



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

TESE DE DOUTORADO

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE TRICLOCARBAN E CARBENDAZIM EM
PRODUTOS DE HIGIENE PESSOAL E ÁGUA POTÁVEL**

Maria Mônica Lacerda Martins Lúcio

*João Pessoa – PB – Brasil
Agosto/2015*



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

TESE DE DOUTORADO

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE TRICLOCARBAN E CARBENDAZIM EM
PRODUTOS DE HIGIENE PESSOAL E ÁGUA POTÁVEL**

Maria Mônica Lacerda Martins Lúcio

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como requisito final para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo

Co-orientador: Prof.^a Dr.^a Kátia Messias Bichinho

***João Pessoa – PB – Brasil
Agosto/2015***

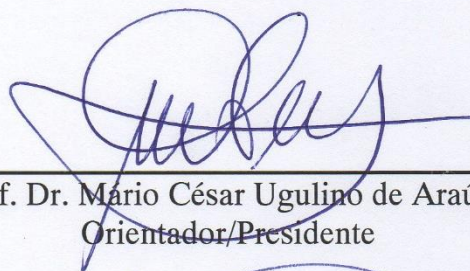
L938d Lúcio, Maria Mônica Lacerda Martins
Determinação voltamétrica de triclocarban e carbendazim
em produtos de higiene pessoal e água potável / Maria Mônica
Lacerda Martins Lúcio.-- João Pessoa, 2015.
97f. : il.
Orientador: Mário César Ugulino de Araújo
Coorientadora: Kátia Messias Bichinho
Tese (Doutorado) – UFPB/CCEN
1. Química. 2. Triclocarban. 3. Carbendazim. 4. Nanotubos
de carbono. 5. Voltametria de onda quadrada. 6. Voltametria
de redissolução adsorptiva.

UFPB/BC

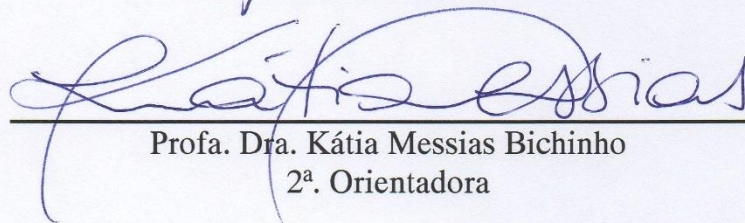
CDU: 54(043)

Determinação Voltamétrica de Triclocarban e Carbendazim em Produtos de Higiene Pessoal e Água Potável.

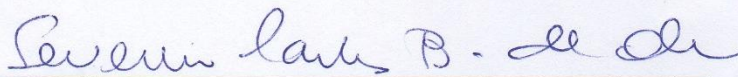
Tese de Doutorado apresentada pela aluna Maria Mônica Lacerda Martins Lúcio e aprovada pela banca examinadora em 26 de agosto de 2015.



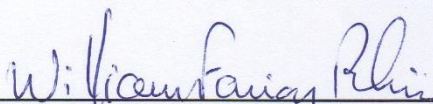
Prof. Dr. Mario César Ugulino de Araújo
Orientador/Presidente



Profa. Dra. Kátia Messias Bichinho
2ª. Orientadora



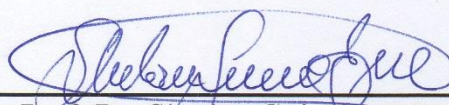
Prof. Dr. Severino Carlos Bezerra de Oliveira
Examinador



Prof. Dr. Williane Farias Ribeiro
Examinador



Profa. Dra. Ilda Antonieta Salata Toscano
Examinadora



Prof. Dr. Sherlan Guimarães Lemos
Examinador

EPÍGRAFE

“Deus nunca disse que a jornada seria fácil, mas Ele disse que a chegada valeria a pena.”

(Max Lucado)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, João e Maria pela formação e incentivo.

Ao meu marido, Ednaldo por seu amor e paciência, acreditou e torceu por mim em todos os momentos.

Com amor,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- A Deus, tudo na minha vida.
- À minha família, em especial aos meus pais, João e Maria e ao meu irmão Valdomiro pelo amor, apoio e confiança.
- Ao meu marido, Ednaldo pelo amor e companheirismo nos momentos difíceis.
- Ao professor Dr. Mário César Ugolino de Araújo pela orientação, confiança e por disponibilizar todas as condições para execução deste trabalho.
- À professora Dr.^a Kátia Messias Bichinho pela orientação, amizade e principalmente por sempre estar presente e pronta para ajudar.
- Aos amigos Flaviana Justino Rolim Severo, Williame Farias Ribeiro, Daniel Jackson Estevam da Costa e Anabel Santos Lourenço pela contribuição imprescindível na realização das medidas experimentais e nas discussões durante a elaboração desta tese.
- A todos os amigos que compõem o Eletrogrupo do LAQA, pelo apoio e discussões ao longo do desenvolvimento deste trabalho.
- Às professoras Dr.^a Teresa Cristina Bezerra Saldanha e Dr.^a Ilda Antonieta Salata Toscano pela amizade e incentivo, por ter me conduzido desde a iniciação científica até o desenvolvimento desta tese.
- Aos amigos do LEQA e do LAQA, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.
- A Gilvan Pozzobon Pires pela colaboração nas medidas de MEV.
- Ao Professor Dr. Severino Jackson Guedes de Lima por disponibilizar acesso ao microscópico eletrônico para a obtenção das imagens das pastas de carbono e da pasta de nanotubos.
- Ao Professor Dr. Antônio Bezerra de Carvalho pela colaboração nas discussões das reações orgânicas.
- Aos professores Dr. Sherlan Guimarães Lemos e Dr.^a Ilda Antonieta Salata Toscano pelas contribuições feitas a este trabalho durante o Exame de Qualificação;

- À CAPES pela bolsa concedida;
- Ao CNPq por financiar o Projeto 573894/2008-6 INCTAA/CNPq.

SUMÁRIO

Lista de figuras	xi
Lista de tabelas	xv
Lista de abreviaturas	xvii
RESUMO	xx
ABSTRACT	xxi
1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Objetivos	5
1.1.1 Geral	5
1.1.2 Específicos	5
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	7
2.1 Contaminantes emergentes	7
2.1.1 Produtos de higiene pessoal	10
2.1.1.1 Triclocarban	11
2.1.2 Pesticidas	17
2.1.2.1 Carbendazim	19
2.2 Métodos analíticos aplicados às determinações de TCC e MBC	23
3 EXPERIMENTAL	31
3.1 Instrumentação	31
3.2 Amostras, reagentes, soluções e materiais	31
3.3 Tratamento dos dados eletroquímicos	33
3.4 Variáveis de desempenho analítico	33
3.5 Determinação de TCC	35
3.5.1 Pré-tratamento da superfície do eletrodo de trabalho	35
3.5.2 Investigação eletroquímica	36
3.5.3 Efeito de memória	36
3.5.4 Voltametria de onda quadrada	36
3.6 Determinação de MBC	37
3.6.1 Confecção dos eletrodos de trabalho	37
3.6.2 Pré-tratamento dos eletrodos de pasta de carbono	38
3.6.3 Escolha do eletrodo de trabalho	39
3.6.4 Investigação eletroquímica	39
3.6.5 Teste de adsorção	40

3.6.6 Voltametria de onda quadrada	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 Determinação de TCC	42
4.1.1 Natureza do processo de eletrodo	42
4.1.2 Otimização das condições da SWAdSV	49
4.1.3 Curva analítica e parâmetros de desempenho analítico	53
4.1.4 Estudo de interferentes e aplicações práticas para TCC	56
4.2 Determinação de MBC	58
4.2.1 Escolha do eletrodo de trabalho	58
4.2.2 Natureza do processo de eletrodo	63
4.2.3 Otimização das condições de VOQ	70
4.2.4 Curva analítica e variáveis de desempenho analítico	73
4.2.5 Estudo de interferentes e aplicações práticas para o MBC	76
5 CONCLUSÕES	78
5.1 Propostas Futuras	79
6 REFERÊNCIAS	81

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1 – Crescimento do faturamento líquido da indústria brasileira de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos. Fonte: Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC, 2014).	11
Figura 2.2 – Estrutura química do TCC.	12
Figura 2.3 – Estrutura química do TCC (a) e subprodutos: 6-OH TCC (b), 2-OH TCC (c), 3-OH TCC (d), 2,6-diOH TCC (e) e 3,6-diOH TCC (f). Em complementação, estão mostradas as estruturas de iminas quinonas possivelmente formadas a partir de TCC: 6-OH TCC (g) e 2-OH TCC (h). Fonte: BAUMANN <i>et al.</i> , 2010.	17
Figura 2.4 – Consumo de pesticidas nas lavouras do Brasil. Fonte: Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a defesa agrícola (SINDAG, 2011 apud ABRASCO, 2012).	19
Figura 2.5 – Fórmula estrutural do MBC.	20
Figura 2.6 – Estrutura química de nanotubos de carbono funcionalizado com grupos carboxílicos. Fonte: HIRSCH, 2002.	28
Figura 3.1 – Preparação das soluções de sabonetes e procedimento de recuperação baseado no método de adição de padrão. (A) em amostras de sabonetes e (B) em água potável.	35
Figura 3.2 – Representação esquemática da preparação dos eletrodos de trabalho para determinação de MBC. Adaptado de Vicentini <i>et al.</i> , 2014.	38
Figura 4.1 – (A) Voltamogramas cíclicos em solução de TCC $1,4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato (pH 4,2): (—) eletrólito suporte puro, (—) 1ª, (•••) 2ª e (---) 3ª varreduras; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Inserção: fórmula estrutural do TCC e influência da corrente de pico, $I_p.v^{-1/2}$ com a velocidade de varredura, (●) P ₁ e (○) P ₂ utilizando VVL. (B) Voltamogramas de OQ em solução de TCC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,4). Correntes: I_t (total); I_f (direta) e I_b (reversa).	43

- Figura 4.2** – Voltamogramas de VL para os picos P₁ e P₂ obtidos para uma solução de TCC $1,4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato (pH 4,2). Inserção: influência da raiz quadrada da velocidade de varredura nas correntes de pico (●) P₁ e (○) P₂. 45
- Figura 4.3** – Experimentos realizados por VPD usando solução de TCC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. (A) Voltamogramas de PD da primeira varredura com linha de base corrigida e utilizando diferentes eletrólitos em função do pH. (B) Voltamograma de PD da segunda varredura em pH 3,6. (C) Influência do pH no potencial de pico em diferentes eletrólitos. Inserção: influência do pH sobre a I_{p1} . 46
- Figura 4.4** – Estudo da frequência de aplicação de pulso de potencial. (A) Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do TCC em tampão acetato (pH 5,4) sobre ECV. (B) Relação I vs. f . 50
- Figura 4.5** – Estudo do incremento de potencial. (A) Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do TCC em tampão acetato (pH 5,4) sobre ECV. (B) Relação I vs. ΔE_s . 50
- Figura 4.6** – Estudo da amplitude de pulso. (A) Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do TCC em tampão acetato (pH 5,4) sobre ECV. (B) Relação I vs. ΔE_p . 51
- Figura 4.7** – Influência do tempo de deposição na sensibilidade da resposta voltamétrica em uma solução de TCC $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,4). Inserção: variação da corrente usando tempos de deposição (a) 0 e (b) 120 s (desvio padrão relativo de 3, 4% e 0, 7%, respectivamente). $[TCC] = 4,8 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. 52
- Figura 4.8** – Curvas analíticas para adições de TCC em tampão acetato de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,4) usando: (A) SWV e (B) SWAdSV. Detalhe: (A) Voltamogramas por VOQ e (B) Voltamogramas por SWAdSV. 53
- Figura 4.9** – Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de MBC $0,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, registrados em diferentes eletrodos de pasta de carbono e pasta de nanotubos, em solução tampão acetato (pH 4,7): (—) EPC; (—) EPC-NTCPMNF; (—) ENTCT-PMF e (—) EPC-NTCPMF. $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $a = 50 \text{ mV}$. 58

- Figura 4.10** – Imagens representativas obtidas por MEV para as pastas **(A)** PC. **(B)** PC-NTCPMNF. **(C)** PC-NTCPMF e **(D)** NTC-PMF. 61
- Figura 4.11** – **(A)** Visão idealizada da junção de vários nanotubos através do empilhamento π . **(B)** Interações de empilhamento π ocorrendo em diferentes direções dos anéis aromáticos (HIRSCH, 2002). 62
- Figura 4.12** – Respostas voltamétricas para uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em eletrólito suporte H_2SO_4 (pH 1,0) sobre EPC-NTCPMF. **(A)** Voltamogramas cíclicos: (—) eletrólito suporte, (—) 1ª e (—) 2ª varreduras na presença de MBC. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. **(B)** Voltamogramas de OQ: (—) 1ª e (—) 2ª varreduras. $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. 64
- Figura 4.13** – Respostas voltamétricas para uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em eletrólito suporte H_2SO_4 (pH 1,0) sobre EPC-NTCPMF. Voltamogramas de OQ mostrando as componentes das correntes registradas: (—) resultante, (—) direta e (—) reversa. $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. 65
- Figura 4.14** – **(A)** Voltamogramas cíclicos de uma solução $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0) e tampão fosfato (pH 7,0) sobre EPC-NTCPMF em diferentes velocidades de varredura. **(B)** Relação da I_p vs. $v^{1/2}$. **(C)** Relação do $\ln I_p$ com o $\ln v$. 66
- Figura 4.15** – Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida correspondentes ao efeito de adsorção sobre eletrólito puro do MBC $9,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o EPC-NTCPMF: (—) 1ª, (—) 2ª e (—) 3ª varreduras e (—) 1ª varredura após transferência do eletrodo a uma solução de eletrólito puro. **(A)** H_2SO_4 (pH 1,0). **(B)** tampão fosfato (pH 7,0). $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. 67
- Figura 4.16** – Estrutura do MBC indicando os três grupos aminos suscetíveis à protonação em meio ácido. 68
- Figura 4.17** – Representação do composto formado pela ligação covalente entre a molécula do MBC e os NTC funcionalizados. 69
- Figura 4.18** – **(A)** Voltamogramas de PD com linha de base corrigida para uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EPC-NTCPMF em diferentes eletrólitos em função do pH. **(B)** (—) Relação do E_p com o pH e (—) Relação da I_p com o pH. 69

Figura 4.19 – Estudo da frequência de aplicação de pulso de potencial. **(A)** Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $9,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ do MBC em H_2SO_4 (pH 1,0) sobre EPC-NTCPMF. **(B)** Relação I vs. f . **(C)** Relação I vs. $f^{1/2}$. 71

Figura 4.20 – Estudo do incremento de potencial. **(A)** Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $9,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ do MBC em H_2SO_4 (pH 1,0) sobre EPC-NTCPMF. **(B)** Relação I vs. ΔE_s . 72

Figura 4.21 – Estudo da amplitude de pulso. Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $9,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ do MBC em H_2SO_4 (pH 1,0) sobre EPC-NTCPMF. 73

Figura 4.22 – **(A)** Voltamogramas de OQ para adições crescentes de uma solução $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC em H_2SO_4 (pH 1,0). **(B)** Curva analítica na faixa de concentração de $3,0$ a $150 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$. 73

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 2.1 – Valores máximos permitidos para algumas substâncias químicas em água de consumo humano, Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde.	09
Tabela 2.2 – Toxicidade aguda e crônica de TCC em diferentes organismos aquáticos (TCC CONSORTIUM, 2002).	14
Tabela 2.3 – Situação de uso de agrotóxicos em alguns países (adaptado de BAIRD e CANN, 2008).	18
Tabela 3.1 – Parâmetros eletroquímicos estudados por VOQ com pré-concentração adsorbtiva para determinação de TCC.	37
Tabela 3.2 – Proporções usadas para confecção dos diferentes eletrodos de pasta de carbono e nanotubos de carbono.	38
Tabela 3.3 – Parâmetros eletroquímicos estudados por VOQ para determinação de MBC.	40
Tabela 4.1 – Propriedades da oxidação eletroquímica do TCC e seus produtos de oxidação em função do pH.	47
Tabela 4.2 – Comparação entre os resultados publicados na literatura para determinação de TCC com diferentes metodologias e o presente estudo.	54
Tabela 4.3 – Resultados do estudo de recuperação para TCC em amostras de sabonetes e água potável.	56
Tabela 4.4 – Resultados analíticos do TCC em amostras reais.	57
Tabela 4.5 – Comparação da área eletroativa e densidade de corrente dos eletrodos estudados.	60
Tabela 4.6 – Comparação dos sinais eletroquímicos do MBC encontrados na literatura com o presente estudo.	64

Tabela 4.7 – Comparação entre os resultados publicados na literatura para determinação de MBC com diferentes metodologias e o presente estudo.	74
Tabela 4.8 – Resultados do estudo de recuperação para MBC em amostras de água potável.	75

LISTA DE ABREVIATURAS

a	Amplitude de pulso
ABIHPEC	Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
ABRASCO	Associação Brasileira de Saúde Coletiva
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAS	Chemical Abstracts Service
CE	Contaminante emergente
DDT	Dicloro-difenil-tricloroetano
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva (do inglês, <i>Dispersive liquid-liquid microextraction</i>)
ECV	Eletrodo de carbono vítreo
ENTC-PMF	Eletrodo de pasta de nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado
EPC	Eletrodo de pasta de carbono
EPC-NTCPMNF	Eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de paredes múltiplas não-funcionalizado
EPC-NTCPMF	Eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de paredes múltiplas funcionalizado
ETE	Estação de tratamento de esgoto
E_{1/2}	Potencial de meia onda
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
f	Frequência de aplicação de pulso
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, <i>High performance liquid chromatography</i>)
HPLC-ESI-MS/MS	Cromatografia líquida de alta eficiência com ionização por electrospray e detector de massa (do inglês, <i>High performance liquid chromatography - electrospray ionization - mass spectrometry</i>)
IE	Interferente endócrino

IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
I_{pa}	Intensidade de corrente de pico anódico
I_{pc}	Intensidade de corrente de pico catódico
LC-ESI-MS/MS	Cromatografia líquida com ionização por electrospray com detector de massa (do inglês, <i>Liquid chromatography - electrospray ionization - mass spectrometry</i>)
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MBC	Carbendazim
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NTC	Nanotubos de carbono
NTC-PMF	Pasta de nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado
OMS	Organização Mundial de Saúde
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PC-NTCPMNF	Pasta de carbono modificado com nanotubos de paredes múltiplas não-funcionalizado
PC-NTCPMF	Pasta de carbono modificado com nanotubos de paredes múltiplas funcionalizado
PLE	Extração líquida pressurizada (do inglês, <i>Pressurized liquid extraction</i>)
SINDAG	Sindicato Nacional da Industria de Produtos para Defesa Agrícola
SNIS	Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento
SPE	Extração em fase sólida (do inglês, <i>Solid phase extraction</i>)
SWAdSV	Voltametria de onda quadrada com pré-concentração adsortiva (do inglês, <i>square wave adsortive stripping voltammetry</i>)
TCC	Triclocarban
TCS	Triclosan
t_d	Tempo de deposição

UHPLC-TUV	Cromatografia líquida de ultra eficiência com detector ultravioleta (do inglês, <i>Ultra-high- liquid chromatography - tunable ultraviolet detection</i>)
UMFC	Ultramicroeletrodo de fibra de carbono
USEPA	United States Environmental Protection Agency
VC	Voltametria cíclica
VMP	Valor Máximo Permitido
VOQ	Voltametria de onda quadrada
VPD	Voltametria de pulso diferencial
$W_{1/2}$	Largura de pico a meia altura
ΔE_p	Amplitude de pulso
ΔE_s	Incremento de potencial
ΔE_t	Tempo de modulação
v	Velocidade de varredura

RESUMO

LÚCIO, M. M. L. M. **Determinação voltamétrica de triclocarban e carbendazim em produtos de higiene pessoal e água potável.** 2015. 97fls. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil, 2015.

Triclocarban (TCC) é um bactericida e fungicida amplamente utilizado em produtos de higiene pessoal, enquanto que o carbendazim (MBC) é um fungicida muito utilizado em culturas de cereais e numa grande variedade de frutas e vegetais, e ambos são considerados contaminantes ambientais. Nesse trabalho, propõe-se o estudo da oxidação e determinação do TCC utilizando eletrodo de carbono vítreo (ECV) e o uso de um eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de múltiplas paredes funcionalizado (EPC-NTCPMF) para determinação de MBC. A detecção eletroquímica de TCC e MBC foi estudada utilizando diferentes técnicas voltamétricas sobre uma ampla faixa de pH e a determinação foi realizada em amostras de sabonetes para TCC e em água potável em baixas concentrações para os dois contaminantes. Para TCC, foram observados seis processos de oxidação, entretanto, o processo correspondente ao pico P_1 apresentou maior sensibilidade e seletividade em tampão acetato pH 5,4, portanto, foi utilizado para o desenvolvimento das metodologias voltamétricas, VOQ direta e VOQ com redissolução adsortiva. Para a VOQ com redissolução adsortiva, a faixa de resposta linear foi de $1,8$ a 21×10^{-9} mol L⁻¹ com limite de detecção (LD) de $3,2 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹, 1.000 vezes menor do que o LD obtido por VOQ direta. O método de redissolução adsortiva apresentou níveis satisfatórios de repetibilidade, 4,1% e reprodutibilidade, 5,4% e foi aplicado para determinação de TCC em amostras de sabonetes, obtendo uma recuperação média de 95,3% e água potável com uma média de recuperação aparente de 95,4%. O MBC apresentou um pico de oxidação principal, quase reversível e a maior sensibilidade foi alcançada em H₂SO₄, pH 1,0, sobre o EPC-NTCPMF, utilizando VOQ. A faixa de resposta linear está entre 3 e 150×10^{-10} mol L⁻¹ com LD de $1,1 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹. O método desenvolvido apresentou níveis satisfatórios de repetibilidade, 4,6% e reprodutibilidade, 6,2% e foi aplicado para determinação de MBC em amostras de água potável, obtendo-se valor médio de recuperação aparente de 95,6%. Os resultados obtidos no desenvolvimento dos métodos para determinação de TCC e MBC demonstraram excelente aplicabilidade para as amostras estudadas, além de apresentarem vantagens como instrumentação de baixo custo, rápida resposta analítica, elevada sensibilidade e seletividade.

Palavras-chave: triclocarban, carbendazim, nanotubos de carbono, eletrodos modificados, voltametria de onda quadrada, voltametria de redissolução adsortiva, contaminantes emergentes.

ABSTRACT

LÚCIO, M. M. L. M. Voltammetric determination of triclocarban and carbendazim in personal care products and drinking water. 2015. 97fls. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil, 2015.

Triclocarban (TCC) is a bactericide and fungicide widely used in personal care products, while carbendazim (MBC) is a fungicide widely used in cereal crops and a variety of fruits and vegetables, both are considered environmental contaminants. In this paper, propose the study of oxidation and determination of TCC using glassy carbon electrode (ECV) and the use of a carbon paste electrode modified with carbon nanotubes functionalized multi walled (EPC-NTCPMF) to determine MBC. Electrochemical detection of TCC and MBC was studied using different voltammetric techniques on a wide range of pH and the determination was performed on samples of soaps, only the TCC and drinking water at low concentrations, for both contaminants. For TCC, various oxidation processes were observed, however the peak P_1 had greater sensitivity and selectivity in acetate buffer, pH 5.4 and was therefore used for the development of voltammetric methods, direct VOQ and adsorptive stripping voltammetry. For adsorptive stripping voltammetry, the linear response range was from 1.8 to $21 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ with a detection limit (LD) of $3.2 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$, 1,000 times smaller than the LD obtained by direct VOQ. The method of adsorptive stripping voltammetry showed satisfactory levels of repeatability, 4.1% and reproducibility, 5.4% and was applied to determine TCC in soaps samples and an average recovery of 95.3% and drinking water with an average recovery apparent 95.4%. The MBC peaked main oxidation, almost reversible; the better sensitivity was achieved in H_2SO_4 , pH 1.0 on the EPC-NTCPMF using VOQ. The linear response range is between 3 and $150 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ to LD $1.1 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$. The method developed showed acceptable levels of repeatability, 4.6% and reproducibility, 6.2% and was applied for MBC determination in drinking water samples obtained average apparent recovery of 95.6%. The results obtained in the development of methods for determination of TCC and MBC showed excellent applicability for the studied samples, in addition to having advantages such as low cost instrumentation, analytical fast response, high sensitivity and selectivity.

Keywords: triclocarban, carbendazim, carbon nanotubes, modified electrodes, square wave voltammetry; stripping voltammetric, emerging contaminants.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A contaminação dos ambientes naturais devido às atividades antrópicas foi amplamente discutida em nível mundial a partir da publicação do livro intitulado *Silent Spring*, de autoria de Rachel Carson, que abordou diferentes e significativos impactos ambientais devido ao uso indiscriminado do pesticida dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) (CARSON, 2002). Na época, a comunidade científica preocupava-se com a investigação da contaminação antrópica das águas doces, avaliando aspectos como o fenômeno de eutrofização das águas superficiais, contaminações por metais tóxicos, pesticidas e dejetos não tratados de humanos e animais. Nos dias atuais, o desenvolvimento tecnológico modificou o perfil de consumo da sociedade, que usufrui de um número elevado de materiais e produtos químicos sintéticos, os quais representam novas fontes de contaminação e preocupação ambiental, em nível mundial (OMS, 2000).

Em 1997, Sandra Steingraber correlacionou os impactos de contaminações ao desenvolvimento de câncer em humanos, trabalho que resultou na publicação do livro intitulado *Living Downstream: an ecologist's personal investigation of cancer and the environment*. Dentre diferentes e interessantes relatos, alertou que o número de produtos químicos sintéticos em uso no mundo, produzidos em escala industrial e comercialmente disponíveis, está estimado em cerca de 80.000. Além disso, é necessário ressaltar que a quantidade de espécies químicas dispostas é ainda maior em função de subprodutos gerados tanto durante o processo industrial quanto devido à inevitável degradação e interação no ambiente. No entanto, o aspecto mais relevante centra-se no fato de que somente cerca de 1.600 ou 2% do total desses compostos químicos foram testados quanto à carcinogenicidade. Em 2007, a sociedade americana do câncer identificou 216 produtos químicos conhecidos por causar câncer de mama em animais. Destes, 73 são encontrados em alimentos ou produtos de consumo, 35 são poluentes atmosféricos e, anualmente, 29 são produzidos em larga escala mundial nos Estados Unidos (STEINGRABER, 2010).

Nesse contexto, produtos industrializados como pesticidas, produtos de cuidado e higiene pessoal, fármacos, surfactantes, retardantes de chama, plastificantes, hormônios e materiais nanométricos são hoje denominados

Contaminantes Emergentes (CE) ou contaminantes de preocupação emergente no meio científico (MONTAGNER *et al.*, 2014). A preocupação essencial está no fato de que esses produtos são continuamente produzidos, utilizados e dispostos no ambiente (HALLING-SØRENSEN *et al.*, 1998) e existem estudos que demonstram efeitos de bioacumulação, toxicidade e atuação sobre o sistema endócrino em animais aquáticos (COOGAN *et al.*, 2007; FARAG *et al.*, 2011; GIUDICE e YOUNG, 2010; SOOD *et al.*, 2013). A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos mantém uma lista de substâncias candidatas a CE, ou seja, substâncias das quais ainda não se conhece apropriadamente os efeitos sobre a biota e saúde humana (USEPA, 2015). As principais vias de contaminação por esses compostos são produção industrial, agricultura e aquicultura e esgotos domésticos, mesmo tratados (TERNES *et al.*, 2004; FOCAZIO *et al.*, 2008).

Produtos de cuidado e higiene pessoal e pesticidas, utilizados em larga e crescente escala em todo o mundo, encontram-se nessa lista e têm sido determinados na faixa de ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$ em matrizes ambientais (RICHARDSON 2003, 2005 e 2007). Dentre essas classes de CE, pode-se destacar dois compostos químicos, triclocarban (TCC) e carbendazim (MBC).

TCC é um pesticida de uso não agrícola com ação antibacteriana e antifúngica largamente utilizado em produtos de higiene pessoal como sabonetes, cremes dentais, enxaguatórios bucais, entre outros (TCC Consortium, 2002; USEPA, 2015). Estudos têm alertado sobre as consequências provocadas por essa substância a plantas, animais e à saúde humana. São exemplos a bioacumulação, distúrbios do sistema reprodutor, capacidade de potencializar efeitos androgênicos em células de câncer de próstata, além de carcinogênese progressiva de células de mama em humanos expostos a uma concentração crônica dessa substância (COOGAN *et al.*, 2007; CHEN *et al.*, 2007; DULEBA *et al.*, 2011; PYCKE, 2014). O uso generalizado de produtos contendo TCC introduz continuamente a molécula no ambiente e por esse motivo tornou-se um poluente comum de cursos de água e solos (SAPKOTA *et al.*, 2007; ZHAO *et al.*, 2010). Sua detecção em matrizes biológicas e ambientais é resultado do aumento da utilização associado à remoção incompleta desse contaminante nos sistemas convencionais de tratamento de esgoto (HEIDLER *et al.*, 2006; CHU e METCALFE, 2007; SCHEBB *et al.*, 2012).

MBC é um fungicida muito utilizado em culturas de cereais e em grande variedade de frutas e vegetais. É considerado uma substância prejudicial ao ambiente e um provável carcinógeno para seres humanos (USEPA, 2001; SLIJKERMAN *et al.*, 2004; ANVISA, 2009). Ainda, é considerado um IE, podendo afetar a reprodução, provocar distorção na quantidade de machos e fêmeas e até produzir efeitos teratogênicos em diversos animais (FARAG *et al.*, 2011; MIRACLE *et al.*, 2011; CHELINHO *et al.*, 2014). Além disso, pode persistir no ambiente, porque apresenta degradação muito lenta devido à presença do grupo benzimidazol na estrutura da molécula, que é quimicamente estável (SINGER *et al.*, 2010; MORASCH *et al.*, 2012). No Brasil, em 2011, MBC passou a ser legislado como um dos parâmetros para garantia da potabilidade da água (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Muitos estudos têm sido realizados empregando a cromatografia para a determinação e quantificação de TCC e MBC em diferentes matrizes (SAPKOTA *et al.*, 2007; HALDEN *et al.*, 2004; SINGER *et al.*, 2010). No entanto, embora sensíveis e seletivos, tratam-se de métodos dispendiosos e que envolvem etapas prévias de preparação de amostras e equipamentos sofisticados.

Alternativamente, a voltametria tem provado ser eficaz na determinação de MBC e de compostos semelhantes ao TCC em matrizes variadas (NOROYD *et al.*, 2004; YAO *et al.*, 2014; VIDAL *et al.*, 2008; FOTOUHI *et al.*, 2010). A versatilidade da técnica está associada à disponibilidade de diferentes eletrodos de trabalho, importante aspecto em eletroanálise, pois promove reações de oxidação ou redução de moléculas e favorece a taxa de transferência de elétrons para moléculas eletroativas na região interfacial da solução com a superfície do eletrodo de trabalho. Vários eletrodos sólidos como os de carbono e diferentes metais nobres (Au, Pt), podem ser utilizados para a determinação de compostos químicos. Entre esses, o ECV tem sido amplamente utilizado para fins eletroanalíticos de compostos orgânicos, sobretudo por apresentar satisfatória janela de potencial e ser inerte em diferentes solventes orgânicos comuns. Em adição, eletrodos quimicamente modificados têm surgido com o objetivo de aumentar a sensibilidade e a seletividade em análises eletroquímicas. Dentre os materiais utilizados nessas modificações, destacam-se os nanotubos de carbono, que ainda podem ser funcionalizados com diferentes grupos,

como o carboxílico, contribuindo para maior sensibilidade de métodos desenvolvidos (FEITOSA, 2009; LI e CHI, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2011).

Nesse contexto, o presente estudo visa o desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação de TCC e MBC em amostras de água potável e sabonetes, utilizando técnicas voltamétricas associadas a ECV e eletrodos de pasta de carbono modificados com nanotubos de carbono.

1.1 Objetivos

1.1.1 Geral

Desenvolver metodologias voltamétricas para determinação de TCC e MBC em amostras de água potável e sabonetes, utilizando o ECV e eletrodos de pasta de carbono modificados com nanotubos de carbono.

1.1.2 Específicos

- ✓ Estudar a oxidação eletroquímica do TCC em ECV;
- ✓ Estudar e comparar a resposta eletroquímica do MBC em diferentes eletrodos de pasta de carbono, com e sem modificação química;
- ✓ Otimizar as condições experimentais de análise voltamétrica para a determinação dos contaminantes em estudo;
- ✓ Validar as metodologias voltamétricas propostas;
- ✓ Estudar possíveis interferentes na determinação desses contaminantes;
- ✓ Determinar TCC em amostras de sabonetes e água potável;
- ✓ Determinar MBC em amostras de água potável.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Contaminantes emergentes

O desenvolvimento de métodos analíticos mais sensíveis proporcionou a identificação e quantificação de inúmeras substâncias químicas antes desconhecidas no meio ambiente, entre elas estão os CE. Segundo a IUPAC, o termo contaminante emergente ambiental refere-se a um diversificado grupo de substâncias que incluem tanto novos produtos químicos como aqueles que já estão presentes no ambiente por um longo período de tempo, mas para os quais dados de monitoramento e efeitos toxicológicos são limitados ou indisponíveis (IUPAC, 2015). Os CE compreendem diversas classes de substâncias químicas como pesticidas, fármacos, produtos de cuidado e higiene pessoal, nanomateriais etc (USEPA, 2015).

Em geral, apresentam características físico-químicas como persistência e bioacumulação, que facilitam sua distribuição e permanência no ambiente (MOURA, 2009; GATIDOU *et al.*, 2010; PEDROUZO *et al.*, 2011; GOMEZ *et al.*, 2012). Compostos persistentes resistem à degradação fotolítica, biológica e química, permanecendo intactos no ambiente por longos períodos, podendo ser transportados a longas distâncias pela água, ar ou por animais, promovendo, assim, a propagação da contaminação ambiental e tornando-se amplamente distribuídos geograficamente (WONG *et al.*, 2005). Ainda, facilitam o processo de bioacumulação, no qual as substâncias são retiradas do ambiente por microorganismos, plânctons, peixes, mamíferos, sendo introduzidas na cadeia trófica (BAIRD e CANN, 2008).

É importante também ressaltar que um contaminante, quando liberado no ambiente natural, pode sofrer alterações como biodegradação, fotodegradação ou transformação química em componentes potencialmente tóxicos. O processo dependerá do composto e das características e condições do meio envolvidos. Uma substância química é chamada de metabólito quando produzida mediante processo metabólico de organismos vivos durante o processo de degradação e podem ser mais persistentes e tóxicos do que o composto original (LINDSTROM *et al.*, 2002; BAIRD e CANN, 2008; TUYET-HANH *et al.*, 2010).

Outra característica de CE é a toxicidade, concentração de substância tóxica capaz de provocar efeitos prejudiciais aos tecidos, órgãos e/ou processos biológicos de organismos vivos (BAIRD e CANN, 2008), sendo dependente do tipo de organismo exposto, da quantidade da substância e da via de exposição (MANAHAN, 2000). Trabalhos publicados na literatura têm demonstrado que diferentes CE são tóxicos, mesmo em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$, a diversos microorganismos como *Daphnia*, peixes, algas, entre outros (LAMEIRA, 2008; SERVOS, 1999 *apud* SILVA *et al.*, 2007; TAMURA *et al.*, 2012; JANAKIDEV *et al.*, 2013).

Além dessas características, muitos CE também podem ser capazes de provocar alterações no sistema endócrino de animais e humanos, mesmo em baixas concentrações, na ordem de ng L^{-1} , são os chamados interferentes endócrinos (IE) (USEPA, 1997). São compostos orgânicos que simulam atividade de hormônios naturais. As principais alterações que podem ser provocadas estão relacionadas a órgãos sexuais defeituosos, alteração da capacidade de fertilidade de animais e humanos, aborto espontâneo, aumento da mortalidade juvenil, alteração da razão da quantidade de macho e fêmeas e diferentes tipos de cânceres (BIBBO *et al.*, 1977; USEPA, 1997; SWAN *et al.*, 2007).

Diante de um cenário de produção e consumo abundante e constante desses compostos, que apenas uma pequena porcentagem dessas substâncias é regulada por órgãos de fiscalização e ainda que um grande número de CE tem sido detectado em água potável (LOPES *et al.*, 2007; SODRÉ *et al.*, 2010), a Agência de Proteção Ambiental Norte Americana (USEPA) publicou, em março de 1998, a primeira lista de substâncias prioritárias normalmente encontradas em água potável, com o objetivo de torná-las monitoradas por instituições reguladoras. Desde então, essa lista tem sido atualizada. Na última publicação, em abril de 2015, foram apresentadas 100 substâncias químicas e 12 contaminantes microbianos, incluindo entre outros CE, o 17 α -estradiol, eritromicina, estriol, hexano, metanol, nitroglicerina, nonilfenol, tiodicarb e o tiofanato metílico (USEPA, 2015). Entretanto, essa lista é bem reduzida se comparada à quantidade de substâncias químicas conhecidas, 100 milhões, segundo o Chemical Abstracts Service (CAS) (CAS, 2015).

Uma das principais vias de introdução de CE no ambiente aquático é o lançamento de esgotos domésticos e industrial (MANAHAN, 2000). No Brasil, esse

problema é amplificado porque nem todo esgoto produzido é tratado. Segundo dados do Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento (SNIS), como média nacional, apenas 37,5% do esgoto gerado pela população brasileira recebe tratamento (SNIS, 2013), ou seja, a maior parte desse esgoto é lançado nos rios *in natura*. Além disso, estudos têm demonstrado que as estações de tratamento de esgoto (ETEs) não possuem estrutura física (projeto civil) ou equipamentos capazes de propiciar a completa remoção da maioria dessas substâncias (MOURA *et al.*, 2009; PEDROUZO *et al.*, 2011) e mesmo os CE que apresentam alta taxa de remoção tornam-se preocupantes por serem continuamente lançados no ambiente, podendo, inclusive, afetar a qualidade da água utilizada para consumo humano (SODRÉ *et al.*, 2010).

Atualmente, a legislação brasileira estabelece valores máximos permitidos (VMP) para alguns CE em água potável, definidos na Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde, porém essa abordagem ainda é muito discreta. Os compostos listados são quase todos pesticidas e estão apresentados na **Tabela 2.1**.

Tabela 2.1 – Valores máximos permitidos para algumas substâncias químicas em água de consumo humano, Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde.

Contaminante	VMP ($\mu\text{g L}^{-1}$)
DDT + DDD + DDE	1
Carbendazim + benomil	120
Atrazina	2
Diuron	90
Endrin	0,6
Aldrin + dieldrin	0,03
Alaclor	20
Aldicarbe + aldicarbesulfona + aldicarbesulfóxido	10
Di (2-etilhexil) ftalato	8

Vale destacar que as ETEs geram outro tipo de problema, a preocupação com o destino final do lodo enriquecido com esses contaminantes que são removidos durante o tratamento, que tem sido muito utilizado para fins agrícolas, inclusive com legislação vigente no Brasil (CONAMA, 2006). Esse tema vem despertando o interesse da comunidade científica e diversas pesquisas têm sido realizadas para avaliar a qualidade do lodo oriundo de ETEs, em diversos países. Como resultado, diferentes CE como hormônios, pesticidas, entre outros, foram detectados em

amostras de lodo de esgoto, apresentando inclusive concentrações da ordem de mg kg⁻¹ (CHU e METCALFE, 2007; CLARKE *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2011).

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) define critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos provenientes de ETEs, através da Resolução CONAMA 375/2006, onde 34 compostos orgânicos, dentre eles alguns ftalatos e pesticidas, devem ser determinados no lodo antes da sua aplicação no solo, porém, não estabelece concentrações máximas permitidas para todos os compostos listados.

Nesse contexto, fica evidente a constante presença de CE em diferentes matrizes ambientais, inclusive água para consumo humano, e a necessidade de desenvolvimento de novas metodologias analíticas para identificação e quantificação dessas substâncias no ambiente, objetivo do presente trabalho. Dentre os CE atualmente estudados, pode-se destacar o TCC (bactericida e fungicida) e o MBC (fungicida), que serão discutidos nos itens 2.1.1.1 e 2.1.2.1.

2.1.1 Produtos de higiene pessoal

Produtos de higiene pessoal são largamente utilizados e incluem várias categorias como antissépticos, perfumes, protetores solares, repelentes de insetos, cosméticos, entre outros. Mundialmente, a produção e consumo têm apresentado crescimento constante. No contexto brasileiro, o consumo aumentou de 4,9 bilhões de reais em 1996 para 38 bilhões em 2013, atualmente ocupando o terceiro lugar mundial em utilização desses produtos (**Figura 2.1**), fato que justifica a preocupação em conhecer os possíveis efeitos que possam causar ao ambiente e aos seres humanos.

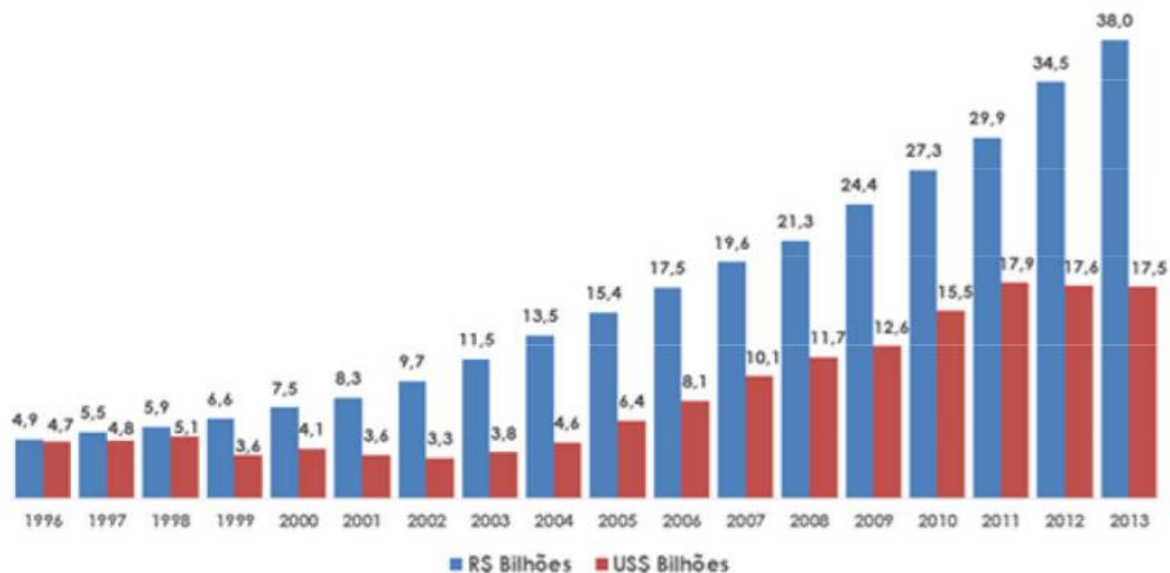


Figura 2.1 – Crescimento do faturamento líquido da indústria brasileira de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos. Fonte: Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC, 2014).

Nos dias atuais, essas substâncias são comumente encontradas no ambiente em níveis de concentração que variam da ordem de ng L^{-1} a mg kg^{-1} . Trata-se de valores preocupantes, principalmente porque a maioria desses compostos químicos é um contaminante ambiental persistente e apresenta a capacidade de bioacumulação (HEIDLER *et al.*, 2006; KASPRZYK-HORDERN *et al.*, 2009; GATIDOU *et al.*, 2010; CABEZA *et al.*, 2012; ZARATE JR *et al.*, 2012). Entre os antissépticos, pode-se destacar o TCC.

2.1.1.1 Triclocarban

Triclocarban (1-(4-clorofenil)-3-(3,4-diclorofenil)urea, TCC), é uma difenila ureia clorada de massa molar de $315,59 \text{ g mol}^{-1}$ (**Figura 2.2**), classificado como um pesticida de uso não agrícola que apresenta ação bactericida e fungicida e tem sido amplamente utilizado em diversos produtos de higiene pessoal, como sabonetes, creme dental, desodorantes, cosméticos, entre outros (TCC CONSORTIUM, 2002).

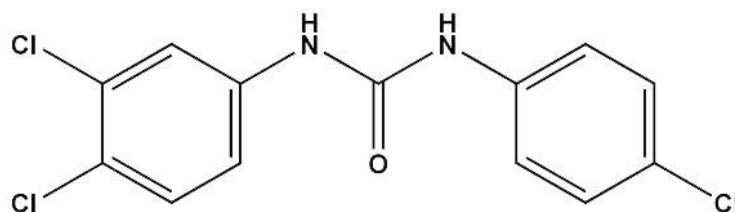


Figura 2.2 – Estrutura química do TCC.

É importante destacar que, atualmente, há um apelo comercial muito grande em torno de produtos antibacterianos que utilizam o TCC, em especial os sabonetes. É comum observar frases do tipo “elimina 99,9% das bactérias”, que desperta a atenção do consumidor preocupado com sua saúde e higiene, e consequentemente, começa a utilizá-lo sem qualquer comprovação de que essa eliminação extra de bactérias possa promover benefícios para a saúde (GALILEU, 2014). Inclusive, há o explícito contraditório defendido por Blaser (2011), que alerta sobre os riscos do uso excessivo de antibióticos e os efeitos colaterais, especialmente a eliminação de bactérias que são benéficas e necessárias ao funcionamento do corpo humano. Exemplifica que a ação da bactéria *H. Pylori* como perigosa ou benéfica sempre dependerá do contexto ecológico em que se encontra (BLASER, 2011).

Produtos contendo TCC são comercializados globalmente há mais de 50 anos, portanto, têm uma longa história de uso na Europa e nos Estados Unidos. Ahn e colaboradores (2009) estimaram que os consumidores norteamericanos gastaram cerca de um bilhão de dólares anuais em produtos contendo TCC e triclosan (TCS).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) autorizou o uso de TCC em produtos de cuidados pessoais e cosméticos como agente antimicrobiano em concentrações de até 1,5 %, mas o limite máximo permitido como conservante é de 0,2%, estando em conformidade com os regulamentos definidos pela União Europeia (ANVISA, 2012).

No ambiente, TCC pode ser encontrado em uma faixa de concentração que varia de ng L^{-1} a mg kg^{-1} (HEIDLER *et al.*, 2006; CHU e METCALFE, 2007; ZHAO *et al.*, 2010) e sua capacidade de persistência, bioacumulação e degradação no ambiente tem sido relatada em diferentes estudos (HEIDLER *et al.*, 2006; CHU e METCALFE, 2007; WU *et al.*, 2009).

Uma investigação da presença dos antimicrobianos TCC e TCS em amostras de água e sedimento de rio e águas residuárias foi realizada por Zhao *et al.* (2010). Concentrações de TCC foram encontradas na faixa de 4,5 a 338,0 ng L⁻¹ para amostras de água de rio e 23,9 a 342,0 ng L⁻¹ em águas residuárias. Para sedimentos, os valores encontrados estavam na faixa de 58 a 2.633 µg kg⁻¹, superiores aos encontrados em água, fato que é atribuído ao constante lançamento de efluentes em corpos hídricos e à própria natureza hidrofóbica desse contaminante, que provavelmente facilita a acumulação dessa substância nesse compartimento. Além disso, as concentrações de TCC nessas matrizes foram cerca de 2 a 5 vezes maior que os valores obtidos para TCS. Tal fato pode ser relacionado ao crescente aumento do consumo de TCC em substituição ao TCS, como discutido posteriormente (ZHAO *et al.*, 2010). Ainda, os altos valores de concentração de TCC encontrados nas amostras de sedimento são preocupantes, pois essa substância pode retornar à coluna d'água e ainda bioacumular através da cadeia trófica.

Vale destacar que valores de concentração ainda maiores de TCC, variando entre 2,17 e 51,0 mg kg⁻¹ foram obtidos por Heidler *et al.* (2006) e Chu e Metcalfe (2007) em amostras de lodo de esgoto e biossólidos. Também verificaram que essa substância tem a capacidade de acumular-se no lodo gerado durante o tratamento, podendo provocar sérios problemas ambientais caso o destino final desse lodo seja o uso agrícola ou o descarte ocorra de forma inadequada (HEIDLER *et al.*, 2006; CHU e METCALFE, 2007). A presença de TCC em amostras de biossólidos, gerados a partir do lodo obtido nas ETEs através de processos de retirada de contaminantes potencialmente tóxicos, levanta a possibilidade de que tais processos não estão sendo suficientes para tornar os biossólidos seguros para aplicação na agricultura.

Além disso, uma análise da degradação de TCC e TCS em solos foi realizada por Wu *et al.*, em 2009. Os pesquisadores identificaram que ambas as substâncias têm afinidade por solos arenosos e argilosos e que apenas a absorção de TCS sofre influência do pH. Mostraram, também, que esses compostos são bastante estáveis, o TCS pode persistir em solos por dias e até meses enquanto que TCC varia de meses a anos, ou seja, significativamente mais persistente.

De fato, persistência e capacidade de acumulação no ambiente são características inerentes ao TCC e podem favorecer a bioacumulação em organismos

aquáticos como algas do tipo *Cladophora spp* e rã-de-unhas-africana, *Xenopus laevis*, como verificado por Coogan *et al.* (2007) e King (2010).

Quanto à toxicidade do TCC, as informações ainda são incipientes. Segundo relatório divulgado pela USEPA, essa substância é considerada de baixa toxicidade e não apresenta riscos ao meio ambiente e à saúde humana, porque os valores de toxicidade obtidos estão em alta ordem de grandeza, em sua maioria, mg L⁻¹, bem superiores aos que os indivíduos são expostos ao utilizar produtos que contenham esse contaminante (TCC CONSORTIUM, 2002). Na **Tabela 2.2** estão apresentados valores de concentração letal (CL₅₀) para a toxicidade aguda e crônica de TCC em diversos organismos aquáticos.

Tabela 2.2 – Toxicidade aguda e crônica de TCC em diferentes organismos aquáticos (TCC CONSORTIUM, 2002).

Toxicidade	Espécie	Grupo trófico	Duração	CL ₅₀ (µg L ⁻¹)
Toxicidade aguda	<i>D. magna</i>	Invertebrado	48 h	10,0
	<i>C. dúbia</i>	Invertebrado	48 h	3,1
	<i>Mysidopsis bahia</i>	Invertebrado	48h; 96 h	15,0; 10,0
	<i>Salmo gairdneri</i>	Peixe	96 h	120,0
	<i>L. macrochirus</i>	Peixe	96 h	97,0
	<i>S. subspicatus</i>	Alga	72 h	20,0
	<i>P. subcapitata</i>	Alga	72 h	0,017
Toxicidade crônica	<i>D. magna</i>	Invertebrado	21 d	4,7
	<i>M. bahia</i>	Invertebrado	28 d	0,13
	<i>P. subcapitata</i>	Alga	14 d	10.000,0

Entretanto, deve-se considerar que a USEPA tem revisto o uso e os efeitos de TCC. Em 2009, foi classificado como uma substância de alta prioridade, devido à alta produção e consumo, até 500 toneladas por ano, e de estudos que sugerem o seu potencial risco ao ambiente e aos seres humanos. Desde então, tem incentivado o desenvolvimento de estudos que possam fornecer maiores informações sobre TCC, objetivando confirmar ou refutar as informações já divulgadas.

Em adição, a remoção incompleta de TCC em sistemas convencionais de tratamento de esgotos tem introduzido continuamente essa substância no meio ambiente (HEIDLER *et al.*, 2006; ZHAO *et al.*, 2010), tendendo a elevar sua concentração a valores acima dos estabelecidos como seguros, **Tabela 2.2**. Este problema ainda pode aumentar porque a utilização de TCS, um agente antimicrobiano

semelhante ao TCC, tem sido questionada. Em Minnesota, nos Estados Unidos, foi estabelecida legislação que proibirá a comercialização de produtos contendo TCS no estado, a partir de 1º de Janeiro de 2017 (MINNESOTA, 2015). Enquanto isso, TCC já está sendo usado em muitos produtos de cuidado pessoal em substituição ao TCS. Tal fato está refletido nas concentrações dessa substância encontrada no ambiente, conforme estudos anteriormente citados, além do crescente uso de TCC em diferentes produtos comerciais.

Nesse contexto, algumas pesquisas já sugerem que TCC pode apresentar toxicidade capaz de impactar negativamente ecossistemas aquáticos, além disso estudos relatam concentrações desse composto na ordem de mg kg^{-1} no ambiente, valores que indicam toxicidade, conforme testes divulgados pela USEPA (**Tabela 2.2**).

O risco toxicológico do TCC sobre diferentes organismos aquáticos foi investigado por Tamura *et al.* (2013) e Torres *et al.* (2013). Tamura *et al.* (2013) estimaram esse efeito sobre algas, *Daphnia* e peixes e verificaram que esse contaminante apresentou toxicidade aguda e crônica mais elevada em *Daphnia*, com valores de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,9 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, enquanto Torres *et al.* (2013) avaliaram o efeito de TCC e de outros contaminantes em embriões de peixe-zebra e ouriço do mar. Constataram maior toxicidade de TCC para ouriço-do-mar, induzindo efeitos significativos no comprimento larval em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$. Ainda, observaram que a exposição tanto de peixe-zebra quanto de ouriço-do-mar a uma mistura desses contaminantes resultou igualmente em efeitos relevantes sobre seus desenvolvimentos embrionários, tornando evidente a toxicidade dessa substância.

Vale a pena destacar que, recentemente, TCC também foi encontrado em amostras biológicas como sangue, urina e até em cordão umbilical de fetos humanos, sendo a maior concentração observada de $0,17 \text{ mg L}^{-1}$ (SCHEBB *et al.*, 2012; PYCKE *et al.*, 2015).

Contudo, uma das características mais preocupantes do uso de TCC é a possibilidade de atuar como IE. Pesquisas recentes identificaram diversos distúrbios causados por essa substância em animais e seres humanos, o mais frequentemente relatado está associado a modificações do sistema reprodutor (CHEN *et al.*, 2007; GIUDICE e YOUNG, 2010; DULEBA *et al.*, 2011; SOOD *et al.*, 2013).

Ao estudar o efeito de TCC associado à testosterona em ratos machos, Chen *et al.* (2007) verificaram que o efeito da testosterona é amplificado por TCC e produz um aumento significativo de tamanho em todos os órgãos sexuais masculinos. Também foi constatado por outros autores que TCC pode afetar a função ovariana em ratos fêmeas (YUEH *et al.*, 2012;).

Ainda considerando o sistema reprodutor, Giudice e Young (2010) investigaram possíveis danos de TCC ao caracol da espécie *Potamopyrgus antipodarum* em água doce e observaram um aumento em sua reprodução, tornando-se um risco ao equilíbrio desse ecossistema.

Alguns estudos também relatam problemas observados em células de humanos. Duleba *et al.* (2011) verificaram o efeito de TCC sobre ratos machos e sobre células humanas da próstata. Constataram que essa substância induz à hiperplasia em órgãos sexuais de ratos machos e potencializa o efeito androgênico em células de câncer de próstata. Em complementação, Sood *et al.* (2013) verificaram que a exposição crônica ao TCC pode resultar na carcinogênese progressiva de células de mama em humanos.

Apesar dos diversos problemas atribuídos à presença de TCC discutidos nos trabalhos anteriores, muitas informações ainda precisam ser conhecidas e documentadas sobre esse contaminante, como seus produtos de degradação no ambiente. Diferentes autores sugerem que esses produtos, em geral sejam mais persistentes e tóxicos que a própria substância (BAIRD e CANN, 2008). Nesse sentido, poucos trabalhos discutem os possíveis produtos de degradação de TCC. Baumann *et al.* (2010) observaram a formação de produtos hidroxilados e quinonas a partir dessa substância. Os compostos formados estão mostrados na **Figura 2.3**.

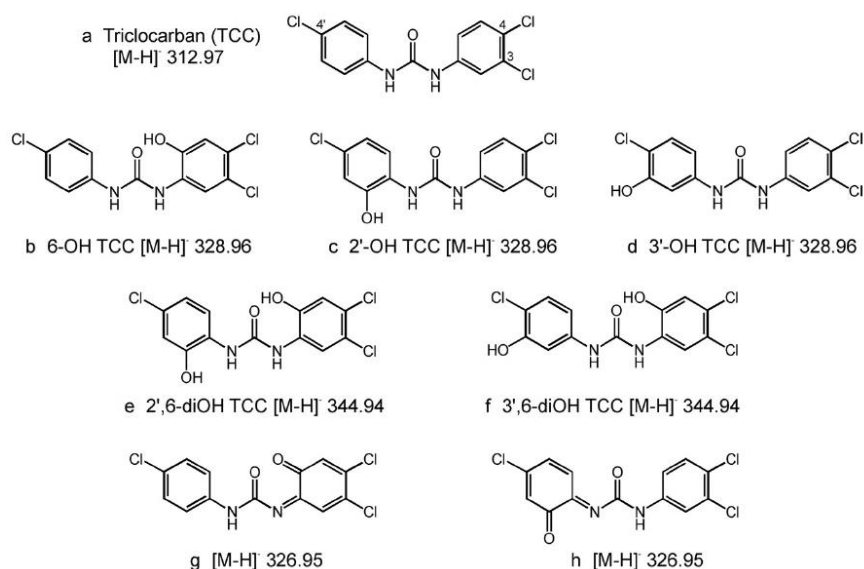


Figura 2.3 – Estrutura química do TCC (a) e subprodutos: 6-OH TCC (b), 2-OH TCC (c), 3-OH TCC (d), 2,6-diOH TCC (e) e 3,6-diOH TCC (f). Em complementação, estão mostradas as estruturas de iminas quinonas possivelmente formadas a partir de TCC: 6-OH TCC (g) e 2-OH TCC (h). Fonte: BAUMANN *et al.*, 2010.

Vale destacar que as quinonas são compostos muito reativos e que representam uma classe de intermediários toxicológicos que pode criar uma variedade de efeitos perigosos *in vivo*, incluindo citotoxicidade aguda, imunotoxicidade e carcinogênese (BOLTON *et al.*, 2000).

Nesse contexto, TCC tem sido considerado uma substância potencialmente prejudicial ao ambiente e ao ser humano, podendo causar danos irreparáveis. Assim, torna-se relevante a realização de estudos sobre TCC a fim de subsidiar ações futuras por órgãos ambientais, o que demanda o desenvolvimento de metodologias analíticas simplificadas, de baixo custo e alta sensibilidade.

2.1.2 Pesticidas

Pesticidas são substâncias ou mistura de substâncias utilizadas na produção, colheita ou no armazenamento de alimentos. São bioativos e capazes de prevenir, destruir ou combater espécies indesejáveis que, de alguma maneira, possam interferir na produção, no processamento, armazenamento, transporte e estocagem de alimentos (HOLLAND, 1996; STEPHENSON *et al.*, 2006).

Essas substâncias são frequentemente classificadas como herbicidas, inseticidas, fungicidas etc., de acordo com o tipo de pragas que controlam (IBAMA, 2009). Apesar dos seus muitos méritos, são considerados como os contaminantes mais perigosos para o ambiente, devido à capacidade de acumulação, mobilidade e efeitos causados aos organismos vivos a longo prazo. São exemplos o DDT, atrazina, MBC, benomil, tiofanato metílico, clordano, heptacloro, hexaclorobenzeno, diuron, aldrin, endrin e dieldrin, dentre tantos outros.

O DDT foi um dos agrotóxicos mais utilizados no mundo. Suas propriedades como inseticida foram descobertas em 1939, sendo imediatamente considerado a solução para o controle de pragas. Entretanto, seu uso só foi difundido entre a década de 50 e 60, quando houve um aumento significativo da produção agrícola (BAIRD e CANN, 2008). Nesse mesmo período, surge a discussão sobre os possíveis danos do DDT ao meio ambiente. Essa discussão é provocada pelo lançamento do livro intitulado *Silent Spring*, que abordava a morte de pássaros no sul da Inglaterra pelo uso indiscriminado desse contaminante (CARSON, 2002). Essa discussão resultou em grandes modificações na política nacional dos Estados Unidos sobre DDT, levando a uma proibição nacional. Muitos países também proibiram ou restringiram o uso. No entanto, DDT ainda é utilizado para controle de vetores de doenças como a malária, em diversos de países (BAIRD e CANN, 2008). Na **Tabela 2.3** é apresentada a situação de uso de alguns agrotóxicos em diferentes países.

Tabela 2.3. Situação de uso de agrotóxicos em alguns países (adaptado de BAIRD e CANN, 2008).

Pesticida	Estados Unidos	Canadá	Reino Unido	México	China	Índia	Brasil
DDT	X	X	X	R	R	R	X
Aldrin	X	X	X	X	OK	OK	R
Dieldrin	X	X	X	X	OK	R	R
Endrin	X	X	X	X	OK	X	
Clordano	R	X	X	OK	R	OK	
Heptacloro	R	X	X	X	OK	OK	X
Hexaclorobenzeno	X	X	X				
Carbendazim	X						OK

X = uso proibido, R = uso restrito, OK = uso liberado

Assim como os produtos de higiene pessoal, os pesticidas também apresentam alta produção e consumo no mundo inteiro. No Brasil, só nas lavouras, passou de um consumo de aproximadamente 600 milhões de litros em 2002 para 850 milhões de litros em 2011 (**Figura 2.4**).

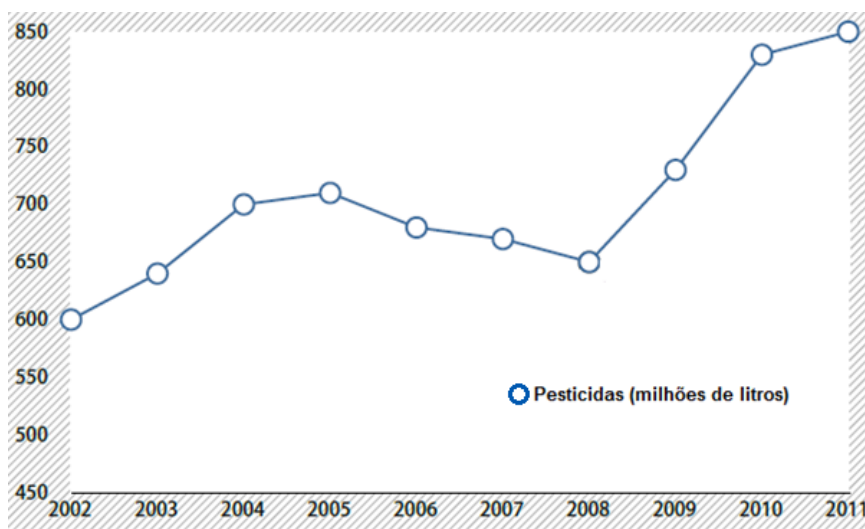


Figura 2.4 – Consumo de pesticidas nas lavouras do Brasil. Fonte: Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a defesa agrícola (SINDAG, 2011 apud ABRASCO, 2012).

Desde 2008, o Brasil assumiu o posto de maior consumidor mundial de pesticidas e, atualmente, já ultrapassou o consumo de um milhão de toneladas dessa substância (SINDAG, 2009 apud LONDRES, 2011). Dentre os pesticidas mais utilizados no Brasil, cita-se o MBC, cujas características são detalhadas na seção subsequente.

2.1.2.1 Carbendazim

Carbendazim (MBC, metil benzimidazol-2-il carbamato, **Figura 2.5**) é um fungicida amplamente utilizado em culturas de algodão, citros, feijão, maçã, soja e trigo (ANVISA, 2009).

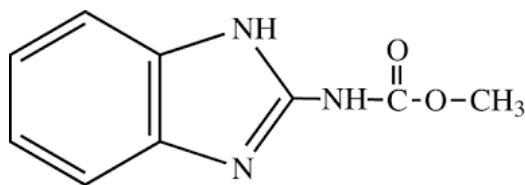


Figura 2.5 – Fórmula estrutural do MBC.

No Brasil, MBC tem seu uso liberado pela ANVISA para fins agrícola, que define um limite de $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ por peso corpóreo de ingestão diária aceitável para seres humanos (ANVISA, 2009). Porém, nos Estados Unidos o uso é proibido por estar associado ao aumento do risco de tumores de fígado em animais. Há pouco tempo, MBC foi detectado em sucos de laranja produzidos no Brasil. Embora, as concentrações detectadas estivessem dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira, esse fato provocou preocupação de produtores nacionais, uma vez que os Estados Unidos é responsável por 15% das importações desse produto e recusou a remessa de sucos contaminados com o fungicida (YOSHIDA, 2013).

Recentemente, o Ministério da Saúde, através da Portaria 2914/2011, incluiu MBC como substância obrigatória a ser determinada em água potável, estabelecendo VMP de $120 \mu\text{g L}^{-1}$ para MBC, expresso como a soma do teor residual de MBC e benomil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Essa alteração da legislação demandará adaptações dos prestadores de serviços até 2016, assim como alternativas analíticas simples, de baixo custo, sensíveis, que minimizem o consumo de reagentes químicos e que gerem a menor quantidade possível de resíduos, tanto em quantidade quanto em diversidade.

É importante destacar que MBC também é o principal produto de degradação de outros dois pesticidas, benomil e tiofanato metílico. Por esse motivo, ambos são determinados para fins de monitoramento ambiental sob a forma mais estável, ou seja, como MBC (ANASTASSIADES e SCHWACK, 1998; ANVISA, 2002; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Cabe ressaltar que o uso de benomil está proibido pela ANVISA desde de 2002 (ANVISA, 2002).

Além disso, a ANVISA criou um Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), em 2001, com o objetivo de estruturar um serviço para avaliar e promover a qualidade dos alimentos em relação ao uso de agrotóxicos e afins, implementado anualmente a partir de 2003. Esse programa tem revelado

dados preocupantes como o uso de agrotóxicos não autorizados e valores de concentração acima do permitido detectados em diversas culturas, evidenciando risco iminente para a saúde humana (ANVISA, 2014). Também como resultado do programa PARA, MBC foi identificado em culturas de abobrinha, alface, pimentão e repolho, para as quais tem uso proibido pela ANVISA. Além disso, foram detectadas concentrações acima do VMP de resíduos em culturas de mamão, tomate e uva (ANVISA, 2014). Por esse motivo, o Ministério Público Federal, em 2013, intimou o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento a suspender todos os produtos que contenham em suas formulações o ingrediente ativo MBC e a ANVISA a providenciar a reavaliação toxicológica do referido princípio ativo, uma vez que a saúde da população brasileira está sendo colocada em risco, tendo em vista que essa substância destacou-se dentre os ingredientes ativos e grupos químicos, em situação irregular, mais detectados nas análises realizadas pelo PARA nos anos de 2010 a 2012 (MINISTÉRIO PÚBLICO FEDERAL, 2013).

No ambiente, MBC tem sido encontrado em concentrações na ordem de ng L^{-1} em amostras como águas superficiais e residuárias, enquanto que em sedimento e lodo foi detectado em $\mu\text{g L}^{-1}$ (CHEN *et al.*, 2012; MORASH *et al.*, 2012). Ademais, a persistência de MBC no ambiente tem sido evidenciada. Uma avaliação da eficiência de remoção de pesticidas e produtos farmacêuticos, entre eles o MBC, em ETE foi realizada por Singer *et al.* (2010), que também correlacionaram a contribuição do aumento desses contaminantes na água do rio receptor do lançamento do esgoto tratado. Constataram que somente 36% do MBC presente no esgoto bruto foi removido durante o processo de tratamento. Além disso, detectaram MBC em concentrações mais elevadas em amostras a jusante do lançamento, evidenciando que o efluente da ETE tem contribuído para a contaminação do ambiente aquático.

Valores ainda menores de remoção do MBC em ETE foram encontrados. Morasch e colaboradores (2012) identificaram uma taxa de remoção de apenas 9% de MBC na ETE estudada, além de observarem a presença dessa substância no corpo receptor do efluente. Chen *et al.* (2012) verificaram que MBC não sofreu remoção durante o processo de tratamento, pois as concentrações desse contaminante no afluente e efluente da ETE mantiveram-se praticamente constantes. Também determinaram MBC em amostras de água de superfície, sedimento de rio e lodo

proveniente de ETE, encontrando valores de concentrações que variaram entre 6,9 ng L⁻¹ e 34,6 µg kg⁻¹, sendo os maiores detectados em amostras de sedimento e lodo, indicando o potencial de persistência dessas substâncias nesses compartimentos ambientais.

Segundo a ANVISA, MBC é uma substância tóxica de classe III, ou seja, de toxicidade moderada (ANVISA, 2009). Entretanto, torna-se preocupante por ser persistente no ambiente e ter sido detectada inclusive em alimentos que são consumidos diariamente, como discutido anteriormente.

Diversos trabalhos têm evidenciado sérios problemas de toxicidade associado a essa substância. Farag *et al.* (2011) verificaram que MBC afeta o ganho de peso, aumenta os níveis maternos de colesterol, triglicerídeos, glicose, proteína e creatinina, reduz os níveis de estradiol, progesterona e o número de fetos vivos, além de produzir efeitos teratogênicos em ratos fêmeas, em doses de 300 e 600 mg kg⁻¹ dia⁻¹ dessa substância. Em concentração menor de MBC, 150 mg kg⁻¹ dia⁻¹, provocou um ligeiro aumento no número de abortos.

Além disso, a evasão e reprodução de minhocas da espécie *Eisenia andrei* cultivadas em solos contaminados com MBC com diferentes características geológicas foram estudadas por Chelinho *et al.* (2014). Para a resposta evasão, os valores de CL₅₀ estimados foram de 1,3 a 9,4 mg kg⁻¹, sendo os maiores efeitos observados em solos arenosos e ácidos, enquanto que os valores de CL₅₀ que provocaram diminuição na produção juvenil estiveram entre 0,73 e 1,27 mg kg⁻¹.

Considerando os trabalhos discutidos sobre MBC, fica evidente que essa substância é persistente e tóxica. Ainda é classificada pela USEPA como um provável carcinógeno em humanos e um IE por diversos autores, por afetar a reprodução, provocar distorção na quantidade de machos e fêmeas, gerar anomalias em órgãos sexuais, entre outros, como relatado abaixo.

Os efeitos provocados pelo MBC em microcrustáceos *Moina micrura* foram investigados por Miracle *et al.* (2011). Para tanto, foram avaliadas as taxas de crescimento e a influência na determinação do sexo dos microcrustáceos. Observaram que o aumento da concentração desse fungicida reduziu as taxas de reprodução, tornaram as fêmeas incapazes de produzir descendência viável e quando submetidas aos dois níveis mais altos de concentração de MBC, 0,02 e 0,04 mg L⁻¹,

provocaram um aumento do número de machos, além de anomalias nos órgãos sexuais de machos, em comparação aos controles.

Resultados semelhantes foram obtidos por Sakr e Shalaby (2014). Eles verificaram que MBC induziu uma diminuição do peso dos testículos em ratos albinos e provocou alterações nos espermatozoides.

Ademais, Jiang *et al.* (2014) constataram que MBC tem o potencial de induzir a morte celular em embriões de peixe zebra, quando utilizada uma concentração de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Também afeta o sistema imunológico em recém-nascidos e interfere nos níveis de citocromo P450, em concentrações de 20 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. P450 é uma enzima que catalisa a síntese de estrogênios, portanto vinculada ao desenvolvimento e crescimento de embriões e à reprodução da espécie.

Diante do exposto, fica evidente a necessidade do desenvolvimento de mais estudos que avaliem a presença e os possíveis danos causados por MBC ao ambiente e à saúde humana, assim como o desenvolvimento de metodologias analíticas rápidas, de baixo custo e sensíveis que possam agilizar tais pesquisas e facilitar a fiscalização por órgãos competentes.

2.2 Métodos analíticos aplicados às determinações de TCC e MBC

TCC e MBC têm ganhado notoriedade na comunidade científica principalmente por serem possíveis IE e estarem associados a diferentes tipos de câncer (DULEBA *et al.*, 2011; SOOD *et al.*, 2013; SAKR e SHALABY, 2014; JIANG *et al.*, 2014). Por isso, a determinação desses compostos em matrizes ambientais e biológicas é de fundamental importância para avaliação de possíveis danos provocados por essas substâncias. Ainda, sua detecção em amostras comerciais facilitaria a fiscalização por órgãos competentes.

Dentre as principais ferramentas analíticas para identificação e quantificação de substâncias orgânicas, as técnicas cromatográficas ainda são consideradas de maior sensibilidade e seletividade. Isso não é diferente para TCC e MBC, pois a maioria dos trabalhos citados na literatura para análises de diversas matrizes ambientais e biológicas utilizam cromatografia.

Para a determinação de TCC em amostras de lodo e biossólidos de uma ETE, Chu e Metcalfe (2007) desenvolveram um método por cromatografia líquida com ionização por *electrospray* com detecção por espectrometria de massa (LC-ESI-MS / MS), com etapas de extração líquida pressurizada (PLE) e extração em fase sólida (SPE) e obtiveram um LD de $6,3 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$.

Resultados semelhantes para TCC em diferentes matrizes foram encontrados por Guo *et al.* (2009) e Miao *et al.* (2014). Guo *et al.* (2009), alcançaram um LD de $1,3 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ em amostras aquosas, utilizando microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) combinada com a cromatografia líquida de ultra eficiência com detector ultravioleta (UHPLC-TUV). Miao *et al.* (2014) atingiram um LD de $1,6 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ em plantas aquáticas usando SPE com análises por cromatografia líquida de alta eficiência com ionização por *electrospray* e detector de massa (HPLC-ESI-MS/MS).

Para MBC, LD ainda melhores foram conseguidos por Singer *et al.* (2010), $1,6 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ para amostras de água de rio e de $4,8 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ para esgotos empregando SPE e análises por LC-ESI-MS / MS.

Além disso, UHPLC-MS-MS foi aplicada para determinação simultânea de TCC, MBC e outros biocidas em água de superfície, sedimento de rio, efluente e lodo proveniente de ETE, conseguindo LD da ordem de ng L^{-1} para essas substâncias (CHEN *et al.*, 2012).

No entanto, vale salientar que esses métodos são dispendiosos e envolvem várias etapas e equipamentos sofisticados. Por esse motivo, métodos voltamétricos têm surgido como alternativa viável para determinação de diferentes compostos orgânicos por serem mais simples, rápidos e apresentarem sensibilidade e baixo custo de instrumentação e de materiais utilizados, além da possibilidade de uso de pequenos volumes de reagentes e amostras, minimizando a geração de resíduos, contribuindo para reduzir impactos negativos ao meio ambiente (RIBEIRO *et al.*, 2011; VIDAL *et al.*, 2008). Em adição, a voltametria ainda possibilita que a medida seja realizada diretamente na amostra ou utilizando um número menor de etapas de tratamentos prévios, dependendo da matriz estudada, e ainda assim garantindo sensibilidade equivalente àquelas obtidas por técnicas cromatográficas.

Para TCC, a literatura relata somente um estudo que discute o comportamento catódico dessa substância, que descreve a determinação simultânea de TCC e TCS em cosméticos e produtos farmacêuticos utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detector de índice de refração diferencial e a voltametria de pulso diferencial (VPD). Nesse estudo, foi investigada a eletrorredução dessas substâncias em hidróxido de tetra-butil-amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, usando ECV modificado com dois diferentes metais nobres, chumbo e mercúrio. Os resultados revelaram uma melhor definição e magnitude do sinal analítico para ECV modificado com chumbo e por esse motivo foi escolhido para desenvolvimento do método. Entretanto, devido à baixa resolução determinada pela proximidade dos potenciais de redução obtidos, $-1,46 \text{ V}$ e $-1,55 \text{ V}$ para TCC e TCS, respectivamente, não foi possível uma determinação simultânea. Apesar disso, VPD apresentou sensibilidade e seletividade equivalente ao método cromatográfico proposto para medidas qualitativas e quantitativas individuais desses contaminantes. Nas condições do estudo, a eletrooxidação de TCC não foi verificada (WANG *et al.*, 2005).

Vale ressaltar que eletrodos à base de carbono, como o ECV, têm sido largamente utilizados em eletroanálises por apresentarem, entre outras características, significativa estabilidade química em meios ácidos e básicos, propriedades elétricas satisfatórias, ampla janela de potencial e baixas correntes de fundo (EVSTEFEEVA *et al.*, 2005). Além disso, ECV é sempre uma alternativa interessante, sendo um dos primeiros eletrodos a serem testados quando não há informações eletroquímicas a respeito do analito estudado, como TCC.

Ainda sobre TCC, em 2010, Baumann e colaboradores previram o metabolismo oxidativo dessa substância utilizando uma célula eletroquímica acoplada a um cromatógrafo LC-ESI-MS-MS. Para determinação dos produtos de oxidação do desse composto, uma solução de TCC $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi analisada sob fluxo constante de $10 \text{ } \mu\text{L min}^{-1}$ em uma célula eletroquímica equipada com dois eletrodos, diamante dopado com boro como eletrodo de trabalho e Pd/H₂ como eletrodo de referência, enquanto um potencial constante de 2.500 mV foi aplicado. Em seguida, os produtos de oxidação obtidos foram identificados por LC-ESI-MS-MS, revelando a formação de compostos secundários hidroxilados que ainda podem se converter em iminas de quinonas reativas, como mostrado na **seção 2.1.1.1**.

Como constatado durante a revisão bibliográfica, nenhuma informação sobre o comportamento anódico de TCC foi encontrada, entretanto, diversos estudos têm demonstrado que métodos voltamétricos são eficientes para a determinação de compostos similares como TCS (VIDAL *et al.*, 2008; FOTOUHI *et al.*, 2010), sugerindo a viabilidade de aplicação desses métodos para determinação do TCC. Além disso, deve-se considerar a importância dessa substância como contaminante ambiental e as características de IE que apresenta. Por esses motivos, é relevante o desenvolvimento de métodos voltamétricos, conforme vantagens das técnicas já ressaltadas.

Em contrapartida, para MBC, muitos são os trabalhos que utilizam técnicas voltamétricas, fazendo uso de diferentes eletrodos sólidos, inclusive eletrodos quimicamente modificados. A seguir, alguns desses estudos são relatados.

Um dos primeiros trabalhos a apresentar o comportamento eletroquímico do MBC foi realizado por Hernandez e colaboradores, em 1996, que determinaram essa substância sobre eletrodo de pasta de carbono (EPC) modificado com fenil-metil-silicone em amostras de vinho, maçã e solo, utilizando a VPD com pré-concentração do analito e encontraram um LD de $4,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

EPC são usados frequentemente até hoje para determinações eletroanalíticas, com aplicações em constante expansão a partir da disponibilidade de materiais para confecção de eletrodos quimicamente modificados. As principais vantagens são baixa corrente de fundo, baixo ruído e, principalmente, baixo custo, facilidade de renovação da superfície e confecção no próprio laboratório. A pasta de carbono é uma mistura homogênea de grafite em pó 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). Além disso, esse tipo de eletrodo tem mostrado significativa vantagem em relação aos eletrodos sólidos, porque possibilitam uma modificação de todo o material eletródico mediante a mistura controlada de diferentes materiais ao grafite e óleo mineral, enquanto que essa modificação acontece apenas na superfície de eletrodos sólidos (PEREIRA *et al.*, 2002). Ainda, modificações realizadas sobre a superfície de eletrodos sólidos, demandam etapas de deposição e secagem do material modificante, as quais

requerem longo tempo, como descrito por Manisankar *et al.* (2006). Apesar de terem obtido resultado similar ao Hernandez *et al.*, LD de $5,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, a preparação do ECV modificado com argila na presença e ausência do surfactante cetil-trimetilamônio brometo durou em média 5 horas. Vale comentar que esse tipo de modificação pode também comprometer a repetibilidade e reprodutibilidade dos resultados. As medidas foram realizadas por VOQ com redissolução adsortiva e a metodologia desenvolvida aplicada em amostras de água (MANISANKAR *et al.*, 2006).

Assim, ao longo do tempo, diversos trabalhos foram sendo realizados a fim de melhorar limites de detecção de métodos voltamétricos desenvolvidos para determinação de MBC. Para tanto, pesquisadores têm focado na busca por diferentes materiais modificantes que sejam capazes de aumentar a sensibilidade.

Recentemente, menores LD foram alcançados usando nanotubos de carbono (NTC) como material modificante de eletrodos de trabalho. Um exemplo disso foi o método elaborado por Ribeiro *et al.*, em 2011, que alcançou um LD de $5,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ em amostras de água de rio, usando VOQ com redissolução adsortiva, com tempo de pré-concentração de 60 s e ECV modificado com NTC de paredes múltiplas.

Em 2013, Luo e colaboradores conseguiram obter um LD ainda inferior, $5,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, usando VPD e ECV modificado com uma mistura de óxido de grafeno e NTC de paredes múltiplas. A metodologia foi aplicada a amostras de água de torneira e solo. Também modificando a superfície de um ECV, Razzino *et al.* (2015) desenvolveram um método para determinação de MBC em suco de laranja. O ECV foi modificado com uma fina película de sílica mesoporosa e NTC de paredes múltiplas, obtendo um LD de $5,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

Como mostrado, os nanotubos de carbono têm sido muito usados como material modificante em eletrodos, por apresentarem como principal característica a alta condutividade, propriedade fundamental em eletroanálises. São capazes de transpor correntes superiores a 10^9 A cm^{-2} , superando inclusive eletrodos metálicos, que apresentam valores de aproximadamente 10^5 A cm^{-2} (FRACKOWIAK e BÉGUIN, 2001), facilitando assim o transporte de elétrons e, conseqüentemente, melhorando sensibilidade analítica.

Além disso, a estrutura de NTC ainda pode ser funcionalizada com diferentes grupos químicos, como os carboxílicos. Neste caso, a reação de carboxilação

promove a ligação do átomo de carbono do grupo –COOH covalentemente a átomos de carbono da estrutura do nanotubo (**Figura 2.6**). Nanotubos funcionalizados podem ter propriedades eletrônicas e mecânicas bem diferentes de nanotubos não funcionalizados, podendo facilitar a interação com diversas substâncias químicas, especialmente moléculas orgânicas e, dessa forma, promover ganhos em seletividade e sensibilidade com eletrodos desse tipo (SOUZA-FILHO, 2007; FEITOSA, 2009).

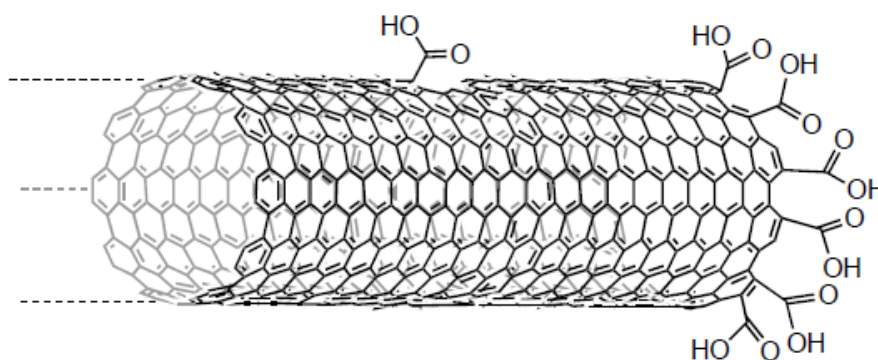


Figura 2.6 – Estrutura química de nanotubo de carbono funcionalizado com grupos carboxílicos. Fonte: HIRSCH, 2002.

Esse aumento na sensibilidade proporcionada pela funcionalização de NTC por grupos carboxílicos foi demonstrada por Sundari *et al.* (2010), que desenvolveram um método para determinação de MBC em amostras de água e solo usando VPD com redissolução adsortiva e ECV modificado com nanotubos de carbono funcionalizados e conseguiram obter um LD de $5,2 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$.

As vantagens da confecção de eletrodos do tipo EPC e possíveis modificações com nanotubos de carbono funcionalizados são evidentes. Como discutido anteriormente, diferentes trabalhos demonstram a aplicabilidade de EPC para determinação de MBC (HERNANDEZ *et al.*, 1996), assim como ganho de sensibilidade em métodos voltamétricos quando NTC são utilizados como material modificante do eletrodo (RIBEIRO *et al.*, 2011; SUNDARI *et al.*, 2010). Dessa forma, confeccionar um eletrodo que reúna as vantagens desses dois materiais, ou seja, características como fácil confecção e elevada sensibilidade, torna-se uma opção promissora, pois contaminantes ambientais como MBC estão presentes no ambiente normalmente em concentrações traço. Assim, esse tipo de eletrodo é proposto pela primeira vez para a determinação de MBC.

Vale ressaltar que, desde 2011, a quantificação de MBC expresso como a soma de MBC e benomil em água potável tornou-se obrigatória pela legislação brasileira. Nesse contexto, justifica-se a busca pelo desenvolvimento de métodos cada vez mais sensíveis, que possibilitem a avaliação desse contaminante no ambiente e que facilite a fiscalização pelos órgãos ambientais competentes.

3 EXPERIMENTAL

3 EXPERIMENTAL

3.1 Instrumentação

As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato Eco Chemie μ Autolab[®] tipo II – Metrohm, com seleção de função no modo potenciostático, acoplado a um computador. Os experimentos voltamétricos foram conduzidos em uma célula eletroquímica equipada com um sistema de três eletrodos: Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) como referência, fio de platina como eletrodo auxiliar e dois eletrodos de trabalho: a) ECV ($\phi = 3$ mm) para determinação de TCC e b) pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono funcionalizados (EPC-NTCPMF), para determinação de MBC ($\phi = 4$ mm) (**Figura 3.1**). Em todas as medidas, o volume total de solução na célula foi de 3 mL.

As medidas de pH dos eletrólitos suporte utilizados foram realizadas em medidor de pH modelo 713 – Metrohm e a caracterização morfológica das pastas de carbono e da pasta de nanotubos de carbono foi feita em um microscópio eletrônico de varredura (MEV), modelo Quanta – FEI, equipado com microanálise por energia dispersiva.

3.2 Amostras, reagentes, soluções e materiais

Para a realização dos estudos com TCC, dois tipos de sabonetes, um líquido e outro em barra, foram adquiridos no comércio local e escolhidos com base nas informações constantes nos rótulos, indicando a presença desse composto na formulação.

Três amostras de água potável foram coletadas em residências abastecidas pelo sistema público da cidade de João Pessoa, PB, localizadas nos bairros Mangabeira, Jardim Planalto e Tambauzinho, abrangendo os dois mananciais que fornecem água bruta para o município de João Pessoa, rio Gramame e açude Marés. A vidraria utilizada para a coleta das amostras de água foi lavada previamente com detergente comum e enxaguada com água de torneira. A seguir, foi colocada em

banho contendo solução de Extran[®] neutro a 10 % (v/v) por 24h e seguida por lavagem com água destilada e, por fim, com água ultrapura.

Padrões analíticos de TCC (pureza $\geq 97\%$) e MBC (pureza $\geq 97\%$) e todos os demais reagentes utilizados foram adquiridos do fornecedor Sigma Aldrich, com grau analítico ou pureza HPLC, quando necessário. Devido à baixa solubilidade em água que é de aproximadamente $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, a solução estoque de TCC de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e subseqüentes diluições, conforme necessidade requerida pela sensibilidade da técnica voltamétrica, foram preparadas em metanol grau HPLC, enquanto que a solução estoque de MBC de mesma concentração e posteriores diluições foram preparadas em solução aquosa de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Todas as soluções derivadas dos padrões analíticos foram preparadas diariamente e estocadas sob refrigeração.

As soluções utilizadas como eletrólito suporte durante as medidas voltamétricas foram preparadas com água ultrapura obtida através de sistema Millipore Milli-Q System (condutividade $\leq 0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$), seguindo o procedimento adaptado de Oliveira *et al.* (2007): H_2SO_4 (pH 1,0); HCl/KCl (pH 1,0 e 2,0); HAc/NaAc (pH 3,6; 4,2 e 5,4); $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (pH 6,0; 7,1 e 8,1); borax/ NaOH (pH 9,1 e 10,5) e NaOH/KCl (pH 12,0).

Para o estudo de interferentes, uma solução estoque mista foi preparada em água ultrapura contendo os íons F^- ($50,0 \text{ mg L}^{-1}$), OCl^- ($60,0 \text{ mg L}^{-1}$), SO_4^{2-} ($33,6 \text{ mg L}^{-1}$), Al^{3+} ($6,3 \text{ mg L}^{-1}$), Ca^{2+} ($26,0 \text{ mg L}^{-1}$) e Na^+ ($60,2 \text{ mg L}^{-1}$).

Para a confecção das pastas de carbono foram utilizados pó de grafite (pureza $\geq 99\%$); óleo mineral (nujol); NTC-PMNF (pureza $\geq 90\%$), diâmetro de 10 a 70 nm e comprimento de $20 \mu\text{m}$, CNT Ltda e os NTC-PMF ($> 8\%$ de COOH), diâmetro de $9,5 \text{ nm}$ e comprimento de $1,5 \mu\text{m}$, produzidos por Nanocyl Inc., todos obtidos da Sigma Aldrich.

Todos os experimentos foram realizados sob temperatura ambiente controlada (21°C).

3.3 Tratamento dos dados eletroquímicos

Os voltamogramas obtidos por VPD, VOQ e *stripping* voltamétrico adsorptivo foram suavizados usando a função *Savitzky and Golay smooth* nível 2 e sua linha de base corrigida com a função *moving average* empregando uma janela de potencial de 2 mV, ambas disponíveis na versão 4.9 do *software* GPES, que acompanha o equipamento, proporcionando uma melhor definição dos picos. Na sequência, gráficos foram construídos utilizando o *software* Origin® 5.0.

3.4 Variáveis de desempenho analítico

A etapa de validação é fundamental para assegurar a eficácia da metodologia analítica proposta. Os parâmetros comumente avaliados são: sensibilidade, precisão e exatidão (BRITO *et al.*, 2003).

A sensibilidade de um método é uma medida de sua habilidade em distinguir entre pequenas diferenças na concentração de um analito. Ela foi avaliada através dos valores de LD e LQ, calculados conforme as **Equações 3.1** e **3.2**. Dez medidas realizadas em eletrólito puro (brancos) 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).

$$LD = 3S_b / b \quad \text{Equação 3.1}$$

$$LQ = 10S_b / b \quad \text{Equação 3.2}$$

Onde:

S_b = desvio-padrão da média do sinal do branco em eletrólito puro

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

A precisão da medida foi estimada através dos testes de repetibilidade e reprodutibilidade, e calculada em termos de desvio-padrão relativo, conforme **Equação 3.3** (SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002).

$$\%DPR = (S / \bar{x}) \times 100\%$$

Equação 3.3

Onde:

S = desvio padrão do conjunto de medidas

$\bar{x}$ = média do conjunto de medidas

O desvio padrão relativo foi estimado a partir de 12 medidas sucessivas, realizadas exatamente do mesmo modo para o teste de repetibilidade e 10 medidas realizadas em dias e com soluções diferentes para reprodutibilidade. Para os dois testes foi utilizada uma solução de MBC $1,6 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ e de TCC $4,8 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹.

Por fim, uma avaliação na exatidão do método foi realizada através de testes de recuperação em amostras comerciais de sabonetes e água potável, para o TCC e apenas água potável para o MBC.

Os testes de recuperação para o TCC foram realizados com soluções estoque de 0,5 mg mL⁻¹ para sabonete em barra e 2,0 mg mL⁻¹ para sabonete líquido, preparadas diariamente em metanol e diluídas na proporção de 1:40.000 (v/v). Uma alíquota de 100 µL dessas soluções foram adicionadas para uma célula eletroquímica contendo 3 mL do eletrólito de suporte. Para as amostras de água potável, o eletrólito suporte, tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, pH 5,4, foi preparado diretamente na própria amostra. Estas amostras foram fortificadas com 100 µL de uma solução de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ de TCC. Em seguida, as curvas de recuperação foram obtidas, para ambas as amostras, por adição de quatro alíquotas de 100 µL de uma solução de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ de TCC, usando o método de adição de padrão, conforme mostrado na **Figura 3.1**.

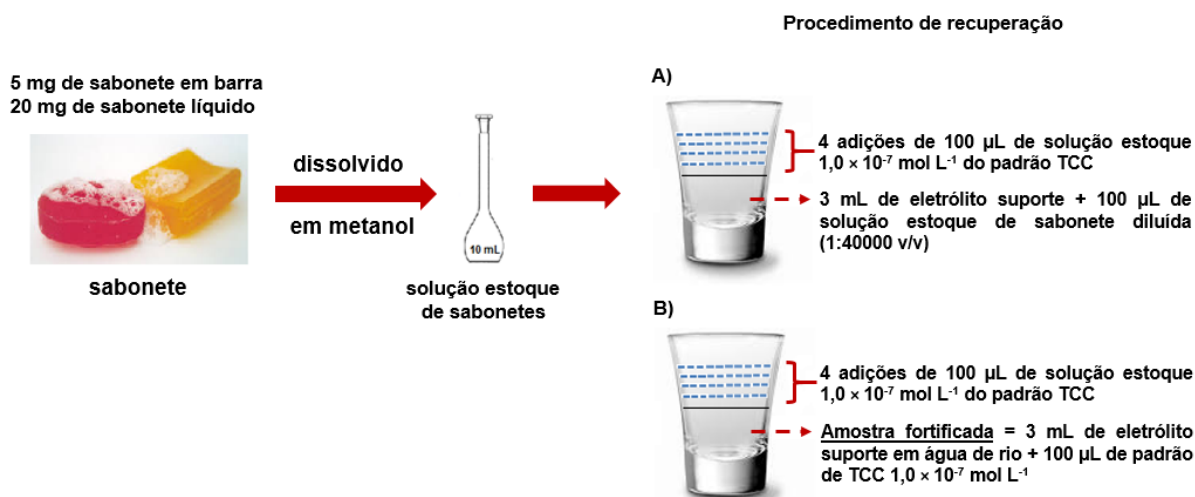


Figura 3.1 – Preparação das soluções de sabonetes e procedimento de recuperação baseado no método de adição de padrão. **(A)** em amostras de sabonetes e **(B)** em água potável.

Para o MBC, o eletrólito suporte, H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 1 também foi preparado diretamente na amostra de água potável. Estas amostras foram fortificadas com 50 µL de uma solução de $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC. Em seguida, as curvas de recuperação foram obtidas, para ambas as amostras, por adição de quatro alíquotas de 50 µL de uma solução de $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC, usando o método de adição de padrão, seguindo o esquema descrito na **Figura 3.1B**.

Para os dois contaminantes, cada medida foi realizada em triplicata.

3.5 Determinação de TCC

3.5.1 Pré-tratamento da superfície do eletrodo de trabalho

O ECV foi polido mecanicamente em papel de filtro umedecido com dispersão de spray de grão de diamante (1 µm) obtida do fornecedor Risitec, seguido de lavagem da superfície do eletrodo com jatos sucessivos de água ultrapura. Posteriormente, o eletrodo foi submetido a um condicionamento em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, empregando 10 sucessivas varreduras cíclicas numa janela de potencial de $-1,2$ a $1,4 \text{ V}$, com velocidade de $1,0 \text{ V s}^{-1}$. Esse procedimento foi repetido diariamente antes do início das medidas voltamétricas e entre os diferentes experimentos realizados para garantir a limpeza e minimizar possíveis problemas de adsorção de TCC e/ou de

seus produtos de oxidação na superfície ativa do eletrodo, para garantir a obtenção de dados e resultados confiáveis e reprodutíveis.

3.5.2 Investigação eletroquímica

O perfil voltamétrico e a reversibilidade do processo eletroquímico do TCC em ECV foram estudados utilizando VC. Em seguida, a voltametria de varredura linear (VVL) foi aplicada para estimar a natureza difusional ou adsortiva do processo eletroquímico. Além disso, a influência do pH numa faixa de 1,0 a 12,0 foi investigada por voltametria de pulso diferencial (VPD), utilizando as soluções tampão descritas no item 3.2 como eletrólitos suporte. As condições experimentais de medida foram: i) CV, velocidade de varredura (v) de 50 mV s^{-1} ; ii) VVL, v variando de 25 a 200 mV s^{-1} e iii) VPD, amplitude de pulso (a) de 25 mV, modulação de tempo de 70 ms, incremento (ΔE_s) de 2 mV, intervalo de tempo de 400 ms e v de 5 mV s^{-1} .

3.5.3 Efeito de memória

O efeito de memória do TCC sobre a superfície do ECV foi investigado usando solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,4) como eletrólito suporte e uma solução diluída do padrão analítico de concentração $4,8 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, foram realizadas seis medidas alternadas em tempo zero e com acumulação de 120 s, a fim de verificar se o sinal analítico (intensidade de corrente elétrica) retornava à medida inicial após um tempo de deposição.

3.5.4 Voltametria de onda quadrada

Para determinação de TCC em amostras de água potável e produtos de higiene pessoal, foram utilizados dois métodos voltamétricos: VOQ com medida direta e VOQ com pré-concentração adsortiva.

As medidas por VOQ no modo direto foram realizadas em tampão acetato (pH 5,4) nas seguintes condições: frequência (f) de 25 s^{-1} , ΔE_s de 2 mV, v de 50 mV s^{-1} e a de 50 mV. Uma curva analítica abrangendo uma faixa de concentração de

0,7 a $8,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de TCC foi construída a partir de adições sucessivas de alíquotas de uma solução padrão de TCC $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ à célula eletroquímica contendo 3 mL do eletrólito suporte.

Para os experimentos de VOQ com pré-concentração adsortiva, o mesmo eletrólito suporte foi utilizado. A otimização dos parâmetros foi realizada de forma univariada para uma solução de TCC $1,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, nas condições experimentais descritas na **Tabela 3.1**.

Tabela 3.1 – Parâmetros eletroquímicos estudados por VOQ com pré-concentração adsortiva para determinação de TCC.

Parâmetros	Intervalo estudado
Frequência, s ⁻¹	20 – 120
Incremento de potencial, mV	1 – 10
Amplitude de pulso, mV	10 – 50
Tempo de deposição, s	0 – 300

Uma vez estabelecida a condição ótima, uma curva analítica foi construída através de adições sucessivas de alíquotas de uma solução padrão de TCC $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a uma célula eletroquímica contendo 3 mL do eletrólito suporte.

3.6 Determinação de MBC

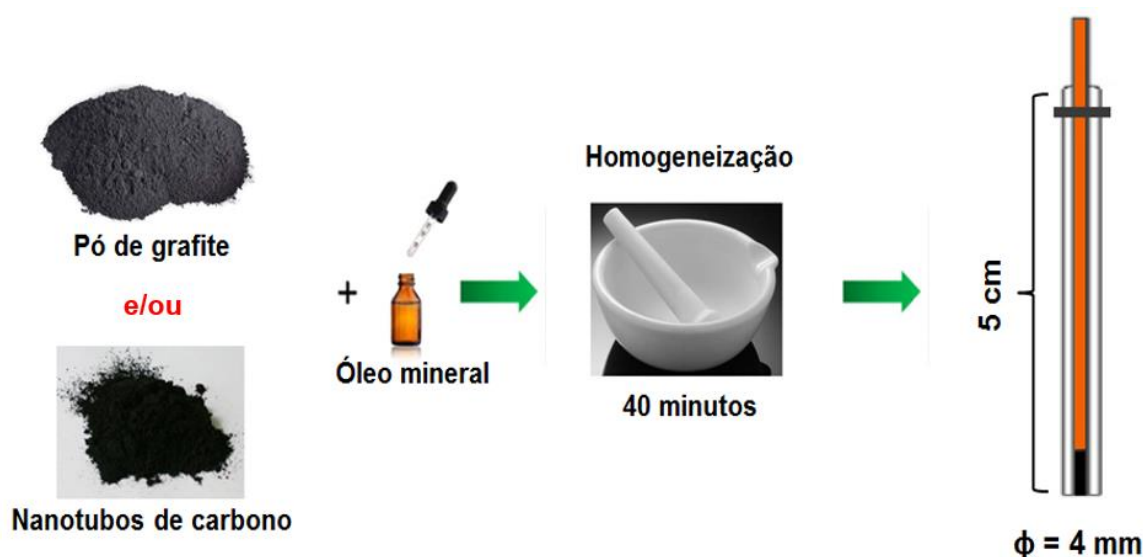
3.6.1 Confecção dos eletrodos de trabalho

Para a determinação de MBC, três eletrodos de pasta de carbono e um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono foram testados. A preparação das pastas envolveu a misturas de sólidos (grafite e/ou nanotubos de carbono) com óleo mineral, na proporção descrita na **Tabela 3.2**, seguida de uma etapa de homogeneização utilizando almofariz e pistilo, conforme **Figura 3.2**. Para que se obtivesse uma pasta visualmente homogênea e que permitisse uma adequada compactação, requisito importante para a obtenção de medidas reprodutíveis em voltametria, um tempo mínimo de 40 minutos foi requerido para a preparação de cada pasta.

Tabela 3.2 – Proporções usadas para confecção dos diferentes eletrodos de pasta de carbono e nanotubos de carbono.

Eletrodos	Óleo mineral (%)	Pó de grafite (%)	Nanotubos (%)
EPC	30	70	-
EPC-NTCPMNF	30	50	20
EPC-NTCPMF	30	50	20
ENTC-PMF	30	-	70

EPC-NTCPMNF: eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas não-funcionalizado, EPC-NTCPMF: eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado, ENTC-PMF: eletrodo de pasta de nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado.

**Figura 3.2** – Representação esquemática da preparação dos eletrodos de trabalho para determinação de MBC. Adaptado de Vicentini *et al.*, 2014.

Em seguida, cada pasta foi cuidadosamente compactada em um cilindro de vidro com diâmetros iguais ($\phi = 4,0$ mm), comprimento de 5 cm e um fio de cobre foi utilizado como contato elétrico (**Figura 3.2**).

3.6.2 Pré-tratamento dos eletrodos de pasta de carbono

Os eletrodos confeccionados foram polidos em papel manteiga e posteriormente lavados com água ultrapura, procedimento realizado entre todas as medidas. O eletrodo foi submetido a um condicionamento em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, empregando 50 sucessivas varreduras cíclicas abrangendo uma janela de potencial de $-1,2$ a $1,4 \text{ V}$, com velocidade de $1,0 \text{ V s}^{-1}$. Esse tratamento foi repetido entre os experimentos para garantir a limpeza da superfície do eletrodo.

3.6.3 Escolha do eletrodo de trabalho

Após a confecção e condicionamento dos eletrodos de pasta de carbono e pasta de nanotubos de carbono, uma medida voltamétrica foi realizada utilizando VOQ para estabelecer qual dos eletrodos apresentava melhor resposta eletroquímica para MBC em solução de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os quatro eletrodos estudados, EPC, EPC-NTCPMF, EPC-NTCPMF e ENTCT-PMF, possuíam o mesmo diâmetro interno de 4,0 mm.

As condições dos experimentos foram: f de 25 s^{-1} , ΔE_s de 2 mV, a de 50 mV e v de 50 mV s^{-1} , numa janela de potencial de 0 a +1,2 V, utilizando solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,7 como eletrólito suporte.

Além disso, a área eletroativa de cada eletrodo foi estimada. Para tanto, foram realizados voltamogramas cíclicos para uma solução de ferricianeto de potássio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ nas seguintes condições experimentais: v variando entre 25 e 500 mV s^{-1} , faixa de potencial de -0,2 V a 0,7 V e eletrólito suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,0.

3.6.4 Investigação eletroquímica

A VC foi utilizada para investigar o perfil voltamétrico, a reversibilidade e a natureza do processo eletroquímico do MBC contra o EPC-NTCPMF. Para esse estudo, uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e o eletrólito suporte H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0) foram usados e as medidas realizadas numa janela de potencial de -1,2 a +1,4 V vs. $E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}$. Além disso, a voltametria de pulso diferencial (VPD) foi usada para avaliar a influência do pH numa faixa de 1,0 a 12 nas soluções tampão descrita no item 3.2. As condições experimentais de medida foram: i) CV: v variando de 25 a 500 mV s^{-1} ; ii) VPD: a de 50 mV, tempo de modulação de 60 ms, ΔE_s de 2 mV, intervalo de tempo de 100 ms e v de 20 mV s^{-1} .

3.6.5 Teste de adsorção

Teste de adsorção de MBC sobre a superfície do EPC-NTCPMF em dois diferentes eletrólitos suporte, H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 1,0 e tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} , pH 7,0 foram realizados. Nesse estudo, foram feitas 3 sucessivas varreduras contendo solução de MBC $9,9 \times 10^{-9}$ mol L^{-1} na célula eletroquímica. Em seguida, o eletrodo foi lavado com água ultrapura para a retirada do excesso de solução de MBC presente e uma nova medida em eletrólito suporte puro foi realizada.

3.6.6 Voltametria de onda quadrada

Para determinação de MBC em amostras de água potável foi utilizado a VOQ e EPC-NTCPMF como eletrodo de trabalho. Para tanto, uma otimização univariada dos parâmetros foi realizada, visando maior sensibilidade analítica. As condições experimentais estudadas estão descritas na **Tabela 3.3**.

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

Parâmetros	Intervalo estudado
Frequência, s^{-1}	10 a 150
Incremento de potencial, mV	1 a 7
Amplitude de pulso, mV	10 a 100

A construção da curva analítica foi feita nas condições ótimas estabelecidas mediante adições sucessivas de alíquotas de uma solução padrão de MBC $1,0 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} a uma célula eletroquímica contendo 3 mL de eletrólito suporte H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 1,0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação de TCC

4.1.1 Natureza do processo de eletrodo

Os experimentos por VC foram realizados em uma solução de TCC $1,4 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, pH 4,2, utilizando uma faixa de potencial de 0,0 a 1,5 V vs E_{Ag/AgCl} sobre o ECV. É importante ressaltar que o sistema TCC/metanol – eletrólito suporte forma uma solução estável durante aproximadamente 20 minutos, período máximo em que é recomendado realizar a medida voltamétrica. Após esse tempo, a solubilidade do TCC é prejudicada devido à evaporação do solvente, formando uma solução turva que bloqueia a resposta no ECV. Por esse motivo todas as medidas voltamétricas foram realizadas obedecendo essa condição.

Nas medidas por VC, dois processos de oxidação, picos P₁ e P₂, foram observados (**Figura 4.1A**) em EP₁ $\approx$ + 1,1 V e EP₂ $\approx$ + 1,3 V. Tais processos podem corresponder à oxidação dos grupos –NH, como será discutido posteriormente. Características eletroquímicas similares foram observadas para soluções de TCC de $9,9$ a 32×10^{-5} mol L⁻¹. Para estas duas concentrações de TCC, somente o pico P₁ (EP₁ $\approx$ + 1,0 V) ocorreu em ECV, figura não mostrada. A ausência de picos catódicos na primeira varredura (**Figura 4.1A**) sugere que a oxidação do TCC envolve um processo irreversível de transferência de elétrons, ou que o processo de eletrodo é afetado por reações químicas acopladas (SANTOS *et al.*, 2005). Entretanto, para os dois processos, a função ($I_p.v^{-1/2}$) decresce com o aumento da velocidade, indicando a ausência de reações químicas acopladas (**inserção Figura 4.1A**). Assim, a ausência do pico catódico nos voltamogramas cíclicos registrados na presença de TCC caracteriza que ambos os processos são irreversíveis.

A irreversibilidade dos dois processos também foi confirmada mediante a avaliação da corrente de pico da varredura direta e reserva dos voltamogramas de VOQ registrados para solução de TCC $9,9 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em diferentes eletrólitos,

abrangendo a faixa de pH de 2,0 a 8,1. Os resultados obtidos em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, pH 5,4 foram escolhidos para serem apresentados (**Figura 4.1B**).

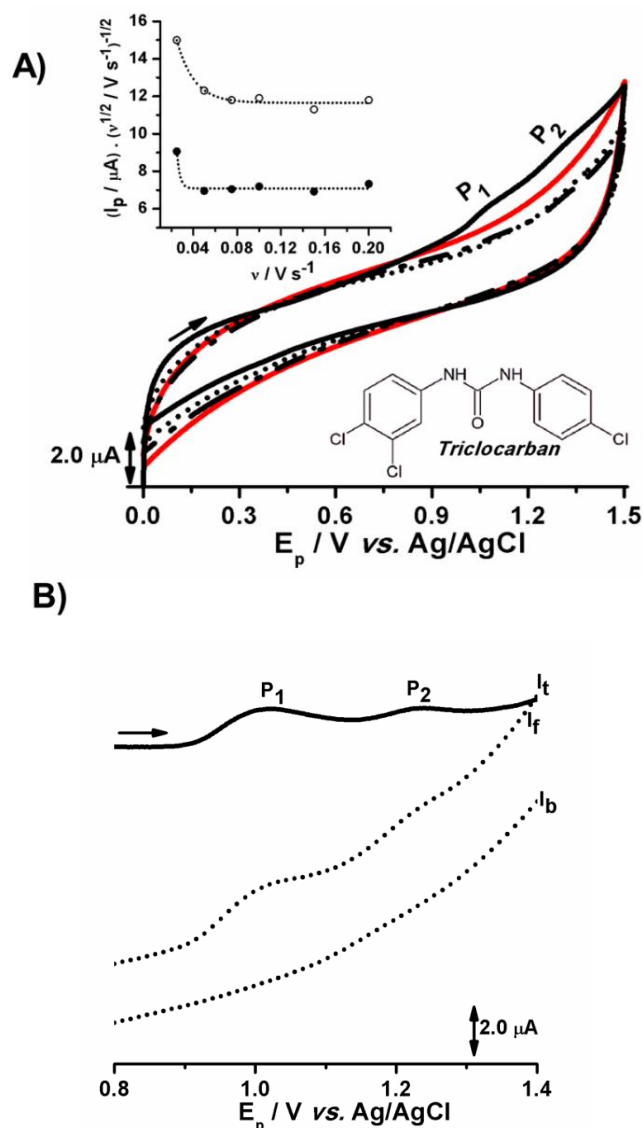


Figura 4.1 – (A) Voltamogramas cíclicos em solução de TCC $1,4 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em tampão acetato (pH 4,2): (—) eletrólito suporte puro, (—) 1^a, (•••) 2^a e (---) 3^a varreduras; $v = 50$ mV s⁻¹. Inserção: fórmula estrutural do TCC e influência da corrente de pico, $I_p \cdot v^{-1/2}$ com a velocidade de varredura, (●) P₁ e (○) P₂ utilizando VVL. (B) Voltamogramas de OQ em solução de TCC $9,9 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,4). Correntes: I_t (total); I_f (direta) e I_b (reversa).

Ainda, um decréscimo de corrente observado para os picos P₁ e P₂ entre a primeira e as sucessivas varreduras (**Figura 4.1A**) deve-se à adsorção dos produtos

de oxidação não eletroativos do TCC e/ou reações superficiais competitivas na superfície do eletrodo na faixa de potencial estudada, o que pode ter causado a obstrução e inativação da área superficial disponível do eletrodo (LOURENÇO *et al.*, 2014).

O efeito da velocidade de varredura sobre os potenciais e as correntes para ambos os picos P₁ e P₂ foi investigado por VVL com velocidade variando de 25 a 200 mV s⁻¹ e com potenciais de 1,0 a 1,4 V vs. Ag/AgCl em tampão acetato, pH 4,2, conforme voltamogramas apresentados na **Figura 4.2**. Neste estudo, as correntes de pico P₁ e P₂ aumentaram linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura (**inserção na Figura 4.2**), conforme as seguintes equações e coeficientes de correlação linear: $I_{P1} \text{ (A)} = 2,2 \times 10^{-7} + 6,6 \times 10^{-6} v^{1/2} \text{ (V s}^{-1}\text{)}^{1/2}$; $R^2 = 0,96$ e $I_{P2} \text{ (A)} = 6,0 \times 10^{-7} + 1,0 \times 10^{-5} v^{1/2} \text{ (V s}^{-1}\text{)}^{1/2}$; $R^2 = 0,98$, sugerindo que os processos irreversíveis de oxidação do TCC estudados sobre ECV são controlados por difusão. Além disso, os coeficientes angulares foram calculados considerando a relação linear de $\ln I_p$ vs $\ln v$ e valores de 0,40 e 0,38 foram obtidos para os picos P₁ ($\ln I_{p1} = -5,24 + 0,40 \ln v$; $R^2 = 0,90$) e P₂ ($\ln I_{p2} = -5,04 + 0,38 \ln v$; $R^2 = 0,94$), respectivamente. Tais resultados confirmam que a natureza do processo de transferência de massa do TCC é limitado por difusão, um vez que a inclinação deve ser igual a 0,50 para processos eletroquímicos controlados por difusão (GOSSER JR., 1993; MASEK *et al.*, 2014). Ainda, para ambos os picos, o aumento da velocidade de varredura resultou em pequenos deslocamentos no potencial de pico para valores mais positivos, o que coincide com um mecanismo de reação irreversível (BRETT e BRETT, 1996).

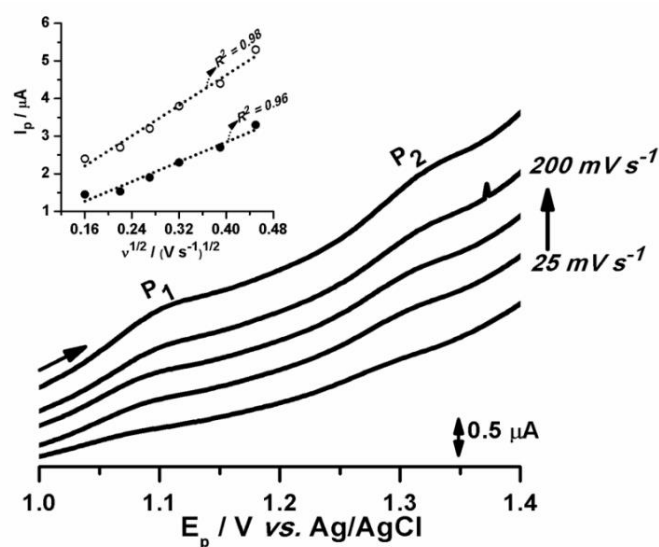


Figura 4.2 – Voltamogramas de VL para os picos P₁ e P₂ obtidos para uma solução de TCC $1,4 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em tampão acetato (pH 4,2). Inserção: influência da raiz quadrada da velocidade de varredura nas correntes de pico (●) P₁ e (○) P₂.

Considerando somente o pico P₁, os experimentos por VVL para diferentes velocidades de varredura (**Figura 4.2**) mostram que a diferença entre o potencial de pico E_{P1} e o potencial a meia altura do pico $E_{P1/2}$, corresponde a 37,2 mV. Em um processo irreversível controlado por difusão, espera-se que a diferença $E_{p1} - E_{P1/2}$ seja igual a $47,7 / (\alpha n_a)$, onde αn_a é o produto do coeficiente de transferência de carga anódica multiplicado pelo número de elétrons envolvidos na etapa determinante de velocidade (BRETT e BRETT, 1996). Dessa forma, o valor de αn_a calculado foi igual a 1,28. Em geral, o α assume valores entre 0 e 1 (LÉON, 2008). Assim, assumindo um valor de α igual a 0,95, a oxidação do TCC para o pico P₁ envolve a transferência de um elétron por molécula. Resultado concordante com os experimentos por VPD (**Tabela 4.2**).

Voltamogramas por VPD, **Figura 4.3A**, foram registrados em uma faixa de potencial de 0,2 a 1,4 V vs Ag/AgCl para solução de TCC $9,9 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em diferentes eletrólitos, com pH variando de 2,0 a 12,0.

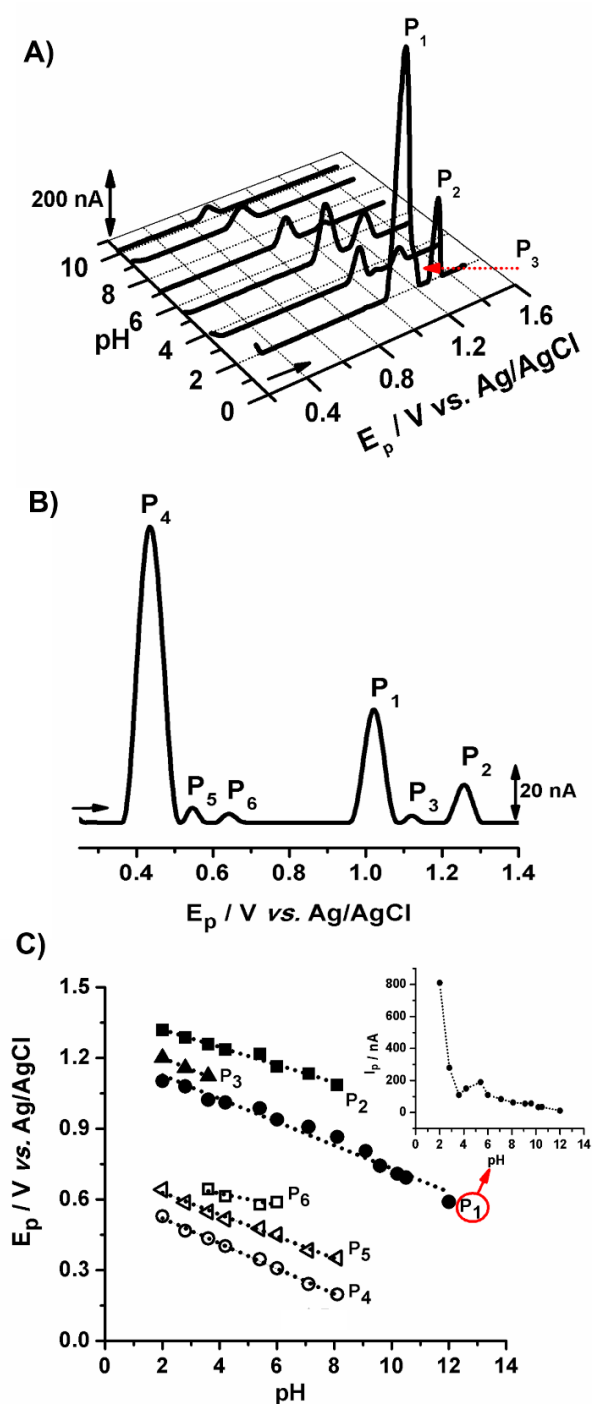


Figura 4.3 – Experimentos realizados por VPD usando solução de TCC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. **(A)** Voltamogramas de PD da primeira varredura com linha de base corrigida e utilizando diferentes eletrólitos em função do pH. **(B)** Voltamograma de PD da segunda varredura em pH 3,6. **(C)** Influência do pH no potencial de pico em diferentes eletrólitos. Inserção: influência do pH sobre a I_{p1} .

A primeira e segunda varreduras de potencial para a oxidação do TCC ocorrem em três etapas, picos P_1 , P_2 , e P_3 (**Figura 4.3A**) e picos P_4 , P_5 , e P_6 (**Figura 4.3B**). Na segunda varredura os sinais analíticos correspondem aos produtos de oxidação do TCC. Os potenciais de pico exibem uma dependência linear em função do pH (**Figura 4.3C**), para as seguintes faixas: E_{p1} ($2,0 \leq \text{pH} \leq 12,0$), E_{p2} , E_{p4} e E_{p5} ($2,0 \leq \text{pH} \leq 8,1$), E_{p3} ($2,0 \leq \text{pH} \leq 3,6$), e E_{p6} ($3,6 \leq \text{pH} \leq 6,0$). Com o aumento do pH do meio, os potenciais de pico são deslocados para valores mais negativos, indicando a existência de um equilíbrio ácido-base onde prótons estão envolvidos no processo de oxidação (NI *et al.*, 2001).

As relações lineares entre os potenciais de pico E_{p1} , E_{p3} e E_{p4} em função do pH (**Tabela 4.1**) exibem coeficientes angulares de -50 , -49 e -54 mV/pH, respectivamente, bastante próximos ao valor de $-59,2$ mV/pH esperado para reações de eletrodo que envolvem o mesmo número de prótons e elétrons no processo (BARD e FAULKNER, 2001; LUZ *et al.*, 2004; SMITH, 2006). Por outro lado, os valores de coeficientes angulares -37 , -45 e -24 mV/pH obtidos para os picos E_{p2} , E_{p5} e E_{p6} , respectivamente, indicam que o número de prótons transferidos no processo corresponde à metade do número de elétrons envolvidos (GARRIDO *et al.*, 2010). Com base nessas informações e considerando a largura do pico a meia altura ($W_{1/2}$), o número de prótons e elétrons transferidos foi calculado para cada processo (BRETT e BRETT, 1996).

Tabela 4.1 – Propriedades da oxidação eletroquímica do TCC e seus produtos de oxidação em função do pH.

Pico	Relação (E_p vs pH)	^a $W_{1/2}$ (mV)	^b n	^b H^+
P_1	E_{p1} (V) = $1,2 - 0,050 \text{ pH}$	74	1	1
P_2	E_{p2} (V) = $1,4 - 0,037 \text{ pH}$	60	2	1
P_3	E_{p3} (V) = $1,3 - 0,049 \text{ pH}$	37	2	2
P_4	E_{p4} (V) = $0,6 - 0,054 \text{ pH}$	70	1	1
P_5	E_{p5} (V) = $0,7 - 0,045 \text{ pH}$	37	2	1
P_6	E_{p6} (V) = $0,7 - 0,024 \text{ pH}$	41	2	1

^a $W_{1/2} = 90/n$, onde n é o número de elétrons envolvidos na etapa determinante. Os valores de ^b n e H^+ são uma aproximação.

O TCC, um derivado clorado da difenil ureia, possui estrutura química similar a pesticidas como MBC, carbaril, diuron e a alguns fármacos (AHN *et al.*, 2012). Para o

primeiro processo de oxidação do MBC, um pesticida do grupo carbamato, formam-se uma amida e um radical. Os radicais formados reagem entre si e conduzem à formação de dímeros (HERNANDEZ *et al.*, 1996; MANISANKAR *et al.*, 2004). De forma similar, no processo de oxidação do carbaril, o átomo de nitrogênio permanece protonado até um pH de aproximadamente 6,0 e o produto é um cátion radicalar que, depois de perder mais um próton, pode adsorver sobre a superfície do eletrodo ou sofrer dimerização ou polimerização (MORAES *et al.*, 2009). Da mesma forma, a oxidação do diuron resulta da perda de um elétron e um próton com formação e dimerização de intermediário radicalar envolvendo o nitrogênio (MACOUNOVA *et al.*, 1998). Nesse sentido, as protonações observadas na primeira varredura de potencial podem ser atribuídas à presença dos átomos de nitrogênio na molécula do TCC. Portanto, os picos de oxidação do TCC observados na primeira varredura devem corresponder a processos envolvendo a oxidação dos grupos –NH presentes na estrutura molecular do TCC. Compostos nitrogenados que contêm um par de elétrons disponíveis são suscetíveis à oxidação. A oxidação anódica de amidas é de considerável importância em síntese orgânica, pois os N,O acetais formados por α -oxidação são precursores estáveis de íons N-acilimínios e podem ser efetivamente utilizados em reações de amido-alquilação (STECKHAN, 2001). No entanto, a proposta de um mecanismo completo de oxidação para TCC requer mais estudos que permitam identificar os intermediários de reação, apoiado por técnicas analíticas acopladas à espectrometria de massas.

Os picos observados durante a segunda varredura de potencial correspondem a produtos de oxidação eletroativos do TCC, originados a partir dos processos de oxidação evidenciados pelos picos P₁, P₂ e/ou P₃ registrados na primeira varredura. Baumann *et al.* (2010) observaram a formação de produtos de oxidação de TCC utilizando uma célula electroquímica acoplada a um sistema de cromatografia líquida de ionização por *electrospray*, equipado com detecção por espectrometria de massa. A oxidação eletroquímica do TCC deu origem a dez diferentes prováveis metabólitos: 4'-Hidroxi-3,4-dichlorocarbanilida, 3'-OH TCC, 3', 6-DIOH TCC, 2', 6-DIOH TCC, 2'-OH TCC e 6-OH TCC, um metabólito hidroxilado desclorado de TCC e iminas quinonas reativas formadas a partir dos metabólitos hidroxilados de TCC.

O pico P_1 é mais seletivo e a corrente de pico máxima foi obtida em pH 2,0 (**Figura 4.3A**, inserção **Figura 4.3C**). Entretanto, nesse valor de pH observou-se uma sobreposição dos picos P_1 e P_3 que provavelmente comprometerá a seletividade para fins quantitativos, que está estritamente relacionada ao eletrólito suporte. De fato, para aplicações eletroanalíticas, o eletrólito suporte ideal deve contribuir tanto com a forma quanto com a resolução dos picos para todos os analitos em estudo (LOCATELLI, 2000). Assim, o pico de oxidação de TCC registrado em solução tampão de acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,4 foi considerado mais adequado e escolhido para os estudos quantitativos subsequentes.

4.1.2 Otimização das condições da SWAdSV

Um estudo comparativo entre VOQ sob condições experimentais descritas na seção 3.7.4 e SWAdSV foi realizado visando a determinação quantitativa de TCC.

Para obter as melhores condições de análise em termos de seletividade e sensibilidade, parâmetros de SWAdSV foram investigados em abordagem univariada, usando uma solução de TCC $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,4, sobre ECV.

Em geral, os parâmetros f , ΔE_s e a influenciam significativamente a intensidade da corrente de pico e a seletividade em VOQ, enquanto o tempo de deposição possibilita a pré-concentração do analito sobre a superfície do eletrodo, contribuindo para aumentar a sensibilidade do método.

A influência da f na oxidação eletroquímica do TCC foi investigada na faixa de 20 a 120 s^{-1} . Os estudos de f são mostrados na **Figura 4.4**.

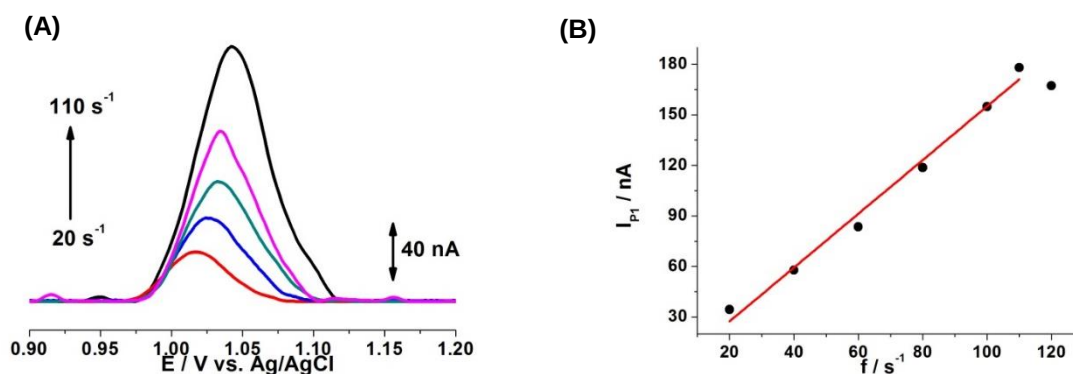


Figura 4.4 – Estudo da frequência de aplicação de pulso de potencial. **(A)** Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do TCC em tampão acetato (pH 5,4) sobre ECV. **(B)** Relação I vs. f .

A corrente de pico P_1 mostra uma dependência linear com valores de $20 \text{ s}^{-1} \leq f \leq 110 \text{ s}^{-1}$ ($I_{P1} \text{ (A)} = -4,4 \times 10^{-9} + 1,6 \times 10^{-9} f \text{ (s}^{-1}\text{)}$; $R^2 = 0,99$) (**Figura 4.4B**), sugerindo um sistema irreversível e difusional com o processo de oxidação sendo controlado por adsorção do TCC na superfície do eletrodo. Isto também foi confirmado pela relação não linear da corrente de pico em função da raiz quadrada da frequência, figura não mostrada (SOUZA *et al.*, 2003). A adsorção do TCC na superfície do ECV permitiu estudos de pré-concentração para baixas concentrações. Para valor de f igual a 120 s^{-1} , a saturação da superfície do eletrodo foi observada, com valores de potencial e corrente de pico em torno de 1,042 V e $1,7 \times 10^{-7} \text{ A}$, respectivamente, assim a f de 110 s^{-1} foi utilizada para o desenvolvimento do método.

Na **Figura 4.5** é mostrada a influência de diferentes incrementos de potencial, no intervalo estudado, 1 a 10 mV.

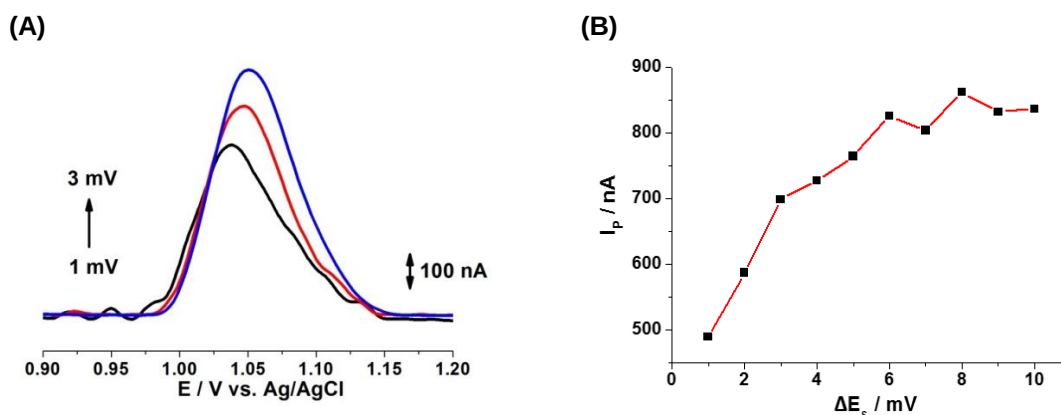


Figura 4.5 – Estudo do incremento de potencial. **(A)** Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do TCC em tampão acetato (pH 5,4) sobre ECV. **(B)** Relação I vs. ΔE_s .

O aumento da corrente de pico ocorre apenas para $1,0 \text{ mV} \leq \Delta E_s \leq 6,0 \text{ mV}$. A corrente de pico exibe dependência linear com ΔE_s entre 1,0 e 3,0 mV e para ΔE_s maior do que 6 mV observou-se uma saturação da superfície do eletrodo. O potencial E_{P1} foi ligeiramente deslocado para valores mais positivos com o aumento de ΔE_s até 6 mV. Além disso, perdas de resolução de sinal analítico, identificadas por maiores valores calculados para $W_{1/2}$, foram observadas para valores de ΔE_s acima de 3 mV. Dessa forma, ΔE_s de 3 mV foi escolhido por estabelecer melhor relação entre intensidade de corrente e resolução de pico.

A influência da amplitude de pulso sobre a intensidade de corrente de pico foi avaliada e os resultados obtidos demonstraram que a corrente de pico aumentou linearmente no intervalo de 10 a 30 mV (**Figura 4.6**). A partir desse valor, a magnitude do sinal analítico diminui e uma saturação da superfície do eletrodo é observada, por esse motivo uma amplitude de 30 mV foi escolhida para desenvolvimento do método.

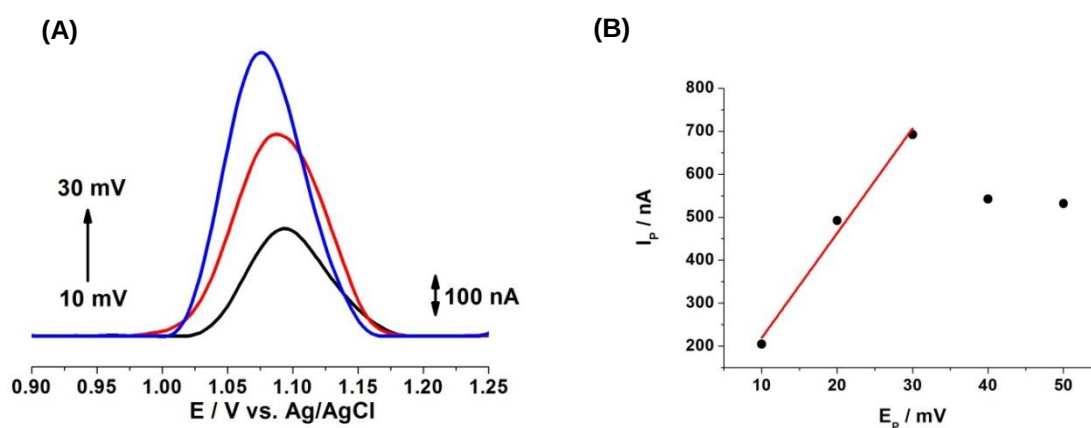


Figura 4.6 – Estudo da amplitude de pulso. **(A)** Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do TCC em tampão acetato (pH 5,4) sobre ECV. **(B)** Relação I vs. ΔE_P .

O tempo de deposição é um importante parâmetro experimental em voltametria de redissolução. Os experimentos de SWAdSV foram realizados para determinar as melhores condições para o processo de adsorção de TCC sobre a superfície do eletrodo de trabalho, utilizando a pré-concentração em circuito aberto. Esta é uma maneira simples e eficaz para diminuir limites de detecção em eletroanalítica. Se mais sensibilidade é necessária, o analista recorre ao aumento do t_d , ou seja, aumenta o grau de pré-concentração, fazendo com que uma maior quantidade de analito seja

depositado sobre o eletrodo e esteja, então, disponível durante a etapa de redissolução. A adsorção de TCC em ECV permite a pré-concentração, que possibilita a quantificação em baixas concentrações. O efeito do t_d está mostrado na **Figura 4.7**.

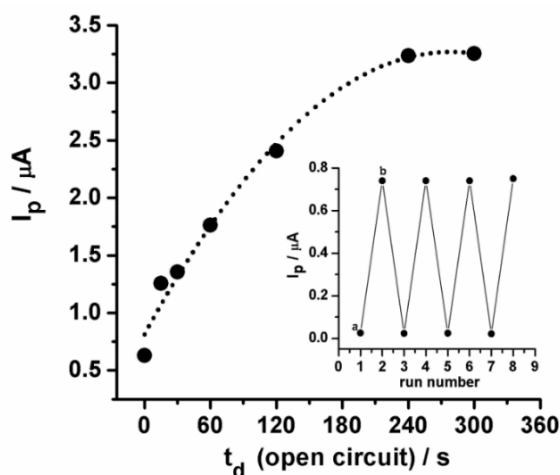


Figura 4.7 – Influência do tempo de deposição na sensibilidade da resposta voltamétrica em uma solução de TCC $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato 0.1 mol L^{-1} (pH 5.4). Inserção: variação da corrente usando tempos de deposição (a) 0 e (b) 120 s (desvio padrão relativo de 3.4% e 0.7%, respectivamente). $[\text{TCC}] = 4.8 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.

O aumento de I_p é descrito pela equação polinomial $I_{p1} = 8,1 \times 10^{-7} + 1,8 \times 10^{-8} t_d - 8,1 \times 10^{-7} t_d^2$, com $R^2 = 0,98$. Foi observada saturação da superfície do eletrodo em $t_d = 300 \text{ s}$. Assim, para a etapa de pré-concentração em circuito aberto, o tempo de 120 s foi escolhido por apresentar adequada condição tanto para sensibilidade quanto para o tempo total de procedimento analítico.

Dessa forma, as condições ótimas de medida estabelecida foram: f de 110 s^{-1} , ΔE_s de 3 mV, a de 30 mV e t_d de 120 s.

Varreduras consecutivas para uma solução contendo $4,8 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ de TCC foram obtidas para avaliar a existência de efeito de memória, alternando medidas sem tempo de deposição, $t_d = 0$, seguidas das medidas em que $t_d = 120 \text{ s}$. Como pode ser visto na **Figura 4.7** (inserção), nenhum efeito significativo de memória foi observado, pois as intensidades de corrente para as medidas alternadas, $t_d = 0$ e $t_d = 120 \text{ s}$, mantiveram-se praticamente constantes, ou seja, não houve transferência permanente de TCC para a superfície do eletrodo.

4.1.3 Curva analítica e parâmetros de desempenho analítico

Na **Figura 4.8** estão apresentadas as curvas analíticas para as medidas realizadas por VOQ e SWAdSV para TCC. É importante destacar que não houve necessidade de realização de polimento da superfície do ECV durante a obtenção das curvas analíticas, o que facilita o procedimento operacional e proporciona maior frequência analítica.

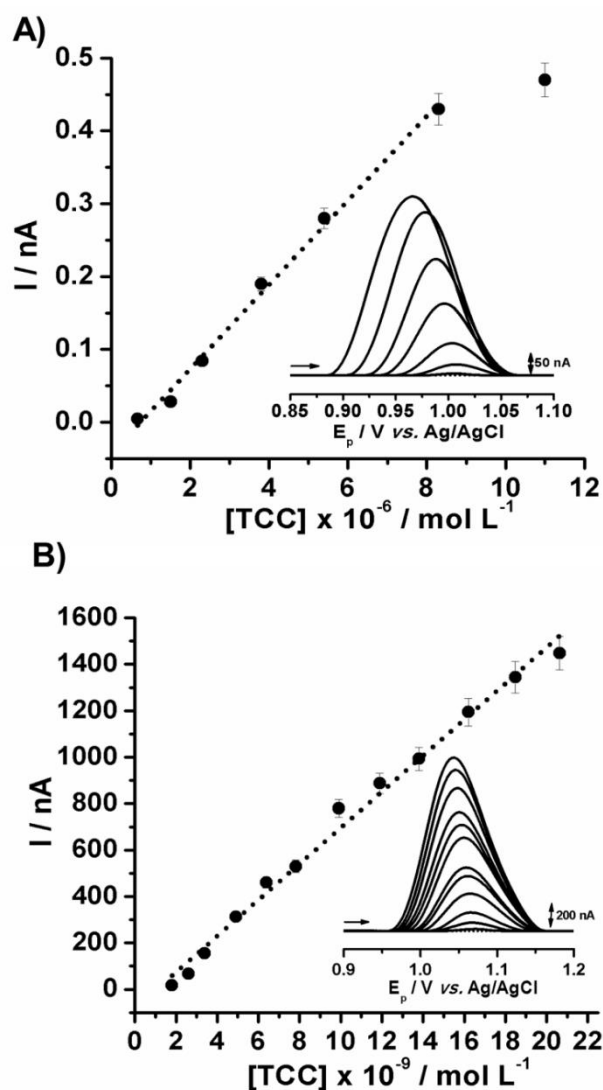


Figura 4.8 – Curvas analíticas para adições de TCC em tampão acetato de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,4) usando: (A) SWV e (B) SWAdSV. Detalhe: (A) Voltamogramas por VOQ e (B) Voltamogramas por SWAdSV.

Verificou-se uma relação linear entre corrente de pico e concentração para ambos os métodos: VOQ ($I_{p1} / nA = -42,4 (\pm 9,4) + 5,8 \times 10^7 (\pm 0,2 \times 10^7) [TCC] / \text{mol L}^{-1}$, $R^2 = 0,9934$, para $n = 6$) e SWAdSV ($I_{p1} / nA = -80,8 (\pm 26,3) + 7,8 \times 10^{10} (\pm 2,3 \times 10^9) [TCC] / \text{mol L}^{-1}$; $R^2 = 0,9906$, para $n = 12$). No entanto, o potencial de pico sofreu pequenos e sucessivos deslocamentos para valores menos positivos para a curva analítica obtida por VOQ. Um perfil voltamétrico mais satisfatório foi obtido por SWAdSV.

A faixa de linearidade e os valores de LD e LQ calculados tanto para VOQ quanto para SWAdSV estão apresentados na **Tabela 4.2** e comparados a valores encontrados na literatura para determinação de TCC em diferentes matrizes, por diferentes técnicas.

Tabela 4.2 – Comparação entre os resultados publicados na literatura para determinação de TCC com diferentes metodologias e o presente estudo.

Técnica	Amostra	Faixa linear, mol L^{-1}	LD ^a , mol L^{-1}	Referência
HPLC-ESI-MS/MS	Aquatic plants	6,3 a 6.300×10^{-10}	$1,6 \times 10^{-10}$	MIAO <i>et al.</i> , 2014
HPLC-ESI-MS/MS	Águas superficiais e de torneira	1,6 a 317×10^{-9}	$7,2 \times 10^{-10}$	ZHAO <i>et al.</i> , 2011
LC-ESI-MS/MS	Biosólidos	Não especificado	$6,3 \times 10^{-10}$	CHU e METCALFE, 2007
UHPLC-TUV	Água de rio	7,9 a 15.800×10^{-11}	$1,3 \times 10^{-10}$	GUO <i>et al.</i> , 2009
SWV	Eletrólito suporte	0,7 a $8,3 \times 10^{-6}$	$1,8 \times 10^{-7}$	Método proposto
SWAdSV	Água potável e produtos de higiene pessoal	1,8 a 21×10^{-9}	$3,2 \times 10^{-10}$	Método proposto

^aLD: limite de detecção conforme descrito por Mocak *et al.* (1997); LQ: $3,3 \times \text{LD}$.

A significativa adsorção de TCC sobre ECV permitiu a pré-concentração do analito na superfície do eletrodo, que resultou na obtenção de um LD de $3,2 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$, 1.000 vezes menor que o obtido por VOQ, $1,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, com apenas 120 s de tempo de deposição. É importante considerar que um LD ainda menor pode ser obtido, pois o estudo de pré-concentração (**Figura 4.7**) evidenciou que é viável a aplicação de tempos de deposição maiores, até 240 s, sem que ocorra saturação da

superfície do eletrodo. Por outro lado, é possível medir TCC por VOQ sem aplicar tempos de deposição, a fim de evitar a diluição de amostras que contenham teores mais elevados de TCC.

Os LD calculados para TCC estão de acordo, em ordem de grandeza, com recentes quantificações de compostos farmacêuticos por VOQ, onde foram encontrados LD entre 10^{-6} a 10^{-9} mol L⁻¹ e 10^{-8} a 10^{-11} mol L⁻¹ para medidas direta e por pré-concentração, respectivamente (DOGAN-TOPAL *et al.*, 2010).

O método por SWAdSV mostrou-se significativamente sensível, especialmente quando comparado aos resultados de LD obtidos para os métodos HPLC – ESI/MS e UHPLC-TUV (**Tabela 4.2**). Apesar da grande vantagem de promover a separação e garantir sensibilidades elevadas, os métodos cromatográficos têm algumas desvantagens: são trabalhosos e envolvem instrumentação dispendiosa para aquisição e manutenção, assim como diferentes suprimentos e acessórios. Normalmente, requerem tempo de análises longo e tratamento cuidadoso da amostra. Portanto, o baixo LD obtido, $3,2 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹, associado à alta sensibilidade e seletividade, tempo curto de análises, baixo custo para aquisição do equipamento e gastos baixíssimos com manutenção, demonstram a viabilidade da metodologia desenvolvida para a determinação da TCC em água potável e produtos de higiene pessoal por SWAdSV.

A precisão do método proposto por SWAdSV foi avaliada em termos de repetibilidade e reprodutibilidade. Desvios-padrão relativos de 4,1% para 12 medições sucessivas e 5,4% para 10 medidas diferentes com solução de TCC $4,8 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ demonstraram que a repetibilidade e reprodutibilidade do método foram satisfatórias.

A exatidão do método desenvolvido foi avaliada através de um teste de recuperação. O método SWAdSV foi aplicado para duas amostras comerciais, sabonete líquido e em barra, contendo TCC em sua formulação e uma amostra de água potável. Para todas as amostras, o ECV respondeu eficientemente para uma faixa de concentração de TCC entre $3,1$ a 11×10^{-9} mol L⁻¹. Os valores médios obtidos para as recuperações foram $96,4 \pm 0,4\%$, $94,2 \pm 2,2\%$ e $95,4 \pm 0,6\%$ nas amostras estudadas (**Tabela 4.3**). No entanto, a amostra de sabonete líquido contendo TCC

apresentou maiores desvios padrão em todos os níveis de concentração estudados, fato que pode estar associado a uma maior complexidade da amostra em comparação ao sabonete em barra e água potável. Apesar disso, os resultados revelaram a precisão do método proposto e oferece a possibilidade de determinações analíticas de TCC para o controle de qualidade de sabonetes e água potável.

Tabela 4.3 – Resultados do estudo de recuperação para TCC em amostras de sabonetes e água potável.

Amostra	TCC / 10^{-9} mol L ⁻¹		Recuperação ^a (%)	DPR ^b (%)
	Adicionado	Recuperado ^a		
Sabonete em barra	3,1	2,9	93,2	0,4
Sabonete líquido	3,1	2,8	89,0	4,1
Água potável	3,1	2,9	91,5	0,5
Sabonete em barra	6,1	5,9	96,8	0,6
Sabonete líquido	6,1	5,8	94,4	2,1
Água potável	6,1	5,8	95,6	0,9
Sabonete em barra	8,8	8,6	97,6	0,1
Sabonete líquido	8,8	8,5	96,1	1,4
Água potável	8,8	8,5	97,0	0,3
Sabonete em barra	11,0	10,8	98,2	0,3
Sabonete líquido	11,0	10,7	97,2	1,2
Água potável	11,0	10,7	97,6	0,5

^a(100 × obtido / adicionado); ^bN = 3

4.1.4 Estudo de interferentes e aplicações práticas para TCC

Com base nos principais produtos químicos utilizados em estações de tratamento de água para fins de produção de água potável, possíveis interferências sobre a resposta voltamétrica do TCC foram estudadas na presença de fluoretos, hipoclorito e alumínio, diluindo a solução estoque mista descrita na seção 3.2, de forma a obter na célula eletroquímica as concentrações máximas permitidas pela legislação brasileira, conforme Portaria Nº 2914/2011 do Ministério da Saúde: F⁻ (1,5 mg L⁻¹), OCl⁻ (2,0 mg L⁻¹) e Al³⁺ (0,2 mg L⁻¹). Demais íons estudados, Na⁺ (1,9 mg L⁻¹), SO₄²⁻ (1,1 mg L⁻¹), Ca²⁺ (0,8 mg L⁻¹) não possuem valores máximos permitidos, mas compõem os produtos químicos mais utilizados para o tratamento como sais de flúor, sulfato de alumínio e cal para correção final do pH da água tratada.

Sob as condições ótimas, definidas para o método proposto por SWAdSV, não foram observadas respostas eletroativas para a solução mista dos íons estudados. Além disso, nenhuma interferência foi verificada, considerando concentrações desses íons 1.000 vezes maior que a concentração de TCC utilizada, $6,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, indicando que a resposta obtida por SWAdSV é seletiva para TCC nessas condições.

É importante destacar que a metodologia proposta para a determinação de TCC também foi aplicada a produtos de higiene pessoal, que costumam trazer em sua formulação comercial tanto TCS quanto TCC. Em geral, aparecem em níveis similares de concentrações, na ordem de 0,1 a 1,5%. Testes prévios mostraram que TCS apresenta eletroatividade nas condições otimizadas para TCC nesse estudo, no entanto, não foram observadas sobreposições de picos, ou seja, a resolução dos picos foi considerada satisfatória. O TCS responde em potencial de 0,852 V, enquanto o TCC foi registrado em 1,06 V, em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,4.

O método SWAdSV foi aplicado para duas amostras comerciais, sabonete líquido e em barra, contendo TCC em sua formulação e uma amostra de água potável. Nas amostras de sabonete, o TCC foi detectado em níveis de concentração que variaram entre 0,21 e 0,49%, estando de acordo com a regulamentação da ANVISA, que estabelece um valor máximo de 1,5% m/m de TCC em produtos de higiene pessoal, quando utilizado como agente antimicrobiano (ANVISA, 2012). De forma contrária, TCC não foi detectado nas amostras de água potável, como mostrado na **Tabela 4.4**, estando de acordo com os dados relatados por Zhao *et al.* (2011).

Tabela 4.4 – Resultados analíticos do TCC em amostras reais.

Amostra	Concentração média ^a	RSD (%)
Sabonete em barra (% m/m)	0,49	0,06
Sabonete líquido (% m/m)	0,21	0,05
Água potável 1 (mol L^{-1})	< LD ^b	–
Água potável 2 (mol L^{-1})	< LD ^b	–
Água potável 3 (mol L^{-1})	< LD ^b	–

^a Valor médio de três replicatas; ^bLD = menor que o limite de detecção.

4.2 Determinação de MBC

4.2.1 Escolha do eletrodo de trabalho

Baseado em estudos prévios, que destacam as vantagens de utilização de EPC e a eficácia no aumento de sensibilidade proporcionado por NTC como material modificante de eletrodos, foram confeccionados quatro eletrodos de pasta de carbono, com e sem modificação química, e pasta de nanotubos de carbono para quantificação de MBC.

Os voltamogramas registrados por VOQ para avaliar a resposta eletroquímica de MBC sobre os eletrodos EPC, EPC-NTCPMNF, EPC-NTCPMF e ENTCT-PMF, evidenciaram a eletroatividade desse composto em todos os eletrodos sob estudo, como apresentados na **Figura 4.9**.

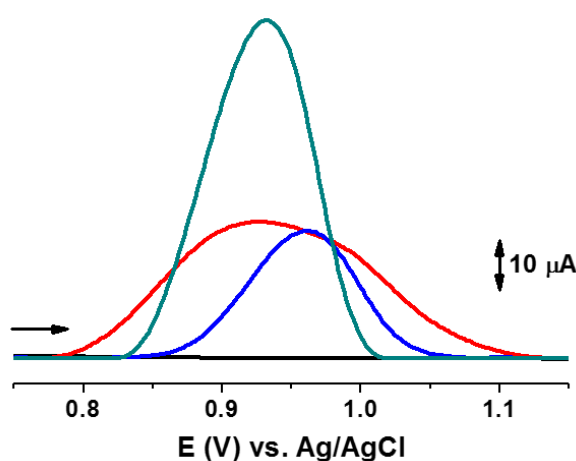


Figura 4.9 – Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de MBC $0,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, registrados em diferentes eletrodos de pasta de carbono e pasta de nanotubos, em solução tampão acetato (pH 4,7): (—) EPC; (—) EPC-NTCPMNF; (—) ENTCT-PMF e (—) EPC-NTCPMF. $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $a = 50 \text{ mV}$.

Entretanto, é possível perceber que a presença de NTC nos eletrodos de trabalho proporcionou ganhos na intensidade de corrente de pico, resultados em concordância com dados da literatura (SUNDARI *et al.*, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2011). 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, o transporte de elétrons é ainda mais favorecido (GOMES, 2010;

NOSSOL, 2009). Além disso, é possível observar que os melhores resultados de magnitude de corrente elétrica e resolução de pico foram obtidos com a utilização do EPC-NTCPMF quando comparado ao EPC-NTCPM. Uma explicação é a funcionalização dos NTC por grupamentos carboxila ($-\text{COOH}$), que favorece a interação com a molécula de MBC, ou seja, durante o processo de oxidação, há maior número de moléculas na superfície do eletrodo durante a varredura de potencial, resultando em maiores valores de corrente de pico. Em comparação com o eletrodo constituído apenas de NTC e óleo mineral, ENTCPMF, observou-se maior sinal analítico para EPC-NTCPMF. Uma possível explicação é que eletrodos de pasta de NTC possuem a desvantagem de apresentar alta corrente capacitiva à medida em que se aumenta a proporção de NTC na mistura, o que limita a sensibilidade do eletrodo para diferentes analitos (PUNBUSAYAKUL, 2012).

A área eletroativa de cada tipo de eletrodo confeccionado foi calculada. Segundo a literatura, em sistemas reversíveis como o ferricianeto de potássio, a corrente de pico é dependente da raiz quadrada da velocidade de varredura, então aplicando-se o coeficiente angular obtido dessa função matemática na equação de Randles-Sevcik (**Equação 4.1**) foi possível estimar a área eletroativa dos eletrodos de trabalho (BRETT e BRETT, 1996).

$$I_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A D_o^{1/2} \nu^{1/2} C_o \quad \text{Equação 4.1}$$

Onde:

I_p = corrente de pico (A)

n = número de elétrons

A = área do eletrodo (cm^2)

D_o = coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

ν = velocidade de varredura (V s^{-1})

C_o = concentração (mol cm^{-3})

Ainda, foram calculadas a densidade de corrente para cada eletrodo e uma comparação foi realizada, conforme mostrada na **Tabela 4.5**.

Tabela 4.5 – Comparação da área eletroativa e densidade de corrente dos eletrodos estudados.

Eletrodo	Corrente de pico (μA)	Área eletroativa (cm^2)	Densidade de corrente ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)
EPC	2,40	0,0831	28,9
EPC-NTCPMNF	26,4	0,0768	343,8
ENTC-PMF	24,7	0,1220	202,5
EPC-NTCPMF	65,6	0,0578	1.134,9

Como apresentado na **Tabela 4.5**, o EPC-NTCPMF possui a menor área eletroativa ($0,0578 \text{ cm}^2$), no entanto, maiores correntes de pico ($65,6 \mu\text{A}$) e densidade de corrente ($1.134,9 \mu\text{A cm}^{-2}$) quando comparado aos demais eletrodos, confirmando a importância da utilização de NTC funcionalizados. Por essas características, o EPC-NTCPMF foi escolhido como eletrodo de trabalho para os estudos subsequentes visando à determinação de MBC.

Posteriormente, uma caracterização da morfologia da pasta obtida em cada mistura (PC, PC-NTCPMNF, PC-NTCPMF e NTC-PMF) foi feita por MEV, a fim de buscar evidências que contribuíssem para justificar os resultados obtidos por VOQ. Os resultados estão apresentados na **Figura 4.10**.

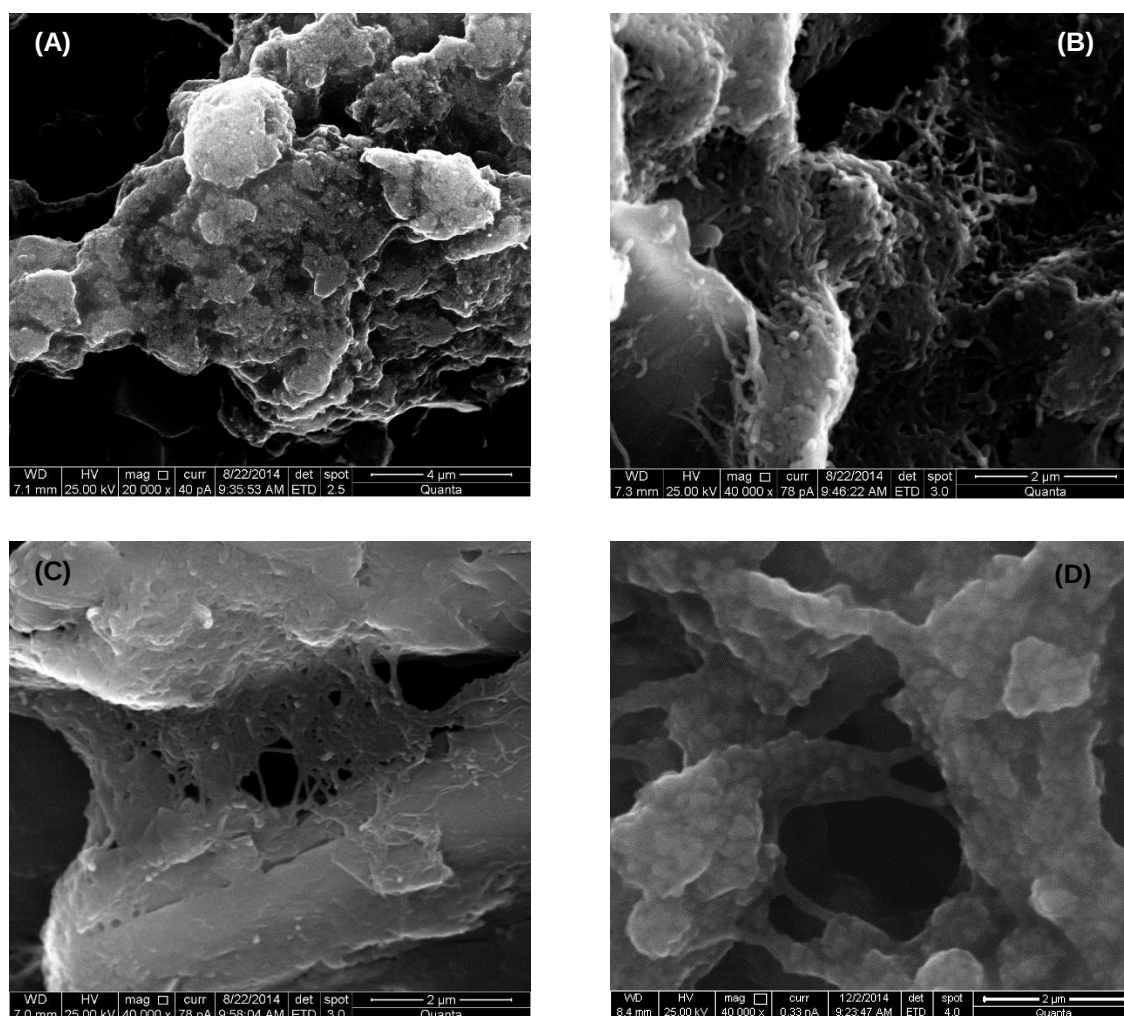


Figura 4.10 – Imagens representativas obtidas por MEV para as pastas (A) PC. (B) PC-NTCPMNF. (C) PC-NTCPMF e (D) NTC-PMF.

A principal característica observada nas imagens de MEV é a disposição dos NTC no grafite. Na PC-NTCPMNF (**Figura 4.10B**), os NTC formam aglomerados e estão dispostos de forma aleatória, não sendo possível perceber orientação em uma ou outra direção. Por outro lado, a imagem da PC-NTCPMF (**Figura 4.10C**) evidencia uma orientação preferencial dos NTC entre as lamelas do grafite, um alinhamento que forma uma rede de NTC, preenchendo os espaços vazios, característica que facilita ainda mais a transferência de elétrons e aumenta a sensibilidade para a detecção de MBC. Uma possível explicação para essa diferença de alinhamento são as interações que ocorrem entre os NTC.

A literatura apresenta dois tipos de interações que podem ocorrer entre os NTC: as interações de Van der Waals e interações de empilhamento π (π – stacking). As interações de Van der Waals, nesse caso, podem ser dificultadas devido à forma dos NTC, moléculas não-lineares, cuja área de superfície disponível para contato é menor. Por outro lado, as interações de empilhamento π são fortes, ocorrendo pela atração não covalente entre os anéis aromáticos presentes nos NTC, como representado na **Figura 4.11A** (HIRSCH, 2002).

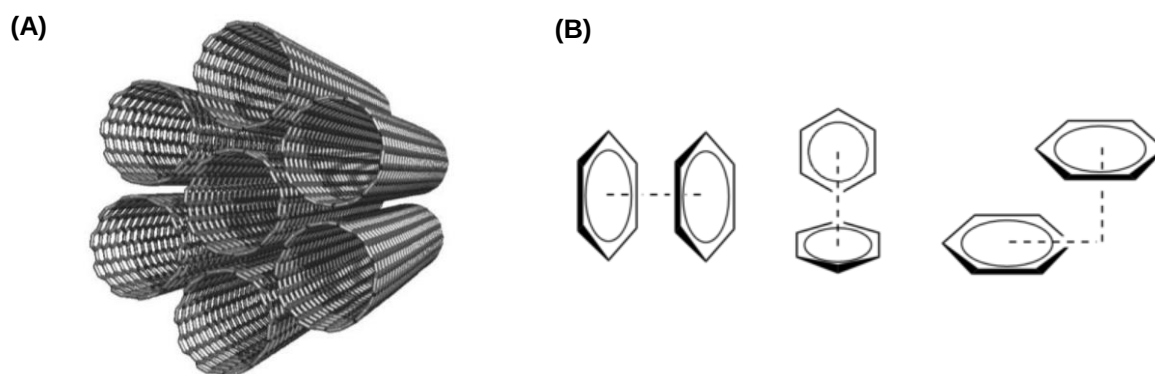


Figura 4.11 – (A) Visão idealizada da junção de vários nanotubos através do empilhamento π . **(B)** Interações de empilhamento π ocorrendo em diferentes direções dos anéis aromáticos (HIRSCH, 2002).

Vale ressaltar que o empilhamento mostrado nessa figura é considerado ideal. Na prática, os NTC podem variar entre outras características, em comprimento, além disso o empilhamento π pode ocorrer em diferentes direções dos anéis aromáticos (**Figura 4.11B**), assim essas interações podem provocar uma disposição aleatória dos NTC, como visualizado na microscopia obtida por MEV para a PC-NTCPMNF (**Figura 4.10B**). Para os NTC funcionalizados (**Figura 4.10C**), além das interações π - π acontecerem entre os NTC e o grafite, a presença de grupos carboxílicos proporciona a possibilidade de outra força de atração entre os NTC, as ligações de hidrogênio, contribuindo para a orientação vertical dos NTC funcionalizados na estrutura do grafite, uma vez que a funcionalização ocorre, preferencialmente, nas extremidades dos NTC.

De fato, a literatura relata a importância da orientação dos NTC como fator determinante para o aumento da sensibilidade dos eletrodos modificados com esse material. Gooding, 2005, relata que a primeira aplicação de NTC para fins

eletroquímicos foi feita a partir da dispersão de nanotubos em bromofórmio. O eletrodo resultante apresentava uma distribuição aleatória de NTC sobre sua superfície, ou seja, o procedimento de modificação não permitia controlar o alinhamento dos NTC. A partir de então, diferentes métodos de preparação de eletrodos passaram a ser descritos, a maioria ressaltando a importância do controle da orientação dos NTC na estrutura do material, em termos de condutividade elétrica. Ainda, descrevem que, se os NTC apresentarem um alinhamento vertical, uma maior sensibilidade pode ser alcançada em métodos voltamétricos (SILVA *et al.*, 2014). Portanto, a orientação dos NTC funcionalizados observada na **Figura 4.10C** corrobora os resultados registrados por VOQ para EPC-NTCPMF em relação aos demais.

4.2.2 Natureza do processo de eletrodo

A natureza do processo de eletrodo foi investigada sobre um eletrodo de EPC-NTCPMF usando VC, VOQ e VPD. Inicialmente, voltamogramas cíclicos foram registrados para uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 1, em uma faixa de potencial de -0,8 a +1,4 V vs. $E_{\text{Ag/AgCl}}$. Na primeira varredura de potencial, nenhuma resposta voltamétrica foi observada na faixa de potenciais negativos e apenas um processo de oxidação foi identificado em $EP_{1,a} \approx +1,15 \text{ V}$ na faixa de potenciais positivos (**Figura 4.12A**). Invertendo-se a varredura de potencial, dois processos de redução, $EP_{1,c} \approx +1,08 \text{ V}$ e $EP_{2,c} \approx +0,70 \text{ V}$, foram observados na faixa de potenciais positivos. Os voltamogramas cíclicos registrados foram mostrados em uma faixa reduzida de potencial para facilitar a visualização dos processos identificados apenas na região de potenciais positivos.

O par redox $P_{1,a}/P_{1,c}$ apresenta características de um sistema quase-reversível, com $\Delta E_p = 70 \text{ mV}$, maior que a razão $57/n$, onde $n = 1$ (número de elétrons envolvidos no processo, obtido por VPD), enquanto que o $P_{2,c}$ é irreversível, por apresentar ausência de pico anódico, concordantes com os testes diagnósticos para processos redox usando VC (BRETT e BRETT, 1996). Além disso, considerando duas varreduras sucessivas de potencial por VC e VOQ (**Figuras 4.12A e 4.12B**), a corrente

de pico permaneceu praticamente constante, sugerindo um processo de transferência de massa controlado por difusão, cujo diagnóstico final será discutido posteriormente.

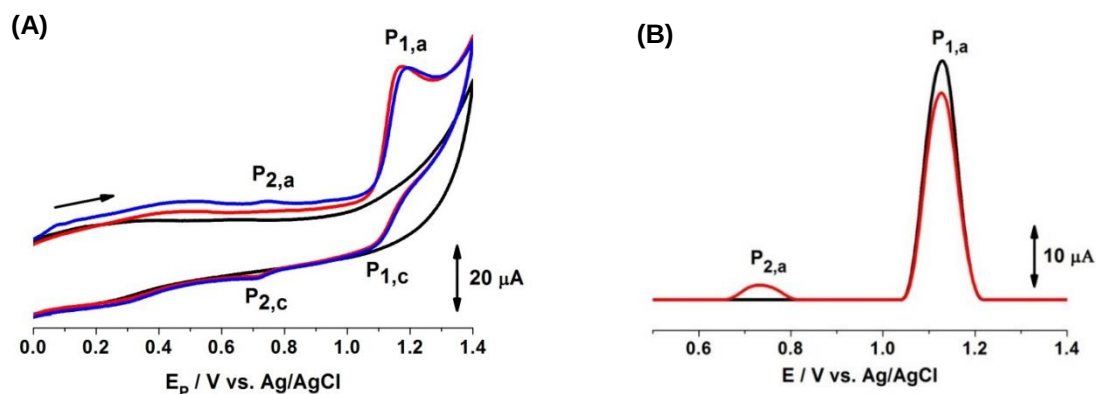


Figura 4.12 – Respostas voltamétricas para uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em eletrólito suporte H_2SO_4 (pH 1) sobre EPC-NTCPMF. **(A)** Voltamogramas cíclicos: (—) eletrólito suporte, (—) 1ª e (—) 2ª varreduras na presença de MBC. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. **(B)** Voltamogramas de OQ: (—) 1ª e (—) 2ª varreduras. $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

A segunda varredura de potencial, **Figura 4.12A**, revela o aparecimento de um novo pico anódico, $EP_{2,a} \approx +0,73 \text{ V}$, possivelmente associado ao processo $P_{2,c}$. O suposto produto, $P_{2,a}$, também foi observado através do registo do voltamograma de onda quadrada para a segunda varredura de potencial, **Figura 4.12B**. Os processos observados na primeira e segunda varreduras de potencial são concordantes com a literatura, como mostrado na **Tabela 4.6**.

Tabela 4.6 – Comparação dos sinais eletroquímicos do MBC encontrados na literatura com o presente estudo.

Referência	$P_{1,a} \text{ (V)}$	$P_{1,c} \text{ (V)}$	$P_{2,a} \text{ (V)}$	$P_{2,c} \text{ (V)}$	Eletrólito	pH	*Eletrodo
HUEBRA, 2000	1,10	1,06	0,66	0,70	Tampão fosfato	2,0	UMFC
ASHRAFI, 2012	0,80	0,70	0,40	0,30	Tampão B-R	8,0	EPC-tricresil fosfato
RIBEIRO <i>et al.</i> , 2011	1,30	0,86	0,76	0,45	Tampão acetato	4,7	ECV-NTCPM
Método proposto	1,15	1,08	0,73	0,70	H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol/L}^{-1}$)	1,0	EPC-NTCPMF

* UMFC – ultramicroeletrodo de fibra de carbono, EPC – eletrodo de pasta de carbono, ECV-NTCPM – eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas, EPC-NTCPMF – eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado com grupos carboxílicos.

Vale ressaltar que a onda quase-reversível também foi observada pela separação das componentes direta e reversa registradas mediante a realização de experimentos de VOQ para uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes eletrólitos suporte, com pH variando entre 1,0 e 12,0. Os resultados obtidos em meio H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 1,0 estão apresentados na **Figura 4.13**. Ainda, a corrente resultante para o processo quase-reversível advém da soma da contribuição das correntes das varreduras direta e reversa, cuja variação entre o potencial de pico catódico e anódico é maior que a razão $57/n$ (mV), confirmando o mesmo diagnóstico obtido por VC (SOUZA *et al.*, 2003; BRETT e BRETT, 1996).

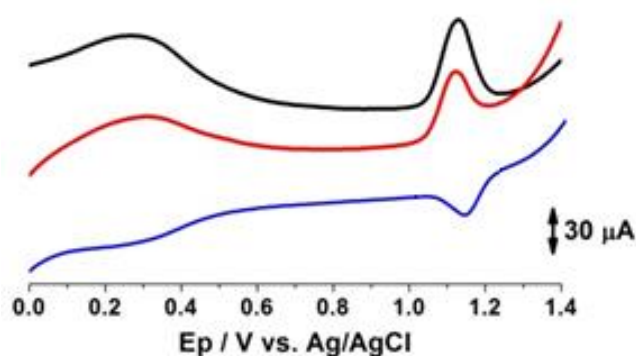


Figura 4.13 – Respostas voltamétricas para uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em eletrólito suporte H_2SO_4 (pH 1) sobre EPC-NTCPMF. Voltamogramas de OQ mostrando as componentes das correntes registradas: (—) resultante, (—) direta e (—) reversa. $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

O pico $P_{1,a}$ apresentou maior sensibilidade e seletividade, por isso foi escolhido para o desenvolvimento do método voltamétrico. Para estimar a natureza do processo de transferência de massa do pico $P_{1,a}$ sobre EPC-NTCPMF, experimentos de VC em diferentes velocidades de varredura, 50 a 500 mV s^{-1} , foram realizados em uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 1,0 e tampão fosfato, pH 7,0, **Figura 4.14**.

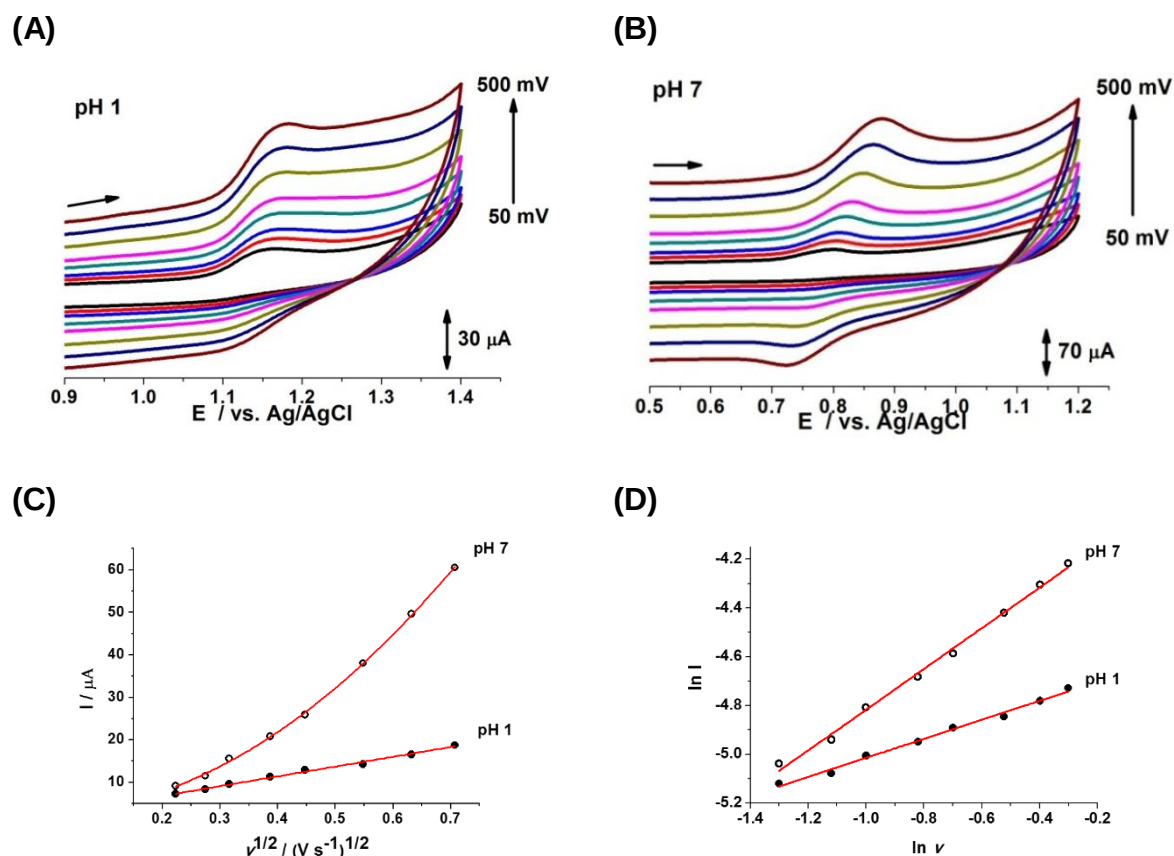


Figura 4.14 – (A) Voltamogramas cíclicos de uma solução $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0) e tampão fosfato (pH 7,0) sobre EPC-NTCPMF em diferentes velocidades de varredura. **(B)** Relação da I_p com a $v^{1/2}$. **(C)** Relação do $\ln I_p$ com o $\ln v$.

É possível observar na **Figura 4.14A e B**, que a corrente de pico cresce com o aumento da velocidade de varredura para os dois eletrólitos suporte estudados. Contudo, existe uma dependência linear da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura para MBC em meio ácido, **Figura 4.14C**, evidenciando um processo predominantemente governado por difusão, o qual também foi comprovado através do valor do coeficiente angular obtido, 0,39, para o gráfico de $\ln I_p$ vs. $\ln v$ **Figura 4.14D**, concordante com o previsto na literatura, que é de 0,50 (GOSSER JR., 1993). Por outro lado, em pH neutro, a não linearidade da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura, **Figura 4.14C**, indica que a corrente de pico é limitada por uma etapa de adsorção. Em adição, o coeficiente angular igual a 0,84 obtido para o gráfico de $\ln I_p$ vs. $\ln v$, **Figura 4.14D**, evidencia um processo misto, difusional com adsorção de reagente na superfície do eletrodo, concordante com o

previsto na literatura de coeficiente angular igual a 1,0 para processos adsorptivos (GOSSER JR., 1993).

É importante ressaltar que o mesmo comportamento foi observado no teste de adsorção em eletrólito suporte realizado com uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o EPC-NTCPMF, **Figura 4.15**.

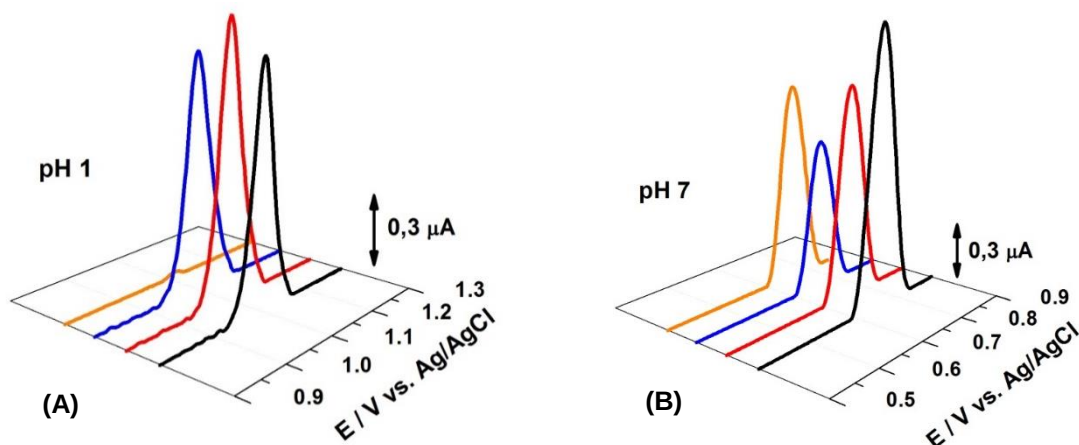


Figura 4.15 – Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida correspondentes ao efeito de adsorção sobre eletrólito puro do MBC $9,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o EPC-NTCPMF: (—) 1^a, (—) 2^a e (—) 3^a varreduras e (—) 1^a varredura após transferência do eletrodo a uma solução de eletrólito puro. **(A)** H₂SO₄ (pH 1,0). **(B)** tampão fosfato (pH 7,0). $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Em meio ácido (**Figura 4.15A**), a corrente manteve-se praticamente constante, após três varreduras sucessivas de potencial, sem limpeza do eletrodo. Por outro lado, em pH neutro (**Figura 4.15B**) observou-se diminuição do sinal analítico, evidenciando uma provável redução da área eletroativa da superfície do eletrodo de trabalho proporcionada por adsorção de espécies eletroativas ou não resultantes do processo de oxidação do MBC. Além disso, logo após as três varreduras sucessivas, uma nova medida foi realizada em eletrólito puro utilizando o mesmo eletrodo, sem polimento, apenas lavado com água ultrapura. Os resultados obtidos evidenciaram a presença de sinal analítico de MBC em pH 7,0, no entanto, esse sinal não foi observado em pH 1,0, corroborando os resultados anteriormente discutidos, ou seja, em pH 1,0 o processo de transferência de massa é predominantemente difusional e, em pH 7,0, difusional com adsorção de reagente na superfície do eletrodo.

É importante ressaltar que é possível ocorrer dois tipos de interações entre a molécula de MBC e os grupos carboxílicos presente nos NTC funcionalizados: ligações de hidrogênio e amídicas. As ligações de hidrogênio são interações que ocorrem entre os átomos de nitrogênio do MBC e o hidrogênio ácido da carboxila dos NTC funcionalizados, assim como entre os átomos de hidrogênio dos grupos aminos do MBC e o oxigênio dos grupos carboxílicos. Essas interações acontecem tanto em pH 1 quanto em pH 7. Por outro lado, está bem estabelecido na literatura que fitalocianinas metálicas substituídas com grupos aminos podem ligar-se covalentemente à superfície de NTC funcionalizados com grupos carboxila por formação de ligações amídicas (VERMA *et al.*, 2011; RIBEIRO, 2014). Dessa forma, é provável que ligações amídicas ocorram entre o carbono do grupo carboxílico presente nos NTC funcionalizados em estudo e o nitrogênio 2 (**Figura 4.16**) da molécula do MBC, preferencialmente, por ser esse o átomo mais nucleofílico.

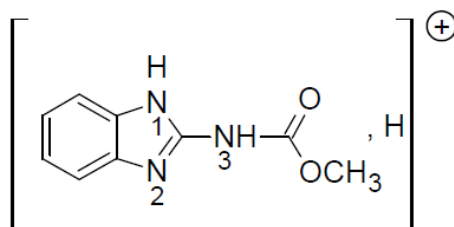


Figura 4.16 – Estrutura do MBC indicando os três grupos aminos suscetíveis à protonação em meio ácido.

Segundo Mazellier *et al.* (2002), em valores de pH menores do que 4,53 (pKa) a molécula de MBC sofre protonação dos grupamentos aminos. Portanto, na condição de pH 1, o caráter nucleofílico do nitrogênio 2 do MBC é diminuído devido à protonação, o que dificulta a formação da ligação amídica. Por outro lado, em pH 7, a molécula de MBC apresenta-se em sua forma neutra, ou seja, o nitrogênio 2 atua como sítio de ligação densamente nucleofílico, favorecendo a formação da ligação covalente (**Figura 4.17**), o que justifica o comportamento fortemente adsortivo do MBC sobre a superfície do EPC-NTCPMF, fato observado experimentalmente.

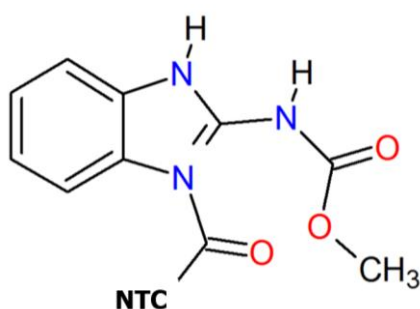


Figura 4.17 – Representação do composto formado pela ligação covalente entre a molécula do MBC e os NTC funcionalizados.

A VPD foi utilizada para investigar a influência do pH na oxidação eletroquímica do MBC, $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes eletrólitos suporte, como descrito na seção 3.2. Uma ampla faixa de pH, 1,0 a 12,0 foi estudada considerando apenas o pico $P_{1,a}$ (**Figura 4.18**).

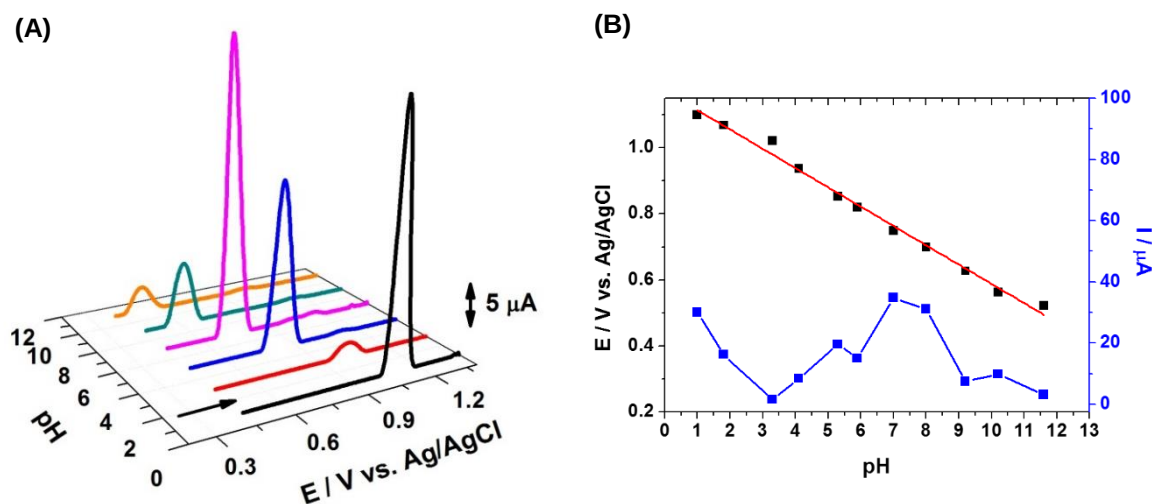


Figura 4.18 – (A) Voltamogramas de PD com linha de base corrigida de uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EPC-NTCPMF em diferentes eletrólitos em função do pH. (B) (—) Relação do E_p com o pH e (—) Relação da I_p com o pH.

Na **Figura 4.18A** foi observada uma forte influência do pH no processo eletroquímico, ou seja, o mecanismo de reação do MBC envolve a transferência de prótons e elétrons. Em toda faixa de pH estudada, o potencial do pico $P_{1,a}$ foi deslocado para valores menos positivos com o aumento do pH, estabelecendo uma dependência linear dada pela equação $E_{P_{1,a}} \text{ (V)} = 1,17 - 0,058 \text{ pH}$ (**Figura 4.18B**). A

inclinação da reta, 58 mV por unidade de pH, mostra que o mecanismo de oxidação envolve o mesmo número de elétrons e prótons (BARD e FAULKNER, 2001; WANG, 2000).

Levando-se em conta a largura do pico a meia altura ($W_{1/2}$), o número de elétrons envolvidos no mecanismo de reação pode ser determinado pela equação $W_{1/2} = 90/n$ (BRETT e BRETT, 1996). Um valor de $W_{1/2} = 80 \pm 29,7$ mV a 95% de confiança foi encontrado e, portanto, apenas um elétron é transferido na reação de oxidação para o pico P_{1a} , e consequentemente, também um próton, em concordância com dados da literatura (MANISANKAR *et al.*, 2004).

Na **Figura 4.18B** também está apresentada a relação da corrente do pico P_{1a} com o aumento do pH. De maneira geral, a corrente de pico diminui para $1,0 \leq \text{pH} < 3,3$, aumenta para $3,3 < \text{pH} \leq 7,0$ e, em seguida diminui para $7,0 < \text{pH} \leq 11,6$. Além disso, os maiores valores de corrente foram observados em H_2SO_4 , pH 1,0 e em tampão fosfato, pH 7,0, mostrando que ambos podem ser utilizados como eletrólito suporte para futuros estudos voltamétricos. Entretanto, é importante ressaltar que em pH neutro a corrente de pico é fortemente influenciada por adsorção, como discutido anteriormente, então a escolha do meio dependerá do interesse analítico. Neste estudo, o H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 1,0 foi escolhido como eletrólito suporte por garantir uma sequência analítica mais simples, uma vez que apenas a difusão das espécies eletroativas está envolvida no processo de oxidação do MBC.

4.2.3 Otimização das condições de VOQ

Os parâmetros voltamétricos foram estudados com o objetivo de estabelecer as condições ótimas de medida, e assim melhorar o desempenho analítico do método proposto. Para esse estudo, foi utilizada uma solução de MBC $9,9 \times 10^{-9}$ mol L^{-1} e como eletrólito de suporte, o H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 1,0.

Em geral, os parâmetros que influenciam fortemente a posição do potencial de pico, a intensidade de corrente de pico e a seletividade em VOQ são: f , ΔE_s e a . A variação desses parâmetros foi estudada individualmente.

A frequência de aplicação do pulso foi estudada numa faixa de 10 a 150 s^{-1} (**Figura 4.19A**). Nesse estudo foi possível observar que o aumento da frequência provocou um aumento na corrente de pico, entretanto, as variações $I \times f$ (**Figura 4.19B**) e $I \times f^{1/2}$ (**Figura 4.19C**) apresentaram comportamento não linear, considerando toda a faixa de frequência estudada, dados compatíveis com sistemas quase-reversíveis, diagnóstico obtido no item 4.2.2 (SOUZA *et al.*, 2003).

No entanto, vale ressaltar que a relação $I \times f$ (**Figura 4.19B**), apresenta duas faixas de linearidade, 10 $\text{s}^{-1} < f < 70 \text{ s}^{-1}$ e 70 $\text{s}^{-1} < f < 150 \text{ s}^{-1}$. Baseado nessas informações, o valor ótimo de frequência escolhido foi de 70 s^{-1} , valor máximo obtido para a primeira faixa linear de frequência (**Figura 4.19B**). Valores mais altos de frequência foram desconsiderados para manter o compromisso entre sensibilidade sem perdas de resolução ao construir a curva analítica.

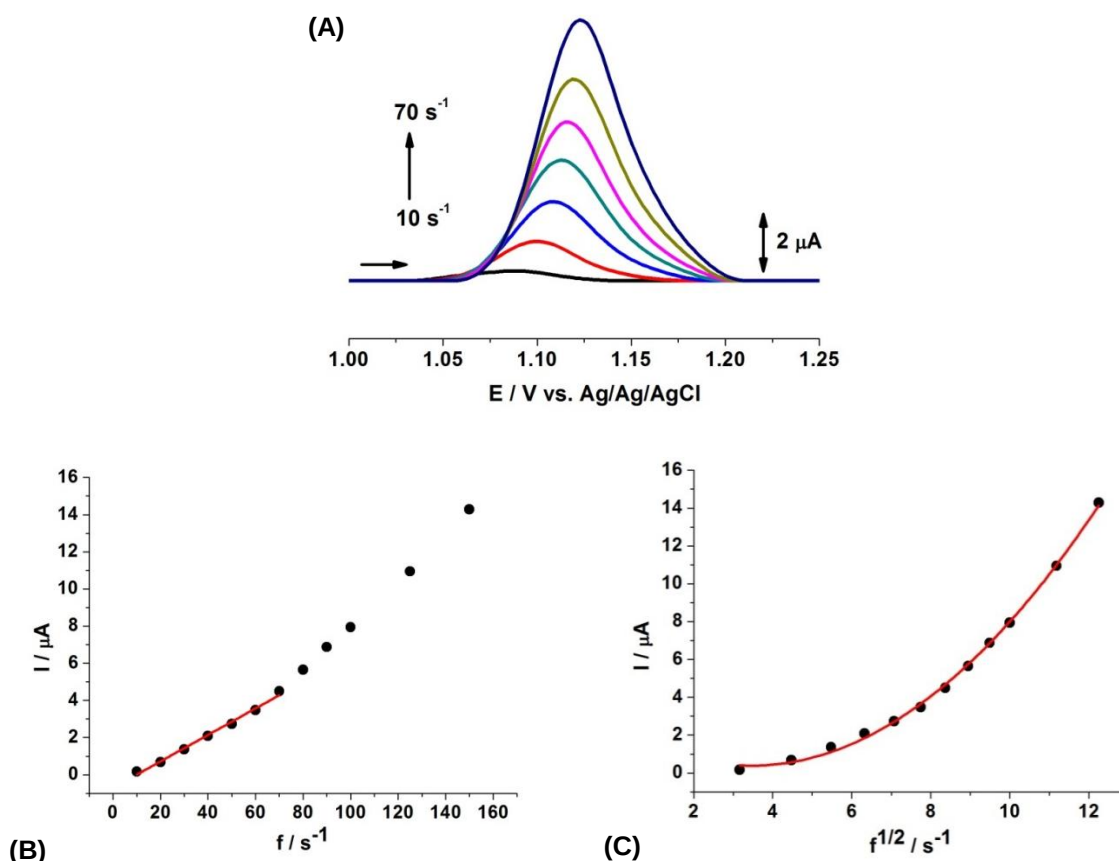


Figura 4.19 – Estudo da frequência de aplicação de pulso de potencial. **(A)** Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $9,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ do MBC em H_2SO_4 (pH 1,0) sobre EPC-NTCPMF. **(B)** Relação I vs. f . **(C)** Relação I vs. $f^{1/2}$.

O efeito do ΔE_s sobre a corrente de pico foi estudada no intervalo de 1 a 7 mV. Na **Figura 4.20B** está mostrada a dependência entre a corrente de pico e o incremento de potencial. Observa-se que o aumento do ΔE_s não promove aumento linear de corrente de pico. Além disso, com ΔE_s acima de 4 mV observa-se uma perda de resolução do sinal analítico e saturação do eletrodo (**Figura 20A e B**). Por esse motivo, um valor ótimo de $\Delta E_s = 4$ mV foi escolhido.

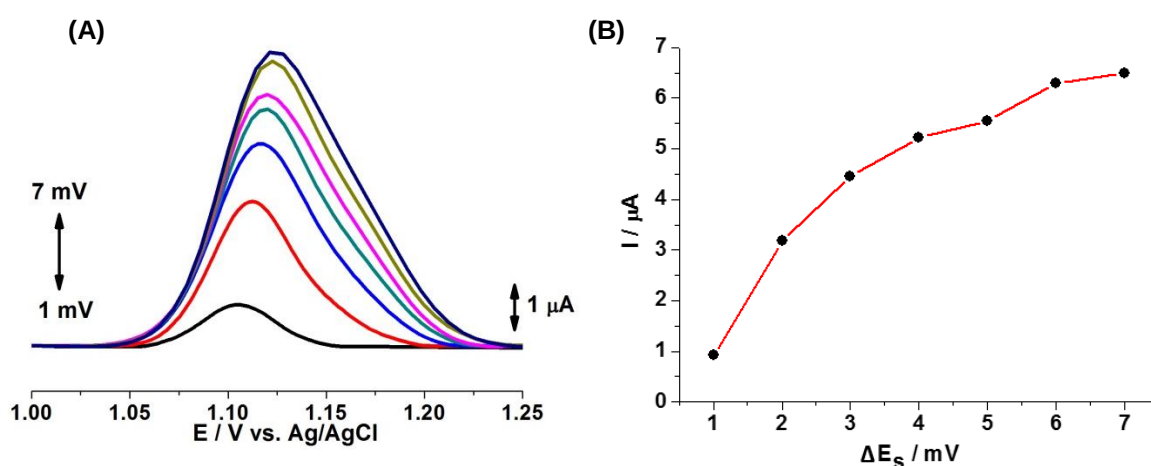


Figura 4.20 – Estudo do incremento de potencial. **(A)** Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $9,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ do MBC em H_2SO_4 (pH 1,0) sobre EPC-NTCPMF. **(B)** Relação I vs. ΔE_s .

A amplitude de pulso foi o último parâmetro a ser otimizado e o intervalo estudado foi de 10 a 100 mV. Esse parâmetro influencia diretamente a resolução do sinal analítico. Em geral, o aumento da amplitude provoca um alargamento do pico (ZOSKY, 2006). Nesse estudo, o aumento da amplitude provocou assimetria na forma dos picos para amplitudes entre 60 e 100 mV. Então, uma amplitude de 50 mV foi escolhida, por apresentar satisfatória sensibilidade e melhor perfil voltamétrico (**Figura 4.21**).

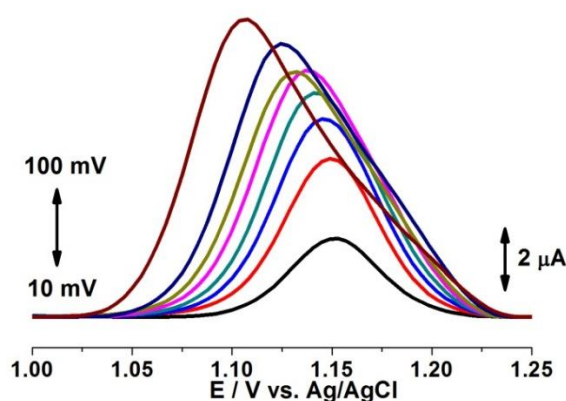


Figura 4.21 – Estudo da amplitude de pulso. Voltamogramas de OQ com linha de base corrigida de uma solução $9,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ do MBC em H_2SO_4 (pH 1,0) sobre EPC-NTCPMF.

Assim sendo, as condições otimizadas para a determinação de MBC em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 1,0 sobre o EPC-NTCPMF foram: $f = 70 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $a = 50 \text{ mV}$.

4.2.4 Curva analítica e variáveis de desempenho analítico

A **Figura 4.22A e B** apresentam os voltamogramas e a curva analítica obtida para o MBC nas condições otimizadas. Uma boa relação linear entre a corrente de pico e concentração foi verificada na faixa de concentração de 3 a $150 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$. A relação linear obtida na curva analítica obedece à equação $I_p / \text{nA} = -82,7 + 3,3 \times 10^{11} [\text{MBC}] / \text{mol L}^{-1}$, $R^2 = 0,9972$ para $N = 10$.

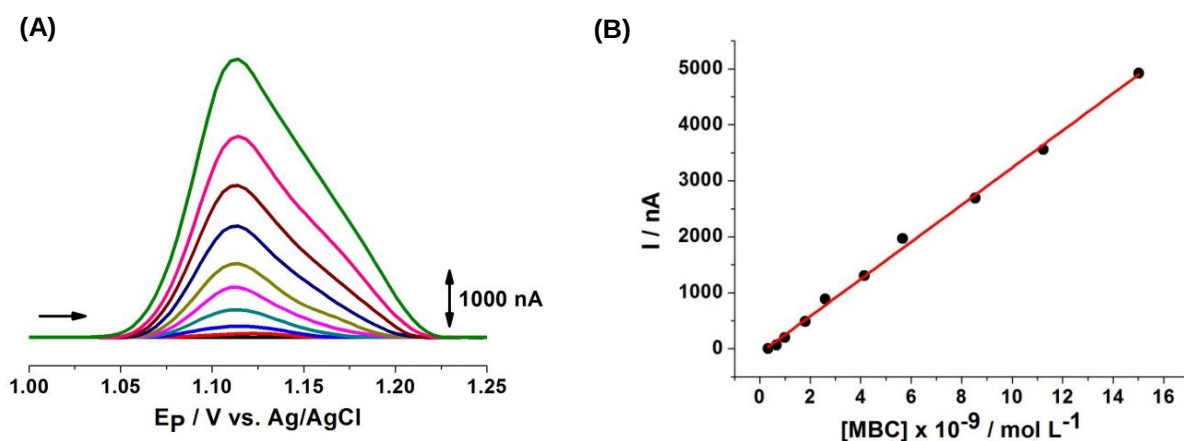


Figura 4.22 – (A) Voltamogramas de OQ para adições crescentes de uma solução $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de MBC em H_2SO_4 (pH 1,0). (B) Curva analítica na faixa de concentração de 3 a $150 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$.

Valores de LD e LQ foram calculados com base nas **Equações 3.1 e 3.2**, descritas na seção 3.4. Os valores encontrados foram $1,1 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ ($2,0 \text{ ng L}^{-1}$) e $3,5 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ ($6,8 \text{ ng L}^{-1}$), respectivamente. Comparado com dados da literatura, o método proposto para determinação de MBC mostrou-se significativamente sensível, superando diferentes trabalhos que utilizaram técnicas voltamétricas e equiparando-se inclusive a métodos mais sofisticados, como a cromatografia. Na **Tabela 4.7** está mostrada essa comparação.

Tabela 4.7 – Comparação entre os resultados publicados na literatura para determinação de MBC com diferentes metodologias e o presente estudo.

Técnica	Amostra	Faixa linear (mol L^{-1})	LD ^a (mol L^{-1})	Referência
SPE-LC-ESI-MS/MS	Água de rio e esgoto	-	$1,6 \times 10^{-11}$ $4,8 \times 10^{-11}$	SINGER <i>et al.</i> , 2010
VPD, EPC-tricresil fosfato	Água	$5,00 \text{ a } 100 \times 10^{-7}$	$3,0 \times 10^{-7}$	ASHRAFI <i>et al.</i> , 2012
VOQ, eletrodo de grafeno	Água e solo	$2,6 \text{ a } 52 \times 10^{-6}$	$5,7 \times 10^{-7}$	NOROYD <i>et al.</i> , 2014
VOQ, DDB	Água	$0,5 \text{ a } 15 \times 10^{-6}$	$4,8 \times 10^{-8}$	FRANÇA <i>et al.</i> , 2012
SWAdSV, ECV-NTCPM	Água de rio	$0,26 \text{ a } 3,11 \times 10^{-6}$	$5,5 \times 10^{-8}$	RIBEIRO <i>et al.</i> , 2011
VPD, ECV-NTCPMF	Água e solo	$0,003 \text{ a } 5,2 \times 10^{-7}$	$5,2 \times 10^{-11}$	SUNDARI <i>et al.</i> , 2010
VOQ, EPC-NTCPMF	Água potável	$3 \text{ a } 150 \times 10^{-10}$	$1,1 \times 10^{-11}$	Método proposto

^aLD: limite de detecção conforme descrito por Mocak *et al.* (1997); LQ: $3,3 \times \text{LD}$.

Além da obtenção de excelente valor de LD, o EPC-NTCPMF utilizado para o desenvolvimento desse método é de simples confecção, fácil renovação da superfície, baixo custo e a pasta de carbono modificada apresenta ótima estabilidade, podendo ser utilizada por até seis meses. Além disso, a preparação é rápida quando comparada com modificações realizadas sobre eletrodos sólidos, que em geral, envolvem etapas de deposição e secagem do material modificante, as quais requerem longo tempo e comprometem a reprodutibilidade das medidas (MANISANKAR *et al.*, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2011). Essas etapas não são triviais de serem realizadas e podem provocar o desprendimento de materiais modificadores da superfície do eletrodo durante as medidas. Outra desvantagem é a etapa de limpeza, em que o material depositado sobre o eletrodo precisa ser removido, tornando necessária uma nova preparação da

superfície do eletrodo para garantia da reprodutibilidade das medidas subsequentes, o que demanda ainda mais tempo de análise. Ainda, a modificação realizada em eletrodo sólido ocorre apenas na superfície do eletrodo, enquanto que no EPC-NTCPMF, os NTC funcionalizados distribuem-se em toda a pasta de carbono, o que favorece ainda mais a transferência de elétrons.

A precisão do método proposto foi avaliada em termos de repetibilidade e reprodutibilidade. Desvios-padrão relativos de 4,6% para 12 medidas sucessivas e 6,2% para 10 medidas diferentes com solução de MBC $1,6 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ comprovaram que o método apresenta repetibilidade e reprodutibilidade satisfatórias, encontrando-se dentro dos limites aceitáveis descritos na literatura, que são de 8% e 16%, respectivamente (AOAC-I, 2013).

A exatidão foi avaliada através de um teste de recuperação em duas amostras de água potável. Para as amostras estudadas, o EPC-NTCPMF respondeu eficientemente para uma faixa de concentração de MBC entre 1,6 a $6,1 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. Os valores médios obtidos para as recuperações foram 96,7% e 94,5% para as amostras 1 e 2, respectivamente (**Tabela 4.8**), estando em conformidade com a recomendação da IUPAC, onde valores de recuperação na faixa de 70 a 120% são aceitáveis para a quantificação de analitos em concentrações traço.

Tabela 4.8 – Resultados do estudo de recuperação para MBC em amostras de água potável.

Amostras	[MBC] $\times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$		Recuperação ^a	DPR ^b
	Adicionada	Recuperada ^a	(%)	(%)
Água potável 1	1,6	1,5	93,8	3,4
Água potável 2	1,6	1,5	93,8	6,5
Água potável 1	3,2	3,1	96,9	4,2
Água potável 2	3,2	3,0	93,8	4,9
Água potável 1	4,7	4,5	95,8	1,5
Água potável 2	4,7	4,5	95,8	1,5
Água potável 1	6,2	6,1	98,4	1,2
Água potável 2	6,2	6,0	96,8	3,5

^a(100 $\times$ obtido/adicionado); ^bN = 3

4.2.5 Estudo de interferentes e aplicações práticas para MBC

O estudo de possíveis interferências sobre a resposta voltamétrica do MBC foi realizado considerando os mesmos critérios utilizados para o estudo de TCC. Sob as condições definidas para o método proposto por VOQ, utilizando EPC-NTCPMF, respostas eletroativas não foram observadas para uma solução mista dos íons F^- , OCI^- , Al^{3+} , Na^+ , SO_4^{2-} e Ca^{2+} . Ainda, nenhuma interferência desses íons foi verificada para concentrações 1.000 vezes maior que a concentração de MBC, solução $3,2 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, indicando que a resposta obtida por VOQ é seletiva para MBC nessas condições.

O método desenvolvido por VOQ utilizando EPC-NTCPMF foi aplicado para a análise de duas amostras de água potável, entretanto, os valores de MBC ficaram abaixo do limite de detecção.

5 CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho, a oxidação eletroquímica do TCC sobre ECV foi descrita pela primeira vez. Estudos realizados por VC, VPD e VOQ demonstraram que essa substância sofre três processos de oxidação, P_1 , P_2 e P_3 , decorrentes da primeira varredura de potencial e três processos durante a segunda, possivelmente tratando-se de produtos de oxidação do TCC. O principal processo de oxidação, P_1 , sugere um sistema irreversível e difusional com reação de oxidação controlada por adsorção do TCC sobre a superfície do eletrodo.

Estudos feitos por VPD mostraram que a oxidação eletroquímica do TCC em ECV é dependente do pH e seu mecanismo envolve a transferência de $1H^+/1e^-$ para os processos P_1 e P_4 , $2H^+/2e^-$ para P_3 e $1H^+/2e^-$ para P_2 , P_5 , e P_6 .

O método SWAdSV mostrou excelente desempenho analítico, com LD de $3,2 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$, 1.000 vezes menor que o método de VOQ com medida direta, comparável a métodos mais sofisticados.

Valores satisfatórios de repetibilidade, reprodutibilidade e altos níveis de recuperação do TCC foram obtidos para amostras de sabonetes e água potável.

Não foram observadas interferências das espécies químicas estudadas sobre a resposta analítica do TCC, nas condições estudadas.

A confecção do EPC-NTCPMF com grupos $-COOH$ mostrou-se extremamente eficaz para a determinação de MBC em concentrações traço. O eletrodo é de simples confecção, fácil renovação da superfície, baixo custo e a pasta de NTC funcionalizados apresenta estabilidade, podendo ser utilizada por até seis meses, desde que adequadamente armazenada.

O principal processo de oxidação identificado para MBC, P_{1a} , foi associado a um sistema quase-reversível e controlado predominantemente por difusão.

A melhor sensibilidade foi alcançada em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 1.

Estudos feitos por VPD mostraram que oxidação eletroquímica do MBC em EPC-NTCPMF é dependente do pH e o mecanismo envolve a transferência de $1H^+/1e^-$ para o processo P_{1a} .

O método desenvolvido para a determinação de MBC, VOQ/EPC-NTCPMF, evidenciou excelente desempenho analítico, com LD de $1,1 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ (2,0

ng L⁻¹). Além disso, excelentes valores de repetibilidade, reprodutibilidade e níveis de recuperação foram obtidos para amostras de água potável.

Não foram observadas interferências das espécies químicas estudadas sobre o sinal analítico de MBC, nas concentrações estudadas.

As amostras de água potável analisadas reproduziram teores de MBC menores do que LD (2,0 ng L⁻¹), portanto, satisfazendo o VMP permitido de 120 µg L⁻¹ definido na Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde.

Os métodos desenvolvidos para determinação de TCC e MBC demonstraram 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 e seletividade adequada para as aplicações estudadas.

5.1 Propostas Futuras

- ✓ Propor o desenvolvimento de um método voltamétrico para determinação simultânea de TCC e TCS em produtos de higiene pessoal e água potável.
- ✓ Estudar a viabilidade de aplicação de outros eletrodos, modificados ou não para a determinação de TCC, a fim de melhorar os limites de detecção.
- ✓ Aplicar a voltametria de redissolução adsorbtiva para a determinação de MBC em EPC-NTCPMF.
- ✓ Aplicar o EPC-NTCPMF confeccionado para determinação de MBC em diferentes matrizes.
- ✓ Aplicar o EPC-NTCPMF confeccionado para determinação de outros CE.

6 REFERÊNCIAS

6 REFERÊNCIAS

ABIHPEC, Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. Panorama do setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos. Disponível em: <<https://www.abihpec.org.br/wp-content/uploads/2014/04/2014-PANORAMA-DO-SETOR-PORTUGU%C3%8AS-07-MAI.pdf>> Acesso em: 12/08/2015.

ABRASCO, Associação Brasileira de Saúde Coletiva. Dossiê ABRASCO – Parte 1 – Agrotóxicos, segurança alimentar e nutricional e Saúde. Disponível em: <http://www.abrasco.org.br/site/wp-content/uploads/2015/03/Dossie_Abrasco_01.pdf> Acesso em: 10/08/2015.

AHN, K. C. et al. *In vitro* biologic activities of the antimicrobials triclocarban, its Analogs, and triclosan in bioassay screens: receptor-based bioassay screens. **Environmental Health Perspectives**, 116 (9), 1203-1210, 2008.

AHN, K. C. et al. An Immunoassay to Evaluate Human/Environmental Exposure to the Antimicrobial Triclocarban. **Environmental Science & Technology**, 46, 374-381, 2012.

ANASTASSIADES M. e SCHWACK, W. Analysis of carbendazim, benomyl, thiophanate methyl and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in fruits and vegetables after supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**. 30, 825 (1), 45-54, 1998.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Reavaliação Toxicológica do Ingrediente Ativo Benomil. 2002. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1bda480047458d15960dd63fbc4c6735/benomil.pdf?MOD=AJPERES>> Acesso em: 10/07/2015.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Tiofanato metílico – T14. 2002. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/56641800474585928f2cdf3fbc4c6735/T14++Tiofanato-met%C3%ADlico.pdf?MOD=AJPERES>> Acesso em: 10/07/2015.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 635 – C24: Carbendazim. Brasília/DF, 2009.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 29 – Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre “Lista de Substâncias de Ação Conservante permitidas para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes” e dá outras providências. Brasília-DF, 2012.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) – Relatório Complementar Relativo à Segunda Etapa das Análises de Amostras Coletadas em 2012. Brasília/DF, 2014.

AOAC International. International guidelines for dietary supplements and botanicals, 2013. Disponível em: <http://www.eoma.aoac.org/app_k.pdf> Acesso em 04/06/2015.

ASHRAFI, A. M. et al. Trace Determination of Carbendazim Fungicide Using Adsorptive Stripping Voltammetry with a Carbon Paste Electrode Containing Tricresyl Phosphate. **International Journal of Electrochemical Science**, 7, 9717 – 9731, 2012.

BAIRD, C.; CANN, C. **Environmental Chemistry**. New York: H. H. Freeman and Company, 2008.

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

- BAUMANN, A. et al. Electrochemistry-Mass Spectrometry Unveils the Formation of Reactive Triclocarban Metabolites. **Drug Metabolism and Disposition**, 38 (12), 2130-2138, 2010.
- BIBBO, M. et al.; Follow-up study of male and female offspring of DES-exposed mothers. **Obstetrics & Gynecology**, 49 (1), 1-8, 1977.
- BLASER, M. Antibiotic overuse: stop the killing of beneficial bacteria. **Nature**, 476, 393-394, 2011.
- BOLTON, J. L. et al. Role of Quinones in Toxicology. **Chemical Research in Toxicology**, 13 (3), 135-160, 2000.
- BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. **Eletroquímica princípios, métodos e aplicações**. Coimbra: Livraria Almedina, 1996.
- BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e meio ambiente**, 13, 129-146, 2003.
- CABEZA, Y. et al. Monitoring the occurrence of emerging contaminants in treated wastewater and groundwater between 2008 and 2010. The Baix Llobregat (Barcelona, Spain). **Journal of Hazardous Materials**, 239, 32–39, 2012.
- CARMICHAEL, W. W. et al. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environmental Health Perspectives**, 109 (7), 663-668, 2001.
- CARSON, R. **Silent spring**. England: Modern Classics, 2002.
- CAS - Chemical Abstracts Service. Substâncias químicas conhecidas. Disponível em: <<https://www.cas.org/news/media-releases/100-millionth-substance>> Acesso em: 08/07/2015.

- CHELINHO, S. et al. Toxicity of phenmedipham and carbendazim to *Enchytraeus crypticus* and *Eisenia andrei* (Oligochaeta) in Mediterranean soils. **Journal of Soils and Sediments**, 14, 584–599, 2014.
- CHEN, J. et al. Triclocarban Enhances Testosterone Action: A New Type of Endocrine Disruptor?. **Endocrinology**, 149, 1173–1179, 2007.
- CHEN, Z-F. et al. Determination of biocides in different environmental matrices by use of ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Analytical & Bioanalytical Chemistry**, 404, 3175–3188, 2012.
- CHU, S. e METCALFE, C. D. Simultaneous determination of triclocarban and triclosan in municipal biosolids by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1164, 212-218, 2007.
- CLARKE, B. O. et al. Investigating the levels and trends of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl in sewage sludge. **Environment International**, 36, 323-329, 2010.
- CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA Nº 357/2005 – Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e condições e padrões de lançamento de efluentes. Brasília/DF, 2005.
- CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA Nº 375/2006 - Define critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados e dá outras providências. Brasília/DF, 2006.
- COOGAN, M. A. et al. Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyltriclosan in a North Texas wastewater treatment plant receiving stream. **Chemosphere**, 67, 1911–1918, 2007.

- DOGAN-TOPAL, B. et al. The Analytical Applications of Square Wave Voltammetry on Pharmaceutical Analysis. **The Open Chemical and Biomedical Methods Journal**, 3, 56-73, 2010.
- DULEBA, A. J. et al. Effects of Triclocarban on Intact Immature Male Rat: Augmentation of Androgen Action. **Reproductive Sciences**, 18, 119-127, 2011.
- EVSTEFEEVA, Y. E. et al. Electrode Properties of Tetrahedral Amorphous Carbon. **Russian Journal of Electrochemistry**, 41, 7; 772-777, 2005.
- FARAG, A. et al. Developmental Toxicity of Fungicide Carbendazim in Female Mice. **Birth Defects Research (Part B)**, 92, 122-130, 2011.
- FEITOSA, J. P. M. Funcionalização Covalente e não Covalente de Nanotubos de Carbono. Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará. Dissertação de Mestrado, 2009.
- FOCAZIO, M. J. et al. A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States — II, untreated drinking water sources. **Science of the Total Environment**, 201-216, 2008.
- FOTOUHI L. et al. Voltammetric Determination of Triclosan in Waste Water and Personal Care Products. **International Journal Electrochemical Science**, 5, 1390-1398, 2010.
- FRACKOWIAK, E. e BÉGUIN, F. Carbon materials for the electrochemical storage of energy in capacitors. **Carbon**, 39, 937-950, 2001.
- FRANÇA, R. F. et al. Electroanalytical determination of carbendazim and fenamiphos in natural waters using a diamond electrode. **Diamond & Related Materials**, 27 (28), 54–59, 2012.

GALILEU. Afinal, sabonetes antibacterianos são melhores do que os comuns?. Disponível em: <<http://revistagalileu.globo.com/blogs/olhar-cetico/noticia/2014/01/afinal-sabonetes-antibacterianos-sao-melhores-do-que-os-comuns.html>> Acesso em: 10/072015.

GARRIDO et al. Electrochemical oxidation of amphetamine-like drugs and application to electroanalysis of ecstasy in human serum. **Bioelectrochemistry**, 79, 77-83, 2010.

GATIDOU, G. et al. Bioconcentration of selected endocrine disrupting compounds in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*. **Marine Pollution Bulletin**, 60, 2111-2116, 2010.

GIUDICE, B. D.; YOUNG, T. M. The Antimicrobial Triclocarban Stimulates Embryo Production in the Freshwater Mudsnail *Potamopyrgus Antipodarum*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 29 (4), 966–970, 2010.

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

GOMEZ, E. et al. Bioconcentration of two pharmaceuticals (benzodiazepines) and two personal care products (UV filters) in marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*) under controlled laboratory conditions. **Environmental Science and Pollution Research**, 19, 2561–2569, 2012.

GOODING, J. J. Nanostructuring electrodes with carbon nanotubes: A review on electrochemistry and applications for sensing. **Electrochimica Acta**, 50, 3049-3060, 2005.

GOSSER Jr., D. K. **Cyclic Voltammetry: simulations and analysis of reaction mechanisms**, New York: Wiley-VHC, 1993.

- GUO, J. H et al. Determination of triclosan, triclocarban and methyl-triclosan in aqueous samples by dispersive liquid–liquid microextraction combined with rapid liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, 1216, 3038-3043, 2009.
- HALDEN, R. U.; PAULL, D. H. Analysis of Triclocarban in Aquatic Samples by Liquid Chromatography Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Environmental Science & Technology**, 38, 4849-4855, 2004.
- HALLING-SØRENSEN, B. et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – a review. **Chemosphere**, 36, 357, 1998.
- HEIDLER, J. et al. Partitioning, Persistence, and Accumulation in Digested Sludge of the Topical Antiseptic Triclocarban during Wastewater Treatment. **Environmental Science & Technology**, 40, 3634-3639, 2006.
- HERNANDEZ, P. et al. Determination of carbendazim with a graphite electrode modified with silicone OV-17. **Electroanalysis**, 8, 941, 1996.
- HIRSCH, A. Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes. **Angewandte Chemie International Edition**, 41 (11), 1853-1859, 2002.
- HOLLAND, P.T. Glossary of terms relating to pesticides – IUPAC Commission Report 36. **Pure & Applied Chemistry**, 68, 1167-1193, 1996.
- HUEBRA, M. J. G. et al. Determination of carbendazim in soil samples by anodic stripping voltammetry using a carbon fiber ultramicroelectrode. **Journal of Analytical Chemistry**, 367, 474–478, 2000.
- IBAMA – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente. Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil – uma abordagem ambiental, 2009.

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry. Disponível em: <http://www.iupac.org/nc/home/projects/project-db/project-details.html?tx_wfqbe_pi1%5Bproject_nr%5D=2012-034-1-600> Acesso em: 03/07/2015.

JANAKIDEVI, V. et al. A study of proteotoxicity and genotoxicity induced by the pesticide and fungicide on marine invertebrate (*Donax faba*). **Chemosphere**, 90, 1158-1166, 2013.

JIANG, J. et al. Embryonic exposure to carbendazim induces the transcription of genes related to apoptosis, immunotoxicity and endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). **Fish & Shellfish Immunology**, 41, 493-500, 2014.

KASPRZYK-HORDERN, B. et al. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. **Water Research**, 43, 363–380, 2009.

KING, M. K. Evaluation of the developmental effects and bioaccumulation potential of triclosan and triclocarban using the south african clawed frog, *Xenopus laevis*. Texas. Programa de Pós-Graduação da Universidade do Norte do Texas. Tese de Doutorado. 2010.

LAMEIRA, V. Estudo dos efeitos letais e subletais (reprodução e teratogênese) do fármaco triclosan para *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Ceriodaphnia silvestrii* (CLADOCERA, CRUSTACEA). São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Universidade de São Paulo. Dissertação de Mestrado. 2008.

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

LINDSTROM, A. et al. Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater. **Environmental Science & Technology**, 36, 2322-2329, 2002.

LIU, S. et al. Trace analysis of 28 steroids in surface water, wastewater and sludge samples by rapid resolution liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1218, 1367–1378, 2011.

LOCATELLI, C. Measurement of Voltammetric Peak Area and Resolution of Overlapping Peaks in the Simultaneous Determination of Copper, Lead, Cadmium, and Nickel in Environmental Matrixes. **Environmental Analysis**, 83 (6), 2000.

LONDRES, F. Agrotóxicos no Brasil – um guia para ação em defesa da vida. Rio de Janeiro, 2011.

LOPES, L. G. et al. Estrogênios em águas naturais e tratadas da região de Jaboticabal – São Paulo. **Química Nova**, 33 (3), 639-643, 2010.

LOURENÇO A. S. et al. Electrochemical oxidation and electroanalytical determination of xylitol at a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, 119, 509 2014.

LUO, S. et al. A voltammetric sensor based on GO–MWNTs hybrid nanomaterial-modified electrode for determination of carbendazim in soil and water samples. **Ionics**, 19, 673-680, 2013.

LUZ, R. C. S. Voltammetric determination of 4-nitrophenol at a lithium tetracyanoethylenide (LiTCNE) modified glassy carbon electrode. **Talanta**, 64, 935–942, 2004.

MACOUNOVA, K. et al. Ultrasound-assisted anodic oxidation of diuron. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 457, 141-147, 1998.

- MANAHAN, S. E. **Environmental Chemistry**. Boca Raton: Lewis Publishers, 2000.
- MANISANKAR, P. et al. Electrochemical studies of carbendazim. **Bulletin of Eletrochemistry**, 20, 81, 2004.
- MANISANKAR, P. et al. Determination of pesticides using heteropolyacid montmorillonite clay-modified electrode with surfactant. **Talanta**, 68, 686, 2006.
- MASEK, A. et al. Voltammetric and FTIR Spectroscopic Studies of the Oxidation of Retinyl Propionate at Pt Electrode in Non-Aqueous Media. **International Journal Electrochemical Science**, 9, 6809-6820, 2014.
- MAZELLIER, P. et al. Photochemical behavior of the fungicide carbendazim in dilute aqueous solution. **Journal of photochemistry and photobiology A: Chemistry**, 153, 221, 2002.
- MIAO, H-H et al. Determination of triclocarban in aquatic plants by using SPE combined with HPLC-ESI-MS/MS. **Analytical Methods**, 6, 2227-2232, 2014.
- MINNESOTA DEPARTMENT OF HEALTH. Triclocarban, Minnesota, 2013. Disponível em: <<http://www.health.state.mn.us/divs/eh/risk/guidance/gw/triclocarbansumm.pdf>> Acesso: 23/02/2015.
- MINISTERIO DA SAUDE. Portaria Nº 2914/2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, Brasília/DF, 2011.
- MINISTÉRIO PÚBLICO FEDERAL. Petição Nº 32538 – Solicitação de suspensão do registro de produtos que contenham em suas formulações o MBC, 2013.

- MIRACLE, M. R. et al. Endocrine disrupting effects, at different temperatures, on *Moina micrura* (Cladocera: Crustacea) induced by carbendazim, a fungicide. **Hydrobiologia**, 668, 155-170 2011.
- MOCÁK, J. et al. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: application to voltammetric and stripping techniques. **Pure and Applied Chemistry**, 69, 297, 1997.
- MONTAGNER, C. C. et al. A cafeína no ambiente. In: CANELA, M. C. et al. (Ed). **Cafeína em águas de abastecimento público no Brasil**. São Carlos: Editora Cubo, p. 12, 2014.
- MORASCH, B. et al. 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**, 29 (8), 1658–1668, 2010.
- MORAES, F. C. et al. Direct electrochemical determination of carbaryl using a multi-walled carbon nanotube/cobalt phthalocyanine modified electrode. **Talanta**, 79, 1406-1411, 2009.
- MOURA, J. A. Estudo da eficiência de estações de tratamento de esgoto - ETE e estações de tratamento de água – ETA na eliminação de resíduos de Estrógenos Naturais e Sintéticos na UGRHI-13 (Tietê-Jacaré). Araraquara. Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista. Tese de Doutorado. 2009.
- NI, Y. et al. Simultaneous determination of nitrobenzene and nitro-substituted phenols by differential pulse voltammetry and chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, 431, 101–113, 2001.

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

NOYROD, P. et al. The simultaneous determination of isoproturon and carbendazim pesticides by single drop analysis using a graphene-based electrochemical sensor. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 719, 54-59, 2014.

OLIVEIRA, S. C. B. et al. Electrochemical oxidation of ochratoxin A at a glassy carbon electrode and in situ evaluation of the interaction with deoxyribonucleic acid using an electrochemical DNA-biosensor. **Analytica Chimica Acta**, 588, 283, 2007.

OMS, Organização Mundial de Saúde. Substâncias químicas perigosas à saúde e ao ambiente, 2000. Disponível em <http://www.unesp.br/pgr/manuais/subs_quimicas.pdf> Acesso em: 04/08/2015.

PEDROUZO, M. et al. Presence of pharmaceuticals and hormones in waters from sewage treatment plants. **Water Air Soil Pollut**, 217, 267–281, 2011.

PEREIRA, A. C. et al. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, 25 (6), 1012-1021, 2002.

PUNBUSAYAKUL, N. Carbon nanotubes architectures in electroanalysis. **Procedia Engineering**, 32, 683-689, 2012.

PYCKE, B. F. G. et al. Transformation Products and Human Metabolites of Triclocarban and Triclosan in Sewage Sludge Across the United States. **Environmental Science Technology**, 48, 7881–7890, 2014.

RAZZINO, C. A. et al. Sensitive determination of carbendazim in orange juice by electrode modified with hybrid material. **Food Chemistry**, 170, 360-365, 2015.

RIBEIRO W. F. et al. Electroanalytical determination of carbendazim by square wave adsorptive stripping voltammetry with a multiwalled carbon nanotubes modified electrode. **Analytical Methods**, 3, 1202-1206, 2011.

RIBEIRO, F. W. P. Sensores e biossensores eletroquímicos: ferramentas versáteis para a determinação de contaminantes ambientais. Tese de doutorado, Universidade Federal do Ceará. 2014.

RICHARDSON, S. D. Water Analysis: emerging Contaminants and Current Issues. **Analytical Chemistry**, 75 (18), 4943, 2003.

_____ Water Analysis: emerging Contaminants and Current Issues. **Analytical Chemistry**, 77 (12), 3807, 2005.

_____ Water Analysis: emerging Contaminants and Current Issues. **Analytical Chemistry**, 79 (12), 4295, 2007.

SAKR, S e SHALABY, S. Carbendazim-induced testicular damage and oxidative stress in albino rats: ameliorative effect of licorice aqueous extract. **Toxicology and Industrial Health**, 30 (3), 259-267, 2014.

SANTOS, A. L. et al. Electrochemical Reduction and Voltammetric Determination of Diloxanide Furoate in Non-Aqueous Medium. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 16 (5), 922-927, 2005.

SAPKOTA, A. et al. Detection of triclocarban and two co-contaminating chlorocarbanilides in US aquatic environments using isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Environmental Research**, 103, 21-29, 2007.

SCHEBB, N. H. et al. Whole blood is the sample matrix of choice for monitoring systemic triclocarban levels. **Chemosphere**, 87, 825–827, 2012.

- SILVA, F. V. et al. Alquilfenóis e alquilfenóis etoxilados: uma visão ambiental. **Revista Brasileira de Toxicologia**, 20 (1 e 2), 1-12, 2007.
- SILVA, T. A. et al. Electrochemical behaviour of vertically aligned carbon nanotubes and graphene oxide nanocomposite as electrode material. **Electrochimica Acta**, 119, 114-119, 2014.
- SINGER, H. et al. 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**, 158, 3054-3064, 2010.
- SKOOG, D. A. et al. **Princípios de análise Instrumental**, 5ª ed., Porto Alegre: Bookman, 2002.
- SLIJKERMAN, D. M. A. et al. Assessing Structural and Functional Plankton Responses to Carbendazim Toxicity. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 23 (2), 455-462, 2004.
- SMITH, E. T. Examination of n=2 reaction mechanisms that reproduce pH-dependent reduction potentials. **Analytica Chimica Acta**, 572, 259, 2006.
- SODRE, F. F. et al. Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: A sewage-to-tap issue. **Water Air Soil Pollut**, 206, 57-67, 2010.
- SOOD, S. et al. Induction of human breast cell carcinogenesis by triclocarban and intervention by curcumin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 438, 600-606, 2013.
- SOUZA FILHO, A. G. e FAGAN, S. B. Funcionalização de Nanotubos de Carbono. **Química Nova**, 30 (7), 1695-1703, 2007.

SOUZA, D. et al. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, 26, 81, 2003.

SWAN, S. H. et al. Semen quality of fertile US males in relation to their mothers' beef consumption during pregnancy. **Human Reproduction**, doi:10.1093/humrep/dem068, 1–6, 2007.

STEINGRABER, S. **Living Downstream: na ecologist's personal investigation of câncer and the environment**, 2ª ed., Filadélfia: Da Capo Press, 2010.

STECKHAN, E. in **Organic Electrochemistry**, ed. HAMMERICH, O. et al. New York, 4ª ed., vol. I, 545-548, 2001.

STEPHENSON, G. R. et al. Glossary of terms relating to pesticides – IUPAC Commission Report 36. **Pure & Applied Chemistry**, 78 (11), 2075–2154, 2006.

SUNDARI, A. et al. Enhanced sensing of Carbendazim, a Fungicide on Functionalized Multiwalled Carbon Nanotube Modified glassy Carbon Electrode and its Determination in Real Samples. **Analytical Letters**, 43, 1.457-1.470, 2010.

TAMURA, I. et al. Ecotoxicity and screening level ecotoxicological risk assessment of five antimicrobial agents: triclosan, triclocarban, resorcinol, phenoxyethanol and p-thymol. **Journal of Applied Toxicology**, 33, 1222–1229, 2013.

TCC Consortium; High production volume (HPV) chemical challenge program, 2002. Disponível em: <<http://www.epa.gov/chemrtk/pubs/summaries/tricloca/c14186tc.htm>> Acesso em 10/06/2014.

TORRES, T. A. P. Contribution to the toxicological risk assessment of Simvastatin, Sertraline, 4-MBC, Propylparaben and Triclocarban, under single and combined exposure, using zebrafish and sea urchin embryo bioassays. Programa de Pós-Graduação do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto. Dissertação de Mestrado. 2013.

TUYET-HANH, T. T. et al. Environmental health risk assessment of dioxin exposure through foods in a dioxin hot spot—bien hoa city, Vietnam. **International Journal of Environmental Research Public Health**, 7, 2395-2406, 2010.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. Special report on environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis, 1997.

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.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. Drinking Water Contaminant Candidate List and Regulatory Determinations. Disponível em: <<http://www2.epa.gov/ccl>> Acesso em 15/07/2015.

TERNES, T. A. et al. Scrutinizing Pharmaceuticals and Personal Care Products in Wastewater Treatment. **Environmental Science Technology**, 38 (20), 392A, 2004.

VERMA, A. L. et al. Hydrogen peroxide vapor sensor using metal-phthalocyanine functionalized carbon nanotubes. **Thin Solid Films**, 519, 8144-8148, 2011.

VIDAL, L. et al. Chemically surface-modified carbon nanoparticle carrier for phenolic pollutants: Extraction and electrochemical determination of benzophenone-3 and triclosan. **Analytical Chimica Acta**, 616, 28-35, 2008.

WANG, J. **Analytical Eletrochemistry**. 2^a ed. New York: John Wiley, 2000.

WANG, L-H et al. Simultaneous determination of chlorinated bacteriostats in cosmetic and pharmaceutical products. **Journal Cosmestic Science**, 56, 183-192, 2005.

- WU, C. et al. Adsorption and degradation of triclosan and triclocarban in soils and biosolids-amended soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57, 4900-4905, 2009.
- YAO, Y. et al. Electrochemical recognition and trace-level detection of bactericide carbendazim using carboxylic group functionalized poly(3,4- ethylenedioxythiophene) mimic electrode. **Analytica Chimica Acta**, 831, 38-49, 2014.
- YOSHIDA, S. EUA encontram fungicida proibido em suco de laranja brasileiro, **Revista Época Negócios**. Disponível em: < <http://epocanegocios.globo.com/Revista/Common/0,,EMI288937-16418,00-EUA+ENCONTRAM+FUNGICIDA+PROIBIDO+EM+SUCO+DE+LARANJA+BRASILEIRO.html> > Acesso em 04/06/2015.
- YUEH, M-F et al. Triclocarban Mediates Induction of Xenobiotic Metabolism through Activation of the Constitutive Androstane Receptor and the Estrogen Receptor Alpha. **PLoS ONE**, 7 (6): e37705, 2012.
- ZARATE JR, M. F. et al. Bioconcentration of triclosan, methyl-triclosan, and triclocarban in the plants and sediments of a constructed wetland. **Chemosphere**, 88, 323-329, 2012.
- ZHAO, J. L. et al. Occurrence and risks of triclosan and triclocarban in the Pearl River system, South China: From source to the receiving environment. **Journal of Hazardous Materials**, 179, 215-222, 2010.
- ZHAO, R-S et al. Determination of triclosan and triclocarban in environmental water samples with ionic liquid/ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction prior to HPLC-ESI-MS/MS. **Microchimica Acta**, 174, 145-151, 2011.
- ZOSKI, C. G. **Handbook of eletrochemistry**. 1ª Ed. Netherlands: Elsevier, 2007.