



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



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS VOLTAMÉTRICAS PARA DETERMINAÇÃO
SIMULTÂNEA DE CARBOFURANO E METOMIL USANDO ELETRODO DE DIAMANTE
DOPADO COM BORO**

Janete Clair da Silva Santos

**João Pessoa
2016**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS VOLTAMÉTRICAS PARA DETERMINAÇÃO
SIMULTÂNEA DE CARBOFURANO E METOMIL USANDO ELETRODO DE DIAMANTE
DOPADO COM BORO**

Janete Clair da Silva Santos*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo

Co-Orientador: Prof. Dr. Willame Farias Ribeiro

*** Bolsista CAPES**

**João Pessoa
2016**

S237d Santos, Janete Clair da Silva.
Desenvolvimento de metodologias voltamétricas para
determinação simultânea de carbofurano e metomil usando
eletrodo de diamante dopado com boro / Janete Clair da Silva
Santos.- João Pessoa, 2016.
79f. : il.
Orientador: Mário César Ugulino de Araújo
Coorientador: Willame Farias Ribeiro
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN
1. Química. 2. Metomil. 3. Carbofurano. 4. Eletrodo -
diamante dopado - boro. 5. Voltametria.

UFPB/BC

CDU: 54(043)

Desenvolvimento de metodologia simultânea de carbofurano e metomil utilizando técnicas voltamétricas em eletrodo de diamante dopado com boro.

Dissertação de Mestrado apresentada pela aluna Janete Clair da Silva Santos e aprovada pela banca examinadora em 22 de julho de 2016.



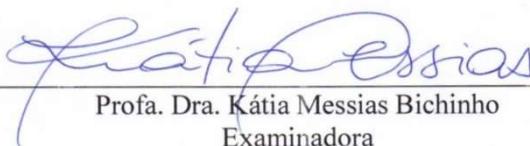
Prof. Dr. Mario César Ugulino de Araújo
Orientador/Presidente



Prof. Dr. Williane Farias Ribeiro
2º. Orientador



Profa. Dra. Fátima Aparecida Castriani Sanches
Examinadora



Profa. Dra. Kátia Messias Bichinho
Examinadora

EPIGRAFE

“É muito muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se à derrota, do que formar fila com os pobres de espíritos que nem gozam e nem sofrem muito porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória e nem derrota”

(Theodore Roosevelt)

DEDICATÓRIA

*À meu filho Matheus Alecsandro e minha
mãe Vandeleia da Silva Santos.*

AGRADECIMENTOS

🏠 A Deus, por tudo que tenho conquistado.

🏠 A minha família, em especial minha mãe, Vandeleia, que sempre desenvolveu o papel de pai e mãe e ao meu filho, Matheus, por todo amor, carinho e compreensão, toda minha luta é dedicada ao seu futuro.

🏠 Ao Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo, pela orientação e por disponibilizar todas as condições para o desenvolvimento deste trabalho.

🏠 Ao professor Dr. Williane Farias Ribeiro pela orientação, amizade e principalmente pela ajuda imprescindível dedicada nos momentos de bancada.

🏠 Ao amigo Daniel, pela amizade, disponibilidade de sempre, contribuições na bancada, me ensinando desde os conceitos mais básicos aos mais complexos, e pela paciência durante todos esses processos, meu muito obrigada.

🏠 A Heberton Eugênio, pelo amor, amizade, paciência (muita), companheirismo, parceria e a grande contribuição para finalização desse trabalho.

🏠 Aos meus Professores da Graduação, em especial, Vera Lúcia e Henrique César, por todo apoio durante toda minha trajetória acadêmica, por acreditarem sempre em mim e pela bela amizade que construímos, que tenho certeza ser para a vida toda.

🏠 Aos amigos, Larissa Pereira, Cristiano Tenório, Fátima Sanches, Jôsy Simões, Rafael Carvalho, pessoas especiais que são muito mais que grandes amigos, pessoas que guardarei sempre em meu coração.

🏠 Aos amigos dos outros laboratórios, como LCCQS, LEQA e LACOM.

🏠 A todos os amigos que compõem o LAQA, em especial, Camila Mesquita, Rhayane Rodrigues, Pedro Lemos, Eduardo Lima, Adenildo Camilo.

🏠 A minha amiga Danielly Maiara, pela amizade de todos esses anos, desde o início da Graduação, mesmo longe, sei que torceu muito pelo meu sucesso na finalização do mestrado.

🏠 As professoras Dr.^a Kátia Messias Bichinho e Dr.^a Ilda Antonieta Salata Toscano pelas contribuições feitas a este trabalho durante a Pré-defesa.

SUMÁRIO

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de abreviaturas

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Objetivos	5
1.1.1 Geral	5
1.1.2 Específicos	5
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	7
2.1 Pesticidas: abordagem geral	7
2.2 Carbamatos: carbofurano e metomil	11
2.2.1 Carbofurano	14
2.2.2 Metomil	17
2.3 Métodos para determinação de carbofurano e metomil	23
2.4 Eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB)	24
3 EXPERIMENTAL	28
3.1 Instrumentação	28
3.2 Soluções e reagentes	28
3.3 Pré-tratamento do eletrodo	29
3.4 Procedimentos experimentais e parâmetros voltamétricos	30
3.4.1 Voltametria cíclica	31
3.5 Curvas analíticas e interferentes	31
3.6 Variáveis de desempenho analítico	32
3.7 Pré-processamento dos voltamogramas	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 Comportamento eletroquímico do carbofurano e metomil	35
4.1.1 Eletroatividade e efeito da polarização do EDDB	35
4.1.2 Influência do pH do eletrólito suporte	36
4.2 Reversibilidade e estudo de velocidade	38
4.3 Determinação analítica de carbofurano e metomil	41
4.3.1 Otimização dos parâmetros instrumentais da VOQ	41

4.3.2	Curvas analíticas para carbofurano e metomil por VOQ	44
4.3.3	Variáveis de desempenho analítico para VOQ	47
4.3.4	Otimização dos parâmetros para VPD	48
4.3.5	Curvas analíticas para carbofurano e metomil por VPD	49
4.3.6	Variáveis de desempenho analítico para VPD	50
4.4	Comparação das metodologias por VOQ e VPD	51
5	CONCLUSÕES	53
5.1	Propostas Futuras	53
	REFERÊNCIAS	55

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1 – Estrutura do ácido carbâmico e estrutura geral dos carbamatos.	12
Figura 2.2 – Representação dos eventos que ocorrem durante a estimulação das funções neuromusculares (WHO/FAO, 1984).	13
Figura 2.3 – Principais caminhos do metabolismo do carbofurano. (Adaptado de EPA, 1976 e FMC, 1976).	16
Figura 2.4. Fotodegradação do metomil. Adaptado de (TAMIMI <i>et al.</i> , 2006).	20
Figura 2.5 – Caminhos do metabolismo do metomil em mamíferos. (Adaptado de FAO/WHO, 1986).	21
Figura 3.1 – Eletrodo de DDB: (1) placa de cobre; (2) isolamento do contato elétrico com resina epóxi Araldite®; (3) contato elétrico (liga estanho/chumbo) e (4) filme de DDB.	28
Figura 4.1. Voltamogramas de onda quadrada registrados individualmente em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0) sobre eletrodo DDB (—) anodicamente e (—) catodicamente polarizado para uma solução $3,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de: A) carbofurano e B) metomil, usando f de 25 s^{-1} , ΔE_s de 2 mV e ΔE_p de 50 mV.	35
Figura 4.2 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos em $3,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para carbofurano e metomil em diferentes pHs. A) Gráfico 3D Carbofurano. B) Gráfico 3D Metomil. C) Relação do E_p com o pH:. D) Relação do I_p com o pH. (●) $P_{1,\text{car}}$ e (▲) $P_{1,\text{met}}$.	37
Figura 4.3 – Voltamogramas cíclicos de soluções individuais de carbofurano e metomil $1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 (pH 1,0): (...) apenas na solução do eletrólito de suporte; (—) 1ª, (—) 2ª e (—) 3ª varreduras sobre EDDDB catodicamente polarizado. (A) Carbofurano e (B) Metomil. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.	38
Figura 4.4 – Voltamograma de onda quadrada sobre DDB polarizado catodicamente para soluções individuais $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de metomil e carbofurano em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0). (A) Carbofurano e (B) Metomil. Correntes: I_R (resultante); I_d (direta) e I_r (reversa). $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$.	39

- Figura 4.5** – Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura de uma mistura de solução de carbofurano e metomil de $1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=1) sobre DDB: (•••) na ausência e (—) na presença dos pesticidas. 40
- Figura 4.6** – Influência das correntes de pico I_{p1} com a v (**A**, carbofurano e **B**, metomil), e com a $v^{1/2}$ (**C e D**). Gráfico do $\log(I_{p1})$ vs. $\log v$ para: (**E**) carbofurano e (**F**) metomil. 41
- Figura 4.7** – Voltamogramas da aplicação da frequência de pulso de potencial por onda quadrada para: **A**) carbofurano e **B**) metomil. $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$. 43
- Figura 4.8** – Estudo da frequência de aplicação de pulso de potencial. Carbofurano: **A**) relação I vs. f . e **B**) relação I vs. $f^{1/2}$. Metomil: **C**) relação I vs. f . e **D**) relação I vs. $f^{1/2}$. H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0), $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$. 44
- Figura 4.9** – Voltamogramas de onda quadrada e inserção de curvas analíticas em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (pH 1,0) para adições crescentes de uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de: **A**) carbofurano, na presença de $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ metomil e de **B**) metomil, na presença de $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de carbofurano. Condições de análise definidas na Tabela 4.1. 45
- Figura 4.10** – **A**) Voltamogramas de onda quadrada para adições crescentes de uma mistura de solução $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de metomil e carbofurano em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (pH 1,0). Curvas analíticas para determinação simultânea de: **B**) carbofurano e **C**) metomil. Condições de análise definidas na Tabela 4.1. 46
- Figura 4.11** – **A**) Voltamogramas de pulso diferencial para adições crescentes de uma mistura de solução $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de carbofurano e metomil em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (pH 1). Curvas analíticas para determinação simultânea de: **B**) carbofurano e **C**) metomil. Condições de análise definidas na Tabela 4.2. 59

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 2.1 – Classificação de pesticidas com base nos ingredientes ativos. (Adaptado de KLAASSEN, 2007; SANCHES, 2003). (Adaptado)	8
Tabela 2.2 – Classificação de pesticidas com base nos organismos-alvo. (Adaptado de ZACHARIA, 2011).	9
Tabela 2.3 – Classificação dos pesticidas de acordo com a toxicidade. (Adaptada de WHO, 2010; GHS, 2015).	10
Tabela 2.4 – Dados gerais do carbofurano (Adaptado de ANVISA, 2016).	14
Tabela 2.5 – Efeito toxicológico do carbofurano para algumas espécies. Adaptado de SANTOS, 2007.	15
Tabela 2.6 – Dados gerais do Metomil (Adaptado de ANVISA, 2016).	18
Tabela 3.1 – Parâmetros eletroquímicos estudados por VOQ e VPD.	31
Tabela 4.1 – Parâmetros eletroquímicos estudados e escolhidos por VOQ para determinação dos pesticidas.	42
Tabela 4.2 – Variáveis de desempenho para curvas individuais e simultâneas por VOQ.	47
Tabela 4.3 – Parâmetros escolhidos por VPD para determinação dos pesticidas.	49
Tabela 4.4 – Variáveis de desempenho para curva simultânea por VPD.	50
Tabela 4.5 – Comparação das técnicas VOQ e VPD para determinação de carbofurano e metomil.	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BR	Britton-Robinson
CLAE	Cromatografia Líquida de alta eficiência
CSEM	Centro Suíço de Eletrônica e Microtécnica
EDDB	Eletrodo de Diamante dopado com boro
DPR	Desvio padrão relativo
$E_{1/2}$	Potencial de meia onda
E_p ou E	Potencial de pico (“a” anódico e “c” catódico)
ELISA	(Do inglês: Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay) – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
EPA	(Do inglês: <i>Environmental Protection Agency</i>) – Agência de Proteção Ambiental
F	Frequência de aplicação de pulso
FAO	(Do inglês: Food and Agriculture Organization of the United Nations) – Organização das Nações Unidas Para Alimentação e Agricultura
HF-CVD	(Do inglês: Hot Filament Chemical Vapor Deposition) – Técnica por filamento quente
I_d	Corrente direta
I_p ou I	Corrente de pico (“a” anódico e “c” catódico)
I_r	Corrente reversa
I_R	Corrente total ou resultante
IT	Intervalo de tempo
IPCS	(Do inglês: <i>International Programme on Chemical Safety</i>) – Programa Internacional em Segurança Química.
IUPAC	(Do inglês: <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>) – União Internacional de Química Pura e Aplicada
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MHTA	S-metil-N-hidoxitioacetimidato (um metabólito do metomil)
pc	Peso corpóreo
TM	Tempo de modulação
V	Velocidade de varredura
VC	Voltametria Cíclica
VOQ	Voltametria de Onda Quadrada

VPD	Voltametria de Pulso Diferencial
WHO	(Do inglês: World Health Organization) – Organização Mundial da Saúde
ΔE_p	Amplitude de pulso
ΔE_s	Incremento de potencial
ΔE_t	Largura de pulso ou tempo de modulação

RESUMO

SANTOS, J. C. S. **Desenvolvimento de metodologias voltamétricas para determinação simultânea de carbofurano e metomil usando eletrodo de diamante dopado com boro**. 2016. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil, 2016.

O carbofurano (metilcarbamato de 2,3-hidro-2,2-dimetilbenzofuran-7ila) é um pesticida com ação nematicida e acaricida pertencente ao grupo químico metilcarbamato de benzofuranila, e o metomil [(R, S)-metil-*N*-(metilcarbamoiloxi) tiocetimidato] é um inseticida e acaricida inserido no grupo químico metilcarbamato de oxima. Possuem alta toxicidade, tendo ambos: classe toxicológica I e classe ambiental II. Em geral, suas detecções e determinações analítica envolvem métodos cromatográficos, eletroforéticos, fluorimétricos, espectrofotométricos com fluorescência de raios-X e eletroanalíticos. Neste estudo se fez uso de um eletrodo de diamante dopado com boro devido às suas propriedades intrínsecas: ampla janela de potencial e baixa adsorção de moléculas orgânicas. Assim, foi estudado o comportamento eletroquímico de carbofurano e metomil usando voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial, sendo desenvolvido metodologias para estudos simultâneo por VOQ e VPD. Através do estudo de pH, realizado pela técnica VOQ, observou-se a oxidação do carbofurano ($E_{p1} \approx + 1,3 \text{ V vs. } E_{Ag/AgCl}$) e a oxidação do metomil ($E_{p1} \approx + 1,6 \text{ V vs. } E_{Ag/AgCl}$) em EDDB catódicamente polarizado. Uma metodologia simultânea empregando VOQ foi desenvolvida, sendo as melhores condições de análise: pH 1,0 (ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$), $f = 150 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$, $\Delta E_p = 30 \text{ mV}$, $t_d = 10 \text{ s}$, obtendo uma faixa linear de $2,5 \times 10^{-6}$ a $7,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Também foi desenvolvida uma metodologia alternativa com a técnica de VPD. As melhores condições de análise da VPD que proporcionaram a resposta voltamétrica mais sensível foram: pH 1,0 (ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$), $IT = 0,2 \text{ s}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$, $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $t_d = 10 \text{ s}$, apresentando uma faixa linear $2,48 \times 10^{-4}$ a $1,42 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os estudos mostram que as duas metodologias propostas são viáveis.

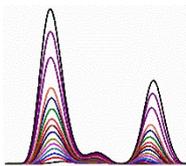
Palavras-chave: metomil, carbofurano, eletrodo de diamante dopado com boro, voltametria.

ABSTRACT

SANTOS, J. C. S. **Developing voltammetric methodologies for simultaneous determination of carbofuran and methomyl using boron-doped diamond electrodes.** 2016. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil, 2016.

Carbofuran (2,2-dimethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-7yl-methylcarbamate) is a kind of pesticide with nematicide and acaricide power, belonging to the chemical group of benzofuranyl methylcarbamate; methomyl {(R, S)-methyl-N- [(methylamino) carbonyl] oxy} ethanimidothioate} is also a pesticide with acaricide power, it is inserted into the methylcarbamate oxime chemical group. They present high toxicity, and both are inserted in class I of toxicity and class II of environmental risks. In general, their detection and analytical determinations are carried with chromatographic methods, electrophoretic, fluorometric, spectrophotometric fluorescence X-rays and electroanalytical. In this study, one has made use of boron-doped diamond electrode due to its inherent properties: wide potential range and low adsorption of organic molecules. Thus, one has studied the electrochemical behavior of carbofuran and methomyl using cyclic voltammetry, square-wave voltammetry, differential pulse voltammetry, being developed methodologies for simultaneous studies by SWV and DPV. Throughout the pH analysis by SWV technique, one observed oxidation process of carbofuran ($E_{p1} \approx + 1.3 \text{ V vs. } E_{Ag/AgCl}$) and the same process for the methomyl ($E_{p1} \approx + 1.6 \text{ V vs. } E_{Ag/AgCl}$) in DDB cathodically polarized. A simultaneous methodology using SWV was developed, being the best analytical conditions: pH 1.0 (sulfuric ac. 0.1 mol L^{-1}), $f = 150 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$, $\Delta E_p = 30 \text{ mV}$, $t_d = 10 \text{ s}$, obtaining a linear range of 2.5×10^{-6} to $7.9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Also, an alternative methodology has been developed with the DPV technique. The best VPD analysis conditions that provided the most sensitive voltammetric response were: pH 1.0 (sulfuric ac. 0.1 mol L^{-1}), $TI = 0.2$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$, $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $t_d = 10 \text{ s}$, with a linear range of 2.48×10^{-4} to $1.42 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. This work shows that the two proposed methodologies are feasible.

Keywords: methomyl, carbofuran, boron-doped diamond electrodes, voltammetry.



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

É bem sabido que as atividades agrícolas datam de mais de dez mil anos, porém o uso de pesticidas na lavoura é muito recente e ganha destaque na década de 1950, com a chamada 'Revolução Verde'. Esse período é o marco de uma era voltada ao uso dessas substâncias e a mecanização das atividades agrícolas, com o intuito de controlar doenças e pragas, como também aumentar a produtividade. Segundo os promotores e apoiadores, a 'Revolução Verde' seria essencial para erradicar a fome que pairava sob a população mundial (LONDRES, 2011; BRASIL, 2015). No entanto, o uso extensivo de pesticidas mostrou-se um tanto ineficaz, uma vez que as pragas agrícolas conseguem evoluir e persistirem no campo, ou mesmo dar origem a novas pragas mais resistentes aos pesticidas do que as anteriores. Assim, geram novos problemas, que são mais difíceis de serem solucionados do que os problemas iniciais (LONDRES, 2011).

Agências internacionais e nacionais que promovem a segurança sanitária, tais como a Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), são responsáveis por normatizar e padronizar, dentre outras funções, produtos e serviços que envolvam riscos à saúde. Porém, apesar de existir tais organizações realizando o monitoramento de serviços e produtos, mesmo assim, nos primeiros anos de vida e anos subsequentes, o ser humano é exposto a pesticidas através dos alimentos. Vale salientar que os níveis de exposição são baixos, mas de acordo com a frequência, podem acarretar problemas à saúde (ANVISA, 2015; WHO, 2015; BESSIN, 2004).

O aumento da população mundial ocasionou uma grande demanda na produção de alimentos. Segundo Murphy (1986), em muitas partes do mundo, a perda excessiva de culturas alimentares pode trazer fome para a população e o uso de pesticidas parece ter uma ótima relação entre custo e benefício.

Apesar dessas substâncias serem de grande importância no modelo de desenvolvimento de um país, é necessário que haja políticas de incentivo ao treinamento dos agricultores quanto à forma mais segura de se aplicar e qual produto aplicar, como também uma fiscalização mais presente dos produtos agrícolas que estão sendo utilizados, pois o uso extensivo de agrotóxicos não parece ser a melhor saída para essa questão (KLAASSEN, 2007; RIBAS *et al.*, 2009; SWITZERLAND,

2015). Porém, será que existe alguma forma “mais segura” de aplicação dos pesticidas? Para Rigotto (2011), deve-se considerar inúmeros fatores, entre eles estão: primeiro, considerar a magnitude do uso de pesticidas, de 2008 a 2015 o Brasil foi o país que mais consumiu esses produtos no mundo. Em dez anos, a venda deles no mercado agrícola brasileiro aumentou de R\$ 6 bilhões para R\$ 26 bilhões, e em 2015 o país ultrapassou a marca de 1 milhão de toneladas, o que equivale a um consumo médio de 5,2 kg de pesticida por pessoa, dados da ANVISA. Em segundo e terceiro lugar respectivamente, estaria a avaliação da extensão do universo em que o uso seguro dos pesticidas teria que ser garantido, e as condições institucionais para o Estado fazer valer “a regra do jogo” em toda esta extensão.

Estando clara toda a extensão e a complexidade da questão do uso dos pesticidas no Brasil, pode-se abordar os fatores para avaliar o uso seguro, que se refere as dificuldades para implantar efetivamente, nos locais de produção e trabalho, as medidas mitigadoras de risco e protetoras da saúde e do ambiente. Enfim, para implementar de forma consequente e responsável o paradigma do “uso seguro” dos pesticidas, seria preciso conceber um vultoso e complexo programa [...].

A nocividade de pesticidas como os carbamatos para fauna é tratado nos trabalhos de Wright & Stringer (1973), onde em testes *in vivo*, constataram que minhocas (*Lumbricus terrestris*), ao serem imersas por 1 min em uma suspensão a 0.6% de compostos carbamatos, morreram em 14 dias, e quando postas em recipientes com solos contendo carbamatos, à uma taxa de 0.78 g/m², morreram em 18 dias. Atkins *et al* (1973), aponta um efeito bastante indesejável causado por carbamatos, que é a alta mortalidade de abelhas.

Devido à importância de minhocas, abelhas e demais seres vivos na agricultura e ecologia, muitos estudos são feitos para determinar aqueles pesticidas mais seguros para a fauna e flora. Abdel-Aal & Fahmy (1977), constataram que os carbamatos: aldicarbe, **metomil**, N-desmetil metomil, carbaril e **carbofurano** são extremamente tóxicos para abelhas (*Apis mellifera*).

Assim como no resto do mundo, o Brasil seguiu a tendência da ‘Revolução Verde’ e hoje o país lidera o posto de maior consumidor de agrotóxicos do mundo. Apesar dessa posição, o país não é o que mais produz alimentos, deixando uma sensação de ‘o que está sendo feito com tanto agrotóxico?’ (LONDRES, 2011). Pode-se apontar como responsáveis pelo aumento de agrotóxicos nas lavouras, o desenvolvimento de

resistência pelas pragas agrícolas, isto é, com o tempo, os agrotóxicos vão perdendo eficácia, levando os agricultores a aumentarem as doses aplicadas, ou até mesmo, recorrerem a novos produtos, outro fator é o desequilíbrio ambiental, que leva ao surgimento de novas pragas, como também o mal-uso desses produtos por pessoas não capacitadas.

Segundo a ANVISA, o Brasil tornou-se também o destino de mais de dez pesticidas já proscritos na União Europeia, Estados Unidos da América e China, entre estes pesticidas cita-se: **carbofurano**, triclofon, abamectina, acefato, fosmete, lactofem, paraquate, parationa metílica, tiram entre outros.

Na busca da identificação de problemas que o uso desenfreado dos pesticidas traz ao meio ambiente e ao bem-estar da humanidade, pesquisadores em geral vêm desenvolvendo técnicas e métodos cada vez mais precisos para a identificação, quantificação e estudo de resíduos de pesticidas. Neste contexto, técnicas eletroanalíticas vêm se destacando, pois elas têm grande aplicação na análise de amostras ambientais como águas naturais, neve, solo, sedimentos, plantas, tanto na determinação de substâncias ao nível de traços, quanto na especificação das mesmas (GALLI *et al.*, 2006; SOUSA *et al.*, 2004; BARANOWSKA *et al.*, 2002).

Dentre as técnicas eletroanalíticas, a voltametria vem ganhando destaque devido a versatilidade da técnica, associada à disponibilidade de diferentes eletrodos de trabalho, importante aspecto em eletroanálise, uma vez, que 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 e Pt), podem ser utilizados para a determinação de compostos químicos. No conjunto de eletrodos sólidos, o eletrodo de diamante dopado com boro é uma importante ferramenta para eletroanálise devido suas propriedades intrínsecas. (FEITOSA, 2009; LI e CHI, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2011).

Sendo assim, este trabalho propõe-se à investigação eletroquímica de dois pesticidas carbamatados, metomil e carbofurano, como também o desenvolvimento de metodologias por voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial.

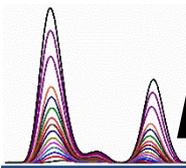
1.1. Objetivos

1.1.1. Geral

Desenvolver metodologias voltamétricas para determinação simultânea de carbofurano e metomil usando eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB).

1.1.2. Específicos

-  Investigar as propriedades eletroquímicas do carbofurano e metomil sobre o EDDB, utilizando as técnicas de voltametria cíclica (VC), voltametria de onda quadrada (VOQ) e voltametria de pulso diferencial (VPD);
-  Investigar a influência das variáveis instrumentais das técnicas VPD e VOQ sobre a resposta eletroquímica do carbofurano e metomil;
-  Desenvolver metodologias voltamétricas para determinação simultânea de carbofurano e metomil, estabelecendo as variáveis de desempenho analítico.



FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Pesticidas: abordagem geral

Há registros em obras literárias clássicas e documentos antigos, que o uso de pesticidas remota de tempos antigos, não no campo, mas sim em residências, com o objetivo de eliminar mosquitos e em jardins para controlar a proliferação de insetos que atacavam as plantas ornamentais (KLAASSEN, 2007).

Atualmente essas substâncias são utilizadas para diversas finalidades, e apresentam algumas definições dadas por organizações mundiais e nacionais, cita-se:

Para o Ministério do Meio Ambiente (MMA), **agrotóxicos**, são:

Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológico, utilizados nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, pastagens, proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais. (MMA, 2015)

Segundo a OMS, **pesticidas** são:

Compostos químicos que são utilizados para exterminar pragas, como insetos, roedores, fungos e ervas daninhas. Pesticidas são utilizados na saúde pública para exterminar vetores de doenças, por exemplo mosquitos, e em agricultura, no extermínio de pragas que danificam as plantações. Pela própria natureza deles, os pesticidas são potencialmente tóxicos para os seres vivos, inclusive para os seres humanos, e devem ser utilizados e armazenados de forma segura e apropriada. (WHO, 2015)

Por último, a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, 2014), define em seu livro *Compendium of Chemical Terminology (Gold Book)*, **pesticidas** como sendo, “estritamente, uma substância utilizada com o propósito de exterminar pragas: de uso comum, qualquer substância usada para controlar, prevenir, ou exterminar animais, organismos microbiológicos ou ervas daninhas. ”

Quanto a composição química dos pesticidas, eles são geralmente misturas que, encerram em sua formulação uma gama de ingredientes nas proporções desejadas, onde o ingrediente ativo encontra-se misturado às outras substâncias, facilitando a

aplicação, dissolução e até mesmo a estabilidade do pesticida. Ressalve-se que, se ao final da formulação o produto exigir dissolução, esta é feita geralmente em água, derivados de petróleo ou em outros carreadores (KLASSEN, 2007; ZACHARIA, 2011).

Existem inúmeros tipos de pesticidas para diferentes finalidades e estes podem ser classificados de acordo com a:

 **forma como adentram e afetam os organismos alvos:** referencia-se aqui dois subgrupos de pesticidas, sistêmicos e não sistêmicos. Os pesticidas do grupo sistêmico agem sobre os organismos-alvo através do contato direto com os mesmos, são por isso, chamados também, de pesticidas de contato. Já os não sistêmicos agem de uma forma completamente diferente, eles são introduzidos em um organismo tratado ou em tratamento, seja ele uma planta ou um animal, quando o organismo alvo entra em contato com estes indivíduos, que carregam o pesticida em seus sistemas vasculares, são eliminados (ZACHARIA, 2011);

 **natureza química dos ingredientes ativos:** esta é a classificação mais útil para os pesquisadores nos campos de pesticidas e/ou questões ambientais, pois neste tipo de classificação pode-se encontrar tudo sobre o pesticida, desde a sua eficácia até as precauções que se deve tomar no manuseio. Tal classificação agrupa os pesticidas em classes químicas, isto é, os pesticidas de uma mesma classe apresentarão propriedades físico-químicas, modo de ação, precauções a serem tomadas no manuseio do produto e forma de aplicação similares, assim como, também, outras propriedades e características (ZACHARIA, 2011; GARCIA *et al.*, 2012). Eles são divididos em quatro famílias químicas que são mostradas na **Tabela 2.1**.

Tabela 2.1 – Classificação de pesticidas com base nos ingredientes ativos. Adaptado de (KLAASSEN, 2007; SANCHES, 2003).

FAMÍLIA	EXEMPLO
Organofosfatos	Malatião
Carbamatos	Carbofurano
Triazinas	Atrazina
Fenoxis	Ácido diclorofenoxiacético (2,4-D)
Organoclorados	DDT

 **praga a qual se quer combater (organismos-alvo):** classificação mais comum e se baseia nos objetivos para os quais os pesticidas são utilizados, **Tabela 2.2** (KLAASSEN, 2007; ZACHARIA, 2011;).

Tabela 2.2 – Classificação de pesticidas com base nos organismos-alvo. Adaptado de (ZACHARIA, 2011).

TIPO DE PESTICIDA	ORGANISMO-ALVO
Inseticida	Insetos
Herbicida	Ervas daninhas
Raticida	Roedores
Fungicida	Fungos
Acaricida	Ácaros
Bactericida	Bactérias
Moluscicidas	Moluscos
Avicida	Aves
Virucida	Vírus
Algicida	Algas

Conforme é mostrado na **Tabela 2.2**, cada tipo de pesticida é aplicado a um determinado alvo. Porém, por mais detalhada que sejam as pesquisas e avançada seja a tecnologia utilizada para desenvolvê-los, o contato com outras espécies, que não sejam organismos-alvo, pode ocasionar danos à saúde dos indivíduos, inclusive aos seres humanos (KLAASSEN, 2007).

Com o objetivo de conscientizar, prevenir e chamar a atenção para os riscos que os pesticidas oferecem à saúde, a OMS desenvolveu uma classificação que organiza os pesticidas em grupos de acordo com o nível de risco que oferecem à saúde do homem. Também segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS, 2008), por determinação legal, quaisquer agrotóxicos devem, sem exceção, apresentar no rótulo do recipiente uma faixa com a cor (vermelha, amarela, azul, verde ou branca), que indica sua classe toxicológica, **Tabela 2.3**.

A dose letal (DL_{50}) é um parâmetro essencial utilizado para avaliar e mensurar o nível de toxicidade de um pesticida. Expressa em miligramas, corresponde a massa do agente tóxico inoculada, por unidade de massa corporal (kg), das espécies em estudo – que causará a morte de 50% dos animais de uma determinada espécie que está sob exposição do agente tóxico em estudo. A DL_{50} e outros efeitos tóxicos são determinados após a administração de uma ou mais doses em uma ou mais espécies. O animal mais utilizado em testes toxicológicos é o camundongo, pois apresenta seu genoma muito parecido com o do ser humano (KLAASSEN, 2007).

Tabela 2.3 – Classificação dos pesticidas de acordo com a toxicidade. Adaptado de (WHO, 2010; GHS, 2015).

Classificação da OMS	Nível de toxicidade	DL ₅₀ para ratos (mg/kg massa corporal)		Advertências
		Oral	Dermal	
I a	Extremamente tóxico	<5	<50	Fatal se ingerido ou se em contato com a pele
I b	Muito tóxico	5-50	50-200	Fatal se ingerido ou se em contato com a pele
II	Moderadamente tóxico	50-2000	200-2000	Tóxico se ingerido ou se em contato com a pele
III	Levemente tóxico	Acima de 2000	Acima de 2000	Prejudicial se ingerido ou se em contato com a pele
U	Não apresenta graves riscos à saúde	5000 ou superior	5000 ou superior	Pode ser prejudicial se ingerido ou se em contato com a pele

A agricultura é o maior consumidor de pesticidas utilizando 85% da produção mundial. Os riscos que podem oferecer à saúde dependem de inúmeros fatores, dos quais destacam-se a quantidade de pesticida empregada e as suas propriedades físico-químicas (GARCIA, 2012; DABROWSKI, 2015). Dentre as inúmeras propriedades de um pesticida, em particular, a degradação é a mais relevante nos estudos sobre os efeitos que pode causar no ambiente após a sua aplicação, pois é através destes estudos que será constatado ou não a bioacumulação no ambiente, como também, se os compostos oriundos da degradação são mais ou menos tóxicos que os compostos originais (ZACHARIA, 2011).

A exposição a pesticidas acontece principalmente das seguintes formas: por inalação, através do contato com a pele, e também por via oral. Doses elevadas de pesticidas, podendo levar à morte, é um problema grave que afeta a saúde de trabalhadores rurais e operários da indústria de agrotóxicos. Em contrapartida, a exposição a doses baixas ocorre diariamente com praticamente toda a população mundial, através da ingestão de alimentos e água contaminadas por resíduos de pesticidas. Os efeitos relacionados a tal exposição são de longo prazo, podendo levar anos para se manifestarem. Dentre os efeitos causados, destacam-se a neurite, a baixa imunidade do organismo, os problemas psiquiátricos e neurodegenerativos etc. As ações carcinogênicas e mutagênicas também são focos de atenção em estudos citogênicos (KLAASSEN, 2007; GARCIA, 2012; DABROWSKI, 2015).

Pesquisas recentes, desenvolvidas pela ANVISA, dispõem sobre os níveis de resíduos de pesticidas em alimentos que chegam à mesa dos consumidores. Cerca de 3.293 amostras de treze diferentes alimentos, a exemplo do feijão, arroz, pimentão, morango, tomate e batata, foram analisadas e os resultados foram tratados nos anos de 2011 e 2012 no âmbito do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). Os resultados mostraram-se insatisfatórios para 36% das amostras coletadas em 2011 e 29% das amostras coletadas em 2012. Dentre as irregularidades encontradas, duas merecem destaque: detecção de alimentos com limites máximos de resíduos permitidos acima do aceitável e detecção de pesticidas não autorizados para aplicação nos alimentos inspecionados. Os níveis de agrotóxicos revelaram que os alimentos com maior número de amostras contaminadas por agrotóxicos são: o pimentão (mais de 90%), morango (63%) e pepino (58%). Para a ANVISA, os dados são muito preocupantes, considerando que a ingestão diária desses alimentos “contaminados” pode contribuir para o surgimento de doenças, a exemplo das neurológicas, hepáticas, respiratórias, renais e cânceres (ANVISA, 2015; ANVISA, 2013). A batata foi o único alimento aprovado nas inspeções, 100% das amostras estavam conforme as normas da ANVISA.

Estes dados corroboram que a intoxicação crônica, que mata lentamente, não é oriunda apenas do contato direto com pesticidas (LONDRES, 2011), mas também pela ingestão diária de alimentos contaminados. Esses aspectos são também reforçados por Rigotto (2011), que diz: “somos todos consumidores de alimentos contaminados por pesticidas e tais alimentos são a nossa dose diária de ‘veneno’, as consequências do uso de agrotóxicos são de longo prazo, algumas irreversíveis e outras ainda desconhecidas.”

2.2 Carbamatos: carbofurano e metomil

Os carbamatos (**Figura 2.1**) são pesticidas derivados do ácido carbâmico, podendo ser ésteres ou sais desse ácido, usados principalmente na agricultura como inseticidas, herbicidas, fungicidas e nematicidas (IUPAC, 2014; KLAASSEN, 2007).

A síntese e a comercialização de pesticidas do grupo carbamato teve início por volta de 1950. No Brasil, as três classes mais comercializadas de N-metil carbamatos são: os fenóis (a exemplo do carbaril e carbofurano), as oximas (sendo o metomil o

mais utilizado), e os compostos hidróxi-heterocíclicos, dos quais o pirimecarb é o mais usado (KLAASSEN, 2007; SANCHES, 2003).

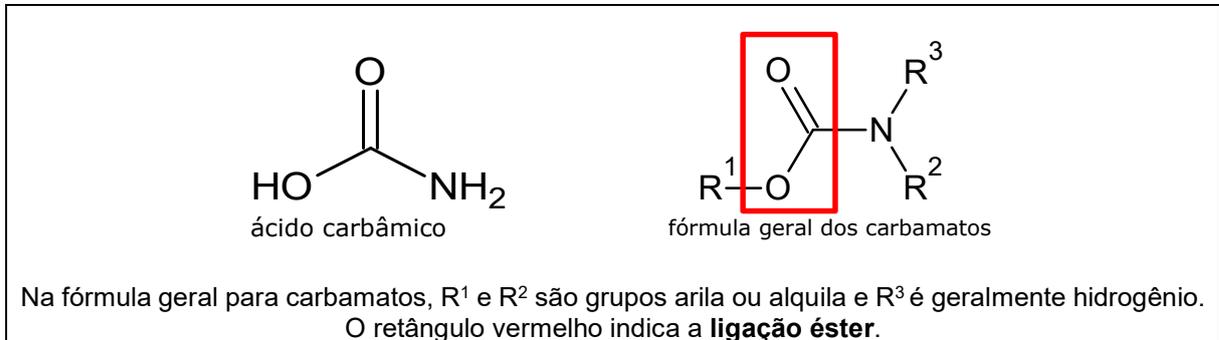


Figura 2.1. Estrutura do ácido carbâmico e estrutura geral dos carbamatos. Adaptado de (IUPAC, 2014).

Os carbamatos apresentam baixa pressão de vapor, mas em condições ambientes, eles evaporam a uma baixa taxa de evaporação, o que pode levar à dispersão dos pesticidas carbamatados presentes na água ou no solo contaminando o entorno. A distribuição através do ar é um problema pequeno quando comparado com a distribuição por vias aquáticas. Para carbamatos muito solúveis em água, o ambiente aquático é uma importante rota de transporte e disseminação. Porém, o meio que o ajuda em sua disseminação é o mesmo que facilita a sua decomposição, pois, em meio aquoso eles podem ser decompostos através da fotodegradação. Os efeitos primários da radiação UV na degradação dos carbamatos mostra-se na clivagem da ligação éster (Figura 2.1), os produtos formados dependem do carbamato em questão. No solo, muitos fatores podem influenciar na biodegradação desses compostos, como por exemplo: volatilidade, o tipo do solo, a humidade do solo, o grau em que o pesticida está adsorvido no solo, temperatura, pH e a fotodegradação. Devido às diferentes propriedades particulares de cada carbamato, eles devem ser estudados separadamente, não podendo ser feita extrapolações de resultados de um carbamato para outro. Assim sendo, os perigos causados pela contaminação desses pesticidas, a longo prazo, por bioacumulação no ambiente, parecem ser pequenos. (GOOSE, 1987; ZACHARIA, 2011).

Os carbamatos apresentam poder inseticida por causarem a inibição da acetilcolinesterase (AChE), uma enzima que catalisa a hidrólise do neurotransmissor acetil-colina restante no espaço sináptico em colina e ácido acético.

Para compreender o mecanismo de toxicidade dos carbamatos, é necessário entender os eventos que ocorrem nas junções neuromusculares. Quando um músculo é inervado, **Fig 2.2**, um impulso nervoso move um neurônio na direção da terminação nervosa, onde a ACh está armazenada em vesículas, quando isso ocorre a ACh é liberada na junção, e dentro de 2 a 3 milissegundos, a ACh atinge os receptores nos músculos. Então, a AChE através de hidrólise converte ACh em colina e ácido acético, causando o decaimento da concentração de ACh e consequentemente a cessação das contrações musculares. Quando a AChE é inibida por carbamatos, a hidrólise de ACh é interrompida, acarretando o aumento da concentração de ACh nas junções neuromusculares, emitindo por tanto, estimulação contínua do músculo, provocando exaustão e espasmos musculares (IPCS & WHO, 1986). Portanto, a inibição da AChE por carbamatos, causa efeitos tóxicos em animais e no ser humano que resultam numa variedade de sintomas de envenenamento, que eventualmente culminam em parada respiratória e morte.

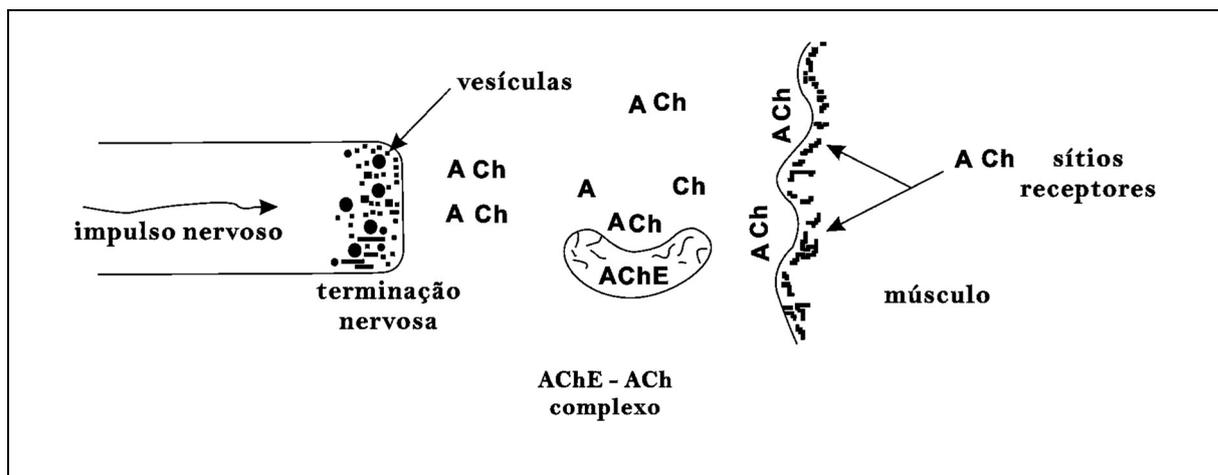


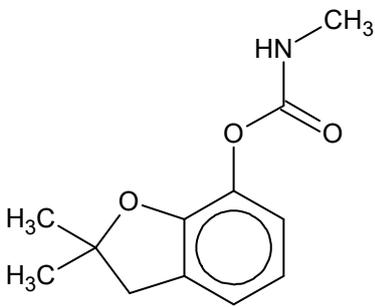
Figura 2.2 Representação dos eventos que ocorrem durante a estimulação das funções neuromusculares. Adaptado de (WHO/FAO, 1984).

Os carbamatos dos grupos das oximas e fenóis, além de inibirem a AChE no sistema nervoso, podem também inibir outras esterases – enzimas pertencentes à classe das hidrolases que catalisam a reação de hidrólises de ligações éster – causando intoxicação em insetos e em mamíferos, sendo que o nível de toxicidade de cada composto é singular e não pode ser estendido para outros carbamatos. Elevada taxa de mortandade de abelhas tem sido registrada mediante uso de pesticidas desses grupos, haja visto que são insetos extremamente sensíveis a estes pesticidas (ZACHARIA, 2011; GOOSE, 1987; ATKINS et al., 1973).

2.2.1 Carbofurano

O carbofurano (**Tabela 2.4**) é um pesticida empregado com ação nematicida e acaricida pertencente ao grupo químico metilcarbamato de benzofuranila. É um sólido cristalino incolor que apresenta baixa solubilidade em água, com ação predominantemente por ingestão, contato direto e também por ação sistêmica. Apresenta também solubilidade em etanol, acetona e acetonitrila, sendo comercializado no Brasil pela FMC Química do Brasil LTDA sob o nome de Furadan® (ANVISA, 2016; IPCS, 2015; TONLIM, 2001; FMC DO BRASIL, 2006). Conforme dados da ANVISA (2016) e FMC CORPORATION (2004), é classificado como muito tóxico ao meio ambiente, principalmente a ambientes aquáticos, cuja aplicação é recomendada em sementes e solos de várias culturas, das quais citam-se: algodão, amendoim, arroz, banana, batata, café, cenoura, tomate, feijão e trigo. Para o tomate, o limite máximo de resíduos é de 0,1 mg kg⁻¹ no solo, e o intervalo de segurança (intervalo de tempo entre a última aplicação e a colheita) é de 90 dias.

Tabela 2.4 - Dados gerais do carbofurano (Adaptado de ANVISA, 2016).

Nome IUPAC: metilcarbamato de 2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofuran-7ila	
Ingrediente ativo: carbofurano	
Fórmula estrutural:	
Fórmula bruta: C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	
Nº CAS: 1563-66-2	
Massa molar: 221,3 g mol ⁻¹	
Solubilidade em água: 351 mg L ⁻¹ (25°C)	
Toxicologia: classe I	
Risco ambiental: classe II	
DL ₅₀ : 5 – 14 mg kg ⁻¹	

A DL₅₀ para camundongos fêmeas e machos em relação a sua massa corporal é de 5 mg kg⁻¹ e de 14 mg kg⁻¹, respectivamente. A ingestão diária aceitável é de 0,002 mg kg⁻¹, para seres humanos. O carbofurano, como qualquer outro carbamato age diretamente na AChE, inibindo-a. (ANVISA, 2016; ELLEMAN, 1979; WHO, 2002).

A DL₅₀ para outros animais podem ser encontradas na **Tabela 2.5**, as doses letais (0,24; 0,147 e 0,0187) muito baixas para organismos aquáticos mostram o quanto esse pesticida é nocivo para peixes, crustáceos e aves aquáticas também.

Tabela 2.5 - Efeito toxicológico do carbofurano para algumas espécies. Adaptado de (SANTOS, 2007).

Escala Zoológica	Organismo Teste	Duração/Tipo de Exposição	Valor
Aves (DL ₅₀ mg kg ⁻¹)	Pato	Agudo	0,24 - 0,51
	Faisão	-	4,51
	Codornizes	-	2,5 - 5,0
Organismos Aquáticos (*CL ₅₀ mg L ⁻¹)	Peixe	96h	0,24 - 0,38
	Peixe: <i>Poecilia reticulada</i>	Agudo (48h)	0,147
	Microcrustáceo: <i>Daphnia magna</i>	Agudo (48h)	0,0187

*CL₅₀ – é a concentração atmosférica de uma substância química que provoca a morte de 50% de um grupo de animais expostos, em um tempo definido.

Apesar do conhecimento dos riscos que esse pesticida pode causar não só à saúde humana, como também às aves e ambientes aquáticos, no Brasil não existe nenhuma lei que regulamenta o limite máximo de resíduos desse pesticida em ambientes aquáticos, com exceção de águas subterrâneas, que é de 7,0 µg L⁻¹. Enquanto isso, no cenário internacional, a OMS estabelece um limite máximo de resíduos igual a 7,0 µg L⁻¹, e os EUA estabelece 40 µg L⁻¹ para padrões de potabilidade de água para abastecimento (BASTOS *et al*, 2004; CONAMA, 2008; WHO, 1998). Mudanças regulamentadoras estão previstas pela ANVISA (2016) no âmbito nacional quanto à comercialização de pesticidas que têm o carbofurano como ingrediente ativo. Espera-se que até o final de 2016, esse produto seja retirado das prateleiras.

O metabolismo do carbofurano (Figura 2.3) vem sendo estudado em ratos, cachorros, peixes e minhocas. Em geral, nesses organismos, o carbofurano sofre reações de hidroxilação e oxidação, produzindo 3-hidroxicarbofurano, 3-hidroxi-7-fenol, 3-cetocarbofurano e 3-ceto-7-fenol, que são os três principais metabólitos da molécula-mãe de carbofurano (METCALF, 1968; ARUN, 2006).

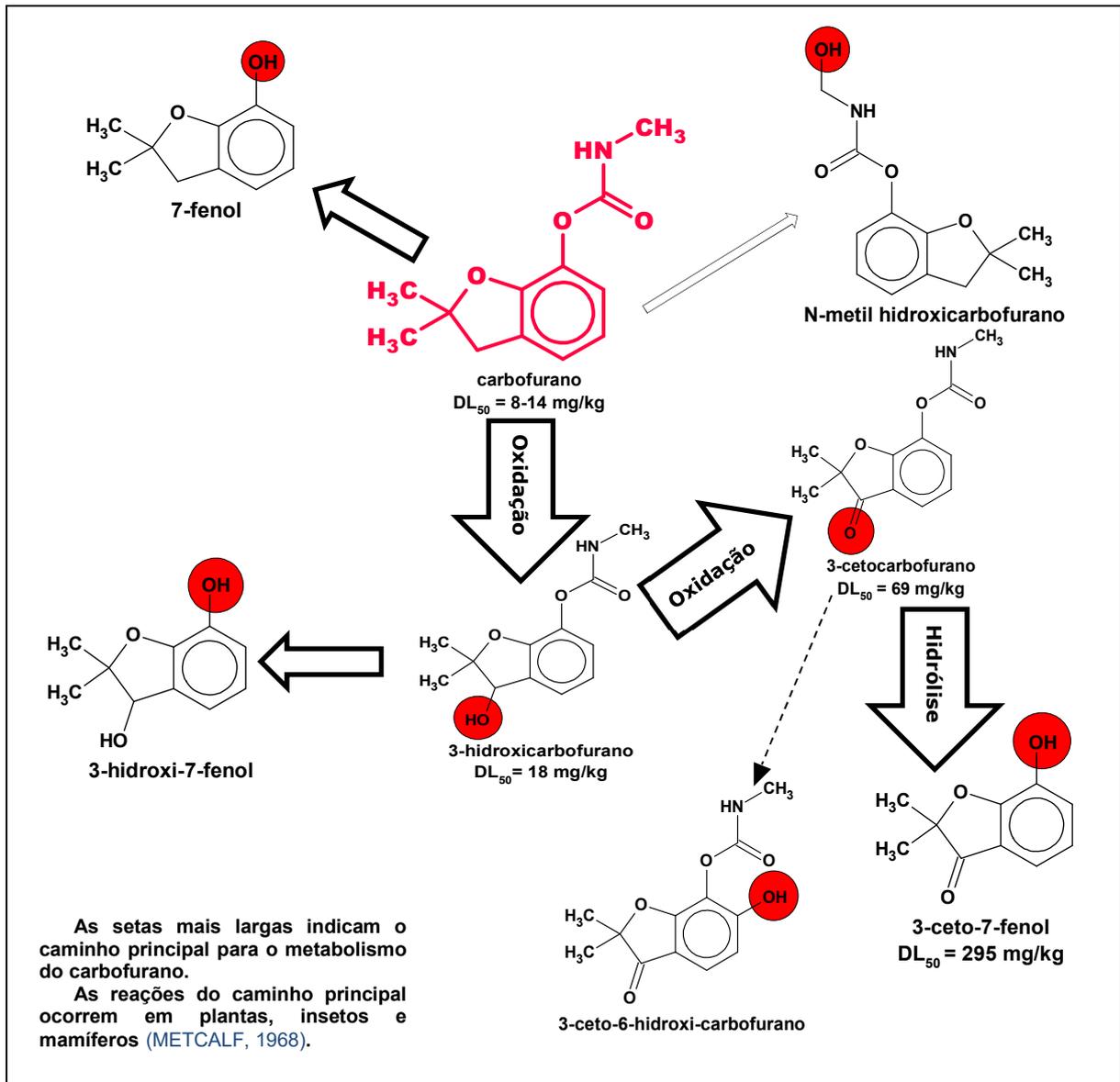


Figura 2.3 - Principais caminhos do metabolismo do carbofurano. Adaptado de (EPA, 1976 e FMC, 1976).

Quanto à persistência no meio ambiente, possui uma taxa moderada de degradação no solo, isto é, um tempo de meia-vida de aproximadamente 50 dias, que depende fortemente das condições locais, tais como: temperatura, umidade e principalmente do pH do solo. Hidrolisa-se rapidamente em solos alcalinos (pH alto) e em solos ácidos (pH baixo) é bastante estável. Espera-se uma mobilidade moderada em solos argilosos e alta mobilidade para solos arenosos, podendo atingir o lençol freático (FMC CORPORATION, 2004; ALMEIDA *et al*, 2001).

A influência de vários parâmetros na degradação do carbofurano em solos foram estudados. A degradação acelerava-se com o aumento do pH do solo, experimentos de laboratório (STANOVICK, 1968; GETZIN, 1973) e testes de campo (CARO *et al*.

1973). Altas temperaturas e humidade do solo também aceleravam a degradação do carbofurano (CARO *et al.* 1973; TALEKAR *et al.*, 1977).

Talekar *et al.* (1997) notou que em solos subtropicais, o carbofurano é mais persistente durante épocas muito secas, invernos e outonos, do que no verão. Estudos em laboratórios, mostraram ainda, que solos encharcados aceleram a degradação do pesticida, apenas 20 a 30% de carbofurano remanesceram após 40 dias de solo encharcado, com exceção em solos relativamente ácidos, pH = 4,2, de onde remanesceram 77% da molécula-mãe (VENKATESWARLU *et al.* 1977).

O carbofurano, aparentemente, sofre degradação em solo numa menor extensão do que em animais e plantas. Alguns pesquisadores (STANOVICK, 1968; CARO *et al.* 1973; GETZIN, 1973) encontraram a molécula-mãe em maior quantidade do que a de produtos em solos estudados. Getzin (1973) estabeleceu que o produto derivado da molécula-mãe em maior quantidade foi o CO₂ mais de 79% do carbofurano presente. O carbofurano fenol (0.8%), o 3-cetocarbofurano (5-10%) e 3-cetocarbofurano fenol, foram os metabólitos detectados (STANOVICK, 1968; GETZIN, 1973; GUPTA & DEWAN, 1975).

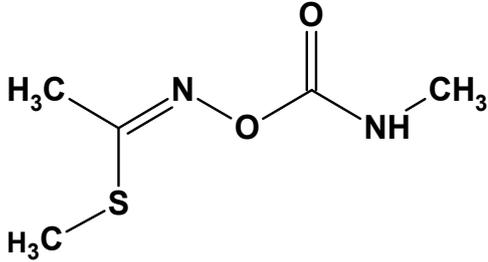
O carbofurano fenol é imediatamente absorvido pelo solo e metabolizado lentamente por microrganismos (STANOVICK, 1968; GETZIN, 1973). O 3-cetocarbofurano é metabolizado no solo a mesma taxa que o carbofurano (CARO *et al.* 1973). Já o 3-hidoxicarbofurano, o principal metabólito em algumas plantas e animais, não foi encontrado de forma alguma (GUPTA & DEWAN, 1975), ou foi recuperado apenas em quantidades traços (CARO *et al.* 1973; TALEKAR *et al.* 1977).

Quanto a decomposição por hidrólise, a reação é altamente dependente do pH do sistema. Em solução tampão sob pH 5,0 e 28°C o carbofurano é estável por 28 dias, sob pH 7,0 e 28° C, após 21 dias, 48,8% de carbofurano permanecem intactos, enquanto que 50% do composto é hidrolisado sob pH 7,0 e 26° C dentro de 46 dias (COOK & ROBINSON, 1972). Em experimentos de campo, foi estudado o comportamento do carbofurano em águas de plantações de arroz, verificou-se que o pesticida se dissipa dentro de 96 horas, porém nenhum nível significativo de 3-cetocarbofurano ou 3-hidoxicarbofurano foi encontrado na água (DEUEL, 1998).

2.2.2 Metomil

O metomil (**Tabela 2.6**) é um pesticida com ação inseticida e acaricida inserido no grupo químico metilcarbamato de oxima. É um sólido cristalino branco que apresenta solubilidade em água (579 mg L^{-1}), com ação por contato direto e também por ação sistêmica; ele também apresenta solubilidade em metanol, tolueno e etanol, comercializado no Brasil pela DuPont™, principalmente, sob nome de Lannate®. (ANVISA, 2016; IPCS, 1996; HARTLEY, 1993). Conforme dados da ANVISA (2016) e DuPont™ (2016), este pesticida é classificado como muito perigoso ao meio ambiente, exclusivamente para abelhas e outros insetos benéficos. Tem aplicação foliar em várias culturas, citando-se: algodão, soja, couve, batata, café, trigo, tomate, feijão e repolho. Para o tomate, o limite máximo de resíduos para o metomil é de 1,0 ppm no solo, e o intervalo de segurança (intervalo de tempo da última aplicação do pesticida e a colheita) são de 3 dias.

Tabela 2.6 - Dados gerais do Metomil (Adaptado de ANVISA, 2016).

Nome IUPAC: S-metil-N-(metilcarbamoiloxi) tioacetimidato	
Ingrediente ativo: Metomil	
Fórmula estrutural:	
Fórmula bruta: $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$	
Nº CAS: 16752-77-5	
Massa molar: $162,2 \text{ g mol}^{-1}$	
Solubilidade em água: 579 mg L^{-1} (25°C)	
Toxicologia: classe I	
Risco ambiental: classe II	
DL ₅₀ : 10 mg kg^{-1}	

A DL₅₀ para camundongos machos e fêmeas é de 10 mg kg^{-1} p.c. Para abelhas está por volta de $0,1 \text{ } \mu\text{g}$ por abelha, corroborando a alta toxicidade que o mesmo apresenta para esses insetos. Devido as aplicações de inseticidas, há muitas recomendações para minimizar a perda de abelhas, podendo ser citada: aplicação do inseticida durante a madrugada, pois nesse período o risco é menor de intoxicação das abelhas. Já para humanos doses menores que 15 mg kg^{-1} podem ser letais e a ingestão diária aceitável é de $0,03 \text{ mg kg}^{-1}$ p.c. (MEAD, 1984; FARRÉ *et al.*, 2002; ATKINS *et al.*, 1976).

O metomil apresenta alto potencial de mobilidade, pois sua sorção em solos é muito baixa, facilitando assim, a contaminação de recursos hídricos subterrâneos e

de superfície. Em soluções aquosas, tem sido relatado que ele se decompõe mais rapidamente sob aeração, porém, mais lentamente à luz solar ou meio alcalino. A sua meia-vida em águas superficiais é estimada por volta de 6 dias, com aeração e luz solar. Já em águas subterrâneas, pode chegar a 50 semanas (FARRÉ *et al.*, 2002; DuPont™, 2016).

Em um estudo apresentado por Harvey (1972), amostras de 1,00 mg L⁻¹ de metomil foram monitoradas em águas fluviais por oito semanas, o composto se degradava com um tempo de meia-vida de aproximadamente uma semana. O S-metil-N-hidoxitioacetimidato (MHTA) foi o primeiro produto detectado, seguido de dióxido de carbono, cujo, ao final de oito semanas representou 65% dos produtos, dentre os produtos ainda pode-se detectar a quantidade de 9% da molécula-mãe.

Sob condições ambiente, a degradação abiótica do metomil por hidrólise ou fotólise é muito lenta, ou até mesmo difícil de detectar, como mostra as comparações dos estudos em laboratório e em campo, a seguir (IPCS & WHO, 1996).

Uma solução à 3% (mv⁻¹) de metomil em água destilada foi armazenada e guardada por 168 dias, 90% do composto foi recolhido ao final do período, e o MHTA foi o único produto detectado (HARVEY, 1967).

A hidrólise do metomil foi estudada em pH 5, 7 e 9, e concentrações de 10 a 100 mg L⁻¹, a 25° C, o composto permaneceu estável por 30 dias em pH 5 e 7, mas se decompôs em pH 9 com uma meia-vida de aproximadamente 30 dias. O produto da hidrólise foi o MHTA (FRIEDMAN, 1983).

Em um estudo realizado por Swanson (1986), o metomil foi aplicado em uma fina camada de solo argiloso e exposto à luz solar por 30 dias temperaturas variando de 24-28° C. O composto se desintegrou com um tempo de vida estimado de 34 dias. O principal produto foi acetonitrila. As amostras mantidas no escuro não sofreram reação.

A fotólise do metomil foi estudada, também, em concentrações iniciais de 10 e 100 mg L⁻¹ a pH 5 sob luz UV. A fotólise ocorreu rapidamente em ambos os casos com um tempo de meia-vida de 2-3 dias para 100 mg L⁻¹. O principal produto dessa reação foi a acetonitrila (Figura 2.4) (HARVEY, 1983).

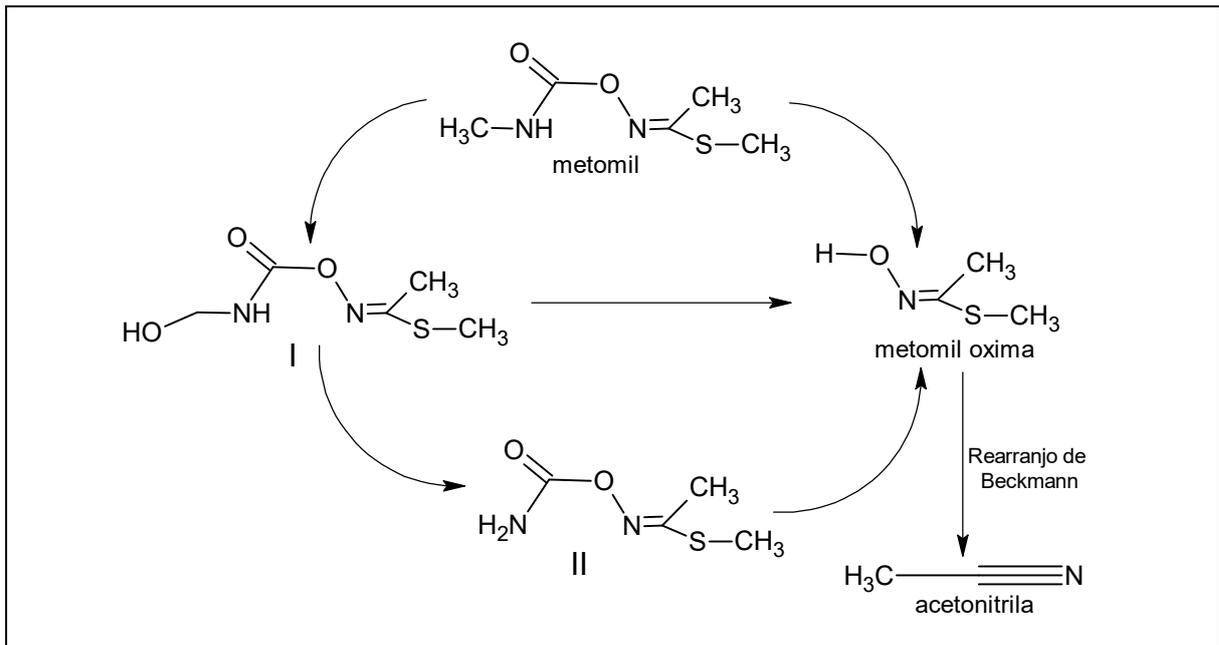


Figura 2.4. Fotodegradação do metomil. Adaptado de (TAMIMI *et al*, 2006).

O produto I da reação de fotólise do metomil provém da hidroxilação do grupo metil ligado diretamente ao átomo de nitrogênio. Quanto ao álcool hidratado formado a partir do metomil será oxidado a um aldeído e um ácido, cujos via a reação foto-Kobe serão descarboxilados dando origem ao produto II. A formação do metomil oxima envolve a ruptura da ligação éster e o mesmo pode ser obtido a partir tanto do metomil quanto dos produtos I e II. O metomil oxima é convertido em acetonitrila através do rearranjo de Beckmann (TAMIMI *et al*, 2006).

Na **Figura 2.5** é mostrado um metabolismo que foi proposto para camundongos quando submetidos a ação do sin-metomil, forma do metomil que é produzida e comercializada. No caminho (I), nota-se o deslocamento do agrupamento S-metil pela glutaciona e transformações enzimáticas, originando derivados do ácido mercaptúrico. O caminho (II), dá-se através de hidrólise originando oxima de metomil que é rapidamente decomposta em dióxido de carbono. O caminho (III) envolve a conversão do isômero-sin do metomil para o seu isômero-anti, nesse caminho é formado a acetonitrila como principal metabólito volátil. Outros estudos mostraram que tal metabolismo também pode ser extrapolado para demais mamíferos (HUHTANEN & DOROUGH, 1976; ANNEX 1, FAO/WHO, 1986; HARVEY, *ET AL.*, 1973).

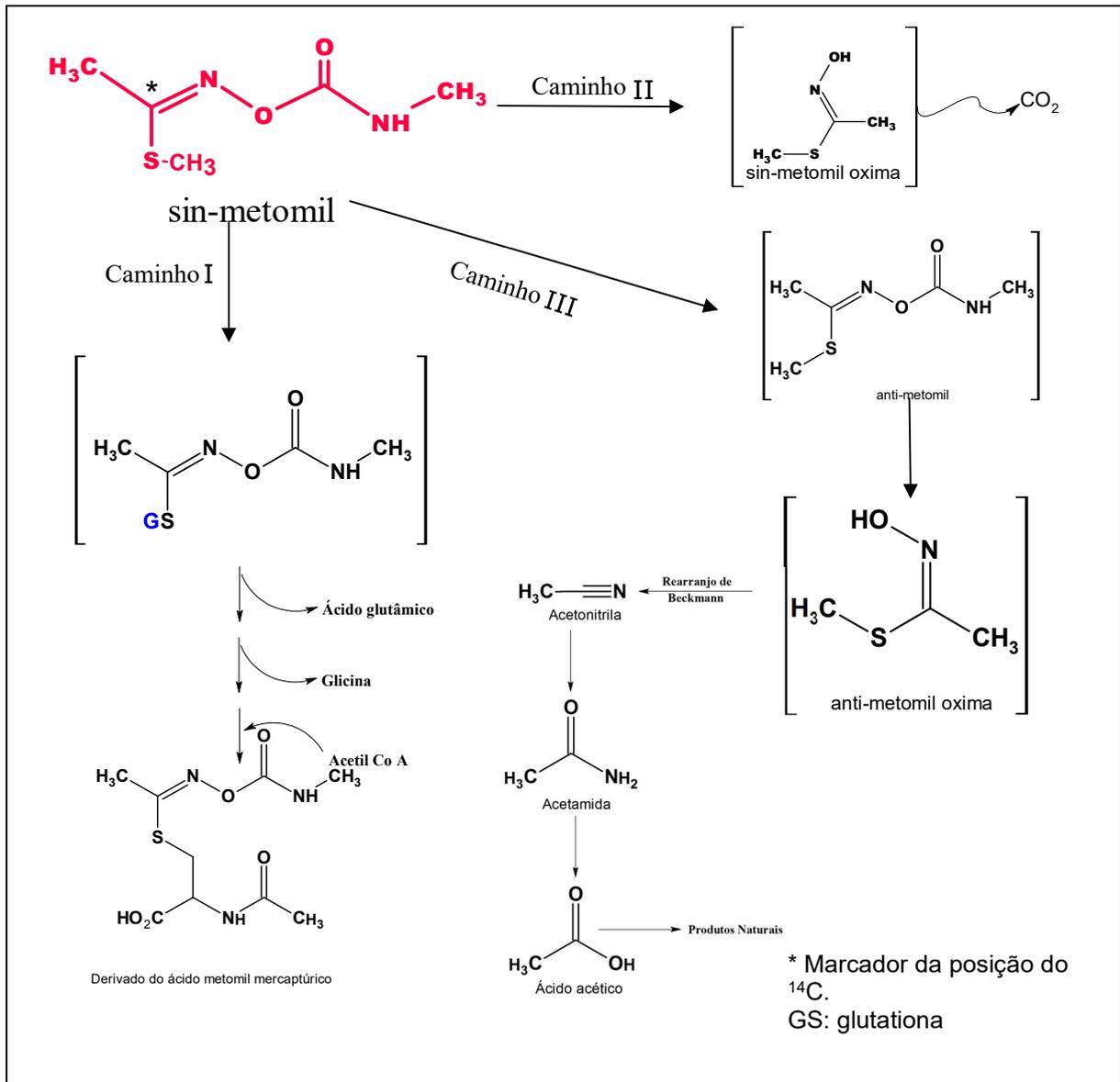


Figura 2.5 - Metabolismo do metomil em mamíferos. Adaptado de (Annex 1, FAO/WHO, 1986).

2.3. Métodos para determinação de carbofurano e metomil

As determinações analíticas individuais e/ou simultâneas de metomil e carbofurano, envolve geralmente técnicas cromatográficas, eletroforéticas, fluorimétricas, espectrofotométricas com fluorescência de raios-X e eletroanalíticas.

Abad et al., (1999) analisaram matrizes de frutas por ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA) e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com intuito de identificar carbofurano e mais dois N-metilcarbamatos. Recuperações na faixa de

60-90% e de 50-90% foram obtidas empregando imunoensaios ELISA e CLAE, respectivamente.

Huertas-Perez *et al.*, (2008) propuseram um método CLAE para determinação simultânea de carbofurano, carbaril e metiocarbe em amostras de água e vegetais, usando detecção quimiluminescente. A separação dos pesticidas foi obtida em aproximadamente 14 minutos, com LD 0,17 mg L⁻¹ e LQ 0,56 mg L⁻¹ para carbofurano.

Santalad *et al.*, (2009) desenvolveram um método empregando extração em ponto nuvem para pré-concentração e extração de resíduos de seis inseticidas carbamatos, dentre eles carbofurano e metomil, em amostras de frutas. Os carbamatos foram separados dentro de 27 minutos, e apresentaram limites de detecção nas amostras na ordem de 0,1 a 1,0 mg kg⁻¹.

Kinoshita *et al.*, (2013) aplicaram a espectrometria de fluorescência de raio-X para identificar intoxicação por metomil, seguida da quantificação por cromatografia gasosa acoplada a um espectrofotômetro de massa, sendo determinada uma concentração de metomil oxima 4,0 mg mL⁻¹ no sangue de um idoso na casa dos 80 anos. Altas concentrações de silício e enxofre foram identificados.

Fan *et al.*, (2009) desenvolveram um método fluorimétrico para a determinação de metomil em amostras de água e solo, apresentando uma faixa linear de 0,04 – 2,2 mg mL⁻¹ com limite de detecção e quantificação respectivamente de 0,011 e 0,037 mg mL⁻¹.

Alternativamente, métodos voltamétricos vêm se destacando para determinação de pesticidas, principalmente por compor um conjunto de benefícios bastante importante para análises laboratoriais, como: baixo custo instrumental, sensibilidade, seletividade, menor consumo de reagentes e menores tempos de análises (RIBEIRO *et al.*, 2011; VIDAL *et al.*, 2008). Esses métodos podem ser tão sensíveis quanto os cromatográficos, ou até mesmo atingir maior sensibilidade, quando associados à materiais que viabilizam tal ocorrência.

Na literatura, não existe registro de estudos que empregam a determinação simultânea de carbofurano e metomil por técnicas eletroanalíticas, mais especificamente as voltamétricas. A voltametria tem sido uma ferramenta muito importante no desenvolvimento de metodologias para determinação de pesticidas, quer sejam de forma individual e também simultânea. Nestas técnicas, a determinação simultânea é favorecida principalmente quando os analitos respondem

em diferentes potenciais de meia onda, isto é, com distância significativa entre os potenciais de pico, potencializando o estudo simultâneo.

As informações analíticas das espécies eletroativas baseiam-se na medida da corrente resultante decorrente de processos redox (oxidação e/ou redução) na superfície de um eletrodo de trabalho, durante a aplicação de uma diferença de potencial na célula eletroquímica (SOUZA, MACHADO e AVACA, 2003; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002). Desde sua invenção em 1922, pelo professor Jaroslav Heyrovsky, a polarografia, que é um tipo particular de voltametria, chegou a ser a primeira técnica a ser utilizada em análise química e, nos anos trinta e no início dos anos quarenta a única técnica automática (SOUZA, MACHADO e AVACA, 2003; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002). O registro da corrente em função do potencial é denominado voltamograma e a magnitude da corrente obtida pela transferência de elétrons durante um processo de oxirredução pode ser relacionada com a quantidade de analito presente na interface do eletrodo, e, conseqüentemente, na cela eletroquímica (SOUZA, MACHADO e AVACA, 2003; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002). Nesse sentido, alguns trabalhos têm sido apresentados na literatura fazendo uso das técnicas voltamétricas para análise da interação e determinação de pesticidas em diferentes superfícies eletródicas, incluindo carbofurano e metomil.

Um método por voltametria de pulso diferencial (VPD) foi proposto por Guiberteau *et al.* (1995) para determinação dos produtos de hidrólise dos pesticidas carbaril e carbofurano em amostras de água, usando um eletrodo de carbono vítreo, obtendo uma faixa linear de $5 \times 10^{-7} - 5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tomašević *et al.*, (2009) investigaram o comportamento eletroquímico do metomil em eletrólito neutro usando um eletrodo de ouro e voltametria cíclica (VC). A resposta voltamétrica foi monitorada na faixa de concentração de 4 a 16 mg L⁻¹.

Wang *et al.* (2010) estudaram a interação de carbofurano com DNA utilizando a técnica VPD tendo como eletrodo de trabalho carbono vítreo, sendo o pico de oxidação do carbofurano identificado em $\approx 0,98 \text{ V}$. Abordagens quimiométricas para avaliar o número de espécies espectrais no processo de ligação droga-DNA foram também empregadas.

Fernandes *et al.*, (2011) determinaram metomil através da inibição da enzima lacase usando um biossensor de cerâmica de carbono e voltametria de onda

quadrada (VOQ), apresentando resultados comparáveis aos obtidos com a CLAE a 95% de confiança.

2.4 Eletrodo de diamante dopado com boro

A condutividade elétrica é um fator importante para as técnicas eletroanalíticas, especialmente, no que se refere a escolha do material de eletrodo. Os eletrodos de trabalho à base de carbono, como os de carbono vítreo, por exemplo, apresentam diversas vantagens tais como: ampla janela de potencial, baixas correntes de fundo e inércia química, quando comparados aos eletrodos de metais nobres, como o ouro e a platina. Entretanto, a literatura reporta, como uma boa alternativa a esses eletrodos, o uso de diamante como superfície eletródica, após dopagem com algum material condutor, uma vez que o diamante puro possui características isolantes (BARROS *et al.*, 2005). O eletrodo de DDB tem sido bastante empregado nas últimas décadas para eletroanálise por apresentar características que os distingue dos demais eletrodos, com uma ampla janela de potencial em soluções aquosas (até +3 V), baixas correntes de fundo, baixos efeitos de adsorção de moléculas orgânicas e baixa sensibilidade ao oxigênio dissolvido (SALAZAR-BANDA, *et al.*, 2006; SALAZAR-BANDA, *et al.*, 2010).

A condutividade superficial do eletrodo de EDDB é influenciada por polarizações anódicas e/ou catódicas, e tal efeito tem se mostrado sensível à presença de compostos inorgânicos (peróxido de hidrogênio, nitratos, nitritos, oxigênio dissolvido e os íons metálicos Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+}) e orgânicos (adenosina, ácido ascórbico, cafeína, aminoácidos, ácidos nucleicos, antibióticos e pesticidas carbamatos) em diferentes matrizes com concentrações em níveis traço para análise individual e simultânea (ANDRADE *et al.*, 2011; KRAFT, 2007; OLIVEIRA e OLIVEIRA-BRETT, 2010; SALAZAR-BANDA, *et al.*, 2006).

A superfície dos filmes de EDDB recém preparados apresentam terminação em hidrogênio, porém, a superfície pode ser facilmente modificada utilizando-se adequadas polarizações anódicas, nas quais os átomos de hidrogênio são convertidos em grupos funcionais oxigenados (carboxilas, carbonilas e hidroxilas) e ainda podem ser novamente re-hidrogenados utilizando-se polarizações catódicas (GOETING *et al.*, 2000 e GIRARD *et al.*, 2007). Como demonstrado por diversos autores, o comportamento eletroquímico do eletrodo de EDDB é extremamente dependente

destas terminações superficiais do eletrodo. Desta maneira, as superfícies dos filmes de EDDB com terminações hidrogenadas ou com grupos oxigenados podem tanto facilitar ou inibir diferentes tipos de reações químicas sobre a sua superfície (MEDEIROS *et al.*, 2012; MEDEIROS *et al.*, 2010; TERASHIMA *et al.*, 2003; SUFFREDINI *et al.*, 2004; OLIVEIRA e OLIVEIRA-BRETT, 2010).

O uso do sistema $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ como sonda eletroquímica para avaliar o comportamento do par redox $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ em função da polarização do EDDB, tem demonstrado maior condutividade do eletrodo, decorrente do aumento da velocidade de transferência de carga, quando este é submetido a polarizações catódicas. Tal efeito promove mudanças significativas a cinética de reação do par redox frente a este tratamento, quando comparado ao tratamento anódico (OLIVEIRA e OLIVEIRA-BRETT, 2010; SALAZAR-BANDA *et al.* 2006). Além disso, Salazar-Banda *et al.* (2010) ressaltam os efeitos negativos causados a superfície do EDDB quando submetido a exaustivos tempos (30 min) de polarização, a exemplo da degradação física da superfície do EDDB, que contribui significativamente para o fenômeno de erosão cavitativa (remoção de material causada por cavitação), prejudicando o efeito condutor do eletrodo. Os autores reportam que efeitos positivos têm sido alcançados ao realizar polarizações anódicas (+3V por 60 s) e catódicas (-3V por 120 s) em $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 , respectivamente. Resultados semelhantes também foram obtidos para polarizações anódicas (+3V por 5 s) e catódicas (-3V por 15 s), respectivamente.

Diante do exposto, alguns trabalhos utilizando o eletrodo de diamante dopado com boro são citados a seguir:

Andrade *et al.* (2009) utilizaram detecção amperométrica empregando EDDB para a determinação simultânea de sulfamethoxazole (SMX) e trimethoprim (TMP) em leite bovino. Obtendo valores de LD para SMX e TMP de $25,0$ e $15,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

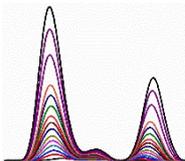
Medeiros *et al.* (2010) desenvolveram um método para determinação simultânea de hidroxianisol butilado e hidroxitolueno butilado em margarina e maionese, por voltametria de onda quadrada usando EDDB polarizado catodicamente. O método atingiu limites de LD $0,14$ e $0,25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Costa (2013) desenvolveu metodologias voltamétricas utilizando EDDB para determinação de metomil em amostras comerciais e água. Utilizando voltametria de onda quadrada (VOQ), obteve-se uma faixa linear $6,6 \times 10^{-5}$ a $4,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com

LD e LQ de $1,9 \times 10^{-5}$ e $6,3 \times 10^{-5}$, respectivamente. E por voltametria de pulso diferencial (VPD) obteve faixa de linearidade $5,0 \times 10^{-6}$ até $4,1 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com LD e LQ de $1,2 \times 10^{-6}$ e $4,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente.

Santos *et al.* (2013) desenvolveram um método para determinação simultânea de hidroclorotiazida e losartan em formulações farmacêuticas usando VPD com EDDB, apresentando separação de picos de 0,23 V. Para ambos os compostos valores de LD $1,2 \times 10^{-6}$ e $9,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ foram obtidos, respectivamente.

Svorc e Kalcher (2014) desenvolveram um método por voltametria de pulso diferencial utilizando EDDB para determinação das bases guanina e adenina em amostras de urina humana enriquecida. Apresentando LD para guanina e adenina de 158 e 67 µM, respectivamente.



EXPERIMENTAL

3. EXPERIMENTAL

3.1. Instrumentação utilizada, montagem do eletrodo

Todas as medições voltamétricas foram executadas em um potenciostato/galvanostato Eco Chemie, μ Autolab® Type II, funcionando no modo potenciostato, acoplado a um módulo polarográfico Metrohm, 663 VA Stand®.

O módulo polarográfico era composto por uma célula eletroquímica com capacidade volumétrica de 3 mL, contendo três eletrodos: eletrodo de referência Ag/AgCl – KCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$), um fio de platina como contra eletrodo e um eletrodo de DDB, como eletrodo de trabalho.

O filme de DDB (8.000 ppm), com área geométrica $0,36 \text{ cm}^2$ foi adquirido do Centro Suíço de Eletrônica e Microtécnica (CSEM), Neuchâtel, Suíça. Foi sintetizado sobre um substrato de silício pela técnica por filamento quente, HF-CVD (*Hot Filament Chemical Vapor Deposition*), sob altas temperaturas entre 2.440 e $2.560 \text{ }^\circ\text{C}$, cuja fase gasosa consistia em metano, com excesso de hidrogênio e trimetilboro como gás de dopagem.

A montagem do eletrodo foi realizada no Laboratório de Eletroquímica e Nanotecnologia da Universidade Tiradentes, cedido ao Laboratório de Automação e Instrumentação em Química Analítica e Quimiometria pelo Prof. Dr. Giancarlo Richard Salazar Banda. Na montagem o contato elétrico foi formado entre o filme de DDB e uma placa de cobre usando liga estanho/chumbo (soldagem), e o filme isolado com resina epóxi Araldite® **Figura 3.1**.



Figura 3.1 - Eletrodo de DDB: (1) placa de cobre; (2) isolamento do contato elétrico com resina epóxi Araldite®; (3) contato elétrico (liga estanho/chumbo) e (4) filme de DDB.

3.2. Soluções e reagentes

Soluções estoque de metomil e carbofurano foram preparadas em uma concentração $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A solução mista dos inseticidas foi preparada

utilizando-se um volume de 2,5 mL de carbofurano e 2,5 mL de metomil das soluções estoque, obtendo-se uma concentração de $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Uma solução $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 foi empregada na etapa de polarização do eletrodo de EDDB, e uma solução diluída desse ácido, de concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH (1,0), foi utilizada como eletrólito suporte pH (1,0). Solução tampão Britton-Robinson (BR) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparada de acordo com os procedimentos descritos por [Ensafi, Khayamian e Khaloo \(2004\)](#): mistura de 2,3 mL de ácido acético glacial, 2,7 mL de ácido fosfórico e 5g de ácido bórico diluídas para 1L de solução, foi utilizada também como eletrólito suporte. O pH da solução foi ajustado para uma faixa de valores de 2,0 a 12,0 com adições de uma solução de $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

A homogeneização das soluções de carbofurano foi realizada em um banho-ultrassom USC 1400 da Ultrasonic Cleaner, para as demais soluções não houve necessidade da utilização do equipamento, sendo a homogeneização efetuada manualmente. O pH das soluções foi medido em um pHmetro 713 da Metrohm.

Os reagentes empregados neste trabalho são de grau analítico, adquiridos da Sigma-Aldrich, e, no preparo de todas as soluções e suas diluições, utilizou-se água ultrapura em sistema Milli-Q Plus $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. As medições voltamétricas foram realizadas à temperatura ambiente.

3.3. Limpeza e ativação do eletrodo

Diariamente, antes das medidas, o eletrodo de EDDB foi lavado com várias sequências de jatos de água ultrapura, jorrados principalmente no filme de EDDB e, em seguida sempre submetido a dois procedimentos eletroquímicos em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$: uma polarização anódica para limpar a superfície do EDDB (aplicação de um potencial de +3,0 V por 5 s) seguida de uma polarização catódica para ativar a sua superfície (aplicação de um potencial de -3,0 V por 10 s). Após iniciar os procedimentos voltamétricos, sempre que necessários, os tratamentos foram usados para o EDDB, aplicando-se para isto os mesmos potenciais e os tempos de 5 e 10 s para os tratamentos anódicos e catódicos, respectivamente. Os pré-tratamentos foram realizados em células diferentes da célula de medida com o analito sob investigação, usando as etapas de pré-tratamento disponível na janela de execução das técnicas VOQ e VPD, estando a célula condicionada sem agitação

durante a polarização, com interrupção da varredura de potencial antes que o voltamograma fosse registrado (SALAZAR-BANDA *et al.*, 2010).

3.4. Procedimentos experimentais e parâmetros voltamétricos

O perfil voltamétrico e a reversibilidade do processo eletroquímico de carbofurano e metomil em EDDB foram estudados utilizando VOQ e VC. Inicialmente foram realizados testes para analisar o melhor tratamento para o eletrodo, sendo submetido ao pré-tratamento anódico (+3V por 5s) e realizado varreduras dos inseticidas apenas com esse tratamento, e testes com pré-tratamento anódico (+3V por 5s) seguido de pré-tratamento catódico (-3V por 10 s) em uma solução 0,5 mol L⁻¹ de ácido sulfúrico, sendo as medidas dos analitos (1 x 10⁻³ mol L⁻¹) realizadas em 3 mL do eletrólito suporte 0,1 mol L⁻¹ de H₂SO₄ pH (1,0) e o registro dos voltamogramas por VOQ.

Os parâmetros iniciais para as diferentes técnicas voltamétricas estão descritos abaixo:

 **VOQ:** frequência de pulso (f) de 25 s⁻¹, incremento de potencial (ΔE_s) de 2 mV, amplitude de pulso (ΔE_p) de 50 mV.

 **VPD:** intervalo de tempo (IT) de 0,2 s, ΔE_s de 4 mV e ΔE_p de 50 mV.

Para otimização e aplicação das metodologias analíticas propostas para análise do carbofurano e do metomil (de forma individual e/ou simultânea), etapas de triagem dos parâmetros instrumentais que possivelmente influenciam a intensidade da resposta analítica foram realizadas por VOQ e VPD. Este estudo é de fundamental importância para estabelecer as melhores condições experimentais e os melhores parâmetros voltamétricos, a fim de corroborar com a maximização da resposta voltamétrica para a determinação eletroanalítica dos inseticidas. A otimização dos parâmetros foi realizada de forma univariada para soluções dos inseticidas na concentração de 3,22 x 10⁻⁵ mol L⁻¹.

As faixas estudadas estão dispostas na [Tabela 3.1](#), onde TM é o tempo de modulação e IT o intervalo de tempo.

Tabela 3.1 – Parâmetros eletroquímicos estudados por VOQ e VPD.

Parâmetros	Faixa estudada VPD	Faixa estudada VOQ
TM (s)	0,07	-----
IT, t (s)	0,2 - 0,6	-----
ΔE_s , (mV)	1 – 7	1-10
ΔE_p , (mV)	10 -100	10 -100
<i>F</i>	-----	10 – 150
Tempo de deposição ^a , s	0 – 60	0 – 60

^aCircuito aberto

3.4.1 Voltametria Cíclica

A VC foi utilizada para investigar a reversibilidade e a natureza do processo eletroquímico do carbofurano e metomil contra o EDDB. Os voltamogramas de VC para reversibilidade, foram registrados em janela de potencial 0 até +2,0 V vs $E_{Ag/AgCl}$ a uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} , para o branco, com adição subsequente de metomil e carbofurano em uma concentração na célula de $1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, como eletrólito suporte. Voltamogramas sucessivos, para uma faixa de velocidade de varredura de potencial de 10 a 500 mV s^{-1} , foram registrados para uma solução mistura na concentração $1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, com o intuito de averiguar através de estudos de velocidades o processo de transferência de massa.

3.5 Curvas analíticas

Curvas analíticas individuais foram realizadas para investigar a resposta eletroquímica do carbofurano e metomil um na presença do outro. Para curva de carbofurano foi adicionado um volume fixo de metomil de 0,004 mL, aumentando o volume e conseqüentemente a concentração de carbofurano. Para curva de metomil o mesmo processo foi adotado, no entanto, o volume fixo de carbofurano adicionado foi menor em relação ao metomil na curva de carbofurano, sendo de 0,003 mL.

Após os testes individuais, as curvas simultâneas foram levantadas, utilizando-se uma solução mistura. Em todas as curvas, as soluções misturas ou individuais, encontravam-se numa concentração de $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ adicionadas em uma célula eletrolítica com 3 mL de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Todas as curvas foram obtidas pela adição de alíquotas das soluções padrões na célula, após cada adição, os voltamogramas foram registrados.

3.6 Variáveis de desempenho analítico

A eficiência das metodologias analíticas foi estimada pelas variáveis de desempenho analítico: sensibilidade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e precisão (repetibilidade e reprodutibilidade), demonstrando a adequação do método ao seu propósito (BRITO *et al.*, 2003).

A sensibilidade do método foi investigada pelo cálculo das variáveis LD e LQ, conforme as **Equações 3.1 e 3.2**:

$$LD = 3S_b/b \quad (3.1)$$

$$LQ = 10S_b/b \quad (3.2)$$

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

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

$$\%DPR = (S / \bar{x}) \times 100\% \quad (2.3)$$

Onde:

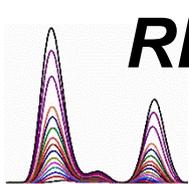
S = desvio padrão do conjunto de medidas

\bar{x} = média do conjunto de medidas

O desvio padrão relativo foi estimado a partir de 20 medidas sucessivas, realizadas exatamente do mesmo modo para o teste de repetibilidade e 10 medidas realizadas em dias diferentes e com soluções diferentes para reprodutibilidade. Para os dois testes foi utilizada uma solução mista $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em 3mL de eletrólito suporte.

3.7 Pré-processamento dos voltamogramas

Os voltamogramas foram suavizados através da função *Savitsky-Golay smooth* nível 4 ou 3, dependendo do nível de ruído do sinal analítico, tendo como finalidade a eliminação do ruído de fundo sobreposto ao sinal voltamétrico. Posteriormente, houve a correção da linha de base através da função *moving average* com um *step window* de 3 mV, ambas disponíveis no *software* GPES versão 4.9. Com esse tratamento matemático realizado nos voltamogramas, a visualização e identificação dos picos da oxidação do metomil e carbofurano em relação à linha de base foi melhorada. Contudo, a corrente de pico em alguns casos sofre redução (10%) em relação aos dados voltamétricos não tratados. Também foi utilizado o *software* *Origin*[®] 5.0 para plotar as figuras dos voltamogramas e das curvas apresentadas no texto.



RESULTADOS E DISCUSSÕES



4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Comportamento eletroquímico do carbofurano e metomil

Será apresentado inicialmente um estudo do efeito da polarização sobre a superfície do eletrodo, e em seguida, serão analisadas as repostas eletroquímicas do carbofurano e metomil, com análises individuais, visando conhecer principalmente a resposta eletroquímica do carbofurano sobre a superfície de EDDB, uma vez, que não constam trabalhos na literatura.

4.1.1. Eletroatividade e efeito da polarização do eletrodo de DDB

Para análise de carbofurano, **Figura 4.1 A**, dois picos de oxidação foram identificados em $E_{p1} \approx +1,3$ V e $E_{p2} \approx +1,60$ V (janela de potencial: 0,5 - 1,75 V vs $E_{Ag/AgCl}$), sendo o primeiro processo correspondente à oxidação do carbofurano ($E_{p1,car}$) e o segundo do eletrólito suporte. Considerando apenas o processo $P_{1,car}$, observa-se que não houve diferença expressiva na intensidade do sinal ao empregar-se os tratamentos anódico e catódico. Observa-se, também, um pequeno desvio da posição do pico para valores de potenciais menos positivos com o tratamento anódico, tornando a determinação mais seletiva.

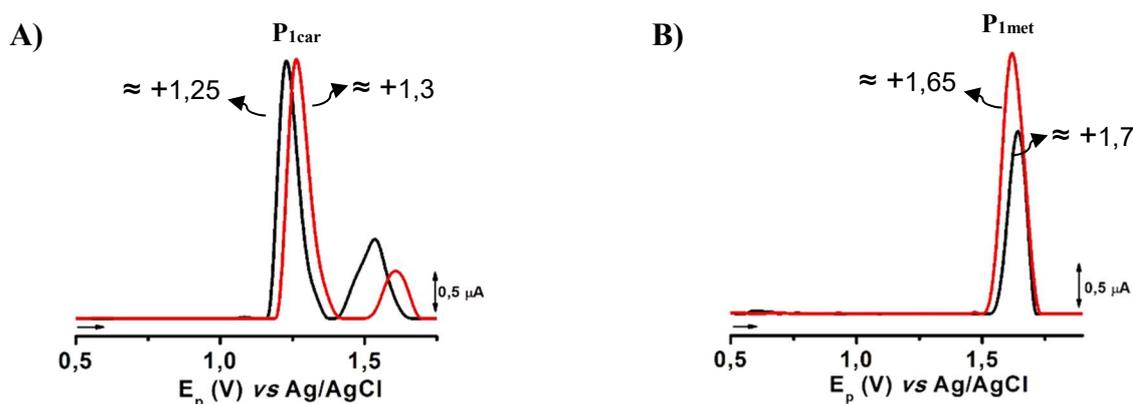


Figura 4.1. Voltamogramas de onda quadrada registrados individualmente em H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH 1,0) sobre eletrodo DDB (—) anodicamente e (—) catodicamente polarizado para uma solução $3,22 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} de: **A)** carbofurano e **B)** metomil. f de $25 s^{-1}$, ΔE_s de 2 mV e ΔE_p de 50 mV.

Na **Figura 4.1 B**, observa-se a resposta de oxidação eletroquímica do metomil ($3,22 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}) em $E_{p1,met} \approx +1,65$ V (janela de potencial: 0,5 - 1,95 V vs $E_{Ag/AgCl}$),

cujo efeito positivo da polarização catódica foi comprovado frente à anódica. Além disso, foi também observado um leve deslocamento desse pico para valores menos positivos de potencial, tornando o eletrodo mais seletivo e sensível (maior intensidade de pico) para determinação de metomil. Este processo foi também observado por [Costa \(2013\)](#), que, em seu estudo, reporta a ocorrência de três processos de oxidação ($E_{p1} \approx +1,2$ V; $E_{p2} \approx +1,6$ V e $E_{p3} \approx +1,8$ V) para uma solução $2,3 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de metomil usando VOQ e tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 2,0). A divergência entre o número de processos observados por [Costa \(2013\)](#) e o presente trabalho pode estar associada à concentração de metomil usada no estudo e o meio eletrolítico.

Como foi possível observar na [Figura 4.1](#), a polarização aplicada influencia consideravelmente na resposta eletroquímica. Assim, para estudos posteriores, serão empregados tratamentos anódicos (renovação superficial do DDB) seguidos de catódicos (ativação do DDB). Os resultados obtidos evidenciaram picos de oxidação bem definidos para carbofurano ([Figura 4.1A](#)) e metomil ([Figura 4.1B](#)), com uma distância de aproximadamente 0,397 V, tornando a determinação simultânea de ambos os pesticidas carbamatos possível. Investigações realizadas por [Suffredini et al. \(2004\)](#), demonstram que o tipo de polarização é crucial para ampliar ou diminuir a magnitude da resposta eletroquímica. Com base em estudos de impedância, foi observado que a melhora no sinal analítico destaca-se mais efetivamente em tratamento catódico quando comparado ao tratamento anódico. Tal diferença pode estar associada à adsorção de radicais hidroxilas durante a polarização, logo a superfície não se encontra completamente inerte.

4.1.2. Influência do pH do eletrólito suporte

A influência do pH frente a resposta eletroanalítica de carbofurano e metomil ($3,22 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) foi investigada numa faixa de 2,0 a 12,0. Os voltamogramas de onda quadrada foram registrados individualmente em uma janela de potencial de 0 V a + 2,2 V vs. $E_{Ag/AgCl}$ em solução tampão BR 0,1 mol L⁻¹, exceto o pH 1,0 (0,1 mol L⁻¹ de H₂SO₄), [Figuras 4.2 A e B](#). A princípio, dois processos de oxidação foram identificados para o carbofurano ([Figura 4.2 A](#)) e apenas um para o metomil ([Figura 4.2 B](#)). O segundo pico observado na determinação de carbofurano ([Figura 4.2 A](#)) confunde-se com o sinal do eletrólito suporte, e, neste nível de concentração de

carbofurano o eletrodo não tem sensibilidade para distinguir entre o sinal do branco ou um segundo processo de oxidação do carbofurano.

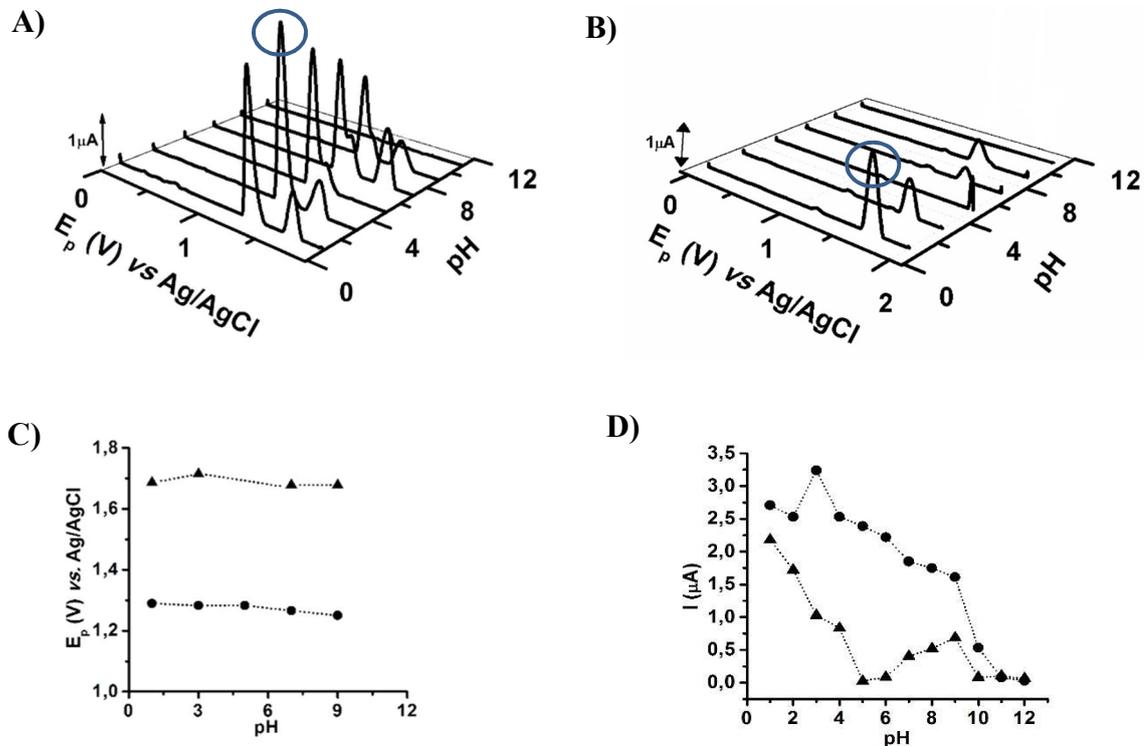


Figura 4.2. Voltamogramas de onda quadrada obtidos em $3,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para carbofurano e metomil em diferentes pH. **A)** Gráfico 3D para o marbofurano. **B)** Gráfico 3D para o metomil. **C)** Relação do E_p com o pH. **D)** Relação da I_p com o pH. (●) $P_{1,\text{car}}$ e (▲) $P_{1,\text{met}}$.

Ao analisar a **Figura 4.2 C**, percebe-se que os potenciais de pico correspondentes ao primeiro processo de oxidação, tanto para carbofurano como para metomil, não exibem dependência significativa com a variação de pH, indicando a ausência de prótons nos processos de oxidação. Sendo assim, os mecanismos das reações são governados unicamente pela transferência de elétrons (NI et al., 2001). Na **Figura 4.2 D** está mostrada a influência da corrente de pico em função do aumento do pH do meio eletrolítico. Para o carbofurano, observa-se um ligeiro aumento da corrente de pico oxidação para os valores de pH entre 1,0 e 3,0, que diminui gradualmente até pH 9,0. Para o metomil, observa-se que a corrente de pico diminui significativamente para valores de pH iguais a 1,0; 3,0 e 7,0, a partir do qual a corrente de pico de oxidação aumenta levemente até pH 9,0.

Além disso, ficou claro a significativa afinidade do eletrodo de DDB para promover a oxidação dos inseticidas em meio ácido. Assim, um máximo de corrente de pico foi observada em pH 3,0 para carbofurano e em pH 1,0 para metomil. Em pH

3,0, a magnitude de resposta para metomil é significativamente menor do que em pH 1,0, o que justifica a escolha desse pH para os estudos quantitativos.

4.2 Reversibilidade e estudo de velocidade

A alta sensibilidade das técnicas de VOQ frente as técnicas de VC é bastante discutida na literatura (BARD e FAULKNER, 2001; BRETT e BRETT, 1996). Visto que a concentração empregada nos estudos de VOQ dificultou a visualização dos processos em VC, uma concentração maior foi utilizada em relação à usada em VOQ. Neste nível de concentração, foi visualizado um pico de oxidação em $\approx +1,3$ V (Figura 4.3A) correspondente ao carbofurano e um processo de oxidação para a determinação de metomil em $\approx +1,65$ V (Figura 4.3B). Invertendo a varredura de potencial para potenciais catódicos, não foi observado sinal analítico correspondente à redução de carbofurano e nem para o metomil. Tais resultados sugerem que a oxidação de ambos, envolve processos irreversíveis de transferência eletrônica.

Voltamogramas de ciclos sucessivos obtidos na mesma solução, sem a limpeza da superfície do eletrodo, foram registrados visando obter informações de possíveis produtos de oxidação, além de ser um diagnóstico inicial sobre a natureza adsortiva e/ou difusional do processo redox, não sendo observado nenhum produto de oxidação eletroativo.

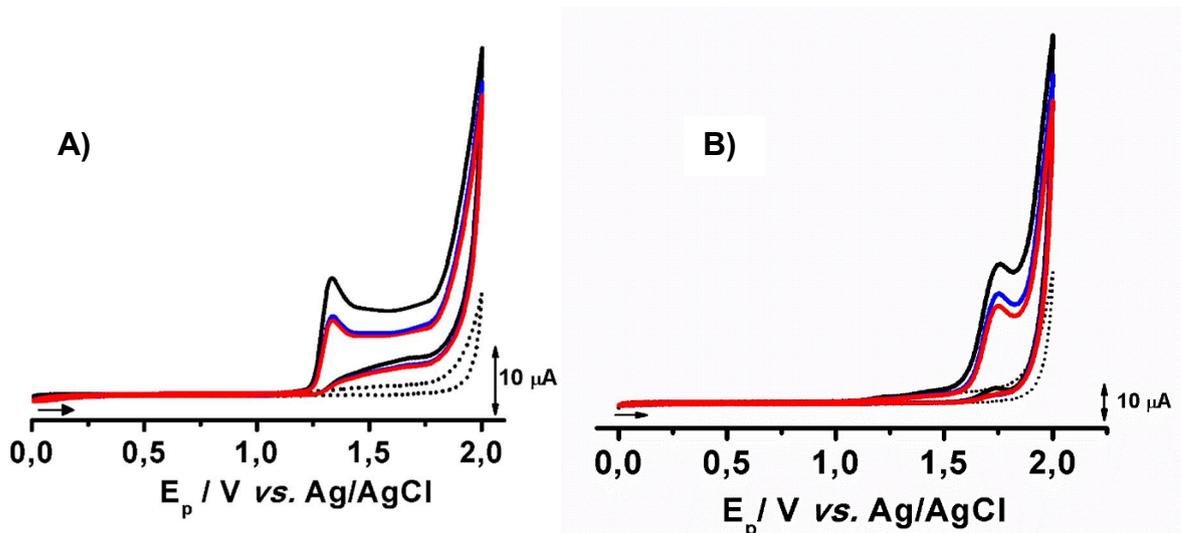


Figura 4.3. Voltamogramas cíclicos de soluções individuais de carbofurano e metomil $1,66 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} em H_2SO_4 (pH 1,0): (...) apenas na solução do eletrólito de suporte; (—) 1^a, (—) 2^a e (—) 3^a varreduras sobre EDDB catodicamente polarizado. (A) Carbofurano e (B) Metomil. $v = 50$ $mV s^{-1}$.

Para comprovar a indicação de possíveis processos irreversíveis para os compostos, foram também realizados estudos de reversibilidade por VOQ, uma vez, que a mesma possibilita determinar se a reação possui transferência de carga reversível ou não, sendo ela em relação a VC, uma técnica mais sensível para fins quantitativos e a VC qualitativos. Nas respostas analíticas obtidas por VOQ, o pulso de potencial aplicado no sentido direto produz uma corrente anódica (oxidação), enquanto que o pulso no sentido inverso produz corrente catódica (redução). Desse modo, ambas as correntes se somam, no caso de processos reversíveis ou quase-reversíveis, obtendo um voltamograma resultante, elevando a sensibilidade da técnica.

Na **Figura 4.4A** carbofurano e **Figura 4.4B** metomil, são mostradas as componentes obtidas para voltamogramas resultantes registrados para soluções individuais $3,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de carbofurano e metomil em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 1,0. A ausência de pico reverso para ambos os inseticidas, confirmam a irreversibilidade de ambos os processos de oxidação, prevista anteriormente por voltametria cíclica.

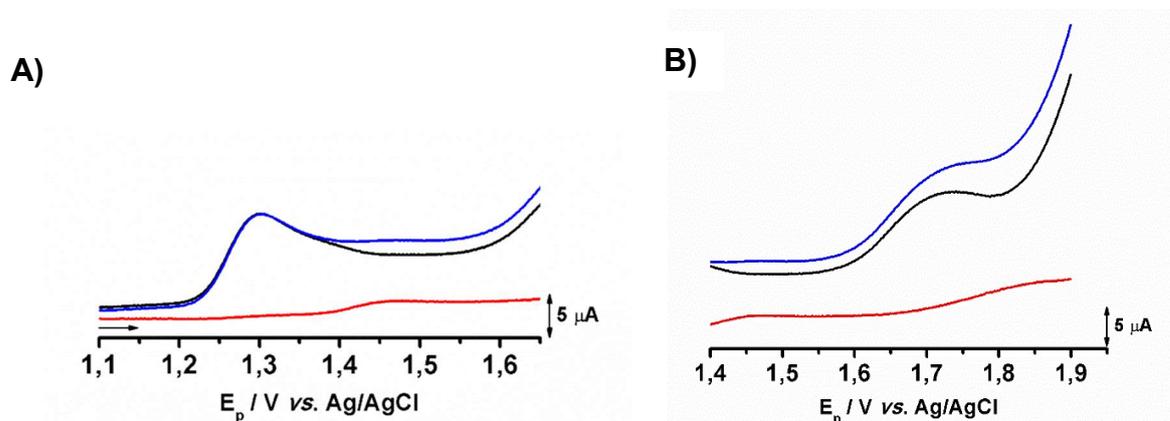


Figura 4.4. Voltamograma de onda quadrada sobre DDB polarizado catodicamente para soluções individuais $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de metomil e carbofurano em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0). **(A)** Carbofurano e **(B)** Metomil. Correntes: I_R (resultante —); I_d (direta —) e I_r (reversa —). $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$.

O uso da VC para estudar o efeito da velocidade de varredura sobre a resposta eletroquímica de uma substância, possibilita avaliar o grau de reversibilidade e a natureza do transporte do material eletroativo (BRETT e BRETT, 1996). O aumento da velocidade de varredura resultou em pequenos deslocamentos no potencial de pico $P_{1,\text{car}}$ e $P_{1,\text{met}}$ **Figura 4.5** para valores mais positivos, o que também coincide com um mecanismo de reação irreversível (BRETT e BRETT, 1996).

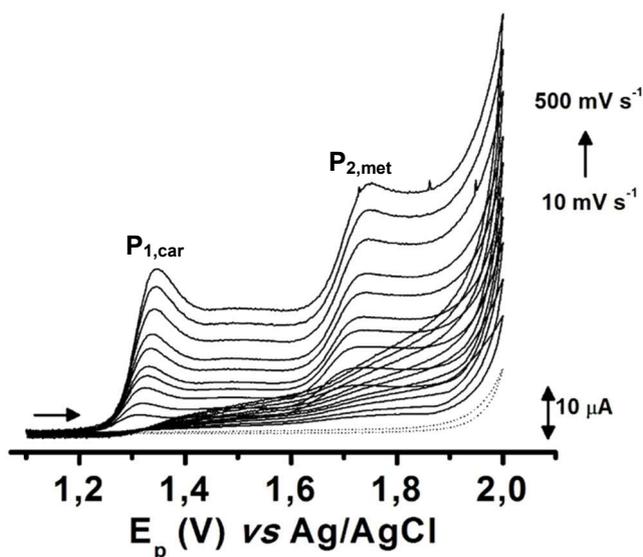


Figura 4.5. Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura de uma mistura de solução de carbofurano e metomil de $1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=1$) sobre DDB: na (---) ausência e (—) na presença dos pesticidas.

As **Figuras 4.6 A e B** mostram que o gráfico da I_p vs v descreve uma relação não linear sugerindo que o processo de oxidação em P_1 e P_2 é governado por difusão, sendo este diagnóstico corroborado pela relação linear estabelecida entre I_p e a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), apresentando equação: $I_{P1} \text{ (A)} = -1,57 \times 10^{-6} + 3 \times 10^{-5} v^{1/2} \text{ (V s}^{-1})^{1/2}$ para carbofurano e $I_{P1} \text{ (A)} = 1,21 \times 10^{-6} + 1,88 \times 10^{-5} v^{1/2} \text{ (V s}^{-1})^{1/2}$ para metomil, e coeficientes de correlação linear $R^2 = 0,999$ e $0,990$ para os pesticidas respectivamente, apresentado na (**Figura 4.6 C e D**), no qual observa-se que a reta tende a passar pela origem, sugerindo a não ocorrência de reações químicas acopladas à transferência de carga (SILVEIRA, 2008).

Uma dependência linear entre o logaritmo da corrente de pico ($\log I_p$) em função do logaritmo da velocidade ($\log v$) também foi observada (**Figura 4.6 E e F**), com equações: $\log I_{p1} = -4,50 + 0,62 \log v$ ($R^2 = 0,999$) para carbofurano e $\log I_{p1} = -4,74 + 0,40 \log v$ ($R^2 = 0,985$). Valores de coeficientes angulares iguais a 0,62 e 0,40 foram obtidos para carbofurano e metomil, respectivamente. Esses resultados implicam que a natureza do processo de transferência de massa para ambos os pesticidas carbamatos é governado predominantemente por difusão, com uma provável pequena parcela de adsorção para carbofurano, uma vez que a inclinação deve ser igual a 0,50 para processos eletroquímicos controlados por difusão (GOSSER JR., 1993; MASEK et al., 2014).

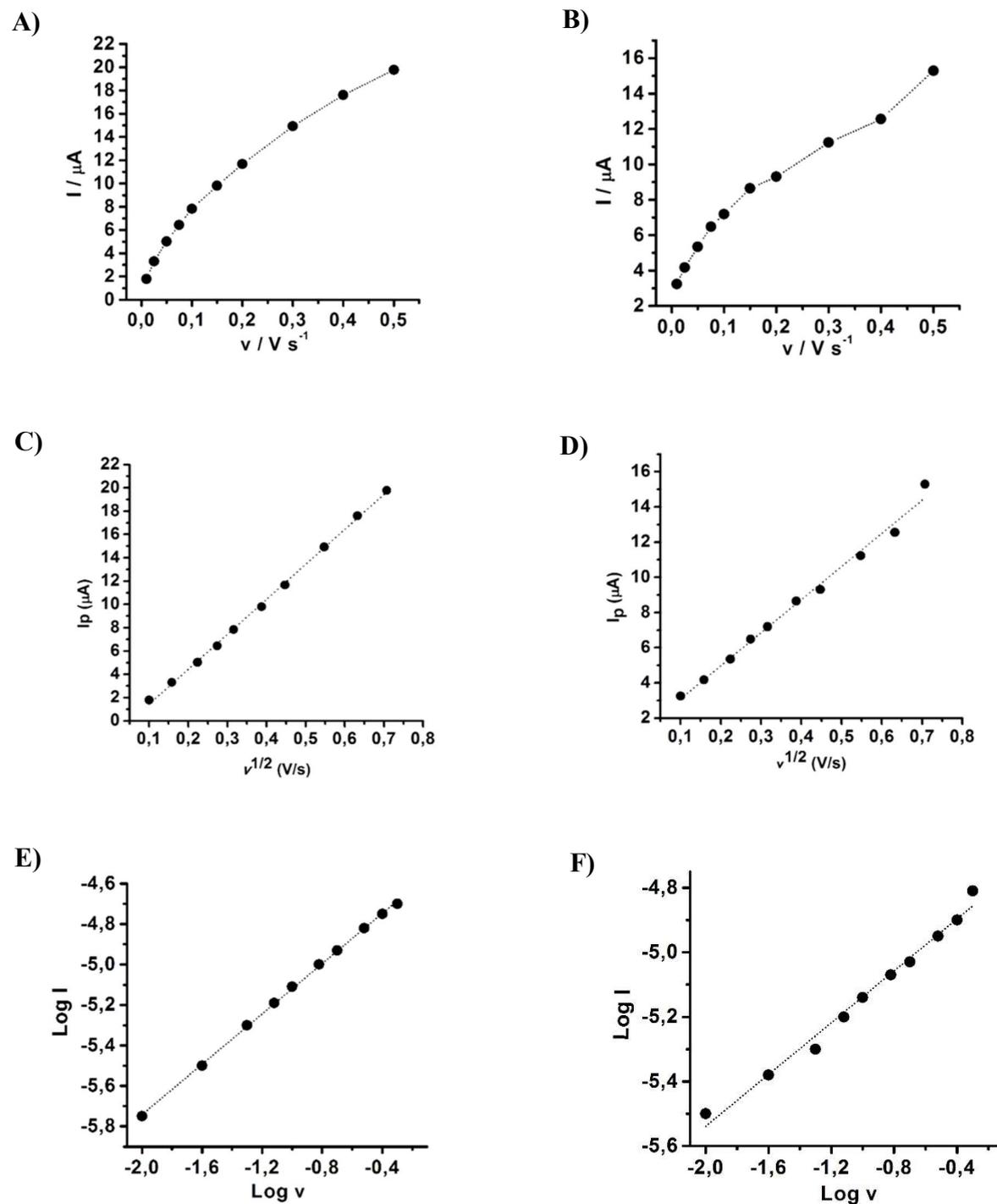


Figura 4.6. Influência das correntes de pico I_{p1} com a v (A, carbofurano e B, metomil), e com a $v^{1/2}$ (C e D). Gráfico do $\log(I_{p1})$ vs. $\log v$ para: (E) carbofurano e (F) metomil.

4.3 Determinação analítica de carbofurano e metomil

4.3.1 Otimização dos parâmetros instrumentais da VOQ

Na técnica de VOQ, as respostas analíticas costumam depender de parâmetros instrumentais como frequência (f), incremento de varredura (ΔE_s) e amplitude de pulso (ΔE_p). As condições ótimas de análise individual e/ou simultânea (melhor resposta analítica, em termos de largura, altura de pico e resolução do perfil voltamétrico) dos pesticidas foram obtidas através de estudos univariados, realizados em concentrações de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de ambos os analitos, usando-se das seguintes condições iniciais de análise: $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$ (Tabela 4.1). Por apresentar diferença no parâmetro da amplitude de pulso, um segundo estudo foi realizado analisando os inseticidas de forma simultânea, obtendo uma amplitude de 30 mV.

Tabela 4.1. Parâmetros eletroquímicos estudados e escolhidos por VOQ para determinação dos pesticidas.

Parâmetros	Intervalo estudado	Condição escolhida (Carbofurano)	Condição escolhida (Metomil)	Condição escolhida (Simultânea)
Frequência (f), s^{-1}	10 – 150	150	150	150
Incremento de potencial (ΔE_s), mV	1 – 10	4	4	4
Amplitude de pulso (ΔE_p), mV	10 – 100	<u>40</u>	<u>75</u>	30
Tempo de deposição ^a , s	0 – 60	--	10	10

^a Circuito aberto.

O efeito de pré-concentração de ambos os inseticidas sobre a superfície de EDDB catodicamente polarizada foi avaliado através do tempo de deposição em circuito aberto, Tabela 4.1, com a finalidade de observar ganho de sensibilidade para o método. Efeitos da pré-concentração foram observados apenas para metomil, demonstrando um efeito positivo na corrente de pico até 10 s de deposição, corroborando com os estudos realizados por Costa (2013). Embora o carbofurano não apresente afinidade ao DDB por pré-concentração, um tempo de 10 s foi fixado para a determinação simultânea de metomil e carbofurano, de modo que este tempo seja suficiente para renovar a camada difusional favorecendo o transporte de massa ao DDB.

Do mesmo modo como a velocidade de varredura está para a VC, a frequência de aplicação dos pulsos está para VOQ, sendo esta última responsável pela magnitude do sinal analítico e sensibilidade do método (BARD e FAULKNER, 2001; BRETT e BRETT, 1996).

A **Figura 4.7** apresenta os voltamogramas de variações na aplicação da frequência, para carbofurano (**Figura 4.7A**) e metomil (**Figura 4.7B**). Percebe-se que a intensidade de corrente de pico aumenta com o aumento da frequência, sofrendo pequenos deslocamentos para potenciais mais positivos.

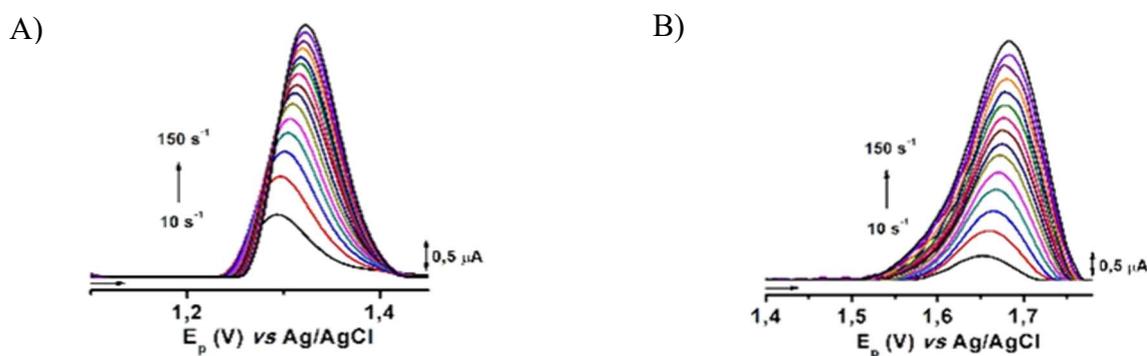


Figura 4.7. Voltamogramas da aplicação da frequência de pulso de potencial por onda quadrada para: **A)** carbofurano e **B)** metomil. $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$.

Foi escolhida uma frequência de trabalho de 150 s^{-1} para os dois pesticidas, onde foi observado uma maior intensidade da corrente de pico. Por ter sido escolhida a mesma frequência em estudos individuais, considerou-se o mesmo valor para os estudos simultâneos.

Uma relação linear entre I vs. $f^{1/2}$ (**Figura 4.8A**) e uma não linearidade entre I vs. f (**Figura 4.8B**), sugerindo que tanto carbofurano como metomil não adsorvem na superfície do eletrodo. A relação linear entre E_p vs. $\log f$ para a oxidação de carbofurano e metomil, revela uma inclinação de $0,027$ (equação: $E_p \text{ (V)} = 1,62 + 0,027 \log f$; $R^2 = 0,974$) e $0,025 \text{ V}$ (equação: $E_p \text{ (V)} = 1,62 + 0,025 \log f$; $R^2 = 0,991$), respectivamente. A partir desses dados, podemos utilizar a equação de Lovric, **Equação. 4.1**, definida para sistemas irreversíveis (SOUZA; MACHADO e AVACA, 2003), a qual nos permite calcular os valores de αn (produto do coeficiente de transferência eletrônica (α) e do número de elétrons transferidos na etapa determinante da velocidade (n)), como sendo α de $2,21$ para carbofurano e $2,36$ para metomil, correspondendo a valores de n aproximadamente de $1,015$ e $1,085$,

respectivamente. Assim, ambos os pesticidas são oxidados pela transferência de um elétron por molécula.

$$\Delta E_p / \Delta \log(f) = 0,059 \text{ V / an} \quad (\text{Eq. 4.1})$$

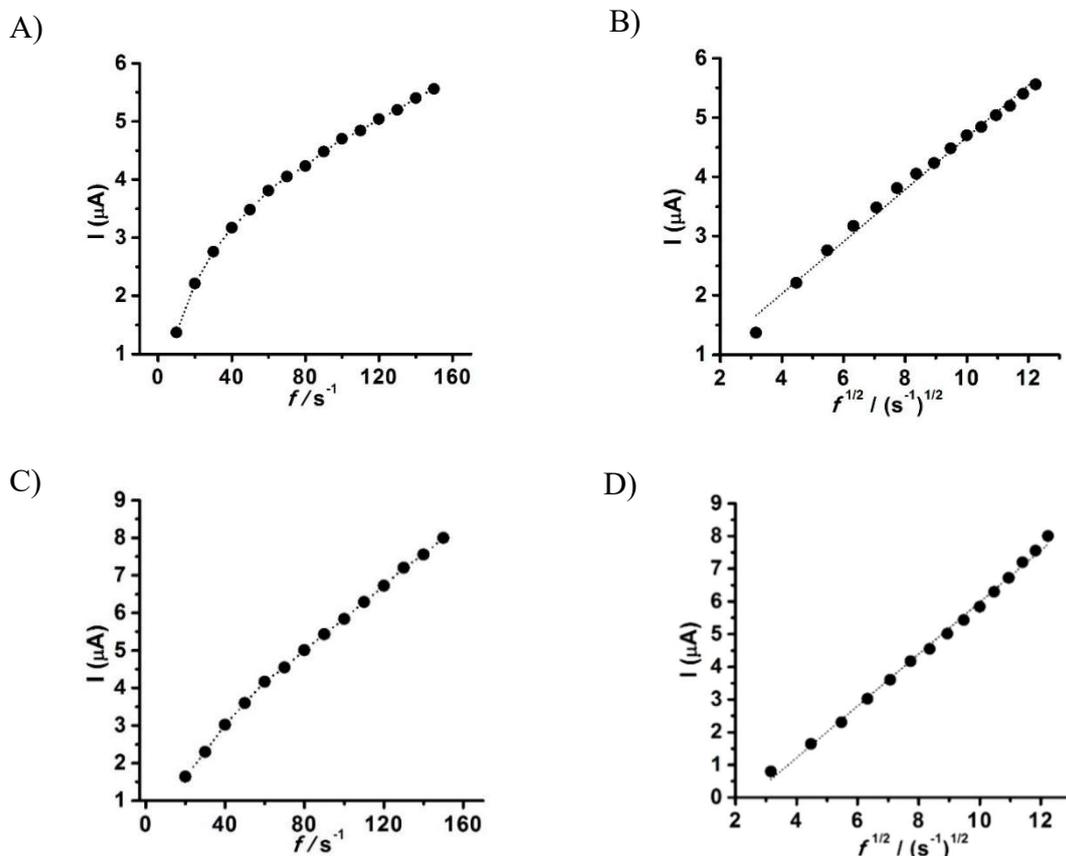


Figura 4.8. Estudo da frequência de aplicação de pulso de potencial. Carbofurano: **A)** relação I vs. f . e **B)** relação I vs. $f^{1/2}$. Metomil: **C)** relação I vs. f . e **D)** relação I vs. $f^{1/2}$. H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0), $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$.

4.3.2. Curvas analíticas para carbofurano e metomil por VOQ

Após otimização da melhor condição de trabalho por VOQ, foram realizados estudos em diferentes concentrações dos inseticidas carbofurano e metomil, monitorando o sinal de oxidação eletroquímica. A fim de verificar possível interferência entre a oxidação dos analitos para uma determinação simultânea, curvas analíticas foram construídas separadamente na presença de uma concentração fixa dos pesticidas.

Na **Figura 4.9A** estão apresentadas as curvas analíticas para as medidas de carbofurano, mantendo-se a concentração do metomil constante em $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$

1. Procedimento semelhante foi adotado para a determinação de metomil na presença de carbofurano, **Figura 4.9B**. Ressalte-se que não houve necessidade de polarização da superfície do eletrodo de EDDB durante a obtenção das curvas analíticas, facilitando o procedimento operacional e proporcionando uma maior frequência analítica. Os voltamogramas correspondentes a cada adição crescente dos analitos estão inseridos nas curvas analíticas, **Figura 4.9**. Observa-se que a determinação de carbofurano (**Figura 4.9A**) ou metomil (**Figura 4.9B**) não foi influenciada pela oxidação do metomil ou carbofurano presente em concentração fixa, uma vez que não houve deslocamento significativo no potencial de pico de oxidação para nenhum dos inseticidas avaliados, com o EDDB respondendo positivamente a adições crescentes de carbofurano na presença de metomil e adições crescentes de metomil na presença de carbofurano.

Potenciais de meia onda ($E_{1/2}$) em torno de +1,3 V (**Figura 4.9A**) e +1,7 V (**Figura 4.9B**) foram identificados para carbofurano e metomil, respectivamente, e ambos os pesticidas apresentaram uma boa dependência linear entre a intensidade da corrente de pico e o aumento da concentração na faixa de $(1,6 - 200,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com $N = 11$ e $R^2 = 0,997$ para carbofurano e de $(3,3 - 200,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com $N = 10$ e $R^2 = 0,988$ para metomil.

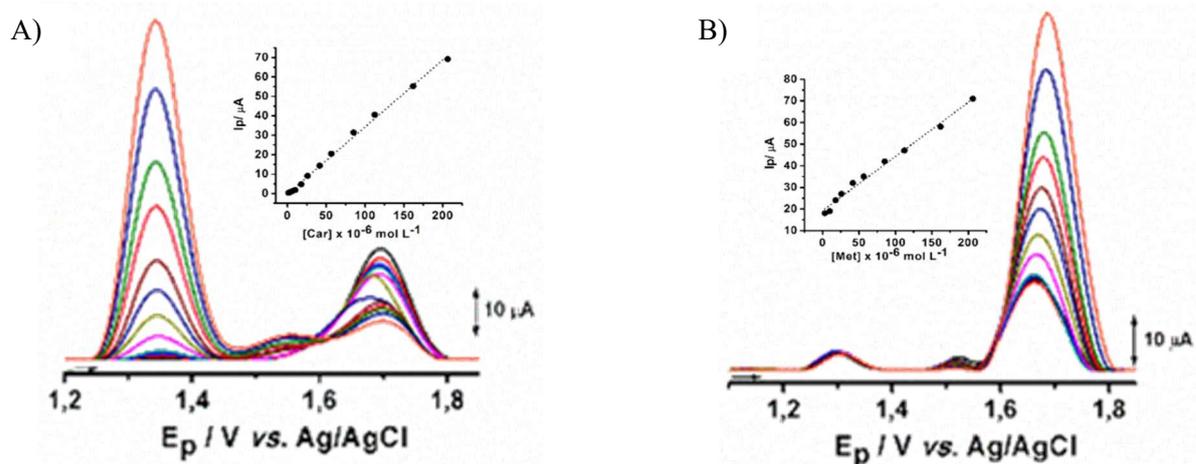


Figura 4.9. Voltamogramas de onda quadrada e inserção de curvas analíticas em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (pH 1,0) para adições crescentes de uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de: **A)** carbofurano, na presença de $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ metomil e de **B)** metomil, na presença de $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de carbofurano. Condições de análise definidas na Tabela 4.1.

As equações das retas construídas a partir das curvas analíticas para cada pesticida obedecem às **Equações 4.2 e 4.3**.

$$I_{p1,car} / A = -2,67 \times 10^{-7} (\pm 5,28 \times 10^{-7}) + 0,340 (\pm 0,006) [\text{carbofurano}] / \text{mol L}^{-1} \quad (\text{Eq. 4.2})$$

$$I_{p1,met} / A = 1,92 \times 10^{-5} (\pm 8,60 \times 10^{-7}) + 0,250 (\pm 0,009) [\text{metomil}] / \text{mol L}^{-1} \quad (\text{Eq. 4.3})$$

Após esses estudos para os analitos tratados individualmente, a determinação simultânea de carbofurano e metomil foi realizada variando-se as concentrações e duas curvas analíticas foram obtidas, **Figura 4.10**. A **Figura 4.10A** apresenta os voltamogramas registrados para uma mistura de solução de carbofurano e metomil em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 .

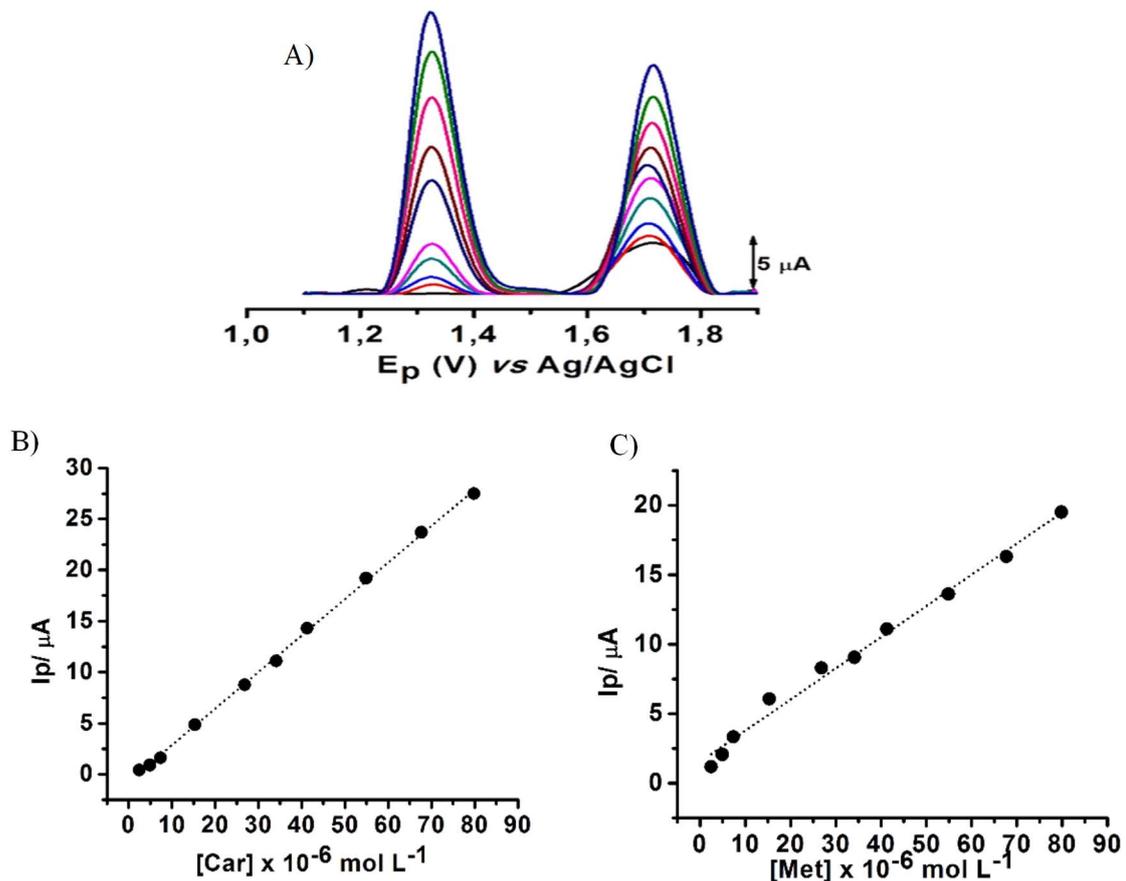


Figura 4.10. A) Voltamogramas de onda quadrada para adições crescentes de uma mistura de solução $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de metomil e carbofurano em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (pH 1,0). Curvas analíticas para determinação simultânea de: B) carbofurano e C) metomil. Condições de análise definidas na Tabela 4.1.

As curvas analíticas apresentaram uma significativa relação linear na faixa de $(2,5 - 79,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com $N = 10$ e R^2 igual a 0,999 para carbofurano (**Figura**

4.10B) e 0,991 para metomil (**Figura 4.10C**). As equações de regressão linear construídas a partir das curvas analíticas obedecem às **Equações 4.4 e 4.5**.

$$I_{p1,car} / A = -7,60 \times 10^{-7} (\pm 1,50 \times 10^{-7}) + 0,357 (\pm 0,004) [\text{carbofurano}] / \text{mol L}^{-1} \quad (\text{Eq. 4.4})$$

$$I_{p1,met} / A = 1,53 \times 10^{-7} (\pm 3,31 \times 10^{-7}) + 0,220 (\pm 0,008) [\text{metomil}] / \text{mol L}^{-1} \quad (\text{Eq. 4.5})$$

4.3.3 Variáveis de desempenho analítico para VOQ

Para validação da metodologia analítica desenvolvida, torna-se necessário conhecer as variáveis de desempenho analítico. Com isso, o sistema em estudo foi analisado em termos da sensibilidade (LD e LQ) e precisão (repetibilidade e reprodutibilidade). Na **Tabela 4.2** estão dispostos os resultados para as determinações individuais e simultâneas dos inseticidas por VOQ.

Tabela 4.2 - Variáveis de desempenho para curvas individuais e simultâneas por VOQ.

PARÂMETROS	Individual		Simultâneo	
	Carbofurano	Metomil	Carbofurano	Metomil
Faixa linear (mol L ⁻¹)	(1,6 – 200,0) x 10 ⁻⁶	(3,3 – 200,0) x 10 ⁻⁶	(2,5 – 79) x 10 ⁻⁶	(2,5 – 79) x 10 ⁻⁶
R ²	0,997	0,988	0,999	0,991
Reprodutibilidade (%)	-----	-----	5,65	5,32
Repetibilidade (%)	-----	-----	4,4	4,54
LD (mol L ⁻¹)	2,56 x 10 ⁻⁷	4,60 x 10 ⁻⁷	2,41 x 10 ⁻⁷	6,85 x 10 ⁻⁷
LQ (mol L ⁻¹)	8,55 x 10 ⁻⁷	1,50 x 10 ⁻⁶	8,05 x 10 ⁻⁷	2,30 x 10 ⁻⁶
LD (mg L ⁻¹)	5,66 x 10 ⁻²	7,46 x 10 ⁻³	5,33 x 10 ⁻²	0,11
LQ (mg L ⁻¹)	0,19	0,24	0,18	0,37

O LD e o LQ foram calculados a partir das **Equações 3.1 e 3.2** (seção 3.6), onde foram registrados 20 brancos a fim de estimar o desvio-padrão (S_b) da média

aritmética. As análises individuais revelaram valores de S_b iguais a 0,0295 μA para carbofurano e 0,0287 μA para metomil.

A precisão da metodologia desenvolvida para análise simultânea de uma mistura de solução $1,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ dos inseticidas foi avaliada em termos de repetibilidade (20 medidas sucessivas no mesmo eletrólito suporte) e reprodutibilidade (10 medidas realizadas em dias, eletrodos e soluções diferentes) através da estimativa do desvio padrão relativo (rsd), conforme a **Equação 3.3** (seção 3.6).

Considerando que o eletrodo de DDB não foi polarizado entre as medidas, tais resultados demonstram que a metodologia é precisa para análise simultânea de carbofurano e metomil. Os valores apresentados estão de acordo com os estabelecidos pelo manual da *International Association of Official Analytical Chemists* (AOAC-I), que indica valores aceitáveis de 6% e 11% para repetibilidade e reprodutibilidade, respectivamente, considerando ausência de estudos entre laboratórios e com uma concentração do analito de 10 ppm (AOAC-I, 2012).

4.3.4 Otimização dos parâmetros para VPD

Tendo em vista fins comparativos com a técnica VOQ, uma metodologia alternativa por VPD também foi proposta para a determinação simultânea dos pesticidas carbofurano e metomil.

Com intuito de escolher as melhores condições experimentais para a determinação de uma mistura de solução $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de carbofurano e metomil em 0, 1 mol L^{-1} de H_2SO_4 (pH = 1,0), parâmetros da VPD, como intervalo de tempo (IT), incremento de potencial (ΔE_s) e amplitude de pulso (ΔE_p) foram estudados de forma univariada. O tempo de modulação (TM), foi fixado em 0,07 s por apresentar uma boa resolução à largura de pico. As condições que proporcionaram melhores respostas analíticas estão apresentadas na **Tabela 4.3**.

Tabela 4.3. Parâmetros escolhidos por VPD para determinação dos pesticidas.

Parâmetros	Faixa estudada	Valor escolhido
IT, (s)	0,2 - 0,6	0,2
ΔE_s , (mV)	1 - 7	4
ΔE_p , (mV)	10 -100	50

4.3.5 Curvas analíticas para carbofurano e metomil por VPD

A **Figura 4.11** apresenta os voltamogramas registrados, para uma mistura de solução de carbofurano e metomil em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 , empregando as condições previamente otimizadas para análise.

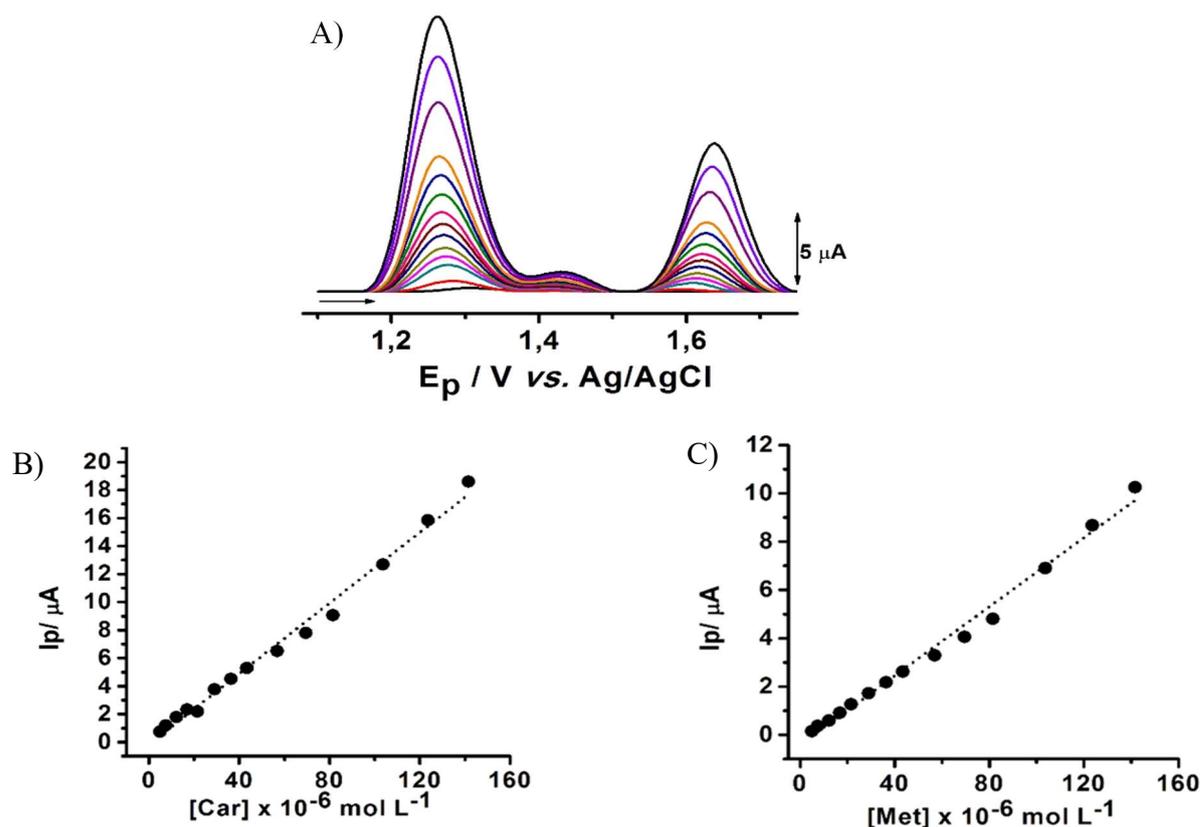


Figura 4.11. A) Voltamogramas de pulso diferencial para adições crescentes de uma mistura de solução $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de carbofurano e metomil em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (pH 1). Curvas analíticas para determinação simultânea de: B) carbofurano e C) metomil. Condições de análise definidas na Tabela 4.2.

As curvas analíticas apresentaram significativa relação linear entre a corrente de pico a concentração na faixa de $(2,5 - 142,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com $N = 14$ e R^2 igual a 0,994 para carbofurano (**Figura 4.11B**) e 0,999 para metomil (**Figura 4.11C**). As equações de regressão linear construídas a partir das curvas analíticas obedecem às **Equações 4.6 e 4.7**.

$$I_{p1,\text{car}} / \text{A} = -1,38 \times 10^{-7} (\pm 2,42 \times 10^{-7}) + 0,126 (\pm 0,004) [\text{carbofurano}] / \text{mol L}^{-1} \quad (\text{Eq. 4.6})$$

$$I_{p1,\text{met}} / \text{A} = -4,02 \times 10^{-7} (\pm 1,4 \times 10^{-7}) + 0,071 (\pm 0,002) [\text{metomil}] / \text{mol L}^{-1} \quad (\text{Eq. 4.7})$$

4.3.6 Variáveis de desempenho analítico para VPD

As variáveis de desempenho analítico para a metodologia VPD foram estabelecidas de forma semelhante a VOQ (seção 4.3.3). As análises simultâneas revelaram valores de S_b (**Equações 2.1 e 2.2**, seção 2.6) iguais a 0,0295 μA para carbofurano e 0,0287 μA para metomil e os seguintes valores foram calculados para carbofurano e metomil **Tabela 4.4**.

Tabela 4.4 - Variáveis de desempenho para curva simultânea por VPD.

PARÂMETROS	Simultâneo	
	Carbofurano	Metomil
Reprodutibilidade (%)	3,16	3,14
Repetibilidade (%)	5,28	4,04
LD (mol L ⁻¹)	$9,16 \times 10^{-7}$	$2,44 \times 10^{-7}$
LQ (mol L ⁻¹)	$3,05 \times 10^{-6}$	$1,14 \times 10^{-7}$
LD (mg L ⁻¹)	0,20	$3,96 \times 10^{-2}$
LQ (mg L ⁻¹)	0,67	0,13

Os dados foram obtidos para uma solução mistura $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e o eletrodo de DDB não foi polarizado entre as medidas. Tais resultados também estão em concordâncias com o que está estabelecido no manual da AOAC-I (AOAC-I, 2012).

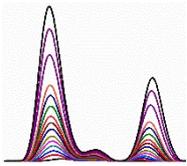
4.4 Comparação das metodologias por VOQ e VPD

Após estudos dos parâmetros de voltametria de onda quadrada e pulso diferencial, seguido da construção das curvas analíticas para determinação de carbofurano e metomil, foi realizada uma comparação dos resultados obtidos nas técnicas voltamétricas utilizadas. A **Tabela 4.5** apresenta os dados comparativos das técnicas, tais resultados são de suma importância para aplicação efetiva da metodologia para controle da qualidade desses contaminantes. Ambos os métodos apresentaram resultados semelhantes em termos dos parâmetros analíticos, como:

limite de detecção, limite de quantificação e precisão. A voltametria de pulso diferencial apresentou uma maior faixa linear em relação a voltametria de onda quadrada, o que não impossibilita a metodologia por VOQ, sendo assim, ambos os estudos são viáveis para determinação simultânea.

Tabela 4.5 - Comparação das técnicas VOQ e VPD para determinação de carbofurano e metomil.

PARÂMETROS	VOQ		VPD	
	Carbofurano	Metomil	Carbofurano	Metomil
Faixa Linear (mol L ⁻¹)	(2,5 – 79,0) x 10 ⁻⁶	(2,5 – 79,0) x 10 ⁻⁶	(2,5 – 142,0) x 10 ⁻⁶	(2,5 – 142,0) x 10 ⁻⁶
R ²	0,999	0,991	0,999	0,994
Reprodutibilidade (%)	5,65	5,32	5,28	4,04
Repetibilidade (%)	4,4	4,54	3,16	3,14
LD (mol L ⁻¹)	2,41 x 10 ⁻⁷	6,85 x 10 ⁻⁷	9,16 x 10 ⁻⁷	2,44 x 10 ⁻⁷
LQ (mol L ⁻¹)	8,05 x 10 ⁻⁷	2,30 x 10 ⁻⁶	3,052 x 10 ⁻⁶	1,14 x 10 ⁻⁷



CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

Os estudos mostraram que a determinação simultânea por VPD e VOQ dos pesticidas carbofurano e metomil é possível, principalmente por apresentarem uma distância de potencial favorável para o estudo, sendo de aproximadamente 0,397 V. O metomil apresenta um processo de oxidação eletroquímica ($E_{P_{1,met}} \approx 1,65V$) e o carbofurano um processo de oxidação eletroquímica ($E_{P_{1,car}} \approx 1,3V$) em DDB. Os processos $P_{1,met}$ e $P_{1,car}$ correspondem a sistemas irreversíveis, comprovados tanto por VC e VOQ.

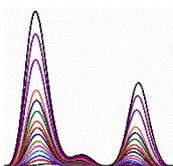
Um mecanismo irreversível foi observado com transferência de 1 elétron, para os $P_{1,met}$ ($1,0 \leq pH \leq 9,0$) e $P_{1,car}$ ($1,0 \leq pH \leq 9,0$), um máximo de corrente foi observado em pH 1,0 para o processo $P_{1,met}$ e pH 3,0 para o processo $P_{1,car}$. Considerando os estudos simultâneos, o pH 1,0, foi escolhido para as determinações.

Empregando a técnica VOQ, as melhores condições experimentais testadas foram: pH 1,0 (H_2SO_4 mol L^{-1}), $f = 150 s^{-1}$, $\Delta E_s = 4$ mV, $\Delta E_p = 30$ mV e $t_d = 10$ s, obtendo uma faixa linear de $2,5 \times 10^{-6}$ a $7,9 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} , com o LD ($6,85 \times 10^{-7}$ mol L^{-1}) e LQ ($2,30 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}) para metomil, e o LD ($2,41 \times 10^{-7}$ mol L^{-1}) e LQ ($8,05 \times 10^{-7}$ mol L^{-1}) para carbofurano; repetibilidade (DPR = 4,54 %) e reprodutibilidade (DPR = 5,32 %), para metomil, e uma repetibilidade (DPR = 4,4 %) e reprodutibilidade (DPR = 5,65 %) para carbofurano, em uma concentração de $1,62$ mol L^{-1} da solução mistura.

Por VPD, as melhores condições experimentais obtidas foram: pH 1,0 (H_2SO_4 0,1 mol L^{-1}), $IT = 0,2$ s, $\Delta E_s = 4$ mV, $\Delta E_p = 50$ mV e $t_d = 10$ s, com uma faixa de linearidade de $52,48 \times 10^{-4}$ a $1,42 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} , obtendo um LD e LQ de $9,156 \times 10^{-7}$ e $3,052 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} , respectivamente para carbofurano e um LD e LQ de $2,44 \times 10^{-7}$ e $8,14 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} , respectivamente para metomil.

5.1 Propostas futuras

-  Aplicar as metodologias propostas em matrizes alimentícias e água, identificando o grau de recuperação dos métodos;
-  Determinar os coeficientes difusionais reais do carbofurano e metomil, e propor um mecanismo para os processos de oxidação do $P_{1,car}$ e $P_{1,met}$.
-  Estudos dos produtos de degradação.



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABAD, A.; MORENO, J. M.; PELEGRÍ, R.; SÁEZ, A.; GAMÓN, M.; MONTOYA, A.. **Determination of carbaryl, carbofuran and methiocarb in cucumbers and strawberries by monoclonal enzyme immunoassays and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection an analytical comparison.** Journal of Chromatography A, 833:3, 1999.

ABDEL-AAL, Y.A.I. & FAHMY, M.A.H. **Molecular modification of carbamates in relation to their selective toxicity.** In: *Proceedings of the British Crop Protection Conference on Pests and Diseases*, Brighton, Nov. 1977, British Crop Protection Council, Croydon, pp. 155-159.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **A Agência.** Disponível em: <<http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/zH5>> Acessado em Dezembro de 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Contaminação por agrotóxicos persiste em alimentos analisados pela ANVISA.** Disponível em: <<http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/5H>> Acessado em Dezembro de 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Nota técnica de reavaliação do ingrediente ativo de agrotóxico carbofurano.** Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/b46868804b0552fab7e0bd53a8764/CP+114-2015+-+Nota+tecnica.pdf?MOD=AJPERES>> Acessado em Abril de 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Relatório da ANVISA indica resíduo de agrotóxico acima do permitido.** Disponível em: <<http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/c6wk>> Acessado em Dezembro de 2015.

ALMEIDA, R. G.; REYES, F. G. R.; RATH, S. **Drosophila Melanogaster Meiger. Sensibilidade ao carbofuran e biomonitoramento de seus resíduos em repolho.** Química Nova, v.24, p. 768-722, 2001.

ANDRADE, L. S.; MORAES, M. C.; FATIBELLO-FILHO, O.; ROCHA-FILHO, R. C.; **A multidimensional high performance liquid chromatography method coupled with amperometric detection using a boron-doped Diamond electrode for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in bovine milk .** Analytica Chimica Acta, 654: 127, 2009.

ANDRADE, L. S.; SALAZAR-BANDA, G. R.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O.; CASS, Q. B. **Cathodic Pretreatment of Boron-Doped Diamond Electrodes and Their Use in Electroanalysis,** In: *Synthetic Diamond Films: Preparation, Electrochemistry, Characterization and Applications.* 1ª ed. v. 8. San Francisco: John Wiley & Sons, Inc, 2011, 181p.

- AOAC-I. **International guidelines for dietary supplements and botanicals**. 2012. Disponível em: < http://www.eoma.aoac.org/app_k.pdf > Acessado em Abril de 2016.
- ARUN K. R.; MANIK C. G. CHAPTER 45 - **Aquatic Toxicity of Carbamates and Organophosphates**, In **Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compounds**, edited by Ramesh C. Gupta,, Academic Press, Burlington, 2006, Pages 657-672.
- ATKINS E.L.; ANDERSON L.D.; KELLUM D.D.; NEUMAN K.W. **Protecting honey bees from pesticides**. Berkeley, California, University of California, Division of Agricultural Sciences, 15 pp, 1976.
- ATKINS, E.L., GREYWOOD, E.A., & MCDONALD, R.L. **Toxicity of pesticides and other agricultural chemicals to honey bees. Laboratory studies**, Riverside, USA, University of California, Agriculture Extension Service, 1973.
- BARANOWSKA, I.; SROGI, K.; WLOCHOWICZ, A; SZCZEPANIK, K. **Determination of heavy metal contents in samples of medicinal herbs**. Polish Journal of Environmental Studies, Olsztyn, v. 11, n. 5, p. 467-471, 2002.
- BARD, A. J. & FAULKNER, L. R., **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 2^a ed. New York: John Wiley & Sons, INC, 2001.
- BAR-ON, P., MILLARD, C. B., HAREL, M., DVIR, H., ENZ, A., SUSSMAN, J. L. & SILMAN, I. **Kinetic and structural studies on the interaction of cholinesterases with the anti-Alzheimer drug rivastigmine**. *Biochemistry* 41:3555-3564, 2002.
- BARROS, R. de C. M. de; RIBEIRO, M. C.; NA-SUMODJO, P. T.; JULIÃO, M. S. da S.; SERRANO, S. H. P.; FERREIRA, N. G. **Filmes de diamante CVD dopado com boro. Parte I. Histórico, produção e caracterização**. *Química Nova*, 28 (2): 317, 2005.
- BASTOS, R. K. X.; HELLER, L.; BEVILACQUA, P. D.; PÁDUA, V. L.; BRANDÃO, C. C. S. **Legislação sobre controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano: a experiência brasileira comparada à panamericana**. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL - AIDIS, 29, 2004, San Juan, Porto Rico. Anais... San Juan: Aidis, 2004.
- BESSIN, R.I.C. **Pesticide Residues in Foods: Is food safety just a matter of organic versus traditional farming?** Disponível em: <<http://www2.ca.uky.edu/entomology/entfacts/ef009.asp>> Acessado em: Dezembro de 2015.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). **Agrotóxicos**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>>. Acessado em Dezembro de 2015.

BRASIL. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos**. Brasília-DF: Organização Pan-Americana da Saúde, 2008, 74 p.

BRASIL. **RESOLUÇÃO CONAMA nº 396**, de 3 de abril de 2008 Publicada no DOU nº 66, de 7 de abril de 2008, Seção 1, páginas 64-68.

BRETT, A. M. & O. BRETT, C. M. A., **Electroquímica. Princípios, Métodos e Aplicações**. New York: Oxford University Press Inc., 1996, 471p.

BRITO, N. M.; AMARANTE JR. O. P. de; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. **Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão, Pesticidas**. revista de ecotoxicologia e meio ambiente, 13: 129, 2003.

CARBOFURAN DATA SHEET. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0122.htm>> Acessado em Abril de 2016.

CARO, J.H.; FREEMAN, H.P.; GLOTFELTY, D. E.; TURNER, B. C.; EDWARDS, W. M. **Dissipation of Soil-Incorporated Carbofuran in the Field**. J. Agric. Food Chem. 21, 1010-1015, 1973.

COOK, R. F.; ROBINSON, R.A. **Carbofuran Hydrolysis Study**. Unpublished FMC Report M-3552, 1974.

COSTA, D. J. E.; **Metomil: investigação eletroquímica e desenvolvimento de metodologias voltamétricas usando eletrodo de diamante dopado com boro**. 2013. 76f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal da Paraíba, 2013.

DABROWSKI, J. M.; **Development of pesticide use maps for South Africa**; S. Afr. j.sci., Pretoria, v. 111, n. 1-2, Feb. 2015. Available from: <<http://www.sajs.co.za/development-pesticide-use-maps-south-africa/james-m-dabrowski>>. Access on 19 Dec. 2015.

DEUEL, L.E., Jr. **Residue Levels of Propanil, Molinate, Carbofuran, Carbaryl and their Respective Metabolites in Rice Paddy Water**. Diss. Abstr. Int. B 36, 1998.

ELLEMAN, P.N. **Acute oral toxicity (FIFRA-EPA) in rats with carbofuran technical** (FMC Study No. A 79-339, CSE-Study No. 0180). Unpublished report prepared by Cosmopolitan Safety Evaluation (CSE) Inc., NJ, USA. Submitted to WHO by FMC Corp., Philadelphia, PA, USA, 1979.

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

ERTAS-PÉREZ, J. F.; GARCÍA-CAMPANÃ, A. M.; **Determination of N-methylcarbamate pesticides in water and vegetable samples by HPLC with post-column chemiluminescence detection using the luminol reaction.** *Analytica chimica acta*, 630 :204, 2008.

FAN, J.; SHAO, X.; XU, H.; FENG, S. **A novel inhibitory kinetic fluorimetric method for the determination of trace methomyl in environmental samples.** *Luminescence*, 24: 266, 2009.

FAO. **Panel of Experts on Pesticides Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group**, Rome, 16-25 September 2002.

FAO. **Plant Production and Protection.** *Paper 72/2*, 1986.

FAO/WHO. **Pesticide residues in food - 1985 evaluations.** Part II -Toxicology monographs.

FARRÉ, M.; FERNADZ, J.; PAEZ, M.; GANADA, L.; BARBA, L.; GUTIERREZ, H. M.; PULGARIN, C.; BARCELÓ, D. **Analysis and toxicity of methomyl and ametryn after biodegradation.** *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 373: 704, 2002.

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.

FERNANDES, S. C.; VIEIRA, I. C.; BARBOSA, A. M. J.; FERREIRA, V. S. **Methomyl detection by inhibition of laccase using a carbon ceramic biosensor.** *Electroanalysis*, 23: 1623, 2011.

FMC CORPORATION. **Furadan Insecticide-Nematicide. Carbofuran Data Summary.** 1976. 95p.

FMC CORPORATION. **Material safety data sheet furadan® 4F Insecticide/Nematicide.** Disponível em: <<http://people.oregonstate.edu/~rinhark/cbarcfarmmsdssheets/Pesticides/Furadan.pdf>> Acesso em Abril de 2016.

FOLHA DE SEGURANÇA DO CARBOFURANO. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d96d0d804e09c76a9a32bbc09d49251b/C06+%E2%80%93+Carbofurano.pdf?MOD=AJPERES>> Acessado em Abril de 2016.

FURADAN 350 FS Disponível em: <http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/FURADAN_350_FS.pdf> Acesso em Abril de 2016.

- GALLI, A.; SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. **Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos**. *Química Nova*, 29: 105, 2006.
- GARCIA, F. P.; ASCENCIO, S. Y. C.; OYARZUN, J. C. G.; HENANDZ, A. C.; ALAVARADO, P. V. **Pesticides: classification, use and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks**, *Journal of Research in Environmental Science and Toxicology*. vol. 1 (11) pp. 279-293, December, 2012.
- GETZIN, L. W. **Persistence and Degradation of Carbofuran in Soil**. *Environ. Entomol.* 2:461-467, 1973.
- GIRARD, H.; SIMON, N.; BALLUTAUD, D.; HERLERN, M.; ETCHEBERRY, A. **Effect of anodic and cathodic treatments on the charge transfer of boron doped diamond electrodes**. *Diamond and Related Materials*, 16: 316, 2007.
- GOETING, C. H.; MARKEN, F.; GUTIERREZ-SOSA, A.; COMPTON, R. G.; FOORD, J. S. **Electrochemically induced surface modifications of boron-doped diamond electrodes: an X-ray photoelectron spectroscopy study**. *Diamond Relat. Mater*, 9: 390, 2000.
- GOOSE J.; **Carbamate pesticides: A general introduction: Environmental health criteria 64**. WHO Geneva, 1986 (138 pages); *Parasitology Today*, Volume 3, Issue 8, August 1987, Page 257.
- GOSSER Jr., D. K. **Cyclic Voltammetry: Simulations and analysis of reaction mechanisms**. New York: Wiley-VHC, 1993.
- GUIBERTEAU, A.; DIAZ, T. G.; SALINAS, F.; ORTIZ, J. M. **Indirect voltammetric determination of carbaryl and carbofuran using partial least squares calibration**. *Analytica Chimica Acta*, 305: 219, 1995.
- GUPTA, R.C.; DEWAN, R.S. **Residues and Metabolism of Carbofuran in Soil**. *Pesticides*, 8: 36, 1975.
- HARTLEY, D. ; KIDD, H. **The agrochemicals handbook**. Nottingham, England: Royal Society of Chemistry. 1983. APUD: Pesticide Performance profile (methomyl). Extension Toxicology Network, 1993.
- HARVEY J. Jr. **Decomposition of ¹⁴C-methomyl in aerated river water exposed to sunlight** (Unpublished report No. ML/ME-13*), 1972.
- HARVEY J. Jr. **Photolysis of [1-¹⁴C] methomyl**. Wilmington, Delaware, E.I. Du Pont de Nemours and Co., Agricultural Chemicals Department (Unpublished report No. AMR-121-83*).
- HARVEY, J.; JELINEK, A.G.; SHERMAN, H. **Metabolism of methomyl in the rat**. *J. Agric. Fd. Chem.*, 21: 769, 1973.

HUHTANEN K.; DOROUGH H.W. **Isomerization and Beckmann rearrangement reactions in the metabolism of methomyl in rats.** *Pestic Biochem Physiol*, 6: 571-583, 1976.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS) & WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Task Group on Carbamate Pesticides. **Carbamates pesticides: a general introduction.** Environmental Health Criteria 64. Geneva, 1986.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS) & WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) **Environmental Health Criteria 178: Methomyl.** Geneva, 1996.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). **Compendium of Chemistry Terminology.** United Kingdom: RSC Publishing, 2014. p. 1087-1088.

JOINT MEETING OF THE FAO PANEL OF EXPERTS ON PESTICIDES RESIDUES IN FOOD AND THE ENVIRONMENT AND THE WHO CORE ASSESSMENT GROUP (2002: Rome, Italy) **Pesticide residues in food: 2002: toxicological evaluations / Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticides Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group, Rome, 16-25 September 2002.**

KINOSHITA, H.; TANAKA, N.; JAMAL, M.; KUMIHASHI, M.; OKUZONO, R., KLAASSEN C. D. **Casarett and Doll's Toxicology: the basic science of poisons.** 7th ed. New York: Mc Graw Hill; 2007. p. 881-931.

KRAFT, A. **Doped diamond: A compact review on a new, versatile electrode material.** *International Journal of Electrochemical Science*, 2: 355, 2007.

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.

LONDRES F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida.** Rio de Janeiro: AS-PTA Assessoria em Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011. 190 p.

MASEK, A.; CHRZESCIJANSKA, E.; ZABORSKI, M. **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.

MEADE A. B. **Methomyl toxicity to honey bee.** Wilmington, Delaware, E.I. Du Pont de Nemours and Co., Agricultural Chemicals Department (Unpublished report No. METH/ECO 9*), 1984.

MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. **Simultaneous voltametric determination of phenolic antioxidants in food using a boron-doped. Diamond electrode**, 123: 886, 2010.

MEDEIROS, R. A.; LOURENCAO, B. C.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. **Simultaneous voltammetric determination of synthetic colorants in food using a cathodically pretreated boron-doped. Diamond electrode**Talanta, 97: 291, 2012.

Methomyl. Disponível em: <
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc178.htm#SectionNumber:1.1> >
Acesso em Abril de 2016.

Metomil. Disponível em <
<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8edbab00474596939e7fde3fbc4c6735/m17.pdf?MOD=AJPERES> > Acesso em Abril de 2016.

MILLARD, C. B., KOELLNER, G., ORDENTLICH, A., SHAFFERMAN, A., SILMAN, I. & SUSSMAN, J. L. **Reaction products of acetylcholinesterase and VX reveal a mobile histidine in the catalytic triad. J Am Chem Soc** 121, 9883-9884 (1999).

MURPHY S. D. Toxic Effects of Pesticides, in Klaassen C.D. **Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons**. New York: *Macmillan*, 1986, p. 519-581.

NI, Y.; WANG, L.; KOKOT S. **Simultaneous determination of nitrobenzene and nitrosubstituted phenols by differential pulse voltammetry and chemometrics. Anal. Chim. Acta**, 431: 101, 2001.

OLIVEIRA, S. C. B.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. **Voltammetric and electrochemical impedance spectroscopy characterization of a cathodic and anodic pre-treated boron doped diamond electrode. Electrochimica Acta**, 55: 4599, 2010.

RIBAS, P. P.; MATSUMURA A. T. S.; **A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 10 : 149-158, 2009.

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

RIBEIRO, W. F. **Análise de traços do pesticida carbendazim por voltametria de onda quadrada com eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono**. João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, 2009. Dissertação de Mestrado, 58.

- RIGGOTO R. M. *apud* LONDRES F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. Rio de Janeiro: AS-PTA Assessoria em Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011. Pág. 48-51.
- METCALF, R. L.; FUKUTO, T. R.; COLLINS, C.; CASSIL, C. C. [Metabolism of 2,2-dimethyl-2,3-dihydrobenzofuran-7-N-methylcarbamate \(Furadan\) in plants, insects, and mammals](#). *J. Agric. Food Chem.*, **1968**, 16 (2), pp 300–311.
- SALAZAR-BANDA, G. R.; ANDRADE, L. S.; NASCENTE, P. A. P.; PIZANI, P. S.; ROCHA-FILHO, R. C.; AVACA, A. L. **On teh changing electrochemical behaviour of borondoped diamond surfaces with time after cathodic pre-treatments**. *Electrochimica Acta*, 51: 4612, 2006.
- SALAZAR-BANDA, G. R.; CARVALHO, A. E.; ANDRADE, L. S.; ROCHA-FILHO, R. C.; AVACA, L. A. **On the activation and physical degradation of boron-doped diamond surfaces brought on by cathodic pretreatments**. *Journal of Applied Electrochemistry*, 40: 1817, 2010.
- SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. P.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M.; **Pesticida e seus respectivos riscos associados à contaminação da água**. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 13, p. 53-58, 2003.
- SANTALAD, A.; SRIJARANAI, S.; BURAKHAM, R.; GLENNON, J. D.; DEMING R. L.; **Cloud-point extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography for the determination of carbamate insecticide residues in fruits**. *Anal Bioanal Chem* 394:1307, 2009.
- SANTOS, G. S. S. **Determinação de resíduos de carbofurano e do metabólito 3-hidroxi-carbofurano em águas de lavouras de arroz irrigado em Santa Catarina**. Florianópolis, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, UFSC, 2007. Dissertação de Mestrado.
- SANTOS, M. C. G.; TARLEY, C. R. T.; DALL'ANTONIA, L. H.; SARTORI, E. R.. **Evaluation of boron-doped diamond electrode for simultaneous voltammetric determination of hydrochlorothiazide and losartan in pharmaceutical formulations**. *Sensors and Actuators B*, 188: 263, 2013.
- SILVEIRA, C. D. S. **Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de sulfonamidas empregando eletrodo de diamante dopado com boro**. Dissertação de mestrado em Química Analítica, Universidade de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, 2008.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN T. A., **Princípios de análise Instrumental**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. **Voltametria de onda quadrada**. Primeira parte: Aspectos teóricos, *Química Nova*, 26: 81, 2003.

SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TOLEDO, R. A.; PEDROSA, V. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. **Voltametria de onda quadrada**. Segunda parte: aplicações. *Química Nova*, 27: 790, 2004.

SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S. **Estudo eletroanalítico do herbicida paraquat em soluções aquosas por voltametria de onda quadrada utilizando ultramicroeletrodos**. *Química Nova*, 26: 644, 2003.

STANOVICK, R.P. **Metabolism of Carbofuran in Soil Quantitative and Qualitative Determination of Radioactive Carbofuran and its Metabolites in Soil**. FMC Corporation, Report No. M.2303, 1968.

SUFFREDINI, H. B.; PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L.; MACHADO, S. A. A.; ROCHA-FILHO, R. C.; AVACA, L. A. **Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment**. *Electrochimica Acta*, 49: 4021, 2004.

SVORC, L. & KALCHER, K. **Modification-free electrochemical approach for sensitive monitoring of purine DNA bases: Simultaneous determination of guanine and adenine in biological samples using boron-doped diamond electrode**. *Sensors and Actuators B*, 194: 332, 2014.

SWANSON M. B. **Photodegradation of [1-¹⁴C] methomyl in soil**. Wilmington, Delaware, E.I. Du Pont de Nemours and Co., Agricultural Products Department, 1986. (Unpublished report No. AMR-611-86*).

SWITZERLAND. World Health Organization (WHO); **International Code of conduct on pesticide management**: guidelines on licensing of public health pest control operators. Geneva: WHO Press, 2015, p. 3 – 17.

SWITZERLAND. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO); *The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification*. Geneva: WHO Press, 2010, p. 1 – 8.

TALEKAR, N.S; SUN, L. T.; LEE, E. M.; CHEN, J. S. Chen, J.S. **Persistence of Some Insecticides in Subtropical Soil**. *J. Agric. Food Chem.* 25, 384-352, 1997.

TERASHIMA, C.; RAO, T. N.; SARADA, B. V.; KUBOTA, Y.; FUJISHIMA, A. **Direct eletrochemical oxidation of disulfides at anodically pretreated boron-doped Diamond electrodes**. *Anal. Chem.* 75: 1564, 2003.

THE GLOBALLY HARMONIZED SYSTEM OF CLASSIFICATION AND LABELLING OF CHEMICALS (GHS). Disponível em: <https://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev04/English/ST-SG-AC10-30-Rev4e.pdf> Acesso em Dezembro de 2015.

- TOMAŠEVIĆ, A.; IVIĆ, M. L. A.; PETROVIĆ, S. D.; JOVANOVIĆ, M. B.; MIJIN, D. Ž. A. **A study of the electrochemical behaviour of methomyl on a gold electrode in a electrolyte.** *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74: 573, 2009.
- TOMLIM. C.D.S. **The pesticide manual.** 12. ed. Farnham: British Crop Protection Council, 2001.
- TSUTSUI, K.; AMENO, K.; **Application of energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry (EDX) in a case of methomyl ingestion.** *Forensic Science International*, 227:103, 2013.
- UNITED STATES OF AMERICA. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (U.S. EPA). **Initial Scientific and Minieconomic Review of Carbofuran.** Washington: 1976, p. 38.
- VENKATESWARLU, K. G. GOWDA, T. K. S.; SETHUNATHAN, N. **Persistence and Biodegradation of Carbofuran in Flooded Soils.** *J. Agric. Food Chem.* 25, 533-536, 1977.
- WANG, Y. X.; NI, Y. N.; KOKOT, S. **Investigation of the interaction of carbofuran and DNA by voltammetry and fluorescence with the aid of chemometrics.** *Chinese Chemical Letters*, 21: 963, 2010.
- WHO/FAO. **Data sheets on pesticides**, Geneva, World Health Organization, 1984.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *About WHO*. Disponível em: <<http://www.who.int/about/en/>> Acessado em Dezembro de 2015.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Health topics: Pesticides*. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/pesticides/en/>>. Acessado em dezembro de 2015.
- WRIGHT, M.A.; STRINGER, A. **The toxicity of thiabendazole, benomyl, methyl-benzimidazol-2-yl-carbamate, and thiophanate-methyl to the earthworm *Lumbricus terrestris*.** *Pestic. Sci.*, 4: 431-432, 1973.
- ZACHARIA, J. T.; **Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides, Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis.** Dr. Margarita Stoytcheva (Ed.), 2011. ISBN: 978-953-307-437-5, InTech, Available from: <<http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modern-world-trends-in-pesticidesanalysis/>>.