

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**ISABELLA LIMA SILVA**

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA A  
DETECÇÃO DE IMIDACLOPRIDO**

**PATOS DE MINAS – MG  
JUNHO DE 2023**

**ISABELLA LIMA SILVA**

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA A  
DETECÇÃO DE IMIDACLOPRIDO**

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

**PATOS DE MINAS – MG**

**JUNHO DE 2023**

**ISABELLA LIMA SILVA**

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA A  
DETECÇÃO DE IMIDACLOPRIDO**

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Banca Examinadora:

---

**Profa. Dra. Djenaine de Souza (orientadora)**

---

**Profa. Dra. Lúcia Codognoto de Oliveira (membro)**

---

**MsC. Caio César Gonçalves Silva (membro)**

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa que se encontra no Sistema Eletrônico de Informações (SEI) da Universidade Federal de Uberlândia.

Patos de Minas, 23 de junho de 2023.

## RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvida uma metodologia eletroanalítica empregando-se eletrodo sólido de prata com amalgama de prata aliado à técnica de voltametria de onda quadrada para a identificação e quantificação de imidacloprido. Os resultados indicaram que o imidacloprido sofre uma reação de redução com características de processo irreversível, - 0,9 V, e com cinética eletródica lenta. Uma solução tampão Tampão Britton-Robinson foi empregada como eletrólito de suporte, com valores de pH variando de 6 a 12, e o melhor sinal voltamétrico foi obtido em pH 8,0. Também foram avaliadas etapas de pré concentração com otimização dos potenciais de pré concentração ( $E_{pc}$ ) e tempo de pré concentração ( $t_{pc}$ ), os quais foram otimizados no valor de -0,5 V e 15 s, respectivamente. Uma faixa linear de concentração foi obtida no intervalo de  $2,3 \times 10^{-6}$  a  $1,8 \times 10^{-5}$  mol/L, utilizando os parâmetros otimizados de: frequência de aplicação de pulsos de potenciais ( $f = 40 \text{ s}^{-1}$ ), amplitude de aplicação de pulsos de potenciais ( $a = 50 \text{ mV}$ ) e incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s = -2 \text{ mV}$ ). Valores de limites de detecção e quantificação foram calculados, resultando respectivamente em  $1,62 \times 10^{-6}$  e  $5,41 \times 10^{-6}$  mol/L, indicando que a metodologia proposta apresentou boa sensibilidade superando muitas outras com o mesmo foco. O método se mostrou preciso apresentando baixos coeficientes de variação para os testes de repetibilidade e reprodutibilidade, sendo os valores iguais 2,01% e 4,22%, respectivamente. A taxa de recuperação encontrada foi de 123%, valor relativamente alto. Assim, a metodologia proposta se mostrou sensível, seletiva e precisa para determinação do imidacloprido. Além disso a metodologia apresenta outras vantagens como baixo custo, boa reprodutibilidade, ambientalmente viável. Futuramente a metodologia proposta será aplicada para a detecção de imidacloprido em amostras de alimentos.

Palavras-chaves: Eletrodos sólidos de amalgama. Imidacloprido. Inseticidas neonicotinoides. Voltametria de onda quadrada.

## ABSTRACT

*In this work, an electroanalytical methodology was developed using a solid silver electrode with silver amalgam combined with the technique of square wave voltammetry for the identification and quantification of imidacloprid. The results indicated that imidacloprid undergoes a reduction reaction with characteristics of an irreversible process and with slow electrodic kinetics. A Britton-Robinson buffer solution was employed as the supporting electrolyte, with pH values ranging from 6 to 12, and the best voltammetric signal was obtained at pH 8.0. Pre-concentration steps were also evaluated with optimization of the pre-concentration potentials ( $E_{PC}$ ) and pre-concentration time ( $t_{PC}$ ), which were optimized at the value of -0.5 V and 15 s, respectively. A linear range of concentration was obtained in the range of  $2.3 \times 10^{-6}$  to  $1.8 \times 10^{-5}$  mol/L using the optimized parameters of: frequency of potential pulse application ( $f = 40 \text{ s}^{-1}$ ), amplitude of potential pulse application ( $a = 50 \text{ mV}$ ) and potential sweep increment ( $\Delta E_s = -2 \text{ mV}$ ). Detection and quantification limit values were calculated, resulting respectively in  $1.62 \times 10^{-6}$  and  $5.41 \times 10^{-6}$  mol/L, indicating that the proposed methodology showed good sensitivity outperforming many other methodologies with the same focus. The method was accurate, presenting low coefficients of variation for the repeatability and reproducibility tests, with values equal to 2.01% and 4.22%, respectively. The recovery rate found was 123%, a relatively high value, probably due to the adsorptive effect of the irreversible redox reaction of imidacloprid, which was a factor that contributed to the changes in the analytical signal. Thus, the proposed methodology proved to be sensitive, selective and accurate for the determination of imidacloprid. In addition, the methodology presents other advantages such as low cost, good reproducibility, and environmental feasibility. In the future the proposed methodology will be applied for the detection of imidacloprid in milk and honey samples.*

*Keywords: Imidacloprid. Neonicotinoids insecticide. Square wave voltammetry. Solid amalgam electrode.*

## LISTA DE SIGLAS

- $a$ : Amplitude de aplicação de pulsos de potencial
- Ag@Meso-C/Hematite Ore/GCE: Carbono vítreo com carbono mesoporus e nanopartículas de prata
- AgSAE: Eletrodo sólido de amalgama de prata
- AMP: Amperometria
- AuNP/b-CD/RGO/GCE: Eletrodo de carbono vítreo com nanopartículas de ouro, óxido de grafeno, e b-ciclo dextrina
- BiFEs: Eletrodos de filme bismuto
- BR: Solução tampão Britton-Robinson
- DBB: Eletrodo de diamante dopado com boro
- DPP: Polarografia de pulso diferencial
- EFSA: Autoridade europeia de segurança alimentar
- EIE: Espectroscopia de impedância eletroquímica;
- $E_p$ : Potencial pico
- $E_{p1/2}$ : Meia altura de pico
- $E_{PC}$ : Potencial de pré-concentração
- $F$ : Frequência de aplicação de pulsos de potencial
- GCE/GQDs/IL/MWCNTs/PANI: Eletrodo de carbono vítreo com quantum dots de grafeno, líquido iônico, multicamadas de nanotubos de carbono
- HPLC-MS/MS: Cromatografia líquida de alta performance com espectroscopia de massa em tandem
- $I$ : Corrente
- $I_b$ : Pulso de corrente reverso
- $I_f$ : Pulso de corrente direta
- IMD: Imidacloprido
- INC: Instrução normativas conjuntas
- $I_p$ : Corrente de pico
- LD: Limite de detecção
- LQ: Limite de quantificação
- LSV: Voltametria de varredura linear
- LSV: Voltametria de varredura linear
- nAChR: Receptores de acetilcolina
- nAgnf/nTiO<sub>2</sub>nf/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanoTiO<sub>2</sub>/Nafion; AgNDs/GNs-GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com AgNDs
- PCz/CRGO/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com polycarbazol e oxido de grafeno reduzido
- REF: Eletrodo de referência
- rGO/b-CD/ GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com b-ciclodextrina e óxidos de grafeno reduzido
- RGO/GCE: Eletrodos de carbono vítreo modifica com oxido de grafeno reduzido

- SnO<sub>2</sub>/CC: Eletrodo de carbono com nanopartículas SnO<sub>2</sub>
- SPCEs: Eletrodo de carbono impresso
- $t_{PC}$ : tempo de pré-concentração
- VC: Voltametria cíclica
- VOQ: Voltametria de onda quadrada
- VOQA: Voltametria onda quadrada *stripping*;
- VPD: Voltametria de pulso diferencial
- VPDC: Voltametria de pulso diferencial catódica
- WE: Eletrodo de trabalho
- $\Delta E_s$ : Incremento de varredura de potencial
- $\Delta I$ : Corrente resultante

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular do inseticida IMD.	9
Figura 2 – Etapas de redução IMD.	9
Figura 3A - Voltamogramas da VOQ em diferentes pH's (6 a 12), em tampão BR.	23
Figura 3B - Gráfico correlaciona $E_p$ vs pH.	23
Figura 4A - Voltamogramas da VOQ, $E_{pc}$ (-0,2 a -1,4 V), em tampão BR	23
Figura 4B - Gráfico correlaciona $E_{pc}$ vs I.	23
Figura 5A - Voltamogramas da VOQ, em diferentes $t_{pc}$ (15 a 200 s).	24
Figura 5B - Gráfico correlaciona $t_{pc}$ vs I.	24
Figura 6A - Voltamograma da VOQ sem utilizar etapas de pré-concentração.	25
Figura 6B - Voltamograma da VOQ aplicando a etapa de pré-concentração	25
Figura 7A - Voltamogramas da VOQ em diferentes valores de $a$ (10 a 50 mV).	26
Figura 7B - Gráfico correlaciona $a$ vs I.	26
Figura 8A - Voltamogramas das componentes de corrente em diferentes $a$ .	27
Figura 9A- Voltamogramas da VOQ em diferentes valores de $f$ (10 a 200 Hz).	28
Figura 9B - Gráfico correlaciona $f$ vs I.	28
Figura 10A - Correlaciona $\log f$ vs $E_p$ .	28
A Figura 10B correlaciona $f^2$ vs I.	28
Figura 11A - Voltamogramas da VOQ em valores de $\Delta E_s$ (0,002 a 0,01 mV).	29
Figura 11B - Gráfico correlaciona $\Delta E_s$ vs I.	29
Figura 12A - Voltamogramas da VOQ gerados em [IMD] (2,3 a 18 $\mu\text{mol/L}$ ).	30
Figura 12B - Gráfico correlaciona [IMD] vs I.	30



Figura 13A - Voltamogramas da VOQ gerados em [IMD] ( x a 18 umol/L). 33

Figura 13B - Correlaciona [IMD] vs I. 33

## SUMÁRIO

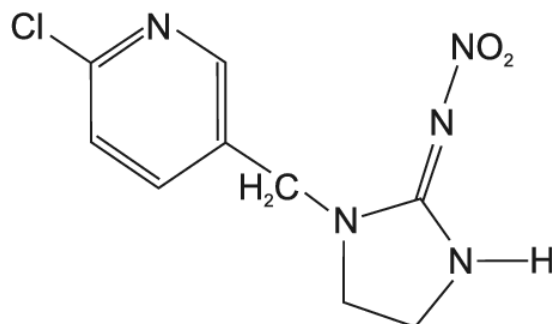
1. INTRODUÇÃO .....	8
1.2 Referencial Teórico .....	11
2. OBJETIVO GERAL .....	16
2.1 Objetivos Específicos .....	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	16
3.1 Equipamentos e Soluções .....	17
3.2 Eletrodo de trabalho.....	17
3.3 Procedimento experimental .....	18
3.4 Metodologia analítica .....	19
3.4.1 Curva de calibração .....	19
3.4.2 Curva de recuperação .....	20
3.4.3 Repetibilidade.....	20
3.4.4 Reprodutibilidade .....	21
3.4.5 Aplicação.....	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1 Variação pH do meio.....	21
4.2 Parâmetros de pré-concentração.....	23
4.3 Parâmetros da voltametria de onda quadrada.....	25
4.3.1 Amplitude dos pulsos de potencial.....	25
4.3.2 Frequência dos pulsos de potencial .....	27
4.3.3 Incremento de potencial.....	28
4.4 Parâmetros analíticos.....	30
4.4.1 Curva de calibração .....	30
4.4.2 Curva de recuperação .....	32
4.4.3 Repetibilidade.....	33
4.4.4 Reprodutibilidade .....	33
5. CONCLUSÃO .....	34
6. REFERÊNCIAS .....	35

## 1. INTRODUÇÃO

Os neonicotinoides são uma classe relativamente nova de inseticidas, que foram planejados e sintetizados com o objetivo de se ligarem aos receptores nicotínicos de insetos, promovendo o controle de pragas. Dentre os inseticidas neonicotinoides estão: Imidacloprido, Acetamiprido, Tiacloprido, entre outros (WANG, 2023). Esta classe química de inseticidas cresceu extensivamente o seu uso para controle de pragas devido a sua baixa afinidade por não alvos no ambiente, alta especificidade a insetos e por ter versatilidade nos métodos de aplicação (CRESSWELL, 2011). Entretanto estudos recentes mostram que a integridade das abelhas da espécie *Apis mellífera* pode estar em risco quando em contato com os pesticidas neonicotinóides. Os resultados revelam que este inseticida pode alterar a homeostase e causar estresse oxidativo dentre outras disfunções, podendo resultar na morte. A alteração na homeostase se dá a sobrecarga de  $Fe^{2+}$ , ativando as espécies reativas de oxigênio e causando a mortalidade das abelhas (HE, 2021). Dessa forma, considerando o importante papel das abelhas tanto para o ecossistema quanto na economia, prejudicar sua integridade pode gerar a perda da biodiversidade desses insetos. Caso ocorra o desequilíbrio da biodiversidade desses insetos estima-se que ocorreria um decréscimo de 90% da produção sem a polinização por abelhas nas plantações (KLEIN, 2007). Para o ambiente o IMD é considerado medianamente tóxico, sendo classificado como classe III pela ANVISA (ANVISA, 2015).

A descoberta do imidacloprido (IMD, Figura 1) [1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine] ocorreu em 1984, na Nihon Bayer Agrochem, que promoveram a adição do grupo 3-piridimetil ao nitrometileno heterocíclico, com essa modificação era previsto aumentar a atividade inseticida e, ao mesmo tempo, diminuir a toxicidade em mamíferos (VETERINARY TOXICOLOGY, 2018). O IMD foi o primeiro inseticida da classe neonicotinoide registrado para uso comercial, sendo o inseticida sintético mais utilizado devido sua ação seletiva e seu amplo espectro de ação, ou seja, pode ser utilizado para diversos tipos de pragas. O composto ativo pode ser encontrado em fórmulas comerciais como: Admire, Confidor, Gaúcho, entre outras, do fabricante BAYER (MATSUDA, 2001).

Figura 1-Estrutura molecular do inseticida IMD.



Fonte: Pubchem.

A ação do IMD ocorre de forma sistêmica, agindo por contato ou ingestão. Dessa forma, assim que o produto é aplicado nas lavouras é absorvido e passa a circular em conjunto com a seiva das plantas. Em seguida os insetos que entram em contato com a seiva (ou diretamente com o inseticida) sofrem a desregulação do sistema nervoso. Os neonicotinoides atuam nos receptores nicotínicos pós-sinápticos, os quais estão presentes em todo tecido nervoso dos insetos. Com isso quando o inseto entra em contato com o IMD que se liga aos receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs), atuando como agonista, causando uma resposta bifásica, a qual inicialmente aumenta a frequência dos pulsos, e em seguida um bloqueio total da propagação nervosa. Entretanto esta classe de inseticidas tem como característica a ação seletiva, isso se dá por sua estrutura apresentar maior afinidade às subunidades dos nAChR, as quais são mais expressas em insetos especialmente nos tecidos nervosos (TOMIZAWA, 2011). Em contrapartida, os metabólitos do IMD gerados no ambiente a partir da fotólise, como desnitro-imidacloprid, possui 600 vezes mais afinidade pelas subunidades nAChR em mamíferos que o IMD propriamente dito, podendo gerar um desequilíbrio no ecossistema (CASIDA, 1999).

No Brasil o IMD é extensivamente utilizado em lavouras de arroz, cana-de-açúcar, soja, trigo e algodão. Em 2017 surgiram novas diretrizes quanto ao uso do IMD, desautorizando a aplicação por pulverização devido ao risco que o ativo pode gerar aos insetos polinizadores. Entretanto, enquanto os agricultores buscam por alternativas, ainda é possível a utilização temporária, porém a aplicação é proibida em períodos de floração, segundo as Instruções Normativas Conjuntas (INC's) (IBAMA, 2009). A partir das novas diretrizes emergentes diversos estudos relacionados ao impacto da utilização do inseticida aos insetos polinizadores indicaram que seu uso pode trazer danos ao seu sistema nervoso central (TASMAN, 2020), ao comportamento (BLOCH, 2017), ao sistema reprodutivo

(LAYCOCK, 2012) e a produção de pólen (SCHNEIDER, 2012). Entretanto os polinizadores, como as abelhas, podem ser expostos a inseticidas neonicotinoides por diversas formas, não se restringindo apenas ao contato do inseto com a flor durante a polinização. De acordo com a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority, EFSA*) a integridade dos insetos ainda se encontram em alto risco através dos resíduos de inseticida via névoa, a qual também é responsável por contaminar os ambientes aos redores das lavouras.

Além do impacto negativo que os inseticidas neonicotinoides possuem acerca da preservação dos insetos e da biodiversidade, eles podem impactar negativamente toda população visto que há estudos comprovando sua presença em frutas, vegetais e grãos (WU, 2020), vinho (RODRÍGUEZ-CABO, 2016), águas naturais (LI, 2019), mel (GBYLIK-SIKORSKA, 2015) e em sucos de frutas (LI, 2020), indicando que a problemática abrange outras esferas de fora do campo. Dessa forma, a utilização de métodos de análise química sensíveis e seletivos são de grande importância para ter o controle da qualidade dos alimentos e proteger o consumidor. Para análises de neonicotinoides e seus metabolitos a cromatografia líquida de alta performance (HPLC, do inglês, *high performance liquid chromatography*) geralmente é empregada, podendo ser acoplada a diferentes sistemas de detecção. Entretanto considerando a baixa concentração de IMD e as matrizes complexas onde são detectados, torna-se necessário, para a análise em HPLC, etapas prévias de extração, clean-up e pré-concentração da amostra como a micro extração em fase sólida e a de extração em fase líquida.

Um estudo recente mostra que cerca de 36% das amostras de aves selvagens de ecორეгиões no Texas estavam contaminadas com inseticidas neonicotinoides. Para a detecção destes inseticidas foi empregado HPLC acoplado ao detector de espectroscopia de massa em tandem (HPLC-MS/MS). O IMD foi detectado em 11,8% das amostras avaliadas, em concentrações de 10,8 - 36,131 pg/mL. Tratando-se de fluídos biológicos, como o plasma, foi necessário o emprego de etapas de preparação da amostra para a aplicação no equipamento. Nesse caso, o plasma foi misturado com um solvente orgânico para centrifugação; após a centrifugação, o sobrenadante passa por secagem a vácuo e, posteriormente, é reidratado para a adição na fase móvel do equipamento e finalmente é possível a análise no HPLC-MS/MS (ANDERSON, 2023). Li et al (2019) desenvolveram um método de análise rápida e simultânea para neonicotinoides e seus metabolitos em amostras de água de rios e do mar. Nesse trabalho foi utilizado a extração em fase sólida para extrair o analito da amostra, para posterior análise cromatográfica utilizando-se

HPLC-MS/MS. O limite de detecção (LD) calculado foi de 0,100 ng/L, e o limite de quantificação (LQ) de 0,250 ng/L para IMD. A concentração total dos pesticidas neonicotinoides chegou a 3,12 ng/L, sendo o IMD o pesticida predominante em ambos os tipos de amostra. Esses dados indicaram que os neonicotinoides estão presentes na vida marinha, entretanto ainda não se sabe muito sobre seu transporte e sua transformação molecular, assim como seus efeitos ecotoxicológicos (LI, 2019). Concentrações de IMD também já foram encontradas em maçãs (9,20 µg/Kg) e em pólen (18 - 28 µg/Kg) com a detecção por HPLC-MS e etapas de extração e purificação por QueChERs, que é um tipo de extração em fase sólida dispersiva usada para preparo de amostras, e significa rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro (do inglês, *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*). Nesse trabalho, além das etapas de corte e congelamento das frutas houve outras etapas como extração, purificação e diluição. Já para a análise em pólen necessitou-se da diluição, extração, congelamento e centrifugação para a adição do analito na fase sólida para extração de lipídeos (CALZA, 2022).

Dessa forma, observando a alta incidência de IMD e seus metabolitos nos mais diversos tipos de amostra torna-se necessário seu monitoramento, visto que os efeitos toxicológicos e ecotoxicológicos podem também resultar em problemas às pessoas e ao ambiente. Os métodos tradicionais, como HPLC-MS, apresentam excelente seletividade e sensibilidade analítica, porém são métodos de alto custo devido a instrumentação e consumíveis necessários e ainda requerem o manuseio por uma mão de obra altamente qualificada. Com esse cenário, os métodos eletroquímicos se apresentam como uma boa opção visto que são sensíveis, seletivos, de rápida análise e de com a instrumentação de baixo custo. Outro ponto valioso dos métodos eletroquímicos é a parcial exclusão das etapas de pré-tratamento, sendo necessário apenas etapas simples como centrifugação, diluição e/ou filtração, para a maioria das matrizes.

## 1.2 Referencial Teórico

As técnicas eletroanalíticas se baseiam na dinâmica da eletricidade e da química, correlacionando os elementos elétricos, como: corrente, potencial ou carga, com as mudanças na estrutura química. Os processos eletroquímicos ocorrem na interface do eletrodo de trabalho (WE, do inglês *working electrode*) que fica imerso no eletrólito suporte, que tem como finalidade auxiliar na condutividade iônica, além disso, por ser muito concentrado o eletrólito suporte inibe a eletromigração que compromete a análise

química. Além do WE, para compor a célula eletroquímica, encontra-se também eletrodo de referência (RE, do inglês *reference electrode*) o qual garante um potencial constante na célula; um terceiro eletrodo, eletrodo auxiliar, conclui a composição da célula eletroquímica que é conectada ao potenciostato/galvanostato e com o auxílio de softwares, resulta nos sinais analíticos que tornam possível a análise e estudo de moléculas. As técnicas potenciostáticas permitem o estudo de transferência de carga que ocorre na interface do WE, geralmente em situações dinâmicas de corrente (I). De acordo com os parâmetros aplicados (potencial em função do tempo) a espécie química, sendo necessariamente eletroativa, tende a perder ou ganhar elétron, fenômenos nomeados de oxidação ou redução, respectivamente (WANG, 2006).

A voltametria de onda quadrada (VOQ) vem sendo muito utilizada para a detecção de pesticidas das mais variadas classes químicas, utilizando diversos tipos de WE ou sensores voltamétricos (ELBAS, 2022; GHODSI E RAFATI, 2017). Na VOQ vários pulsos de potencial elétrico são aplicados na forma de “escada”. Com este potencial o analito se difunde na interface do WE e eletrólito de suporte, de acordo com a frequência dos pulsos de potencial aplicados e, conseqüentemente, reduz ou oxida. Enquanto no pulso resultante o analito volta para seu estado inicial, caso sua reação seja reversível. Dessa forma, os valores de corrente obtidos no pulso de potencial direto (sentido da varredura de potencial) ( $I_f$ ) e no fim do pulso ( $I_b$ ) são mensurados, gerando a corrente resultante ( $\Delta I$ ). Quando o pulso direto é aplicado, o sistema entra em equilíbrio antes da aplicação do pulso reverso, resultando em minimização de correntes capacitivas e o máximo de sinal para as correntes de transferência de carga, ou correntes faradaicas. Como na VOQ os valores da corrente resultante são maiores que  $I_f$  e  $I_b$ , os sinais gerados por essa técnica são maiores quando comparada a outras técnicas eletroanalíticas, resultando em valores de LD na faixa de  $1.00 \times 10^{-6}$  a  $1.00 \times 10^{-12}$  mol/L. Os valores de máximo sinal para o pico de corrente ( $I_p$ ) e potencial de pico ( $E_p$ ) podem ser utilizados para identificar e quantificar inseticidas de diferentes classes. Assim, a VOQ vem sendo amplamente empregada para estudos eletroquímicos e para análise de inseticidas de diferentes classes químicas e nos mais variados tipos de amostra. Além de sua versatilidade, alta sensibilidade e seletividade, também é um método que utiliza instrumentação de baixo custo, soluções simples, resulta em análises rápidas, portáteis e simples utilização e manuseio (DE SOUZA, 2021).

Mesmo os métodos eletroquímicos não sendo considerados como métodos tradicionais para análise, eles não se mostram limitados quando comparado a outros métodos tradicionais. Kumaravel (KUMARAVEL, 2011) preparou um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de prata para detectar IMD utilizando voltametria de pulso diferencial. Os resultados analíticos obtidos foram muito próximos aos obtidos com os métodos tradicionais, como o HPLC. Os valores de recuperação, utilizando a voltametria de pulso diferencial, se mostraram até maiores que os do HPLC

Recentemente foi descrito a modificação de um eletrodo de carbono vítreo com nanopartículas de ouro, óxido de grafeno, e b-ciclodextrina a fim de determinar IMD. O novo método utilizou para detecção a espectroscopia de impedância eletroquímica e obteve um LD de  $1,33 \times 10^{-8}$  mol/L, e valores de recuperação de 92,0 a 110% em amostras de frutas, como manga e morango (LUO, 2022). Como apresentado na Tabela 1, as recentes metodologias eletroanalíticas desenvolvidas estão relacionadas para a análise em alimento, visto que a ingestão de alimentos contaminados por IMD é a principal maneira de atingir a qualidade de vida dos consumidores. As metodologias apresentadas se mostraram altamente sensíveis e com boas taxas de recuperação. Entretanto, todos os trabalhos desenvolvidos recentemente para tal finalidade utilizam eletrodos quimicamente modificados, principalmente para o aumento da sensibilidade do método. Apesar da grande vantagem de um método altamente sensível, a modificação dos eletrodos pode trazer desvantagens tais como a reprodutibilidade dos sinais analíticos e algumas vezes maior custo em função de uso de modificantes caros. A maioria dos trabalhos apresentados na Tabela 1 resultaram em um alto valor de desvio padrão relativo, ou coeficiente de variação, o que indica que os métodos se empregando eletrodos quimicamente modificados podem apresentar significativa variação na precisão e na acurácia. Dessa forma, mesmo que os métodos eletroquímicos apresentam vantagens quanto a versatilidade, sensibilidade, seletividade e baixo custo ainda há de considerar o material do de preparação do WE, para que a metodologia desenvolvida possua, além de todas as vantagens, uma boa repetibilidade e reprodutibilidade. Com isso as metodologias podem ser aplicadas para análise de controle de segurança, de forma rápida, precisa e barata.

Tabela 1 – Metodologias desenvolvidas que determinaram IMD utilizando métodos eletroquímicos.



Técnica	Eletrodo	Condições	LD (mol/L)	Recuperação (%)	Aplicação	Referência
<b>EIE</b>	AuNP/b-CD/RGO/GCE:	BR, pH: 5	$1,33 \times 10^{-8}$	92-110	Frutas	LUO, 2022
<b>LSV</b>	Ag@Meso - C/Hematite Ore/GCE	PBS, pH: 6.6	$1,06 \times 10^{-6}$	-	Água	RASED, 2022
<b>AMP</b>	Ag@Meso - C/Hematite Ore/GCE	PBS, pH: 6,6.	$2,57 \times 10^{-7}$	-	Água	RASED, 2022.
<b>VPD</b>	GCE/GQDs/IL/MWCNTs/PANI	PBS, pH: 7.0	$9,00 \times 10^{-9}$	96,7-106	Frutas	NASR-ESFAHANI, 2019
<b>VOQ</b>	DDB	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH: 7.0	$8,6 \times 10^{-6}$	96,6-100,9	Suco de fruta	BRAHIM, 2016
<b>VOQA</b>	FL@SPIONs@adduct-PGE	-	$4,88 \times 10^{-11}$	95,9-100,4	Vegetais e solo	KUMAR, 2018
<b>VOQ</b>	CV	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH: 7.0	$1,09 \times 10^{-5}$	107,6	Suco de fruta	BRAHIM, 2018
<b>VC</b>	CV	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH: 7.0	$3,40 \times 10^{-5}$	99,19	Suco de fruta	BRAHIM, 2018
<b>VPDC</b>	BiFEs	BR, pH: 10.	$3,52 \times 10^{-8}$	89-109	Águas Naturais	LEZI, 2015
<b>VC</b>	rGO/b-CD/GCE	PBS, pH: 7.	$8,92 \times 10^{-6}$	108,75	Mel	OLIVEIRA, 2018

VC	PCz/CRG O/ GCE	PBS, pH: 5.	$2,2 \times 10^{-7}$	-	-	LEI, 2013 LEI
VPD	PCz/CRG O/ GCE	PBS, pH: 5.	$4,4 \times 10^{-7}$	-	-	LEI, 2013
VPD	SPCEs		$3,1 \times 10^{-15}$	93-107	Água	SURESH, 2022.
VC	nAgnf/nTi O <sub>2</sub> nf/ GCE	BR, pH: 3,7.	$6,3 \times 10^{-5}$	86	Água	KUMAR AVEL, 2011
VPD	nAgnf/nTi O <sub>2</sub> nf/ GCE	BR, pH: 3,7.	$2,5 \times 10^{-5}$	97,33	Água	KUMAR AVEL, 2011
AMP	nAgnf/nTi O <sub>2</sub> nf/ GCE	BR, pH: 3,7.	$9,3 \times 10^{-5}$	91,60	Água	KUMAR AVEL, 2011
VC	AgNDs/G Ns/GCE	PBS, pH 7.	$2,71 \times 10^{-6}$	92,5-107,5	Formulação comercial	MAJIDI, 2017
VC	SnO <sub>2</sub> /CC	PBS 7.5	$5,6 \times 10^{-4}$	93,6-105,9	Maças	LI, 2023.
VC	RGO/GCE	PBS 7	$4 \times 10^{-7}$	95,8	Frutas	KONG, 2013.

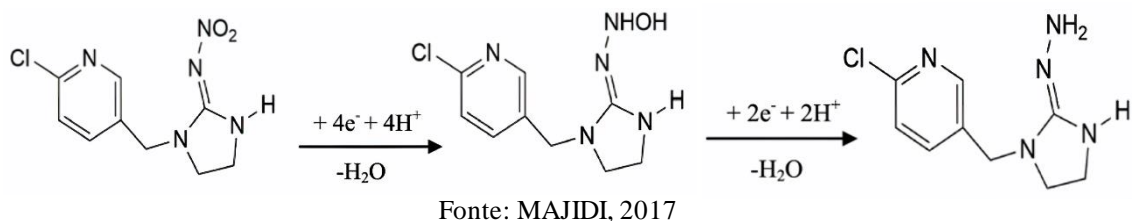
Fonte: Autora.

**LSV:** Voltametria de varredura linear; **AMP:** Amperometria; **VPD:** Voltametria de pulso diferencial; **VOQA:** Voltametria onda quadrada *stripping*; **VC:** Voltametria cíclica; **VPDC:** Voltametria de pulso diferencial catódica; **EIE:** Espectroscopia de impedância eletroquímica; **LSV:** Voltametria de varredura linear. **BiFEs:** Eletrodos de filme bismuto; **rGO/b-CD/ GCE:** Eletrodo de carbono vítreo modificado com b-ciclodextrina e óxidos de grafeno reduzido; **PCz/CRGO/GCE:** Eletrodo de carbono vítreo modificado com policarbazol e óxido de grafeno reduzido; **SPCEs:** Eletrodo de carbono impresso; **nAgnf/nTiO<sub>2</sub>nf/GCE:** Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanoTiO<sub>2</sub>/Nafion; **AgNDs/GNs-GCE:** Eletrodo de carbono vítreo modificado com AgNDs; **SnO<sub>2</sub>/CC:** Eletrodo de carbono com nanopartículas SnO<sub>2</sub>; **RGO/GCE:** Eletrodos de carbono vítreo modifica com óxido de grafeno reduzido; **DBB:** Eletrodos de diamante dopado com boro; **GCE/GQDs/IL/MWCNTs/PANI:** Eletrodo de carbono vítreo com quantum dots de grafeno, líquido iônico, multicamadas de nanotubos de carbono; **AuNP/b-CD/RGO/GCE:** Eletrodo de carbono vítreo com nanopartículas de ouro, óxido de grafeno, e b-ciclo dextrina; **Ag@Meso-C/Hematite Ore/GCE:** Carbono vítreo com carbono mesoporus e nanopartículas de prata.

A redução do IMD ocorre em duas etapas, iniciando com a redução do grupo nitro em hidroxilamina e seguindo com a redução da hidroxilamina em derivados de amina, como mostrado na Figura 2. Com isso, é comum observar um segundo pico em potenciais

mais negativos nos voltamogramas. Majidi (2017) encontrou dois picos de redução de IMD, o primeiro no potencial -0,7 V, redução grupo nitro, e o segundo no potencial -0,95 V, redução hidroxilamina.

Figura 2- Etapas de redução IMD



## 2. OBJETIVO GERAL

O objetivo principal do projeto foi o desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para detecção de IMD utilizando-se eletrodo sólido de amálgama de prata como sensor voltamétrico aliado a técnica de voltametria de onda quadrada para a identificação e quantificação de IMD em amostras alimentícias.

### 2.1 Objetivos Específicos

- Preparação dos eletrodos sólidos de amálgama de prata (AgSAE).
- Condicionamento eletroquímico do AgSAE.
- Otimização das condições experimentais, tais como o eletrólito suporte e faixa de pH.
- Avaliação dos parâmetros voltamétricos, tais como frequência de aplicação de pulsos de potencial, amplitude de pulsos de potencial e incremento de varredura de potencial.
- Estabelecimento da metodologia eletroanalítica
- Avaliação dos parâmetros analíticos, tais como faixa dinâmica linear seletividade, sensibilidade, repetibilidade, reprodutibilidade e eficiência de recuperação .

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Equipamentos e Soluções

As análises voltamétricas foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato PGStat101 Autolab com auxílio do software NOVA 2.1.5. As medidas de massa foram realizadas em uma balança analítica Shimadzo modelo M214A. Todas as soluções foram preparadas com água purificada pelo sistema de osmose reversa do equipamento OS20 LX da Gehaka. O ajuste de pH foi realizado em um pHmetro da Gehaka modelo PG1800 e um eletrodo combinado de vidro,

A solução 0,2 mol/L de cloreto de potássio (KCl, da marca Vetec, CAS: 12599-00-7), foi preparada para o condicionamento do WE. Como eletrólito suporte foi utilizado o tampão Britton-Robinson (BR) preparado a partir de 0,04 mol/L de ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ , da Isofar, CAS: 7664-38-2), de ácido bórico ( $H_3BO_3$ , da VETEC, CAS: 10043-35-3) e de ácido acético ( $CH_3COOH$ , da Isofar, CAS: 6993-75-5) que teve seus valores de pH ajustados com a adição de uma solução 1,0 mol/L de hidróxido de sódio (NaOH, da marca Cromoline, CAS: 1310-73-2) (BRITTON; ROBINSON, 1931). A solução estoque de IMD (99,10% de pureza) com concentração de  $1,00 \times 10^{-3}$  mol/L foi preparada dissolvendo-se a quantidade necessária em água, e esta solução foi armazenada em frasco escuro e sob refrigeração para evitar possível degradação.

### 3.2 Eletrodo de trabalho

O AgSAE foi construído através do processo de amalgamação natural, de acordo com procedimento previamente desenvolvido (SILVA E SOUZA, 2017). Para isso, 0,35 g de mercúrio líquido de padrão analítico e 0,15 g de prata em pó fino, da marca Sigma-Aldrich com 99,9% de pureza e partículas de 9,00  $\mu m$ , foram mecanicamente misturados. A pasta formada foi transferida para um tubo capilar de vidro, e compactada. Após 24h foi realizado um contato elétrico utilizando fios de cobre e cola condutiva de prata. Por fim, o disco gerado na extremidade do capilar de vidro foi polido com lixa d'água 600, 1200 e 2000 da marca 3M, até obter uma superfície lisa e homogênea com características de espelho.

Após a construção do AgSAE foi realizada sua ativação eletroquímica, que se iniciou aplicando-se -2,20 V por 600 s, com borbulhamento de  $N_2$  na célula eletroquímica contendo KCl 0,2 mol/L. Esse procedimento foi importante para reduzir a resistência de

transferência de carga e, conseqüentemente, aumentar as respostas analíticas e remover quaisquer óxidos superficiais e/ou impurezas na superfície do AgSAE.

### 3.3 Procedimento experimental

Os experimentos foram realizados em uma célula eletroquímica de compartimento único, construída em vidro e com capacidade para 40 mL, com tampa de Teflon para o encaixe dos eletrodos e inserção/remoção de gases. Foi utilizado o AgSAE como eletrodo de trabalho, um fio de platina como eletrodo auxiliar e um eletrodo de referência de Ag/AgCl 3,0 mol/L. Antes das análises voltamétricas a célula eletroquímica foi rigorosamente higienizada com sabão neutro e enxaguada com água purificada para remoção de possíveis interferentes. O AgSAE foi polido com lixa d'água, com granulidade variadas, até que sua interface ficasse brilhosa e sem riscos, o procedimento foi realizado antes das análises para remover resíduos e para renovar a superfície do eletrodo.

Após os procedimentos preliminares, a célula foi acoplada ao potenciostato/galvanostato para o condicionamento eletroquímico do eletrodo, como previamente descrito. Posteriormente foi aplicada a técnica de voltametria cíclica (VC) variando-se o potencial de 0,0 a -2,2 V, utilizando KCl 0,2 mol/L, até estabilização dos sinais voltamétricos. O condicionamento foi importante para deixar a interface do eletrodo mais passível a reação redox, hidrogenando sua superfície e reduzindo a resistência à transferência de carga. Após o condicionamento a célula eletroquímica era novamente higienizada para a outra etapa. Um segundo condicionamento do eletrodo era realizado no eletrólito suporte, tampão BR. O condicionamento no eletrólito suporte se iniciava com a aplicação de -2,2 V por 15 s ao borbulho de N<sub>2</sub>, posteriormente a voltametria cíclica foi aplicada variando-se o potencial de 0,0 a -1,5 V; durante 10 ciclos de varredura de potencial com velocidade de 100 mV/s. O condicionamento do eletrodo no eletrólito suporte auxiliou na estabilização da interface do eletrodo e na reprodutibilidade nos sinais voltamétricos ao ativar sua interface.

Para as análises com variação do pH, foi adicionado  $2,97 \times 10^{-4}$  mol/L de IMD na célula eletroquímica. Inicialmente foi aplicado um potencial inicial de -2,2 V por 30 s com N<sub>2</sub>, para ativar e ou renovar a superfície do eletrodo e melhorar o sinal voltamétrico. A utilização do N<sub>2</sub> auxiliou na homogeneização da solução, eliminando O<sub>2</sub> e bolhas de H<sub>2</sub> produzidas na etapa de ativação, as quais interferem na análise. Após isso, o N<sub>2</sub> era

desligado e a técnica de VOQ era aplicada utilizando varredura de potencial 0,0 a -2,1 V de potencial, a  $25 \pm 1$  °C, com a frequência de aplicação de pulsos de potencial ( $f$ ) de  $100 \text{ s}^{-1}$ , incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ) -0,002 V, e amplitude de pulsos de potencial ( $a$ ) de 0,05 V. Após a análise o descarte das soluções eram realizados e a célula era novamente higienizada, repetindo-se o procedimento para diferentes valores de pH.

Após a otimização do eletrólito suporte, os parâmetros de pré-concentração e da técnica VOQ foram otimizados, tais como potencial de pré-concentração ( $E_{PC}$ ), tempo de pré-concentração ( $t_{PC}$ ),  $a$ ,  $f$  e  $\Delta E_s$ .

Os ensaios de pré-concentração foram realizados adicionando-se  $2,91 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  de IMD ao eletrólito suporte no valor de pH definido. Para a otimização do  $E_{PC}$  variou-se o  $E_{PC}$  de -0,10 V a -1,4 V, mantendo  $t_{PC} = 30 \text{ s}$ ,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 0,05 \text{ V}$  e  $\Delta E_s = 0,002 \text{ V}$ . Para a otimização do  $t_{PC}$  variou-se  $t_{PC}$  de 15 s a 200 s, utilizando  $E_{PC}$  pré-definido anteriormente,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 0,05 \text{ V}$  e  $\Delta E_s = 0,002 \text{ V}$ .

Para a otimização da  $f$ , variou-se  $f$  de 10 a  $250 \text{ s}^{-1}$ , mantendo os valores de  $E_{PC} = -0,5 \text{ V}$ ,  $t_{PC} = 15 \text{ s}$ ,  $a = 0,05 \text{ V}$  e  $\Delta E_s = 0,002 \text{ V}$ . Para a otimização da  $a$ , variou-se  $a$  de 0,005 a 0,05 V, mantendo os valores de  $E_{PC} = -0,5 \text{ V}$ ,  $t_{PC} = 15 \text{ s}$ ,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$  e  $\Delta E_s = 0,002 \text{ V}$ . Para a otimização do  $\Delta E_s$ , variou-se  $\Delta E_s$  de 1 a 5 mV, mantendo os valores de  $E_{PC} = -0,5 \text{ V}$ ,  $t_{PC} = 15 \text{ s}$ ,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$  e  $a = 0,05 \text{ V}$ .

Em todas estas etapas experimentais e voltamétricas foram consideradas as intensidades de corrente de pico ( $I_p$ ), os valores de potenciais de pico ( $E_p$ ) e a variação na largura de meia altura ( $W_{1/2}$ ) dos voltamogramas.

### 3.4 Metodologia analítica

#### 3.4.1 Curva de calibração

Com os parâmetros experimentais e voltamétricos otimizados, foi realizada a mensuração de alíquotas da solução padrão de IMD na célula eletroquímica para a construção da curva de calibração pelo método de adição de padrão. A curva foi construída através do aumento de incrementos de adição da solução estoque de IMD e os sinais de  $I_p$  a cada adição foram avaliados, a fim de se observar a faixa de concentração onde ocorre a região linear da curva de calibração, construída em triplicata. Os valores de LD e limite de quantificação (LQ) foram calculados de acordo com as Equações 1 e 2.

$$LD = 3 \times \frac{DP_a}{b} \quad \text{Equação 1.}$$

$$LQ = 10 \times \frac{DP_a}{b} \quad \text{Equação 2.}$$

em que, LD é a menor quantidade de analito que o método foi capaz de detectar e LQ expressa a menor quantidade do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão,  $DP_a$  é o desvio padrão dos valores de potenciais de pico medidos na solução do branco, no exato valor do potencial de redução do IMD; e  $b$  é a inclinação da curva de calibração média (ANVISA, 2003)

### 3.4.2 Curva de recuperação

A curva de recuperação foi construída pelo método de adição de padrão após a adição de uma concentração desconhecida de IMD no eletrólito suporte. Após a adição desconhecida, novas adições foram realizadas observando-se o sinal analítico de IMD, que resulta em uma variação linear com as adições do padrão. Após a obtenção desses e tratamento desses dados, foi possível plotar um gráfico com os valores de  $I_p$  vs [IMD], e utilizar de tratamentos matemáticos para estimar a concentração do IMD desconhecida, através da extrapolação da reta até a intersecção no eixo x. As taxas de recuperação (%REC) foram calculadas de acordo com a Equação 4.

$$\%REC = \frac{[IMD]_{recuperada}}{[IMD]_{adicionada}} \times 100 \quad \text{Equação 3.}$$

Onde,  $[IMD]_{recuperada}$  é referente a concentração de IMD obtida no voltamograma obtido com a metodologia proposta; e a  $[IMD]_{adicionada}$  é a concentração real adicionada ao eletrólito suporte.

### 3.4.3 Repetibilidade

Para os testes de repetibilidade foram escolhidas duas concentrações contemplando os pontos extremos da curva de calibração,  $4,5 \times 10^{-6}$  e  $1,5 \times 10^{-5}$  mol/L. Cada concentração foi mensurada 10 vezes consecutivas, sob condições otimizadas, e após o

tratamento dos voltamogramas, os valores de  $I_p$  foram registrados para os cálculos do desvio padrão relativo (DPR), de acordo com a Equação 5.

$$DPR = \frac{DP_{I_p}}{X_{I_p}} \times 100 \quad \text{Equação 4.}$$

Em que,  $DP_{I_p}$  e  $X_{I_p}$  são, respectivamente, o desvio padrão e a média aritmética das correntes de pico.

#### 3.4.4 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi realizada em diferentes soluções avaliando duas concentrações distintas,  $4,5 \times 10^{-6}$  e  $1,5 \times 10^{-5}$  mol/L, obtendo 12 voltamogramas no final da etapa. Com esses resultados foi possível calcular o DPR, com intuito de saber o quanto os valores variaram em relação a média,

#### 3.4.5 Aplicação

Futuramente essa metodologia otimizada será validade através da aplicação em alimentos, especialmente em mel, para a determinação voltamétrica de IMD.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Variação pH do meio

Os eletrodos sólidos de amálgama se apresentam como características eletroquímicas próximas quando comparados aos eletrodos de mercúrio. A comparação entre esses dois eletrodos existe por possuírem propriedades eletroquímicas muito similares, visto que possuem o mesmo metal em sua composição. Entretanto a forma com que o mercúrio se apresenta nos eletrodos de amálgama é ligada a outro metal, como a prata, desta forma sua utilização gerando pouco resíduo do metal. Geralmente a proporção utilizada para construir eletrodos AgSAE é 30/70 (Ag/Hg; m/m). Com essa proporção foi observado através de análises por energia dispersiva de raios-X que o eletrodo não apresenta prata, mercúrio ou óxidos livres, apresentando como fase dominante  $Ag_2Hg_3$ .



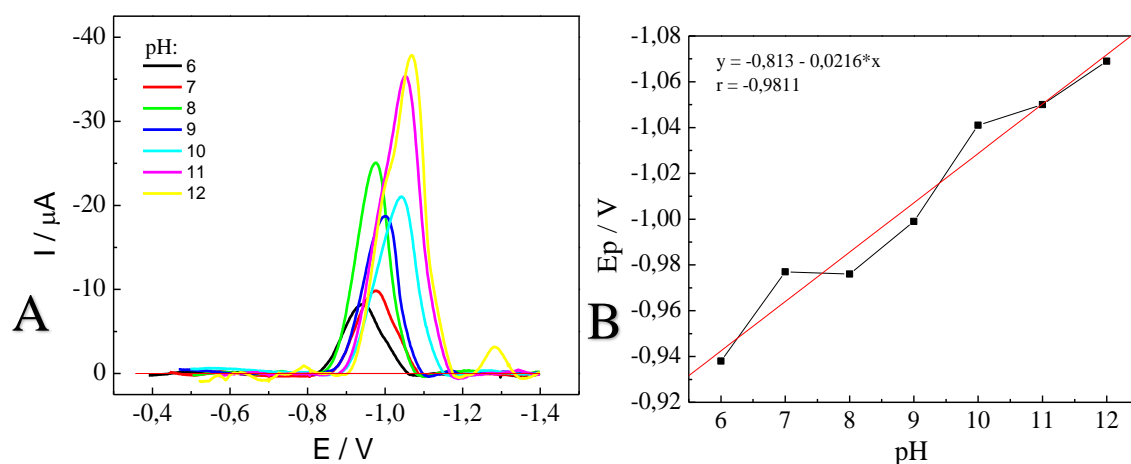
Com a fase dominante é possível polir mecanicamente os eletrodos sem perder sua reprodutibilidade de superfície e propriedades analíticas (DE SOUZA, 2011).

Para aumentar a sensibilidade da superfície o eletrodo foi condicionado em uma solução de KCl 0,2 mol/L, aplicando -2,2 V por 600 s. Os óxidos e espécies adsorvidas são removidos através do desprendimento de hidrogênio, e a sensibilidade aumentada por ocorrer a diminuição na resistência de transferência de carga, podendo melhorar o sinal na VOQ em até 10 vezes (DE SOUZA, 2011).

Considerando o impacto do pH do eletrólito suporte na redução da molécula de IMD, sua variação influencia totalmente os sinais analíticos voltamétricos. Com isso, as análises preliminares se iniciaram com a variação do pH de 6 a 12, no tampão BR, adicionando a célula eletroquímica  $2,91 \times 10^{-4}$  mol/L de IMD. Em pH's ácidos os sinais analíticos obtidos não foram satisfatórios logo foi estabelecida uma faixa alcalina para a avaliação da corrente. A amplitude da janela de potencial foi de 0 a -1.2 V, utilizando a VOQ com frequência de  $100 \text{ s}^{-1}$ ; amplitude de 0,05 V e incremento de -0,002 V. Em todos os voltamogramas gerados na VOQ foram analisados os valores de pico de corrente ( $I_p$ ), pico de potencial ( $E_p$ ) e a meia altura do pico de potencial ( $W_{p1/2}$ ); a fim definir a faixa de pH com melhor sinal analítico para os seguintes testes.

A variação do pH do meio, em análises eletroquímicas, também fornece informações sobre o comportamento da molécula logo é possível discernir sobre o tipo de reação química que ocorre na interface do AgSAE. A Figura 2 exhibe os voltamogramas obtidos em tampão BR em valores de pH (6 a 12). Nota-se que com o aumento do pH o  $E_p$  se deslocou para valores de potencial mais negativo, enquanto os valores de  $I_p$  se alterou de forma aleatória. Os maiores valores de  $I_p$  foram obtidos no pH 11 e 12, entretanto esses picos estão em uma faixa muito negativa de potencial, -1,1 V, o que pode interferir na seletividade e confiabilidade do método. Sendo assim, foi escolhido um pico bem definido e em potencial menos negativo, como o sinal do pH 8, -0,9 V, a fim de garantir a sensibilidade do método, eliminando possíveis interferentes. Dessa forma, o pH 8 foi escolhido para as seguintes análises, mesmo não apresentando o valor máximo de  $I_p$ . A molécula de IMD é estável em meios neutros, mas pode ter sua redução afetada em meios muito alcalinos. A redução de IMD é favorecida em pH próximos a 7 (THUYET, 2013).

Figura 3- (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em meio de tampão BR 0,04 mol/L em diferentes valores de pH (6 a 12) e com  $2,91 \times 10^{-4}$  mol/L de IMD na célula eletroquímica. (b) Relação entre  $E_p$  vs pH, gráfico gerado a partir dos voltamogramas da Figura 3a.

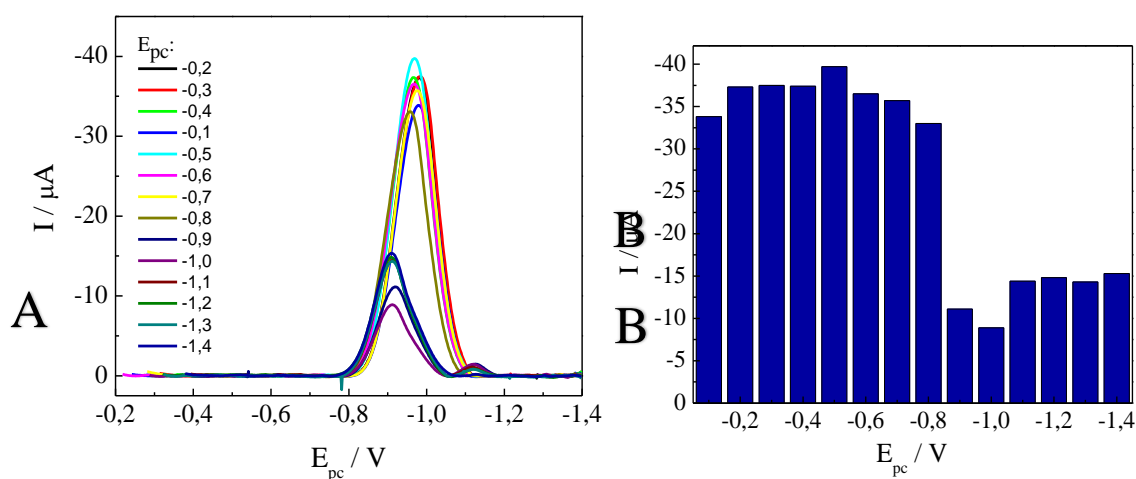


Fonte: Autora.

## 4.2 Parâmetros de pré-concentração

Inicialmente o impacto de  $E_{pc}$  na  $I_p$  foi avaliado utilizando um  $t_{pc}$  fixo de 180 s. Os valores de  $E_{pc}$  avaliados foram de -0,2 a -1,4 V, em tampão BR, pH 8. Os voltamogramas gerados com as diferentes intensidades de  $I_p$  estão representados na Figura 3. Nota-se que a intensidade da  $I_p$  variou com o aumento de  $E_{pc}$ , apresentando o potencial com maior intensidade de  $I_p$ , -0,5 V, ele foi selecionado para as seguintes etapas.

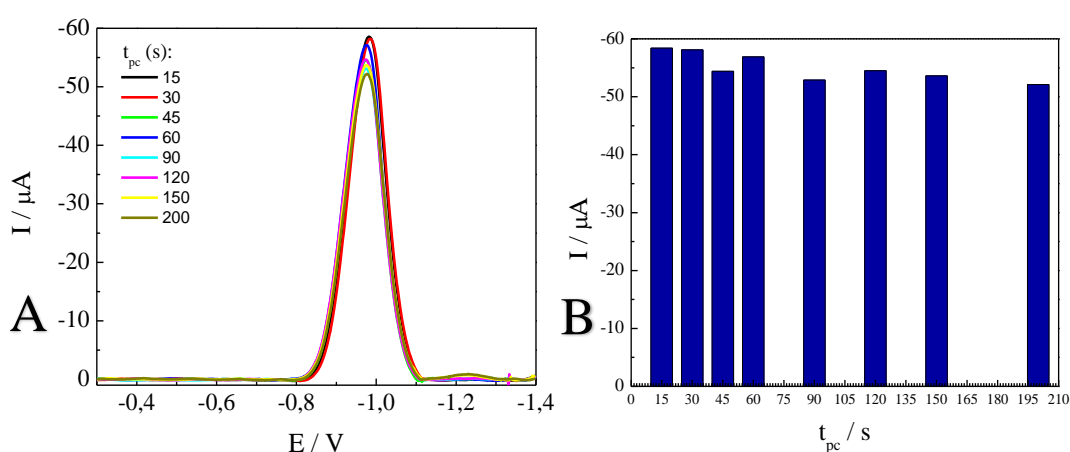
Figura 4- (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com diferentes  $E_{pc}$  (-0,2 a -1,4 V), em tampão BR para  $2,91 \times 10^{-4}$  mol/L de IMD na célula eletroquímica. (b) Relação de  $E_{pc}$  vs  $I$ , gráfico gerado a partir dos voltamogramas da Figura 4A.



Fonte: Autora

A influência de  $t_{PC}$  foi avaliada aplicando  $E_{PC}$  fixo  $-0,5$  V. Os voltamogramas de VOQ obtidos em tampão BR pH 8, foram registrados em diferentes  $t_{PC}$  (15 a 200 s), como representado na Figura 4. A figura mostra que nos diferentes  $t_{PC}$  as alterações em  $I_p$  é pequena, talvez por ter realizado os experimentos em uma concentração elevada e a superfície do AgSAE era rapidamente saturada. A  $I_p$  máxima foi obtida  $t_{PC}= 15$  s, sendo esse o valor otimizado devido a sua boa resposta analítica.

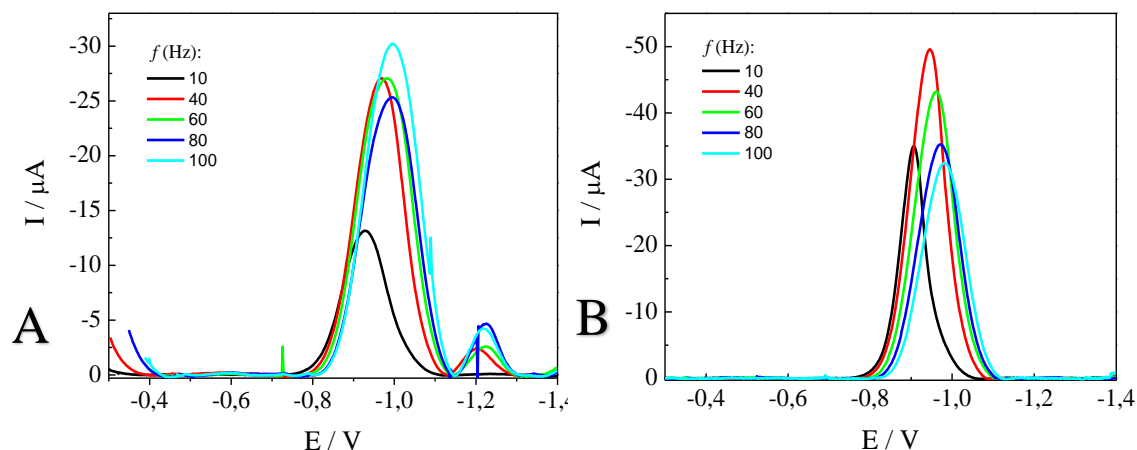
Figura 5- (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em em diferentes  $t_{PC}$  (15 a 200 s), em tampão BR pH 8, para  $2,91 \times 10^{-4}$  mol/L de IMD na célula eletroquímica. (b) Relação entre  $t_{PC}$  vs  $I_p$ .



Fonte: Autora.

A variação de  $E_{pc}$  e  $t_{pc}$  existe por esses parâmetros influenciar significativamente o sinal analítico do composto. Fenômenos como adsorção e acumulação do analito na interface do eletrodo podem ser evitados, logo com a pré-concentração é possível selecionar parâmetros que garantem uma sensibilidade maior da metodologia (LIU, 2014). O conceito citado se apresenta na Figura 6, a qual compara os valores de  $I_{pc}$  em experimentos sem (A) e com pré-concentração (B). Nota-se que utilizando a etapa de pré-concentração, representada pelo voltamograma B, ocorre um aumento no sinal de  $I_{pc}$  e da sensibilidade.

Figura 6- (a) Voltamograma da VOQ em diferentes  $f$ , sem utilizar etapas de pré-concentração. (b) Voltamograma da VOQ em diferentes valores de  $f$ , aplicando a etapa de pré-concentração,  $-0,5V$  por 15s



Fonte: Autora

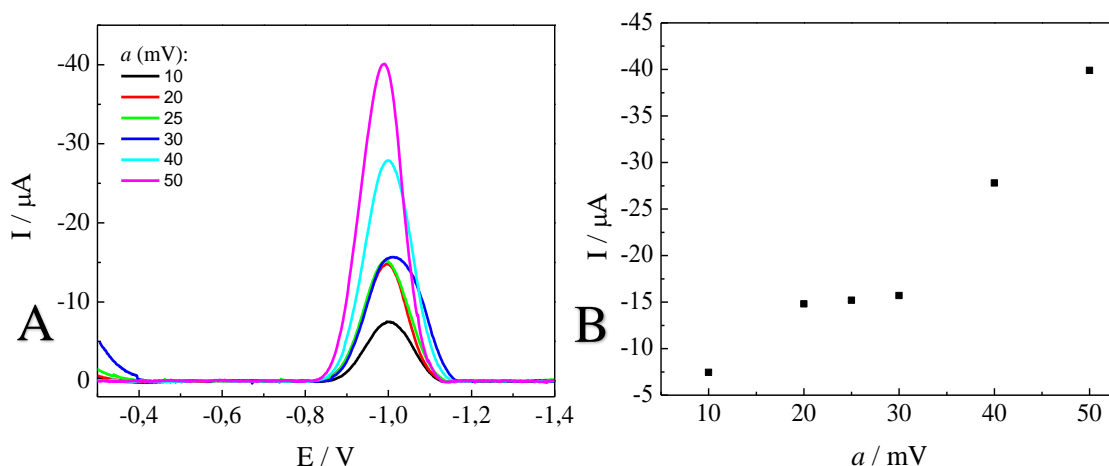
### 4.3 Parâmetros da voltametria de onda quadrada

O estudo da cinética e mecanística do processo eletroquímico é possível devido a análise dos parâmetros intrínseco da VOQ, tais como  $E_{pc}$ ,  $t_{pc}$ ,  $f$ ,  $a$  e  $\Delta E_s$  (MACHADO; DE SOUZA, 2003). Além disso, a otimização desses parâmetros tem como objetivo avaliar os valores onde é possível obter uma maior sensibilidade e melhor seletividade para o método analítico desenvolvido.

#### 4.3.1 Amplitude dos pulsos de potencial

Os voltamogramas foram obtidos utilizando-se diferentes valores de  $a$  (10 a 50 mV), Figura 7a, com intuito de avaliar o impacto desse parâmetro no sinal analítico do IMD. Foi construído a partir desse voltamograma um gráfico  $a$  vs  $I_p$ , (b), para analisar a variação de  $I_p$  em relação a diferentes valores de  $a$ .

Figura 7- (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes valores de  $a$  (10 a 50 mV), em tampão BR pH 8, para  $2,91 \times 10^{-4}$  mol/L de IMD na célula eletroquímica. Mantendo os seguintes parâmetros fixos:  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ;  $\Delta E_s = -2 \text{ mV}$ . (b) Relação  $a$  vs  $I_p$ .

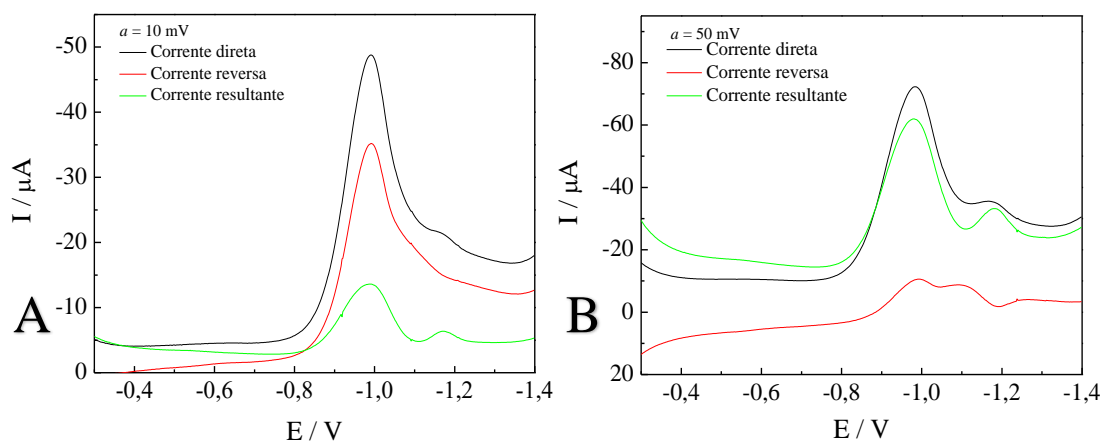


Fonte: Autora.

Ao analisar a Figura 7a nota-se que os valores de  $E_p$  ficaram próximos de  $-0,9 \text{ V}$ , enquanto os valores de  $I_p$  aumentaram de acordo com o aumento da  $a$ . Os valores de  $I_p$  aumentaram de forma não linear até  $25 \text{ mV}$ , enquanto os valores de  $30$  a  $50 \text{ mV}$  apresentaram linearidade. Dessa forma o valor de  $a = 50 \text{ mV}$  foi selecionado, considerando que nele foi observado a maior intensidade de  $I_{pc}$ . Com aumento da  $\Delta E_{p/2}$  não se alterou pois para valores maiores de  $20 \text{ mV}$ , a  $\Delta E_{p/2}$  se mantém constante, ou seja, aumentando a sensibilidade do método (MACHADO, DE SOUZA, 2003).

Na figura 8A e B são apresentadas as componentes de corrente para os valores de  $a = 0,01$  e  $0,05 \text{ mV}$ , respectivamente. Nota-se que a corrente resultante, a corrente direta e a corrente reversa estão em um mesmo sentido, indicando que os grupos ligantes sofrem reduções irreversíveis e com baixa velocidade de transferência de carga, pois ambas as componentes de corrente estão no mesmo sentido.

Figura 8- (a) Voltamogramas das componentes de corrente em diferentes valores de  $a$  como destacado na imagem.



Fonte: Autora.

#### 4.3.2 Frequência dos pulsos de potencial

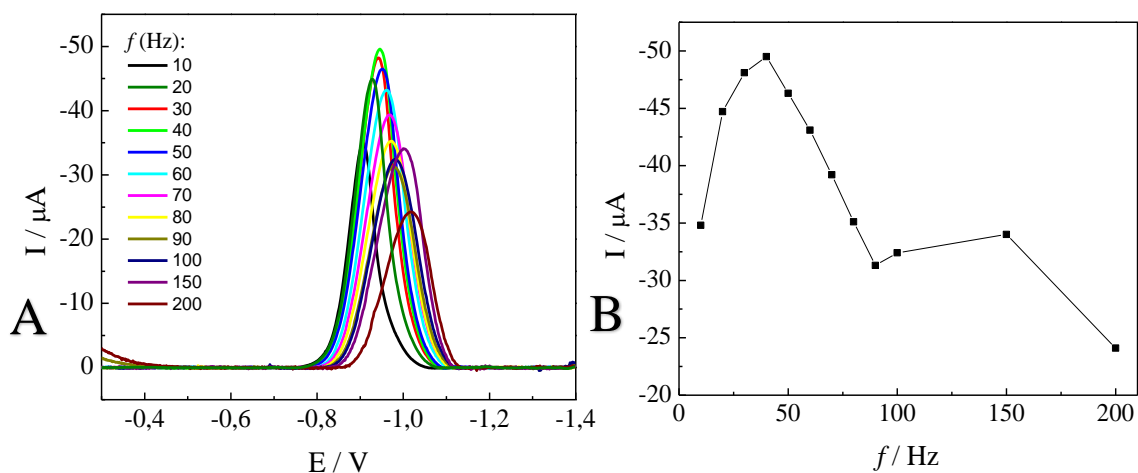
Para a avaliação do efeito da frequência no sinal de IMD, voltamogramas com  $f$  variados de 10 a 200  $\text{s}^{-1}$  foram gerados, Figura 9a. A avaliação do efeito  $f$  é importante pois junto a  $\Delta E_s$  definem a velocidade de varredura da técnica.

A Figura 9a mostra que o  $I_p$  e o  $E_p$  se alteram de acordo com diferentes valores de frequência. O  $I_p$  cresce gradualmente até atingir seu máximo em  $f = 40 \text{ s}^{-1}$ , após isso os valores de  $I_p$  decaíram. Com o aumento de  $f$ , nota-se que  $E_p$  se deslocou para valores de potencial mais negativo, esse deslocamento pode ter ocorrido devido ao aumento da resistência a transferência de carga com o aumento de  $f$ . O aumento da resistência de transferência de carga é devido a cinética lenta, com isso em altas frequências a reação não chega a acontecer.

A Figura 9b mostra a relação entre  $f$  e  $I_p$ , observa-se que houve aumento linear de  $I_p$  em baixos valores de  $f$ , o que pode ser um indicativo de que o IMD sofre redução irreversível na interface do AgSAE (LOVRIC, 2007). Em reações redox irreversíveis o  $E_p$  é uma função linear do  $\log f$ , Figura 10A, de acordo com Equação 5

$$\frac{\Delta E_{pc}}{\Delta \log f} = \frac{-0,592}{an} \text{ (mV)} \quad \text{Equação 5.}$$

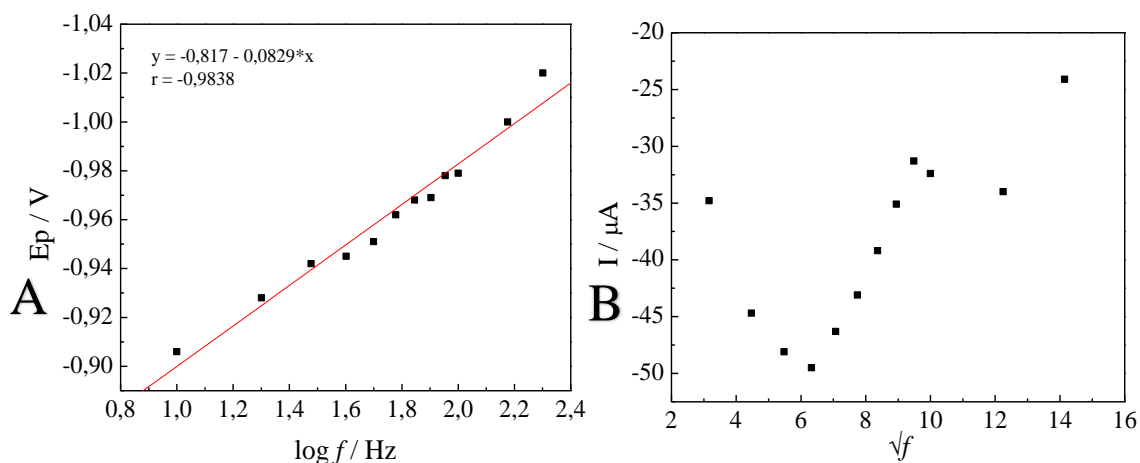
Figura 9- (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes valores de  $f$  (10 a 200  $\text{s}^{-1}$ ), em tampão BR pH 8, para  $2,91 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  de IMD na célula eletroquímica. Mantendo os seguintes parâmetros fixos:  $a = 50 \text{ mV}$ ;  $\Delta E_s = -2 \text{ mV}$ . (b) Relação  $f$  vs  $I_p$ .



Fonte: Autora.

Para o processo redox de IMD, a relação entre  $\log f$  e  $E_{pc}$ , Figura 7, gerou a seguinte equação da reta  $\Delta E_p = 817,07 (\pm 8,53) + 82,86 (\pm 4,77) \log f$ , com  $r = 0,9838$ . Sendo:  $\Delta E_p = 0,114$ ,  $\Delta \log f = 1,301$ ,  $n = 4$ ; o valor calculado de  $\alpha$  foi de 0,169. Sendo  $\alpha$  um parâmetro cinético importante no balanço de energia da reação redox, cujo valor ideal é  $\alpha = 0,5$ . Entretanto, é comum o valor de  $\alpha$  sair da normalidade, indicando uma reação de cinética eletródica muito lenta (BARD, 2001).

Figura 10- (a) Correlaciona  $\log f$  vs  $E_p$ . (b) Relação de  $f_s p I$ , ambos os gráficos /foram gerados a partir dos voltamogramas da Figura 10a

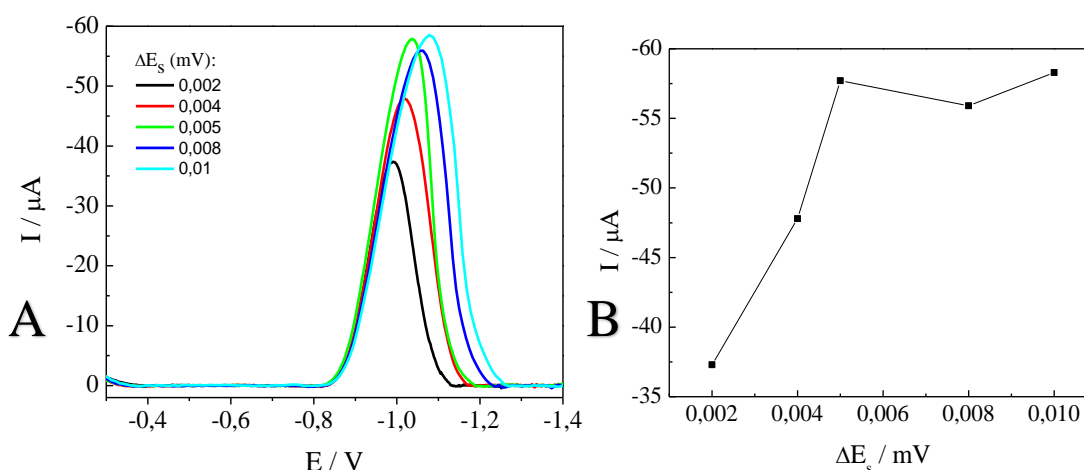


Fonte: Autora.

#### 4.3.3 Incremento de potencial

A Figura 11a mostra os diferentes voltamogramas gerados variando  $\Delta E_s$  de 2 a 10 mV, a fim de avaliar o efeito desse parâmetro no sinal analítico para IMD. De Souza e Avaca, 2003, relatam que o aumento de  $\Delta E_s$  pode melhorar a sensibilidade analítica. A partir desses voltamogramas um gráfico  $\Delta E_s$  vs  $I_p$  também foi gerado, Figura 11b. Os valores de  $E_p$  foram para potenciais mais negativos à medida que o  $\Delta E_s$  aumentou. Já os valores de  $I_p$  aumentaram linearmente até o valor de 50 mV, após os valores estabilizaram, não obtendo mais ganho de sensibilidade.

Figura 11- (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes valores de  $\Delta E_s$  (0,002 a 0,01 mV), em tampão BR pH 8, para  $2,91 \times 10^{-4}$  mol/L de IMD na célula eletroquímica. Mantendo os seguintes parâmetros fixos:  $a = 50$  mV;  $f = 100$  s $^{-1}$ . (b) Relação  $\Delta E_s$  vs  $I_p$ .



Fonte: Autora.

Em resumo todos os parâmetros otimizados da técnica constam na Tabela 2.

Tabela 2- Valores otimizados para VOQ para  $2,91 \times 10^{-4}$  mol/L de IMD, em tampão BR, pH 8.

Parâmetros	Valor otimizados
$E_{PC}$	-0,5 V
$t_{PC}$	15 s
$f$	40 s $^{-1}$
$a$	50 mV
$\Delta E_s$	-2 mV

Fonte: Autora.



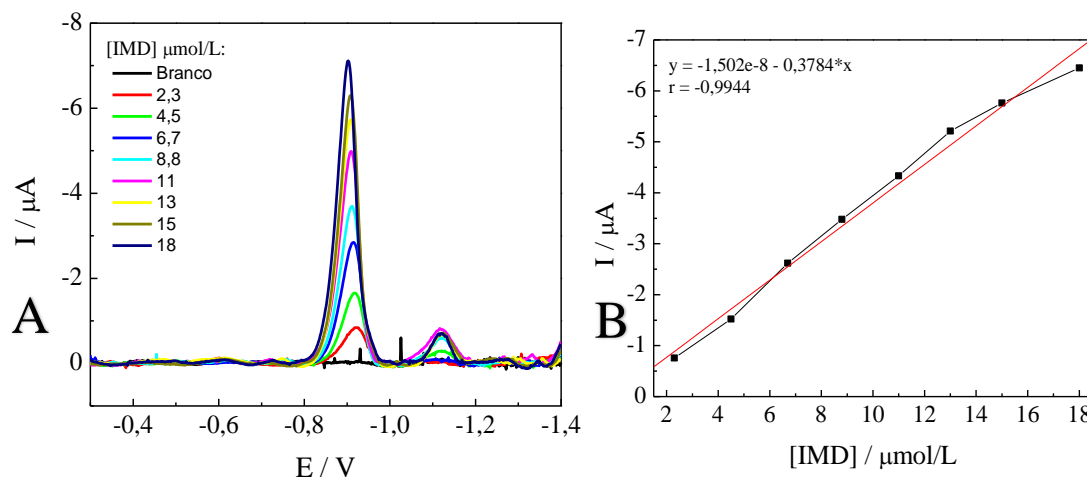
#### 4.4 Parâmetros analíticos

Para o desenvolvimento de um método analítico é necessário processos de avaliação que estime sua eficiência e precisão, nomeado de validação. A validação ocorre quando as características do método são coerentes com o pré-requisito estabelecido. O principal objetivo da validação é demonstrar que a metodologia desenvolvida é adequada para seu propósito. Para isso os parâmetros de validação envolvem a seletividade, sensibilidade, linearidade, exatidão, precisão, LD, LQ e robustez (BRITO, 2003).

##### 4.4.1 Curva de calibração

Com as condições experimentais e com os parâmetros da VOQ otimizados, foram realizadas adições sucessivas de IMD na célula eletroquímica a fim de avaliar a faixa linear do método. Os voltamogramas gerados constam na Figura 12, a figura mostra que os valores de  $E_p$  oscilam pouco, enquanto  $I_p$  aumenta gradativamente acompanhando o aumento da [IMD] na célula eletroquímica. A relação linear de  $I_{pc}$  e [IMD] foi encontrada na faixa de concentração  $2,3 \times 10^{-6}$  a  $1,8 \times 10^{-5}$  mol/L<sup>-1</sup>. A equação da reta para a curva construída é  $I_{pc} = -1,502 \times 10^{-8} - 0,3784 * [IMD]$ , com  $r = -0,9944$ . Na curva de calibração observa-se duas regiões lineares, sendo a primeira de 2 a 13  $\mu$ mol/L e a segunda de 13 a 18  $\mu$ mol/L

Figura 12- (a) Voltamogramas da VOQ gerados em diferentes [IMD] (2,3 a 18  $\mu$ mol/L), em tampão BR, pH 8. Mantendo os seguintes parâmetros da VOQ:  $a = 50$  mV;  $f = 40$  Hz;  $\Delta E_s = -2$  mV; e a pré concentração de  $-0,5$  V por 15 s. (b) correlaciona [IMD] vs I, gráfico gerado a partir dos voltamogramas da Figura 12A.



Fonte: Autora.

Os valores de LD e LQ foram calculados a partir da Equação 1 e 2, apresentadas na seção 3.4.1, sendo, respectivamente, igual a  $1,62 \times 10^{-6}$  e  $5,41 \times 10^{-6} \text{ molL}^{-1}$ . Observa-se que na equação da reta da curva de calibração média o coeficiente linear apresentou valores negativos. Para avaliar se existe diferença significativa entre o valor teórico e o obtido experimentalmente, um teste de significância foi realizado, o teste t (MILLER, 2010). O t foi calculado utilizando a Equação 8.

$$t = \frac{(x-\mu)\sqrt{n}}{s} \quad \text{Equação 6}$$

Onde x é a média dos coeficientes lineares obtidos,  $\mu$  é o valor teórico e tende a zero, n é o número de experimentos avaliados e s é o desvio padrão dos coeficientes lineares obtidos. Para 95% de confiança e n=3, com 2 graus de liberdade, o valor t calculado foi de 0,375. O valor de t crítico, para esses parâmetros, é de 4,3. Como o valor de t calculado foi menor que o valor de t crítico, logo aceita-se H0, concluindo que a diferença numérica é estatisticamente desprezível.

A Tabela 3 apresenta dados que possibilita a comparação de diferentes métodos voltamétricos e empregando diferentes tipos de eletrodos, podendo discutir acerca de sua sensibilidade. Nota-se que o menor valor de LD encontrado foi em análises utilizando a polarografia de pulso potencial (DPP) e eletrodo de mercúrio líquido, entretanto a escolha desse tipo de eletrodo é questionada por gerar resíduos de um metal ecotóxico. Com esse cenário o eletrodo de Ag-SAE se mostra uma alternativa além de apenas ecológica, mas também sensível como evidenciado na Tabela 3. A sensibilidade é característica da VOQ, entretanto o eletrodo suas contribuições para sensibilidade. Comparando o trabalho de Brahim (2016) com o atual estudo, nota-se que utilizando eletrodo dopado com boro obtiveram valores de LQ e LD muito maiores quando comparado com os valores obtidos nesse trabalho. Evidenciando que os eletrodos de Ag-SAE mantêm as propriedades eletroquímicas próximas ao que o mercúrio proporciona. Já o trabalho de Kumaravel utilizando a voltametria de pulso diferencial e eletrodo modificado apresentou bons valores de LD e LQ, indicando que seu método é sensível. Entretanto a utilização de eletrodos modificados pode comprometer a reprodutibilidade do método, como citado no trabalho, onde após 6 dias o eletrodo apresentou perda de atividade gerando um

decréscimo nos valores de  $I_p$ . Dessa forma, uma outra vantagem do Ag-SAE se mostra, eletrodos sólidos apresentam mais estabilidade possibilitando boa reprodutibilidade, mesmo renovando sua superfície mecanicamente. Ademais a metodologia desenvolvida apresentou valores de LD menores que muitas outras metodologias, como evidenciado na Tabela 3, se provando uma metodologia sensível.

Tabela 3- Comparação dos dados obtidos no trabalho com outros estudos, em diferentes métodos e eletrodos. VPD: Voltametria de pulso diferencial. VC: Voltametria cíclica. VOQ: Voltametria de onda quadrada HMDE: Eletrodos de mercúrio líquido. DDB: Eletrodos de diamante dopado com boro. nAgnf/nTiO<sub>2</sub>nf/GCE: Eletrodos de carbono vítreo modificado com TiO<sub>2</sub>. MC/SPE: Eletrodo de carbono impresso com microporos.

<b>Técnica</b>	<b>Eletrodo</b>	<b>Faixa linear (<math>\mu\text{M}</math>)</b>	<b>LD (<math>\mu\text{M}</math>)</b>	<b>Referência</b>
<b>VPD</b>	nAgnf/nTiO <sub>2</sub> nf/GCE	0,5-3,5	0,25	KUMARAVEL, 2011
<b>VPD</b>	HMDE	0,039-0,782	0,01	GUIBERTEAU, 2001
<b>VC</b>	rGO/b-CD/ GCE	-	8,92	OLIVEIRA, 2018
<b>VPD</b>	MC/SPE	0,00-1000	2,54	KAEWKET, 2023
<b>VOQ</b>	DDB	30-200	8,6	BRAHIM, 2016
<b>VOQ</b>	Ag-SAE	2,3-18	1,62	Este trabalho

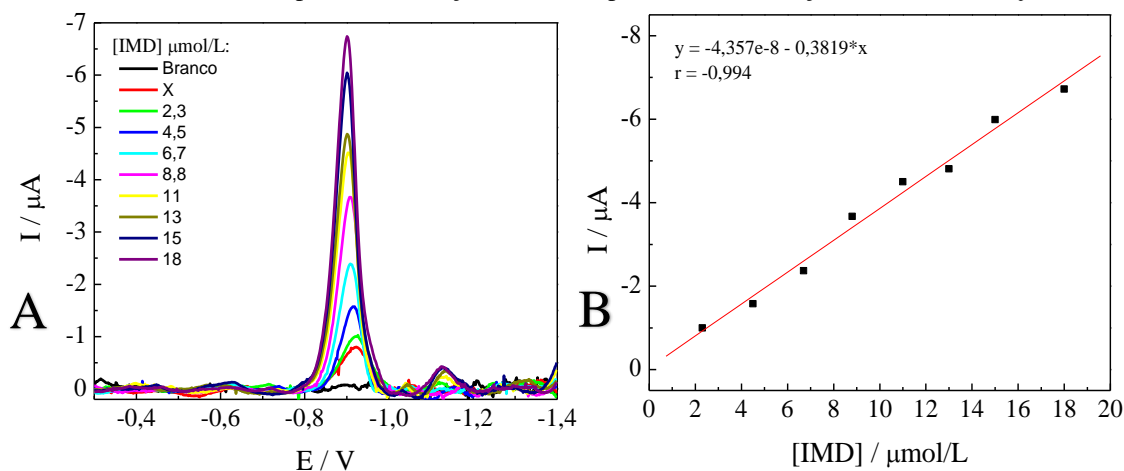
Fonte: Autora.

#### 4.4.2 Curva de recuperação

A recuperação de uma concentração desconhecida de IMD foi calculada por análise fortificada com concentrações conhecidas. Assim a curva de recuperação é construída, gerando uma equação da reta a qual torna possível extrapolar o eixo x para descobrir a [IMD] desconhecida. Para obter o valor de recuperação do método, a Equação 3, descrita na Seção 3.4.2, foi utilizada. Realizados os cálculos o valor de recuperação encontrado foi de 123%, valor relativamente alto. Esse valor pode ser resultado da

adsorção de reagentes ou produtos devido a reação irreversível do IMD, podendo variar os sinais. Estes experimentos serão repetidos afim de se observar se isto é uma característica do sistema ou se houve algum erro experimental.

Figura 13 - (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações de IMD( [IMD] (1 a 18  $\mu\text{mol/L}$ ), em tampão BR pH 8. Mantendo os seguintes parâmetros da VOQ:  $a = 50 \text{ mV}$ ;  $f = 40 \text{ s}^{-1}$ ;  $\Delta E_s = -2 \text{ mV}$ ; e a pré concentração de  $-0,5 \text{ V}$  por  $15 \text{ s}$ . (b) Relação entre [IMD] e  $I_p$ .



Fonte: Autora.

#### 4.4.3 Repetibilidade

Os valores DPR para repetibilidade foram calculados a partir da Equação 5, da Seção 3.4.3. O cálculo foi realizado em duas concentrações,  $4,5 \times 10^{-6}$  e  $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}^{-1}$ , a fim de avaliar o desvio em ambas as extremidades da faixa linear, os valores obtidos foram 2,01% e 4,16% para a primeira e segunda concentração, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com as normas da ANVISA, que estabelecem que os valores de repetibilidade sejam  $\leq 5\%$  (ANVISA, 2003). Constatando que a metodologia avaliada é precisa.

#### 4.4.4 Reprodutibilidade

Para o cálculo dos valores de DPR para reprodutibilidade foi utilizada a Equação 4, da Seção 3.4.4, sendo realizado para duas concentrações  $4,5 \times 10^{-6}$  e  $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}^{-1}$ . Esse cálculo é realizado para avaliar as oscilações entre medições em condições distintas. Os valores obtidos foram de 4,22% e 5,74% para primeira e segunda concentração respectivamente.

Tabela 4- Resumo dos valores encontrados neste trabalho.

<b>Faixa Linear</b>	$2,3 \times 10^{-6}$ a $1,8 \times 10^{-5}$ mol/L.
<b>LD</b>	$1,62 \times 10^{-6}$ mol/L
<b>LQ</b>	$5,41 \times 10^{-6}$ mol/L
<b>%Rec</b>	123%
<b>%RSD Repetibilidade</b>	2,01%
<b>%RSD Reprodutibilidade</b>	4,22%
<b>Equação da reta</b>	$I_{pc} = -1,502 \times 10^{-8} - 0,3784 * [IMD]$
<b>R</b>	0,994

Fonte: Autora

## 5. CONCLUSÃO

Com os estudos realizados utilizando a VOQ foi possível concluir sobre a cinética lenta e reação redox irreversível do IMD empregando-se AgSAE. Com os parâmetros de pré-concentração e da VOQ otimizados foi encontrada uma faixa linear de concentração de  $2,3 \times 10^{-6}$  a  $1,8 \times 10^{-5}$  mol/L. Obtendo valores de LD e LQ iguais a 1,62 e 5,41  $\mu$ mol/L, cujos valores são menores comparado a outras metodologias. Os ensaios de repetibilidade e reprodutibilidade provam que a metodologia é precisa, pois os valores obtidos estão dentro os valores estabelecidos pela ANVISA. Já nos ensaios de recuperação foram obtidos valores relativamente altos, 123%. A taxa de recuperação encontrada foi de 123% valor relativamente alto, o efeito adsorptivo da reação redox irreversível do IMD pode ser um fator que contribuiu para as alterações no sinal analítico.

Por fim, conclui-se que a metodologia desenvolvida é sensível, precisa e para determinação de IMD. Sendo uma alternativa de rápida análise, de baixo custo e ambientalmente viável. Futuramente a metodologia desenvolvida será aplicada em amostras de leite e mel.

## 6. REFERÊNCIAS

BARD, J. A. et al, **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**, New York: Wiley, 2001, 2nd ed. | SpringerLink. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1021637209564>>. Acesso em: 12 jun. 2023.

ANDERSON, M. J. et al. Imidacloprid exposure is detectable in over one third of wild bird samples from diverse Texas ecoregions. **Science of The Total Environment**, v. 876, p. 162723, 10 jun. 2023.

BEN BRAHIM, M. et al. Electrochemical behavior and analytical detection of Imidacloprid insecticide on a BDD electrode using square-wave voltammetric method. **Chinese Chemical Letters**, v. 27, n. 5, p. 666–672, 1 maio 2016.

BLOCH, G. et al. Time is honey: circadian clocks of bees and flowers and how their interactions may influence ecological communities. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 372, n. 1734, p. 20160256, 19 nov. 2017.

BRITO, N. Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão. **Pesticidas: R. Ecotox. Meio Ambiente**, v. 13, p. 129–146, 1 jan. 2003.

BRUZACA, E. E. S. et al. Electrochemical sensor based on multi-walled carbon nanotubes for imidacloprid determination. **Analytical Methods**, v. 13, n. 18, p. 2124–2136, 13 maio 2021.

CALZA, P. et al. Integrated approach for the analysis of neonicotinoids in fruits and food matrices. **Food Chemistry**, v. 372, p. 131153, 15 mar. 2022.

DE, S.; MACHADO, S. A. S; A, A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, 1 jan. 2003.

DE SOUZA, D.; GONÇALVES-FILHO, D.; FRANCO, D. L. Pesticide Residues Analysis by Electroanalytical Techniques. Em: INAMUDDIN; AHAMED, M. I.;

LICHTFOUSE, E. (Eds.). **Sustainable Agriculture Reviews 48: Pesticide Occurrence, Analysis and Remediation Vol. 2 Analysis**. Sustainable Agriculture Reviews. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 1–75.

ELBAZ, G. A. et al. Nano eco-friendly voltammetric determination of pesticide, imidacloprid and its residues in thyme and guava leaves. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 29, p. 100799, 1 out. 2022.

**Electrochemical determination of imidacloprid using nanosilver Nafion®/nanoTiO<sub>2</sub> Nafion® composite modified glassy carbon electrode | Elsevier Enhanced Reader.** Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0925400511005375?token=02808FF8D86DA9344D0E33AE3223042AEDB4B8D54BBABFAAA090CA8EE1D4C568A8322E18D5690E734416BDF14636CA45&originRegion=us-east-1&originCreation=20230502170257>>. Acesso em: 2 maio. 2023.

**Electrochemical sensor for imidacloprid detection based on graphene oxide/gold nano/ $\beta$ -cyclodextrin multiple amplification strategy | Elsevier Enhanced Reader.** Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0026265X22008074?token=6335EBB92643EF60B5E5071B01DD9E5445E6DFB894161AE8C4791353C39B1C644A61A056443BC334FEF87E39CACD09CB&originRegion=us-east-1&originCreation=20230502170036>>. Acesso em: 2 maio. 2023.

GBYLIK-SIKORSKA, M.; SNEGOCKI, T.; POSYNIAK, A. Determination of neonicotinoid insecticides and their metabolites in honey bee and honey by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 990, p. 132–140, 15 maio 2015.

GHODSI, J.; RAFATI, A. A. A voltammetric sensor for diazinon pesticide based on electrode modified with TiO<sub>2</sub> nanoparticles covered multi walled carbon nanotube nanocomposite. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 807, p. 1–9, 15 dez. 2017.

GUIBERTEAU, A. et al. Study and determination of the pesticide Imidacloprid by square wave adsorptive stripping voltammetry. **Talanta**, v. 53, n. 5, p. 943–949, 26 jan. 2001. **Imidacloprid | C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>2</sub> - PubChem.** Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Imidacloprid#section=Structures>>. Acesso em: 3 maio. 2023.

KAWEKET, K.; NGAMCHUEA, K. Microporous carbon for fast and simple electrochemical detection of imidacloprid insecticide in fruit and water samples. **RSC Advances**, v. 13, n. 7, p. 4532–4541, [s.d.].

KUMAR, S. et al. Designing of fluorescent and magnetic imprinted polymer for rapid, selective and sensitive detection of imidacloprid via activators regenerated by the electron

transfer-atom transfer radical polymerization (ARGET-ATRP) technique. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 116, p. 222–233, 1 maio 2018.

KUMARAVEL, A.; CHANDRASEKARAN, M. Electrochemical determination of imidacloprid using nanosilver Nafion®/nanoTiO<sub>2</sub> Nafion® composite modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 158, n. 1, p. 319–326, 15 nov. 2011.

LAYCOCK, I. et al. Effects of imidacloprid, a neonicotinoid pesticide, on reproduction in worker bumble bees (*Bombus terrestris*). **Ecotoxicology**, v. 21, n. 7, p. 1937–1945, 1 out. 2012.

LEI, W. et al. Electrochemical determination of imidacloprid using poly(carbazole)/chemically reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 183, p. 102–109, 5 jul. 2013.

LEKKAS, P. T. **Determination of ultra-trace amounts of neonicotinoid insecticide imidacloprid by cyclic and square wave voltammetric methods using pretreated glassy carbon electrode.** Text. Disponível em: <[https://journal.gnest.org/publication/gnest\\_02509](https://journal.gnest.org/publication/gnest_02509)>. Acesso em: 11 jun. 2023.

LEZI, N.; ECONOMOU, A. Voltammetric Determination of Neonicotinoid Pesticides at Disposable Screen-Printed Sensors Featuring a Sputtered Bismuth Electrode. **Electroanalysis**, v. 27, n. 10, p. 2313–2321, 2015.

LI, D. et al. Neonicotinoid insecticide and their metabolite residues in fruit juices: Implications for dietary intake in China. **Chemosphere**, v. 261, p. 127682, 1 dez. 2020.

LI, R. et al. Hierarchical SnO<sub>2</sub> nanoparticles designed based on in situ derivatization strategy for rapid and sensitive imidacloprid detection. **Microchemical Journal**, v. 190, p. 108691, 1 jul. 2023.

LI, X. et al. Simultaneous determination of neonicotinoids and fipronil and its metabolites in environmental water from coastal bay using disk-based solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Chemosphere**, v. 234, p. 224–231, 1 nov. 2019a.

LI, Z. et al. Brain transcriptome of honey bees (*Apis mellifera*) exhibiting impaired olfactory learning induced by a sublethal dose of imidacloprid. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 156, p. 36–43, 1 maio 2019b.



LIU, J. et al. Sensitive determination of pesticide imidacloprid using a glassy carbon electrode modified with a film composed of multi-walled carbon nanotubes and poly(aspartic acid). **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 94, n. 9, p. 884–900, 15 jul. 2014.

LUO, J. et al. Electrochemical sensor for imidacloprid detection based on graphene oxide/gold nano/ $\beta$ -cyclodextrin multiple amplification strategy. **Microchemical Journal**, v. 183, p. 107979, 1 dez. 2022.

MAJIDI, M. R.; GHADERI, S. Facile fabrication and characterization of silver nanodendrimers supported by graphene nanosheets: A sensor for sensitive electrochemical determination of Imidacloprid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 792, p. 46–53, 1 maio 2017.

NACIONAL, I. **COMUNICADO Nº 9630881, de 31 de março de 2021 - DOU - Imprensa Nacional**. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/web/dou>>. Acesso em: 3 maio. 2023.

NASR-ESFAHANI, P.; ENSAFI, A. A.; REZAEI, B. Fabrication of a highly sensitive and selective modified electrode for imidacloprid determination based on designed nanocomposite graphene quantum dots/ionic liquid/multiwall carbon nanotubes/polyaniline. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 296, p. 126682, 1 out. 2019.

OLIVEIRA, A. E. F.; BETTIO, G. B.; PEREIRA, A. C. An Electrochemical Sensor Based on Electropolymerization of  $\beta$ -Cyclodextrin and Reduced Graphene Oxide on a Glassy Carbon Electrode for Determination of Neonicotinoids. **Electroanalysis**, v. 30, n. 9, p. 1918–1928, 2018.

RASHED, MD. A. et al. Highly sensitive and selective electrochemical sensor for detecting imidacloprid pesticide using novel silver nanoparticles/mesoporous carbon/hematite ore ternary nanocomposite. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 5, p. 108364, 1 out. 2022.

RODRÍGUEZ-CABO, T. et al. Selective extraction and determination of neonicotinoid insecticides in wine by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1460, p. 9–15, 19 ago. 2016.

SCHNEIDER, C. W. et al. RFID Tracking of Sublethal Effects of Two Neonicotinoid Insecticides on the Foraging Behavior of *Apis mellifera*. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, p. e30023, 11 jan. 2012.

SILVA, L.; SOUZA, D. Ziram herbicide determination using a polished silver solid amalgam electrode. **Electrochimica Acta**, v. 224, 1 nov. 2016.

SURESH, I. et al. Real-time detection of imidacloprid residues in water using f-MWCNT/EDTA as energetically suitable electrode interface. **Analytica Chimica Acta**, v. 1235, p. 340560, 1 dez. 2022.

TASMAN, K.; RANDS, S. A.; HODGE, J. J. L. The Neonicotinoid Insecticide Imidacloprid Disrupts Bumblebee Foraging Rhythms and Sleep. **iScience**, v. 23, n. 12, p. 101827, 18 dez. 2020.

THUYET, D. Q.; WATANABE, H.; OK, J. Effect of pH on the degradation of imidacloprid and fipronil in paddy water. **Journal of Pesticide Science**, v. 38, n. 4, p. 223–227, 2013.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Minor structural changes in nicotinoid insecticides confer differential subtype selectivity for mammalian nicotinic acetylcholine receptors: Nicotinoid insecticide action on nicotinic AChRs. **British Journal of Pharmacology**, v. 127, n. 1, p. 115–122, maio 1999.

WU, C. et al. Spatial and temporal distribution, degradation, and metabolism of three neonicotinoid insecticides on different parts, especially pests' target feeding parts of apple tree. **Pest Management Science**, v. 76, n. 6, p. 2190–2197, 2020.