



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ANÁLISE DE TRAÇOS DO PESTICIDA CARBENDAZIM POR
VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA COM ELETRODO DE
CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM
NANOTUBOS DE CARBONO**

Williame Farias Ribeiro

SAPIENTIA ÆDIFICAT

**João Pessoa – PB - Brasil
2009**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ANÁLISE DE TRAÇOS DO PESTICIDA CARBENDAZIM POR
VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA COM ELETRODO DE
CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM
NANOTUBOS DE CARBONO**

Williame Farias Ribeiro*

**Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do título de Mestre em Química
pela Universidade Federal da Paraíba.**

Orientador: Prof. Dr. Valberes Bernardo do Nascimento

Co-Orientador: Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo

*** Bolsista CNPQ**

**João Pessoa – PB - Brasil
2009**

R484a *Ribeiro, Willame Farias.*

Análise de traços do pesticida carbendazim por voltametria de onda quadrada com eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono / Willame Farias Ribeiro.- João Pessoa, 2009.

58p. : il.

Orientador: Valberes Bernardo do Nascimento

Co-orientador: Mário César Ugulino de Araújo

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN

1. Química. 2. Carbendazim. 3. Nanotubos de carbono. 4. Voltametria de onda quadrada.

UFPB/BC

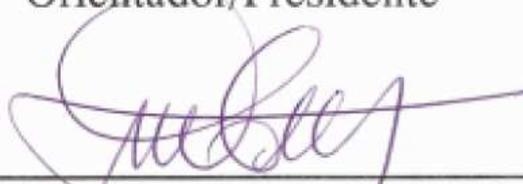
CDU: 54(043)

Análise de Traços do Pesticida Carbendazim por Voltametria de Onda Quadrada com Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Nanotubos de Carbono.

Aprovada pela banca examinadora:



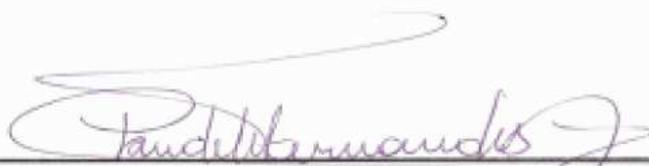
Prof. Dr. Valberes Bernardo do Nascimento
Orientador/Presidente



Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo
2º. Orientador



Prof. Dr. Marcelo Navarro
Examinador



Profa. Dra. Claudete Fernandes Pereira
Examinadora

"Ser químico é pesquisar, é dedicar-se, é buscar novas tecnologias, é ter o desafio de aprimorar o que já é sabido e procurar inovar, ..."

(Luciana Magalhães)

À Luciana, esposa querida, cuja vida tem sido um dos versos de Vinícius: "De tudo, ao meu amor serei atento", sua força sobre-humana, paciência e determinação para conciliar as funções de esposa, Arquiteta e Química, foram de fundamental importância para que hoje eu possa estar sendo merecedor de mais uma conquista. A você,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- ✦ A **DEUS**, por a cada dia, está ao meu lado me capacitando e guiando rumo ao sucesso e a realização profissional.
- ✦ A **Minha Família**, que direta ou indiretamente participou de cada etapa desta conquista.
- ✦ Ao Prof. **Dr. Valberes Bernardo do Nascimento** (UFRPE), pela orientação neste trabalho, que mesmo à distância, superou as minhas expectativas. Além disso, em conjunto com a UFRPE, disponibilizou as instalações e equipamentos da Central Analítica para execução de parte dos experimentos.
- ✦ Ao Prof. **Dr. Mário César Ugulino de Araújo** (UFPB), que além de sua co-orientação, cedeu gentilmente às instalações e equipamentos do laboratório de pesquisa – LAQA/UFPB– para que fosse possível a execução experimental deste trabalho.
- ✦ As Profas. **Dra. M^a do Socorro Leite Brito** (UFPB) e **Dra. M^a da Conceição da Silva Barreto** (UFPB), por ter me apresentado esta área de estudos a qual a cada dia busco motivação para desenvolver novos estudos.
- ✦ A Profa. **Dra. Sílvia H. P. Serrano** (USP-SP), pela colaboração durante a revisão de literatura.
- ✦ A Profa. **Dra. Fabiane C. de A. Galdino** (UFAL) e a doutoranda **Elaine C. de S. Coelho** (UFPE), que gentilmente nos cedeu os nanotubos de carbono.
- ✦ Aos professores, **Dr. Marcelo Navarro** (UFPE) e **Dra. Claudete Fernandes Pereira** (UFPB), pelas valiosas contribuições na banca final.
- ✦ **Aos Amigos “LAQueAnos”**, em especial, Wellington Lyra, Ilanna Campelo, Fátima Sanches e Josenita Alves , e **aos professores**, Sherlan Guimarães, Edvan Cirino e Teresa Saldanha pela colaboração nas discussões durante os estudos.
- ✦ **Aos Amigos** integrantes do grupo de pesquisa em Automação e Instrumentação em Química Analítica da UFRPE, pela colaboração na parte experimental, em especial, **Thiago Selva, Lucas e Rômulo**.
- ✦ Ao **CNPq** pela bolsa concedida.

- ✦ A minha amiga **Paolla Jara** (Pesquisadora Chilena) pela valiosa colaboração nesse trabalho.
- ✦ Aos amigos que estiveram presente e torceram pela realização deste trabalho: **Ladjane Sodré, Renata Mesquita e Karina Porpino.**
- ✦ Aos amigos da Família Augusto dos Anjos representados por **Janete, Nazaré, Eliane, Ely, Ana, Maura, etc.**

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ii
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE ABREVIATURAS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Pesticidas no Contexto Geral	2
1.2. Algumas Definições de Pesticidas	2
1.3. Alvo e Toxicidade dos Pesticidas	3
1.4. Classificação dos Pesticidas	5
1.5. Pesticidas no Brasil e no Mundo	5
1.6. O Fungicida Carbendazim	6
1.7. Métodos de Determinação de MBC	8
1.8. Técnicas Voltamétricas	11
1.8.1. A Voltametria Cíclica	12
1.8.2. A Voltametria de Onda Quadrada	13
1.9. Eletrodos Quimicamente Modificados	15
1.10. Objetivos	19
1.10.1. Geral	19
1.10.2. Específicos	19
2. EXPERIMENTAL	22
2.1. Instrumentação	22
2.2. Soluções e Reagentes	22
2.3. Solubilização do MBC	23

2.4. Pretratamento do Eletrodo	23
2.4.1. Preparação do Eletrodo Modificado	24
2.5. Procedimento Experimental	25
2.5.1. Voltametria Cíclica	25
2.5.2. Voltametria de Onda Quadrada	25
2.6. Figuras de Mérito	26
3. Resultados e Discussão	31
3.1. Comportamento Voltamétrico do MBC em ECV e ECV-MNTCPM	31
3.2 Modificação do Eletrodo	33
3.2.1. Dispersão dos Nanotubos em Água e em DMF	33
3.3. Estudo do pH	35
3.4. Efeito de Memória	36
3.5. Pré-Concentração	37
3.6. Escolha dos Parâmetros Instrumentais	39
3.7. Curva Analítica	41
3.8. Figuras de Mérito	41
3.8.1. Repetibilidade e Reprodutibilidade	43
3.8.2. Aplicação do Sensor em Amostras Ambientais	45
4. CONCLUSÕES	49
4.1 Perspectivas Futuras	49
5. REFERÊNCIAS	52

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1** – Classificação dos fungicidas baseada no princípio de aplicação. 6
- Figura 1.2** – i) Sinal de excitação para VC e Voltamogramas Cíclicos esquemáticos para um processo redox de um sistema reversível (ii) irreversível (iii) e quase-reversível (iv) [Adaptação 46-47]. 13
- Figura 1.3** – i) Sinal de excitação para VOQ e Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada para um processo redox de um sistema reversível (ii) e de um sistema irreversível (iii) [34]. 14
- Figura 1.4** – Nanotubos de Carbono – (A) parede única e (B) parede múltipla [60]. 18
- Figura 2.1** – (A) Potenciostato Eco Chemie, à esquerda, e o módulo polarográfico à direita. (B) Célula eletroquímica. 22
- Figura 2.2** – Elaboração do eletrodo modificado ECV-MNTCPM. (a) Banho ultra-som para dispersão dos NTC; (b) alíquota de NTC depositada sobre o eletrodo e (c) etapa de secagem do eletrodo. 24
- Figura 2.3** – Intervalo linear de um método analítico [46]. 27
- Figura 2.4** – Procedimento de Recuperação aparente. (A) em eletrólito puro; (B) em água de rio. 29
- Figura 3.1** – Voltamogramas cíclicos de uma solução $1,13 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ MBC em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7); $\nu = 500 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 0 \text{ s}$ em (A) ECV e (B) ECV-MNTCPM. 31
- Figura 3.2** – Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de MBC $5,21 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (1,0 ppm) em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$. 32
- Figura 3.3** – Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de MBC $5,21 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ mostrando as componentes das correntes registradas sobre ECV-MNTCPM- H_2O em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$. 33
- Figura 3.4** – Voltamogramas de onda quadrada de uma solução MBC $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre ECV-MNTCPM em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$. 34
- Figura 3.5** – Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC sobre ECV-MNTCPM em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$ e diferentes concentrações do modificante. 34
- Figura 3.6** – Estudo de pH. (A) Voltamogramas de onda quadrada do MBC $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre ECV-MNTCPM, com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$ em diferentes valores de pH. (B) Dependência da I_{pa} , E_{pa} vs pH. 35
- Figura 3.7** – Estrutura do MBC indicando os três grupos de protonação. 36
- Figura 3.8** – Efeito de memória. Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM para varreduras alternadas com $t_{d(\text{circuito aberto})} = 0$ e 60 s . MBC $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$. 37

- Figura 3.9** – Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM com pré-concentração em circuito aberto e com aplicação de potencial. MBC $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$. 37
- Figura 3.10** – Pré-concentração. **(A)** Voltamogramas de onda quadrada do MBC $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre ECV-MNTCPM tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com diversos tempos de pré-concentração em circuito aberto e $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$. **(B)** Dependência da I_{Pa} vs $t_{d(\text{circuito aberto})}$. 38
- Figura 3.11** – Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC sobre ECV-MNTCPM em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) com diversos parâmetros instrumentais. (A) e (B) frequência, (C) e (D) amplitude e (E) e (F) incremento. 40
- Figura 3.12** – Curva analítica em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7). Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM. 41
- Figura 3.13** – Curva analítica para adição de padrão MBC em eletrólito puro. Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM. 44
- Figura 3.14** – Curva analítica para adição de padrão MBC em água de rio (A_1). Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM. 46
- Figura 3.15** – Curva analítica para adição de padrão MBC em água de rio (A_2) – canal de irrigação. Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM. 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 – Classificação toxicológica dos pesticidas.	4
Tabela 1.2 – Classificação toxicológica inalatória para pesticidas	5
Tabela 1.3 – Pesticidas e seus alvos.	5
Tabela 1.4 – Características do MBC em formulação comercial.	8
Tabela 3.1 – Figuras de mérito para ECV e ECV-MNTCPM.	42
Tabela 3.2 – Estudo da repetibilidade para o ECV-MNTCPM.	43
Tabela 3.3 – Estudo da reprodutibilidade em ECV-MNTCPM.	43

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CL₅₀	Concentração Letal
DL₅₀	Dose letal
DMF	Dimetilformamida
DPR	Desvio Padrão Relativo
ECV	Eletrodo de Carbono Vítreo
ECV-MNTCPM	Eletrodo de Carbono Vítreo modificado com Nanotubos de Carbono de Parede Múltipla
EPC	Eletrodo de Pasta de Carbono
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LD	Limite de Detecção
LL	Limite de Linearidade
LQ	Limite de Quantificação
MBC	Methyl Benzimidazol-2-yl Carbamate (carbendazim)
NTC	Nanotubos de carbono
NTCPM	Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas
NTCPS	Nanotubos de Carbono de Paredes Simples
VC	Voltametria Cíclica
VOQ	Voltametria de Onda Quadrada

RESUMO**“Análise de Traços do Pesticida Carbendazim por Voltametria de Onda Quadrada com Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Nanotubos de Carbono”****Williame F. Ribeiro; Valberes B. do Nascimento; Mário C. U. de Araújo**

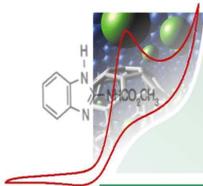
O Carbendazim (Metil Benzimidazol-2-il Carbamato - MBC) inclui-se entre os fungicidas sistêmicos, pela sua capacidade de controlar uma vasta gama de doenças fúngicas em culturas de frutas e vegetais. Assim, neste trabalho, propõe-se o uso de um eletrodo modificado com nanotubos de carbono para a determinação de MBC por voltametria de onda quadrada com pré-concentração. Um comportamento quase-reversível foi verificado para o MBC em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) e sua pré-concentração foi possibilitada pela alta capacidade de adsorção dos nanotubos de carbono. A excelente resposta voltamétrica do material pré-concentrado, sem evidências de efeito de memória, aliadas a fácil elaboração do eletrodo, permitiu o desenvolvimento de um método sensível e confiável, com uma faixa de linearidade de $0,256$ a $3,11 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $10,7$ ppb. A exatidão do sinal analítico foi avaliada pela repetibilidade e reprodutibilidade para uma solução $1,25 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC, que revelou um desvio padrão relativo de $8,5$ e $8,23\%$, respectivamente. A exatidão do método para amostras reais foi avaliada estimando-se a recuperação aparente de amostras de água de rio, às quais foram adicionadas concentrações conhecidas de MBC. Recuperações de $75,3\%$ e $81,3\%$ foram verificadas para $4,22 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC, as quais estão dentro dos limites sugeridos pela legislação.

Palavras Chave: Carbendazim, Nanotubos de carbono, voltametria de onda quadrada.

ABSTRACT**"Trace Analysis of the pesticide carbendazim by square wave voltammetry with a Carbon Nanotube Modified Glassy Carbon Electrode"****Williame F. Ribeiro; Valberes B. do Nascimento; Mário C. U. de Araújo**

Carbendazim (Methyl Benzimidazol-2-yl Carbamate - MBC) is classified as a systemic fungicide due to its ability to control a wide range of fungal diseases in crops of fruit and vegetables. Thus, in this work, it is proposed the use of a carbon nanotubes modified electrode for the determination of MBC by square wave voltammetry with pre-concentration. A quasi-reversible behavior for MBC in acetic acid/acetate buffer 0.1 mol L⁻¹ (pH 4.7) was verified and its pre-concentration was possible due to the high adsorption capability of the carbon nanotubes. The excellent voltammetric response of the pre-concentrated material with no evidence of memory effect, combined with the easiness of electrode preparation, permitted to develop a highly sensitive and reliable method with a linear range from 0.256 to 3.11 μmol L⁻¹ with a detection limit of 10.7 ppb. The accuracy of the analytical signal was evaluated through the repeatability and reproducibility for a 1.25 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ MBC solution, revealing a relative standard deviation of 8.5 and 8.23%, respectively. The accuracy of the method for real sample analysis was assessed by estimating the apparent recovery of MBC spiked river water samples. Recoveries of 75.3% and 81.3% were verified for 4.22 x 10⁻⁷ mol L⁻¹, which are within the limits suggested by the legislation.

Keywords: Carbendazim, Carbon Nanotubes, Square Wave Voltammetry.



INTRODUÇÃO

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

1.1. Pesticidas no Contexto Geral

Os pesticidas consistem de uma ampla variedade de ingredientes ativos, com diferentes grupos químicos, cuja formulação final é indicada para o uso direto ou após a diluição com solventes (água ou derivados de petróleo) ou com outros carreadores (sílica ou silicatos).

Muitos dos problemas de poluição ambiental em sistemas aquáticos naturais são causados por traços de contaminação por pesticidas, devido às propriedades de toxicidade e bioacumulação. A demanda crescente por alimentos tem motivado o uso de um grande número de substâncias que são capazes de eliminar ou prevenir formas de vida animal ou vegetal indesejáveis nas culturas agrícolas, constituindo atualmente a principal estratégia no campo para o combate e a prevenção de pragas agrícolas, garantindo alimento em quantidade e qualidade para a população^[1-3].

1.2. Algumas Definições de Pesticidas

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC)^[4]:

"Pesticidas são substâncias ou mistura de substâncias utilizadas na produção, colheita ou no armazenamento de alimentos. Eles são bioativos e capazes de prevenir, destruir ou combater espécies indesejáveis que, de alguma maneira, possam interferir na produção, no processamento, armazenamento, transporte e estocagem de alimentos, produtos agrícolas em geral, madeira e produtos derivados de madeira."

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)^[5]:

"Agrotóxicos e afins são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso no setor de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da fauna e da flora, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento."

1.3. Alvo e Toxicidade dos Pesticidas

Muitos produtores agrícolas têm recorrido ao uso de pesticidas para garantir a sobrevivência de suas culturas. De fato, esta seria uma prática bastante promissora se o manejo destes resíduos fosse tratado de forma controlada, uma vez que a sua constante utilização nas áreas de cultivo expõe o solo, a água, os vegetais, a atmosfera e os seres vivos ao risco de contaminação. Evidentemente, os pesticidas atingem o solo podendo seguir diferentes rotas que os levam a alcançar os ambientes aquáticos por meio do escoamento superficial do solo, sendo conduzidos para os lençóis freáticos, onde os processos de descontaminação ainda são muito remotos. Além disso, contaminam os alimentos que por sua vez são conduzidos à cadeia alimentar e, dependendo do grau de contaminação, pode trazer danos irreversíveis à saúde humana por causar efeitos adversos ao sistema nervoso central e periférico, além da ação imunodepressora ou cancerígena.

Um dos fatores que constitui a essência para a avaliação toxicológica de um pesticida é a sua Dose Letal (DL₅₀), sendo a mais

preocupante a aguda oral. A DL_{50} é definida como a dose que possivelmente causará a morte de 50% da população em estudo. Esta dose geralmente é expressa em função da massa do agente tóxico inoculada (mg) por unidade de massa corpórea da espécie em estudo (Kg). Os testes toxicológicos são realizados em camundongos ou cobaias e extrapolados para seres humanos, já que as reações comportamentais são extremamente parecidas com a sensibilidade dos organismos humanos.

A literatura informa que os inseticidas apresentam DL_{50} (aguda oral) variando entre 1 - 500 $mg\ kg^{-1}$, enquanto que os fungicidas e herbicidas apresentam DL_{50} acima de 5000 $mg\ kg^{-1}$, com raras exceções^[6].

Legalmente, os pesticidas são classificados em quatro classes toxicológicas indicadas por rótulos compostos por faixas coloridas, os quais são indicativos do grau de toxicidade conforme mostra a [Tabela 1.1](#).

Tabela 1.1 – Classificação toxicológica dos pesticidas^[7]. (Adaptação - Faixa)

Classe	Categoria e Faixa	DL_{50} Oral ($mg\ kg^{-1}$)		DL_{50} Dermal ($mg\ kg^{-1}$)		Dose Letal*
		sólido	Líquido	sólido	Líquido	
I	Extremamente tóxico	< 5	< 20	< 10	< 40	1 pitada
II	Altamente tóxico	5 a 50	20 a 200	10 a 100	40 a 400	1 colher de chá
III	Medianamente tóxico	50 a 500	200 a 2000	100 a 1000	400 a 4000	2 colheres de sopa
IV	Pouco tóxico	> 500	> 2000	> 1000	> 4000	Até dois copos

* Homem adulto

Outro termo bastante utilizado é a Concentração Letal (CL_{50}). No reino Unido foi feita a proposta de classificação toxicológica inalatória para os pesticidas que se encontram no estado gasoso ou na forma de aerossóis^[7]. Os dados apresentados na [Tabela 1.2](#) são baseados na inalação por ratos durante 4 horas de exposição da CL_{50} .

Tabela 1.2 – Classificação toxicológica inalatória para pesticidas^[7].

Toxicidade	Concentração (CL ₅₀) mg L ⁻¹
Muito tóxico	< 0,5
Tóxico	0,5 a 2,0
Pouco tóxico	2,0 a 20,0

1.4. Classificação dos Pesticidas

É indiscutível que todos os pesticidas têm a propriedade comum de bloquear um processo metabólico vital dos organismos para os quais são tóxicos. Nesse contexto, dentre as diversas formas de classificação para pesticidas apresenta-se aqui a mais comum, que se fundamenta no organismo-alvo, conforme [Tabela 1.3](#).

Tabela 1.3 – Pesticidas e seus alvos.

Tipo de Pesticida	Organismo-alvo
Acaricida	Ácaros
Algicida	Algas
Avicida	Pássaros
Bactericida	Bactérias
Fungicida	Fungos
Herbicida	Erva daninha
Inseticida	Insetos
Larvicida	Larvas de insetos
Raticida	Roedores

1.5. Pesticidas no Brasil e no Mundo

A década de 70 foi o marco inicial para referenciar a expansão da produção e do uso de pesticidas no Brasil, em consequência dos incentivos para a produção agrícola e a política de exportação. Desde então, com a expansão da prática agrícola, induzida pelo aumento populacional, a pesquisa de novos pesticidas tem crescido consideravelmente, a exemplo dos compostos organoclorados, carbamatos, organofosforados,

piretróides, bupiridílios, triazinas e clorofenóis, os quais apresentam toxicidade específica e diferentes modos de ação ^[8-9].

Mundialmente, cerca de 600 ingredientes ativos são utilizados na formulação de pesticidas e estão registrados para uso específico em agricultura. Destes, 350 contribuem com 98% dos pesticidas mais utilizados, sendo que 80% deles são rotineiramente usados nas plantações do Brasil ^[9].

Atualmente, o Brasil é o quarto maior consumidor mundial de pesticidas. De acordo com um estudo realizado pela ANVISA, somente no ano de 1998 foram gastos 2,6 bilhões de dólares na comercialização de pesticidas no país. Com isso o meio ambiente brasileiro sofreu uma descarga de 101 milhões de litros de fungicidas, herbicidas e inseticidas ^[10].

1.6. O Fungicida Carbendazim

Dentre os grupos de pesticidas, os fungicidas são considerados os agentes mais utilizados para o controle de doenças de plantas, ao lado de alguns dos bactericidas e nematicidas mais usuais ^[11]. Baseando-se no princípio de aplicação, podem ser classificados conforme [Figura 1.1](#).

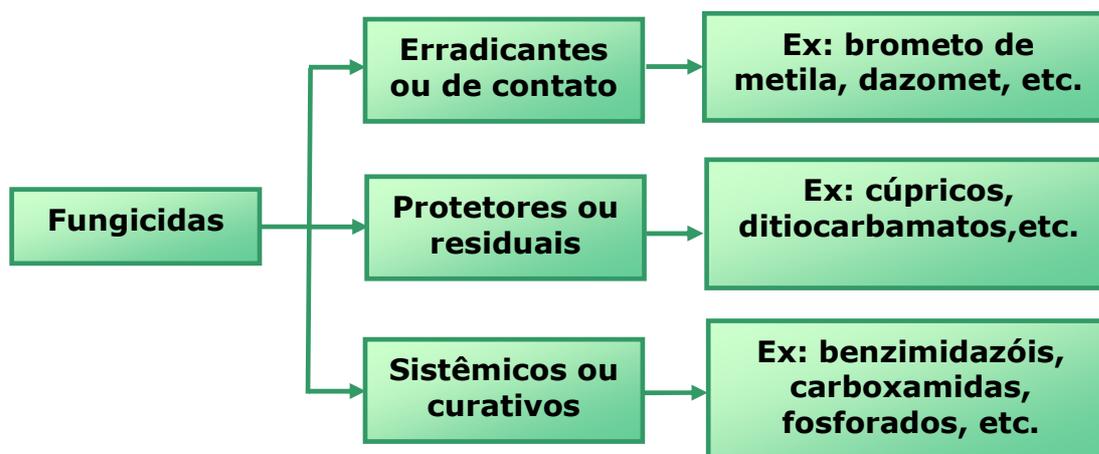
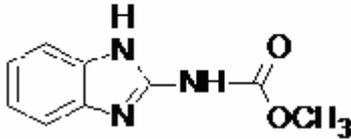


Figura 1.1 – Classificação dos fungicidas baseada no princípio de aplicação.

O Methyl Benzimidazol-2-yl Carbamate (MBC) inclui-se entre os fungicidas sistêmicos, que em função de sua capacidade de penetração e translocação dentro da planta são capazes de agir curativamente, por seus efeitos de proteção e imunização^[11].

Comercialmente, a década de 60 foi o marco na história do desenvolvimento dos fungicidas sistêmicos do grupo dos carbamatos benzimidazóis. Estes são utilizados no tratamento de sementes, solos e em aplicações foliares, visando à eliminação de patógenos específicos^[1]. No Brasil, os benzimidazóis são aplicados em culturas de algodão (sementes), citros (folhas), feijão (sementes e folhas), soja (sementes e folhas), trigo (folhas) e numa grande variedade de frutas e vegetais, cujos limites máximos de resíduos e intervalos de segurança em alimentos são estabelecidos pela ANVISA^[15]. Dentre os fungicidas desse grupo, os mais utilizados são: benomil, tiofanato-metílico e MBC. Destes, o MBC constitui o ingrediente ativo mais utilizado em alguns países, o qual desempenha importante papel protetor e curativo no controle de uma vasta gama de doenças fúngicas, como as causadas por *Ascomycetos ssp.*, *Basidiomicetos* e *Deuteromicetos ssp.* em culturas de frutas e vegetais, por ser de eliminação rápida pelo metabolismo, além de ser utilizado na pós colheita a fim de evitar a putrefação de frutos e produtos hortícolas durante o seu armazenamento^[1, 12-14]. A [Tabela 1.4](#) apresenta algumas características do MBC disponível comercialmente.

Tabela 1.4 – Características do MBC em formulação comercial^[15]. (Adaptação: Outros nomes)

Característica do MBC	
Nome Químico (IUPAC)	Methyl Benzimidazol-2-yl Carbamate (MBC)
Nome comercial	Derosal 500 SC
Princípio ativo	Carbendazim
No Registro no MAPA	1718491
Grupo químico	Benzimidazólico
Outros nomes	bendazol, carbendazim, bavistin, carbendazol, etc.
Classe toxicológica	III-Medianamente tóxico
Classificação ambiental	III-Produto perigoso
Fórmula bruta	$C_9H_9N_3O_2$
Massa molecular	$191,2 \text{ g mol}^{-1}$
Fórmula Estrutural	

A absorção de MBC pelas plantas dá-se através das raízes, sementes ou folhas, sendo posteriormente transferido para a planta inteira^[16]. Devido ao uso intenso, o MBC tornou-se um poluente muito persistente tanto no solo quanto na água, esgotos, culturas e alimentos, uma vez que sua degradação é lenta^[14,16] e constitui-se ainda no maior produto da degradação de benomil e tiofanato-metílico^[16]. Paradoxalmente, estudos realizados por NI *et al.*^[17], demonstram que MBC também apresenta significativa atividade anti cancerígena.

1.7. Métodos de Determinação de MBC

A análise de resíduos de pesticidas, nos mais diferentes meios e complexidade de matriz é tradicionalmente realizada utilizando-se técnicas cromatográficas, que são muito importantes na análise química em função de sua facilidade em efetuar separações^[18].

Técnicas como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa, ultravioleta, eletroforese capilar e colorimetria têm sido usadas para determinação de pesticidas^[19-28]. O método padrão para análise de MBC é a CLAE com detector de arranjo de diodos^[30]. VENEZIANO *et al.*^[31] demonstraram ser viável o uso de CLAE para determinação de MBC em amostras alimentícias.

BOUDINA *et al.*^[14] demonstraram ser possível a fotólise do MBC em soluções aquosas usando fonte de luz ultravioleta e simulador de luz solar. Mais tarde PANADÉS *et al.*^[1], estudaram a cinética da fotodecomposição do MBC em soluções aquosas em diferentes valores de pH, enquanto a fototransformação do MBC foi investigada por MAZELLIER *et al.*^[32] em soluções aquosas, corroborando os estudos apresentados por BOUDINA e PANADÉS.

MAKIHATA *et al.*^[33] utilizaram a cromatografia líquida para análise simultânea de pesticidas carbamatos em água de torneira. Além deste estudo, tem se observado também o uso de técnicas como, espectroscopia fluorescente e CLAE com detecção ultravioleta ou fluorimétrica para determinação analítica do fungicida MBC^[13].

Técnicas cromatográficas dependem de um longo tempo nas etapas iniciais para preparação das amostras, utilizam grande quantidade de reagentes e a instrumentação é geralmente dispendiosa, o que eleva o custo das análises. Assim, há necessidade de se desenvolver técnicas mais rápidas, mais baratas e tão sensíveis e seletivas quanto às técnicas cromatográficas.

Na década de 70, HANCE *et al.*^[18] publicaram o primeiro trabalho fazendo uso das técnicas eletroanalíticas para analisar resíduos de pesticidas em águas. Uma grande vantagem destas técnicas consiste na possibilidade da medição ser realizada diretamente na amostra sem necessidade de etapas de pré-purificações ou de separações prévias, além de tornar possível a análise de materiais coloridos ou amostras contendo

partículas sólidas dispersas. Estas vantagens aliadas ao curto tempo na realização das análises, ao baixo custo da instrumentação e dos materiais utilizados, e a baixa sensibilidade em relação à presença de interferentes, fizeram com que elas fossem cada vez mais utilizadas^[34].

Estudos voltamétricos para a determinação de MBC são descritos na literatura. Dentre estes podemos listar:

- ✦ 1996: HERNADEZ *et al.*^[13] determinaram MBC sobre eletrodo de pasta de carbono –EPC- (grafite/silicone OV-17) em amostras de vinho, maçã e solo por voltametria de pulso diferencial com pré-concentração do analito;
- ✦ 1996: ALVAREZ *et al.*^[35] estudaram a determinação indireta de MBC pela pré-onda de cobalto(II), por voltametria de pulso diferencial;
- ✦ 1998: PIAO *et al.*^[36] estudaram o comportamento eletroquímico e a determinação de MBC em eletrodo de carbono vítreo (ECV) usando voltametria de redissolução por pulso diferencial;
- ✦ 1999: PIAO *et al.*^[37] estudaram o comportamento voltamétrico de MBC em eletrodo de ECV, platina, ouro, nafion e filme de mercúrio;
- ✦ 2000: HUEBRA *et al.*^[16] demonstraram ser viável o uso da voltametria cíclica (VC) de redissolução anódica para a determinação de MBC em amostras de solo usando ultramicroeletrodos de fibra de carbono. No mesmo ano repetiram o estudo por meio da voltametria de redissolução adsortiva;
- ✦ 2002: MANISANKAR *et al.*^[38] usaram voltametria de redissolução adsortiva com onda quadrada para a determinação eletroquímica de MBC com ECV em uma célula wall-jet;

- ✦ 2004: MANISANKAR *et al.*^[39] desenvolveram um estudo eletroquímico para determinação de MBC sobre ECV por VC;
- ✦ 2005: VERMA *et al.*^[40] determinaram MBC em formulação comercial, usando polarografia de pulso normal;
- ✦ 2005: MANISANKAR *et al.*^[41] utilizaram ECV modificado com polipirrol e VC de redissolução para determinação de MBC em amostras de água e solo;
- ✦ 2005: MANISANKAR *et al.*^[42] utilizaram voltametria de redissolução com pulso diferencial com ECV modificado com argila para determinação de MBC em amostras de solo e água;
- ✦ 2006: MANISANKAR *et al.*^[43] otimizaram a determinação de MBC em água sobre ECV modificado com argila na presença e ausência de surfactante por voltametria de redissolução com onda quadrada;
- ✦ 2006: FIORUCCI *et al.*^[44] estudaram a oxidação eletroquímica de MBC sobre EPC por VC;
- ✦ 2006: FIORUCCI *et al.*^[45] determinaram MBC sobre EPC modificado com zeólita por voltametria de pulso diferencial. No mesmo ano estudaram a eletroquímica do MBC por VC utilizando EPC modificado com bentonita.

1.8. Técnicas Voltamétricas

As técnicas voltamétricas encontram larga aplicação em estudos nas mais diversas áreas do conhecimento como medicina, bioquímica, biologia molecular, química ambiental e físico-química, objetivando tanto a obtenção de informações fundamentais sobre propriedades intrínsecas das substâncias orgânicas e inorgânicas, quanto o desenvolvimento de métodos eletroanalíticos^[34].

A voltametria compreende um grupo de métodos eletroanalíticos nos quais as informações sobre o analito se baseiam na medição da corrente resultante de uma oxidação ou redução na superfície de um eletrodo indicador ou de trabalho durante a aplicação de uma diferença de potencial na célula eletroquímica^[34,46-48]. Desde sua invenção em 1922 por Jaroslav Heyrovsky, a polarografia, que é um tipo particular de voltametria, chegou a ser a primeira técnica eletroanalítica a ser utilizada em análise química e, nos anos trinta e no início dos anos quarenta a única técnica automática^[34,46-48].

Dentre as técnicas voltamétricas mais aplicadas em estudos eletroquímicos e desenvolvimento de métodos eletroanalíticos, destacam-se a Voltametria Cíclica (VC) e a voltametria de onda quadrada (VOQ).

1.8.1. A Voltametria Cíclica

A VC é considerada uma ferramenta poderosa e versátil para estudar reações eletroquímicas, sendo muito útil na prospecção de informações qualitativas sobre a termodinâmica dos processos redox envolvidos. Além disso, possibilita avaliar a reversibilidade de processos eletroquímicos, favorecendo a realização de estudos exploratórios quando não se tem informações sobre a eletroatividade do analito em estudo^[46-49]. A VC é uma técnica de varredura reversa de potencial, onde o potencial aplicado ao eletrodo é variado numa velocidade conhecida, e ao atingir o potencial final desejado, a varredura é revertida ao valor inicial, na mesma velocidade. Obtém-se, como resposta a essa perturbação, por exemplo, um par de picos, catódicos e anódicos, cujos parâmetros eletroquímicos mais importantes, são os potenciais de pico catódico e anódico (E_{pc} e E_{pa}), as correntes de pico catódico e anódico (I_{pc} e I_{pa}), e os potenciais de meia onda ($E_{1/2}$), essenciais para caracterizar o processo eletródico ocorrido^[46-49]. A [Figura 1.2](#) ilustra o sinal de excitação e os

voltamogramas cíclicos registrados caracterizando a reversibilidade dos processos eletroquímicos.

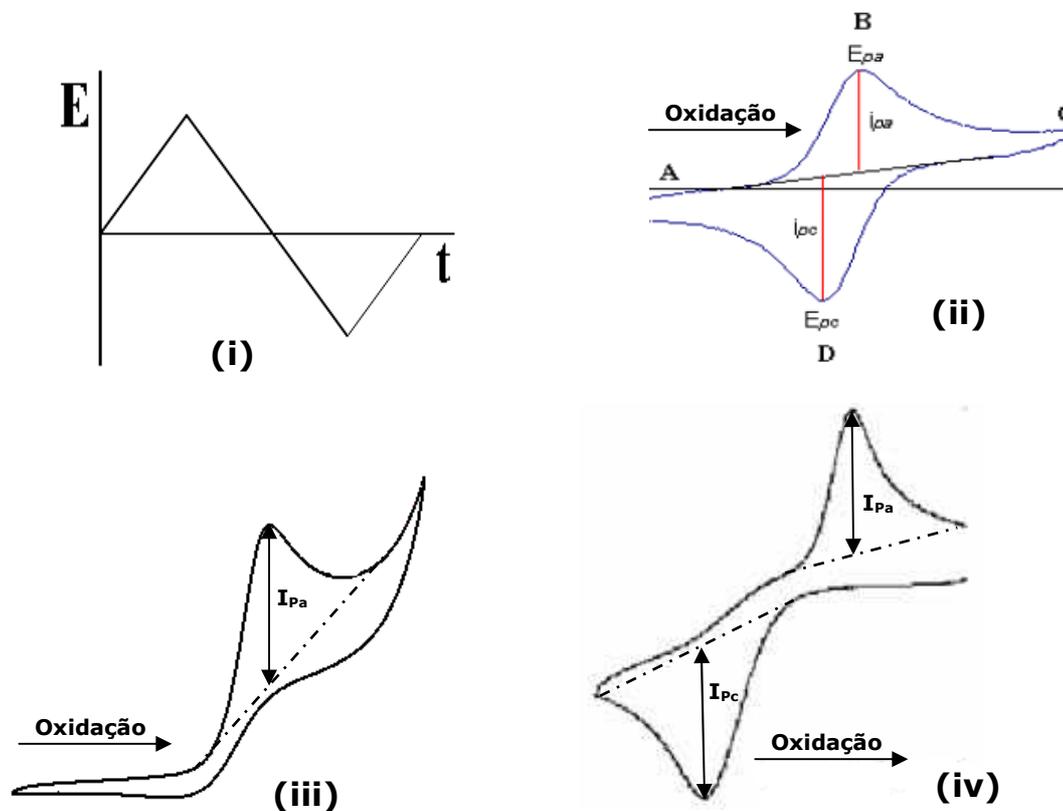


Figura 1.2 – i) Sinal de excitação para VC e Voltamogramas Cíclicos esquemáticos para um processo redox de um sistema reversível (ii) irreversível (iii) e quase-reversível (iv) [Adaptação 46-47].

1.8.2. A Voltametria de Onda Quadrada

O avanço da eletrônica e computação, possibilitou o controle digital da perturbação imposta ao eletrodo de trabalho, bem como a aquisição e tratamento de dados, possibilitando o maior desenvolvimento das técnicas voltamétricas, em especial das técnicas de pulso que, na década de 50, começaram a substituir técnicas polarográficas clássicas até então utilizadas [34].

Nos processos eletroquímicos, a intensidade de corrente total deve-se não só a fenômenos faradaicos, mas também a capacitivos. Estes últimos são originados pela transferência de carga associada à formação da dupla camada elétrica enquanto que a outra é a componente residual

associada com reações de impurezas da solução (traços de espécies eletroativas e ainda oxigênio dissolvido), ou decomposição do eletrólito suporte (ou solvente) ou reações do próprio eletrodo.

Nos anos 80, estudos realizados por Osteryoung permitiram otimizar e popularizar a VOQ, que passou a ser incorporada na maioria dos equipamentos voltamétricos comerciais, devido a varredura rápida e sensibilidade figurando entre as principais vantagens da técnica [34,46-48].

A VOQ é uma técnica onde a variação de potencial é realizada na forma de uma escada, onde pulsos de potencial (ΔE_s) de igual amplitude são sobrepostos a uma escada de potenciais de altura constante (ΔE_p) e duração $2t_p$ (período). As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos direto (A-catódico) e reverso (B-anódico), originando um pico simétrico com posição, largura e altura característicos do sistema avaliado (ΔI), o qual é um sinal obtido diferencialmente, e apresenta excelente sensibilidade e alta rejeição a correntes capacitivas [34,46-48]. Na Figura 1.3, podemos observar o sinal de excitação e o voltamograma típico para análises VOQ.

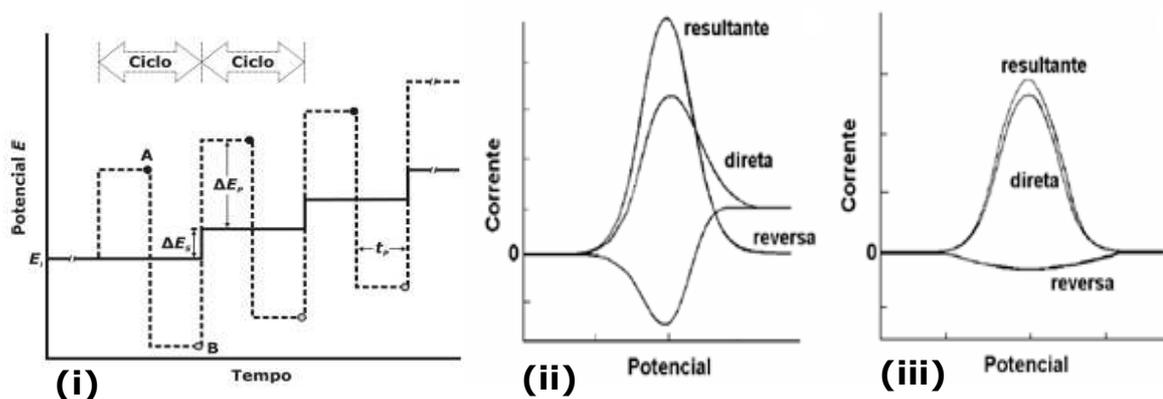


Figura 1.3 – i) Sinal de excitação para VOQ e Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada para um processo redox de um sistema reversível (ii) e de um sistema irreversível (iii) [34].

A VOQ apresenta as seguintes vantagens em comparação às outras técnicas de pulso:

- ✦ *Redução no ruído de fundo por meio de varreduras repetitivas;*
- ✦ *Registro de correntes de pico bem definidas em experimentos executados em alta velocidade de varredura, com excelente discriminação entre a corrente capacitiva e a faradaica, melhorando, assim, a sensibilidade da técnica;*
- ✦ *Baixo consumo de espécies eletroativas e redução nos problemas de passivação dos eletrodos;*
- ✦ *Em muitos casos, a interferência do O_2 dissolvido é pouco significativa em medidas com VOQ;*
- ✦ *A velocidade efetiva para uma análise por VOQ é dada por $(f\Delta Es)$.*

1.9. Eletrodos Quimicamente Modificados

No desenvolvimento de sensores, a sensibilidade, seletividade, estabilidade, precisão, resposta rápida, facilidade de uso, custo baixo e robustez constituem as características mais importantes. Na prática, eletrodos sólidos são os mais adequados para fins comerciais. A crescente demanda, das áreas da medicina, da indústria e do meio ambiente, tem impulsionado o desenvolvimento dos mais variados sensores. No entanto, a regeneração da superfície após o uso é o maior entrave para o desenvolvimento de eletrodos sólidos comerciais^[50].

Nas últimas décadas é notável o uso de eletrodos quimicamente modificados, denominação inicialmente utilizada na eletroquímica por MURRAY *et al.*^[51] na década de 70, cujo objetivo da modificação é pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução como forma de alterar a reatividade e seletividade do sensor base, favorecendo assim, o desenvolvimento de eletrodos para vários fins e aplicações, desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas até a transferência de elétrons em moléculas de interesse^[51]. Um eletrodo

modificado consiste de duas partes, isto é, o eletrodo base e uma camada do modificador químico. O sensor base deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e também ser adequado para o método de imobilização selecionado. Entre os materiais convencionais, a literatura destaca como mais usuais os substratos de carbono vítreo, ouro, platina, pasta de carbono, fibra de carbono e mercúrio na forma de filme^[51].

De forma geral, adsorção irreversível direta, ligação covalente a sítios específicos da superfície do eletrodo, recobrimento com filmes poliméricos, constituem os métodos mais importantes para promover a modificação do eletrodo base^[51]. Dentro deste contexto, vêm se destacando ultimamente os eletrodos de Nanotubos de Carbono (*Carbon NanoTubes* - NTC), que apresentam morfologia tubular com dimensões nanométricas.

Desde sua descoberta em 1991^[52], os NTC têm despertado grande interesse em diferentes aplicações nas áreas da química e física dos materiais, devido às suas características próprias como propriedades eletrônicas, óticas, grande resistência mecânica e suas propriedades químicas resultantes da combinação de sua dimensionalidade, estrutura e tipologia^[53]. Os NTC são nanoestruturas cilíndricas com diâmetros da ordem de poucos nanômetros e comprimentos da ordem de microns, levando a grandes razões comprimento/diâmetro^[54-56]. A constituição básica do retículo do nanotubo são as ligações covalentes C-C, como nas camadas de grafite. Portanto, nos nanotubos o carbono também se encontraria com uma hibridização nominal sp^2 ^[54-56].

Hoje em dia, os NTC são os componentes mais comuns usados na nanotecnologia. Com uma força de tensão 100 vezes maior que a do aço, condutividade térmica maior que a de todos os compostos (exceto a do diamante ultrapuro), e uma condutividade elétrica maior que a do cobre, com a possibilidade de transportar correntes maiores. Sua popularidade como objeto de pesquisa de muitos grupos em todo mundo, é, pois, bem justificável.

Estudos realizados por ULLOA *et al.* [57], apontam o uso de NTC para analisar o comportamento eletroquímico de um composto derivado do 4-Nitroimidazol. Já estudos desenvolvidos por LUZ *et al.* [58], descrevem o desenvolvimento de um sensor voltamétrico sensível à L-glutathiona reduzida sobre eletrodo de grafite pirolítico modificado com porfirina de ferro (III) adsorvido em NTC.

Os NTC, quanto ao número de camadas, podem ser classificados em duas formas (Figura 1.4): (i) NTC de paredes múltiplas (Multi-Walled Carbon Nanotubes - NTCPM), que são constituídos por vários cilindros concêntricos de grafite, espaçados de 0,34-0,36 nm um do outro e (ii) NTC de parede simples ou única (Single-Walled Carbon Nanotubes - NTCPS), que são constituídos por apenas uma camada cilíndrica de grafite [55].

Uma maneira simples de representar os NTCPS (Figura 1.4 (A)) é considerar uma camada simples de grafite e enrolá-la até formar um cilindro de tal modo que dois sítios cristalograficamente coincidam. Uma camada simples de grafite está constituída por átomos de carbono formando uma rede hexagonal, com ligações simples e duplas, sendo a distância entre dois átomos mais próximos da ordem de 0,14 nm. No grafite, as ligações entre camadas são do tipo Van der Waals, sendo a distância entre elas da ordem de 0,34 nm [55-56]. Por outro lado os NTCPM (Figura 1.4 (B)) são constituídos por duas ou mais camadas simples de cilindros coaxiais (obtidos enrolando uma folha de grafite), fechados nos seus extremos também com "hemisférios" de fulerenos, os quais em geral, apresentam defeitos (presença de pentágonos não isolados e heptágonos). A distância de separação entre camadas é da ordem de 0,34 nm (3-5% maior que o espaçamento entre as camadas do grafite de aproximadamente 0,339 nm). Na maioria dos casos, a relação comprimento/diâmetro atinge valores entre 100 e 1000 e, portanto, podem ser considerados como sistemas unidimensionais [55-56].

NTC têm sido usados na confecção de diferentes tipos de dispositivos, como emissores de elétrons para mostradores, sensores de gases e sensores biológicos, pontas para microscópio de força atômica e, quando combinados a outros materiais, como polímeros e fibras, servem como elementos de reforço formando compósitos com excelentes propriedades mecânicas, além de sua grande aplicação tecnológica na construção de biosensores e transdutores eletroquímicos, que atuam acelerando reações de transferência de elétrons em moléculas do tipo proteína ou neurotransmissores^[52,55,59].

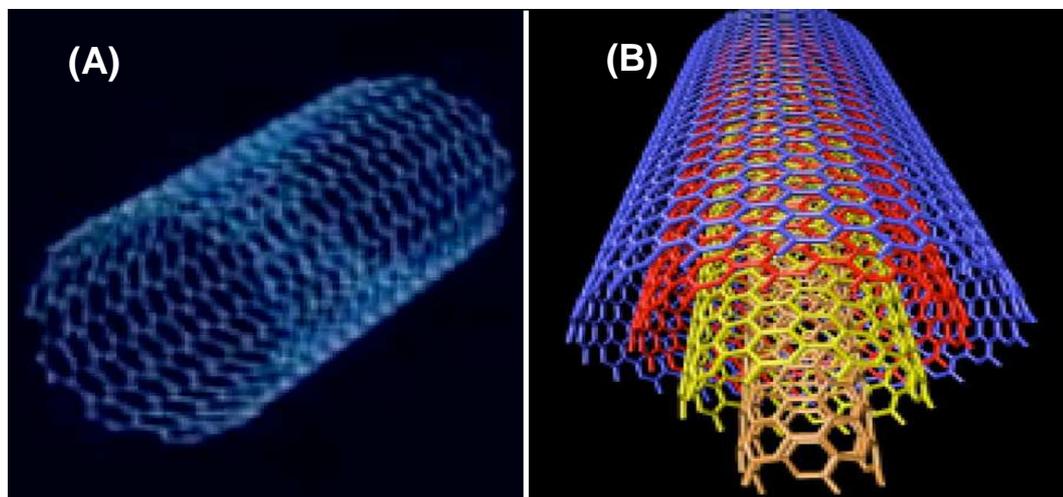


Figura 1.4 – Nanotubos de Carbono – (A) parede única e (B) parede múltipla^[60].

A adsorção irreversível de NTC sobre superfícies eletródicas convencionais constituem uma estratégia útil para preparar, de forma simples, sistemas de detecção que exibem um excelente comportamento frente as reações eletroquímicas de algumas moléculas de interesse^[59]. Para a preparação destes eletrodos e, devido à baixa solubilidade dos NTC na maioria dos solventes, é preciso selecionar um meio de solubilização que seja compatível com as espécies envolvidas na detecção. Os agentes dispersantes mais utilizados tem sido água^[57,59], polímeros como o nafion (perfluorosulfonato sódico), solventes orgânicos como o dimetilformamida (DMF)^[57,59] e tensoativos, como o dodecilsulfato sódico^[59,63]. Estes meios influem sobre a morfologia dos recobrimentos e sobre as propriedades

eletroquímicas dos NTC dependendo do mecanismo do sistema redox, não alterando a superfície química do nanomaterial como ocorre quando se empregam meios ácidos ou tratamentos eletroquímicos de ativação^[59].

Devido às características únicas dos NTC, recentemente alguns trabalhos foram publicados fazendo uso destas nanoestruturas para estudos com pesticidas. Para exemplificar tais aplicações destacaremos os trabalhos desenvolvidos por:

- ✦ SISWANA *et al.*^[61] estudaram a eletrocatalise do herbicida “asulam” sobre grafite pirolítico modificado com NTCPM e ftalocianina de cobalto.
- ✦ HUANG *et al.*^[62] analisaram eletroquimicamente o herbicida “trifluralin” usando ECV-MNTC.
- ✦ MANISANKAR *et al.*^[63] estudaram a eletroanálise dos pesticidas “Isoproturon, Voltage e Dicofol” usando polímero condutor/ ECV-MNTC.
- ✦ WANG *et al.*^[64] aplicaram NTCPM para extração da fase sólida de pesticidas organofosforados.

1.10. Objetivos

1.10.1. Geral

Determinar traços do pesticida MBC sobre eletrodo modificado com NTC utilizando a técnica de VOQ.

1.10.2. Específicos

Para atingir o objetivo proposto, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- ✦ Estudar as propriedades eletroquímicas do MBC em eletrodos de carbono vítreo modificados com NTCPM;

-
- ✦ Estabelecer condições experimentais e parâmetros instrumentais para desenvolvimento de método analítico para determinação de MBC com eletrodo modificado utilizando VOQ;
 - ✦ Determinar os Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ), repetibilidade e reprodutibilidade da metodologia proposta;
 - ✦ Determinar os níveis de recuperação aparente do pesticida MBC em amostras reais.



EXPERIMENTAL

CAPÍTULO 2

2. EXPERIMENTAL

2.1. Instrumentação

As medidas de pH foram realizadas em um pHmetro 713 da Metrohm. A homogeneização das soluções e a dispersão dos NTC foram conduzidas em um banho-ultrassom USC 1400 da Ultrasonic Cleaner. As medições voltamétricas foram realizadas em um potenciostato Eco Chemie, μ Autolab[®] Type II, acoplado a um módulo polarográfico Metrohm, 663 VA Stand[®], equipado com um eletrodo de referência Ag/AgCl – KCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e com um fio de platina como contra eletrodo, [Figura 2.1](#).

Como eletrodo base, utilizou-se um eletrodo de ECV Metrohm, 3 mm de diâmetro, o qual era polido em um feltro contendo uma suspensão de alumina nas granulometrias 0,3 e 0,05 μm em água.

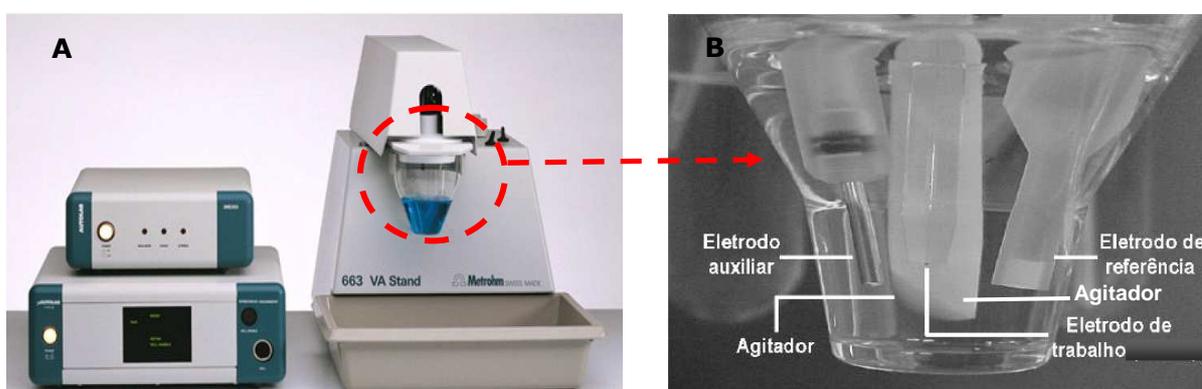


Figura 2.1 – (A) Potenciostato Eco Chemie, à esquerda, e o módulo polarográfico à direita. (B) Célula eletroquímica.

2.2. Soluções e Reagentes

Todos os reagentes foram de grau analítico. As soluções aquosas foram preparadas com água deionizada em sistema Milli pore, Milli-Q Plus. O MBC foi da Sigma-Aldrich e Dimetil Formamida (DMF) e Acetonitrila (Vetec). NTCPM (CNT CO., LTD), pureza 90%, diâmetro 10-70 nm, comprimento 20 μm . MBC comercial (Derosal 500 SC), cuja formulação

apresenta como solvente ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (50% v/v água:acetonitrila), foi adquirido da Bayer. Solução estoque $4,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do MBC foi preparada em solução de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

2.3. Solubilização do MBC

A solubilidade do MBC comercial foi testada em diversos meios, mostrando-se imiscível em água e solúvel quando tratado com solvente misto, a exemplo de solução alcoólica de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (50% v/v – água/etanol), solução alcoólica de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (50% v/v – água/etanol) e ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (50% v/v - água/acetonitrila). Optou-se pela solução de ácido sulfúrico em meio acetonitrila para solubilizar o MBC comercial visto ter proporcionado melhor solubilidade em menor tempo para homogeneização. Para completa solubilização do padrão MBC 97%, fez-se necessário apenas o uso de uma solução aquosa de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A escolha do melhor solvente para o MBC comercial comprova os estudos desenvolvidos por MANISANKAR *et al.* [\[42\]](#).

2.4. Pretratamento do Eletrodo

O eletrodo base, de ECV, recebia diariamente polimento em suspensão aquosa de alumina, granulometria 0,3 e 0,05 μm , sobre feltro disposto em placas de petri, realizando-se movimentos em forma de “oito”, tendo-se o cuidado de lavar o eletrodo para mudar para a próxima granulometria da alumina. Em seguida, o mesmo era introduzido num banho de ultrassom de forma seqüencial em ácido nítrico (1:1 v/v), acetona e água deionizada por 3 minutos. A eficiência da limpeza era certificada visualmente observando-se a superfície em um microscópio.

Antes das medições voltamétricas, tanto para o eletrodo base quanto para o eletrodo modificado, a superfície do eletrodo era ativada

submetendo-se o mesmo a dez varreduras cíclicas no próprio eletrólito de suporte numa janela de potencial de -0,8 a 1,5 V com velocidade de varredura (ν) = 250 mV s⁻¹.

2.4.1. Preparação do Eletrodo Modificado

Os eletrodos de NTCPM foram preparados pela técnica de “casting” (evaporação do solvente). Os NTC foram dispersos em água e DMF, baseando-se nos estudos desenvolvidos por ULLOA *et al.* [57]. Após sonificados por 2 horas à temperatura ambiente, uma suspensão de NTC foi obtida para concentrações de 1,0; 2,0 e 4,0 mg_{NTCPM}/mL_{agente dispersante}. Uma alíquota de 20 µL foi depositada sobre a superfície do sensor base e seco a 50 °C, em estufa, por 30 minutos para completa evaporação do solvente, obtendo filmes homogêneos e uniformes. Após esfriar a superfície eletródica modificada e realizar a ativação em eletrólito puro, as medidas voltamétricas foram executadas. O preparo do eletrodo está esquematizado na [Figura 2.2](#).

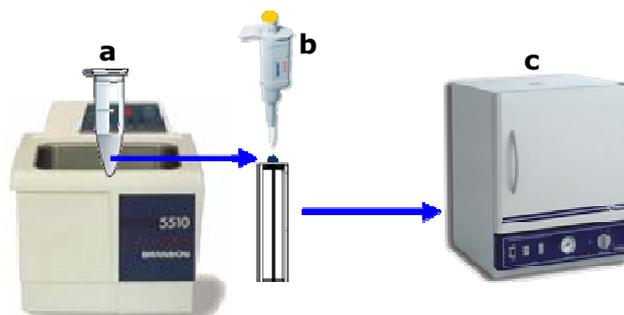


Figura 2.2 – Elaboração do eletrodo modificado ECV-MNTCPM. (a) Banho ultra-som para dispersão dos NTC; (b) alíquota de NTC depositada sobre o eletrodo e (c) etapa de secagem do eletrodo.

Após as medidas voltamétricas, o eletrodo deve ser limpo para evitar que algum efeito da modificação prejudique a superfície do carbono vítreo. A remoção da modificação é facilmente promovida quando colocada por alguns segundos em um banho ultrasônico com água



deionizada, sendo a superfície regenerada com polimento em alumina conforme seqüência de tratamento apresentada na seção 2.4.

2.5. Procedimento Experimental

As medições voltamétricas foram realizadas à temperatura ambiente em 5,0 mL de eletrólito de suporte deaerado com nitrogênio por 5 minutos.

2.5.1. Voltametria Cíclica

Os Voltamogramas cíclicos foram registrados em solução tampão ácido acético/ acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,7) a uma $\nu = 500 \text{ mV s}^{-1}$ e tempo de deposição em circuito aberto ($t_{d,(\text{circuito aberto})} = 0 \text{ s}$).

2.5.2. Voltametria de Onda Quadrada

Os voltamogramas de onda quadrada foram registrados em tampão ácido acético/acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,7), usando um $t_{d,(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$ e NTC 1,0 mg mL⁻¹, exceto os voltamogramas da [Figura 3.2](#) e do estudo do pH 1,0, foram registrados em meio ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹ (pH 1,0). Para otimização do sistema voltamétrico, foram adotados preliminarmente os parâmetros instrumentais frequência de aplicação do pulso (f) = 25 s⁻¹; amplitude de aplicação do pulso (ΔE_p) = 100 mV e incremento de potencial (ΔE_s) = 5 mV. Além disso, a influência do pH foi analisada numa faixa de 1,0 a 9,0. Para tanto, utilizou-se uma solução 0,1 mol L⁻¹ de ácido sulfúrico (pH 1,0), tampão ácido acético/acetato de sódio (pH 4,7) e Tampão Britton-Robinson (pH 3,0; 7,0 e 9,0).



2.6. Figuras de Mérito

O desenvolvimento de um método analítico, a adaptação ou implementação de método conhecido, envolve processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório. Este processo costuma ser denominado de validação, cujo objetivo consiste em demonstrar que o método analítico é adequado para seu propósito. Sendo assim, sensibilidade, LD, LQ, curva analítica, linearidade, precisão (repetibilidade e reprodutibilidade) e exatidão (teste de recuperação aparente), são parâmetros que constituem as figuras de mérito essenciais a validação de métodos analíticos [65-67].

Para determinação analítica do MBC a curva analítica com o padrão de MBC foi construída em intervalo de concentração estabelecido de acordo com o interesse analítico, mediante adição de padrão em eletrólito puro. Entende-se como sensibilidade de um método a capacidade que este tem, em determinado nível de confiança, de distinguir duas concentrações próximas. O LD é a menor concentração do analito a ser detectada e é responsável por um sinal que é igual a três vezes o nível de ruído da linha de base, não sendo necessariamente quantificado. Já o LQ consiste na menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com precisão e exatidão aceitáveis, sob as condições em que foram estabelecidos os ensaios, onde se considera que o limite do potenciostato ainda não tenha sido atingido. Assim, a sensibilidade da metodologia será avaliada pelo cálculo do LD e LQ, conforme Equações (2.1) e (2.2), respectivamente [47,67].

$$LD = \frac{3S_b}{b} \quad (\text{Eq. 2.1}) \quad \text{e} \quad LQ = \frac{10S_b}{b} \quad (\text{Eq. 2.2})$$

(S_b é o desvio-padrão da média do sinal do branco em eletrólito puro e " b " a sensibilidade da curva analítica, ou seja, o coeficiente angular em um nível de significância de 95% de confiança).

Em uma curva analítica, o intervalo linear compreende uma faixa de concentração que se estende desde a menor concentração (LQ), a qual se pode realizar uma medida quantitativa, até a concentração na curva analítica que se desvia da linearidade (Limite de Linearidade - LL), conforme se observa na [Figura 2.3](#).

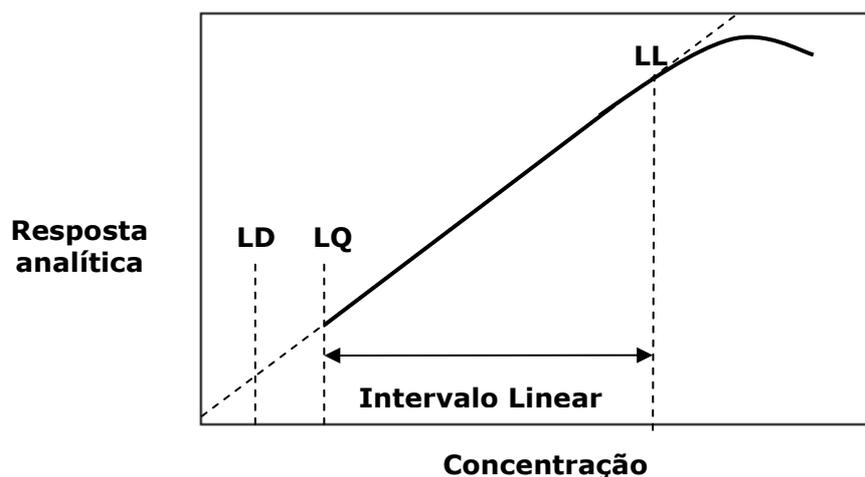


Figura 2.3 – Intervalo linear de um método analítico ^[46].

A precisão foi avaliada com base no nível de repetibilidade (diferença máxima aceitável entre as repetições dos voltamogramas em um mesmo nível de concentração da amostra) e de reprodutibilidade (diferença máxima aceitável entre resultados obtidos para o registro do voltamograma em amostras diferentes) do sensor proposto, em termos do Desvio Padrão Relativo (DPR), de acordo com a [Equação \(2.3\)](#), cujo inverso corresponde à relação sinal-ruído (S/R) ^[67].

$$CV = \%DPR = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\% \quad (\text{Eq. 2.3})$$

(“S” é o desvio-padrão do grupo de medidas (recuperações) e \bar{x} a média do grupo de medições das recuperações).

A exatidão é definida como a concordância entre o valor real do analito na amostra e o estimado pelo processo analítico. Neste sentido, a exatidão da metodologia foi avaliada pelo nível de recuperação



aparente^[66] obtido em eletrólito puro e em duas amostras de água de rio (A_1 e A_2), localizado em Cruz do Espírito Santo - PB, previamente filtradas com papel de filtro para remoção de partículas suspensas.

No caso de amostras de eletrólito suporte preparado com água do Milli-Q, o cálculo de recuperação aparente foi realizado afim de se observar quanto da amostra adicionada pode ser realmente detectada, mostrando dessa maneira a viabilidade da utilização da metodologia para amostras reais. Procedimento semelhante foi adotado para o tratamento com as amostras ambientais, sendo as mesmas usadas como solvente para o eletrólito de suporte.

Como as amostras analisadas não apresentaram pico correspondente ao MBC, simulamos uma contaminação das amostras com uma concentração $4,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC. Em cada análise, uma alíquota de $50 \mu\text{L}$ de MBC ("batismo da amostra") foi adicionada na célula eletroquímica, seguida de quatro adições de $50 \mu\text{L}$ da solução padrão de MBC $4,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O Método de adição de padrão sem partição da amostra foi implementado e a partir do registro dos voltamogramas obtemos o sinal analítico da amostra (sem adição de padrão- adotando a concentração inicial igual a zero) e das quatro adições de padrão ($V = 50 \mu\text{L}$) MBC de concentração final conhecida na cela eletroquímica. A relação entre o coeficiente linear (A) e o coeficiente angular (B) da reta obtida ($y = 0$), possibilitou obter as concentrações aparentemente recuperadas,

$C_o = -\left(\frac{A}{B}\right)x\left(\frac{V_o + 4V_s}{V_o}\right)$, a partir das amostras analisadas^[66]. Para uma

adicional verificação da exatidão do método desenvolvido e da interferência da matriz, foram calculados os valores de recuperação aparente do MBC para a alíquota de $50 \mu\text{L}$ ($4,22 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) do padrão MBC em relação às amostras batizadas (A_{11} e A_{22}). A taxa de recuperação aparente (%RA) foi calculada pela relação percentual entre as quantidades

de MBC recuperadas e adicionadas, de acordo com a [Equação \(2.4\)](#), conforme recomenda a IUPAC^[66]:

$$\% RA = \frac{\left(\frac{A}{B}\right)_{recuperada} \times \left(\frac{V_o + 4V_s}{V_o}\right)}{MBC_{adicionada}} \times 100 \quad (\text{Eq. 2.4})$$

Na [Figura 2.4 \(A\) e \(B\)](#), tem-se um esquema indicando a metodologia de trabalho adotada para os experimentos de recuperação para eletrólito puro e com as amostras de água de rio.

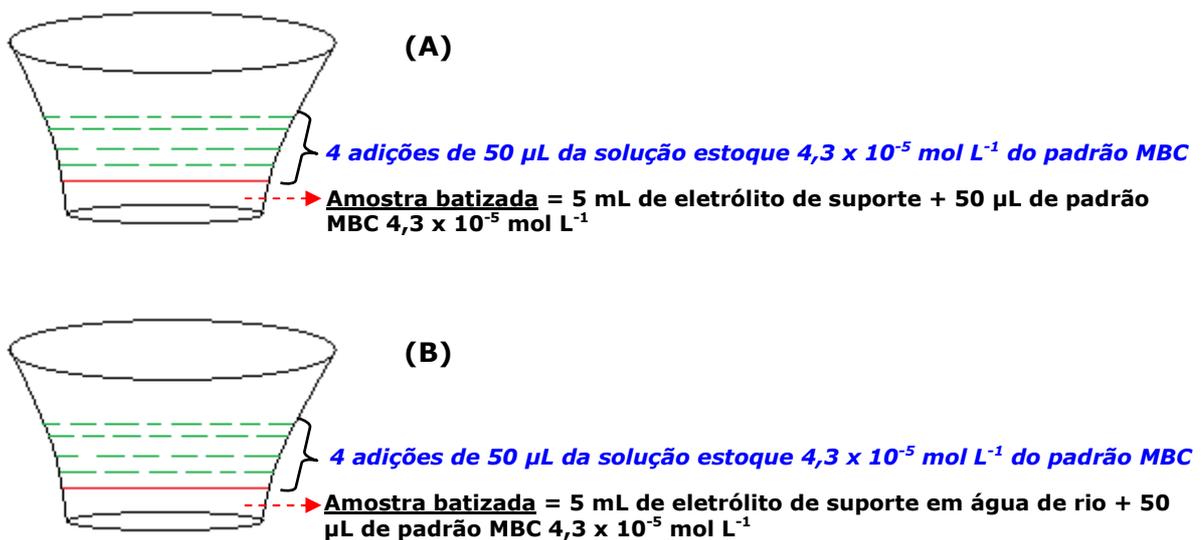
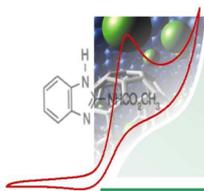


Figura 2.4 – Procedimento de Recuperação aparente baseado no método de adição de padrão. (A) em eletrólito puro; (B) em água de rio.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

CAPÍTULO 3

3. Resultados e Discussão

3.1. Comportamento Voltamétrico do MBC em ECV e ECV-MNTCPM

A Figura 3.1 apresenta voltamogramas cíclicos do MBC em ECV e em ECV-MNTCPM. Duas ondas quase-reversíveis são verificadas em $E_{Pa,1}=1,25$ V, $E_{Pc,1}=1,10$ V, $E_{Pa,2}=0,71$ V, $E_{Pc,2}=0,67$ V com o eletrodo não modificado, as mesmas ondas quase-reversíveis ($E_{Pa,1}=1,25$ V, $E_{Pc,1}=0,85$ V, $E_{Pa,2}=0,75$ V e $E_{Pc,2}=0,45$ V), são verificadas com o eletrodo modificado. Ressalte-se que HERNANDEZ *et al.* [13] e FIORUCCI *et al.* [12] também identificaram processos eletroquímicos quase reversíveis para o MBC em outros eletrodos modificados.

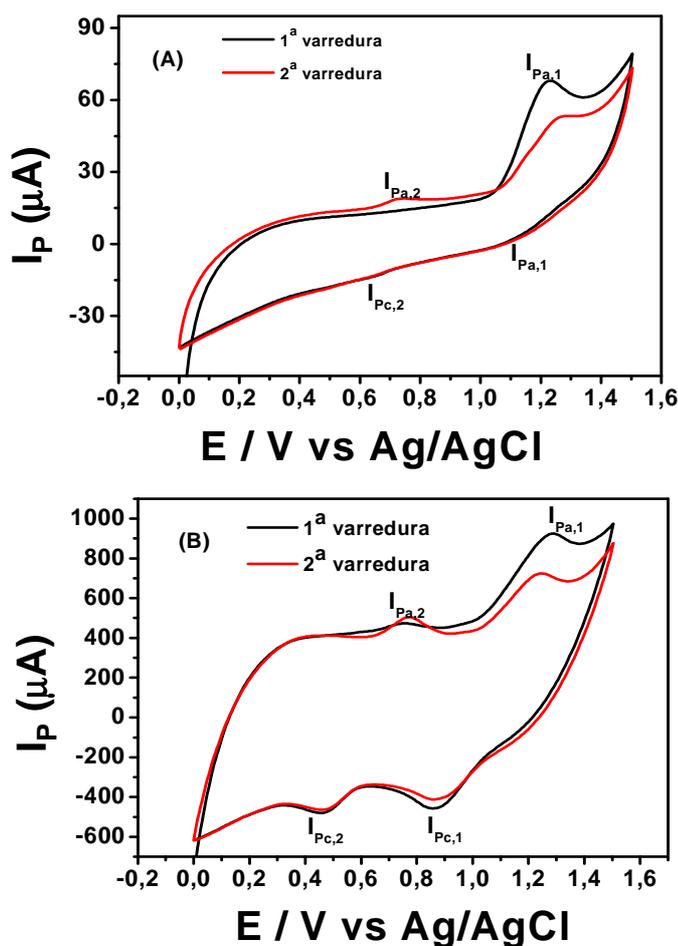


Figura 3.1 – Voltamogramas cíclicos de uma solução $1,13 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ MBC em tampão ácido acético/acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,7); $\nu = 500$ mV s⁻¹ e $t_{d,(circuito\ aberto)} = 0$ s em **(A)** ECV e **(B)** ECV-MNTCPM.



Concomitantemente à VC experimentos usando VOQ também foram executados. A [Figura 3.2](#) apresenta o perfil voltamétrico VOQ do MBC em ECV em comparação com ECV-MNTCPM, cujos dados mostram claramente que o uso do eletrodo modificado, como eletrodo de trabalho, apresentou melhor perfil voltamétrico e corrente com magnitude mais acentuada, indicando um ganho expressivo de sensibilidade analítica e seletividade, o que justifica a modificação do ECV para o desenvolvimento de uma nova metodologia analítica para detecção de traços do pesticida MBC.

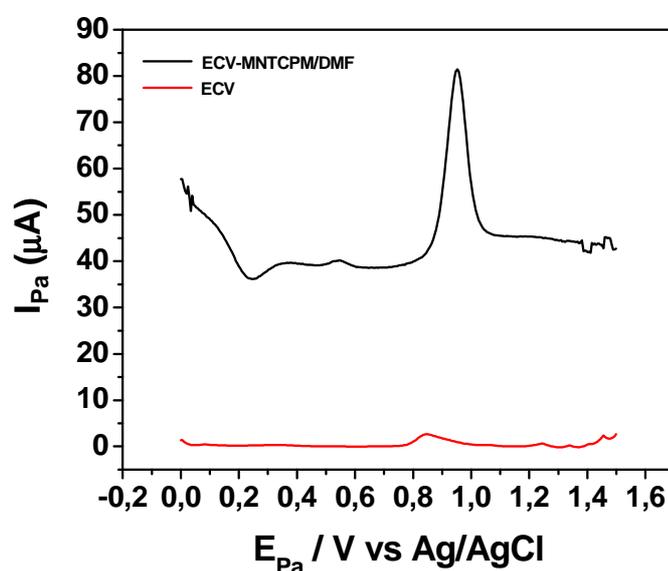


Figura 3.2 – Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de MBC $5,21 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} (1,0 ppm) em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1$ mol L^{-1} (pH 4,7), com $f = 25$ s^{-1} ; $\Delta E_p = 100$ mV, $\Delta E_s = 5$ mV e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60$ s.

A varredura de potencial em VOQ nos dá um voltamograma resultante, cuja separação das correntes obtidas nas varreduras direta e reversa constitui uma ferramenta de suma importância para diagnosticarmos inicialmente o grau de reversibilidade do sistema. A [Figura 3.3](#) nos mostra a separação das correntes onde é possível observar que a corrente resultante advém da soma da contribuição das correntes das varreduras direta (anódica) e reversa (catódica), cuja variação entre o potencial de pico catódico e anódico é maior que a razão $59/n$ (mV),



valor típico para sistema totalmente reversíveis, confirmando assim a quase-reversibilidade do sistema observada nos voltamogramas cíclicos.

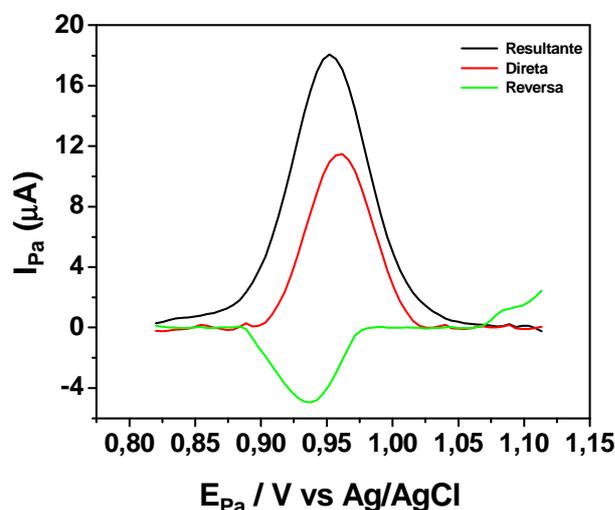


Figura 3.3 – Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de MBC $5,21 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ mostrando as componentes das correntes registradas sobre ECV-MNTCPM- H_2O em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$.

3.2 Modificação do Eletrodo

3.2.1. Dispersão dos Nanotubos em Água e em DMF

Ao depositar uma gota da suspensão de NTC sobre a superfície do eletrodo e evaporar o solvente, verificou-se que a morfologia da superfície resultante depende fortemente da natureza do agente dispersante utilizado. O procedimento empregado na obtenção da suspensão, a concentração e espessura da camada depositada têm também influência sobre a morfologia do eletrodo modificado.

Um estudo comparativo entre DMF e água como agentes dispersantes, mostrou que a suspensão com água produziu uma melhor dispersão dos NTC, resultando uma maior homogeneidade do filme sobre ECV e uma resposta voltamétrica muito mais sensível, como mostra a [Figura 3.4](#) Estudos realizados por ULLOA *et al.* ^[57] também apontam a água como um agente dispersante adequado para NTC.

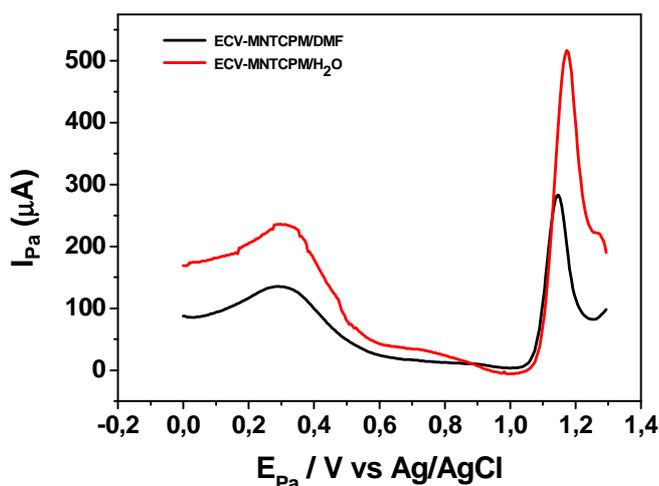


Figura 3.4 – Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre ECV-MNTCPM em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$.

Um estudo comparativo entre eletrodos modificados utilizando dispersões com diferentes concentrações de NTC, [Figura 3.5](#), não revelou diferença significativa entre suas respostas analíticas, em desacordo com estudos realizados por ULLOA *et al.* [\[57\]](#). Optou-se então pela concentração de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$.

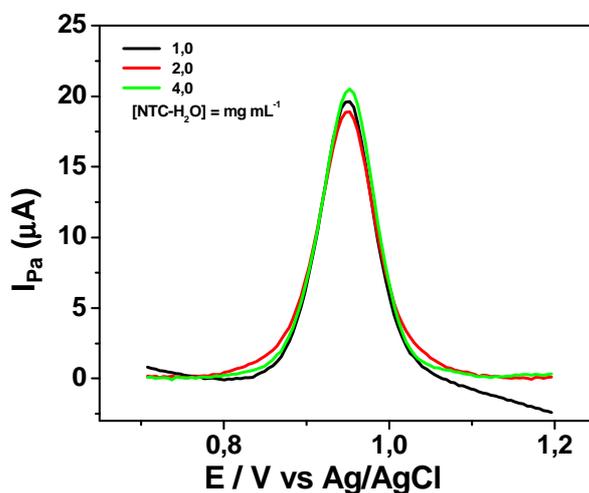


Figura 3.5 – Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC sobre ECV-MNTCPM em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$ e diferentes concentrações do modificante.



3.3. Estudo do pH

A Figura 3.6 apresenta o estudo da influência do pH no comportamento voltamétrico do MBC. Percebe-se nitidamente a forte influência do pH no processo eletroquímico, com uma dependência linear (-64,7 mV/pH) entre o potencial de pico e o pH da solução. Apesar da elevada sensibilidade verificada em pH fortemente ácido, a forte distorção no pico voltamétrico desfavorece o uso desta faixa de pH para fins analíticos. Optou-se, portanto, pelo tampão ácido acético/acetato de sódio pH 4,7 como eletrólito de suporte, numa concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

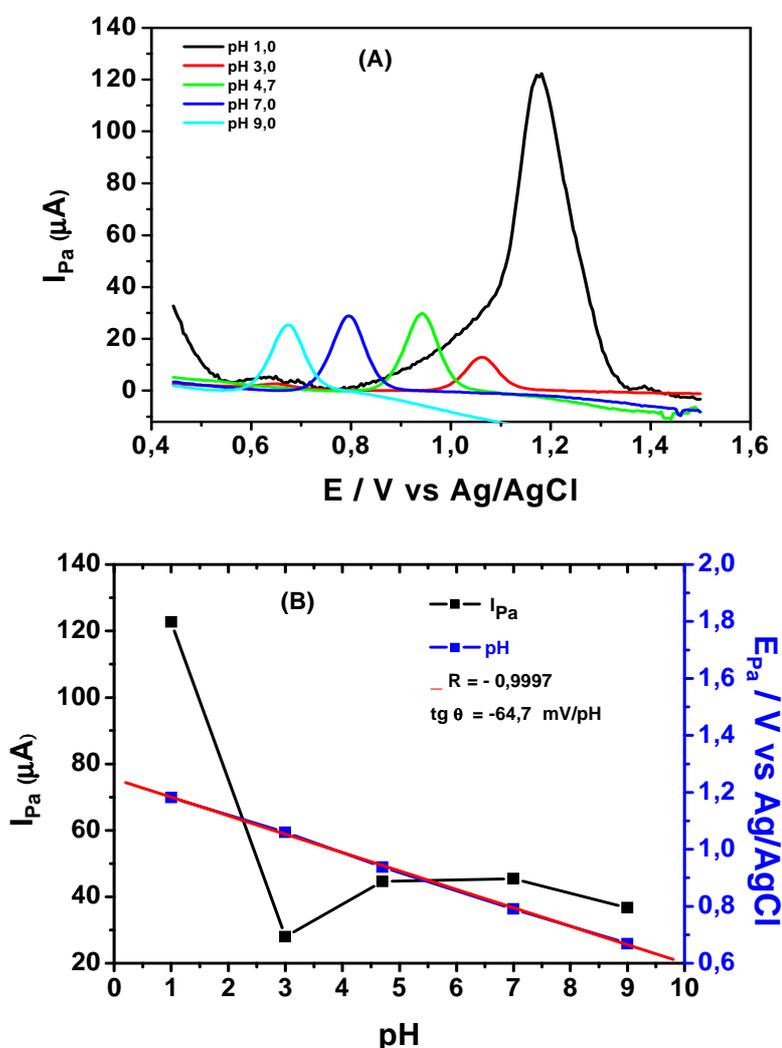


Figura 3.6 – Estudo de pH. **(A)** Voltamogramas de onda quadrada do MBC $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre ECV-MNTCPM, com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$ em diferentes valores de pH. **(B)** Dependência da I_{pa} , E_{pa} vs pH.

A dependência do potencial de pico com o pH indica que a oxidação da molécula do MBC, nas condições dos experimentos, envolve processo de protonação, o que é esperado devido à presença de grupos protonáveis (três átomos de nitrogênio) na molécula do pesticida, ilustrada na [Figura 3.7](#).

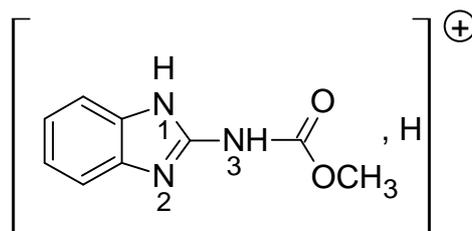


Figura 3.7 – Estrutura do MBC indicando os três grupos de protonação

É importante ressaltar que segundo MAZELLIER *et al.* [32] o MBC pode existir tanto na forma protonada ($\text{pH} < \text{pK}_a$) ou neutra ($\text{pH} > \text{pK}_a$), assumindo um valor de pK_a da ordem de $4,53 \pm 0,07$.

3.4. Efeito de Memória

Um dos maiores entraves para a disseminação do uso de eletrodos sólidos para fins analíticos em análise de rotina é a regeneração da superfície do eletrodo após uma medição analítica.

Para avaliar a magnitude do efeito de memória na determinação de MBC com o eletrodo modificado em questão, foram realizados vários voltamogramas consecutivos alternando-se entre os tempos de deposição, do material eletroativo, 0 e 60 s. Conforme pode ser verificado na [Figura 3.8](#), nenhum efeito de memória foi observado, indicando a plena regeneração da atividade do sensor após o uso, através de uma simples lavagem com água. Sabendo-se que o MBC adsorve na superfície do eletrodo, então seu produto de oxidação ou sofre dessorção e migra para o seio da solução ou, se permanece adsorvido, não exerce nenhuma influência no processo de oxidação subsequente.

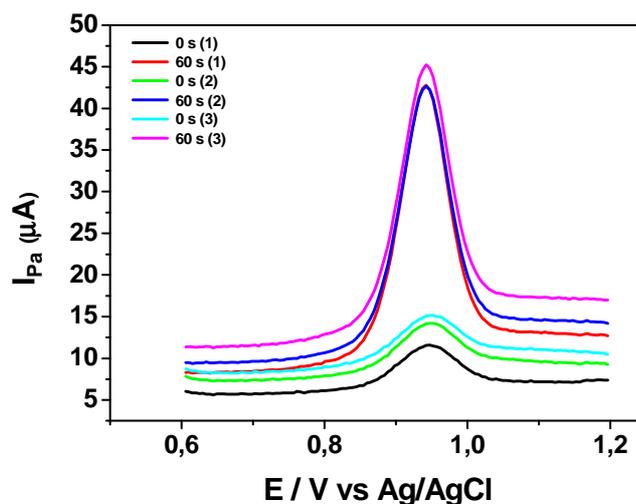


Figura 3.8 – Efeito de memória. Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM para varreduras alternadas com $t_{d(\text{circuito aberto})} = 0$ e 60 s. MBC $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$.

3.5. Pré-Concentração

A capacidade de adsorção dos NTC foi avaliada para pré-concentrar MBC sobre a superfície do eletrodo. Os estudos revelaram não haver diferença significativa entre a pré-concentração em circuito aberto e com aplicação de potencial, [Figura 3.9](#) Assim, optou-se pela pré-concentração em circuito aberto.

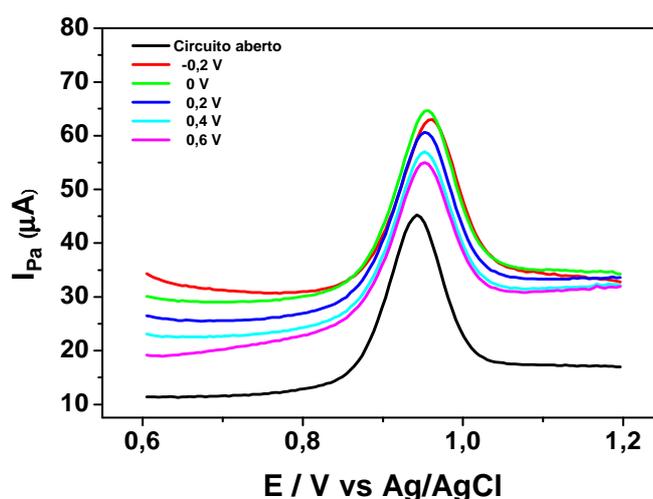


Figura 3.9 – Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM com pré-concentração em circuito aberto e com aplicação de potencial. MBC $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $t_{d(\text{circuito aberto})} = 60 \text{ s}$.



A Figura 3.10 apresenta um estudo do tempo de pré-concentração, onde não se verifica saturação da superfície do eletrodo nos tempos de pré-concentração estudados. Optou-se por um tempo de pré-concentração de um minuto por atender a uma boa condição de compromisso entre sensibilidade e tempo de análise.

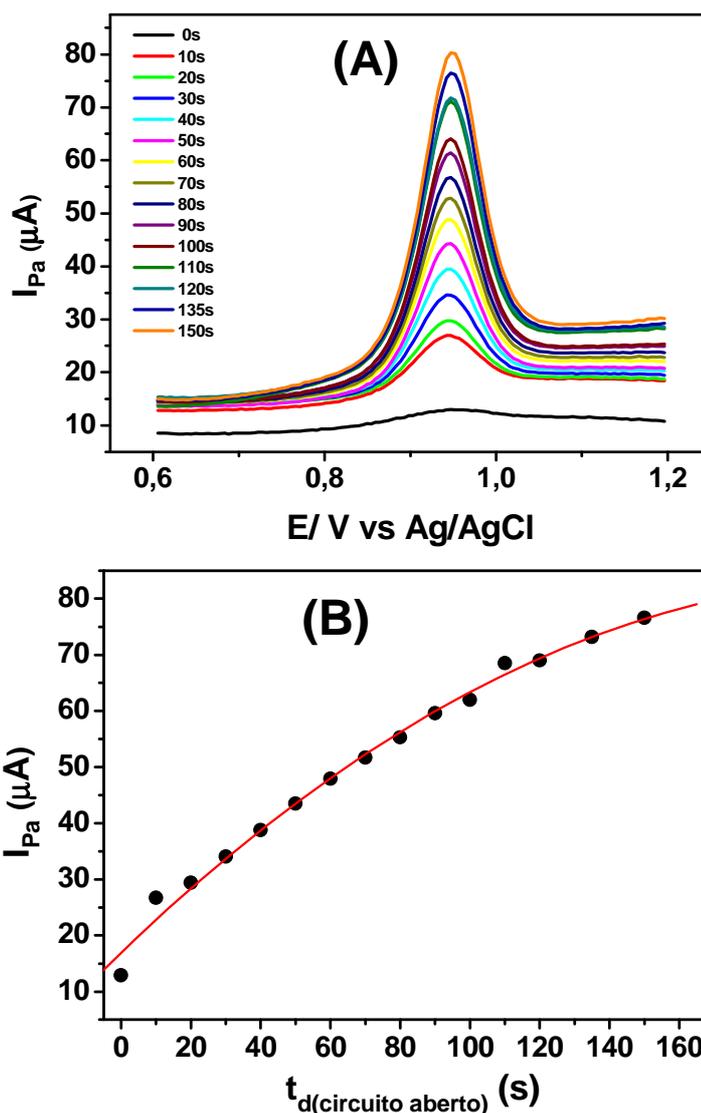


Figura 3.10 – Pré-concentração. **(A)** Voltamogramas de onda quadrada do MBC $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre ECV-MNTCPM tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), com diversos tempos de pré-concentração em circuito aberto e $f = 25 \text{ s}^{-1}$; $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$. **(B)** Dependência da I_{Pa} vs $t_{d(circuito\ aberto)}$.



3.6. Escolha dos Parâmetros Instrumentais

Assim como a velocidade de varredura está para a VC, a frequência de aplicação dos pulsos está para a VOQ, sendo esta a responsável pela magnitude do sinal analítico e conseqüentemente a sensibilidade do método. Outro parâmetro possível de otimização na técnica VOQ é a amplitude do pulso de potencial aplicado. Sua variação influencia diretamente na seletividade do pico, que tende a ficar mais largo para altos valores de amplitude. Nesse contexto, a velocidade de varredura na VOQ é resultado do produto entre frequência de aplicação do pulso e o incremento de potencial, que assim como a frequência detém influência com respeito à sensibilidade das análises.

A [Figura 3.11](#) apresenta os resultados de um estudo realizado para estabelecer a magnitude dos parâmetros instrumentais mais adequadas para a obtenção dos voltamogramas de onda quadrada, o que resultou a opção por uma frequência de 25 s^{-1} , amplitude de 50 mV e incremento de 5 mV, por representar uma boa condição de compromisso entre sensibilidade e seletividade.

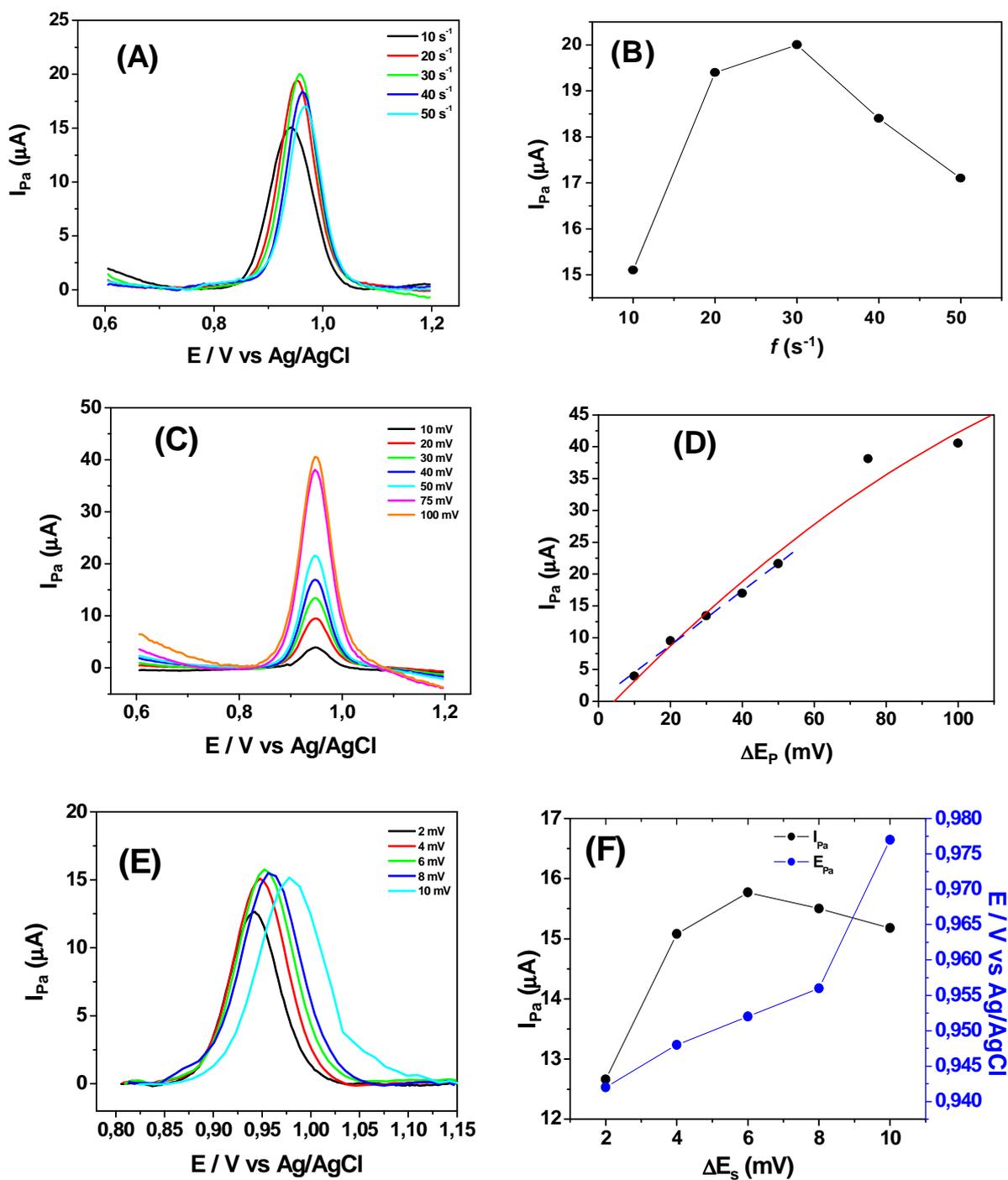


Figura 3.11 – Voltamogramas de onda quadrada de uma solução $2,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC sobre ECV-MNTCPM em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) com diversos parâmetros instrumentais. (A) e (B) freqüência, (C) e (D) amplitude e (E) e (F) incremento.



3.7. Curva Analítica

A Figura 3.12 apresenta voltamogramas de onda quadrada e a respectiva curva analítica para MBC nas condições experimentais eleitas. Verifica-se uma ampla faixa de linearidade ($I_{Pa}/\mu A = -0,42 (\pm 0,23) + 4,20 \times 10^6 (\pm 0,13 \times 10^6) [MBC] / \text{mol L}^{-1}$ e $R = 0,9966$ para $N = 9$).

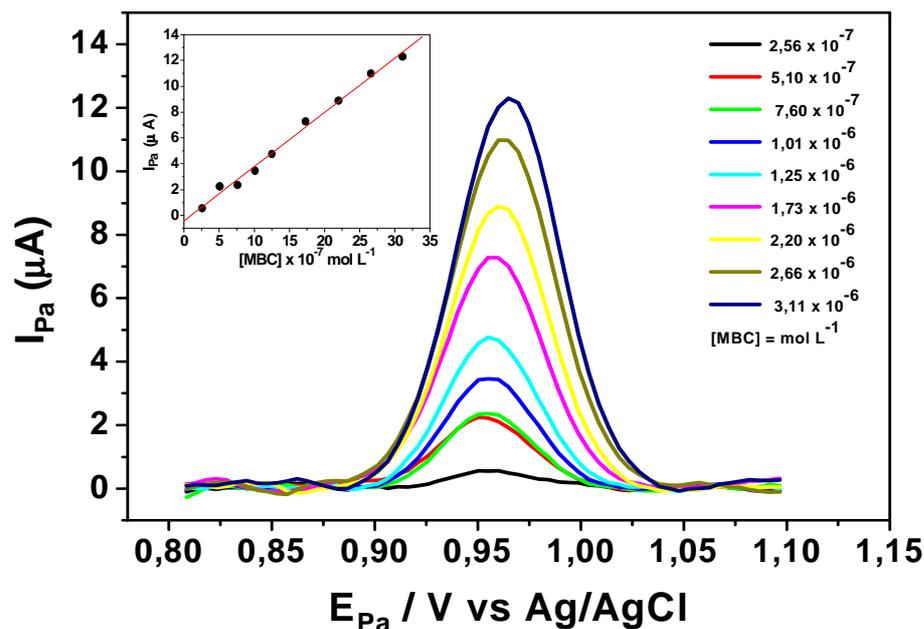


Figura 3.12 – Curva analítica em tampão ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7). Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM.

3.8. Figuras de Mérito

Sabe-se que as figuras de mérito constituem os parâmetros requeridos para validação da metodologia analítica proposta. Nesse intuito, avaliou-se o sistema quanto a sua sensibilidade, em termos de LD e LQ, precisão (repetibilidade e reprodutibilidade) e exatidão por meio do teste de recuperação aparente em eletrólito puro e em amostra de água de rio.

Do ponto de vista prático a sensibilidade constitui a inclinação da curva analítica (b), cujo valor encontrado é da ordem de $4,20 \times 10^6 (\pm$



$0,13 \times 10^6) \frac{\mu A}{mol L^{-1}}$, a qual foi usada para estimarmos os limites de detecção e quantificação do método.

O LD foi calculado com base na [Equação \(2.1\)](#) apresentada na seção 2.5. Foram registrados 20 brancos a fim de estimar o desvio-padrão da média aritmética ($S_b = 0,0786 \mu A$), os quais são de extrema importância para avaliar a resposta da metodologia. Sendo assim, o LD obtido foi de $5,59 \times 10^{-8} mol L^{-1}$ (10,7 ppb).

O LQ, $1,87 \times 10^{-7} mol L^{-1}$ (35,8 ppb), foi calculado mediante [Equação \(2.2\)](#) apresentada na seção 2.5. Observa-se que o LQ encontra-se abaixo do primeiro ponto que foi determinado na curva analítica.

Cabe aqui apresentar, para efeito de comparação, as figuras de mérito estabelecidas para um estudo realizado com MBC sobre ECV. Experimentos realizados para otimização do pH e dos parâmetros da VOQ, permitiram estabelecer as seguintes condições de análise: $pH=1,0$ (ácido sulfúrico $0,1 mol L^{-1}$ (50% v/v água:etanol); $f= 350 s^{-1}$; $\Delta E_p= 35 mV$ e $\Delta E_s= 4 mV$. A curva analítica apresentou uma faixa de concentração de $4,30 \times 10^{-6} mol L^{-1}$ a $4,26 \times 10^{-5} mol L^{-1}$ com equação da reta $I_{pa}/\mu A = 0,6263 (\pm 0,0871) + 1,34 \times 10^5 (\pm 0,33 \times 10^4) [MBC] / mol L^{-1}$ e $R= 0,9976$ para $N= 10$. Os limites de detecção e quantificação, calculados com base no desvio padrão da média de 15 brancos ([Equações \(2.1\) e \(2.2\)](#)), foram $150,03 \mu g L^{-1}$ e $500,1 \mu g L^{-1}$, respectivamente.

As figuras de mérito aqui apresentadas estão resumidas na [Tabela 3.1](#) em comparação com os resultados encontrados para eletrodo não modificado, onde pode ser comprovado que este é bem menos sensível, demonstrando a viabilidade de ECV-MNTCPM para estudos analíticos com a metodologia proposta.

**Tabela 3.1** – Figuras de mérito para ECV e ECV-MNTCPM.

Eletrodo	Faixa dinâmica ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A/mol L}^{-1}$)	R	LD (ppb)	LQ (ppb)
ECV	4,30-42,6	$1,34 \times 10^5 (\pm 0,33 \times 10^4)$	0,9976	150,03	500,1
ECV-MNTCPM	0,256 - 3,11	$4,20 \times 10^6 (\pm 0,13 \times 10^6)$	0,9966	10,7	35,8

3.8.1. Repetibilidade e Reprodutibilidade

A repetibilidade foi estimada considerando-se 10 medições sucessivas realizadas em uma mesma solução contendo $1,25 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (0,24 ppm) de MBC, nas mesmas condições da curva analítica^[65]. A Tabela 3.2 apresenta os valores das correntes de pico do MBC para a repetibilidade do eletrodo. As correntes de pico de oxidação foram avaliadas e o DPR foi então calculado de acordo com a Equação (2.3) apresentada na seção 2.5.

Tabela 3.2 – Estudo da repetibilidade do ECV-MNTCPM.

Replicata	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I_{pa} (μA)	3,73	3,55	3,42	3,61	3,47	3,29	3,95	3,14	3,14	3,99
Média (μA)	3,53									
Desvio Padrão (μA)	0,3004									
DPR (%)	8,5									

A reprodutibilidade foi estudada considerando-se 5 medições diferentes, em soluções diferentes e em 5 sensores diferentes, realizadas em dias diferentes em solução contendo $1,25 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (0,24 ppm) de MBC, nas condições consideradas otimizadas. A Tabela 3.3 mostra os valores das correntes de pico do MBC para a reprodutibilidade do eletrodo proposto. O desvio padrão relativo foi então calculado de acordo com a Equação (2.3) apresentada na seção 2.5.

**Tabela 3.3** – Estudo da reprodutibilidade do ECV-MNTCPM.

Replicata	1	2	3	4	5
I_{pa} (μA)	4,76	4,00	3,90	4,54	4,30
Média (μA)	4,29				
Desvio Padrão (μA)	0,353				
DPR (%)	8,23				

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 3.2 e 3.3, foi observado que o sensor proposto apresenta uma boa repetibilidade e reprodutibilidade para determinação analítica de MBC, uma vez que os desvios padrões relativos encontrados para as mesmas foram inferiores a 20%, limite considerado para análise de resíduos de pesticidas^[68].

Estudos de recuperação aparente em eletrólito puro foram executados a fim de avaliarmos a exatidão da metodologia para posteriores aplicações em amostra real. O método de adição de padrão nos possibilitou construir uma curva analítica para MBC numa faixa de $4,22 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a $1,64 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, a fim de estimar o nível de recuperação aparente para uma concentração adicionada de $4,22 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. A Figura 3.13 apresenta os voltamogramas e a faixa linear para as adições de padrão realizadas. O nível de recuperação aparente foi estimado em 120% com base na Equação (2.4) listada na seção 2.5.

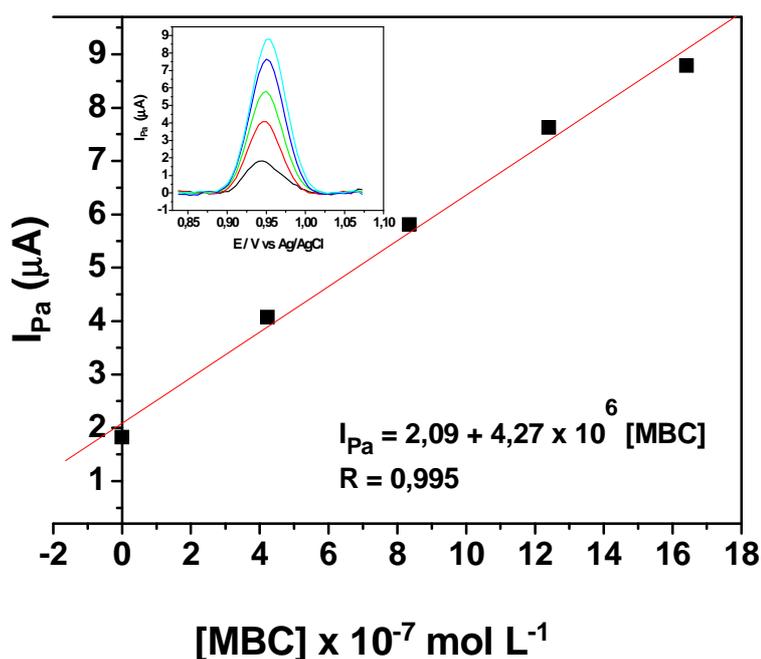


Figura 3.13 – Curva analítica para adição de padrão MBC em eletrólito puro. Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM.

3.8.2. Aplicação do Sensor em Amostras Ambientais

O método de adição padrão (sem partição da amostra) foi utilizado devido à possibilidade de minimizar o efeito da matriz nas análises das amostras de água do rio. As curvas analíticas para a determinação de MBC foram construídas na faixa linear de $4,22 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,64 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, tal que o intervalo de concentrações nos experimentos de recuperação obedece àqueles da curva analítica. Para tanto, foram analisadas duas amostras de águas de rio (A_1 e A_2) realizando, após a leitura da amostra, quatro adições ($n = 4$) de $50 \mu\text{L}$ de padrão analítico MBC $4,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. As Figuras 3.14 e 3.15 apresentam os voltamogramas de onda quadrada registrados para as condições estabelecidas acima. Como não foi realizado um estudo de interferentes, a quantidade de MBC recuperada não pode ser obtida diretamente da curva analítica, sendo esta determinada a partir da relação entre coeficiente linear e angular da curva obtida para os ensaios de recuperação aparente. O nível de recuperação aparente para as amostras de água do rio foram estimados em 75,3% e



81,3%, respectivamente, com base na Equação (2.4) listada na seção 2.5.

Os níveis de recuperação aparente obtidos para estudos com eletrólito puro e com amostra de água de rio, estão de acordo com os limites sugeridos pelo manual da Association of Official Analytical Chemists (AOAC), o qual sugere uma faixa de 70-120% para ppb e baixos níveis de ppm^[65].

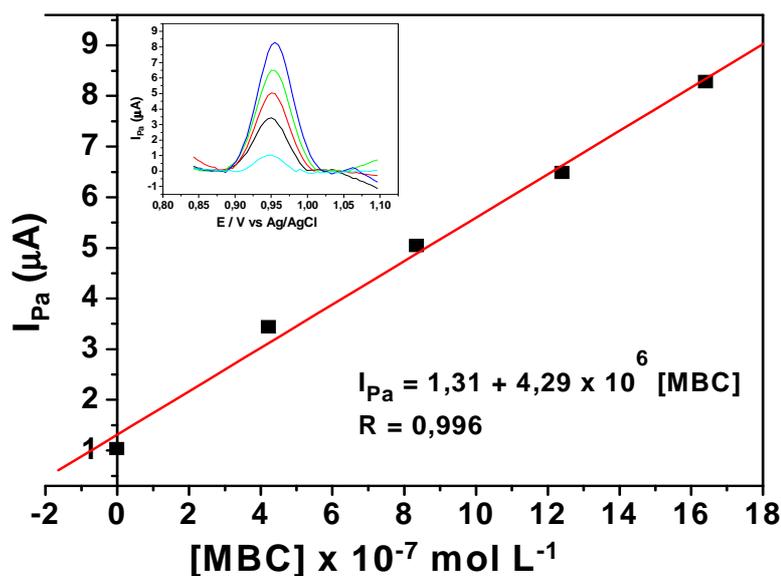


Figura 3.14 – Curva analítica para adição de padrão MBC em água de rio (A₁). Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM.

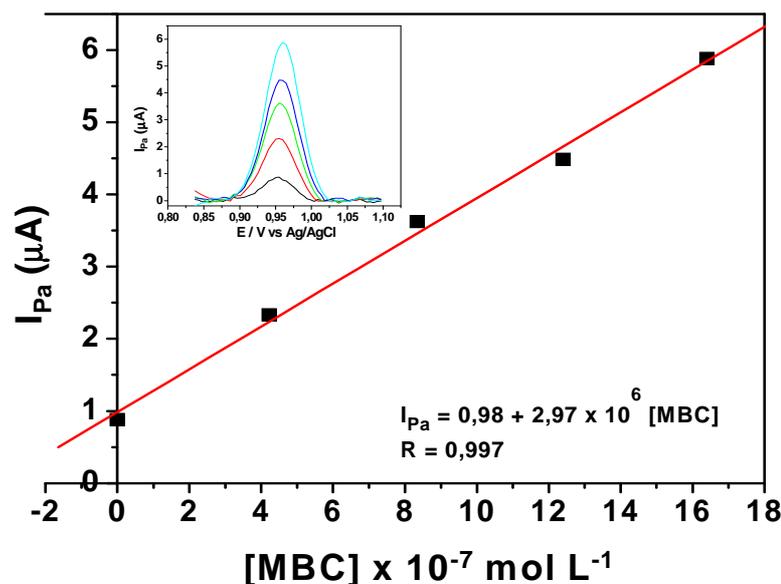
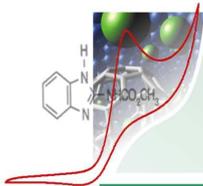


Figura 3.15 – Curva analítica para adição de padrão MBC em água de rio (A₂) – canal de irrigação. Voltamogramas de onda quadrada do MBC em ECV-MNTCPM.



O nível de recuperação aparente obtido para as amostras ambientais foram menores quando comparadas com a recuperação em eletrólito puro, sem dúvidas estes resultados devem está diretamente relacionado à complexidade da matriz em estudo.



CONCLUSÕES

CAPÍTULO 4



4. CONCLUSÕES

Os resultados evidenciaram a viabilidade do emprego do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono para determinação de MBC em níveis de traços, utilizando a voltametria de onda quadrada com pré-concentração. Tal efeito se deu em virtude da capacidade de pré-concentrar MBC sobre NTC e da excelente resposta voltamétrica do material pré-concentrado, sem evidências de efeito de memória, aliada a fácil elaboração do eletrodo.

A partir da otimização dos parâmetros experimentais, a curva analítica foi obtida num intervalo de concentração entre 0,256 – 3,11 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de 10,7 ppb, o que comprova a excelente sensibilidade do ECV-MNTCPM em comparação ao ECV que apresenta um LD da ordem de 150,03 ppb.

A precisão das medidas foi avaliada pelos testes de repetibilidade e reprodutibilidade, os quais apresentaram um DPR da ordem de 8,5 e 8,23%, respectivamente, abaixo do limite máximo de 20% para análise de resíduos de pesticida.

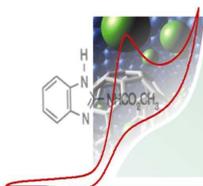
Os fatores de recuperação aparente, para uma concentração $4,22 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC, obtidos em eletrólito puro (120%) e nas amostras ambientais, A_1 (75,3%) e A_2 (81,3%), foram satisfatórios para metodologia proposta, uma vez que os níveis de recuperação encontraram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação.

4.1 Perspectivas Futuras

- Estudo eletroquímico minucioso do processo quase-reversível para o MBC em ECV-MNTCPM;
- Aplicação da metodologia proposta em amostras alimentícias, a exemplo do abacaxi, uma vez que seu cultivo faz parte da

economia do Estado da Paraíba, sendo uma preocupação constante dos produtores no período pré e pós-colheita no que diz respeito ao uso de MBC para controle de fusariose e podridão-negra;

- ✦ Desenvolvimento de um analisador automático flow-batch para determinação de MBC.



REFERÊNCIAS

CAPÍTULO 5

5. REFERÊNCIAS

1. COUTINHO, C. F. B. *et al.*, Carbendazim e o meio ambiente: Degradação e toxidez, *Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente*, **16: 63, 2006.**
2. MANISANKAR, P.; VEDHI, C.; SELVANATHAN, G., Utilization of sodium montmorillonite clay-modified electrode for the determination of isoproturon and carbendazim in soil and water samples, *Applied clay science*, **29: 249, 2005.**
3. LARA, W. K.; BATISTA, G. C. de, Electrochemical studies of carbendazim, *Química Nova*, **15: 161, 1992.**
4. HOLLAND, P. T., Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos, *Pure Appl. Chem.*, **62: 1167, 1996.**
5. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Disponível em: <www.anvisa.gov.br> Acessado em Março de 2007.
6. BAPTISTA, G. C.; BAHIA-FILHO, O.; TREVIZAN, L.R.P. **Análise de resíduos de defensivos agrícolas em matrizes agrônômicas por métodos cromatográficos.** Curso de Extensão Universitária, FEALQ, Piracicaba, 2001. 44p.
7. HENAO, S.; COREY, G. **Plaguicidas Organofosforados y Carbamicos.** Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud – Organización Panamericana de la Salud, São Paulo, 1986. V.7.
8. SOUZA, D. de. *Utilização de ultramicroeletrodos na quantificação dos pesticidas diclorvos e paraquat em diferentes matrizes por voltametria de onda quadrada.* São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCAR, 2004. Tese de Doutorado, 168p.
9. RICHARDSON, M., Pesticides – friend or foe?, *Water Science Technology*, **37: 19, 1998.**
10. SILVA, S. C. Brasil é o quarto maior consumidor de agrotóxicos. *O Estado de São Paulo*, SP, 1999. Geral Ambiente, pA16.

11. MICHEREFF, S. J. Controle Químico de doenças de plantas. Fitopatologia I, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE.
12. FIORUCCI, A. R. *et al.*, Oxidação eletroquímica do carbendazim sobre eletrodo de pasta de carbono. *58ª Reunião Anual da SBPC*. Florianópolis – SC, 2006.
13. HERNANDEZ, P. *et al.*, Determination of carbendazim with a graphite electrode modified with silicone OV-17, *Electroanalysis*, **8: 941, 1996**.
14. BOUDINA, A. *et al.*, Photochemical behaviour of carbendazim in aqueous solution, *Chemosphere*, **50: 649, 2003**.
15. Relatório do agrotóxico. Disponível em: <www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_dados_agrotoxico.asp> Acessado em Junho de 2007 e Março de 2008.
16. HUEBRA, M. J. G. de la; *et al.*, Determination of carbendazim in soil samples by anodic stripping voltammetry using a carbon fiber ultramicroelectrode, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **367: 474, 2000**.
17. NI, N.; SANGHVI, T.; YALKOWSKY, S. H., Solubilization and preformulation of carbendazim, *International Journal of Pharmaceutics*, **244: 99, 2002**.
18. GALLI, A. *et al.*, Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos, *Química Nova*, **29: 105, 2006**.
19. ELBERT, H.; PIET, U.Z., Recent and future developments of liquid chromatography in pesticide trace analysis, *Journal of Chromatography A*, **892: 435, 2000**.
20. AMIRAV, A.; JING, H., Simultaneous pulsed flame photometric and mass spectrometric detection for enhanced pesticide analysis capabilities, *Journal of Chromatography A*, **814: 133, 1998**.
21. AKBAL, F. O.; AKDEMIR, N.; ONAR, A. N., FT-IR spectroscopic detection of pesticide after sorption onto modified pumice, *Talanta*, **53: 131, 2000**.
22. JAYARAMAREDDY, S. *et al.*, The application of abrasive stripping voltammetry for a simple and rapid screening of pesticides, *Electroanalysis*, **8: 955, 1996**.



23. VAN DER HOFF, R. G.; VAN ZOONEN, P., Trace analysis of pesticides by gas chromatography, *Journal of Chromatography A*, **843: 301, 1999.**
24. MALLAT, E. *et al.*, Immunosensors for pesticide determination in natural Waters, *Trends in Analytical Chemistry*, **20: 124, 2001.**
25. BARCELO, D., HENNION, M.C., Trace Determination of Pesticides and their Degradation Products in Water. *Elsevier, Netherlands, BV: 10, 1997.*
26. FUNG, Y.S.; MAK, J. L. L., Application of carbon fibre microelectrode for studying the impact of pesticides on a frog's egg, *Electrochimica Acta*, **44: 3855, 1999.**
27. GENNARO, M.C. *et al.*, New strategies for the determination of phenylurea pesticides by gas chromatography with hot splitless inlet systems, *Journal of Chromatography A*, **910: 79, 2001.**
28. PICÓ, Y.; RODRÍGUEZ, R.; MAÑES, J., Capillary electrophoresis for the determination of pesticide residues, *Trends in Analytical Chemistry*, **22: 133, 2003.**
29. MANISANKAR, P.; VEDHI, C.; SELVANATHAN, G., Determination of pesticides using heteropolyacid montmorillonite clay-modified electrode with surfactant, *Talanta*, **68: 686, 2006.**
30. NOLLET, L. M. L., Residues and other food component analysis. Handbook of food analysis v.2, 1461p.
31. VENEZIANO, A. *et al.*, Determination of carbendazim, thiabendazole and thiophanate-methyl in banana (*Musa acuminata*) samples imported to Italy, *Food Chemistry*, **87: 383, 2004.**
32. MAZELLIER, P.; LEROY, E.; LEGUBE, B., Photochemical behavior of the fungicide carbendazim in dilute aqueous solution, *Journal of photochemistry and photobiology A: Chemistry*, **153: 221, 2002.**
33. MAKIATA, N.; KAWAMOTO, T.; TERANISHI, K., Simultaneous analysis of carbamate pesticides in tap and raw water by LC/ESI/MS, *Analytical sciences*, **19: 543, 2003.**



- 34.** SOUZA, D. de; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A., Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos, *Química Nova*, **26: 81, 2003.**
- 35.** ALVAREZ, J. L. M.; CÁLZON, J. A. G.; FONSECA, J. M. L., Catalytic polarographic prewave of cobalt (II) induced by carbendazim Application to the voltammetric determination of benomyl, *Electroanalysis*, **9: 500, 1997.**
- 36.** PIAO, Y. Z.; WANG, G. F., The electrochemical behavior and the determination of bavistin on glassy carbon electrode, *Chinese chemical letters*, **9: 747, 1998.**
- 37.** PIAO, Y. Z.; WANG, G. F., Voltammetric behavior of carbendazol on some types of working electrode, *Yanbian Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, **25: 252, 1999.**
- 38.** MANISANKAR, P. et al., Electrochemical determination of some organic pollutants using wall-jet electrode, *Electroanalysis*, **14: 1722, 2002.**
- 39.** MANISANKAR, P.; VEDHI, C.; SELVANATHAN, G., Electrochemical studies of carbendazim, *Bulletin of Electrochemistry*, **20: 81, 2004.**
- 40.** VERMA, B. C.; CHAUHAN, C.; SHARMA, D. K., Pulse polarographi determination of benomyl and carbendazim in commercial formulations, *Natl acad csi lett*, **29: 55, 2006.**
- 41.** MANISANKAR, P.; VEDHI, C.; SELVANATHAN, G., Utilisation of polypyrrole modified electrode for the determination of pesticides, *Analytical Chemistry*, **85: 409, 2005.**
- 42.** MANISANKAR, P.; VEDHI, C.; SELVANATHAN, G., Utilization of sodium montmorillonite clay-modified electrode for the determination of isoproturon and carbendazim in soil and water samples, *Applied Clay Science*, **29: 249, 2005.**
- 43.** MANISANKAR, P.; VEDHI, C.; SELVANATHAN, G., Determination of pesticides using heteropolyacid montmorillonite clay-modified electrode with surfactant, *Talanta*, **68: 686, 2006.**
- 44.** FIORUCCI, A. R. et al., Determinação voltamétrica do carbendazim em eletrodo de pasta de carbono utilizando voltametria

- de pulso diferencial. *XLVI Congresso brasileiro de Química- ABQ*. Salvador – BA, 2006.
- 45.** FIORUCCI, A. R. *et al.*, Estudo eletroquímico do fungicida carbendazim, utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com bentonita. *XLVI Congresso brasileiro de Química- ABQ*. Salvador – BA, 2006.
- 46.** SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN T. A. **Princípios de análise Instrumental**. 5ª Ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- 47.** BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods Fundamentals and Applications**. 2ª ed. New York: John Wiley & Sons, INC, 2001.
- 48.** BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. **Eletroquímica princípios, métodos, e aplicações**. Livraria Almedina- Coimbra, 1996.
- 49.** SOUZA, D. de; *et al.*, Voltametria de onda quadrada. segunda parte: Aplicações, *Química Nova*, **27: 790, 2004**.
- 50.** NASCIMENTO, V. B.; Angnes, L. Eletrodos fabricados por "silk-screen", *Química Nova*, **21: 614, 1998**.
- 51.** PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T., Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas, *Quim. Nova*, **25: 1012, 2002**.
- 52.** IJIMA, S., Helical Microtubules of graphitic carbon, *Nature*, **354: 56, 1991**.
- 53.** MERKOÇI, A. *et al.*, New materials for electrochemical sensing VI: carbon nanotubes, *Trends in Anal. Chem*, **24: 826, 2005**.
- 54.** AJAYAN, P.M., Nanotubes from Carbo, *Chem. Rev.*, **99: 1787, 1999**.
- 55.** FILHO, A. G. de S.; FAGAN, S. B., Funcionalização de nanotubos de carbono, *Quim. Nova*, **30: 1695, 2007**.
- 56.** FERREIRA, O. P., Nanotubos de carbono: preparação e caracterização. Laboratório de química do estado sólido -UNICAMP. Monografia, 38p.



57. ULLOA, P. J. *et al.*, Voltammetric Reduction of a 4-Nitroimidazole Derivative on a Multiwalled Carbon Nanotubes Modified Glassy Carbon Electrode, *Electroanalysis*, **20: 1470, 2008.**
58. LUZ, R. C. S. *et al.*, Eletrocatalysis of reduced l-glutathione oxidation by iron (III) tetra-(N-methyl-4-pyridyl) - porphyrin (FeT₄MP_yP) adsorbed on multi-walled carbon nanotubes, *Talanta*, **76: 1097, 2008.**
59. ORIVE, P. Y-S. (Bio)sensores electroquímicos basados en electrodos de superficie estructurada con nanotubos de carbono, *Boletín de la sociedad Española de Química Analítica*, **13: 10, 2006.**
60. Google imagens. "nanotubos de carbono multi-wall". Acessado em Outubro de 2008.
61. SISWANA, M. P.; OZOEMENA, K. I.; KYOKONG, T., Electrocatalysis of asulam on cobalt phthalocyanine modified multi-walled carbon nanotubes immobilized on a basal plane pyrolytic graphite electrode, *Electrochimica Acta*, **52: 114, 2006.**
62. HUANG, M. *et al.*, Electrochemical analysis of trifluralin using a nanostructuring electrode with multi-walled carbon nanotubes, *Environmental Pollution*, 156: 1015, 2008.
63. MANISANKAR, P. *et al.*, Electroanalysis of some common pesticides using conducting polymer/multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode, *Talanta*, **76: 1022, 2008.**
64. WANG, M. *et al.*, Application of multiwalled carbon nanotubes for solid-phase extraction of organophosphate pesticide, *Electrochemistry Communications*, **10: 85, 2008.**
65. BRITO, N. M. *et al.*, Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão, *Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente*, **13: 129, 2003.**
66. BURNS, D. T.; DANZER, K.; TOWNSHED, A., Recommendations for the use of the term "recovery" in analytical procedures, *IUPAC*, **2001.**
67. MOCÁK, J. *et al.*, A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and

quantification: application to voltammetric and stripping techniques.
Pure and Applied Chemistry, **69: 297, 1997**.

- 68.** THIER, H. P.; ZEUMER, H. **Manual of pesticide analysis**.
New York: Verlag Chemie, 1987, p.37-41.