



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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ELETRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO COM FTALOCIANINA DE
COBALTO PARA DETERMINAÇÃO DE CARBENZIM EM LARANJAS**

Flaviana Justino Rolim Severo

**João Pessoa
Janeiro, 2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBACENTRO DE
CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZADEPARTAMENTO
DE QUÍMICA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ELETRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO COM
FTALOCIANINA DE COBALTO PARA DETERMINAÇÃO DE CARBENZIM EM
LARANJAS**

Flaviana Justino Rolim Severo

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade
Federal da Paraíba como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre em
Química.**

Orientador: Prof.^a Dr.^a Kátia Messias Bichinho

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

***Bolsista: CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**

**João Pessoa
Janeiro, 2018**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S498e Severo, Flaviana Justino Rolim.

Elétrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto para determinação de carbendazim em laranjas / Flaviana Justino Rolim Severo. - João Pessoa, 2018.

76 f. : il.

Orientação: Kátia Messias Bichinho.

Coorientação: Mário César Ugulino de Araújo.

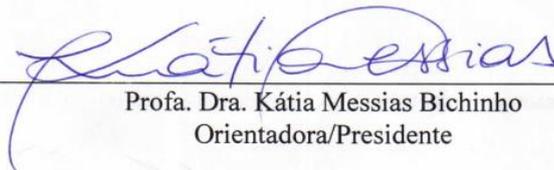
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Química. 2. Elétrodo - Pasta de carbono. 3. Carbendazim - Laranjas. I. Bichinho, Kátia Messias. II. Araújo, Mário César Ugulino de. III. Título.

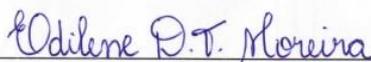
UFPB/BC

Eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto para determinação de carbendazim em laranjas.

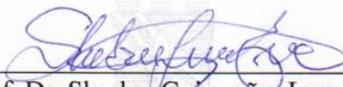
Dissertação de Mestrado apresentada pela aluna Flaviana Justino Rolim Severo e aprovada pela banca examinadora em 29 de janeiro de 2018.



Profa. Dra. Kátia Messias Bichinho
Orientadora/Presidente



Profa. Dra. Edilene Dantas Teles Moreira
Examinadora



Prof. Dr. Sherlan Guimarães Lemos
Examinador

AGRADECIMENTOS

Deus a te agradeço todas as bênçãos a mim concedidas, as oportunidades e os amigos que aqui conquistei.

Agradeço aos meus queridos pais Antônio Guedes Rolim e Marleide Justino Rolim por todos os ensinamentos.

Aos meus irmãos, Francisco, Francieudo, Flávia e Márcia pelo apoio, independente da escolha que cada um fez para sua vida, permanecemos unidos num amor fraternal.

Ao meu marido Pedro Jaime, por todo apoio, sua paciência e carinho com que sempre me tratou. E ao nosso filho Mathias, fruto de muito amor, motivação para continuar.

À minha sogra dona Iracema pelo apoio e a toda minha família que acreditou que esse sonho pudesse ser possível.

À minha orientadora professora Kátia Messias Bichinho que tem me acompanhado desde iniciação científica, obrigada por toda amizade, apoio e oportunidades a mim concedidas.

Ao professor Mário César Ugulino por todo apoio concedido a mim no laboratório LAQA.

Aos professores, Edvan Cirino da Silva e Ricardo Alexandre de Lima Cavalcanti, pelas valiosas contribuições na etapa de pré - banca.

À amiga Anabel pelas valiosas contribuições em todas as etapas de desenvolvimento deste trabalho.

À Edilene por todo apoio, carinho e amizade que sempre me prestou.

À Socorro pelo apoio, amizade, caronas, conversas e boas risadas. A Samantha, Ana Rosa, pelo apoio.

À LicarionNeto, Adenilton, Welma, David, Emanuella, Amanda, Aline, Andréia, Jéssica, Flaviano, Matheus, Lucas, Danielle, Kelly e aos demais amigos e colegas do LAQA obrigado pelo apoio e carinho.

Aos amigos do LEQA Carol e Caio pelo apoio na discussão deste trabalho.

Ao Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA), pelo apoio financeiro.

DEDICATÓRIA

Ao meu marido Pedro Jaime, por todo apoio,
carinho e paciência. E ao meu filho Mathias.
Obrigada por existirem em minha vida.

Com carinho,

DEDICO

RESUMO

SEVERO, F. J. R. Eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto para determinação de carbendazim em laranjas. Dissertação de Mestrado em Química – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil, 2018.

Os pesticidas são amplamente empregados para o controle de pragas agrícolas, garantindo a produtividade do setor, em nível mundial. Nesse contexto, carbendazim (MBC) *methyl benzimidazol-2-ylcarbamate* fungicida sistêmico, classe toxicológica III, está entre os mais utilizados para o cultivo de citros, e tem aplicação foliar regulamentada no Brasil pela ANVISA, que estabelece como ingestão diária aceitável (IDA) o valor máximo de 0,02 mg kg⁻¹ de MBC em relação ao peso corporal. A determinação de MBC pode ser feita diretamente na célula eletroquímica, com mínimas etapas de tratamento da amostra. Desse modo, neste trabalho, foi confeccionado um eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto para determinação de carbendazim em laranjas. A preparação do eletrodo envolveu a mistura de pó de grafite, óleo mineral e de ftalocianina de cobalto em diferentes percentagens. As amostras de laranjas foram coletadas em supermercados locais da cidade de João Pessoa - PB. As técnicas voltamétricas utilizadas foram voltametria cíclica (VC) e de onda quadrada (VOQ). Os estudos foram realizados em potenciostato/galvanostato modelo PGSTART® 302N Metrohm, eletrólito suporte tampão Briton Robson (BR) pH 4,5 e eletrodos de Ag/AgCl e fio de platina como de referência e auxiliar respectivamente. Para a curva analítica, a faixa de linearidade obtida foi de 95,11 a 667,9 µg L⁻¹, R² = 0,9987, com limites de detecção de 12,0 µg L⁻¹ e 40,1 µg L⁻¹ para limite de quantificação, respectivamente. Os estudos de exatidão apresentaram valores de recuperação 102 % e 93,8 % e 98,2 % de MBC, considerados na faixa de limite permitida (70 a 120 %). Este trabalho é pioneiro nos estudos de oxidação eletroquímica do MBC sobre EPC-CoPC. O eletrodo é de simples confecção, fácil renovação da superfície baixo custo. O estudo da percentagem de EPC-CoPC como agente modificador em pasta de carbono indicou que a melhor percentagem foi 1% CoPC. O uso do EPC-CoPC para determinação de MBC em laranjas demonstrou aplicabilidade para as amostras estudadas, com a vantagem da utilização de instrumentação simplificada e de baixo custo tanto para aquisição quanto para manutenção, rápida resposta analítica, elevada sensibilidade, promissor para aplicação em outras matrizes de alimentos.

Palavras – chave: carbendazim, eletrodo modificado, ftalocianina de cobalto, amostras de laranjas.

ABSTRACT

SEVERO, F. J. R. Cobalt phthalocyanine modified carbon paste electrode for the determination of carbendazim in oranges. Master's Dissertation in Chemistry – Post-graduation Program in Chemistry, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil, 2018.

Pesticides are widely used to control agricultural pests, ensuring productivity in the industry worldwide. In this context, carbendazim (MBC) methyl benzimidazol-2-yl carbamate, a systemic fungicide, toxicological class III, is among the most used for citrus cultivation, and has foliar application regulated in Brazil by ANVISA, which establishes as acceptable daily intake (IDA) the maximum value of 0.02 mg kg⁻¹ MBC in relation to body weight. The determination of MBC can be done directly in the electrochemical cell, with minimal steps of treatment of the sample. Thus, in this work, a carbon paste electrode modified with cobalt phthalocyanine was made for determination of carbendazim in oranges. The preparation of the electrode involved the mixing of graphite powder, mineral oil and cobalt phthalocyanine in different percentages. The samples of oranges were collected at local supermarkets in the city of João Pessoa - PB. The voltammetric techniques used were cyclic (VC) and square wave (VOQ) voltammetry. The studies were performed in potentiostat / galvanostat model PGSTART® 302N Metrohm, electrolyte support buffer Briton Robson (BR) pH 4.5 and Ag / AgCl electrodes and platinum wire as reference and auxiliary respectively. For the analytical curve, the linearity range obtained was 95.11 to 667.9 µg L⁻¹, R² = 0.9987, with detection limits of 12.0 µg L⁻¹ and 40.1 µg L⁻¹ for limit of quantification, respectively. The accuracy studies showed recovery values of 102% and 93.8% and 98.2% of MBC, considered in the allowed range (70 to 120%). This work is pioneer in the electrochemical oxidation studies of MBC on EPC-CoPC. The electrode is simple to make, easy renovation of the surface low cost. The study of the percentage of EPC-CoPC as the carbon paste modifying agent indicated that the best percentage was 1% CoPC. The use of EPC-CoPC for the determination of MBC in oranges demonstrated applicability for the studied samples, with the advantage of using simplified and low-cost instrumentation for both acquisition and maintenance, rapid analytical response, high sensitivity, promising for application in other food matrices.

Key words: carbendazim, modified electrode, cobalt phthalocyanine, samples of oranges.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Estrutura química do MBC.....	23
Figura 2.2 – Número de amostras de alimentos que apresentaram resíduos não autorizados para as culturas e número de amostras contendo teores residuais de pesticida acima do limite máximo de resíduo (LMR), conforme regulamentações da ANVISA. Fonte: adaptado de ANIVSA, 2016.	26
Figura 2.3 – (1) Aplicação do potencial para voltametria cíclica na forma de onda triangular; voltamogramas cíclicos de um sistema reversível (II), quase reversível (III) e irreversível (IV). Adaptado de BRETT e BRETT, 1996; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002.....	29
Figura 2.4 – a Sinal de excitação para VOQ, ΔE_s (amplitude do pulso de potencial), potencial de altura constante (ΔE_p) e duração τ (período). b (I) Voltamogramas de onda quadrada para um sistema reversível; (II) Voltamogramas de onda quadrada para um sistema irreversível. Adaptado (de BRETT e BRETT, 1996; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002).....	31
Figura 2.5 – a Etapas envolvidas na redissolução (a) anódico e (b) catódico, sendo I: etapa de deposição de potencial; II: tempo de equilíbrio III: etapa de determinação. Adaptado de RIBEIRO, 2012.	33
Figura 2.6 – Estrutura das ftalocianinas: a) ftalocianina protonada; b) metaloftalocianina onde M representa o íon metálico; c) ftalocianina de cobalto (II). Adaptado de BONI, 2011.....	35
Figura 3.1 – Imagem do potenciostato/galvanostato modelo PGSTART® 302N Metrohm. ...	40
Figura 3.2 – Esquema da confecção do eletrodo de EPC e EPC- NCPMF. Adaptado de LÚCIO, 2015.	42
Figura 3.3 – Esquema da confecção do eletrodo de EPC - CoPC. Adaptado de LÚCIO, 2015.	43
Figura 4.1 – Relação entre I_p vs a % da influência EPC-CoPC na resposta voltamétrica MBC 10^{-4} mol L ⁻¹ , tampão BR pH 4,5 para diferentes percentagens de EPC-CoPC: 1, 3, 5, 7 e 9 %. Em tampão BR pH 4,5; janela de potencial de 0,6 a 1,2 V.....	50
Figura 4.2 – Voltamogramas de onda quadrada com linha de base corrigida de MBC 10^{-4} mol L ⁻¹ , registrados em diferentes eletrodos: : EPC (—); EPC-NCPMF (—); EPC - CoPC 1% (—) em tampão Brinton Robson (pH 4,5); janela de potencial de 0,6 a 1,2 V.....	51
Figura 4.3 – Voltamogramas cíclicos de uma solução MBC 1×10^{-2} mol L ⁻¹ sobre EPC-CoPC 1%, tampão BR (pH 4,5); velocidades de varredura: a) a) (—) 30 mV s ⁻¹ ; b) (—) 50 mV s ⁻¹	52
Figura 4.4 – a) Voltamogramas cíclicos de uma solução MBC 1×10^{-2} mol L ⁻¹ sobre o 1% CoPC; em diferentes velocidades de varredura: (—) 10, (—)30; (—) 50; (—)70; (—) 100; (—) 130; e (—) 150 mV; 4.3.1 – b) Relação da I_p vs. $v^{1/2}$ (s ⁻¹) ^{1/2}	53
Figura 4.5 – a) Voltamogramas de onda quadrada com linha de base corrigida. Estudo de pH tampão BR:(—) pH 3,4 (—) pH 4,5 (—) pH 6,0 (—) pH 7,0 (—) pH 8,0 (—) pH 10,0 (—); MBC 1×10^{-4} mol L ⁻¹ sobre o 1% CoPC; b) relação I_p vs pH; $f = 25$ s ⁻¹ , $\Delta E_s = 1$ mV, $a = 30$ mV.....	54
Figura 4.6 – Respostas voltamétricas para uma solução de MBC 1×10^{-4} mol L ⁻¹ em pH 4,5 BR. Voltamogramas VOQ mostrando as componentes das correntes registradas: (—) resultante,(—) resultante, (—) direta e (—) reversa. $f = 25$ s ⁻¹ , $\Delta E_s = 1$ mV, $a = 30$ mV.	55

Figura 4.7 – a) Estudo do incremento de potencial voltamogramas de onda quadrada com linha de base ΔE_s (—); 2 (—); 3 (—); 4 (—); 5 (—); 6 (—); 7(—). Figura 4.7 – b) Relação entre I_p vs E_s/Mv com incremento de potencial variando de 1 a 7 para uma solução $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC em tampão BR (pH 4,5) sobre EPC-CoPC.	56
Figura 4.8 – a): Voltamogramas de VOQ de estudo da frequência: 10 (—); 20 (—); 30 (—); 40 (—); 50 (—); 60 (—); 70 (—) com linha de base corrigida de uma solução $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC em tampão Briton Robson (pH 4,5) sobre EPC-CoPC. b): Relação I vs $f \text{ s}^{-1}$	57
Figura 4.9 – a): Voltamogramas de onda quadrada para estudo da amplitude de pulso: 10 (—); 20 (—); 30 (—); 50 (—); 70 (—); 100 mV (—) com linha de base corrigida de uma solução $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC em tampão Briton Robson (pH 4,5) sobre EPC-CoPC. b): Relação I vs. ΔE_p	57
Figura 4.10 – a) 10 varreduras sucessivas por VOQ em circuito aberto para limpeza do eletrodo EPC-CoPC, tampão BR pH 4,5, sobre 1% EPC-CoPC; $f = 20 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$. b) medida do branco após 10 varreduras em eletrólito suporte (—) e após <i>stripping</i> anódico (—).....	59
Figura 4.11 – Estudo do tempo de <i>stripping</i> aplicando potencial +0,92 V para os seguintes tempos de deposição: (—) 15 s; (—) 45 s; (—) 60s, tampão BR pH 4,5 MBC $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o 1% CoPC; $f = 20 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$	59
Figura 4.12 – Estudo do efeito de memória sobre 1% CoPC em soluções de CAR $1,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ tampão BR pH 4.5.....	60
Figura 4.13 – Estudo de possíveis interferentes na determinação MBC em suco de laranja. Voltamogramas de VOQ com linha de base corrigida: MBC (—); ácido cítrico (—); ácido ascórbico (—) de uma solução $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ MBC sobre o 1% CoPC; $f = 20 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$	61
Figura 4.14 – Curva analítica e voltamogramas de onda quadrada para adições crescentes de MBC, tampão BR (pH 4,5) sobre 1% CoPC; $f = 20 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$	62
Figura 4.15 – Curvas de adições crescentes de MBC em amostras de laranjas, tampão BR (pH 4,5) sobre 1% CoPC; $f = 20 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$ por VOQ.	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Alguns alimentos monitorados pelo PARA	25
Tabela 2.2 – Testes diagnósticos por VC para sistemas reversíveis, irreversíveis e quase reversíveis. Adaptado de BRETT e BRETT, 1996; BARD <i>et al.</i> , 2001)	30
Tabela 2.3 – Possíveis processos de oxirredução no anel e no átomo central da ftalocianina de cobalto.....	36
Tabela 3.1 – Percentagem do agente modificador para confecção do eletrodo de trabalho. ...	41
Tabela 3.2 – Composição dos eletrodos de trabalho estudados.	42
Tabela 3.3 – Parâmetros eletroquímicos estudados por VOQ para determinação de MBC. ...	44
Tabela 3.4 – Análise de variância para o modelo univariado. Fonte: BARROS NETO <i>et al.</i> , 2010.....	47
Tabela 4.1 – parâmetros escolhidos por VOQ.....	58
Tabela 4.2 – Comparação entre os resultados publicados na literatura para determinação de pesticidas carbamatos por diferentes técnicas e o presente estudo.....	63
Tabela 4.3 – Equações da reta referentes às adições de padrão em suco de laranja fortificadas com MBC	64
Tabela 4.4 – Resultados da análise de variância para as curvas analíticas dos testes de recuperação obtida com o EPC -CoPC, na faixa linear de $9,9 \times 10^{-7}$ a $2,7 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹	64
Tabela 4.5 – Resultados do estudo de recuperação para MBC em amostras de suco de laranja.	65

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 2.1 – Indicadores de desenvolvimento sustentável (IBGE).....	22
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ANOVA** – Análise de variância
- ANVISA**–Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- b**– Sensibilidade da curva analítica (coeficiente angular da reta).
- CoPC**– Ftalocianina de cobalto
- DDT**– diclorodifeniltricloroetano
- ECV** –Eletrodo de carbono vítreo
- Epa** – Potencial de pico anódico
- Epc**– Potencial de pico catódico
- EPC** – Eletrodo de pasta de carbono
- EPC-NTCPMF**– Eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado
- EQMs**–Eletrodos quimicamente modificados
- EUA** –Estados Unidos da América
- FAO** –Food and Agriculture Organization
- HPLC** – Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, *High performance liquid chromatography*)
- IBGE** –Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- Id** – Corrente de difusão
- IDA**– Índice aceitável de ingestão diária
- Ii** – Intensidade de corrente
- INMETRO** – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
- Ipa** – Corrente de pico anódico
- Ipc** – Corrente de pico catódico
- IUPAC**– União Internacional de Química Pura e Aplicada
- LD**– Limite de detecção
- LMR** – Limite máximo permitido
- LQ**–Limite de quantificação
- NTC** – Nanotubo de carbono
- NTCPM** –Nanotubo de carbono de paredes múltiplas
- PARA**– Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
- POF** Pesquisa de Orçamentos Familiares

S_b– Desvio – padrão da média do sinal dos dez primeiros pontos da curva analítica

UHPLC-MS/MS – Cromatografia líquida de ultra eficiência com detector de espectrometria de massa (do inglês, *Ultrahigh– PerformanceLiquidChromatography Mass Spectrometry*)

VOQ – Voltametria de Onda Quadrada

VC– Voltametria Cíclica

Sumário

CAPÍTULO	
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1 Pesticidas	21
2.1.1 <i>Carbendazim</i>	23
2.2 Métodos analíticos aplicados à determinação de MBC	26
2.3 Técnicas voltamétricas	28
2.4 Voltametria Cíclica - VC.....	28
2.5 Voltametria de Onda Quadrada - VOQ.....	30
2.6 Voltametria de Redissolução	32
2.7 Eletrodos quimicamente modificados	33
2.8 Objetivos.....	38
2.8.1 <i>Geral</i>	38
2.8.2 <i>Específicos</i>	38
3 PARTE EXPERIMENTAL.....	40
3.1 Reagentes e soluções.....	40
3.2 Equipamentos e técnica.....	40
3.3 Amostras.....	41
3.4 Percentagem do agente modificador para confecção do eletrodo de trabalho	41
3.5 Escolha do eletrodo de trabalho	41
3.6 Tratamento do eletrodo de trabalho	44
3.7 Estudo efeito de memória.....	45
3.8 Curva analítica para MBC	45
3.9 Parâmetros de desempenho analítico	45
3.10 Tratamento dos dados eletroquímicos.....	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4.1 Influência da percentagem do agente modificador	50
4.2 Resposta eletroquímica de MBC em diferentes eletrodos de trabalho	50
4.3 Voltametria cíclica: comportamento eletroquímico de MBC em EPC-CoPC 1%	52
4.3.1 <i>Estudo de velocidade de varredura</i>	52
4.4.1 <i>Influência do pH</i>	54
4.4.2 <i>Otimização dos parâmetros de VOQ</i>	55

4.5 Tratamento do eletrodo de trabalho	58
4.6 Avaliação do efeito de memória EPC-CoPC.....	60
4.7 Possíveis interferentes na determinação de MBC em suco de laranja	61
4.8 Curva analítica e parâmetros de desempenho analítico	61
4.9 Estudo de precisão e exatidão do método.....	63
5 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Os pesticidas são amplamente empregados para o controle de pragas agrícolas, garantindo a produtividade do setor, em nível mundial. No Brasil, os teores máximos permitidos para resíduos de pesticidas em alimentos são estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA, \(2009\)](#). A exploração comercial de culturas como as de laranja, uvas finas, morango, maçã, tomate e batata, por exemplo, seria impossível sem o emprego de fungicidas em locais ou épocas sujeitas à incidência de doenças.

Atualmente, os pesticidas pertencentes ao grupo químico dos carbamatos são mundialmente utilizados na agricultura, em virtude de seu baixo custo, de serem altamente eficientes no combate aos insetos, fungos e ervas daninha, e de possuírem menor potencial de bioacumulação, comparados aos organoclorados e organofosforados, embora sejam tóxicos para o meio ambiente e seres vivos, principalmente por inibirem a ação de enzimas biológicas, como as colinesterases ([TANKIEWICZ *et al.* 2010](#); [KAMANYIRE *et al.*, 2004](#)).

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 como laranja, abacaxi, maçã e vegetais. Para o cultivo de frutas, carbendazim (MBC), um pesticida carbamato, está entre os mais utilizados. A ANVISA estabelece como ingestão diária aceitável (IDA) o valor máximo de $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ de MBC em relação ao peso corporal. MBC é considerado tóxico por causar danos à saúde e ao meio ambiente, provável carcinógeno para seres humanos ([USEPA, 2001](#); [SLIJKERMAN *et al.*, 2004](#); [ANVISA, 2009](#)). Estudos apontam que MBC pode atuar como interferente endócrino e provocar alterações fisiológicas em diversos animais ([FARAG *et al.*, 2011](#); [MIRACLE *et al.*, 2011](#); [CHELINHO *et al.*, 2014](#)). Além disso, pode permanecer no ambiente porque se degrada lentamente, fato explicado porque na estrutura da molécula do MBC um grupo benzimidazol está presente, que é quimicamente estável ([SINGER *et al.*, 2010](#); [MORASCH *et al.*, 2010](#)). Embora MBC seja degradado por vias químicas, fotólise ou ação de microrganismos, pode permanecer no ambiente sem sofrer alteração significativa ([SANCHES *et al.*, 2003](#)). Teores residuais de MBC são encontrados em frutas como a laranja, o que justifica o desenvolvimento de métodos analíticos simplificados e rápidos para sua quantificação.

As técnicas cromatográficas são as mais utilizadas para a determinação de teores de pesticidas em diferentes matrizes incluindo alimentos. Apesar das vantagens inquestionáveis, ainda são dispendiosas para fins de controle no monitoramento da qualidade de alimentos,

tanto para prestadores de serviços públicos quanto privados. São ainda economicamente menos viáveis para órgãos públicos responsáveis pela fiscalização da produção de alimentos que contenham teores de pesticidas.

Neste contexto, as técnicas eletroanalíticas têm a vantagem de apresentar baixo custo de aquisição, operação e manutenção de equipamentos, alta sensibilidade, operação fácil, miniaturização e construção de sensores para rápida triagem e monitoramento local (MORAES *et al.*, 2009). Os eletrodos de pasta de carbono modificados com ftalocianinas de cobalto vêm sendo empregados para determinar pesticidas carbamatos. Complexos de metaloftalocianinas (MPc) são bem conhecidos por sua excelente atividade eletrocatalítica. Quando adicionados à pasta de carbono, as ftalocianinas de cobalto facilitam a transferência de elétrons, por isso, são chamados de mediadores de elétrons. As propriedades de transferência de elétrons resultam em maior sensibilidade analítica PEREIRA *et al.*, 2002; MORAES, 2009).

Neste trabalho, foi proposto um sensor de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto (EPC-CoPC) para investigação eletroquímica do MBC utilizando técnicas voltamétricas, visando aplicação em laranja, com o míninopré-tratamento da amostra.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Pesticidas

Pesticidas são definidos como substâncias ou mistura de substâncias destinadas a matar pragas. De forma geral, trata-se de qualquer substância usada para controlar, prevenir ou destruir pragas animais, microbiológicas ou de plantas (IUPAC, 2017). O termo agrotóxico tem uso mais específico, definido pela Lei Federal nº 7.802 de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto 98.816 e, posteriormente, pelo Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, no seu artigo 1º, inciso IV. São *“produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento”*. Dessa forma, por serem bioativos, possuem a capacidade de atuar na prevenção, destruir ou combater espécies invasoras, que podem atuar nas diferentes etapas da produção de alimentos, desde o preparo do solo, sementes, plantação, armazenamento, transporte e estocagem de alimentos, por outro lado, oculta os efeitos deletérios desses produtos sobre a saúde humana e o meio ambiente (HOLLAND, 1996; STEPHENSON *et al.*, 2006; ABRASCO, 2015). Agrotóxicos são classificados como inseticidas (controle de insetos), fungicidas (controle de fungos), herbicidas (combate às plantas invasoras), fumigantes (combate às bactérias do solo), algicida (combate a algas), avicidas (combate a aves), nematocidas (combate aos nematoides), moluscidas (combate aos moluscos), acaricidas (combate aos ácaros), além de reguladores de crescimento, desfoliantes (combate às folhas indesejadas) e dessecantes (BAIRD, 2006; SILVA E FAY, 2004; BRAIBANTE, 2012).

Nos primeiros estudos sistemáticos realizados no final do século XIX, o homem conseguiu avançar desenvolvendo substâncias químicas que atuavam no controle e prevenção de pragas, o que provocou aumento da produtividade de alimentos em larga escala. A exemplo, tem-se a síntese do 1,1,1-tricloro-2,2-di (p-clorofenil) em 1939, conhecido como DDT. Mais tarde os organofosforados e os pertencentes ao grupo dos carbamatos eficientes no controle de pragas (BRANCO, 2003; BRAIBANTE, 2012).

No Brasil, o uso de pesticidas intensificou-se durante a década de 70, em consequência dos incentivos para a produção agrícola e a política de exportação. Nos dias atuais, o aumento da população tem provocado uma procura maior por alimentos, e para manter a qualidade da produção em larga escala no Brasil e em todo o mundo são consumidas toneladas de pesticidas por ano. Exemplo de pesticidas mais utilizados: organoclorados, carbamatos, organofosforados piretróides, biperidílios, triazinas e clorofenóis, (SOUSA, 2004).

Em escala global o Brasil desponta como um dos maiores consumidores de pesticidas. Em 2000 o consumo era 3 kg/ha de ingrediente ativo por hectare de área cultivada, em 2012 passou de 3 kg/ha para 7kg/ha, esse valor mais que duplicou **Gráfico 2.1** (IBGE, BRASIL, 2015).

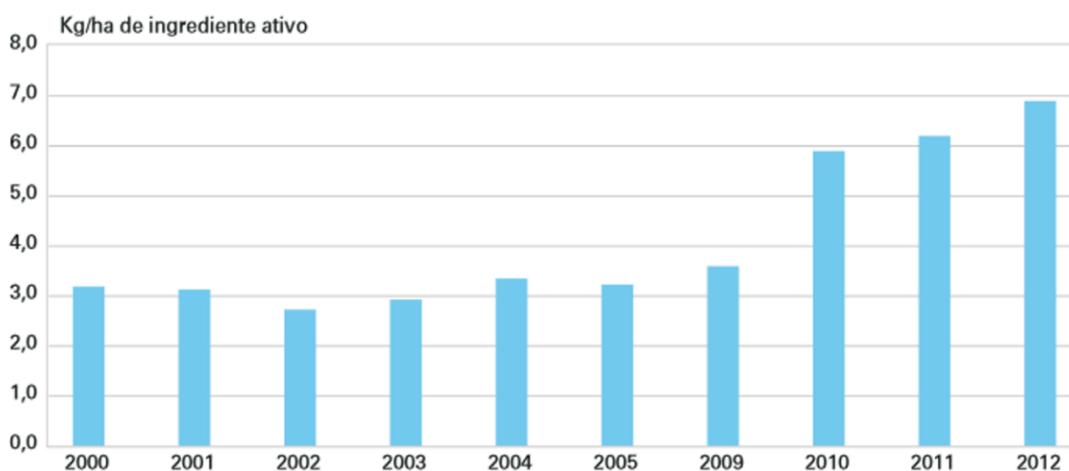


Gráfico 2.1– Indicadores de desenvolvimento sustentável (IBGE, Brasil, 2015).

Nos últimos dez anos o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93%, no Brasil o crescimento foi de 190%. No ano de 2008, o Brasil ultrapassou os Estados Unidos e ocupa hoje o lugar de maior consumidor de defensivos agrícolas no mundo. Os fungicidas respondem por 14% do mercado nacional, os inseticidas por 12% e as demais categorias de agrotóxicos, por 29%, (ANVISA& UFPR, 2012). Os efeitos sobre a saúde pública são amplos, atingem vastos territórios, grupos de trabalhadores em diferentes atividades, e toda população, que consomem esses alimentos contaminados. Causa disso é o modelo de desenvolvimento adotado, voltado prioritariamente para a produção de bens primários para exportação, (ABRASCO, 2015).

No Brasil um pesticida de ampla utilização no controle de pinta preta em citros (doença fúngica) causada pelo fungo *Guignardiacitricarpa* (*Phyllostictacitricarpa*), que ataca folhas, ramos e, principalmente, frutos de todas as variedades de laranjas doces, é o carbendazim (MBC) pesticida carbamatoum dos mais utilizados (ANVISA, 2009).

2.1.1 Carbendazim

O carbendazim, Methyl Benzimidazol-2-yl Carbamate (MBC), **Figura 2.1** é um fungicida sistêmico, classe toxicológica III (medianamente tóxico), sendo caracterizado como um produto perigoso ao meio ambiente em função de sua capacidade de penetração e translocação dentro da planta (MICHEREFF, 2001). Estudos relatam que essa substância causa alterações cromossômicas e endócrinas do sistema reprodutivo masculino de ratos. (KIRSCH-VOLDERS *et al.*, 2003; MCCARROLL *et al.*, 2002; HESS NAKAI, 2000; NAKAI *et al.*, 2002). O carbendazim foi responsável pela contaminação de suco de laranja brasileiro que teve sua exportação suspensa pelo governo americano durante certo período, pois este pesticida estava acima do limite máximo permitido pela legislação americana para citros, (FDA, 2012).

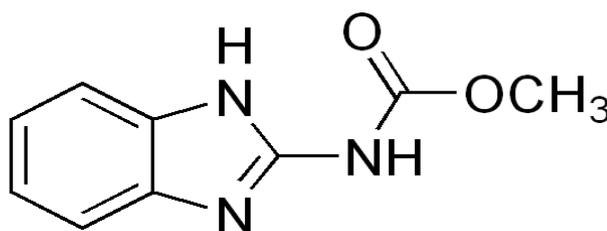


Figura 2.1– Estrutura química do MBC

A Agência de Proteção Ambiental (EPA) permitiu o uso limitado de MBC em citros até 2009. Atualmente, uso do MBC está proibido Estados Unidos da América (EUA). Na Comunidade Europeia, os limites máximos de resíduos permitidos (LMR) para MBC em citros estão entre 100 e 700 ppb (0,52 e 3,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$), (RAZZINO *et al.*, 2015).

No Brasil, o uso de MBC é liberado e a ANVISA permite uma ingestão diária aceitável (IDA) o valor máximo de $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ de MBC em relação ao peso corporal em humanos. Ainda a legislação brasileira estabelece limites máximos de aplicação do carbendazim em citros e folhas num valor de 5 mg kg^{-1} em intervalos de 7 dias e 5 mg kg^{-1} para culturas de maçãs em intervalo de aplicação de 14 dias. Aplicação diretamente no solo e em sementes de culturas de feijão, algodão, arroz, soja e milho também são permitidos.

Em novembro de 2016, a ANVISA divulgou um relatório do “Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxicos em Alimentos” (PARA). Este documento, pela primeira vez, revela estudo que avalia o potencial de risco agudo de resíduos de agrotóxicos para a saúde. O risco agudo está relacionado às intoxicações que podem ocorrer dentro de um período de 24 horas após o consumo do alimento contaminado.

No Brasil, o acesso à informações de dados sobre o número de intoxicações por agrotóxicos ainda é precário, por não contar com um sistema de registro eficiente que possa identificar os casos de intoxicações agudas e crônicas. Há registros dos casos de intoxicações por agrotóxicos no país, porém os órgãos oficiais responsáveis pelo registro, nenhum deles, atendem adequadamente no monitoramento dessas substâncias (FARIA; FASSA; FACCHINI, 2007). Estima-se que, no Brasil, anualmente, mais de quatrocentas mil pessoas são contaminadas por agrotóxicos, e um número de quatro mil casos de mortes. (MOREIRA; JACOB; PERES, 2002).

Diante da importância de monitoramento acerca do potencial de risco agudo o PARA monitorou, 12.051 amostras de alimentos em 27 estados brasileiros e no Distrito Federal. A escolha dos alimentos monitorados pelo PARA baseia-se nos dados de consumo obtidos na Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) entre 2008 a 2009, na disponibilidade dos alimentos nos supermercados das diferentes unidades da Federação e nos agrotóxicos com maior índice de detecção nos alimentos. Os alimentos mais consumidos no Brasil representam mais de 70% dos alimentos de origem vegetal consumidos pela população brasileira, conforme detalhados na **Tabela 2.1** (ANVISA, 2016).

Tabela 2.1 – Alguns alimentos monitorados pelo PARA

Frutas	Número de amostras analisadas	Número de amostras analisadas com potencial de risco agudo	% de amostras analisadas com potencial de risco agudo	Número com risco
Laranja	744	90	12,1%	
Abacaxi	240	12	5%	
Uva	224	5	2,2 %	
Mamão	722	6	0,8 %	
Morango	157	1	0,6 %	
Manga	219	1	0,5 %	
Goiaba	406	1	0,2 %	
Maçã	764	1	0,1 %	

Adaptado – ANVISA

Das amostras analisadas no período de 2013 a 2015, a laranja foi o alimento que apresentou maior percentual de risco agudo, correspondendo a 12,1 %, 43 alimentos analisados continham teores de MBC acima do LMR **Figura 2.2.**

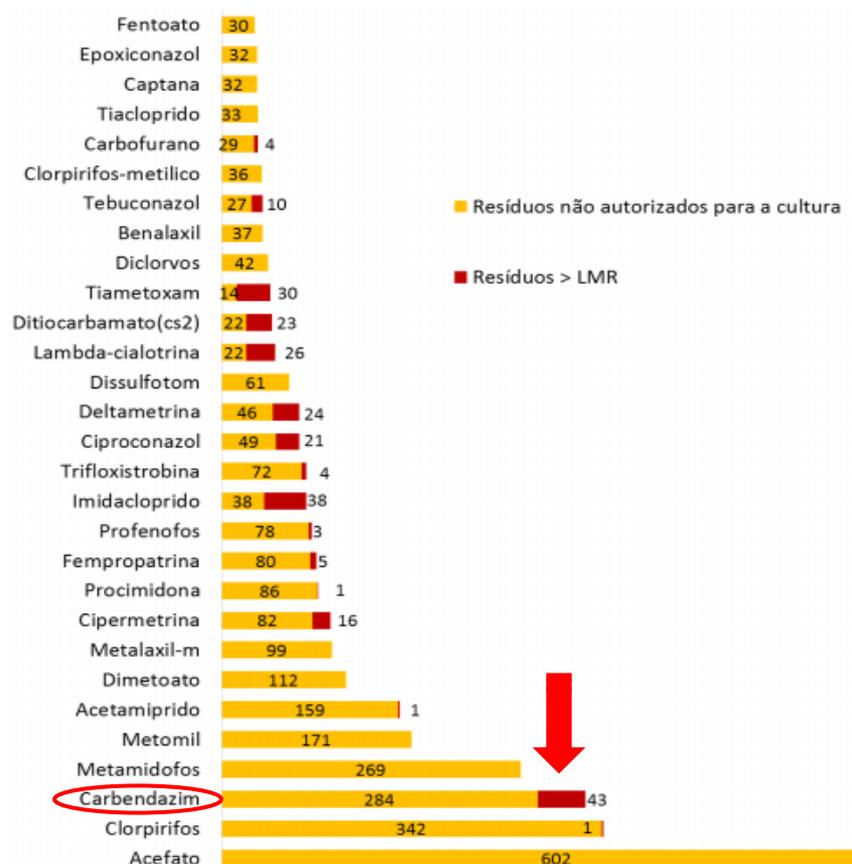


Figura 2.2 –Número de amostras de alimentos que apresentaram resíduos não autorizados para as culturas e número de amostras contendo teores residuais de pesticida acima do limite máximo de resíduo (LMR), conforme regulamentações da ANVISA. Fonte: adaptado de ANVISA, 2016.

Contudo, monitorar essa substância (MBC) se faz necessário. Para tanto, exigirá dos meios de pesquisas cada vez mais metodologias simples, rápidas e de baixo custo que sejam capazes de indentificar e quantificar essa substância a níveis traços.

2.2 Métodos analíticos aplicados à determinação de MBC

A análise de resíduos de pesticidas, em diferentes matrizes, é feita através de técnicas cromatográficas. Análises cromatográficas são muito importantes na determinação química das substâncias em função de sua facilidade em efetuar as separações, identificar e quantificar as espécies presentes na amostra, por meio da utilização de detectores específicos. Em contrapartida as análises cromatográficas podem depender de longo tempo de análise e de reagentes orgânicos o que eleva o custo final das análises. Neste contexto, as técnicas

eletroanalíticas têm a vantagem de apresentarem baixo custo de aquisição, operação e (GALLI, *et al* 2006, MORAES *et al.*, 2009,).

As medidas eletroanalíticas apresentam algumas vantagens: possibilidade, em muitos casos, de análise direta na amostra sem etapa de pré-tratamento; análise em matrizes coloridas ou partículas sólidas dispersas. Em matrizes mais complexas como biológicas, ambientais e alimentos uma etapa de extração do analito pode ser necessária, contudo, são mais simplificadas, de menor custo e menor tempo, quando comparadas às metodologias de preparação para aplicação e detecção cromatográfica (GALLI *et al.*, 2006).

Para a determinação de pesticidas carbamatos usando técnicas voltamétricas, alguns estudos são descritos na literatura, a seguir destacados: a) 2016: SANTOS, desenvolveu uma metodologia voltamétrica para determinar simultaneamente os pesticidas carbamatos carbofurano e metomil sob superfície de diamante dopado com boro; b) 2015: BENZHI *et al.*, determinaram carbaril utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com um filme compósito de óxido de grafeno e líquido iônico, aplicado para análises de frutas; c) 2015: LÚCIO, determinou carbendazim em amostras de água potável por voltametria de onda quadrada em eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado; d) 2015: RAZZINO *et al.*, determinaram carbendazim em suco de laranja com eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono funcionalizado; e) 2009: LI *et al.*, determinaram MBC sobre nanotubos de carbono de paredes múltiplas modificado com filme polimérico de vermelho de metila; f) 2009: RIBEIRO *et al.*, determinaram MBC em amostras de água de rio por voltametria de onda quadrada de redissolução em eletrodo de carbono vítreo modificado com MWCNT; g) 2006: MANISANKAR *et al.*, utilizaram voltametria de redissolução com pulso diferencial com eletrodo de carbono vítreo (ECV) modificado com argila para determinação de MBC em amostras de solo e água; h) 2006: MANISANKAR *et al.*, 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: KOTTWITZ *et al.*, 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.

2.3 Técnicas voltamétricas

As técnicas voltamétricas de análises, que compõem as técnicas eletroanalíticas, são cada vez mais utilizadas em diferentes áreas do conhecimento. Baseiam-se na medida e registro da intensidade de corrente em função do potencial aplicado em uma célula eletroquímica, em que a resposta analítica é proporcional à concentração do analito. São amplamente empregadas para estudos fundamentais de processos de oxidação e redução em vários meios, têm se mostrado uma técnica vantajosa por apresentar: alta sensibilidade, baixos limites de detecção, seletividade, possibilidade de se medir um analito de interesse mesmo na presença de interferentes, a não necessidade do preparo da amostra (pré-concentração, separação), rapidez e baixo custo (SKOOG, 2005, DJENAIN DE SOUZA, 2003; OLIVEIRA, 2016).

A célula eletroquímica é composta por um sistema de três eletrodos, sendo um eletrodo de trabalho, um contra eletrodo e o eletrodo de referência. O registro da intensidade de corrente resultante de processos redox ocorre pela eletrólise na superfície do eletrodo de trabalho, quando um potencial controlado é aplicado, favorecendo a transferência de elétrons. A corrente flui entre o eletrodo de trabalho e o contra eletrodo. A velocidade em que ocorrem processos de oxirredução é definida pela velocidade de transferência de elétrons, como também pela transferência de massa das espécies de interesse à superfície do eletrodo de trabalho. (BRETT e BRETT, 1996; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002). Dentre as técnicas voltamétricas, destacam-se a voltametria cíclica (VC) e a voltametria de onda quadrada (VOQ).

2.4 Voltametria Cíclica - VC

A técnica de VC consiste basicamente na aplicação de uma onda triangular de potencial entre o eletrodo de trabalho e o de referência. O potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia continuamente com o tempo numa velocidade conhecida. Quando o potencial final desejado é alcançado, a varredura retorna ao valor inicial, na mesma velocidade. A resposta voltamétrica das reações de oxirredução é o voltamograma, que apresenta, por exemplo, um par de sinais de excitação, catódico e anódico, para processos reversíveis ou quase reversíveis. Para os casos de processos irreversíveis, somente um sinal, catódico para casos de redução ou anódico para oxidação, será registrado ao se promover a varredura

reversa. Na **Figura 2.3**, aplicação de uma onda triangular de potencial, voltamogramas demonstrando a reversibilidade dos processos eletroquímicos estão exemplificados, cujos parâmetros mais importantes são: potenciais de pico catódico (E_{pc}), anódico (E_{pa}), correntes de pico catódico e anódico (I_{pc} e I_{pa}), e potenciais de meia onda $E_{p1/2}$. Esses parâmetros são essenciais para identificação de espécies presentes em solução, e mais comumente utilizadas para realizar análises qualitativas e semiquantitativas (BRETT e BRETT, 1996; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002)

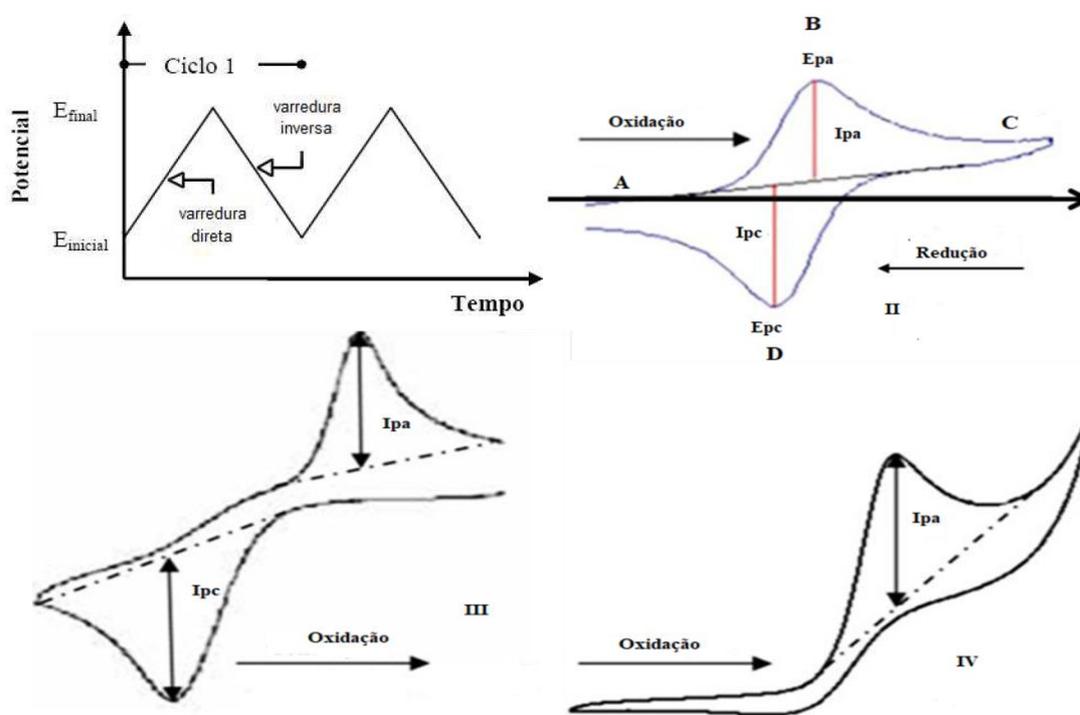


Figura 2.3– (1) Aplicação do potencial para voltametria cíclica na forma de onda triangular; voltamogramas cíclicos de um sistema reversível (II), quase reversível (III) e irreversível (IV). Adaptado de BRETT e BRETT, 1996; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002.

Outra importante característica da técnica é a possibilidade de diagnósticos baseados na dependência do potencial de pico e da corrente de pico em função do estudo da variação da velocidade de varredura, que permitem obter, principalmente, informações acerca da reversibilidade do processo de transferência de elétrons e da presença de reações químicas acopladas a processos adsorptivos sobre a superfície de eletrodo. Esta característica faz da técnica uma ferramenta para realização de estudos exploratórios sobre espécies que não se conhece a natureza eletroquímica. Um resumo dos possíveis diagnósticos está mostrado na

Tabela 2.2 (BRETT e BRETT, 1996; BARD *et al.*, 2001; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002).

Tabela 2.2– Testes diagnósticos por VC para sistemas reversíveis, irreversíveis e quase reversíveis. Adaptado de BRETT e BRETT, 1996; BARD *et al.*, 2001)

Processos Reversíveis	Processos Irreversíveis	Processos quase-reversíveis
1. $I_{pa}/i_{pc} = 1$	1. Ausência do pico reverso	1. $I_{pa}/i_{pc} = 1$; se $\alpha = 1$
2. $I_p \propto v^{1/2}$	2. $I_p \propto v^{1/2}$	2. $I_p \propto v$
3. E_p independente de v	3. E_p depende de v	3. E_{pc} se desloca negativamente com aumento de v
4. $E_p = 59/n \text{ mV}$	4. $E_p E_p - E_{p/2} = (48/n\alpha) \text{ V}$	4. $\Delta E_p > 59/n \text{ mV}$

2.5 Voltametria de Onda Quadrada - VOQ

No ano de 1952, Barker desenvolveu a voltametria de onda quadrada (VOQ) decorrente de estudos sobre uma forma de compensar a corrente capacitiva residual obtida nas análises polarográficas. Com os progressos na instrumentação e a partir de estudos realizados nos anos 80 por Osteryoung, a VOQ tornou-se uma técnica analítica importante, sendo possível incorporá-la aos polarógrafos, devido a sua forma de varredura rápida (BRETT e BRETT, 1996; BARD *et al.*, 2001; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002; SOUZA, *et al.*, 2003).

A voltametria de onda quadrada é comumente conhecida como uma das técnicas de pulso mais rápida e sensível. Desse modo, os limites de detecção alcançados por essa técnica já podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Também através da análise dos parâmetros característicos desta técnica permite realizar diagnósticos sobre avaliação cinética e mecanística do processo eletroquímico em estudo, (SOUZA, *et al.*, 2003).

VOQ caracteriza-se pela aplicação da variação de potencial na forma de uma escada, onde a forma de aplicação dos pulsos ΔE s (amplitude do pulso de potencial) possuem mesma amplitude que são sobrepostos a uma escada de potencial de altura constante (ΔE_p) e duração 2τ (período), de modo que cada degrau de potencial corresponde a $\Delta E_p \neq 0$ e $t = 2t_p$. Na curva de potencial-tempo, a largura do pulso ($\tau/2$) é chamada t e a frequência de aplicação dos

pulsos é chamada de f e é dada por $(1/t)$. Ocorre medição das correntes elétricas ao final dos pulsos diretos e reversos e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante (ΔI) de forma diferencial, resultado é aumento da sensibilidade decorrente da quase eliminação total da corrente capacitiva, **Figuras 2.4a e 2.4b** (BRETT e BRETT, 1996; BARD *et al.*, 2001; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002; PACHECO *et al.*, 2013).

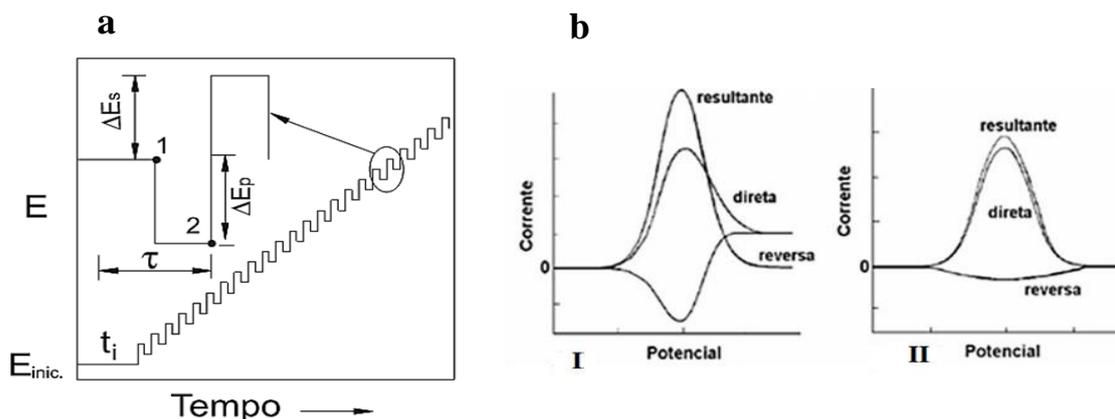


Figura 2.4 –a Sinal de excitação para VOQ, ΔE_s (amplitude do pulso de potencial), potencial de altura constante (ΔE_p) e duração τ (período).b(I) Voltamogramas de onda quadrada para um sistema reversível; (II) Voltamogramas de onda quadrada para um sistema irreversível. Adaptado (BRETT e BRETT, 1996; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002).

A técnica de VOQ apresenta como característica, elevada sensibilidade devido à significativa diminuição e quase eliminação da corrente capacitiva, pois as medidas de corrente são sempre registradas em intervalos de tempos iguais. A corrente de pico formada em um voltamograma de onda quadrada é proporcional à concentração do analito. Destaca-se como maior vantagem desta técnica a utilização de frequências de 1 a 100 Hz, que proporciona velocidades de varreduras elevadas, entre 100 à 1,000 mV s^{-1} , ou seja, medida rápida (SOUZA, *et al.*, 2003; PACHECO *et al.*, 2013).

2.6 Voltametria de Redissolução

Técnicas de redissolução ou *stripping* baseiam-se na pré-concentração do analito em um eletrodo de trabalho, antes da medida analítica. A pré-concentração do analito pode ocorrer de duas formas: por adsorção ou aplicando-se um potencial de deposição. Três etapas são envolvidas nas análises por *stripping*: uma etapa de deposição, outra de equilíbrio e por fim a redissolução. Para ambos os processos, a etapa de pré-concentração consiste de uma eletrodeposição a potencial constante e controlado da espécie eletroativa sobre um eletrodo de trabalho, seguida por uma etapa de equilíbrio e uma de determinação, esta última consiste na redissolução da espécie anteriormente eletrodepositada volta à solução. Após a medida voltamétrica, ocorre um aumento significativo da magnitude de corrente, momento em que informações analíticas importantes e desejadas são prontamente obtidas. Uma das consequências interessantes da pré-concentração é a obtenção de menores limites de detecção para quantificação de analitos em baixas concentrações. A redissolução pode ser anódica ou catódica (AHMAD, 2010). Os processos estão esquematizados nas Figuras 2.5a e 2.5b

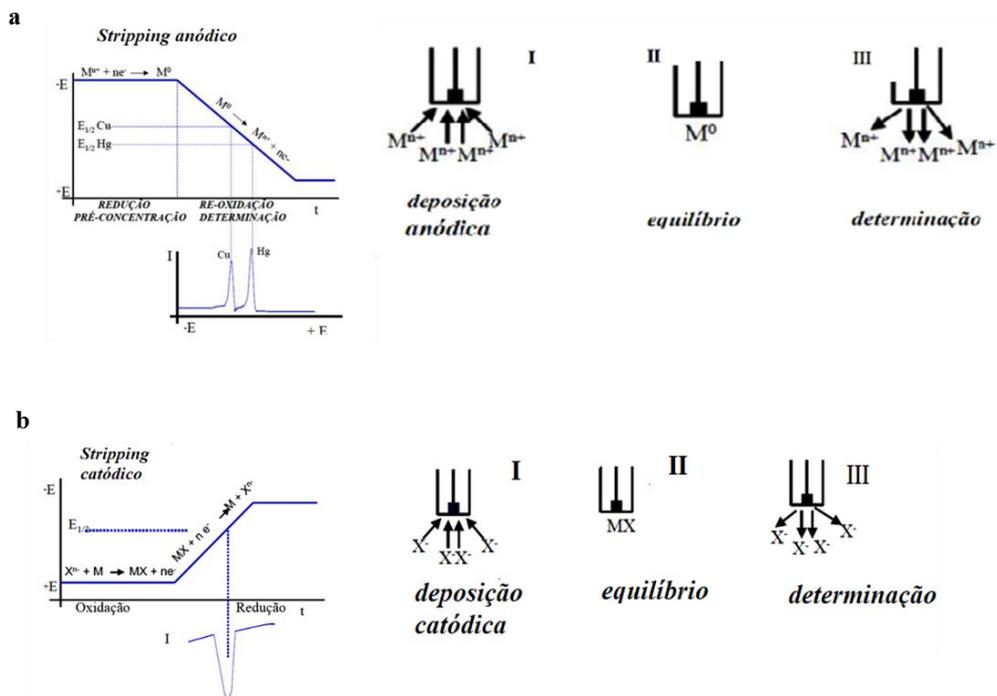


Figura 2.5– a Etapas envolvidas na redissolução (a) anódico e (b) catódico, sendo I: etapa de deposição de potencial; II: tempo de equilíbrio III: etapa de determinação. Adaptado de [RIBEIRO, 2012](#).

2.7 Eletrodos quimicamente modificados

Murray e colaboradores, na década de 70, introduziram na eletroquímica o termo eletrodo quimicamente modificado (EQM). Significa eletrodos que possuem espécies quimicamente ativas imobilizados na superfície de eletrodos sólidos convencionais. Exemplos de substratos mais comuns são ouro, platina e carbono vítreo. A pasta de carbono permite a mistura com diferentes agentes modificadores em variadas proporções. Os agentes modificadores podem ser de origem inorgânica, orgânica ou biológica. Ao modificar uma superfície eletródica, é preciso considerar as características eletroquímicas do substrato e a adequação ao método de modificação escolhido. Os EQMs apresentam vantagens para aplicações eletroquímicas e eletroanalíticas pela versatilidade no desenvolvimento de diferentes sensores com elevada sensibilidade, seletividade e estabilidade, o que possibilita utilizá-los em diferentes áreas: ambiental, área da saúde, indústria de alimentos, entre outras ([MOSES, 1975](#); [PEREIRA et al, 2002](#); [CARVALHO, 2011](#)).

A modificação química de uma superfície eletródica pode ser feita de várias técnicas: por adsorção, ligação covalente, deposição de filmes poliméricos e materiais compósitos. A adsorção baseia-se na dissolução do agente modificador em um solvente, onde o eletrodo fica exposto à solução. Esta técnica é bastante empregada devido à simplicidade de modificação, no entanto, para eletrodos EQMs a desvantagem está em relação à modificação que ocorre apenas em uma monocamada, limitando a sensibilidade de resposta do sensor ([PEREIRA et al, 2002](#)).

No caso de modificações via ligação covalente, o agente modificador liga-se covalentemente à superfície do eletrodo. Esse tipo de modificação é muito estável comparado a outros métodos, no entanto, dispende mais tempo e ocorre o recobrimento de apenas uma monocamada, difícil manipulação. Essa técnica é empregada na imobilização de enzimas. ([PEREIRA et al, 2002](#)).

Por sua vez, a técnica de filmes poliméricos pode ser realizada imobilizando sobre a superfície do eletrodo sucessivas monocamadas da espécie que possui atividade química, ampliando assim a sensibilidade da resposta eletroquímica. Significa que permite a co-

imobilização de diferentes substratos, enzimas, cofatores, mediadores, estabilizadores, resultando em um sensor que dispensa a utilização de reagentes durante a quantificação. A preparação do eletrodo modificado ocorre pelo recobrimento com um filme polimérico, este precisa apresentar condutividade elétrica ou permeabilidade no eletrólito e na espécie que se deseja estudar, (PEREIRA *et al*, 2002).

Os materiais compósitos baseiam-se na possibilidade de modificação interna do material eletródico onde os eletrodos são constituídos por combinação de fases, duas ou mais, e de natureza distinta. A mistura apresentará novas características físicas, químicas e biológicas. Os compósitos que têm atividade condutora são utilizados na confecção de sensores eletroquímicos com excelente sensibilidade de resposta, como exemplo os eletrodos de pasta de carbono. O primeiro eletrodo de pasta de carbono foi proposto em 1958 por Admaspor mistura de pó de grafite e um líquido orgânico hidrofóbico (óleo mineral, óleo de parafina, óleo de silicone etc.) utilizado para aglomerar e fixar a pasta, preencher as cavidades entre as partículas de grafite e isolar a pasta, tanto quanto possível, do contato com soluções aquosas, (PEREIRA *et al*, 2002; DRAGUNSKI, 2017). Sensores à base de pasta de carbono possibilitam modificação interna do material eletródico, o que pode provocar aumento da sensibilidade de resposta, o mesmo não ocorre em eletrodos sólidos convencionais, a exemplo do eletrodo de carbono vítreo, onde a modificação ocorre apenas na superfície eletródica.

Desse modo, compósitos à base de pasta de carbono, destacam-se por serem versáteis, oferecer baixa corrente de fundo, baixo ruído e baixo custo, fácil renovação da superfície, modificação conveniente, onde se pode misturar agentes modificadores como ftalocianinas metálicas, nanotubos de carbono e quitosana, entre outros, para determinação de pesticidas, por técnicas voltamétricas (GARCIA, 1998; DOWNARD *et al*., 2000; PEREIRA *et al*, 2002; MORAES *et al*, 2009; SUN *et al*, 2013; DRAGUNSKI, 2017).

2.7.1 Ftalocianinas

As ftalocianinas pertencem a uma classe de compostos aromáticos constituídos por quatro unidades isoindólicas unidas por átomos de nitrogênio (**Figura 2.6**). No início do século XX, esses compostos foram primeiramente obtidos acidentalmente como subprodutos durante a síntese da orto-cianobenzamida e a caracterização da sua estrutura química ocorreu por volta de 1930, na época, as ftalocianinas estavam presentes na indústria têxtil e de

corantes por apresentar estabilidade térmica, química e fotoquímica, como também baixa solubilidade. Atualmente tem demonstrado aplicabilidade em áreas de alta tecnologia: display ópticos, materiais semicondutores, células solares, terapias fotônicas dentre outras, (DE OLIVEIRA, 2015; GOBO, 2013).

São complexos planares que estão estruturados na forma de anel, contendo em sua estrutura átomos de nitrogênio e dois átomos de hidrogênio (forma protonada H₂PC), que podem ser substituídos por metais de transição, formando as metalofteralocianinas, que terão atividade catalítica dependendo do íon metálico e do estado de oxidação do complexo (GOBO 2013, LA TORRE 2002, CORRÊA 2013, ISAACS, 1997).

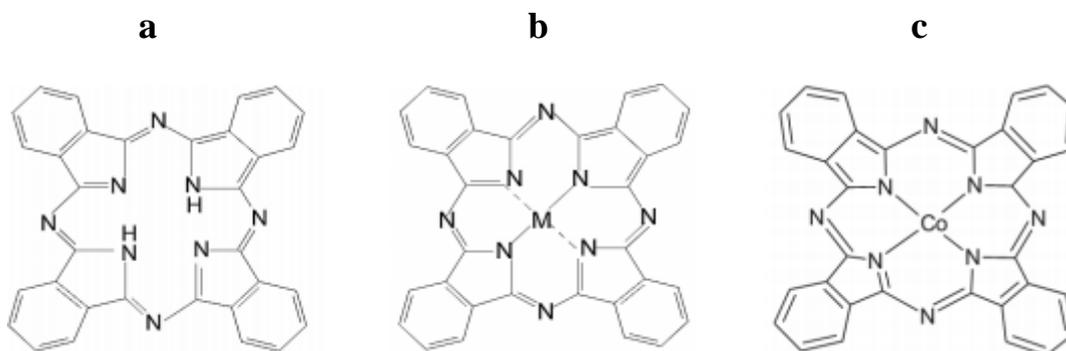


Figura 2.6 – Estrutura das ftalocianinas: a) ftalocianina protonada; b) metalofteralocianina onde M representa o íon metálico; c) ftalocianina de cobalto (II). Adaptado de BONI, 2011.

As ftalocianinas de cobalto (II) (CoPC) têm sido amplamente utilizadas como mediadores de elétrons em processos eletroquímicos, por apresentar propriedades electrocatalíticas que estão diretamente relacionadas à química de coordenação do cobalto. Eficazes para diferentes sistemas de oxirredução por envolver processos rápidos com pequenos gastos de energias, podendo atuar como mediadores de elétrons em diversas reações. É importante ressaltar que possíveis processos de oxidorredução podem ocorrer no átomo central e no anel entre os pares redox (**Tabela 2.3**).

Tabela 2.3– Possíveis processos de oxirredução no anel e no átomo central da ftalocianina de cobalto.

Processo	Par redox	Potenciais no anel PC
Oxidação do Co (II)	Co(II)PC/Co(III)PC	(-2)/(-2)
Oxidação do anel da ftalocianina	Co(III)PC/ Co(III) PC	(-2)/(-1)
Redução do Co(III)	Co(II)PC/Co(I)PC	(-2)/(-2)
Redução do anel da ftalocianina	Co(I) PC /Co(I) PC	(-2)/(-3)

Adaptado de [NEVIN, 1987](#) e [ZAGAL, 1977](#).

O processo redox da CoPC ainda não foi totalmente esclarecido. O que se encontra na literatura é um estudo mecanístico feito por Nevin e colaboradores, que observaram a existência de uma competição dos processos redox entre o anel da ftalocianina e o íon central. Estudos apontam que a reação está sob influência de espécies que estão ligadas ao complexo e que é através de grupos retiradores de elétrons que a redução é favorecida. Desse modo, quando grupos doadores de elétrons estão presentes, é favorecida a oxidação dos complexos ([NEVIN, 1987](#)). Na literatura, vários trabalhos evidenciam que a oxidação do par $\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{3+}$ ocorre na faixa de potências de 0,7 a 1,2 V ([MARRE, 2000](#); [AMINI et al 2003](#)). Por sua vez, as ftalocianinas de cobalto têm sido empregadas como agentes modificadores em compósitos de pasta de carbono para determinações de pesticidas, por serem capazes de apresentar resposta eletrocatalítica sensível. ([ARDUINI, 2006](#); [KOZUBE, 2010](#); [CARVALHO, 2011](#); [LOURENÇO, 2016](#)).

A determinação de MBC por eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto ainda não foi estudada até o presente estudo, sendo este um trabalho pioneiro. No entanto, outros pesticidas da mesma classe do MBC foram quantificados utilizando ftalocianinas de cobalto como modificadores químicos de materiais por técnicas voltamétricas:

- a) [PETR SKLADAL, 1992](#) imobilizaram enzimas sob superfície de carbono modificado com CoPC para determinar pesticidas organofosforados e carbamatos;
- b) [HART E HARTLE, 1994](#), utilizaram a voltametria cíclica para investigar o comportamento eletroquímico da tiocolina em eletrodos de carbono quimicamente modificados com ftalocianina de cobalto CoPC como mediador de elétrons e sua possível aplicação para monitoramento ambiental de pesticidas;

- c) [ARDUINI *et al.*, 2006](#), imobilizaram enzimas em eletrodos impressos para determinar pesticidas, entre os quais o carbaril, um pesticida carbamato;
- d) [MORAES *et al.*, 2009](#), modificaram a superfície de carbono vítreo com ftalocianina de cobalto e nanotubos de carbono funcionalizados para a determinação de carbarilpesticidacarbamato em amostra de água;
- e) [ERBAHAR *et al.*, 2012](#), desenvolveram sensores químicos com base em cristal de quartzo revestido com ftalocianinas modificadas quimicamente com íons Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} e Co^{2+} . Os sensores foram avaliados para a análise direta de pesticidasorganofosforados, nitrogenados e carbamatos em amostras aquosas.
- f) [DRAGUNSKI, 2017](#), desenvolveuumbiosensorcom base em eletrodos de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto, que atuou comoeletrocalisador da enzima tiocolina para determinação de pesticidas carbamatos em alimentos.

2.8 Objetivos

2.8.1 Geral

Estudar o comportamento eletroquímico de carbendazim em eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocionina de cobalto, visando análise em amostras de laranja.

2.8.2 Específicos

- ✓ Avaliar a resposta eletroquímica de carbendazim em eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados com ftalocianina de cobalto
- ✓ Estudar a percentagem de ftalocianina de cobalto na pasta de carbono;
- ✓ Otimizar às condições experimentais da análise voltamétrica;
- ✓ Estimar os parâmetros de desempenho analítico;
- ✓ Avaliar o desempenho do eletrodo para a determinação de carbendazim em amostras de laranjas.

CAPÍTULO 3

PARTE EXPERIMENTAL

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítico. Carbendazim (pureza $\geq 97\%$ Sigma Aldrich), ácido ascórbico (pureza $\geq 99,7\%$ Merck), ácido cítrico (pureza $\geq 99,5\%$ Vetec). A solução estoque de MBC de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e subseqüentes diluições foram feitas em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções utilizadas como eletrólito suporte durante as medidas voltamétricas foram preparadas com água ultrapura obtida através de sistema Millipore Milli-Q System (condutividade $\leq 0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$). As soluções, após preparadas, foram mantidas sob refrigeração.

Para a confecção das pastas de carbono, foram utilizados pó de grafite (pureza $\geq 99\%$), pó de nanotubo de carbono (pureza $\geq 99\%$), óleo mineral (nujol) e CoPC (pureza $\geq 97\%$), todos obtidos da Sigma Aldrich. Os experimentos foram realizados sob temperatura ambiente controlada (23°C).

3.2 Equipamentos e técnica

As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato modelo PGSTART[®] 302N Metrohm (**Figura 3.1**). As técnicas voltamétricas utilizadas foram voltametria cíclica e de onda quadrada.



Figura 3.1 – Imagem do potenciostato/galvanostato modelo PGSTART[®] 302N Metrohm.

Os experimentos voltamétricos foram conduzidos em uma célula eletroquímica equipada com um sistema de três eletrodos: Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) como eletrodo de referência, fio de platina como eletrodo auxiliar e de eletrodo de trabalho: pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto com diâmetro de 4 mm. O volume total do eletrólito de suporte na célula eletroquímica foi de 5 mL. As medidas de pH dos eletrólitos de suporte utilizados foram realizadas em medidor de pH modelo 713 – Metrohm.

3.3 Amostras

As amostras de laranjas foram adquiridas em diferentes supermercados na cidade de João Pessoa, Paraíba, Brasil. Foi feito o suco de laranja de 15 laranjas utilizando um espremedor manual e em seguida o suco foi filtrado com papel quantitativo faixa branca em funil de vidro. As diluições do suco foram feitas diretamente na célula eletroquímica.

3.4 Percentagem do agente modificador para confecção do eletrodo de trabalho

Foi estudada a melhor percentagem do agente modificador para a confecção do eletrodo de trabalho para os estudos de oxidação de MBC: mistura ftalocianina de cobalto, pó de grafite e óleo mineral (**Tabela 3.1**).

Tabela 3.1 – Percentagem do agente modificador para confecção do eletrodo de trabalho.

CoPC (% , m m^{-1})	Pó de grafite (% , m m^{-1})	Óleo mineral (% , m m^{-1})
1	59	40
3	57	40
5	55	40
7	53	40
9	51	40

3.5 Escolha do eletrodo de trabalho

Após escolha da melhor percentagem do agente modificador, foram preparados três eletrodos de trabalho para verificar qual possuía o melhor desempenho de resposta eletroquímica para a oxidação de MBC: eletrodo de pasta de carbono (EPC), eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado (EPC-NCPMF) e eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto (EPC-CoPC), conforme as proporções descritas na **Tabela 3.2**.

Tabela 3.2– Composição dos eletrodos de trabalho estudados.

Eletrodo	Pó de grafite, % (m m^{-1})	Nanotubos de carbono, % (m m^{-1})	Ftalocianina de cobalto, % (m m^{-1})	Óleo mineral, % (m m^{-1})
EPC	70	-	-	30
EPC-NCPMF	20	30	-	50
EPC-CoPC	59	-	1	40

As etapas de confecção dos eletrodos foram realizadas da seguinte forma:

- EPC: foi feita a medida de massa depó de grafite e óleo mineral e misturados com ajuda de um gral e pistilo até completa homogeneização da pasta. Em seguida, a pasta foi compactada em um cilindro de vidro com diâmetrode 4,0 mm, comprimento de 5 cm e um fio de cobre foi utilizado como contato elétrico.
- EPC – NCPMF: foi feita a medida de massa depó de grafite e de nanotubo funcionalizado e óleo mineral, foram misturados com ajuda de um gral e pistilo até completa homogeneização da pasta, em seguida, a pasta foi compactada em um cilindro de vidro com diâmetro de 4,0 mm, comprimento de 5 cm e um fio de cobre foi utilizado como contato elétrico. A descrição da preparação do eletrodo na **Figura 3.2**.

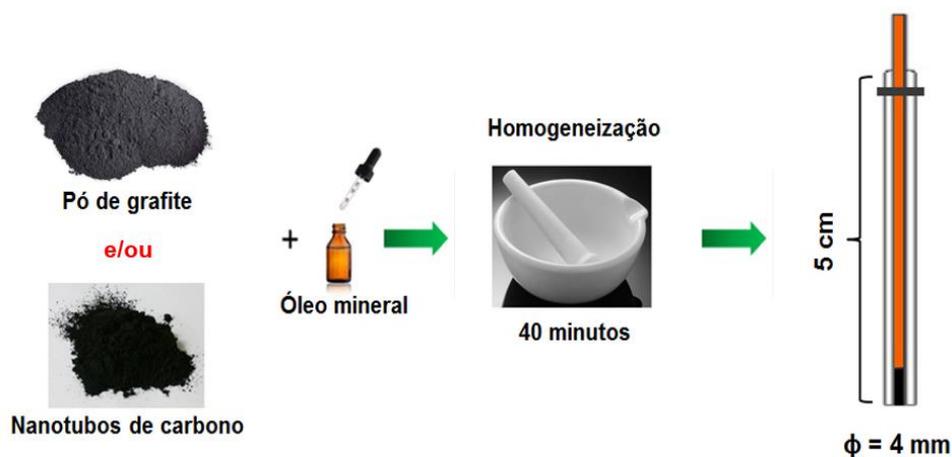


Figura 3.2–Esquema da confecção do eletrodo de EPC e EPC- NCPMF. Adaptado de LÚCIO, 2015.

c) EPC – CoPC: mediu-se a massa de pó de grafite e ftalocianina de cobalto, a mistura foi homogeneizada utilizando um pequeno volume de acetona e em seguida deixou-se agitando com auxílio de agitador magnético até a completa secagem da acetona, requisito importante para a melhor homogeneização e obtenção de medidas reprodutíveis em voltametria. Passado o tempo de homogeneização, a massa de óleo mineral foi medida e acrescentada à mistura. Em seguida, o eletrodo foi confeccionado utilizando um cilindro de vidro com diâmetro de 4,0 mm, comprimento de 5 cm e um fio de cobre foi utilizado como contato elétrico, de acordo com (LOURENÇO, 2016). Descrição da preparação do eletrodo na **Figura 3.3**.

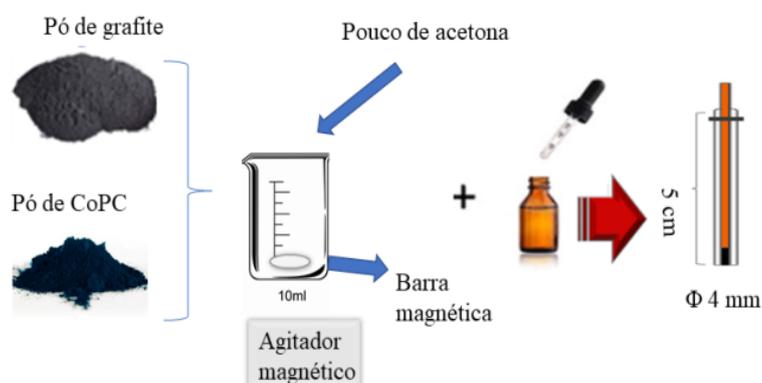


Figura 3.3– Esquema da confecção do eletrodo de EPC - CoPC. Adaptado de LÚCIO, 2015.

Após preparação dos eletrodos estes foram submetidos a polimento em papel manteiga, em seguida lavados com água ultrapura, procedimento realizado entre as medidas.

3.6 Otimização das condições experimentais

Foram otimizados os valores dos parâmetros de onda quadrada para os estudos de MBC sob EPC-CoPC: estudo de incremento de potencial, frequência e amplitude de pulso conforme valores descritos na **Tabela 3.3**.

Tabela 3.3 – Parâmetros eletroquímicos estudados por VOQ para determinação de MBC.

Parâmetros	Intervalo estudado
Incremento de potencial, mV	1 a 7
Frequência, s ⁻¹	10 a 70
Amplitude de pulso, mV	10 a 100

3.5.1 Voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada

A voltametria cíclica foi utilizada para realização do estudo de velocidade, foram obtidos voltamogramas cíclicos da oxidação de MBC em EPC-CoPC, registrados utilizando-se uma célula eletroquímica contendo 5mL de eletrólito de suporte tampão BR pH 4,5, na presença de 1×10^{-2} mol L⁻¹ de MBC. A janela de potencial foi 0 a 1,4 V, utilizando velocidades de varredura de 10 a 200 mV s⁻¹.

A voltametria de onda quadrada foi utilizada para estudos quantitativos de MBC. Os voltamogramas foram registrados utilizando uma célula eletroquímica contendo 5mL de eletrólito de suporte tampão BR pH (4,5) na presença de 1×10^{-4} mol L⁻¹ de MBC uma janela de potencial de 0,6 a 1,2V e parâmetros de VOQ otimizados.

3.5.2 Estudo de pH

A solução utilizada no estudo do eletrólito suporte foi: solução tampão Britton-Robinson (BR) 0,1 mol L⁻¹ preparada da seguinte forma: mistura dos ácidos, acético, bórico e fosfórico. De acordo com os procedimentos descritos por (ENSAFI, *et al.*, 2004): pH ajustado de 2,0 a 12,0 com adições de uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹.

3.6 Tratamento do eletrodo de trabalho

O eletrodo de trabalho EPC-CoPC foi submetido a um tratamento para desaparecimento do pico de oxidação do Co²⁺/ Co³⁺ antes das análises. Foi empregado 10 varreduras sucessivas por VOQ em circuito aberto, tampão BR pH 4,5, sobre 1% EPC-CoPC, seguida de *stripping* anódico 0,92 V. Após etapa de preparação do eletrodo registrava-se um branco entre as medidas.

3.7 Estudo efeito de memória

Para avaliar a reprodutibilidade do eletrodo de EPC- CoPC entre uma medida e outra foi realizado um estudo do efeito de memória da seguinte forma: na célula eletroquímica foi adicionado 100uL de solução de MBC $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e registrado um voltamograma, em seguida retirou-se o eletrodo da célula eletroquímica onde este foi lavado apenas com água ultra pura e em seguida um novo voltamograma foi registrado adicionando 100uL de solução de MBC $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, novamente o eletrodo foi lavado com água ultra pura e foi registrado um novo voltamograma na presença de MBC $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Este procedimento foi repetido por três vezes em medidas independentes.

3.8 Curva analítica para MBC

Estabelecidas as melhores condições para a oxidação de MBC, a Curva analítica foi construída e os voltamogramas de onda quadrada foram obtidos pelas adições crescentes de 100 uL de uma solução padrão de MBC $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em 5mL do eletrólito de suporte tampão BR (pH 4,5) faixa linear de $4,97 \times 10^{-07} \text{ mol L}^{-1}$ à $3,49 \times 10^{-06} \text{ mol L}^{-1}$ sobre 1% EPC-CoPC, utilizando os parâmetros otimizados de VOQ.

3.9 Parâmetros de desempenho analítico

A sensibilidade de um método é uma medida de sua habilidade em distinguir entre pequenas diferenças na concentração do analito. Esta foi avaliada através dos valores de LD e LQ, calculados conforme as **Equações 3.31 e 3.32**. Dez medidas realizadas usando o primeiro ponto da curva analítica em eletrólito tampão BR (pH 4,5) e uma concentração de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC foram usadas para estimar o desvio-padrão da média do sinal analítico, que representa o nível de ruído da técnica (SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002).

$$LD = 3 S_b / b \quad (3.31)$$

$$LQ = 10 S_b / b \quad (3.32)$$

Onde:

S_b = desvio-padrão da média dos dez primeiros pontos da curva analítica

b = sensibilidade da curva analítica (coeficiente angular da reta).

Para avaliar a precisão da medida testes de repetibilidade e reprodutibilidade foram estimados, e calculada em termos de coeficiente de variação, conforme **Equação 3.3** (INMETRO, 2008).

$$CV, \% = (s / \bar{x}) \times 100 \quad (3.3)$$

Onde:

s = desvio padrão do conjunto de medidas

\bar{x} = média do conjunto de medidas

Foram registradas 10 medidas sucessivas, realizadas exatamente do mesmo modo para o teste de repetibilidade. E 6 medidas foram realizadas em dias e com soluções diferentes para estimar a reprodutibilidade. Para os dois testes foram utilizados uma solução de MBC $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

A exatidão do método foi estimada em termos de testes de recuperação em amostras de suco de laranja. Foi adicionada na célula eletroquímica 100 μL de suco de laranja seguida de adições crescentes de uma solução estoque de MBC $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em três diferentes níveis de concentração da curva analítica, $0,0189 \text{ mg L}^{-1}$, $0,0368 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,0531 \text{ mg L}^{-1}$.

3.10 Tratamento dos dados eletroquímicos

A suavização dos voltamogramas obtidos por VOQ e *stripping* voltamétrico foi realizada usando a função *Savitzky and Golays mooth* nível 2 e sua linha de base corrigida com a função *movingaverage* empregando uma janela de potencial de 2 pontos, ambas disponíveis na versão 2.1.2 do *software* Nova, que acompanha o equipamento, proporcionando uma melhor definição dos sinais analíticos. Os gráficos foram construídos utilizando o *software* Origin® 8.0.

As curvas analíticas obtidas para os testes de exatidão foram avaliadas pelo método de análise de variância (ANOVA). Considerando que os erros seguem uma distribuição normal, podemos testar a significância da regressão usando a razão da média quadrática da regressão pela média quadrática do resíduo (MQ_R/MQ_r).

Testando a hipótese nula, pode-se usar o valor efetivamente calculado para média quadrática da regressão dividido pela média quadrática do resíduo (MQ_R/MQ_r) bastando apenas comparar com o valor de F tabelado no nível de confiança desejado. O nível de confiança utilizado foi 95%. Verificando que $(MQ_R/MQ_r) > F$ tabelado e o resíduos são aleatórios, deve-se descartar a hipótese nula $\beta_1 = 0$ (β_1 é um vetor contendo os coeficientes de regressão do modelo polinomial que está sendo proposto). Assim têm-se evidências estatísticas que existe uma relação linear entre as variáveis y e x (BARROS NETO *et al.*, 2010).

Na **Tabela 3.4** estão mostradas as equações utilizadas na ANOVA, onde são verificadas as seguintes somas quadráticas (SQ): regressão (SQR), resíduos (SQ_r), erro puro (SQ_{ep}) e falta de ajuste (SQ_{faj}). Um modelo bem ajustado indica que idealmente deve existir diferença significativa entre a média quadrática da regressão e do resíduo e não existir diferença significativa da média quadrática de falta de ajuste e do erro puro (BARROS NETO *et al.*, 2010).

Tabela 3.4– Análise de variância para o modelo univariado. Fonte: BARROS NETO *et al.*, 2010.

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de g. l.	Média Quadrática
Regressão	$SQ_R = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	$p - 1$	$MQ_R = \frac{SQ_R}{p - 1}$
Resíduos	$SQ_r = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$	$n - p$	$MQ_r = \frac{SQ_r}{n - p}$
Falta de ajuste	$SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	$m - p$	$MQ_{faj} = \frac{SQ_{faj}}{m - p}$
Erro puro	$SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	$n - m$	$MQ_{ep} = \frac{SQ_{ep}}{n - m}$

Onde:

P: representa número de parâmetros do polinômio do modelo de calibração proposto;

n: o número total de medidas;

m: o número de níveis distintos da variável;

i: indica o nível da variável x;

j: correspondente as medidas repetidas da variável y em um nível de x

3.11 Estudo de possíveis interferentes em amostras de laranjas

O estudo dos possíveis interferentes para amostras de laranja na resposta eletroquímica de MBC em EPC- CoPC foi realizado com 100uL de uma solução de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de MBC em tampão BR pH 4,5. Em seguida adicionou-se: 100uL de uma solução de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de ácido cítrico e ácido ascórbico para registro dos voltamogramas. A técnica utilizada para o estudo foi VOQ, com janela de potencial entre 0,6 e 1,2 V e parâmetros de VOQ ajustados.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Influência da percentagem do agente modificador

As respostas voltamétricas para MBC em eletrodo de pasta de carbono modificado com percentagens crescentes de ftalocianina de cobalto estão apresentadas na **Figura 4.1**.

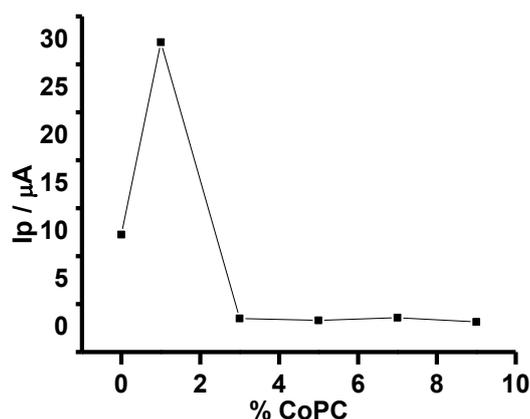


Figura 4.1—Relação entre I_p vs a % da influência EPC-CoPC na resposta voltamétrica MBC 10^{-4} mol L⁻¹, tampão BR pH 4,5 para diferentes percentagens de EPC-CoPC: 1, 3, 5, 7 e 9 %. Em tampão BR pH 4,5; janela de potencial de 0,6 a 1,2 V.

A relação entre I_p vs % CoPC evidenciou que a resposta mais sensível foi obtida para o eletrodo modificado com 1% de CoPC na pasta de carbono. Percebe-se significativa diminuição da intensidade de corrente para concentrações acima de 1%, provavelmente associada ao aumento da resistência elétrica, que desfavorece a transferência de elétrons no interior do eletrodo, fato também evidenciado por Nascimento e colaboradores, 2013, que investigou a percentagem de ftalocianina de cobalto em eletrodo de pasta de carbono para determinação de ácido cítrico (NASCIMENTO *et al.*, 2013).

4.2 Resposta eletroquímica de MBC em diferentes eletrodos de trabalho

A oxidação de MBC foi estudada em três diferentes eletrodos de trabalho: pasta de carbono sem modificação (EPC) eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubo de carbono de paredes múltiplas funcionalizado (EPC-NCPMF) e eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto (EPC-CoPC) (**Figura 4.2**).

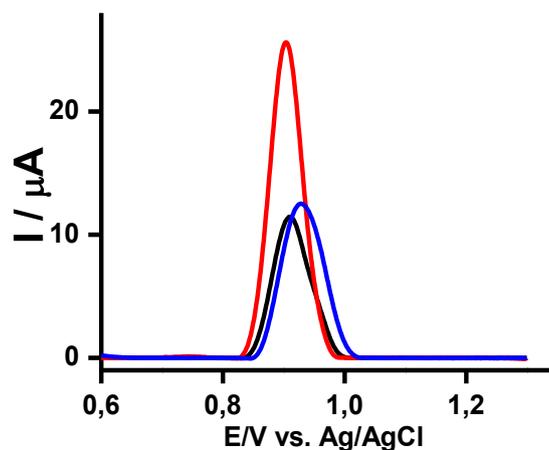


Figura 4.2 – Voltamogramas de onda quadrada com linha de base corrigida de MBC 10^{-4} mol L $^{-1}$, registrados em diferentes eletrodos: EPC (—); EPC-NCPMF (—); EPC - CoPC 1% (—) em tampão Britton Robson (pH 4,5); janela de potencial de 0,6 a 1,2 V.

As propriedades elétricas do grafite são bem conhecidas. De fato, o grafite possui condutividade elétrica devido à alta mobilidade de elétrons em sua estrutura. Quando associado aos NTC, que também apresentam ótima condutividade, especialmente pela deslocalização dos elétrons π , o transporte de elétrons deve ser mais favorecido (GOMES, 2010; NOSSOL, 2009).

Neste caso, pode-se observar que não houve significativo aumento da intensidade para o EPC-NCPMF em comparação com EPC no eletrólito estudado. Entretanto, a resposta voltamétrica mais sensível para MBC foi obtida com o uso do eletrodo de EPC-CoPC, com sinal referente a um processo de oxidação em potencial de 0,93 V, indicando um ganho expressivo de sensibilidade analítica.

O comportamento pode ser explicado devido à atividade eletrocatalítica da CoPC, que pode estar associada tanto a processos de oxirredução que ocorrem no anel da ftalocianina quanto a processos reversíveis relacionados ao centro metálico ($\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{3+}$).

No caso do EPC-CoPc 1%, o modificador químico, homogeneamente distribuído por toda a pasta de carbono, atua como mediador elétrico, favorecendo a transferência de elétrons (MORAES, 2009), o que justifica a modificação do EPC para o desenvolvimento de uma nova metodologia analítica para quantificação de MBC em baixas concentrações.

4.3 Voltametria cíclica: comportamento eletroquímico de MBC em EPC-CoPC 1%

Na **Figura 4.3a e 4.3b**, observa-se que na região de potenciais positivos, um sinal analítico em aproximadamente $P_{1a} \approx +0,93$ V, já na região de potencial negativo aparece outro sinal em aproximadamente $P_{1c} \approx -0,89$ V. O perfil voltamétrico indica tratar-se de um processo reversível, que será avaliado por ferramentas de diagnóstico para resultados de VC e VOQ, posteriormente.

À medida que aumenta a velocidade de varredura (**Figura 4.3b**), percebe-se um novo pico anódico em $P_{2a} \approx +0,6$ V e outro catódico em $P_{2c} \approx -0,6$, associado a processos de oxirredução reversível do cobalto, $\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{3+}$ (MARRE, 2000; AMINI, 2003; LOURENÇO 2016).

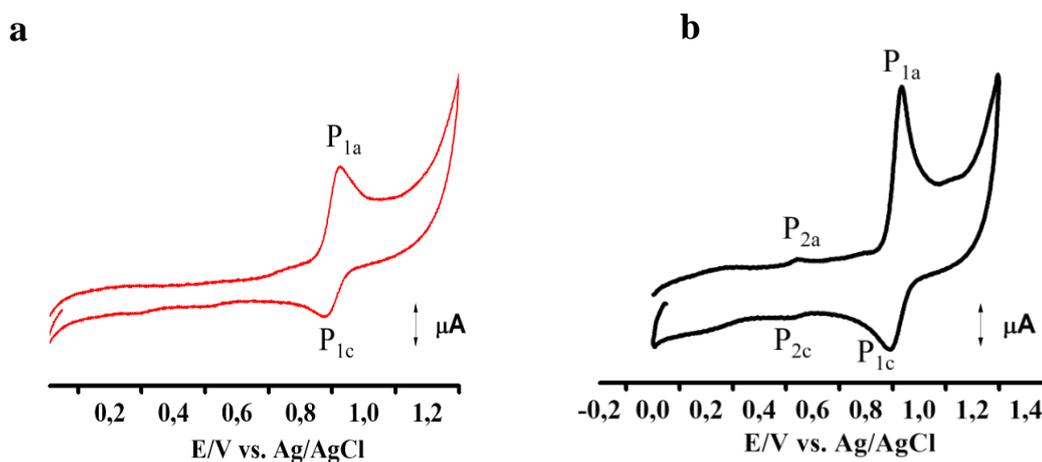


Figura 4.3– Voltamogramas cíclicos de uma solução MBC 1×10^{-2} mol L^{-1} sobre EPC-CoPC 1%, tampão BR (pH 4,5); velocidades de varredura: a) (—) 30 mV s^{-1} ; b) (—) 50 mV s^{-1} .

4.3.1 Estudo de velocidade de varredura

Um estudo de velocidade de varredura foi realizado para avaliar a reversibilidade do processo de oxirredução de MBC sobre EPC-CoPC, por VC

(Figura 4.4).

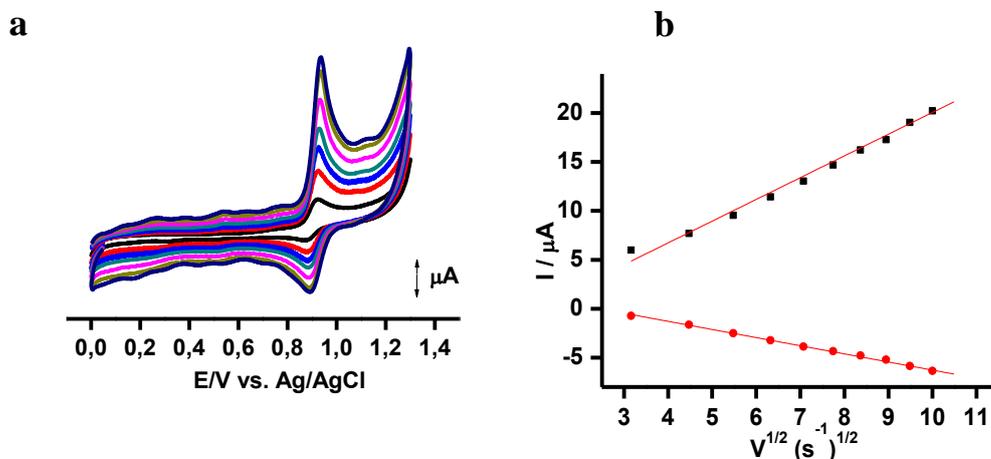


Figura 4.4– a) Voltamogramas cíclicos de uma solução MBC $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o 1% CoPC; em diferentes velocidades de varredura: (—) 10, (—) 30; (—) 50; (—) 70; (—) 100; (—) 130; e (—) 150 mV; 4.3.1 – b) Relação da I_p vs. $v^{1/2} (\text{s}^{-1})^{1/2}$.

Analisando a **Figura 4.4 a**, observa-se que o aumento da velocidade de varredura não resultou em deslocamentos dos potenciais anódicos e catódicos, ou seja, ΔE_p permaneceu praticamente constante. O valor médio calculado para a razão I_{pa}/I_{pc} correspondeu a $1,16 \pm 0,04$ ($n = 7$). O diagnóstico indica que se trata de processo reversível, de acordo com o previsto na literatura, em que o potencial de pico (E_p) independe da velocidade de varredura e a razão I_{pa}/I_{pc} tende à unidade (**Tabela 2.2, seção 2.4**).

Para sistemas reversíveis ou irreversíveis, I_p varia linearmente com $v^{1/2} (\text{s}^{-1})^{1/2}$, passando pela origem dos pontos. No entanto, o gráfico I_p vs. $v^{1/2} (\text{s}^{-1})^{1/2}$ pode apresentar desvio de linearidade e um valor diferente de zero para o coeficiente linear se no processo eletrodico estiverem envolvidas reações químicas anteriores ou posteriores à transferência eletrônica.

Como se observa na **Figura 4.4 b** existe uma dependência linear da I_p vs. $v^{1/2} (\text{s}^{-1})^{1/2}$, no entanto, não passou pela origem. Isso é uma evidência que as reações eletrodicas são controladas difusionalmente, mas há reações químicas acopladas à transferência de carga (**SILVEIRA, 2008**). Valores de R^2 de 0,9894 e 0,9802 para $I_{pc}eI_{pa}$ são respectivamente (**Equações 4.31 e 4.32**).

$$I_{pc} (\mu A) = 3,2622 \times 10^{-7} - 1,2634 \times 10^{-6} (\text{mV}^{1/2} \text{ s}^{-1/2}) \quad R^2 = 0,9894 \quad \mathbf{4.31}$$

$$I_{pa} (\mu A) = -1,13849 \times 10^{-7} + 5,1918 \times 10^{-6} (\text{mV}^{1/2} \text{ s}^{-1/2}) \quad R^2 = 0,9802 \quad \mathbf{4.32}$$

4.4 Voltametria de onda quadrada

4.4.1 Influência do pH

Os resultados do estudo da influência do pH na oxidação de MBC (**Figura 4.5a**) estão apresentados os voltamogramas de onda quadrada de MBC $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ onde ocorre uma dependência da intensidade de corrente e do potencial de pico em relação à variação do pH. O aumento do pH provoca deslocamentos dos potenciais para valores menos positivos. No entanto, a resposta mais sensível foi observada em pH 4,5 (**Figuras 4.5 - a e 4.5 - b**), escolhida para os estudos quantitativos.

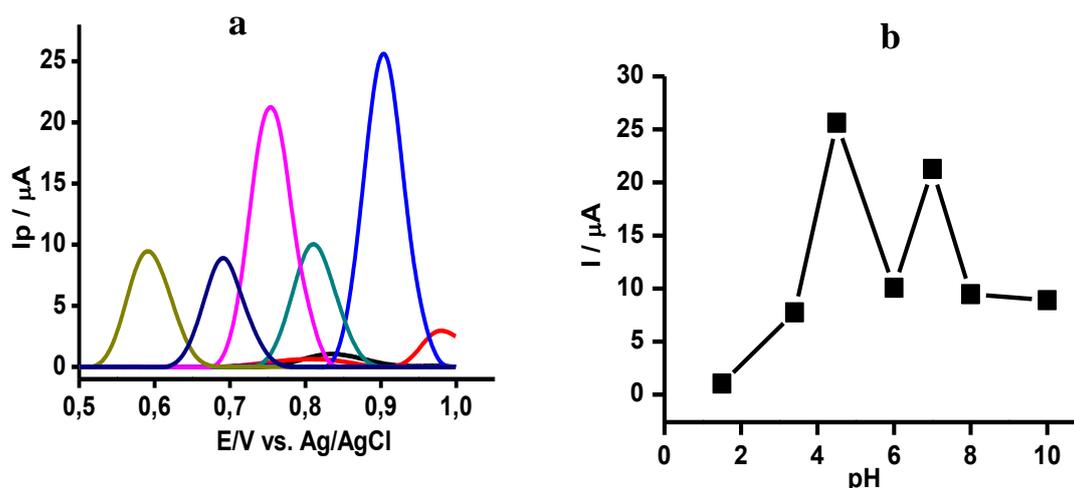


Figura 4.5–a) Voltamogramas de onda quadrada com linha de base corrigida. Estudo de pH tampão BR:1,5 (—) pH 3,4 (—) pH 4,5 (—) pH 6,0 (—) pH 7,0 (—) pH 8,0 (—) pH 10,0 (—); MBC $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o 1% CoPC; b) relação I_p vs pH; $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$.

Ondas reversíveis foram registradas por VOQ, correspondentes às correntes direta e reversa para uma solução de MBC $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR 4,5 (**Figura 4.6**).

Foi observado um pico anódico $P_{1a} \approx 0,98$ e outro catódico em $P_{1c} \approx -0,98$, comprovando que trata-se de processo reversível, pois não há deslocamentos nos potenciais anódico e catódico, ou seja, são simétricos. Este diagnóstico corrobora a discussão feita para

os resultados de VC. Além disso, observam-se picos em $P_{2a} \approx 0,78$ e $P_{2c} \approx -0,78$, correspondentes às reações redox do cátion Co^{2+} (ABBASPOUR, 2004).

Este comportamento também foi estudado por Lourenço, 2016, em tampão acetato (pH 4,5), onde foram registradas ondas reversíveis em potenciais próximos a 0,77 da oxidação do cátion Co^{2+} (LOURENÇO, 2016).

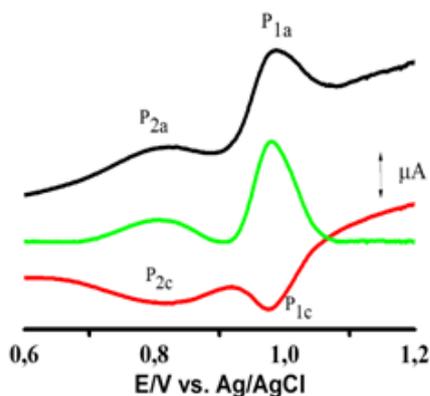


Figura 4.6– Respostas voltamétricas para uma solução de MBC $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em pH 4,5 BR. Voltamogramas VOQ mostrando as componentes das correntes registradas: (—) resultante, (—) direta e (—) reversa. $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$.

4.4.2 Otimização dos parâmetros de VOQ

Após os estudos realizados na VC, a VOQ foi utilizada para os próximos estudos, onde inicialmente, buscou-se encontrar condições ótimas a partir da avaliação dos parâmetros eletroquímicos, os quais influenciam diretamente na sensibilidade da técnica em estudo (BARD *et al.*, 2001).

A velocidade de varredura na VOQ resulta do produto entre a frequência de aplicação do pulso e incremento de potencial, influenciando diretamente na sensibilidade do método desenvolvido (BARD *et al.*, 2001). Nessa perspectiva, o incremento, a frequência de aplicação do pulso de potencial e a amplitude de pulso foram avaliados individualmente.

Assim, o incremento foi o primeiro parâmetro a ser avaliado numa faixa de 1,0 a 7,0 mV (Figura 4.7 - a e 4.7- b), fixando os valores de $f = 25 \text{ s}^{-1}$ e $a = 30 \text{ mV}$.

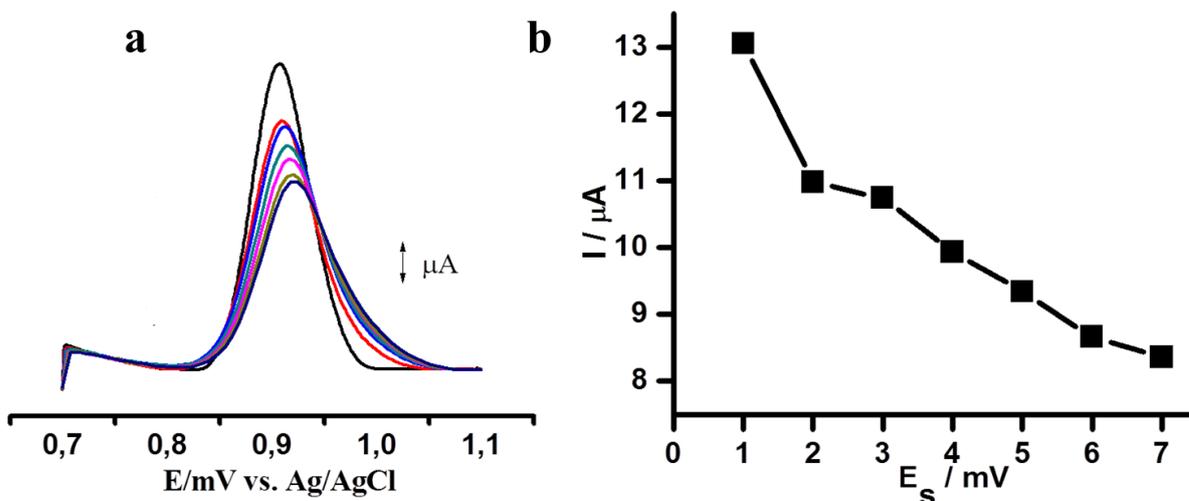


Figura 4.7– a)Estudo do incremento de potencial voltamogramas de onda quadrada com linha de base ΔE_s 1 (—); 2 (—); 3 (—); 4 (—); 5 (—); 6 (—); 7 (—). **Figura 4.7 – b)** Relação entre I_p vs E_s /Mvcom incremento de potencial variando de 1 a 7 para uma solução 1×10^{-4} mol L⁻¹ de MBC em tampão BR (pH 4,5) sobre EPC-CoPC.

Pode-se observar que o aumento do ΔE_s não provocou deslocamentos do potencial de pico, no entanto, houve diminuição da intensidade de corrente (**Figura 4.7a**).

Ainda, este estudo revelou uma maior sensibilidade para menores valores de incremento, ou seja, à medida que os valores de incremento aumentam, a sensibilidade diminui, refletindo em menores valores de intensidade de corrente. Diante deste comportamento, o incremento 1mV foi escolhido para os próximos estudos, por apresentar maior sensibilidade (**Figura 4.7b**).

Para os estudos da frequência estão mostrados na **Figura 4.8 - a** os voltamogramas de onda quadrada e na **Figura 4.8 - b** a relação entre a I_p vs f , onde se pode observar a influência da frequência sobre a corrente de pico para MBC, na faixa de 10 a 70 s⁻¹. Como resultado, houve um aumento na corrente de pico à medida que a frequência aumenta até valores de 40 s⁻¹. No entanto, para valores acima de 40 s⁻¹ constata-se o decaimento da corrente de pico, como também uma pequena variação do potencial para valores mais positivos. A frequência de 20 s⁻¹ foi escolhida por apresentar uma relação satisfatória entre sensibilidade e largura de pico, de forma a não comprometer a sensibilidade, sem perdas de resolução por alargamento de pico.

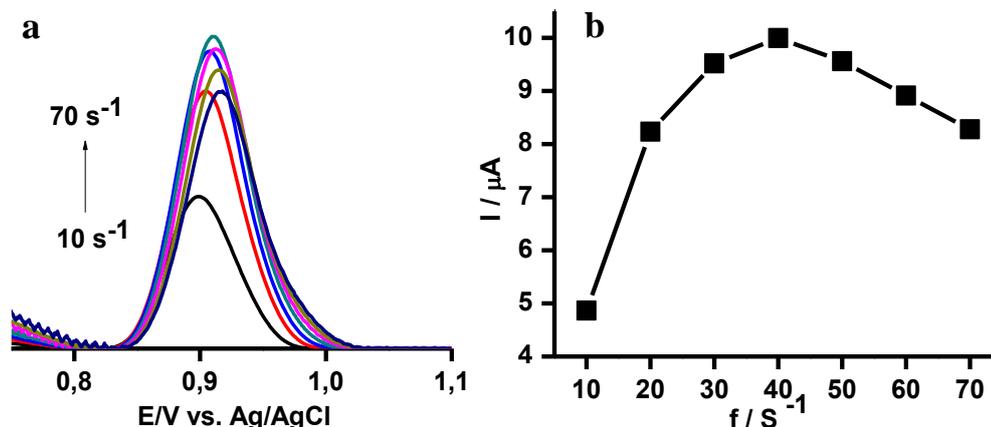


Figura 4.8 – a): Voltamogramas de VOQ de estudo da frequência: 10 (—); 20 (—); 30 (—); 40 (—); 50 (—); 60 (—); 70 (—) com linha de base corrigida de uma solução $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC em tampão Briton Robson (pH 4,5) sobre EPC-CoPC. b): Relação I vs $f \text{ s}^{-1}$

Outro parâmetro importante para a obtenção de melhores resultados por VOQ é a amplitude de pulso. A influência da amplitude do pulso sobre a intensidade da corrente de pico também foi estudada considerando valores na faixa de 10 à 100 mV, fixando os valores de incremento e frequência estudados anteriormente. A variação da amplitude influencia diretamente na seletividade do pico, que tende a alargar para maiores valores de amplitude (ZOSKY, 2006).

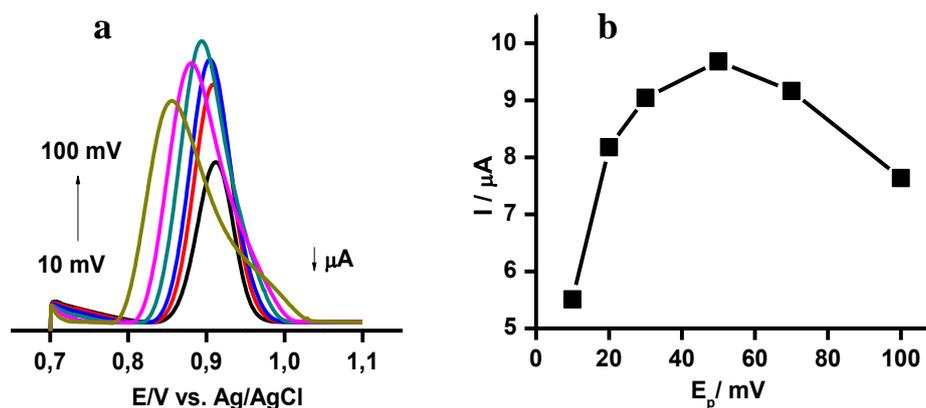


Figura 4.9–a): Voltamogramas de onda quadrada para estudo da amplitude de pulso: 10 (—); 20 (—); 30 (—); 50 (—); 70 (—); 100 mV (—) com linha de base corrigida de uma solução $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC em tampão Briton Robson (pH 4,5) sobre EPC-CoPC. b): Relação I vs. ΔE_p .

Comentando a (Figura 4.9a) é possível observar que o aumento da amplitude até valores de 30 mV favorece o aumento da intensidade da corrente de pico, sem deslocamento

ou alargamento de pico. Para valores acima de 30 mV, pode-se observar deslocamento de potencial de pico para valores menos positivos e alargamentos dos picos.

Assim, uma amplitude de 30 mV foi escolhida por apresentar o melhor perfil, garantindo sensibilidade e seletividade da resposta analítica.

Portanto, os parâmetros escolhidos para este estudo correspondem:

Tabela 4.1 – parâmetros escolhidos por VOQ

Parâmetros escolhidos	Intervalo estudado
Incremento de potencial, mV	1
Frequência, s ⁻¹	20
Amplitude de pulso, mV	30

4.5 Tratamento do eletrodo de trabalho

Na literatura, estão discutidos estudos sobre a natureza do comportamento eletroquímico de CoPC imobilizada em diferentes substratos de carbono, onde tratamentos são utilizados para o promover o desaparecimento da intensidade de corrente de pico associada à oxidação do Co²⁺, que viabilizam a determinação de diferentes espécies (ÖZGÜL, 2015; LOURENÇO, 2016).

Neste trabalho, o EPC-CoPC apresentou resposta voltamétrica em $\approx 0,8$ V, próxima ao potencial de oxidação do MBC ($E_p = + 0,98$ V), que interfere na determinação do analito em baixas concentrações.

Na **Figura 4.9- a)** estão apresentados voltamogramas correspondentes a 10 varreduras sucessivas registradas para o EPC-CoPC em tampão BR pH 4,5, onde observa-se o desaparecimento do sinal após as 10 varreduras. No entanto, uma nova medida do branco evidenciou o reaparecimento do sinal (**Figura 4.9 -b)**.

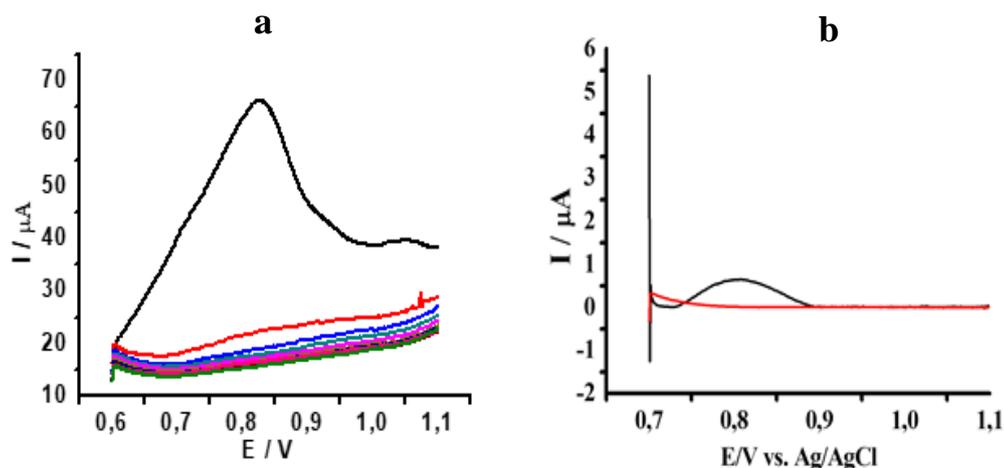


Figura 4.10–a) 10 varreduras sucessivas por VOQ em circuito aberto para limpeza do eletrodo EPC-CoPC, tampão BR pH 4,5, sobre 1% EPC-CoPC; $f = 20 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$. b) medida do branco após 10 varreduras em eletrólito suporte (—) e após *stripping* anódico (—).

Assim, novo tratamento foi testado utilizando 10 varreduras sucessivas de brancos, seguida de *stripping* anódico, aplicando potencial de + 0,92 V durante 45 s, seguidas de medida do branco, conforme mostrado na (Figura 4.9–b).

O *stripping* anódico, além de resolver o problema de interferência do sinal de oxidação do Co^{2+} , contribuiu com aumento da intensidade de sinal de MBC por pré-concentração. Conforme mostrado na Figura 4.10, observa-se que a melhor resposta foi obtida para um tempo de *stripping* de 45 s.

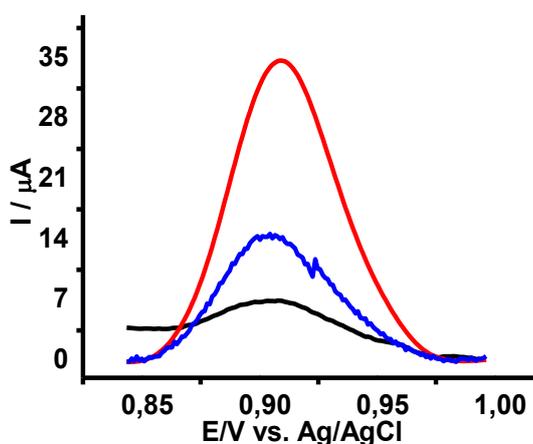


Figura 4.11– Estudo do tempo de *stripping* aplicando potencial +0,92 V para os seguintes tempos de deposição: (—) 15 s; (—) 45s; (—) 60s, tampão BR pH 4,5 MBC $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o 1% CoPC; $f = 20 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$.

As técnicas de *stripping* são usualmente empregadas quando se pretende promover a pré-concentração de analitos na superfície do eletrodo de trabalho, o que favorece o aumento da intensidade de corrente de pico, diminuindo limites de detecção da espécie que se deseja estudar (AHMAD, 2010).

4.6 Avaliação do efeito de memória EPC-CoPC

O desafio de se utilizar eletrodos sólidos para fins analíticos de análises de rotina é quanto à regeneração da superfície do eletrodo após uma medida voltamétrica. Para avaliar a magnitude do efeito de memória na determinação de MBC frente à modificação com EPC-CoPC, foram registrados voltamogramas em diferentes concentrações de MBC.

Primeiramente foi registrado um voltamograma em VOQ de MBC $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em seguida o eletrodo foi retirado da célula eletroquímica e lavado apenas com água e em seguida registrou-se um novo voltamograma em uma concentração diferente $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Conforme pode ser verificado na **Figura 4.11**, três medidas independentes foram realizadas entre uma concentração e outra e o que se verifica é que o eletrodo não guarda informações entre uma medida e outra, indicando a plena regeneração da atividade do sensor após o uso, através de uma simples lavagem com água ultrapura.

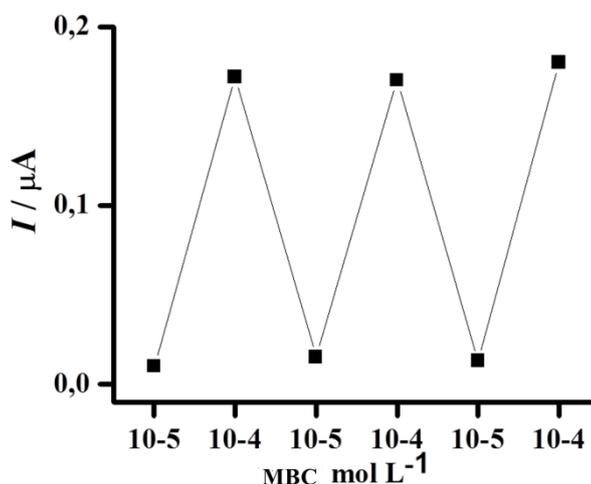


Figura 4.12– Estudo do efeito de memória sobre 1% CoPC em soluções de CAR $1,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ tampão BR pH 4.5.

4.7 Possíveis interferentes na determinação de MBC em suco de laranja

A influência de compostos interferentes eletroativos na resposta de MBC foi avaliada. São exemplos o ácido cítrico e o ácido ascórbico, usualmente presentes em frutas cítricas como a laranja.

Na **Figura 4.11**, estão mostrados os voltamogramas, onde se pode observar que o ácido cítrico responde em potencial de $\approx 0,8$ V e o ácido ascórbico em $\approx 0,85$ V, potenciais próximo ao potencial de oxidação do MBC (+ 0,98 V), desse modo, estes podem vir a interferir durante a determinação de MBC em amostra de laranja.

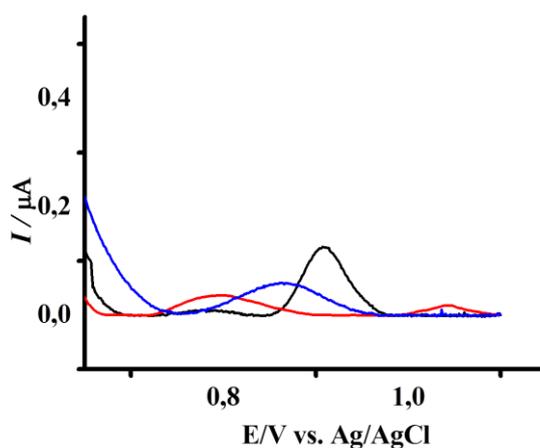


Figura 4.13—Estudo de possíveis interferentes na determinação MBC em suco de laranja. Voltamogramas de VOQ com linha de base corrigida: MBC (—); ácido cítrico (—); ácido ascórbico (—) de uma solução 1×10^{-4} mol L^{-1} MBC sobre o 1% CoPC; $f = 20$ s^{-1} , $\Delta E_s = 1$ mV, $a = 30$ mV.

4.8 Curva analítica e parâmetros de desempenho analítico

Na **Figura 4.13**, estão apresentados os voltamogramas de onda quadrada e a curva analítica de MBC para a faixa linear de 95,11 a 667,9 $\mu g L^{-1}$, eletrólito de suporte BR (pH 4,5), $I_p = 0,1897 - 3 \times 10^{-8}$, $R^2 = 0,9987$.

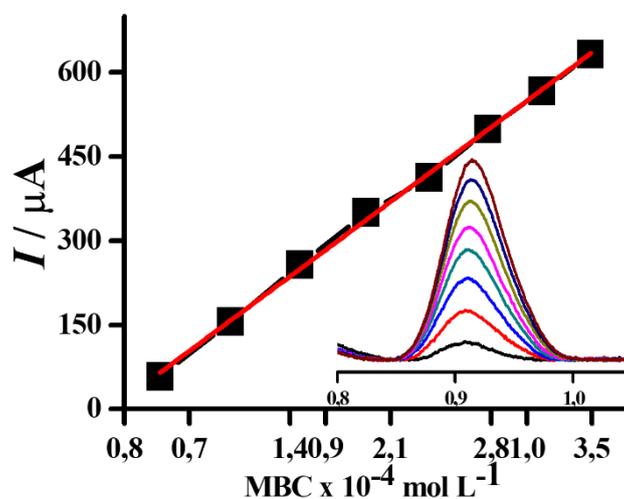


Figura 4.14– Curva analítica e voltamogramas de onda quadrada para adições crescentes de MBC, tampão BR (pH 4,5) sobre 1% CoPC; $f = 20 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$.

Valores de LD e LQ foram calculados com base nas **Equações 3.31 e 3.32**, descritas na seção **3.9**, correspondendo a $12,2 \mu\text{g L}^{-1}$ e $40,1 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Comparado com dados da literatura, o método proposto para determinação de MBC por voltametria de onda quadrada usando o EPC-CoPC mostrou-se sensível, baixo limite de detecção.

A **Tabela 4.1** mostra a comparação de limite de detecção alcançada para determinação de pesticidas carbamatos por técnicas cromatográficas e eletroanalíticas em amostras de alimentos e em águas.

Tabela 4.2– Comparação entre os resultados publicados na literatura para determinação de pesticidas carbamatospor diferentes técnicas e o presente estudo.

Técnica	Amostra	LD($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referências
QuEChERS-HPLC-DAD	Hortalças	0,79 – 58,8	SOUSA <i>et al.</i> , 2017
HPLC- DAD	Frutas	100 – 1.000	Ravelo - Pérez <i>et al.</i> , 2009
IL-DLLMEHPLC-DAD	Banana	1,81- 34,1	WATANABE <i>et al.</i> , 2014
HPLC-DAD Diluição em metanol	Suco de frutas processadas	0,32 -12	BOERIS <i>et al.</i> , 2014
QuEChERS/UHPLC–MS/MS	Suco de laranja	3 – 7,6	RIZZETTI, 2016
RTIL-LLME-HPLC-DAD	Suco de fruta e água	2-40	VICHAPONG <i>et al.</i> , 2011
GC/MWCNT/CoPc	Água	1,09	MORAES, <i>et al</i> 2009
SiO ₂ /MW\ CNT/GCE	Suco de laranja	11	RAZZINO, <i>et al</i> 2015
EPC- CoPC/SWV	Suco de laranja	12,2	Neste trabalho

Vale ressaltar que neste estudo, houve o mínimo de preparo da amostra antes das análises, em comparação como as que são utilizadas nas determinações cromatográficas, o que é considerado uma vantagem. Além do que o EPC – CoPC é um sensor de simples confecção, que possibilita fácil renovação da superfície, ainda apresenta baixo custo e a vantagem de rápida confecção quando comparado com modificações realizadas sobre eletrodos sólidos, as quais requerem longo tempo e que podem comprometer a reprodutibilidade das medidas (MANISANKAR *et al.*, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2012). Assim, com as vantagens apresentadas do EPC – CoPC este pode ser empregado para determinação de MBC em outras matrizes.

4.9 Estudo de precisão e exatidão do método

A precisão do método foi avaliada em termos de repetibilidade, reprodutibilidade. A repetibilidade 10 medidas sucessivas com desvio padrão $3,96 \times 10^{-9}$ e a reprodutibilidade as 6 medidas apresentaram desvio padrão $4,59 \times 10^{-9}$ realizadas durante diferentes dias e eletrodos diferentes com solução de MBC 1×10^{-4} mol L⁻¹. Os valores de repetibilidade e reprodutibilidade encontradas são satisfatórias, com desvio padrão relativos abaixo de 20% limites considerados aceitáveis para pesticidas, (GALLI, *et al* 2006).

Testes de recuperação foram utilizados para avaliar a exatidão do método em amostras de suco de laranja, utilizando o método de adição de padrão. As curvas referentes às referências às fortificações de MBC nas amostras de suco de laranja estão apresentadas na Figura 4.15 e as equações na Tabela 4.2.

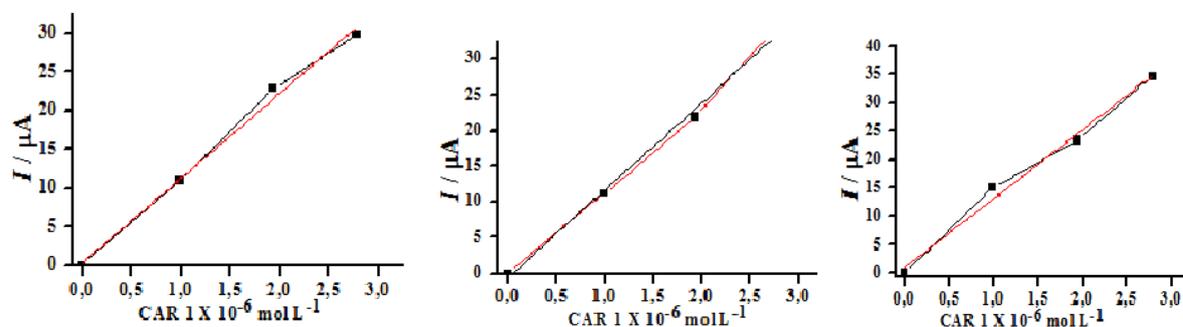


Figura 4.15– Curvas de adições crescentes de MBC em amostras de laranjas, tampão BR (pH 4,5) sobre 1% CoPC; $f = 20 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 30 \text{ mV}$ por VOQ.

Tabela 4.3–Equações da reta referentes às adições de padrão em suco de laranja fortificadas com MBC.

$Y = 0,1096 x + 3 \times 10^{-09} R^2 = 0,9948$
$Y = 0,1221 x - 6 \times 10^{-09} R^2 = 0,996$
$Y = 0,1211 x + 1 \times 10^{-09} R^2 = 0,9905$

Os resultados obtidos pela ANOVA para as curvas analíticas das fortificações estão descritos na **Tabela 4.3**

Tabela 4.4 – Resultados da análise de variância para as curvas analíticas dos testes de recuperação obtida com o EPC -CoPC, na faixa linear de $9,9 \times 10^{-7}$ a $2,7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

ANOVA	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	Razão Estatística
Regressão	$7,32 \times 10^{-14}$	1	$7,32 \times 10^{-14}$	46
Resíduo	$1,59 \times 10^{-15}$	7	$1,59 \times 10^{-15}$	
Falta de ajuste	$1,20 \times 10^{-17}$	1	$1,20 \times 10^{-17}$	0,0458
Erro Puro	$1,57 \times 10^{-15}$	6	$2,62 \times 10^{-16}$	
Erro Puro	$7,47 \times 10^{-15}$	8		

O valor encontrado para avaliar a significância de regressão é muito maior que o valor do ponto de distribuição de F tabelado a 95 %, o valor do resultado encontrado para a falta de

ajuste é muito menor considerando o mesmo nível de confiança e para os graus de liberdade descritos na **Tabela 4.3** Assim como resultado o modelo possui significância elevada e não há nenhuma evidência de falta de ajuste para o modelo de regressão linear (BARROS NETO *et al.*, 2010).

Os resultados obtidos dos estudos de recuperação de MBC em suco de laranja em EPC–CoPC foram satisfatórios, no entanto, houve diminuição na intensidade de sinal para o MBC, mas não comprometeu a sensibilidade do eletrodo, considerando uma faixa de concentração entre $9,9 \times 10^{-7}$ a $2,7 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Os valores médios obtidos para as recuperações foram 102 %, 93,8 % e 98,2 %, respectivamente, a faixa de valores de recuperação aceitáveis para pesticidas é de 70 a 120% (GALLI, *et al* 2006). É possível observar pelos dados descritos na **Tabela 4.4** que os valores médios de recuperação são satisfatórios não evidenciando presença de interferentes durante a etapa de determinação de MBC em laranjas.

Tabela 4.5 – Resultados do estudo de recuperação para MBC em amostras de suco de laranja.

Amostras de suco de laranja	[MBC]x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ adicionada	[MBC]x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ recuperado	Recuperação (%)	CV (%)
AM1	$9,90 \times 10^{-07}$	$1,01 \times 10^{-07}$	102	2,7
AM 2	$1,93 \times 10^{-06}$	$1,81 \times 10^{-06}$	93,8	3,1
AM 3	$2,78 \times 10^{-06}$	$2,73 \times 10^{-06}$	98,2	8,1

Considerado o fato de ter sido empregado o mínimo de pré-tratamento na amostra, o método mostrou-se muito eficaz comparado às análises cromatográficas que utilizam solventes orgânicos como etapas de pré – tratamento da amostra, utilizar EPC – CoPC para quantificar MBC por VOQ apresenta vantagens: baixo custo, repetibilidade e reprodutibilidade, sendo promissor para ser aplicado em outras matrizes de alimentos.

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

Este trabalho é pioneiro nos estudos de oxidação eletroquímica do MBC sobre EPC-CoPC. A confecção do EPC-CoPC mostrou-se extremamente eficaz para a determinação de MBC em baixas concentrações. O eletrodo é de simples confecção, fácil renovação da superfície baixo custo. O estudo da percentagem de EPC-CoPC como agente modificador em pasta de carbono indicou que a melhor percentagem foi 1% CoPC.

Estudos realizados por VC e VOQ demonstraram que MBC sofre dois processos de oxidação. O primeiro foi observado para a primeira varredura de potencial, correspondente à oxidação de MBC. Após a segunda varredura de potencial, outro processo foi registrado, possivelmente tratando-se da oxidação do cobalto ($\text{Co}^{+2}/\text{Co}^{+3}$).

Para o sinal analítico do MBC, foi investigada a natureza do processo e, pelos diagnósticos feitos por VC e VOQ, indicou que se trata de um sistema reversível e é uma evidência que as reações eletródicas são controladas por difusão sobre a superfície do eletrodo EPC-CoPC.

O estudo de pH em tampão BR mostrou que a oxidação eletroquímica do MBC é dependente do pH, pois à medida que se aumenta o pH acima de (6,0) ocorre deslocamento nos potenciais de oxidação e mudança na intensidade de corrente, mostrando-se menos sensíveis para esses valores de pH. Já em valores de pH ácidos, o pH 4,5 apresentou maior sensibilidade para MBC, maior intensidade de corrente de pico sendo este escolhido para estudos quantitativos.

A curva analítica resultou em valores de LD de $12,2 \mu\text{g L}^{-1}$ e LQ $40,08 \mu\text{g L}^{-1}$. Estes limites estão dentro da faixa de valores de LMR permitida pela ANVISA que prevê em humanos a ingestão de MBC em laranjas de $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ em relação ao peso corpóreo. Valores satisfatórios de repetibilidade, reprodutibilidade e níveis de recuperações para determinação de MBC para avaliar a exatidão do método apontam que as percentagens de recuperações para as amostras de suco de laranja foram satisfatórias, para esse estudo.

O uso do EPC-CoPC para oxidação de MBC demonstrou aplicabilidade para as amostras estudadas, com a vantagem da utilização de instrumentação simplificada e de baixo custo tanto para aquisição quanto para manutenção, rápida resposta analítica, elevada sensibilidade, promissor para aplicação em outras matrizes de alimentos.

REFERÊNCIAS

- ABBASPOUR, A.; MEHRGARDI, A.; KIA R. Electrocatalytic oxidation of guanine and ss. DNA at a cobalt II phthalocyanine modified carbon past eletrod. J. of. **Electroanal. Chemistry**, v. 568, p. 261 – 266, 2004.
- ABRASCO. **Associação Brasileira de Saúde Coletiva**. Dossiê Agrotóxicos. Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Disponível em: <http://abrasco.org.br/dossieagrotoxicos>. Acesso em: dezembro, 2017.
- AHMAD H. ALGHAMDI. Applications of stripping voltammetric techniques in food analysis. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 3, p. 1–7, 2010.
- AMINI, M. K.; KHORASANI, J. H., KHALOO, S. S.,AND TANGESTANINEJAD, S., Cobalt (II) salophen-modified carbon-paste electrode for potentiometric and voltammetric determination of cysteine. **Analytical Biochemistry**, v. 320, p.32–38, 2003.
- ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em <http://Anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_dados_agr_otoxico.asp >. Acesso em: novembro de 2016.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)** – Relatório Complementar Relativo à Análises de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. Amostras coletadas entre 2013 e 2015. Brasília/DF, 2016.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 635 – C24**: Carbendazim. Brasília/DF, 2009.
- ARDUINI, F. A.; FRANCESCO, R. A.; CATALIN, S.; TUTA, A.; DANILA, M.; AZIZ, A.; GIUSEPPE, P. Detection of carbamic and organophosphorous pesticides in water samples using a cholinesterase biosensor based on Prussian Blue-modified screen-printed electrode. **AnalyticaChimicaActa**, v. 580, p. 155–162, 2006.
- BAIRD, C. **Chemistry in your life**. 2^a ed. New York: W. H. Free-man, 2006.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods Fundamentals and Applications**. 2ª ed. New York: John Wiley & Sons, INC, 2001.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods Fundamentals and Applications**. 2ª ed. New York: John Wiley & Sons, INC, 2001.

BARROS NETO, BENICIO DE; SCARMINIO, IEDA SPACINO; BRUNS, ROY EDWARD. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na Ciência e na indústria** 4ª. ed. Porto Alegre: Bookman, p.414, 2010.

BENZHI, L.; BO, X.; LIQIANG, C. Electrochemical analysis of carbaryl in fruit samples on graphene oxide-ionic liquid composite modified electrode. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 40, p. 14-18, 2015.

BONI, A. C.; WONG, A.; DUTRA, R. A. F.; SOTOMAYOR, M.D.P.T.; Cobalt phthalocyanine as a biometriccatalyst in the amperometric quantification of dipyrone using FIA. **Talanta**, v. 85, p. 2067 - 2073, 2011.

BRAIBANTE, M. E. F. ; ZAPPE, J.A. . A Química dos Agrotóxicos, de, **Química Nova na Escola**, v. 34, p. 10-15, 2012.

BRANCO, S.M. **Natureza e agroquímicos**. 2ª. ed. São Paulo: Moderna, 2003.

BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A.; **Eletroquímica princípios, métodos e aplicações**. Coimbra: Livraria Almedina, 1996.

CARVALHO, S. E. Q. **Desenvolvimento de aplicações de eletrodos quimicamente modificados com hexacianoferratos dos metais Fe, Ni e Co, 2011**. Dissertação de mestrado, Dissertação de mestrado, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2011.

CHELINHO, S. ET AL.; Toxicity of phenmedipham and carbendazim to *Enchytraeus crypticus* and *Eisenia andrei* (Oligochaeta) in Mediterranean soils. **J. Soils Sediments**, v.14, p. 584–599, 2014.

CLAUDIA A. RAZZINO A, LÍVIA F. SGOBBI A, THIAGO C. CANEVARI A, JULIANA CANCINO B , SERGIO A.S. MACHADO, Sensitive determination of carbendazim in orange

juice by electrode modified with hybrid material. **Analytical Methods**, v.170, p.360–365, 2015.

CORRÊA, G. T. **Determinação eletroanalítica do herbicida Paraquat em soluções aquosas sobre eletrodos modificados com o sistema quitosana- NiTsPc**, 2013. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós graduação em Química, São Luís, 2013

DE OLIVEIRA, K. T.; DE SOUZA, J. M.; GOBO, N. R. S.; DE ASSIS, F. F.; BROCKSOM, T. J. Conceitos Fundamentais e Aplicações de Fotossensibilizadores do Tipo Porfirinas, Clorinas e Ftalocianinas em Terapias Fotônicas. **Rev. Virtual Quim**, Vol. 7, p. 310-335, 2015.

DELA TORRE, G.; TORRES, T. Synthetic advances in phthalocyanine chemistry *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 6, p. 274, 2002.

DOWNARD, A. J. Electrochemically assisted covalent modification of carbon electrodes. **Electroanalysis**, v. 12, n. 14, p. 1085-1096, 2000.

E. WATANABE, Y. KOBARA, K. BABA, H. EUN, Aqueous acetonitrile extraction for pesticide residue analysis in agricultural products with HPLC-DAD, **Food Chemistry**. v.154 p.7–12, 2014

EMANUELLA SANTOS SOUSA, LICARION PINTO, MARIO CESAR UGULINO DE ARAUJO. A chemometric cleanup using multivariate curve resolution in liquid chromatography: Quantification of pesticide residues in vegetables. **Microchemical Journal** v.134, p. 131–139, 2017.

ENSAFI, A. A., KHAYAMIAN T., KHALOO, S. S. Application of adsorptive cathodic differential pulse stripping method for simultaneous determination of copper and molybdenum using pyrogallol red. **Analytica Chimica Acta**, v. 505, p. 201- 207, 2004.

ERBAHAR, D. D.; GÜROL, I.; GÜMÜS, G.; MUSLUOGLU, EMEL.; ÖZTÜRK, Z. Z.; AHSEN, V.; HARBECK M. Pesticide sensing in water with phthalocyanine based QCM sensors. **Sensors And Actuators B**, v.173, p. 562–568, 2012.

FARAG, A.; EBRAHIM, H.; ELMAZOU DY, R.; KADOUS, E. Developmental Toxicity of Fungicide Carbendazim in Female Mice, **Birth Defects Research (Part B)**, v. 92, p.122-130, 2011.

FARIA, NMX; FASSA, AG; FACCHINI, LA. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 12, p. 25-38, 2007.

FDA-US – FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. FDA **testing orange juice imports for carbendazim**, 2012. Disponível em: <http://www.fda.gov/food/foodsafety/product-specifinformation/fruitsvegetablesjuices/ucm286302.htm>. Acesso em: novembro, 2017.

GALLI, A. D. DE S., GARBELLINI, G. S., COUTINHO, C. F. B., MAZO, L. H., AVACA, L. A. E MACHADO, S. A. S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Quim. Nova**, Vol. 29, No. 1, 105-112, 2006.

GALLI, A.; DJENAINE, D. S.; GUSTAVO, S. G.; CLÁUDIA, F. B. C.; LUIZ, H. M.; LUIS, A. A.; MACHADO, S. A. S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 105-112, 2006.

GAMZE ÖZGÜL, AYS EGÜL TA STEMEL, ALI RIZA ÖZKAYA , MUSTAFA BULUT Synthesis, characterization and comparative electrochemistry of beta and alpha tetra - [4-oxy-3-methoxy benzoic acid] - substituted Zn(II), Co(II) and Cu(II) phthalocyanines, **Polyhedron**, v. 85, p. 181-189, 2015.

GARCIA, C. A. B.; de OLIVEIRA NETO, G.; KUBOTA, L. T. New fructose biosensors utilizing a polypyrrole film and D-fructose 5- dehydrogenase immobilized by different processes. **Analytica Chemica Acta**. v. 374, p. 201-208, 1998.

GOBO, N. R. S. **Estratégias sintéticas para preparação de novos fotossensibilizadores do tipo ftalocianinas**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, 2013.

GOMES, A. H. A. **Comportamento Eletroquímico de Nanotubos de Carbono Suportados sobre Diferentes Substratos**. Dissertação de Mestrado Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada da Universidade Federal de Viçosa, 2010.

HESS, RA; NAKAI, M. Histopathology of the male reproductive system induced by the fungicide benomyl. **Histology and Histopathology**, vol. 15, p. 207- 24, 2000.

HOLLAND, P.T. Glossary of terms relating to pesticides – IUPAC **Commission Report 36. PureAppl. Chem**, v. 68, p. 1167-1193, 1996.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Indicadores de desenvolvimento sustentável, disponível em: <<http://www.sustentabilidade.estadao.com.br/geral,uso-de-agrotoxicos-no-pais-mais-que-dobra->>. Acesso em: novembro, 2017.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008, disponível em: <http://www.Inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_03>. Acesso em novembro de 2017.

ISAACS, M.; AGUIRRE, M. J.; TORO- LABBÉ, A.; COSTAMAGNA, J.; PÁEZ M.; ZAGAL, J. H. Comparative study of the electrocatalytic activity of cobalt phthalocyanine and cobaltonaphthalocyanine of the reduction of oxygen and oxidation of hydrazine. **Electrochim. Acta**, v. 23, p. 1821 – 1827, 1997.

ISAACS, M.; AGUIRRE, M. J.; TORO- LABBÉ, A.; COSTAMAGNA, J.; PÁEZ M.; ZAGAL, J. H. Comparative study of the electrocatalytic activity of cobalt phthalocyanine and cobaltonaphthalocyanine of the reduction of oxygen and oxidation of hydrazine. **Electrochim. Acta**, v. 23, p. 1821-1827, 1997.

IUPAC – **International Union of Pure and Applied Chemistry**. Disponível em: [http://www. https://goldbook.iupac.org/C01172.html](http://www.https://goldbook.iupac.org/C01172.html)> Acesso Dezembro, 2017.

JOHN, P. HART; HARTLEY, I., C., Voltammetric and Amperometric Studies of Thiocholine at a Screen-printed Carbon Electrode Chemically Modified With Cobalt Phthalocyanine: Studies Towards a Pesticide Sensor. **Analyst**, v. 119, p. 259, 1994.

KAMANYIRE R.; KARALLIEDDE L. Organophosphate toxicity and occupational exposure. **Occupational Medicine**, v. 54, p. 69-75, 2004.

KIRSCH-VOLDERS, M.; VANHAUWAERT, A. EICHENLAUB-RITTER, U., & DECORDER. Indirect mechanisms of genotoxicity. **Toxicology Letters**, vol. 11, n. 140-141, p. 63-74, 2003.

KOTTWITZ, J.;LIMA, F.;ARRUDA, G. J.;FIORUCCI, A. R.Determinaçãovoltamétrica do carbendazim em eletrodo de pasta de carbono utilizando voltametria de pulso diferencial. **XLVI Congresso brasileiro de Química- ABQ**. Salvador – BA, 2006.

KOZUB, B. R.; COMPTON, R. G. Voltammetric studies of the redox mediator, cobalt phthalocyanine, with regard to its claimed electrocatalytic properties. **Sensors and Actuators B**, v.147 p.350–358, 2010.

LI, J.; CHI, Y.; Determination of carbendazim with multiwalled carbon nanotubes-polymeric methyl red film modified electrode. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 93, p. 101-104, 2009.

LOURENÇO, S. A. **Detreminaçãovoltamétrica de ácido tartárico/ íon tartárico por oxidação eletrocatalítica em eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto II**. Tese de Doutorado Universidade Federal Rural do Pernambuco – UFRPE, 2016.

LÚCIO, M. M. L. M. **Determinação voltamétrica de triclocarban e carbendazin em produtos de higiene pessoal e água potável**. Tese doutorado - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

MANISANKAR, P. .; SELVANATHAN G, VEDHI C_. Determination of pesticides using heteropolyacidmontmorillonite clay-midified electrode with surfactant, **Talanta**, v. 68, p. 686, 2005.

MAREE, S.; NYOKONG, T. Electrocatalytic behavior of substituted cobalt phthalocyanines towards the oxidation of cysteine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 492, p. 120-127, 2000.

MCCARROLL, NE.; PROTZEL, A.; IOANNOU, Y.; FRANK STACK, H.F.; JACKSON, M.A.; WATERS, M. D.; DEARFIELD, K. L.A survey of EPA/ OPP and open literature on selected pesticide chemicals. III. Mutagenicity and carcinogenicity of benomyl and carbendazim. **Mutation Research**, v. 512, p. 1-35, 2002.

MICHEREFF, S. J. **APOSTILA FITOPATOLOGIA - FUNDAMENTOS DE FITOPATOLOGIA**. Controle Químico de doenças de plantas. Fitopatologia I, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, 2001.

MIRACLE, M. R. NANDINI,S.; SARMA, S. S. S.; VICENTE,E. Endocrine disrupting effects, at different temperatures, on *Moinamicrura* (Cladocera: Crustacea) induced by carbendazim, a fungicide, **Hydrobiologia**, v. 668, p. 155-170, 2011.

MORAES, F. C.; MASCARO, L. H.; MACHADO, S. A. S.; BRETT, C. M. A. Direct electrochemical determination of carbaryl using a multi-walled carbon nanotube/cobalt phthalocyanine modified electrode. **Talanta**, v.79, p. 406–141, 2009.

MORASCH, B.; BONVIN, F.;REISER, H.; GRANDJEAN, D.; DE ALENCASTRO, L. F.; PERAZZOLO, C.; CHÈVRE, N.; KOHN, T. Occurrence and fate of micropollutants in the vidy bay of lake Geneva, Switzerland. Parte II: Micropollutant removal between wastewater and raw drinking water. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.29, p.1658–1668, 2010.

MOREIRA JC, JACOB SC, PERES F, LIMA JS, MEYER A, OLIVEIRA-SILVA JJ, SARCINELLI PN, BATISTA DF, EGLER M, FARIA MVC, ARAÚJO AJ, KUBOTA AH, SOARES MO, ALVES SR, MOURA CM, CURI R. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **CiencSaude Colet**, v.7, p. 299-311, 2002.

MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 1882-1886, 1975.

MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, v. 47, p. 1882-1886, 1975.

NAKAI, M.; MILLER, M.G.; CARNES, K., HESS, R. A. Stage-specific effects of the fungicide carbendazim on Sertoli cell micro-tubules in rat testis. **TissueCell**, vol. 34, p. 73-80, 2002.

NASCIMENTO. RAPHAEL. FONSECA, THIAGO MATHEUS GUIMARÃES SELVA, WILLIAME FARIAS RIBEIRO, MÔONICA FREIRE BELIAN, LÚCIO ANGNES, VALBERES BERNARDO DO NASCIMENTO. Flow-injection electrochemical determination of citric acid using a cobalt (II)–phthalocyanine modified carbon paste electrode. **Talanta**, v. 105, p. 354–359, 2013.

NEVIN, W. A.; HEMPSTEAD, M. R.; LIU, W.; LEZNOFF, C. C.; LEVER, A. B. P. Electrochemistry Phthalocyanines and Spectroelectrochemistry of Monuclear and Binuclear Cobalt. **Inorg. Chemistry**, v. 26, p.570 – 577, 1987.

NOSSOL, E. **Novos eletrodos construídos a partir de diferentes nanoestruturas de carbono**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2009.

OLIVEIRA, R. DE; PISSETTI, F. L.; LUCHO, A. M. S. Eletrodos de ftto modificados por eletrodeposição direta de ouro: produção, caracterização e aplicação como sensor eletroquímico. **Quim. Nova**, Vol. 39, p. 146-155, 2016.

PACHECO, W. F., SEMAAN, F. S., ALMEIDA, V. G. K., RITTA, A. G. S. L., AUCÉLIO, R. Q., Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos, **Rev. Virtual Quim.**,5, 516-537, 2013.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A.S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1012-1021, 2002.

RAVELO-PÉREZ, L. M., BORGES, H. J., M. ASENSIO-RAMOS, RODRÍGUEZ-DELGADO M. A. , Ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction for the extraction of pesticides from bananas, **J. Chromatogr. A** v. 1216, p. 7336–7345, 2009.

RIBEIRO, W. F. **Análise de traços do pesticida carbendazim por voltametria de onda quadrada com eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono**. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

RIBEIRO, W. F. **Determinação voltamétrica de ricina em mamona usando carbono vítreo e diamante dopado com boro**. Tese de doutorado – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

RIZZETTI, T. M.; KEMMERICH.; M. MARTINS, M. L.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Optimization of a QuEChERS based method by means of central composite design for pesticide multiresidue determination in orange juice by UHPLC–MS/MS, **Analytical Methods**, v.196, p. 25-33, 2016.

SANCHES, S.M.; SILVA, C.H.T.P.; CAMPOS, S.X.; VIEIRA, E.M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: R. Eotoxicol. E Meio Ambiente**, v.13, p.53-58, 2003.

SANTOS, J. C. D. S. **Desenvolvimento de metodologias voltamétricas para determinação simultânea de carbofurano e metomil usando eletrodo de diamante dopado com boro.** Tese doutorado - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

SILVA, C. M. M.; FAY, E. F. **Agrotóxicos e ambiente. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica**, 2ª ed., p. 400, 2004.

SILVA, R. C.; BARROS, K. A.; E PAVÃO, A. C. Carcinogenicidade do carbendazim e seus metabólitos. **Quim. Nova**, Vol. 37, No. 8, 1329-1334, 2014.

SILVEIRA, C. D. S. **Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de sulfonamidas empregando eletrodo de diamante dopado com boro.** Dissertação de mestrado em Química Analítica, Universidade de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, 2008.

SINGER, H.; JAUS, S.; HANKE, I.; LÜCK, A.; HOLLENDER, J.; ALDER, A. C. Determination of biocides and pesticides by on-line solid phase extraction coupled with mass spectrometry and their behaviour in wastewater and surface water. **Environmental Pollution**, v.158, p. 3054-3064, 2010.

SKLADAL, P. ; MARCOMASCINI, M. Sensitive detection, of pesticides using amperometric sensors based on cobalt phthalocyanine - modified composite electrodes and immobilized cholinesterases. **BiosensBioelectron**, v.7, p.335-343, 1992.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5ª Ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

SLIJKERMAN, D. M.,; BAIRD, D. J.; CONRAD, A.; JAK, R. G.; VAN STRAALLEN, N. M. Assessing Structural and Functional Plankton Responses to Carbendazim Toxicity. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.23 (2), p. 455-462, 2004.

SOUZA, D. DE. **Utilização de ultramicroeletrodos na quantificação dos pesticidas diclorvos e paraquat em diferentes matrizes por voltametria de onda quadrada.** Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCAR, São Carlos, 2004.

SOUZA, D. DE; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de Onda Quadrada. Primeira Parte: Aspectos Teóricos. **Química Nova**, v. 26, p. 81- 89, 2003.

STEPHENSON, G. R. FERRIS, I. G.; HOLLAND, P. T.; NORDBERG, M. Glossary of terms relating to pesticides – IUPAC Commission Report 36. **Pure Appl. Chem**, v. 78 (11), p. 2075–2154, 2006.

SUN, W.; WANG, X. Z.; WANG, Y. H.; JU, X. M.; XU, L.; LI, G. J. and SUN, Z. F. Application of graphene-SnO₂ nanocomposite modified electrode for the sensitive electrochemical detection of dopamine. **Electrochimica Acta**, v. 87, p. 317-322, 2013.

TANKIEWICZ M.; FENIK J.; BIZIUK M. Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, p.1050-1063, 2010.

USEPA, **United States Environmental Protection Agency**; Benomyl and carbendazim-endpoint selection for incidental oral ingestion for carbendazim, 3rd Report of the Hazard. Office of Pesticide Programs Index for Carbendazim - Tox Review.014506, 2001.

VICHAPONG, J.; BURAKHAM, R.; SRIJARANAI, S.; GRUDPAN, K. Room temperature imidazolium ionic liquid: a solvent for extraction of carbamates prior to liquid chromatographic analysis, **Talanta**, v.84, p.1253–1258, 2011.

ZOSKI, C. G. **Handbook of electrochemistry**. 1^a Ed. Netherlands: Elsevier, 2007.