ⁻¹ .	32
Figura 11. Voltamogramas cíclicos para soluções de Mancozebe, ZnSO ₄ , MnCl ₂ $1,00 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em fosfato pH 9,00. Velocidade de varredura: 50,0 mV s ⁻¹ .	33

Figura 12. Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura utilizando eletrodo DDB em solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução fosfato pH 9,00. 34

Figura 13. Dependência das correntes de pico anódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura, entre 10,0 e 100 mV s^{-1} , no eletrodo DDB em solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução fosfato pH 9,00. (—) primeiro pico de oxidação; (—) segundo pico de oxidação. 34

Figura 14. Componentes de corrente obtidas a partir do voltamograma de onda quadrada em solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução fosfato pH 9,00, sobre eletrodo DDB. $f = 90,0 \text{ s}^{-1}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2,00 \text{ mV}$. 35

Figura 15. Dependência da intensidade da corrente de pico com a frequência de aplicação dos pulsos de potencial obtidos a partir de voltamogramas de onda quadrada de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de fosfato pH 9,00 sobre DDB. $a = 50,0 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2,00 \text{ mV}$. (—) primeiro pico de oxidação; (—) segundo pico de oxidação. 36

Figura 16. Dependência da intensidade de corrente de pico com a amplitude dos pulsos de potencial obtida a partir de voltamogramas de onda quadrada de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de fosfato pH 9,00 sobre DDB com $f = 90,0 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2,00 \text{ mV}$. (—) primeiro pico de oxidação; (—) segundo pico de oxidação. 37

Figura 17. Dependência da intensidade da corrente de pico com o incremento de potencial obtida a partir dos voltamogramas de onda quadrada de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de fosfato de pH 9,00 sobre DDB. (—) primeiro pico de oxidação; (—) segundo pico de oxidação. 38

Figura 18. Mecanismo de oxidação proposto para o primeiro (0,100 V) e segundo pico de oxidação (0,600 V), respectivamente. 39

Figura 19. Efeito do eletrólito suporte e do pH na resposta do Mancozebe sobre o eletrodo DDB, em solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. 40

Figura 20. Voltamograma hidrodinâmico. Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de fosfato pH 9,00. 41

Figura 21. Estudo do efeito da velocidade de injeção para uma solução contendo $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Mancozebe em solução de fosfato pH 9,00. Potencial: 0,300 V; volume injetado: 100 μL . 42

Figura 22. Estudo do efeito da variação do volume de injeção para uma solução contendo $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Mancozebe em solução de fosfato pH 9,00. Potencial: 0,300 V; velocidade de injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$. 43

Figura 23. Amperogramas para solução de Mancozebe de concentração de $6,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Potencial de trabalho 0,300 V (—), e potencial de limpeza (—) de (A) 0,000 V, (B) -0,100 V, e (C) -0,200 V. 44

Figura 24. Curvas analíticas com sete níveis de concentrações diferentes de Mancozebe ($4,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $6,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução de fosfato pH 9,00. Potencial de trabalho 0,300 V, potencial de limpeza: -0,100 V por 0,5s (gráfico A); 0,8 s (gráfico B); e 1 s (gráfico C). 45

Figura 25. Curva de recuperação para solução de Mancozebe $8,94 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de fosfato pH 9,00 na presença do Componente A usando eletrodo DDB em amperometria, $E = 0,300 \text{ V}$. 47

Figura 26. Amperogramas obtidos para as amostras de Mancozebe. Eletrólito suporte: solução fosfato pH 9,00; potencial: -0,100 V (—) e 0,300 V (—). 49

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Parâmetros investigados e os valores selecionados para a determinação de Mancozebe.	46
Tabela 2: Resultados de recuperação obtidos para a determinação de Mancozebe na presença do Componente A.	47
Tabela 3: Resultados de recuperação obtidos para a determinação de Mancozebe na presença do Componente B.	48
Tabela 4: Resultados de recuperação obtidos para a determinação de Mancozebe na presença dos Componentes A e B.	48
Tabela 5: Concentração de Mancozebe obtida pelo método proposto em BIA e por titulação iodométrica (g kg^{-1} de amostra) e os respectivos valores de erro relativo (n=3)	49

LISTA DE ABREVIACÕES E SIMBOLOS

\varnothing_i - Diâmetro interno

CIPAC - Collaborative International Pesticide Analytical Council

a – Amplitude de pulso

AMP - Amperometria de Múltiplos Pulsos

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC – do inglês, “*Association of Official Analytical Chemistry*”

BIA - Análise por Injeção em batelada, do inglês “*Batch Injection Analysis*”

CVD – do inglês, “*Chemical Vapor Deposition*”

DAP – Detecção Amperométrica Pulsada

DDB - Diamante Dopado com Boro

DP - Desvio Padrão

DPR - Desvio Padrão Relativo

EA - Eletrodo Auxiliar

EBDC – Etilenobisditiocarbamato

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético, do inglês “*Ethylenediamine tetraacetic acid*”

EPA – Agência de Proteção Ambiental, do inglês “*Environmental Protection Agency*”

ER - Eletrodo de Referência

ET – Eletrodo de Trabalho

ETU – Etilenotiourea

f – Frequência de aplicação de pulso de potencial

FIA – Análise por Injeção em Fluxo, do inglês “*Flow Injection Analysis*”

HPHT – do inglês, High Pressure/ High Temperature

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

VC - Voltametria cíclica

ΔE_s – Incremento de varredura

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O Decreto 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei 7.802/1989, em seu artigo 1º, inciso IV, define os agroquímicos como [1]:

Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias de produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento.

A mesma lei tem ainda como objetos de interesse a vigilância dos componentes e afins, que são definidos:

Componentes: são os princípios ativos, os produtos técnicos, suas matérias-primas, os ingredientes inertes e aditivos usados na fabricação de agrotóxicos e afins.

Afins: são os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos; substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento;

Podem ser encontradas, ainda, diversas outras definições em textos sobre o assunto:

- Defensivos agrícolas, agrotóxicos, pesticidas ou praguicidas são produtos naturais ou sintéticos, que atuam sobre pragas, ervas e fungos na produção agrícola [2];
- Defensivos agrícolas são substâncias com ação biológica que têm por finalidade defender as plantas de algum agente nocivo [3];
- Defensivos agrícolas, praguicidas ou pesticidas são substâncias químicas utilizadas para prevenir, combater ou controlar uma praga. Martins *et al.*[4] ressalta, ainda, que não podem ser considerados defensivos agrícolas as vacinas, medicamentos, antibióticos de uso humano ou veterinário e os agentes usados para o controle biológico das pragas;
- Pesticida é qualquer substância ou mistura de substâncias que tem por finalidade prevenir, destruir, repelir ou mitigar qualquer peste (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos - EPA). Registra ainda a EPA que a legislação americana também considera

como pesticida qualquer substância ou mistura de substâncias usada como desfolhante, dessecante, estimulador ou inibidor de crescimento [5].

Segundo sua finalidade, os agroquímicos são divididos nas seguintes classes de uso: inseticidas (combatem insetos em geral), fungicidas (atingem os fungos) e herbicidas (que matam as plantas invasoras ou daninhas). Os pesticidas são usados na agricultura, na pecuária e mesmo no ambiente doméstico: inseticidas, fungicidas, acaricidas, nematocidas, herbicidas, bactericidas, vermífugos [6].

Aproximadamente 600 ingredientes ativos são utilizados na formulação de defensivos agrícolas para uso específico na agricultura [7]. Esses pesticidas fazem parte de uma grande variedade de substâncias químicas com diferentes grupos funcionais e, desta forma, apresentam diferentes modos de ação, biotransformação e eliminação. Os pesticidas podem ser divididos em organofosforados, derivados de uréia, carbamatos, ditiocarbamatos, organoclorados, bupiridílios, piretróides e nitrocompostos, entre outros, sendo que alguns deles podem causar danos à saúde e ao meio ambiente.

O Brasil é o terceiro maior mercado mundial de pesticidas, com aproximadamente 400 ingredientes ativos registrados no país, incluindo seis ditiocarbamatos, que são importantes fungicidas de ação não sistêmica e de amplo espectro de atividades empregados para controle de fungos em uma grande variedade de culturas (arroz, batata, citros e tomate) [8].

Dentre os ditiocarbamatos destaca-se, o Mancozebe, que é uma mistura de [[1,2-etilenobisditiocarbamato] (2-)] de manganês e zinco, pertencente ao subgrupo etileno-bis-ditiocarbamatos, os quais são compostos orgânicos sulfurados derivados do ácido bis-ditiocarbâmico. Trata-se de uma molécula insolúvel em solventes orgânicos, como por exemplo, acetona, acetonitrila, metanol, etanol, apresenta baixa solubilidade em água e decompõe na presença de radiação ultravioleta e em soluções ácidas [9].

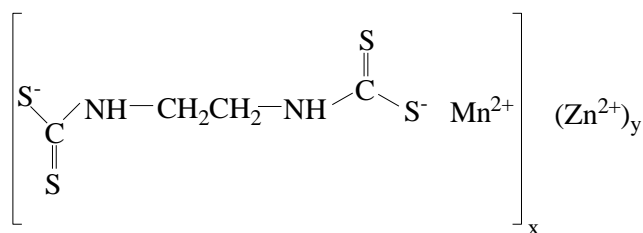


Figura 1. Estrutura molecular do fungicida Mancozebe.

Desde sua apresentação em 1967, o Mancozebe vem sendo amplamente utilizado no mundo por apresentar alta eficiência no combate de várias espécies de fungos, prevenção no crescimento de mofo e por prevenir as culturas de danos causados por fungos, e por apresentar baixa toxicidade. No entanto, os EBDCs apresentam riscos associados ao seu principal produto de metabolização, a etilenotiouréia (ETU).

A ETU (Figura 2) pode provocar hiperplasia da tireóide e alterações significativas nos níveis séricos dos hormônios tireoidianos, no homem e em animais de laboratório, além de apresentar efeitos teratogênicos, carcinogênicos, mutagênicos e imunotóxicos. Outro metabólito com ações toxicológicas significativas é o dissulfeto de carbono (CS_2) que induz a neuropatologias, decréscimo no nível de testosterona, mudanças degenerativas no tecido testicular e afeta a espermatogênese. O manganês também presente na molécula de Mancozebe e Manebe, ambos ditiocarbamatos, pode provocar hidrocefalia e Parkinsonismo [10].

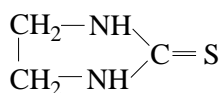


Figura 2. Estrutura molecular da ETU.

Estudos comprovaram o efeito carcinogênico, desordens reprodutivas e neurotoxicidade em animais de laboratórios, e em trabalhadores rurais expostos ao Mancozebe, os quais não usam os devidos equipamentos de proteção necessários para o manuseio do produto [11].

O Mancozebe é classificado, segundo a ANVISA, como um fungicida de classificação ambiental II, ou seja, muito perigoso ao meio ambiente [12]. Essa classificação é baseada nos parâmetros de bioacumulação, persistência, transporte, toxicidade a diversos organismos, potencial mutagênico, teratogênico (capaz de produzir danos ao feto durante a gestação causando anomalias) e carcinogênico.

Os ditiocarbamatos atuam nos fungos inibindo enzimas essenciais a esses microorganismos, como por exemplo, piruvato desidrogenase, oxoglutarato desidrogenase e succinato desidrogenase, interferindo na produção de energia [13].

Atualmente, o controle de qualidade de defensivos agrícolas a base de Mancozebe em indústrias nacionais utiliza titulação iodométrica. A metodologia empregada consiste na digestão ácida do fungicida originando o gás dissulfeto de carbono (CS_2) que é borbulhado em uma solução metanólica de hidróxido de potássio, sendo então titulado. O maior inconveniente dessa metodologia é o tempo de análise (cerca de duas horas e trinta minutos), o que acarreta tempo de inatividade na produção, mão-de-obra ociosa e atrasos na aprovação do produto final, gerando problemas no fluxo de produção e atrasos na entrega.

Outra metodologia proposta, porém não empregada em indústrias agroquímicas, para quantificação de Mancozebe é dada por Gustafsson e Thompson [14], a qual consiste na derivatização do fungicida por meio de um processo de metilação, sendo a molécula derivatizada quantificada por cromatografia líquida de alta eficiência. A amostra de Mancozebe é solubilizada em solução de 25 m mol L^{-1} de EDTA (pH 9,5), em seguida é filtrada e o pH da solução ajustado entre 6,5-8,5 com a adição de $\text{HCl } 2 \text{ mol L}^{-1}$ e 5 mL de hidrogenossulfato de tetrabutilamonio $0,4 \text{ mol L}^{-1}$. A mistura então é agitada no funil de separação com 30 mL de metil iodeto $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ em clorofórmio e hexano na proporção 3:1. Após coletado a fase orgânica, a mesma é concentrada no rotaevaporador com 5 mL de 1,2-propenodiol 20% (v/v) em clorofórmio. Em seguida a fase orgânica concentrada é transferida para um balão volumétrico de 10 mL e diluída com metanol. Dessa solução são retirado 0,5 g e diluídas para 10 g com metanol, da qual 20 μL é injetados no cromatógrafo líquido de alta eficiência nas seguintes condições: fase móvel 50:50 (acetonitrila/água), fluxo de 1 mL min^{-1} , comprimento de onda 272 nm, sendo o tempo de retenção aproximadamente 9,3 min.

Outros métodos indiretos para a quantificação de Mancozebe utilizam-se de técnicas como espectrofotometria, cromatografia gasosa e cromatografia gasosa com injetor headspace. Tais técnicas são de alto custo e necessitam de alto tempo de análise sendo inconveniente para serem empregadas em laboratórios de controle de qualidade, além de utilizar reagentes e solventes com alto grau de toxicidade, como metanol, clorofórmio, hidrogenossulfato de tetrabutilamonio, hexano, metil iodeto, entre outros.

Em 1996, Lo *et al.* [15] propuseram a associação das técnicas de absorção atômica e cromatografia líquida com detecção ultravioleta para determinação de

ditiocarbamatos, afim de distinguir o fungicida Propinebe dos demais ditiocarbamatos Zinebe, Manebe, e Mancozebe em produtos formulados, o que não é possível pelo método de titulação iodométrica do CS_2 . Primeiramente, a concentração de Propinebe foi determinada pelo método proposto por Gustafsson e Thompson [14]. Em seguida a técnica de absorção atômica foi utilizada para determinar a concentração de Zn e Mn. Se os resultados da absorção atômica mostrarem que a concentração de Zn é maior que 10%, a amostra é considerada como sendo Zinebe; se a concentração de Zn é maior que 10% e de Mn menor que 2% a amostra é considerada como sendo Manebe; e se a concentração de Zn é maior que 2% e de Mn maior que 10% a amostra é considerada como sendo Mancozebe.

Em 2006, J. Moros *et al.* [16, 17], propuseram duas metodologias para a determinação direta de Mancozebe em agroquímicos: espectroscopia de infravermelho médio, e espectroscopia de infravermelho próximo com transformada de Fourier. Em ambos os casos utiliza-se uma identificação prévia das amostras usando uma classificação dendrográfica e calibração de mínimos quadrados parciais, estabelecida a partir de um conjunto de nove padrões externos e otimizados para cada tipo de amostra. Moros comparou as duas metodologias propostas como o método de Gustafsson e Thompson [14], e observou as seguintes vantagens: alta frequência analítica, diminuição do volume de reagentes e de resíduos gerados, além dos métodos propostos não serem destrutivos.

Armenta *et al.* [18] propuseram a determinação direta de Mancozebe por espectrometria fotoacústica. A metodologia consiste na medida direta do espectro de transmitância de amostras sólidas e modelo de calibração multivariada para quantificação do Mancozebe em produtos comerciais. O método proposto apresenta alta frequência analítica, não necessita de etapa de pré-tratamento da amostra e é uma alternativa aos métodos cromatográfico e clássico (titulação iodométrica), porém, apresenta alto custo instrumental e altos limites de detecção e quantificação.

Recentemente Mujawar *et al.* [19] desenvolveram uma metodologia analítica para quantificar ditiocarbamatos em matrizes vegetais (frutas e legumes) que apresentou baixo limite de quantificação, menor que $40 \mu\text{g Kg}^{-1}$. A preparação da amostra vegetal consiste na reação do ditiocarbamato com cloreto de estanho (II) em solução acidificada com HCl, em seguida o CS_2 produzido nesta etapa é absorvido em isoctano e determinado utilizando a técnica de cromatografia gasosa acoplada com detector de espectrometria de massa. A principal vantagem da metodologia proposta pelos autores é o baixo efeito de matriz, proporcionado pelo detector de espectroscopia de massa.

Outros autores propuseram a determinação de ditiocarbamatos em matrizes vegetais utilizando técnicas como: cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons e nitrogênio fósforo [20], espectrometria de absorção atômica com detector de chama [21, 22], cromatografia gasosa com detector de chama [23], cromatografia gasosa com injetor de *head space* [24, 25]. Estes métodos quantificam o resíduo de ditiocarbamatos em matrizes vegetais decompondo o mesmo em dissulfeto de carbono o qual é absorvido em solvente orgânico e determinado utilizando algumas das técnicas descritas acima. Tais metodologias apresentam como desvantagem alto efeito de matriz, podendo gerar falsos resultados, além de utilizar reagentes tóxicos e técnicas de alto valor agregado.

Os métodos eletroanalíticos são métodos geralmente não destrutivos, que possuem baixa produção de resíduos, baixo custo de análise e de equipamento, baixo desvio padrão entre as análises, alta sensibilidade e permitem a determinação direta, rápida, simultânea e precisa de diversos analitos em uma única varredura, sem a necessidade de etapa de separação ou pré-tratamento. Devido a todas essas vantagens, os métodos eletroanalíticos podem ser empregados para a quantificação de ingredientes ativos em defensivos agrícolas. A possibilidade do uso desses métodos é atribuída à eletroatividade desse composto, ou seja, a facilidade com que ele sofre reações de oxidação ou redução em sensores eletroquímicos.

Em 1999, Lin *et al.* [26] determinaram a concentração de ditiocarbamato, Zinebe, em defensivos agrícolas utilizando a técnica de *stripping* catódico e eletrodo gotejante de mercúrio. A molécula de Zinebe é pré-concentrada na superfície do eletrodo gotejante de mercúrio aplicando potencial de -0,3 V, em seguida as moléculas pré-concentradas na superfície do eletrodo são quantificadas no intervalo de potencial de -0,3 V a -0,7 V. O limite de detecção da metodologia desenvolvida por Lin é $1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, apresentando alta sensibilidade e rapidez nas determinações.

Em 2013, Swarupa *et al.* [27] propuseram um método eletroquímico para determinar Mancozebe em leite. Os autores compararam o desempenho de dois eletrodos: carbono vítreo e carbono vítreo modificado com polianilina. O Mancozebe foi quantificado utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial, sendo reduzido no intervalo de 0,00 a -0,80 V. O método proposto apresentou limite de detecção de $2,60 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ utilizando o eletrodo de carbono vítreo modificado com polianilina, o qual apresentou boa estabilidade, reprodutibilidade, e baixa adsorção do analito, sendo assim apresenta uma ferramenta rápida e de baixo custo para a detecção e determinação de Mancozebe.

1.1 Eletrodo de Diamante Dopado com Boro

Diferentes materiais eletródicos podem ser empregados na construção de eletrodos para aplicações em eletroanalítica. Dentre esses materiais, pode-se destacar o filme de diamante dopado com boro (DDB), que desde a década de 1990 vem sendo utilizado na fabricação de eletrodos.

O diamante é um polimorfo do carbono puro, cristaliza no sistema cúbico, geralmente em cristais com forma octaédrica (8 faces) ou hexaquisoctaédrica (48 faces), frequentemente com superfícies curvas, arredondadas, incolores ou coradas, e possui propriedades únicas, como por exemplo, densidade atômica, dureza, capacidade de isolamento elétrico, condutividade térmica e inércia química [28].

Na década de 50 foram desenvolvidos dois métodos para a síntese do diamante artificial: a deposição química do filme de diamante a partir da fase de vapor (Chemical Vapor Deposition – CVD) por filamento quente ou microondas em diferentes substratos, e o crescimento a alta-pressão/ alta temperatura (High-Pressure/High-Temperature-HPHT), sendo o primeiro método desenvolvido por Willian Eversole, o qual usou um fluxo de metano sobre uma grade de diamante aquecida á uma baixa taxa de crescimento, porem Eversole obteve uma quantidade significativa de grafite, o que mais tarde, com a contribuição de outros pesquisadores [29], foi eliminado com ataque de hidrogênio atômico.

A deposição química do filme de diamante utilizando o método CVD é o mais empregado devido à viabilidade econômica, por permitir o crescimento dos filmes em vários substratos de diferentes tamanhos e formatos, à versatilidade, e por utilizar reatores de construção e manuseio simplificado [30]. Porém o crescimento de filmes de diamante em alta-pressão/ alta temperatura, desenvolvido pela General Electric, é o que mais se assemelha ao processo de formação natural.

Uma das grandes diferenças entre os métodos de síntese do diamante, CVD e HPHT, são: enquanto que o primeiro necessita de temperaturas da ordem de 1270 K e pressões atmosféricas da ordem de 1000 a 10000 Pa; o segundo necessita de temperaturas aproximadamente de 1670 K e de pressões altíssimas, da ordem de 5×10^9 Pa [31].

Vários substratos podem ser utilizados no crescimento de filmes de diamante, sendo que os mais comuns são: silício, molibdênio, tungstênio, titânio, platina e quartzo, inclusive o próprio diamante; mas deve-se considerar a semelhança entre o parâmetro de rede

e/ou coeficiente de dilatação térmica dos dois materiais, para facilitar o crescimento de um filme aderente e de qualidade [32]. Migliorini, desenvolveu eletrodos de diamante dopado com boro com diferentes níveis de dopagem, e diferentes tempos de deposição, crescidos sobre substratos de titânio, utilizando a técnica da CVD, afim de aplica-los na degradação eletroquímica de corante de indústria têxtil. Os resultados mostraram que o eletrodo de dopagem intermediária e de maior tempo de deposição apresentou a melhor eficiência na degradação do corante, o que evidencia a forte influência no controle da produção dos eletrodos de diamante quanto a sua condutividade e qualidade para as diferentes aplicações propostas para esse material [33].

Os filmes de diamante podem ser formados com duas morfologias distintas: nanocristalina, a qual apresenta grãos de diâmetro de aproximadamente 20,0 nm e microcristalina, que apresenta grãos de diâmetro maiores que 1,00 μm . A primeira morfologia apresenta textura lisa, para a construção do filme é utilizado gases de metano e argônio com razão volumétrica de 1,0 %, a 100-150 torr e temperaturas entre 700-900 °C. A morfologia microcristalina é obtida utilizando mistura gasosa de metano e hidrogênio a uma vazão volumétrica entre 0,3-1,0 %, a 35-65 torr e temperaturas entre 700-900 °C [34].

Quando um filme de diamante é dopado, o mesmo adquire condutividade, passando a ser um candidato a material eletródico [35, 36]. Diferentes materiais dopantes podem ser usados, como por exemplo, boro, fósforo, enxofre ou nitrogênio. O boro é o dopante mais utilizado na obtenção de filmes de diamante, sendo que a concentração do mesmo deve ser de 1×10^{19} átomos cm^{-3} ou mais. A dopagem do diamante é feita durante o crescimento do filme; para isto, utiliza-se um composto volátil de boro, por exemplo, trimetilborato, que é adicionado à fase gasosa numa quantidade de 10-10000 ppm. A resistividade do diamante dopado depende da concentração de boro no filme, por exemplo, de $10^4 \Omega \text{ cm}$ para uma concentração de boro próxima a 10^{21} átomos cm^{-3} . Assim, as propriedades dos filmes de diamante variam sucessivamente desde as de material dielétrico às de semicondutor, semicondutor degenerado e, semimetal, à medida que essa concentração de material dopante aumenta na estrutura do diamante [37].

Estudos foram realizados para avaliar a redução de nitrato utilizando eletrodos de DDB com diferentes níveis de concentração de boro, e mostraram uma forte dependência entre o nível de dopagem do eletrodo de DDB e a detecção de nitrato, sendo que eletrodos com maiores concentrações de boro apresentaram maior sensibilidade para a detecção de

nitrito. Este comportamento foi atribuído as mudanças químicas ocorridas na superfície do eletrodo e ao tamanho dos grãos do filme [38].

Após o crescimento dos filmes de DDB, uma das etapas mais importantes na montagem do eletrodo é o estabelecimento do contato elétrico, normalmente ôhmico (contato entre um metal e um semicondutor), o qual deve apresentar resistência mínima. Além disto, o isolamento de todas as partes do eletrodo é de grande importância uma vez que, o filme deve ter sua borda totalmente vedada para que somente a superfície do diamante dopado fique exposta à solução [37].

Os eletrodos de filme de DDB apresentam melhores propriedades para aplicação em eletroquímica e eletroanalítica em relação a outras formas de carbono (grafite, carbono vítreo, carbono pirolítico, etc.), tais como: (1) baixa e estável corrente capacitiva (corrente de fundo), (2) ampla janela de potencial em meio aquoso, (3) rápida cinética de transferência de elétrons em vários sistemas redox, (4) fraca adsorção molecular (baixa passivação), (5) estabilidade dimensional, morfológica e microestrutural a altas (até em torno de 180 °C) e baixas temperaturas, (6) resistência à corrosão, (7) boa transparência óptica, (8) inércia química, e (9) baixo coeficiente de fricção [33]. Em funções destas propriedades o eletrodo de DDB tem sido empregado em estudos eletroanalíticos, e ambientais no que se trata de tratamento de efluentes.

Na utilização deste material (DDB) em eletroanálise, uma característica importante a ser considerada é que suas propriedades eletroquímicas, principalmente a alta velocidade de transferência de carga, são altamente sensíveis a sua terminação superficial (hidrogênios ou oxigênios), a qual pode ser controlada através de tratamentos eletroquímicos. Em muitos casos as respostas eletroquímicas de sistemas redox são notavelmente diferentes utilizando o eletrodo de DDB com terminações de hidrogênio e de oxigênio [37].

Tratamentos catódicos (redução de água) são usados para produzir terminações hidrogênio na superfície eletródica, passando o eletrodo a apresentar alta afinidade eletrônica negativa e alta condutividade. Por outro lado, tratamentos anódicos (oxidação da água) produzem terminações oxigênio na superfície do eletrodo, o qual passa ser hidrofílico, e apresenta afinidade eletrônica positiva e tem baixa condutividade. Tratamentos por plasma também podem ser utilizados (oxigênio, hidrogênio, flúor, etc) ou soluções de ácidos fortes em ebulição. Estudos sobre a influência destes tratamentos no comportamento de DDB em eletroanálise são reportados na literatura [39, 40].

Suffredini *et al.* [41] estudaram o comportamento eletroquímico de pesticidas após tratamento catódico da superfície do eletrodo de DDB, o qual foi tratado utilizando uma solução de ácido sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ aplicando-se $-3,0 \text{ V}$ por 30 minutos. Os resultados mostraram que a resposta eletroquímica do eletrodo de DDB é afetada pelo tipo de pré-tratamento aplicado à superfície eletródica, sendo que este tratamento promoveu o aumento da resposta eletroquímica.

Em 1999, pesquisadores compararam as respostas eletroquímicas de sistemas redox sobre o eletrodo de DDB com terminações em hidrogênio e oxigênio, sendo as respostas eletroquímicas diferentes, por exemplo, em relação a transferência de elétrons dos pares redox de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ e $\text{IrCl}_6^{2-/3-}$ a qual se tornava mais lenta quando a terminação superficial do eletrodo era oxigênio, enquanto que a transferência de elétrons do par redox $\text{Fe}^{3+/2+}$ era acelerada, porém a transferência de elétrons para os pares redox $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+/2+}$ e $\text{Co}(\text{en})_3^{3+/2+}$ não dependia da terminação superficial do eletrodo de DDB [42].

Outros pesquisadores também avaliaram o comportamento eletroquímico do sistema $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ sobre eletrodos de DDB, o qual foi tratado previamente com plasma de oxigênio. A partir dos resultados apresentados neste trabalho nota-se a que a resposta eletroquímica do par redox é dependente da terminação superficial do eletrodo de DDB [43].

Em função das propriedades citadas acima, o eletrodo de DDB está sendo cada vez mais utilizado no desenvolvimento de procedimentos eletroanalíticos, tanto na determinação de compostos orgânicos como inorgânicos em diferentes tipos de amostras [28, 40].

Em 1993 foi publicado o primeiro trabalho utilizando eletrodo de DDB em aplicações eletroquímicas. Neste trabalho, Swain e Ramesham [44] apresentaram as previamente citadas propriedades do eletrodo de DDB, e despertaram a atenção para a utilização deste material em eletroquímica. Desde então vários trabalhos são publicados utilizando o eletrodo de DDB.

Em 2003, Pedrosa [45] determinou o pesticida 4-clorofenol em água pura e natural, sobre o eletrodo de DDB utilizando voltametria de onda quadrada. O 4-clorofenol apresentou um pico de oxidação em $0,80 \text{ V VS Ag/AgCl}$ nas seguintes condições: o tampão Britton-Robinson pH 6,0 foi utilizado como eletrólito suporte, com frequência de onda quadrada de 100 s^{-1} , amplitude de 50 mV e incremento de varredura de 2 mV . O método proposto apresentou limite de detecção $6,4 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ em água pura, e $21,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ em água natural.

Silva [46] quantificou simultaneamente os pesticidas paraquat e diquat utilizando eletrodo de DDB e voltametria de onda quadrada acoplada á métodos quimiométricos, o qual foi necessário devido a sobreposição dos picos voltamétricos. Teixeira [47] quantificou o pesticida carbaril em água utilizando eletrodo de DDB e o eletrodo de DDB modificado pelo método Sol-gel com óxidos de chumbo. Para a determinação do pesticida, foi empregado a técnica de voltametria de onda quadrada em tampão Britton-Robinson pH 6,0, os limites de detecção encontrados para o eletrodo de DDB e o DDB modificado foram respectivamente, 2,0 e 0,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sendo que eletrodo de DDB modificado apresentou alta repetibilidade e reprodutibilidade entre as medidas, apresentando resultados melhores e atividade catalítica superior ao eletrodo DDB não modificado.

Em 2012, Pereira [48] desenvolveu um método para quantificar Bisfenol A utilizando o eletrodo DDB com terminações de hidrogênio e o limite de detecção obtido foi de $2,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Fierro *et al.* [49] propôs um método eletroquímico para quantificar Cr^{6+} utilizando o eletrodo DDB com limite de detecção de 3 ppb . Em 2013, Eisele propôs método para quantificar simultaneamente paracetamol, cafeína e orfenadrina utilizando o eletrodo de DDB, que apresentou limite de detecção $2,3 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $9,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $8,4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente [50]. França propôs metodologia para quantificar simultaneamente os pesticidas carbendazim e fenamifos em águas naturais utilizando eletrodo de diamante dopado com boro apresentando limite de detecção $1,2 \times 10^{-7}$ e $3,0 \times 10^{-7}$, respectivamente [51].

1.2 Amperometria

A amperometria baseia-se na aplicação de um único pulso de potencial (Figura 3 A), produzindo-se uma corrente que decai rapidamente com o tempo (Figura 3 B) [52]. Na amperometria, o eletrodo de trabalho é mantido num potencial constante adequado em função do tempo, no qual ocorre a oxidação ou redução eletroquímica de compostos eletroativos de interesse.

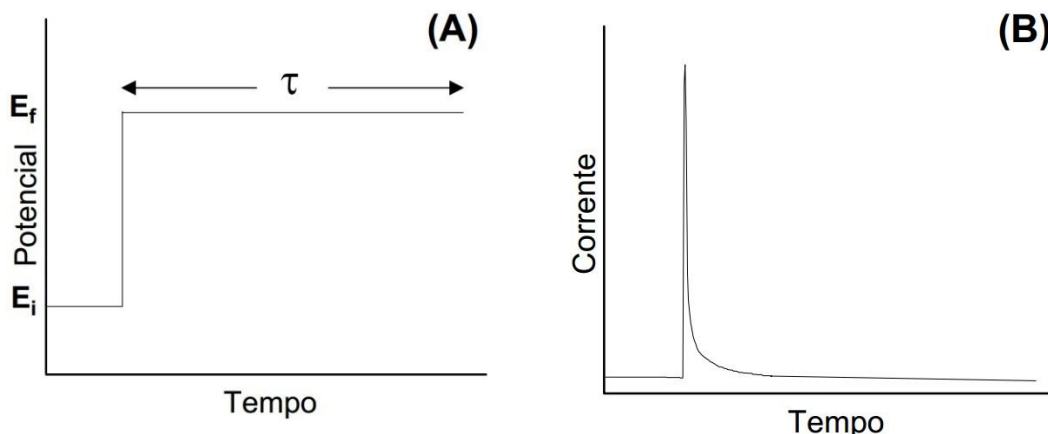


Figura 3. A) Perturbação aplicada, variando de E_i a E_f . B) resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial.

Uma das desvantagens associada a esse modo de detecção é a baixa seletividade. Quando a análise é realizada em potenciais extremos (positivos ou negativos), promove-se a oxidação ou a redução de todas as espécies que são eletroativas em potenciais abaixo do valor estabelecido. Desta forma, é aconselhável empregar valores mínimos de potencial, mesmo quando esses não estão no máximo de corrente de oxidação/redução do analito.

Outra limitação da amperometria convencional é a estabilidade do sinal eletroquímico em função do tempo quando determinados compostos são analisados, comprometendo a repetibilidade da resposta e a reprodutibilidade dos resultados. A estabilidade do sinal eletroquímico é governada pela taxa de transferência de carga (elétrons) entre o eletrodo e a espécie eletroativa (presente na interface eletrodo-solução), que por sua vez depende das condições da superfície do eletrodo. A superfície do eletrodo pode ser modificada gradativamente durante o experimento, dependendo do tipo de composto que está envolvido no processo eletroquímico. Quando uma espécie eletroativa e/ou produto de reação adsorvem ou eletropolimerizam na superfície do eletrodo de modo irreversível ou quase-irreversível, uma contaminação e/ou passivação de um eletrodo sólido é comum ocorrer. A passivação e/ou contaminação da superfície do eletrodo pode afetar a taxa de transferência de carga entre o eletrodo e o analito, assim como produzir sinais eletroquímicos devido aos produtos adsorvidos, que interferem no sinal eletroquímico de interesse.

Uma maneira de resolver o problema de passivação e/ou contaminação da superfície do eletrodo é aplicação da Detecção Amperométrica Pulsada (DAP). Nesta técnica, pulsos de potenciais são aplicados ao eletrodo de trabalho sequencialmente e continuamente (ciclicamente) em função do tempo. A DAP geralmente contorna de forma simples as

limitações da detecção amperométrica convencional (potencial constante) em relação à estabilidade do sinal eletroquímico em função do tempo. A resposta do eletrodo apresenta estabilidade por um maior período de tempo devido à periódica limpeza eletroquímica que pode ser realizada durante a análise, evitando ou diminuindo a contaminação da superfície do eletrodo [53, 54]. A técnica DAP é disponibilizada na maioria dos softwares comerciais de potenciostatos disponíveis no mercado. O número de pulsos de potenciais aplicáveis varia entre os diferentes equipamentos comercializados (mínimo de dois e até seis pulsos de potenciais). Porém, a aquisição do sinal de corrente é normalmente restrita a um único pulso de potencial. Uma alternativa a esta técnica é a Amperometria de Múltiplos Pulsos (AMP), que permite a aplicação de até 10 pulsos de potenciais com a possibilidade de aquisição do sinal de corrente em função do tempo em cada pulso de potencial (aquisição de 10 amperogramas distintos “simultaneamente”).

A AMP possibilita a quantificação seletiva de dois compostos eletroativos presentes em uma mesma amostra [55, 56]. Um composto é diretamente detectado em um primeiro pulso de potencial (sem interferência da outra espécie). Em um segundo pulso de potencial (de maior intensidade), ambos os compostos presentes na amostra são oxidados e o segundo composto é detectado indiretamente. Além disso, a aplicação de um pulso de potencial adicional pode ser empregada para constante limpeza eletroquímica do eletrodo.

1.3 Análise por Injeção em Batelada

As análises em campo tornaram-se essenciais na química analítica devido à crescente demanda por análises rápidas de um grande número de amostras (por vezes, em tempo real), e a diminuição dos custos e problemas associados ao transporte da amostra para o laboratório. Contudo, o desenvolvimento de sistemas automatizados, com alta velocidade e baixo custo de análises, aliados a ótima exatidão e precisão cresceu conjuntamente à demanda por metodologias. Análises por Injeção em Fluxo (FIA) combinadas com detectores eletroquímicos oferecem alta velocidade, sensibilidade, seletividade, exatidão e precisão; e assim tem sido altamente empregada no desenvolvimento de métodos analíticos [56, 57, 58]. Em FIA, a amostra é injetada em intervalos regulares, e transportada ao detector eletroquímico por um fluxo líquido contínuo transportador.

As análises por injeção em batelada (BIA – do inglês “Batch injection analysis”) são uma alternativa ao FIA para o desenvolvimento de métodos analíticos para fins de rotina [59]. A desvantagem associada à bomba e às válvulas do sistema FIA (especialmente quando solventes orgânicos são usados como transportador), e o resíduo gerado pelas soluções transportadoras é eliminado [60]. No entanto, apesar da simplicidade em comparação com o FIA, aplicação de BIA com detecção eletroquímica não é muito empregada, devido [61, 62] a dificuldade de incluir etapas de preparação da amostra no sistema BIA, que é essencial para análise de matrizes complexas [61].

Wang e Taha [63] publicaram em 1991 o primeiro trabalho utilizando a técnica BIA. Esta técnica é baseada na injeção de pequenos volumes do analito na superfície de um detector fixado a uma pequena distância a partir de uma ponta de uma pipeta. As adições são feitas em uma célula eletroquímica contendo um grande volume de eletrólito suporte inerte (célula BIA).

A Figura 4 apresenta um diagrama esquemático de uma célula BIA [62].

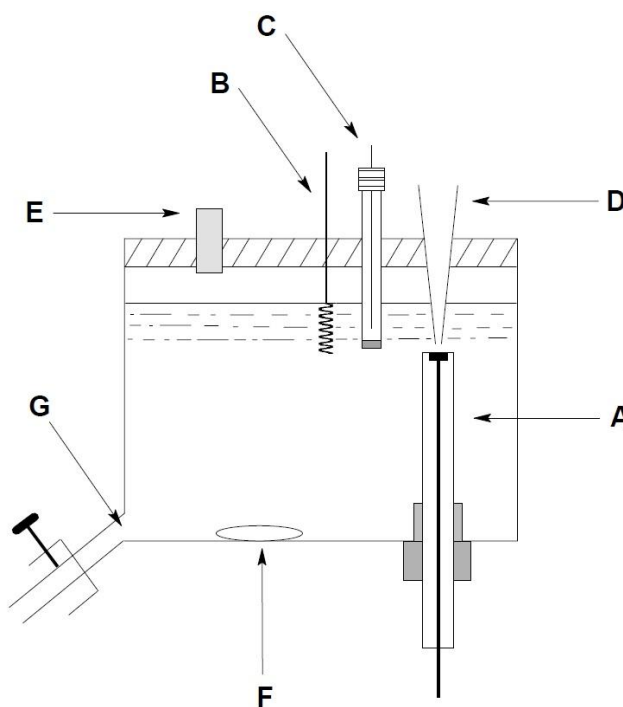


Figura 4. Diagrama esquemático da célula BIA. (A) eletrodo de trabalho; (B) eletrodo auxiliar; (C) eletrodo de referência; (D) ponteira da micropipeta; (E) orifício para preenchimento da célula; (F) barra de agitação; (G) dreno.

Em uma célula do tipo BIA, o eletrodo de trabalho (ET) é posicionado no sentido oposto ao da injeção (Figura 4); esta é uma posição invertida em relação à normalmente

utilizadas em células eletroquímicas. Para a injeção das soluções de análise pode ser utilizada uma micropipeta convencional ou micropipeta eletrônica [64]. Porém, com intuito de aplicação do método, a micropipeta eletrônica fornece maior precisão, pois as condições (volume e principalmente velocidade de injeção) são reguladas eletronicamente. Logo, operadores com pouca ou nenhuma experiência podem realizar as injeções ao sistema de forma reprodutível. A ponteira da micropipeta é acomodada em um orifício (localizado na tampa da célula) posicionado na direção exatamente oposta (frontal) ao ET, de modo que todas as injeções sejam feitas com distâncias idênticas entre a ponteira e a superfície do ET. O ET pode ser movido para cima ou para baixo, de modo a ajustar a melhor distância entre a superfície do eletrodo e a ponteira da micropipeta. Em outros dois orifícios localizados na tampa superior da célula são fixados o eletrodo de referência (ER) e o eletrodo auxiliar (EA). Se necessário, pode ser inserida uma barra magnética para acelerar o transporte de massa no interior da célula. Por fim, é adicionada a solução do eletrólito suporte em volume suficiente para que os três eletrodos tenham contato elétrico entre si.

Utilizando a Figura 5, os conceitos de BIA podem ser explicados. Quando as soluções amostra e/ou padrão (na ordem de microlitros) são injetadas, formam uma zona que se dispersa a caminho do eletrodo, com transporte reprodutível e dispersão controlada em tempo e espaço. O sinal que se tem como resposta das injeções, tem forma de pico transiente, procedido de uma queda rápida do sinal até a linha de base. O decréscimo instantâneo é devido ao efeito de “limpeza” (*washing out*) da configuração do tipo *wall-jet* [65]. A magnitude da resposta é proporcional às concentrações das soluções injetadas. A Figura 4 apresenta as etapas descritas anteriormente para a aquisição do sinal.

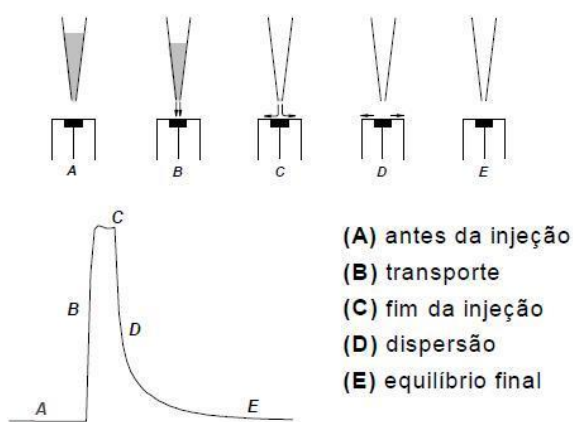


Figura 5. Etapas da aquisição do sinal transiente por BIA. [65]

Os resultados obtidos com êxito em BIA têm sido atribuídos a alguns fatores como o princípio hidrodinâmico da célula *wall-jet* e a alta diluição da amostra na solução inerte contida no interior da célula eletroquímica. As primeiras células desenvolvidas para o uso de BIA continham volumes relativamente grandes, de 250 a 700 mL, garantindo assim a alta diluição das amostras (volumes injetados na ordem de microlitros). Entretanto, tem sido demonstrado que o volume da célula pode ser reduzido (por exemplo, 100mL), sem comprometer o sucesso da análise, já que o efeito de memória devido ao acúmulo das espécies de interesse não é observado. As células de volumes menores, além de serem mais fáceis de manusear e adaptar para análises em campo, mantêm as mesmas características daquelas de grandes volumes, tais como precisão, simplicidade e alta frequência de análise.

As principais vantagens do sistema BIA são a elevada frequência analítica, a necessidade de volumes reduzidos de amostras e reagentes, simplicidade, boa repetibilidade e sensibilidade, além do reduzido tempo de contato entre o analito e o eletrodo, evitando problemas de envenenamento do eletrodo de trabalho. Uma vantagem adicional do sistema BIA está em sua fácil adaptação à instrumentação portátil dedicada a análises em campo (fora do ambiente de laboratório).

Normalmente, as metodologias analíticas empregando BIA são usadas na determinação de uma única espécie. Porém, análises simultâneas também são possíveis usando este procedimento. Wang *et al.* [66] demonstraram esta possibilidade com a determinação simultânea de sódio, potássio e cálcio em água mineral. Neste trabalho, os autores adaptaram na célula BIA uma rede de eletrodos seletivos, sendo que a injeção foi realizada com auxílio de uma pipeta eletrônica multicanal. Outra possibilidade de análise simultânea usando BIA é usando técnicas voltamétricas (voltametria de onda quadrada ou de pulso diferencial) na detecção, conforme descrito na literatura [52, 67].

Neste trabalho foram aproveitadas as vantagens apresentadas pelo eletrodo DDB associado ao sistema BIA com detecção amperométrica para o desenvolvimento de metodologias analíticas sensíveis, rápidas e de baixo custo para a quantificação do fungicida Mancozebe em defensivos agrícolas. Adicionalmente, os métodos desenvolvidos poderão ser empregados no controle de qualidade de defensivos agrícolas bem como no controle de qualidade do ingrediente ativo (pureza) antes da etapa de produção dos defensivos agrícolas.

1.4 Objetivo

Este trabalho teve como objetivo principal o desenvolvimento de um método eletroanalítico para a quantificação do fungicida Mancozebe em defensivos agrícolas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) e análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica.

De modo específico os objetivos eram investigar o comportamento eletroquímico do Mancozebe, bem como propor o mecanismo de oxirredução do mesmo. Para tanto, foram empregadas as técnicas de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada.

Em outra etapa do trabalho os objetivos foram avaliar o desempenho das técnicas amperométricas associadas ao sistema BIA para a determinação de Mancozebe e a validação da metodologia proposta com relação à linearidade, repetibilidade, limites de detecção e quantificação, estudos de interferentes, frequência analítica e comparação dos resultados obtidos com o método proposto aos obtido com o método padrão.

CAPÍTULO 2

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de pureza analítica (PA) e foram obtidos comercialmente, e todas as soluções foram preparadas em água deionizada de alta pureza ($R \geq 18 \text{ M}\Omega\text{cm}$) obtida de um sistema de purificação de água Milli Q (Millipore, Bedford, MA, USA).

Os reagentes utilizados foram: ácido acético (65%, m/v), ácido fosfórico (85%, m/v), ácido sulfúrico (85%, m/v), ácido bórico, acetato de sódio, acetato de chumbo, amido, ácido sulfúrico, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, metanol, di-hidrogênio fosfato de sódio, hidrogênio fosfato de sódio, fenolftaleína, EDTA, solução de iodo, sulfato de zinco, cloreto de manganês, perclorato de sódio.

2.1.1 Eletrólitos Suporte

A solução tampão fosfato pH 5,00 foi preparada pesando-se 2,58 g de dihidrogênio fosfato de potássio (KH_2PO_4) e 0,0858 g de hidrogênio fosfato de sódio (Na_2HPO_4) em um balão de 100 mL, o qual foi completado com água deionizada.

Para a solução tampão fosfato pH 6,00 foi pesado 1,84 g de dihidrogênio fosfato de potássio (KH_2PO_4) e 0,403 g de hidrogênio fosfato de sódio (Na_2HPO_4) em um balão de 100 mL, o qual foi completado com água deionizada.

A solução tampão fosfato pH 7,00 foi obtida pesando-se 0,471 g de dihidrogênio fosfato de potássio (KH_2PO_4) e 0,785 g de hidrogênio fosfato de sódio (Na_2HPO_4) em um balão de 100 mL, o qual foi completado com água deionizada.

Para a solução tampão fosfato pH 8,00 pesou-se 0,0610 g de dihidrogênio fosfato de potássio (KH_2PO_4) e 0,930 g de hidrogênio fosfato de sódio (Na_2HPO_4) em um balão de 100 mL, o qual foi completado com água deionizada.

Para a solução fosfato pH 9,00 pesou-se 0,947 g de hidrogênio fosfato de sódio em um balão de 100 mL o qual foi completado com água deionizada.

Para solução tampão Britton-Robinson (BR) pH 9,00 foram adicionados em um balão volumétrico de 500 mL: 1,15 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4), 1,15 mL de ácido acético

(CH₃COOH) e 1,24 g de ácido bórico (H₃BO₃); em seguida completou-se o volume do balão com água deionizado e o pH foi ajustado utilizando a solução 1,00 mol L⁻¹ de NaOH.

2.1.2 Solução de $2,50 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ de EDTA

Para preparar a solução $2,50 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ de EDTA, foram pesados aproximadamente 1,20 g de EDTA em um balão volumétrico de 100 mL. Em seguida o EDTA foi solubilizado com 90,0 mL de água deionizada e o pH foi ajustado para 9,50 com solução 1,00 mol L⁻¹ de NaOH, em seguida o balão foi completado para 100 mL com água deionizada.

2.1.3 Solução Padrão

O padrão analítico de Mancozebe (96,4%, m/m) foi obtido comercialmente.

A solução estoque de Mancozebe de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ foi preparada adicionando aproximadamente 0,0141 g do composto em um balão volumétrico de 50,0 mL e solubilizado com solução $2,50 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ de EDTA pH 9,50.

As soluções padrão de Mancozebe foram preparadas a partir da solução estoque . O Mancozebe foi solubilizado em solução $2,50 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ de EDTA, uma vez que o mesmo é insolúvel em muitos solventes orgânicos e apresenta baixa solubilidade em água (6 ppm). O EDTA complexa os íons manganês e zinco liberando o 1,2-etilenbisditiocarbamato [9].

2.1.4 Preparo das amostras analisadas

O Mancozebe foi quantificado em amostras de defensivos agrícolas comerciais. Foram pesadas aproximadamente 0,0250 g da amostra em um balão volumétrico de 50,0 mL e

solubilizado com solução de $2,50 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ de EDTA, em seguida 1,50 mL desta solução foram diluídas em 10,0 mL de solução de fosfato pH 9,00.

2.2 Equipamentos

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em um potenciostato μ Autolab Type III interfaceado a um computador. Para o controle do equipamento foi utilizado o software GPES, versão 4.9. As medidas foram realizadas em temperatura ambiente.

Também foram utilizados os equipamentos: balança analítica (Shimadzu, AUY220), pHmetro (BEL Engineering, W3B), purificador de água (Millipore, DirectQ), ultrassom (Unique, Ultra Cleaner 1400A), micropipeta automática (Eppendorf® Multipette stream), e vórtex (Interprise, BV1000 Vortex Mixer).

2.3 Célula eletroquímica

Uma célula para as análises pelo sistema BIA foi construída (Figura 6) baseada em uma célula descrita na literatura [68]. A célula BIA possui um volume interno de 180 mL, e consiste de um cilindro de vidro (diâmetro interno = 7 cm) e duas tampas de polietileno, que foram firmemente fixadas no topo e na base do cilindro. A tampa superior continha 3 orifícios para os eletrodos auxiliar (CE, fio de platina, na Fig. 6A) e referência (RE, Ag/AgCl, na Fig. 6A) e para a ponteira da micropipeta (ponteira de 1 mL Combitip® em forma de seringa). A ponteira da micropipeta (com um diâmetro regular externo = 6,0 mm) foi firmemente introduzida no orifício (diâmetro = 6,1 mm) no centro da tampa de tal forma que o procedimento de injeção foi altamente reprodutível. A cobertura inferior da célula continha um único orifício (que também foi localizado no centro da tampa) em que o eletrodo de trabalho de DDB (ET na Fig. 6A) foi inserido. A área do eletrodo foi delimitada por um *O-ring* (0,50 cm²) resistente a solventes orgânicos [37]. O contato elétrico foi feito com uma placa de cobre posicionada por baixo do eletrodo DDB. Nesta disposição, a ponteira da micropipeta ficou aproximadamente a 2 mm da superfície do eletrodo de trabalho em uma

configuração *wall-jet*. As injeções foram realizadas com uma micropipeta eletrônica (Eppendorf® Multipette stream) que permite injeções de 10 a 1000 μL a uma velocidade programável de 28 a 250 $\mu\text{L s}^{-1}$.

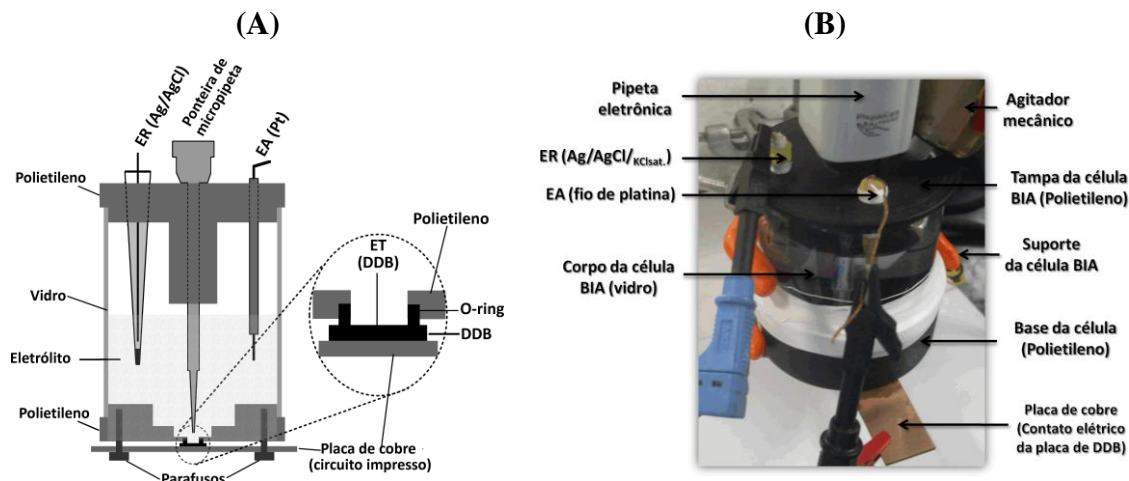


Figura 6. A) Esquema da célula BIA. Volume total da célula: 180 mL; B) Imagem real em perspectiva da célula.

A Figura 7 ilustra os componentes individuais para a construção da célula BIA para eletrodo DDB.

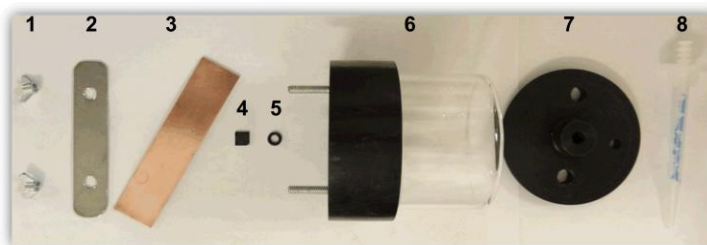


Figura 7. Vista dos componentes individuais da célula BIA: (1) Borboletas (porcas) para fixação nos parafusos imobilizados na base da célula; (2) placa metálica de reforço; (3) placa de circuito impresso de cobre; (4) placa de DDB (0,7 x 0,7 cm); (5) anel de borracha "o-ring" ($\varnothing_{\text{interno}} = 8 \text{ mm}$); (6) tubo de vidro inserido em polietileno; (7) tampa da célula (8), ponteira da micropipeta eletrônica (1,0 mL).

2.4 Eletrodos

2.4.1 Eletrodo de diamante dopado com boro (DDB)

Utilizou-se como eletrodo de trabalho o eletrodo de diamante dopado com boro (DDB). As peças de diamante dopado com boro foram adquiridas da empresa Adamant Technologies AS (La Chaux-de-Fonds, Suíça). Segundo especificações do fabricante, estas placas possuem uma base de silício cristalino de 1 cm de espessura (0,7 x 0,7 cm) coberta com uma camada de DDB de 1,2 μm (8000 ppm de dopagem com boro).

Para limpeza e funcionalização da superfície com grupos hidroxilas aplicou-se uma corrente de 0,01 μA por 1000 s (ativação anódica) ao eletrodo DDB, utilizando como eletrólito a solução tampão Britton-Robinson 0,10 mol L^{-1} preparada a partir do ácido acético (0,040 mol L^{-1}), ácido fosfórico (0,040 mol L^{-1}) e ácido bórico (0,040 mol L^{-1}). Já para limpeza e funcionalização da superfície com grupos hidrogênio aplicou-se uma corrente de - 0,01 μA por 1000 s (ativação catódica) ao eletrodo DDB (H_2SO_4 0,5 mol L^{-1}) [41]. O procedimento catódico foi realizado diariamente antes do início dos trabalhos.

2.4.2 Eletrodo de referência

Utilizou-se em todos os experimentos, um mini eletrodo de referência Ag/AgCl ($\text{KCl}_{\text{sat.}}$), [69] preparado no próprio laboratório pela eletrodeposição de AgCl em um fio de Ag através da eletrólise de uma solução aquosa de HCl 0,10 mol L^{-1} , sob corrente constante de 0,2 mA, durante 2 h, utilizando o Potenciostato/Galvanostato da Autolab modelo $\mu\text{AUTOLAB}$ tipo III.

2.4.3 Eletrodo auxiliar

Como eletrodo auxiliar foi utilizado um fio de Platina imobilizado em uma ponteira de micropipeta.

2.5 Metodologia

2.5.1 Voltametria cíclica

Os experimentos voltamétricos foram realizados sem desaeração.

Voltamogramas cíclicos das soluções de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de ZnSO_4 ; $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de MnCl_2 , ambas soluções preparadas em $2,50 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA, foram adquiridos afim de verificar possíveis interferência dos íons metálicos.

A técnica de voltametria cíclica foi empregada para investigar o mecanismo de oxidação do fungicida Mancozebe. Primeiramente, foram realizados testes com tratamento catódico e anódico do eletrodo DDB, com intuito de avaliar a resposta voltamétrica do Mancozebe. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos entre -1,0 a 1,0 V utilizando o eletrodo DDB e diferentes velocidades de varredura: 10,0; 20,0; 40,0; 60,0; 80,0; e 100 mV s^{-1} .

2.5.2 Voltametria de onda quadrada

A técnica de voltametria de onda quadrada foi utilizada para estudar o mecanismo de oxidação do Mancozebe. Os experimentos foram realizados com eletrodo DDB e caracterizaram-se pelo estudo da variação dos parâmetros da técnica: a frequência de aplicação do pulso de potencial (f), a amplitude do pulso (a) e o incremento de varredura (ΔE_i).

2.5.3 Otimização dos parâmetros de amperometria e BIA

Estudos para a otimização dos parâmetros de amperometria, eletrólito suporte e potencial aplicado, foram realizados com solução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Mancozebe em EDTA, utilizando a técnica de amperometria. Para a otimização do eletrólito suporte foram aplicados os potenciais: 0,00; 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60; 0,70; 0,80; e 0,90 V, utilizando os eletrólitos suporte: solução de tampão fosfato pH 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; e 9,0.

Após definido o eletrólito suporte, foi avaliado o potencial de oxidação aplicando-se os potenciais: 0,00; 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60; 0,70; 0,80; e 0,90 V.

Depois de otimizado o eletrólito suporte e potencial aplicado, foram otimizados os parâmetros de BIA. Estudos variando a velocidade de injeção da micropipeta eletrônica: 28,0; 58,0; 80,0; 105; 130; 160; 180; 200; 220; 250 $\mu\text{L s}^{-1}$, foram realizados com solução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Mancozebe em $2,50 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA e volume de injeção de 100 μL . Em seguida, estudos com os seguintes volumes de injeção da micropipeta eletrônica foram realizados: 10,0; 25,0; 50,0; 75,0; 100; 150; 200; 250; e 300 μL com o volume de injeção de 160 $\mu\text{L s}^{-1}$.

2.5.4 Amperometria

Após a otimização dos parâmetros eletroanalíticos, estudos amperométricos aplicando um segundo potencial foram realizados a fim de obter limpeza constante da superfície do eletrodo de trabalho. Para isso estudos de repetibilidade e linearidade foram executados variando o potencial de limpeza e o tempo de aplicação do mesmo.

2.5.5 Curva analítica

A curva analítica foi obtida por amperometria nas condições de potencial (0,3 V), velocidade ($160 \mu\text{L s}^{-1}$) e volume ($100 \mu\text{L}$) de injeção previamente otimizados. Para determinar a região linear da curva analítica foi preparada uma solução estoque de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em $2,50 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA, e em seguida alíquotas de 0,250; 0,500; 1,00; 1,50; 2,00; 3,00; e 4,00 mL foram transferidas para balões de 10,0 mL e diluídas com solução fosfato pH 9,00. A partir dos amperogramas medidos em cada adição, determinou-se a corrente de pico e uma curva analítica de i em função da concentração de Mancozebe foi obtida.

O limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados [70] conforme as seguintes equações, respectivamente:

$$LD = \frac{3 Sd}{s}$$

Equação 1

$$LQ = \frac{10 Sd}{s}$$

Equação 2

Sendo:

Sd – desvio padrão do branco

s – coeficiente angular da reta

Após a obtenção da curva analítica, amostras de defensivos agrícolas foram preparadas e analisadas para a determinação do fungicida Mancozebe. A concentração de Mancozebe inicial foi ajustada para aproximadamente $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, segundo informações do rótulo.

2.5.6 Efeito de interferentes sobre a determinação de Mancozebe

Para avaliar uma possível interferência do placebo sobre a determinação de Mancozebe em defensivos agrícolas foram realizadas curvas de adição e recuperação fixando

a concentração de Mancozebe em $8,94 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e variando as concentrações dos constituintes dos placebos em até 100 vezes a concentração de Mancozebe.

2.5.7 Determinação de Mancozebe em amostra de defensivo agrícola

A determinação de Mancozebe em defensivo agrícola foi realizada utilizando curva analítica e o eletrodo de diamante dopado com boro. Inicialmente, 0,025 g da amostra foram diluídas em 50,0 mL de solução de $2,50 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA, em seguida 1,50 mL desta solução foram diluídas em 10,0 mL de solução fosfato pH 9,00, sendo esta solução analisada nas mesmas condições da curva analítica, e para cada injeção três amperogramas foram obtidos.

Para validação da metodologia proposta as mesmas amostras de defensivos agrícolas foram analisadas seguindo-se o método de titulação iodométrica do dissulfeto de carbono proveniente da digestão ácida do Mancozebe, sendo este método proposto pela CIPAC [71], a qual é uma organização internacional não-governamental dedicada a padronizar métodos para a análise química e ensaios físico-químicos de defensivos agrícolas.

Para tanto, em um balão de fundo redondo foi pesado aproximadamente 0,200 g do defensivo agrícola. Em seguida, adicionaram-se pedras de porcelana para evitar ebulição tumultuosa da solução e 10,0 mL da solução de EDTA (34,0% m/v) e o conectou no sistema de digestão (Figura 8). No primeiro absorvedor (B) foram adicionados 25,0 mL da solução de acetato de chumbo (solução 10,0% m/v) e no segundo (C) e terceiro absorvedor (D) foram adicionados aproximadamente 25,0 mL de solução metanólica de KOH $2,00 \text{ mol L}^{-1}$. Neste ponto, vácuo do sistema foi ajustado. Após essas etapas, aproximadamente 50,0 mL da solução de ácido sulfúrico 1,10 N em ebulição foram adicionados no balão de fundo redondo através do tubo de entrada do destilador e então, o sistema de circulação de água e a manta elétrica foram ligados rapidamente na temperatura máxima. A partir deste momento, o sistema ficou ligado por 1 h e 45 min. Ao final deste tempo transferiu-se o conteúdo alcalino do absorvedor C e D, com auxílio de 250 mL de água destilada, para um Becker de 500 mL. Em seguida, adicionou-se 3 gotas de fenolftaleína e solução de ácido acético (30,0 % v/v) até a neutralização. Posteriormente, adicionou aproximadamente 2,00 mL de solução de amido e titulou-se a amostra com solução de iodo 0,100 N.

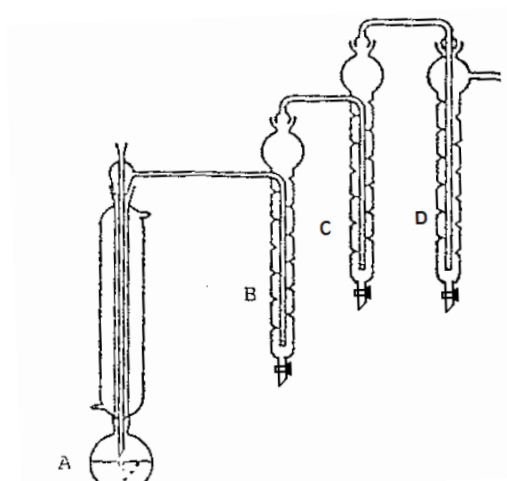


Figura 8. Sistema de vidrarias para a digestão ácida de Mancozebe.

Em seguida a concentração de Mancozebe foi calculada conforme a Equação 3:

$$C = \frac{(V_I - V_{I_0}) \times N \times F \times 100}{m}$$

Equação 3

Onde:

C é a concentração do ingrediente ativo na amostra em % m/m,

V_I o volume (mL) de iodo gasto para titular a amostra do adsorvedor (C e D),

V_{I_0} o volume (mL) de iodo para titular o branco (considerar 0,100 mL),

N é a normalidade da solução de iodo,

F é fator estequiométrico de conversão de Mancozebe a CS_2 (0,13551),

m é a massa da amostra (g).

CAPÍTULO 3

RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Comportamento eletroquímico do Mancozebe

O mecanismo de oxirredução do Mancozebe foi investigado por voltametria cíclica em solução fosfato pH 9,00, e os resultados obtidos são apresentados na Figura 9, onde é possível observar dois picos de oxidação em aproximadamente 0,100 (pico 1) e 0,600 V (pico 2) e um pico de redução em aproximadamente -0,850 V (pico 3), atribuído a redução do grupo fosfato presente no eletrólito suporte.

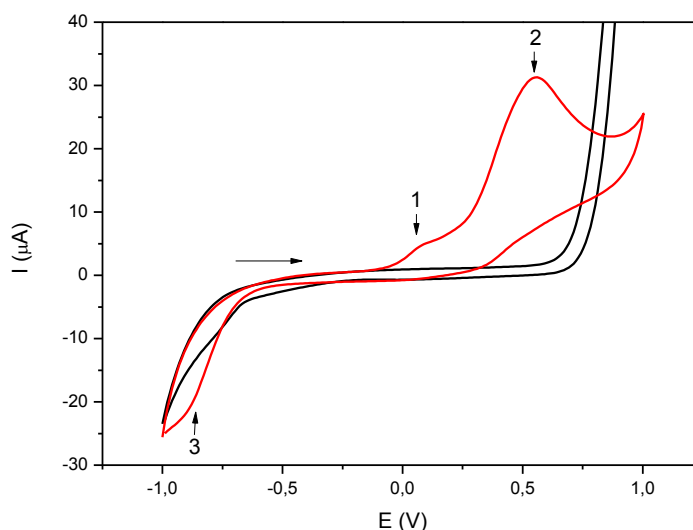


Figura 9. Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo DDB em: (—) solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução fosfato pH 9,00; (—) solução fosfato pH 9,00. Velocidade de varredura: $50,0 \text{ mV s}^{-1}$.

Para observar o efeito da ativação do eletrodo DDB sobre a resposta voltamétrica do Mancozebe, voltamogramas cíclicos foram obtidos após o pré-tratamento catódico e anódico do eletrodo de trabalho e os resultados são apresentados na Figura 10.

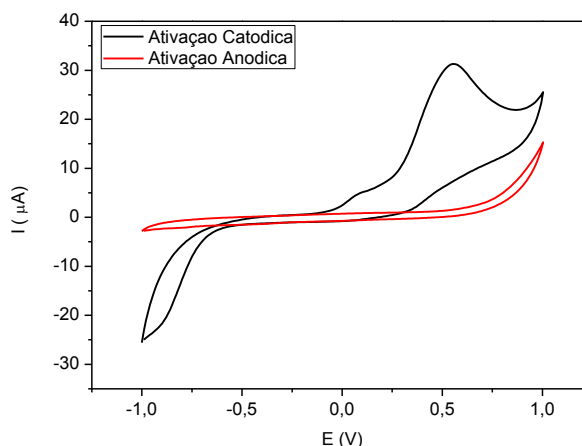


Figura 10. Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução fosfato pH 9,00. Velocidade de varredura: $50,0 \text{ mV s}^{-1}$.

É possível observar na Figura 10 que o Mancozebe não apresenta processos de oxidação quando o pré-tratamento anódico do eletrodo DDB é realizado, isso ocorre devido a repulsão existente entre as terminações em oxigênio da superfície eletródica e o anion etilenobisditiocarbamato. Ao ativar a superfície eletródica utilizando o pré-tratamento catódico a superfície do eletrodo apresenta terminações em hidrogênio, possibilitando a atração eletrostática entre a mesma e o anion etilenobisditiocarbamato, sendo este oxidado. Assim, após esse estudo foi definido o pré-tratamento catódico do eletrodo DDB para os demais estudos do Mancozebe.

Para evidenciar que os picos de oxidação observados na Figura 9 correspondem ao grupo orgânico 1,2-etilenbisditiocarbamato e não aos íons Zn^{2+} e Mn^{2+} e aos complexos formados entre o EDTA e os íons Zn^{2+} e Mn^{2+} , estudos utilizando voltametria cíclica em soluções de MnCl_2 e ZnSO_4 $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em EDTA $25,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foram realizados. Os resultados obtidos são apresentados Figura 11.

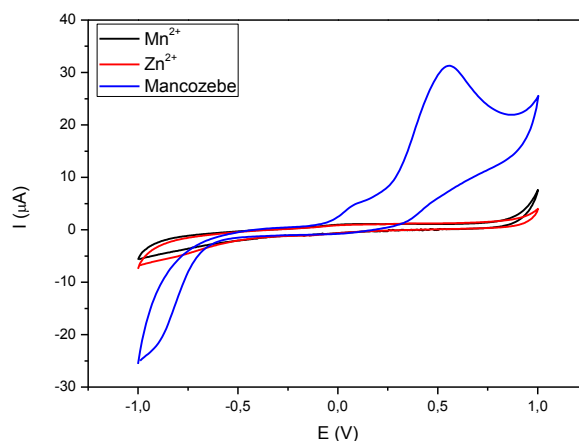


Figura 11. Voltamogramas cíclicos para soluções de Mancozebe, ZnSO_4 , MnCl_2 $1,00 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em fosfato pH 9,00. Velocidade de varredura: $50,0 \text{ mV s}^{-1}$.

Tal estudo demonstrou que os processos de oxidação correspondem ao Mancozebe uma vez que não foram observados picos de oxidação para as soluções dos íons metálicos presentes na estrutura do fungicida ou tão pouco aos complexos formados, os quais são estáveis, não permitindo o processo de oxirredução no intervalo de potencial estudado.

Na literatura são encontrados vários processos de oxidação para o Mancozebe [72]. O primeiro pico de oxidação (0,10 V) está relacionado à formação de ponte de enxofre e o segundo pico (0,60V) refere-se à oxidação dos grupos amins presentes no fungicida. O mecanismo de oxidação é apresentado abaixo:

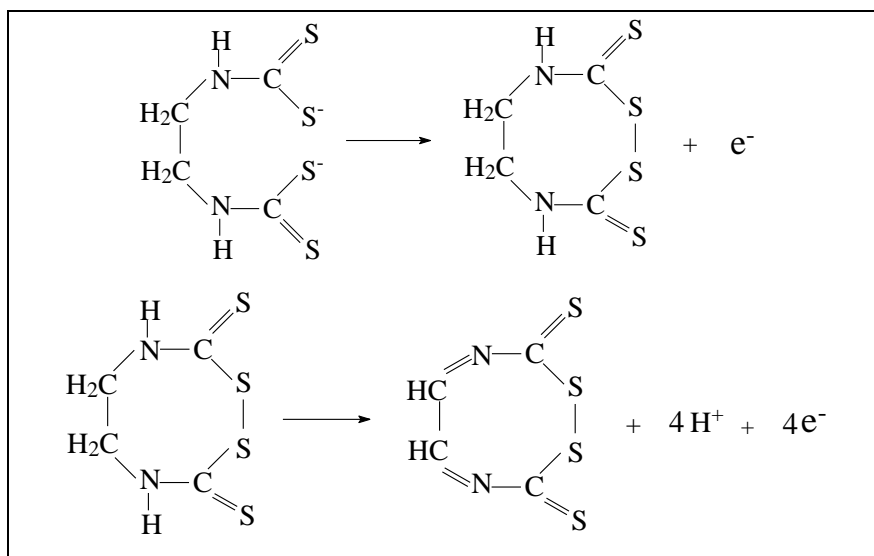


Figura 12. Mecanismo de oxidação proposto para o primeiro (0,100 V) e segundo pico de oxidação (0,600 V), respectivamente.

O efeito da velocidade de varredura sobre a resposta voltamétrica do eletrodo DDB foi investigado em solução $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Mancozebe em solução fosfato pH 9,00. Os resultados obtidos variando as velocidades de varredura de 10,0 a 100 mV s^{-1} são apresentados na Figura 13, que mostram um aumento na intensidade de corrente e um leve deslocamento dos potenciais de oxidação com o aumento da velocidade de varredura.

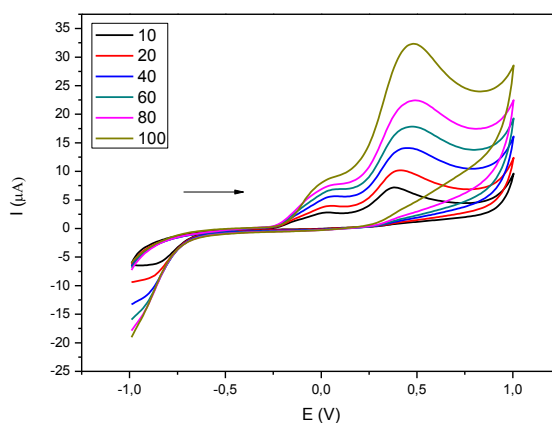


Figura 13. Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura utilizando eletrodo DDB em solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução fosfato pH 9,00.

A análise da dependência das correntes dos picos anódicos, encontrados nos voltamogramas da Figura 14 em função da raiz quadrada da velocidade de varredura, indica que a velocidade de transferência de massa é a etapa determinante da reação de oxidação.

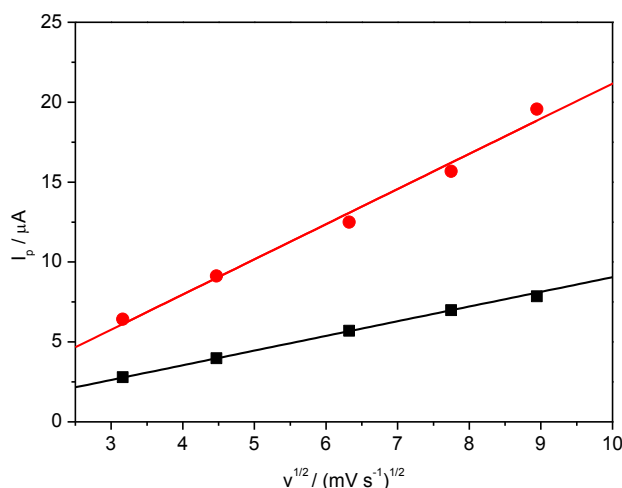


Figura 14. Dependência das correntes de pico anódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura, entre 10,0 e 100 mV s^{-1} , no eletrodo DDB em solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução fosfato pH 9,00. (—) primeiro pico de oxidação; (—) segundo pico de oxidação.

Em seguida, a fim de confirmar o resultado obtido pela relação entre intensidade de corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura analisou-se a dependência do logaritmo da intensidade de corrente de pico versus logaritmo da velocidade de varredura. Segundo a literatura, para coeficiente angular próximo a 0,5 a etapa determinante é a difusão, e para coeficiente angular próximo a 1 a etapa determinante é a adsorção das espécies eletroativas na superfície do eletrodo [73]. As relações lineares obtidas para o primeiro e segundo pico de oxidação do Mancozebe apresentaram equações de reta $\log(I_p) = -6,06525 + 0,51 \log(v)$, e $\log(I_p) = -5,71913 + 0,52 \log(v)$; respectivamente. Sendo assim, a etapa determinante para os dois processos de oxidação é a velocidade de transporte de massa, ou seja, a reação de oxidação é limitada pela difusão das espécies do seio da solução à superfície eletródica.

A voltametria de onda quadrada é considerada uma técnica com potencialidades para determinações quantitativas, devido principalmente à alta sensibilidade e rapidez nas análises. Além disso, a análise dos parâmetros característicos dessa técnica também possibilita a avaliação cinética e mecanística de processos eletródicos [74]. Desta forma, a voltametria de

onda quadrada foi empregada para a obtenção de dados relacionados à cinética e ao mecanismo de oxidação do Mancozebe.

Assim, inicialmente foi realizado um estudo para avaliar a reversibilidade do sistema por meio das componentes de corrente encontradas com a voltametria de onda quadrada. A Figura 15 apresenta os resultados encontrados.

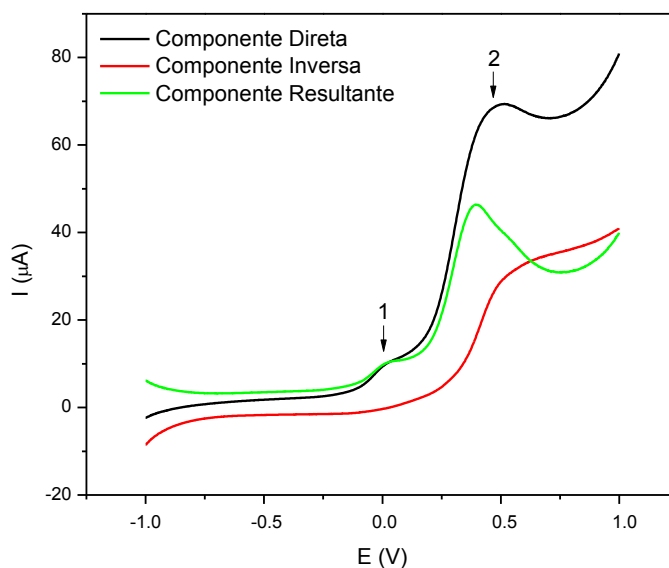


Figura 15. Componentes de corrente obtidas a partir do voltamograma de onda quadrada em solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução fosfato pH 9,00, sobre eletrodo DDB. $f = 90,0 \text{ s}^{-1}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2,00 \text{ mV}$.

Uma avaliação das respostas voltamétricas obtidas para o pico 1 mostra uma menor contribuição da corrente inversa, com valor da corrente resultante praticamente igual à corrente observada na componente direta. Esse tipo de perfil voltamétrico é característico de sistemas irreversíveis e corroboram com os resultados obtidos por VC. Já para o segundo pico, a corrente inversa é caracterizada por um pico inverso de menor intensidade e definição que o pico observado na componente direta, resultando em uma corrente resultante menor que a observada na componente direta. Essa resposta voltamétrica é típica de processo de oxirredução irreversível com forte adsorção de produto e/ou reagente na superfície do eletrodo de trabalho, uma vez que a velocidade de varredura de potencial é relativamente alta restando na superfície do eletrodo pequena concentração da espécie eletroativa que é oxidada, apesar da inversão do pulso de potencial ter sido aplicado no sentido catódico. Esse resultado confirma os obtidos por VC [75].

Em seguida, foi estudado o comportamento da corrente de pico em função da variação da raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), e os resultados são apresentados na Figura 16. Nota-se um comportamento linear entre a corrente de pico e a raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos de potencial para ambos os processos de oxidação. De acordo com a teoria da voltametria de onda quadrada esse comportamento é característico de sistemas de oxirredução limitados pela velocidade de transferência de massa, corroborando com os resultados encontrados em voltametria cíclica [76].

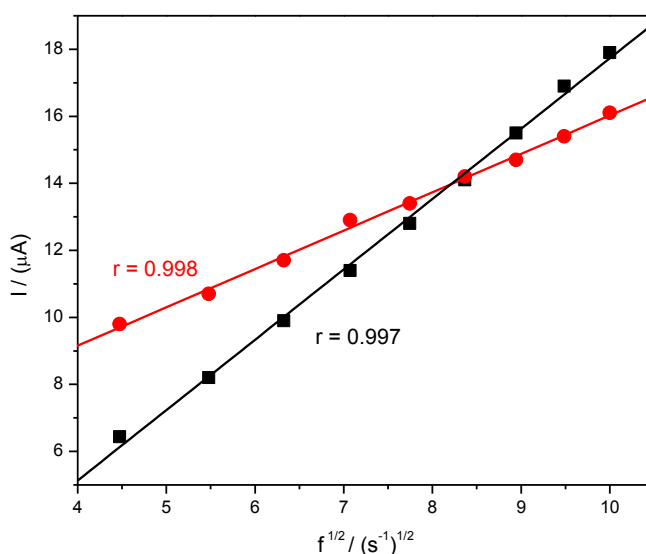


Figura 16. Dependência da intensidade da corrente de pico com a frequência de aplicação dos pulsos de potencial obtidos a partir de voltamogramas de onda quadrada de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de fosfato pH 9,00 sobre DDB. $a = 50,0 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2,00 \text{ mV}$. (—) primeiro pico de oxidação; (—) segundo pico de oxidação.

Ao avaliar o efeito da amplitude dos pulsos na intensidade da corrente de pico, observa-se que há linearidade para o primeiro pico de oxidação na faixa de amplitude estudada ($r = 0,996$), como mostrada na Figura 17. Esse comportamento está de acordo com a teoria da voltametria de onda quadrada para sistemas irreversíveis, que afirma que para amplitudes de até 50 mV o comportamento é linear [77].

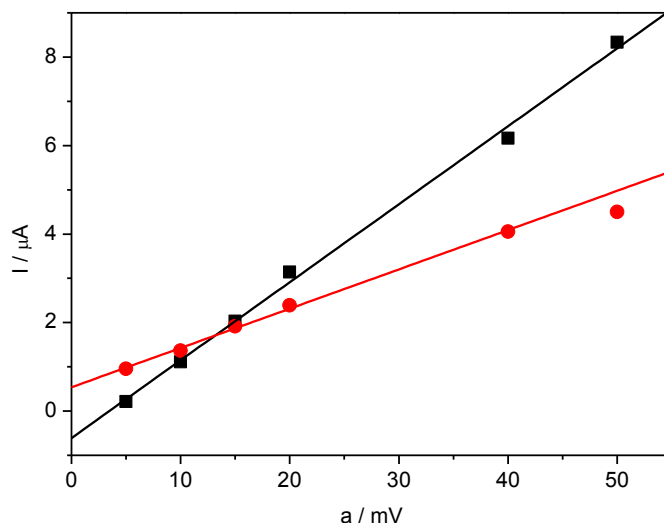


Figura 17. Dependência da intensidade de corrente de pico com a amplitude dos pulsos de potencial obtida a partir de voltamogramas de onda quadrada de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de fosfato pH 9,00 sobre DDB com $f = 90,0 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2,00 \text{ mV}$. (—) primeiro pico de oxidação; (—) segundo pico de oxidação.

Nota-se na figura acima, que para o segundo pico de oxidação, há linearidade entre amplitude e intensidade de corrente de pico ($r = 0,997$) até o valor de 50,0 mV. Acima deste valor não houve mudança significativa na intensidade de corrente de pico. Segundo a teoria da voltametria de onda quadrada esse comportamento é característico de reações irreversíveis com adsorção de produto e reagente, uma vez que valores de amplitudes de pulso maiores que 60,0 mV provocam uma mudança na largura de meia altura ($\Delta E_{p/2}$) influenciando a resposta voltamétrica.

A influência do incremento de potencial sobre as correntes de pico do Mancozebe também foi avaliada. Os resultados obtidos variando os incrementos de potencial de 2,00 a 10,0 mV são apresentados na Figura 18.

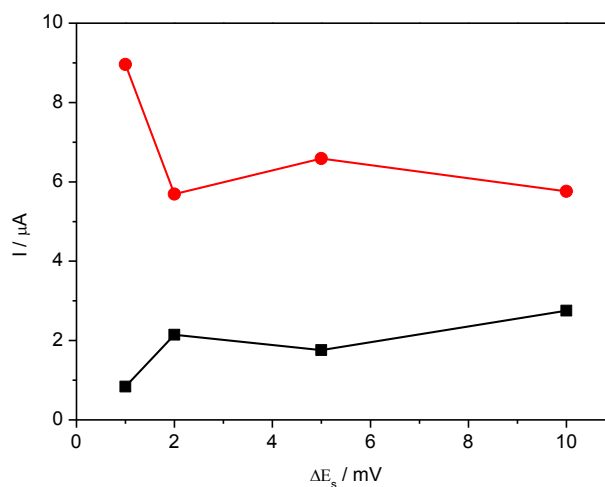


Figura 18. Dependência da intensidade da corrente de pico com o incremento de potencial obtida a partir dos voltamogramas de onda quadrada de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de fosfato pH 9,00 sobre DDB. (—) primeiro pico de oxidação; (—) segundo pico de oxidação.

Neste caso o aumento do incremento de potencial não causou mudanças significativas na resposta de corrente de pico para ambos processos de oxidação. Isso pode ser um indicativo de baixa velocidade cinética eletroquímica.

3.2 Determinação de mancozebe usando BIA com detecção amperométrica e eletrodo DDB

Para um possível aproveitamento analítico do eletrodo DDB na determinação de Mancozebe, foram realizados estudos com relação ao eletrólito suporte e pH do meio, utilizando amperometria.

Inicialmente, foram avaliados como eletrólito suporte os tampões fosfato e BR, em diferentes pHs. Eletrólitos suportes com pHs extremos não foram avaliados, pois ocorre a hidrólise [9] da molécula de Mancozebe. Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 19.

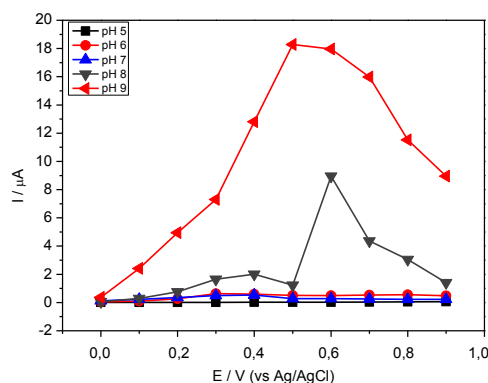


Figura 19. Efeito do eletrólito suporte e do pH na resposta do Mancozebe sobre o eletrodo DDB, em solução de Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

A corrente de pico para a oxidação de Mancozebe é maior em meio básico, pois favorece a formação do complexo metal-EDTA, possibilitando a oxidação do ânion etilenobisditiocarbamato, uma vez que este não está ligado aos metais Zn e Mn. É possível observar também que a solução de fosfato pH 9,00 apresentou uma maior sensibilidade. Assim, após este estudo foi selecionado a solução de fosfato pH 9,00 como eletrólito suporte.

O eletrodo DDB foi empregado para o desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação do fungicida Mancozebe empregando sistema de análise por injeção em batelada com detecção amperométrica.

Para tanto, inicialmente, foram realizados estudos com relação ao potencial de oxidação a ser aplicado. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 20 na forma de voltametria linear hidrodinâmica.

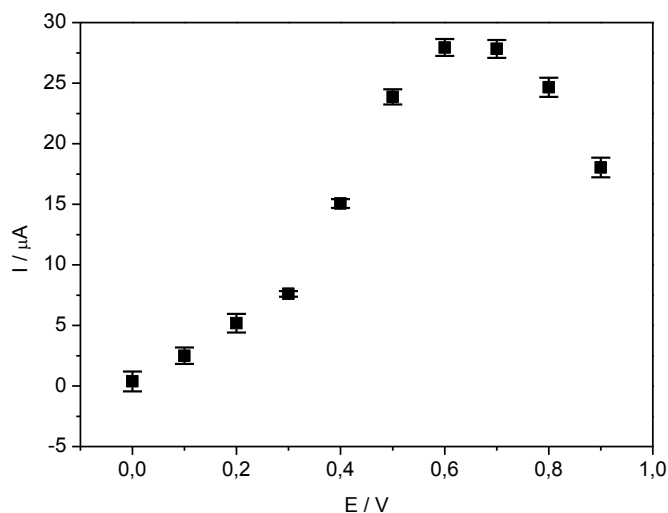


Figura 20. Voltamograma hidrodinâmico. Mancozebe $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de fosfato pH 9,00.

Em condições hidrodinâmicas, a oxidação do Mancozebe inicia-se em 0,000 V atingindo a corrente máxima em 0,600 V versus Ag/AgCl. Apesar disso, o potencial de 0,300 V foi selecionado para os demais experimentos uma vez que em potenciais superiores ocorre perda de linearidade e repetibilidade de resposta, como pode ser observado na obtenção de curvas analíticas (resultados não apresentados). Além disso, em altos valores de potencial o efeito de interferentes passa a ser maior, uma vez que uma quantidade maior de substâncias podem ser oxidadas e desta forma a seletividade do método é diminuída.

Após a seleção do eletrólito suporte, pH e potencial a ser aplicado, parâmetros do sistema BIA tais como velocidade de injeção da pipeta programável e volume injetado foram avaliados.

Assim, primeiramente foi estudado o efeito da velocidade de injeção da resposta do Mancozebe em solução $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo DDB em solução fosfato pH 9,00. O volume injetado de solução de Mancozebe em cada análise foi de 100 μL e os resultados observados são apresentados na Figura 21. Após esse estudo optou-se por usar velocidade de injeção de 160 $\mu\text{L s}^{-1}$, por apresentar uma maior repetibilidade dos sinais e maior número de pontos de aquisição.

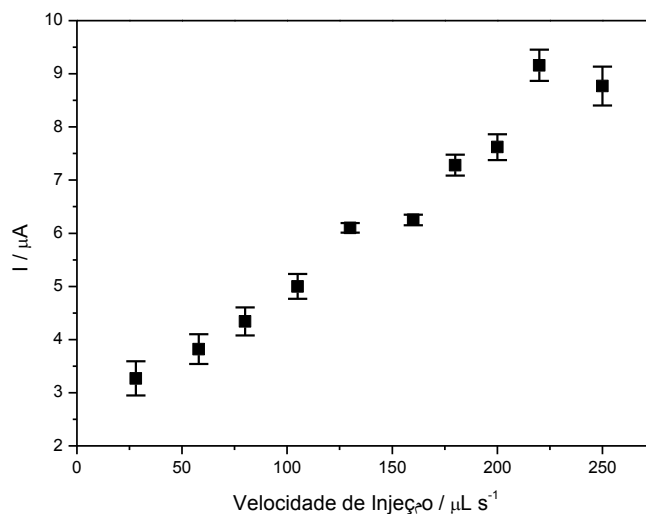


Figura 21. Estudo do efeito da velocidade de injeção para uma solução contendo $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Mancozebe em solução de fosfato pH 9,00. Potencial: 0,300 V; volume injetado: 100 μL .

Estudos da dependência dos sinais amperométrico com o volume da amostra injetada também foram realizados. Como pode ser observado na Figura 22, o volume ótimo injetado para o sistema BIA foi de 100 μL , que proporcionou maior sinal analítico. A corrente de pico cresceu significativamente com o aumento do volume de injeção, de 25,0 a 75,0 μL . isto pode ser explicado pelo efeito da dispersão da amostra, desde a ponteira da micropipeta até a superfície eletródica, que a medida que o volume de injeção vai aumentando o efeito de dispersão passa a ser menor. A corrente de pico atingiu o valor máximo em 100 μL , possivelmente devido à saturação da superfície eletródica. Observou-se também baixa reprodutibilidade em pequenos volumes de injeção.

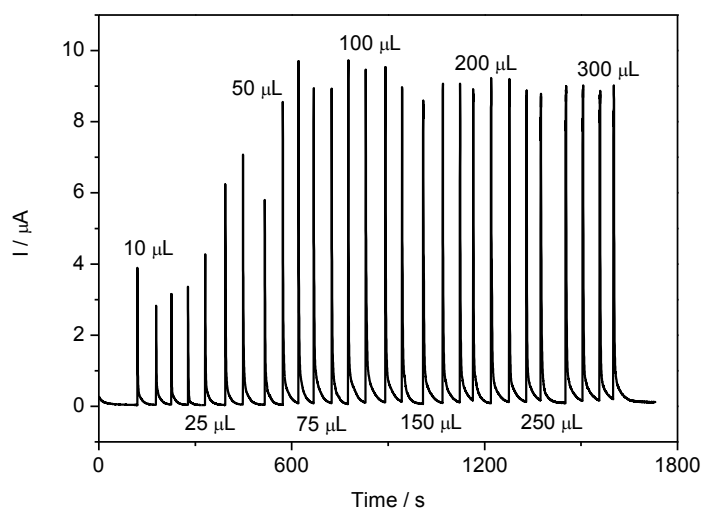


Figura 22. Estudo do efeito da variação do volume de injeção para uma solução contendo $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Mancozebe em solução de fosfato pH 9,00. Potencial: 0,300 V; velocidade de injeção: $160 \text{ } \mu\text{L s}^{-1}$.

A fim de garantir a constante limpeza da superfície do eletrodo DDB e assim promover a repetibilidade do método, foi empregado um segundo pulso de potencial.

Inicialmente, foram realizados estudos com relação ao potencial de limpeza a ser aplicado e os resultados são apresentados na Figura 23.

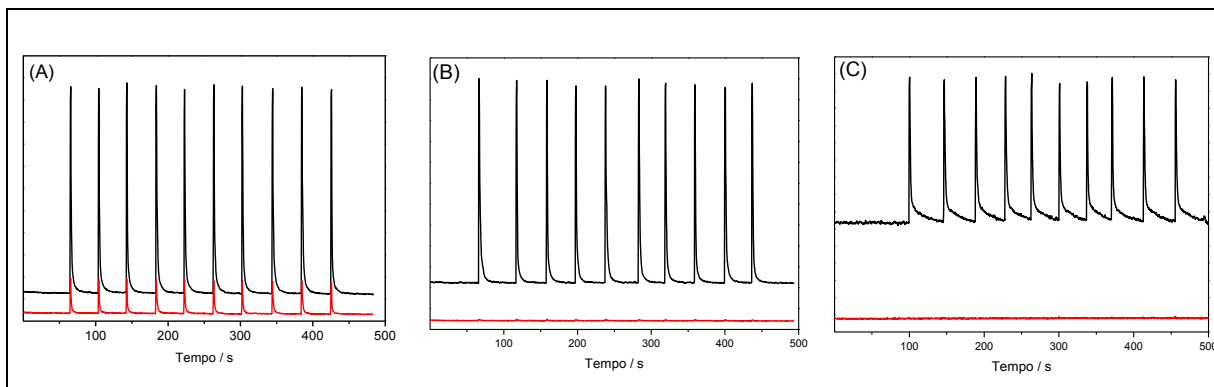


Figura 23. Amperogramas para solução de Mancozebe de concentração de $6,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Potencial de trabalho 0,300 V (—), e potencial de limpeza (—) de (A) 0,000 V, (B) -0,100 V, e (C) -0,200 V.

Os resultados da repetibilidade utilizando a aplicação de um segundo pulso de potencial, mostram baixos desvios padrão relativo, menor que 1,60 % ($n=10$), para o potencial de limpeza -0,100 V.

Após esta etapa, foram obtidas curvas analíticas com potencial de limpeza -0,100 V por 0,5; 0,8 e 1,0 s, para verificar o efeito do tempo de aplicação do pulso de limpeza.

Na Figura 24 pode-se observar melhor linearidade e baixo desvio padrão relativo para o tempo de aplicação do pulso de limpeza de 1 s (gráfico C), sendo este o selecionado para os estudos posteriores.

A Figura 24-C mostra a curva analítica para o Mancozebe nas melhores condições experimentais, cuja equação obtida foi $I \text{ (A)} = -6,568 \times 10^{-8} \text{ (A mol L}^{-1}) + 7,820 \times 10^{-3} [\text{Mancozebe}] \text{ (} 10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, com $r = 0,9992$ ($n = 7$), com limite de detecção de $5,14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de quantificação $1,71 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

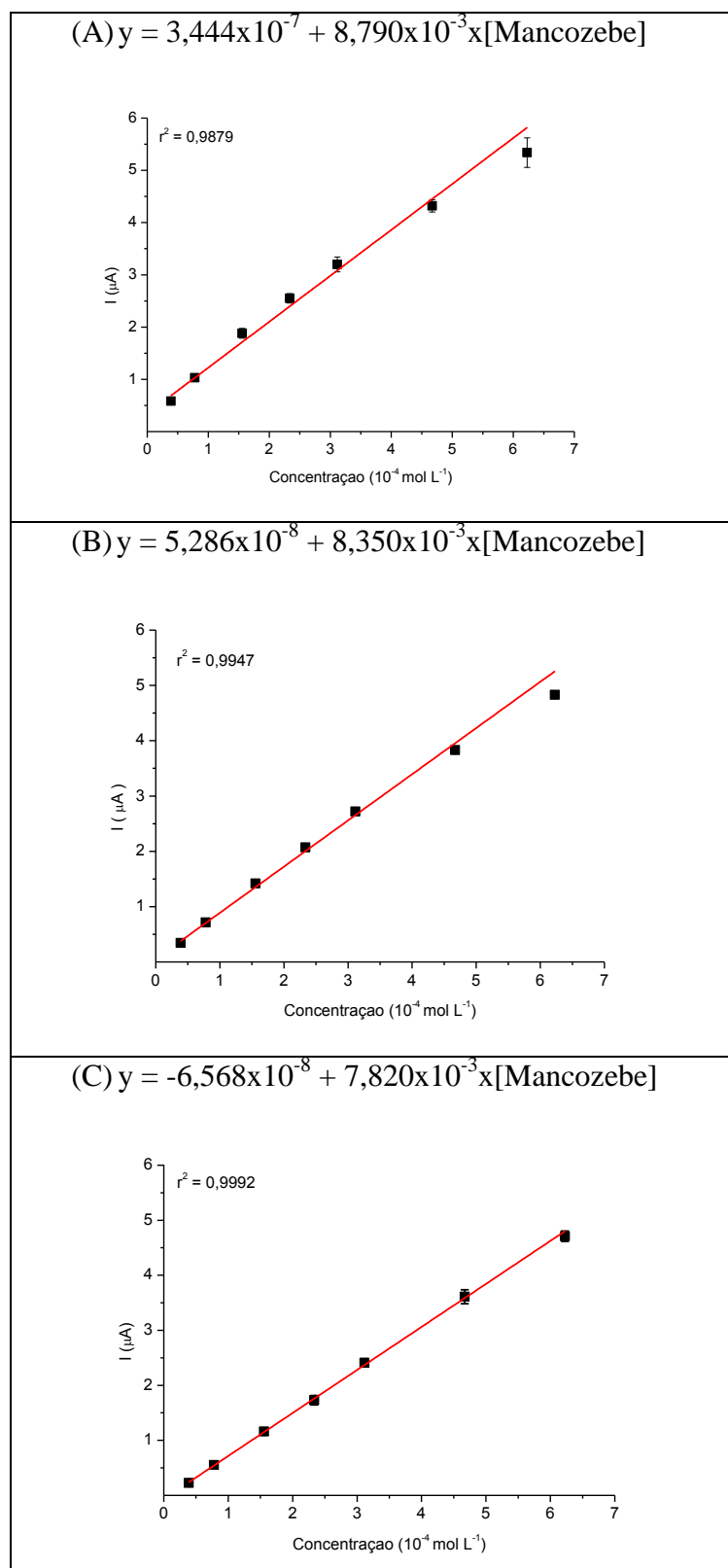


Figura 24. Curvas analíticas com sete níveis de concentrações diferentes de Mancozebe ($4,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $6,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução de fosfato pH 9,00. Potencial de trabalho 0,300 V, potencial de limpeza: -0,100 V por 0,5s (gráfico A); 0,8 s (gráfico B); e 1 s (gráfico C).

A Tabela 1 apresenta os parâmetros estudados para o desenvolvimento do método analítico e os valores selecionados para cada parâmetro.

Tabela 1: Parâmetros investigados e os valores selecionados para a determinação de Mancozebe.

Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
Eletrólito suporte	Tampão fosfato pH 5 ao 9	Solução de fosfato pH 9
Potencial	0,000 – 0,900 V	0,300 V
Velocidade de Injeção	28,0 – 250 $\mu\text{L s}^{-1}$	160 $\mu\text{L s}^{-1}$
Volume de Injeção	10,0 – 300 μL	100 μL
Potencial de Limpeza	-0,200 – 0,000 V	-0,100 V
Tempo de aplicação de potencial de limpeza	0,5 – 1 s	1 s

3.3 Estudos de interferentes na determinação de Mancozebe

Para avaliar uma possível interferência dos outros componentes da formulação do defensivo agrícola, os quais foram denominados de Componente A e Componente B, cujo ingrediente ativo é o Mancozebe, foram realizadas curvas de recuperação variando a concentração destes componentes em até 100 vezes a concentração de Mancozebe. Um exemplo desse estudo é apresentado na Figura 25.

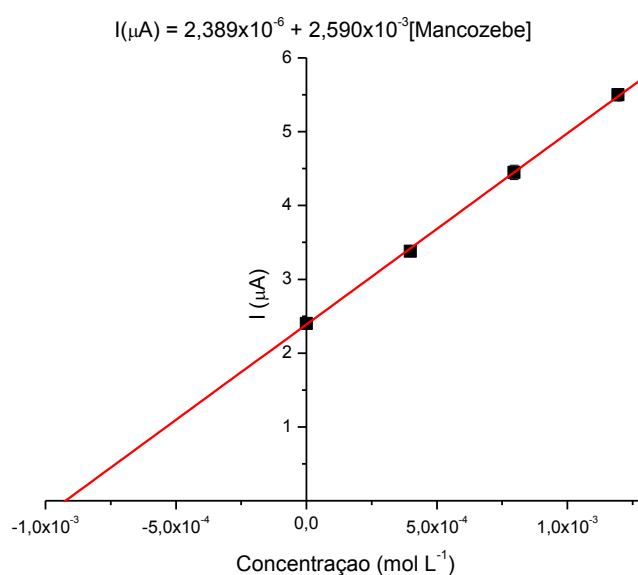


Figura 25. Curva de recuperação para solução de Mancozebe $8,94 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de fosfato pH 9,00 na presença do Componente A usando eletrodo DDB em amperometria, $E = 0,300 \text{ V}$.

Os valores de recuperação encontrados estão apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4.

Tabela 2: Resultados de recuperação obtidos para a determinação de Mancozebe na presença do Componente A.

Componente A (mol L^{-1})	Mancozebe		Recuperação (%)
	Adicionado ($10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$)	Recuperado ($10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$)	
$8,61 \times 10^{-4}$	8,94	9,23	103
$8,40 \times 10^{-3}$	7,99	7,89	98,7
$8,45 \times 10^{-2}$	7,76	8,44	109

Tabela 3: Resultados de recuperação obtidos para a determinação de Mancozebe na presença do Componente B.

Componente B (mol L⁻¹)	Mancozebe		Recuperação (%)
	Adicionado (10 ⁻⁴ mol L ⁻¹)	Recuperado (10 ⁻⁴ mol L ⁻¹)	
8,61x10⁻⁴	8,08	6,93	85,8
8,40x10⁻³	8,25	8,65	105
8,45x10⁻²	8,19	7,81	95,3

Tabela 4: Resultados de recuperação obtidos para a determinação de Mancozebe na presença dos Componentes A e B.

Componente A + B (mol L⁻¹)	Mancozebe		Recuperação (%)
	Adicionado (10 ⁻⁴ mol L ⁻¹)	Recuperado (10 ⁻⁴ mol L ⁻¹)	
8,61x10⁻⁴	8,71	8,17	93,9
8,40x10⁻³	8,36	8,55	102
8,45x10⁻²	8,39	7,44	88,7

Nota-se que os valores de recuperação encontrados estão de acordo com a AOAC [78], que permite valores de recuperação entre 70 e 130%. Sendo assim, o eletrodo DDB pode ser utilizado na determinação de Mancozebe sem a necessidade de separação dos componentes A e B da solução analítica.

3.4 Quantificação do fungicida Mancozebe

Após a obtenção da curva analítica para o Mancozebe, amostras de defensivos agrícolas comerciais foram analisadas, nas mesmas condições da curva analítica e os resultados foram comparados com os resultados obtidos pelo método padrão (titulação iodométrica). Na Figura 26 observa-se os amperogramas para as três amostras do fungicida e na Tabela 5 estão apresentados os valores de concentrações encontrados para as três amostras no método proposto e por titulação iodométrica.

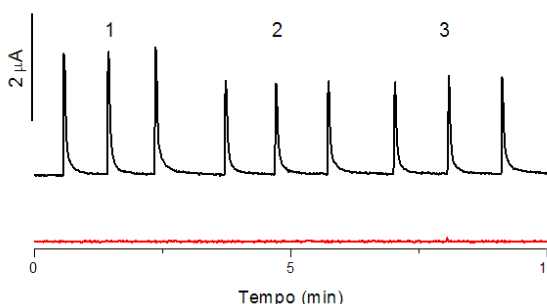


Figura 26. Amperogramas obtidos para as amostras de Mancozebe. Eletrólito suporte: solução fosfato pH 9,00; potencial: -0,100 V (—) e 0,300 V (—).

Tabela 5: Concentração de Mancozebe obtida pelo método proposto em BIA e por titulação iodométrica (g kg^{-1} de amostra) e os respectivos valores de erro relativo ($n=3$).

<i>Mancozeb / g Kg⁻¹</i>					
Teor Rotulado	Amostra	BIA	Titulação Iodométrica	E ₁ / %	E ₂ / %
800	1	794 ± 2	809 ± 2	-0,75	-1,85
	2	791 ± 2	802 ± 2	-1,13	-1,37
	3	791 ± 2	803 ± 2	-1,13	-1,49

a) $E_1 = (\text{BIA} - \text{Teor rotulado} / \text{Teor rotulado}) \times 100\%$

b) $E_2 = (\text{BIA} - \text{Titulação Iodométrica} / \text{Titulação Iodométrica}) \times 100\%$

Os resultados obtidos com método proposto apresentam coeficiente de recuperação entre 99,3% e 98,9%, e concordam com os valores encontrados pelo método recomendado em

95% de confiança, de acordo com o teste t-Student, com erro relativo menor que 2%. Estes resultados indicam a ausência de efeito de matriz. Sendo assim, o método proposto utilizando eletrodo DDB e BIA pode ser empregado para a determinação de Mancozebe em amostras de defensivos agrícolas sem que haja a necessidade de pré-tratamento. Além disso, o método proposto é rápido, apresentando frequência analítica de 90 injeções h^{-1} .

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES

Demonstrou-se, pela primeira vez, a aplicação de um método BIA com detecção amperométrica para determinação de Mancozebe em produtos agrícolas comerciais, sendo que este método pode ser empregado nas análises de rotina no departamento de controle de qualidade de indústrias de defensivos agrícolas, substituindo o método de titulação iodométrica.

Os resultados obtidos permitem concluir que o eletrodo DDB apresenta alta sensibilidade e facilidade de limpeza e ativação da superfície constante, uma vez que é aplicado um segundo pulso de potencial.

A técnica de Análise por Injeção em Batelada com detecção amperométrica mostrou bons resultados para a determinação de Mancozebe, apresentando simplicidade, repetibilidade de sinal, eficiência e alta frequência analítica (mais de 90 injeções por hora). Para esse sistema obteve-se limite de detecção de $5,14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de quantificação $1,71 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Além disso, o único pré-tratamento de amostra utilizado foi solubilização em solução de $2,50 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA, não sendo necessária a utilização de solventes e reagentes tóxicos como os empregados em processos de derivatização, para quantificação do Mancozebe em cromatografia, e no método de titulação iodométrica. Com relação ao mecanismo de oxirredução do mancozebe foram observados dois processos de oxidação, o primeiro referente à formação de ponte de enxofre e o segundo à oxidação dos grupos amins presentes no fungicida. Com base nos estudos realizados por voltametria de onda quadrada é possível concluir que ambos os processos de oxidação são totalmente irreversíveis.

CAPÍTULO 5

REFERÊNCIAS

-
- [1] BRASIL. *Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002* Brasília, DF, 2002. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/D4074.htm>. Acesso em: 10 fev. 2012.
- [2] MARTINELLI, O. *Relatório setorial – Final. Setor de Agroquímicos*. In: FINEP, 2005. Disponível em: <<http://www.finep.gov.br>>. Acesso em: 5 fev. 2012.
- [3] EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <<http://www.embrapa.br>>. Acesso em: 12 mar. 2014.
- [4] MARTINS, M. S. *et al. Segurança do trabalho: estudos de casos nas áreas agrícola, ambiental, construção civil, elétrica, saúde*. 1ed., Porto Alegre: SGE, 2010.
- [5] EPA – US Environmental Protection Agency. Disponível em: <<http://www.epa.gov>>. Acesso em: 15 mar. 2014.
- [6] VELASCO, L. O. M. de; CAPANEMA, L. X. L. *O setor de agroquímicos*. BNDES Setorial, 24, 69-96, 2006. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/set2403.pdf>. Acesso em: 5 fev. 2012.
- [7] ROSA, A. C. P.da; MARQUES, M.R.C.; PEREZ, D.V., Metodologia para preservação do fungicida Mancozebe em amostra de solo. *Química Nova*, v. 34, n. 9, p. 1639-1642, 2011.
- [8] CALDAS, E.D. *et al.* Dithiocarbamates residues in Brazilian food and the potential risk for consumers. *Food and Chemical Toxicology*, Brasília, v. 42, n. 11, p. 1877-1883, 2004.
- [9] TOMLIN, C. D. S. *The e-Pesticide Manual*. 15 ed., New York, 2008.
- [10] DA SILVA, R. C. *Comparação entre métodos cromatográficos, empregando GC-ECD, GC-FPD e GC-MS, e espectrofotométrico para determinação de ditiocarbamatos em alface*. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
- [11] GOLDONI, A.; DA SILVA, L. B. Potencial mutagênico do fungicida mancozebe em *Astyanax jacuhiensis* (Teleostei: Characidae). *Bioscience Journal*, v. 28, n. 2, p. 297-301, 2012.
- [12] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acessado em: 18 mar. 2014.
- [13] ZAMBOLIM, L. *et al. Produtos Fitossanitários (Fungicidas, Inseticidas, Acaricidas e Herbicidas)*. 1 ed., Viçosa: Ed. UFV, 2008
- [14] GUSTAFFSON, K. H.; THOMPSON, R. A. High-pressure liquid chromatographic determination of fungicidal dithiocarbamates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 29, n. 4, p. 729-732, 1981.

-
- [15] LO, C. C.; HO, M. H.; HUNG, M. D. Use of high-performance liquid chromatographic and atomic absorption methods to distinguish propineb, zineb, maneb, and mancozeb fungicides, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 44, n. 9, p. 2720-2723, 1996.
- [16] MOROS, J. *et al.* Comparasion of two vibrational procedures for the direct determination of mancozeb in agrochemicals. *Talanta*, v. 72, n. 1, p. 72-79, 2007.
- [17] MOROS, J. *et al.* Direct determination of mancozeb by photoacoustic spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, v. 567, n. 2, p. 255-261, 2006.
- [18] ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Solid sampling fourier transform infrares determination of mancozeb in pesticide formulations. *Talanta*, v. 65, n. 4, p. 971-979, 2005.
- [19] MUJAWAR, S. *et al.* Validation of a GC–MS method for the estimation of dithiocarbamate fungicide residues and safety evaluation of mancozeb in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, v. 150, n. 1, p. 175-181, 2014.
- [20] DUBEY, J. K.; HEBERER, T.; STAN, H. Determination of ethylenethiourea in food commodities by a two-step derivatization method and gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus. *Journal of Chromatography A*, v. 765, n. 1, p. 31-38, 1997.
- [21] PIZZUTTI, I. R.; VARELI, C. S.; DA SILVA, R. C. *European Pesticide Residues Workshop (EPRW)*, 7.ed., Berlin: Book of Abstracts, 2008.
- [22] TÜRKER, R. A.; SEZER, B. Indirect determination of dithiocarbamate fungicides (zineb and ferbam) in some foodstuffs by flame atomic absorption spectrometry. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 2, n. 1, p. 35-42, 2005.
- [23] QIN, S. *et al.* Determination of 4 dithiocarbamate residues in 22 matrices by gas chromatography. *Chinese Journal of Chromatography*, v. 28, n. 12, p. 1162-1170, 2010.
- [24] FRIEDRICH, K.; WINKELER, H. D.; GERHARDS, P. Determination of dithiocarbamate residues in foodstuff by head space gas chromatography and flame photometric detection. *Z. lebensm Unters Forsh*, v. 201, p. 69-73, 1995.
- [25] HILL, A. R.C. Headspace methods for dithiocarbamates. *Modern Methods for Pesticide Analysis*. CRC Press, London, 1992.
- [26] LIN, M. S. *et al.* Trace measurement of dithiocarbamate based pesticide by adsorptive stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, v. 388, n. 1, p. 111-117, 1999.
- [27] SWARUPA, Ch. *et al.* Electrochemical determination and reduction behaviour of mancozeb at glassy carbon electrode modified with polyaniline based nanosensors. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, v. 4, n. 7, 1234-1241, 2013.

-
- [28] PLESKOV, Y.V. Electrochemistry of diamond: A review. *Russian Journal of Electrochemistry*, v. 38, n. 12, p. 1275-1291, 2002.
- [29] ANGUS, J. C.; WILL, H. A.; STANKO, W. S. Growth of diamond seed crystals by vapor deposition. *Journal of Applied Physics*, v. 39, n. 6, p. 2915-2922, 1968.
- [30] ALFARO, M.A.Q. *et al.* Boron doped diamond electrode for the wastewater treatment. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2006.
- [31] BARROS, R. C. M. *et al.* Filmes de Diamante CVD Dopado com Boro. Parte I. Histórico, Produção e Caracterização. *Química Nova*, v. 28, n. 2, p. 317-325, 2005.
- [32] MEDEIROS, R. A. *Determinação voltamétrica de aspartame e ciclamato de sódio em produtos dietéticos empregando um eletrodo de diamante dopado com boro*. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.
- [33] MIGLIORINI, F. L. *Produção e caracterização de eletrodos de diamante dopados com boro crescidos sobre titânio, aplicados na degradação de corante têxtil*. Dissertação (Mestrado). Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, 2011.
- [34] HUPERT, M. *et al.* Conductive diamond thin-films in electrochemistry. *Diamond and Related Materials*, v. 12, n. 10, p. 1940-1949, 2003.
- [35] PLESKOV, Y.V. Synthetic diamond, a new electrode material for electroanalysis. *Journal of Analytical Chemistry*, v. 55, n. 11, p. 1045-1050, 2000.
- [36] SWAIN, G.M., *Electroanalytical Chemistry*, New York: Marcel Dekker, 2004.
- [37] GRANGER, M.C. *et al.* Standard electrochemical behavior of high-quality, boron-doped polycrystalline diamond thin-film electrodes. *Analytical Chemistry*, v. 72, n. 16, p. 3793-3804, 2000.
- [38] MATSUSHIMA, J. T. *et al.* The influence of boron content on electroanalytical detection of nitrate BDD electrodes. *Applied Surface Science*, v. 256, n. 3, p. 757-762, 2009.
- [39] GOETING, C. H. *et al.* Electrochemically induced surface modifications of boron-doped diamond electrodes: an X-ray photoelectron spectroscopy study. *Diamond and Related Materials*, v. 9, n. 3, p. 390-396, 2000.
- [40] KRAFT, A. Doped diamond: A compact review on a new, versatile electrode material. *International Journal of Electrochemical Science*, v. 2, p. 355-385, 2007.
- [41] SUFFREDINI, H.B. *et al.* Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment. *Electrochimica Acta*, v. 49, n. 22-23, p. 4021-4026, 2004.

-
- [42] YAGI, I. *et al.* Electrochemical selectivity for redox systems at oxygen-terminated diamond electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, v. 473, n. 1, p. 173-178, 1999.
- [43] TRYK, D.A. *et al.* Relationships between surface character and electrochemical processes on diamond electrodes: dual roles of surface termination and near-surface hydrogen. *Diamond and Related Materials*, v. 10, n. 9-10, p. 1804-1809, 2001.
- [44] SWAIN, G. M.; RAMESHAM, R. The electrochemical activity of boron-doped polycrystalline diamond thin-film electrodes. *Analytical Chemistry*, v. 65, n. 4, p. 345-351, 1993.
- [45] PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L.; AVACA, L. A. Determinação voltamétrica de 4-clorofenol sobre o eletrodo de diamante dopado com boro utilizando a voltametria de onda quadrada. *Química Nova*, v. 26, n. 6, p. 844-849, 2003.
- [46] SILVA, Z. A. da. *Determinação simultânea de pesticidas utilizando métodos eletroanalíticos e quimiométricos*. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.
- [47] TEIXEIRA, M. E. da. *Aplicação do eletrodo de diamante dopado com boro modificado pelo método Sol-Gel para determinação e degradação de carbaril*. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.
- [48] PEREIRA, G. F. *Detecção e degradação eletroquímica do Bisfenol A utilizando eletrodos de diamante dopado com boro*. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.
- [49] FIERRO, S. *et al.* Highly sensitive detection of Cr⁶⁺ on boron doped diamond electrodes. *Electrochimica Acta*, v. 82, p. 9-11, 2012.
- [50] EISELE, A. P. P. *et al.* Simultaneous Square-Wave Voltammetric Determination of Paracetamol, Caffeine and Orphenadrine in Pharmaceutical Formulations Using a Cathodically Pretreated Boron-Doped Diamond Electrode. *Electroanalysis*, v. 25, n. 7, p. 1734-1741, 2013.
- [51] FRANÇA, R. F. *Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação de pesticidas em águas naturais e fitoterápicos utilizando eletrodos de diamante*. Tese (Doutorado). Universidade Camilo Castelo Branco, São José dos Campos, 2012.
- [52] BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. *Electroquímica, princípios, métodos e aplicações*, Coimbra: Almedina, 1996.

-
- [53] GIURIATI, C. *et al.* Ion chromatographic determination of sulfide and cyanide in real matrices by using pulsed amperometric detection on a silver electrode. *Journal of Chromatography A*, v. 1023, n. 1, p. 105-112, 2004.
- [54] PALAHARN, S. *et al.* Flow injection analysis of tetracycline in pharmaceutical formulation with pulsed amperometric detection. *Analytica Chimica Acta*, v. 499, n. 1-2, p. 191-197, 2003.
- [55] SANTOS, W.T.P. *et al.* Simultaneous flow injection analysis of paracetamol and ascorbic acid with multiple pulse amperometric detection. *Electroanalysis*, v. 20, n. 17, p. 1878-1883, 2008.
- [56] SANTOS, W.T.P. *et al.* Simple Flow Injection Amperometric System for Simultaneous Determination of Dipyrone and Paracetamol in Pharmaceutical Formulations. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 20, n. 7, p. 1249-1255, 2009.
- [57] FELIX, F.S.; ANGNES, L. Fast and Accurate Analysis of Drugs Using Amperometry Associated With Flow Injection Analysis. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 99, n. 12, p. 4784-4804, 2010.
- [58] TROJANOWICZ, M. Recent developments in electrochemical flow detections-A review Part I. Flow analysis and capillary electrophoresis. *Analytica Chimica Acta*, v. 653, n. 1, p. 36-58, 2009.
- [59] DIAMOND, D. *et al.* Multicomponent batch-injection analysis using an array of ion-selective electrodes. *Analytica Chimica Acta*, v. 281, n. 3, p. 629-635, 1993.
- [60] QUINTINO, M.S.M.; ANGNES, L. Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool. *Electroanalysis*, v. 16, n. 7, p. 513-523, 2004.
- [61] TROJANOWICZ, M. *et al.* Batch-injection stripping voltammetry (tube-less flow-injection analysis) of trace metals with on-line sample pretreatment. *Talanta*, v. 68, n. 2, p. 394-400, 2005.
- [62] QUINTINO, M.D.S.M. *Desenvolvimento de sensores eletroquímicos associados a batch injection analysis (BIA) para aplicações analíticas*. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- [63] WANG, J.; TAHA, Z. Batch Injection-Analysis. *Analytical Chemistry*, v. 63, n. 10, p. 1053-1056, 1991.
- [64] WANG, J. *et al.* Computerized pipettes with programmable dispensation for batch injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, v. 267, n. 1, p. 171-177, 1992.

-
- [65] QUINTINO, M.S.M.; ANGNES, L. Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool. *Electroanalysis*, v. 16, n. 7, p. 513-523, 2014.
- [66] WANG, J. *et al.* Multicomponent batch-injection analysis using an array of ion-selective electrodes. *Analytica Chimica Acta*, v. 281, n. 3, p. 629-635, 1993.
- [67] FUNGARO, D. A., BRETT, C. M. A. Microelectrode arrays: application in batch-injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, v. 385, n. 1-3, p. 257-264, 1999.
- [68] QUINTINO, M.S.M. *et al.* Batch injection analysis utilizing modified electrodes with tetra-ruthenated porphyrin films for acetaminophen quantification. *Electroanalysis*, v. 14, n. 23, p. 1629-1634, 2002.
- [69] PEDROTTI, J.J.; ANGNES, L.; GUTZ, I.G.R. Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions. *Electroanalysis*, v. 8, n. 7, p. 673-675, 1996.
- [70] MILLER, J.; MILLER, J. *Statistic for Analytical Chemistry*. 3^a ed., New York: Prentice Hall, 1993.
- [71] COLLABORATIVE INTERNATIONAL PESTICIDES ANALYTICAL COUNCIL. Handbook. Londres, 1980.
- [72] WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Environmental Health Criteria 78 – Dithiocarbamate pesticides, ethylenethiourea and propylenethiourea: a general introduction*. Geneva, 1988.
- [73] GOSSER, JR. K. D.; *Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*, New York, 1993.
- [74] SOUZA, D. de. *et al.* Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. *Quimica Nova*, v. 27, n. 5, p. 790-797, 2004.
- [75] RIBEIRO, F.W.P. *et al.* Electrochemical mechanism and Kinetics studies of haloperidol and its assay in commercial formulations. *Eletrochimica Acta*, v. 56, n. 5, p. 2036-2044, 2011.
- [76] WEBBER, A.; SHAH, M.; OSTERYOUNG, J. Electrochemical reduction and determination of cimetidine at nanomolar to micromolar levels of concentration. *Analytica Chimica Acta*, v. 154, p. 105-119, 1983.
- [77] MIRCESKI, V.; KOMORSKY-LOVRIC, S.; LOVRIC, M. *Square Wave Voltammetry Theory and Application*, República da Macedônia: Springer, 2007.
- [78] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16.ed. Washington, DC, 1995.