

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE SÍMBOLOS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 – Pesticidas.....	1
1.2 – Métodos empregados na análise de pesticidas.....	5
1.3 – Técnicas eletroanalíticas.....	7
1.3.1 – Técnicas de Pulso.....	8
1.3.1.1 – Voltametria de pulso diferencial.....	9
1.3.1.2 – Voltametria de onda quadrada.....	11
1.3.1.3 – Voltametria de múltiplas ondas quadradas	15
1.4 – O herbicida paraquat.....	16
1.5 – O tratamento dos dados analíticos.....	19
1.6 – Determinação eletroanalítica do paraquat e outros pesticidas e o tratamento dos dados analíticos.....	22
2 – OBJETIVOS	28
3 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	29
3.1 – Instrumentação.....	29

3.2 – Cella eletroquímica e eletrodos.....	30
3.3 – Materiais e reagentes utilizados.....	32
3.4 – Metodologia de trabalho.....	33
3.4.1 – Escolha do eletrólito de suporte e concentração hidrogeniônica do meio e parâmetros da VOQ.....	33
3.4.2 – Parâmetros da VMOQ.....	33
3.4.3 – Parâmetros da VPD.....	34
3.4.4 – Aplicação da metodologia para a determinação do paraquat em eletrólito de suporte preparado com água ultrapurificada...34	34
3.4.5 – Aplicação da metodologia para a determinação do pesticida em águas naturais.....	35
3.4.6 – O tratamento estatístico dos dados analíticos.....	35
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1 – Eletroatividade do pesticida paraquat.....	44
4.2 – Variação dos múltiplos pulsos de potencial (M).....	46
4.3 – Variação dos parâmetros voltamétricos (amplitude, incremento de aplicação dos pulsos de potencial, velocidade de varredura e largura dos pulsos) para VPD.....	48
4.3.1 – Influência da amplitude do pulso (a).....	48
4.3.2 – Variação do incremento de potencial (ΔE_s).....	50
4.3.3 – Influência da velocidade de varredura (v).....	51
4.4 – Aplicação da metodologia para a determinação do paraquat em eletrólito de suporte preparado com água ultrapurificada.....	52

4.4.1 – Curvas de trabalho para a redução do pesticida paraquat em UME-Au utilizando-se VPD.....	53
4.4.2 – Curvas de trabalho para a redução do pesticida paraquat em UME-Au utilizando-se VOQ.....	57
4.4.3 – Curvas de trabalho para a redução do pesticida paraquat em UME-Au utilizando-se VMOQ.....	60
4.5 – Aplicação da metodologia para a determinação do pesticida em águas naturais.....	62
4.5.1 – Curvas de trabalho para a redução do paraquat em UME-Au utilizando-se VPD.....	63
4.5.2 – Curvas de trabalho para a redução do paraquat em UME-Au utilizando-se VOQ.....	65
4.5.3 - Curvas de trabalho para a redução do paraquat em UME-Au utilizando-se VMOQ.....	68
4.6 – Resultados do paraquat em UME-Au usando VPD, VOQ e VMOQ em águas puras e naturais.....	71
4.7 – Cálculos de limite de detecção (LD) e de limite de quantificação (LQ) pelo método recomendado pela IUPAC.....	75
5 – CONCLUSÕES.....	78
6 – PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS.....	81
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo em VPD, onde S_1 é o primeiro intervalo imediatamente antes da aplicação do pulso e S_2 é o segundo intervalo após a aplicação do pulso.....	10
Figura 1.2: Voltamograma esquemático de pulso diferencial.....	11
Figura 1.3: Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.....	13
Figura 1.4: Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada onde 1) representa um processo redox de um sistema reversível e 2) de um sistema irreversível.....	14
Figura 1.5: Modo de aplicação de potencial na VMOQ como foi utilizado neste trabalho.....	16
Figura 1.6: Fórmula estrutural do herbicida paraquat.....	17
Figura 1.7: Gráfico de calibração.....	20
Figura 3.1: Cella eletroquímica utilizada, com: (a) entrada de N_2 , (b) eletrodo de referência, (c) UME-Au e (d) saída de N_2	30
Figura 3.2: Voltametria cíclica de estado estacionário, utilizando UME-Au com 25 μ m diâmetro nominal em meio de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}	31
Figura 3.3: Distribuição normal do sinal do branco para o cálculo do limite de detecção.....	40

Figura 4.1 : Voltamograma cíclico para $4,22 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 5,5$, sobre UME-Au.....	44
Figura 4.2 : Voltamograma de onda quadrada para $4,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$ sobre UME-Au.....	46
Figura 4.3: Múltiplos voltamogramas de onda quadrada obtidos para $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat sobre UME-Au, em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 250 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e diferentes números de pulsos dentro de cada degrau da escala de potenciais.....	47
Figura 4.4: Relação entre as correntes de pico (I_p) para o pico 1 e o número de pulsos aplicados.....	48
Figura 4.5: Voltamogramas de pulso diferencial de $5,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat em meio Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para UME-Au, com $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e várias amplitudes de aplicação de pulsos de potencial.....	49
Figura 4.6: Relação das correntes do pico 1 com a amplitude dos pulsos de potenciais para o paraquat em UME-Au, com os mesmos parâmetros da figura 4.5.....	50
Figura 4.7: Voltamogramas de pulso diferencial de $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para UME-Au, com $a = 50 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e vários incrementos de potencial.....	51

Figura 4.8: Voltamogramas de pulso diferencial para $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat sobre UME-Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ $t = 10 \text{ ms}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e várias velocidades de varredura.....	52
Figura 4.9: Voltamogramas de pulso diferencial para o paraquat em UME-Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	54
Figura 4.10: Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME-Au com as mesmas condições da Figura 4.9, considerando-se o pico 1.....	55
Figura 4.11: Voltamogramas de onda quadrada para o paraquat em UME-Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 250 \text{ s}^{-1}$	58
Figura 4.12: Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME-Au com as mesmas condições da Figura 4.11, considerando-se o pico 1.....	59
Figura 4.13: Múltiplos Voltamogramas de onda quadrada para o paraquat em UME-Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 250 \text{ s}^{-1}$	60
Figura 4.14: Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME-Au com as mesmas condições da Figura 4.13, considerando-se o pico 1.....	61
Figura 4.15: Voltamogramas de pulso diferencial para o paraquat em UME-Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	63
Figura 4.16: Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME-Au com as mesmas condições da Figura 4.15, considerando-se o pico 1.....	64

Figura 4.17: Voltamogramas de onda quadrada para o paraquat em UME-Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 250 \text{ s}^{-1}$	66
Figura 4.18: Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME-Au com as mesmas condições da Figura 4.17, considerando-se o pico 1.....	67
Figura 4.19: Múltiplos Voltamogramas de onda quadrada para o paraquat em UME-Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 250 \text{ s}^{-1}$	69
Figura 4.20: Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME-Au com as mesmas condições da Figura 4.19, considerando-se o pico 1.....	70
Figura 4.21: Curvas de trabalho para o paraquat em UME-Au em águas puras e naturais utilizando-se VPD, VOQ e VMOQ.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1: Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em água pura por VPD.....	56
Tabela 4.2: Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em água pura por VOQ.....	59
Tabela 4.3: Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em água pura por VMOQ.....	62
Tabela 4.4: Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em águas naturais por VPD.....	65
Tabela 4.5: Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em águas naturais por VOQ.....	68
Tabela 4.6: Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em águas naturais por VMOQ.....	71
Tabela 4.7: Resultados de DBO e DQO das amostras de águas naturais.....	73
Tabela 4.8: Resultados obtidos com a regressão linear das curvas de trabalho para a detecção do paraquat em UME-Au em águas puras e naturais, utilizando-se VPD, VOQ e VMOQ.....	74
Tabela 4.9: Resultados obtidos com a construção de curvas de trabalho para a detecção do paraquat em UME-Au utilizando-se VPD, VOQ e VMOQ.....	76
Tabela 4.10: Resultados obtidos para os cálculos de limites de detecção usando-se a metodologia utilizada neste trabalho e a recomendada pela IUPAC..	77

LISTA DE SÍMBOLOS

E_p	potencial de pico
a	amplitude de aplicação dos pulsos de potencial
I_c	corrente capacitiva
I_f	corrente faradaica
ΔE	variação do potencial
τ	duração do pulso de potencial
$\tau_{1/2}$	largura do pulso de potencial
f	freqüência de aplicação de pulsos de potenciais
ΔI	corrente resultante
t_i	tempo inicial, antes da polarização do eletrodo
N	número de pulsos dentro de cada degrau de potencial
ΔE_s	incremento de varredura de potencial
ΔE_p	variação de potenciais de pico
$\Delta E_{1/2}$	largura do potencial de pico de meia altura
a	intercepto da curva analítica no eixo y
b	tangente da curva analítica
x	concentração dos padrões
y	resposta do instrumento (sinal analítico)
S_B	desvio padrão do branco
S_b	desvio padrão da tangente
S_a	desvio padrão do intercepto

$S_{y/x}$	desvio padrão estimado de cada ponto do gráfico
S_{x_0}	desvio padrão da concentração determinada
S_{LOD}	desvio padrão do limite de detecção
S_{LOQ}	desvio padrão do limite de quantificação
r	coeficiente de correlação produto-momento
I_p	corrente de pico
v	velocidade de varredura
t	parâmetro de Student
n	número de experimentos realizados
Au	ouro

LISTA DE ABREVIATURAS

DDT	[1,1,1-tricloro-2-bis-(p-clorofelina)-etano]
BHC	hexaclorocicloexano
CNNPA	comissão nacional de normas e padrões para alimentos
ANVISA	agência nacional de vigilância sanitária
PPN	polarografia de pulso normal
PPD	polarografia de pulso diferencial
PPR	polarografia de pulso reverso
VC	voltametria cíclica
VPN	voltametria de pulso normal
VPD	voltametria de pulso diferencial
VOQ	voltametria de onda quadrada
VMOQ	Voltametria de múltiplas ondas quadradas
UME	ultramicroeletrodo
EGM	eletrodo gotejante de mercúrio
LMR	limites máximos de resíduos permitidos
LOD	limite de detecção segundo método Miller & Miller
LOQ	limite de quantificação segundo método Miller & Miller
LD	limite de detecção segundo método IUPAC
LQ	limite de quantificação segundo método IUPAC
IUPAC	união internacional de química pura e aplicada
PA	pureza analítica

GMEME	grupo de materiais eletroquímicos e métodos eletroanalíticos
DBO	demanda bioquímica de oxigênio
DQO	demanda química de oxigênio
LD₅₀	dose letal média

RESUMO

Neste trabalho foi realizado um estudo estatístico do desempenho analítico das técnicas eletroquímicas Voltametria de pulso diferencial (VPD), Voltametria de onda quadrada (VOQ) e Voltametria de múltiplas ondas quadradas (VMOQ) para a redução do herbicida paraquat em ultramicroeletrodo de ouro (UME-Au) e sua análise e quantificação em águas puras e naturais.

Os estudos da redução eletroquímica do paraquat foram realizados em eletrólito de suporte Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{pH} = 5,5$. Os resultados mostraram a presença de dois picos de redução bem definidos, com o pico 1 em $-0,64 \text{ V}$ e o pico 2 em $-0,94 \text{ V vs Ag/AgCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$. Para as análises foi utilizado o pico 1 que é referente a uma reação em solução, onde a superfície eletródica serve apenas como intermediadora na transferência eletrônica.

Utilizando-se os parâmetros experimentais e voltamétricos otimizados, curvas de trabalho foram construídas em eletrólito de suporte preparado com água ultrapurificada. Para a VPD, VOQ e VMOQ, os limites de detecção encontrados utilizando-se o método descrito em Miller & Miller e considerando-se o pico 1 foram: $55,35 \pm 0,18 \mu\text{g L}^{-1}$, $37,50 \pm 0,32 \mu\text{g L}^{-1}$ e $21,42 \pm 0,51 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

A metodologia foi aplicada em amostras de águas coletadas no Rio Mogi-Guaçu na cidade de São Carlos-SP. A variação da inclinação das curvas de trabalho obtida nas análises destas amostras foi praticamente insignificante em relação àquela obtida utilizando-se o eletrólito de suporte preparado com água ultrapurificada para as três técnicas utilizadas, mostrando pouca interferência da matéria orgânica

presente nas amostras de águas naturais. Os menores valores de concentração mensuráveis de paraquat nas amostras de águas naturais foram inferiores ao valor máximo de resíduos permitido pela legislação brasileira para águas residuárias ($100 \mu\text{g L}^{-1}$), mostrando a viabilidade na aplicação da metodologia proposta.

Os cálculos dos limites de detecção e quantificação, a avaliação dos erros experimentais e os limites de confiança foram realizados a partir do procedimento estatístico descrito em Miller & Miller. Os valores de limites de detecção encontrados apresentam um significado físico e realístico para esta grandeza, já que foram determinados por interpolação nas curvas analíticas, construídas a partir da relação entre as concentrações do pesticida e os sinais obtidos. Estes mesmos limites foram calculados utilizando-se o método recomendado pela IUPAC e os valores encontrados foram $29,43 \mu\text{g L}^{-1}$ para VPD, $3,63 \mu\text{g L}^{-1}$ para VOQ e $0,37 \mu\text{g L}^{-1}$ para VMOQ. Estes resultados mostram diferenças de até 2 ordens de grandeza de uma técnica para outra, que se não forem bem avaliados podem levar o analista a conclusões equivocadas.

ABSTRACT

Statistic studies of the analytical performance of Differential pulse voltammetry (DPV), Square wave voltammetry (SWV) and Multiple square wave voltammetry (MSWV) electrochemical techniques was performed for the electrochemical reduction of the paraquat herbicide on an gold ultramicroelectrode (Au-UME), aiming its analysis and quantification in pure and natural waters.

The electrochemical reduction of paraquat was studied in 0.1 mol L⁻¹ Na₂SO₄ support electrolyte in pH = 5.5 . The electrochemical responses showed two well-defined reduction peaks with potentials of -0.64 and -0.94 V vs Ag/AgCl 3.0 mol L⁻¹ for peaks 1 and 2, respectively. The mathematical treatment was performed with data from peak 1, which is associated with a reversible solution reaction, where the electrode surface acts only as the electron transfer mediator.

Working curves were obtained using the optimized experimental parameters in support electrolyte prepared with high purity water. To DPV, SWV and MSWV, the detection limits found for the peak currents associated to peak 1 were: 55.35 ± 0.18 µg L⁻¹, 37.50 ± 0.32 µg L⁻¹ and 21.42 ± 0.51 µg L⁻¹, respectively.

An analogous analytical procedure was applied in water samples collected in Mogi-Guaçu River, in São Carlos County, state of São Paulo. The variation in slope values, between curves obtained from pure water and those from river waters were practically depreciable for the three analytical methods, showing that the organic components and others contaminants present in natural waters caused only a minor interference in the measurements. The lower measurable values for paraquat in water

samples were smaller than the allowed maximum of residue established by the Brazilian legislation for waste waters ($100 \mu\text{g L}^{-1}$), indicating the developed methodology as convenient to such application.

Calculations of detection and quantification limits, the evaluation of experimental errors and the limits of confidence were performed by the statistical procedure reported by Miller & Miller. The obtained detection limits values present a true physical significance, in a realistic order of magnitude, as they were determined by interpolation of the experimental analytical curves. The same analytical curves were submitted to the IUPAC methodology yielding the values of 29.43, 3.63 and $0.37 \mu\text{g L}^{-1}$ para DPV, SWV and MSWV, respectively, for pure water measurements. These results showed a difference up to two orders of magnitude from those obtained by the statistical methodology and may promote false conclusions, if not properly evaluated.

1 – INTRODUÇÃO

Nesta seção apresentamos o contexto histórico da utilização de metodologias no controle de diversas pragas e doenças pela humanidade, desde o surgimento da agricultura, até os dias atuais, e daí a necessidade do desenvolvimento de técnicas aplicadas à análise de pesticidas, enfatizando as suas vantagens e limitações.

Trata ainda das técnicas eletroanalíticas como ferramenta importante para a análise qualitativa e quantitativa dessas substâncias e as vantagens inerentes a elas, com uma breve descrição das técnicas eletroanalíticas utilizadas neste trabalho. E ainda informações gerais sobre classificação, toxicidade e regulamentação sobre a utilização do herbicida paraquat.

Descreve também sobre um aspecto muito importante sob nosso ponto de vista e o objetivo principal deste trabalho, que é o tratamento estatístico dos dados analíticos e finalmente traz uma seleção de trabalhos publicados relatando sobre a determinação eletroquímica do paraquat e outros pesticidas, enfatizando o tratamento dos dados analíticos.

1.1 - Pesticidas

A competição por recursos naturais necessários à sobrevivência de todas as espécies sempre existiu. Neste contexto, a natureza ao longo do processo evolutivo da Terra tem sido capaz de encontrar um ponto de equilíbrio para essa competição, o que tem permitido o desenvolvimento e a coexistência de inúmeras espécies de

organismos. Porém, determinadas situações podem ocasionar desequilíbrio nesse complexo sistema, com conseqüências, muitas vezes, trágicas.

O ser humano, como parte integrante desse meio, também participa dessa permanente competição. Um aumento crescente na população, deve-se ao fato do homem desde o início da civilização ter buscado melhorar suas condições de vida, e a melhoria alcançada tem resultado em uma maior expectativa de vida. Nesse esforço ele, que anteriormente vivia de retirar seu alimento diretamente da natureza por meio da caça, da pesca, da coleta de frutos e outros vegetais, passou a criar várias espécies de animais e a cultivar inúmeras espécies vegetais. Portanto com o advento da agricultura, há aproximadamente 10 000 anos, houve um aumento na densidade populacional de agrupamentos humanos e animais domésticos, e, então, sua relação com os seres com os quais convivia também mudou. O homem começou a estocar grãos, vegetais e carne. Esses estoques passaram a se constituir em excelente fonte de alimentos para essas espécies, que antes se alimentavam de fontes diversas e distantes¹.

Os campos cultivados também se tornaram excelentes fontes de alimento para as mais variadas espécies de insetos, roedores e também alvo do ataque de fungos e bactérias. Essas espécies, devido à grande disponibilidade de alimentos, multiplicaram-se em grande escala, passando, então, a interferir no bem estar dos humanos e, em razão disso, a ser consideradas como pragas. Estas se tornaram, assim, um grande problema para a raça humana, passando a ocupar boa parte da atenção da sociedade¹.

No século XVIII, com o desenvolvimento da agricultura, passando da produção de subsistência, para a comercial, novas práticas agrícolas foram introduzidas.

Iniciou-se a utilização de fertilizantes em grande escala e de máquinas para plantar sementes e para colheita e processamento de alimentos, etc. Com essas mudanças, já na metade do século XIX os problemas com as pragas se agravaram. Assim, no século XIX surgiram os primeiros estudos científicos sistemáticos sobre o uso de compostos químicos para o controle de pragas. Nessa época, a maioria dos produtos utilizados era constituída de compostos inorgânicos, sendo também observado o emprego de extratos vegetais^{1,2}.

No Brasil esses produtos também eram usados e após 1929 (quando se iniciou o predomínio de algodão na região centro-sul, além da cana de açúcar), os produtos mais usados eram os sais de cobre e arsênio, enxofre e cal. Após a 2ª Guerra Mundial, substâncias como o DDT [1,1,1-tricloro-2-bis-(p-clorofelina)-etano] e o BHC (hexaclorocicloexano) passaram a ser importantes na erradicação das pragas. As razões para a introdução dos pesticidas sintéticos no Brasil, deveu-se ao cultivo do café e algodão, nos anos 40 e 50. Nas décadas seguintes, a competição industrial e o aumento da resistência das pragas foram responsáveis pelo progresso na síntese e produção de novos componentes^{1,2}.

Os pesticidas são substâncias usadas para eliminar formas de vida vegetal ou animal indesejáveis nas culturas agrícolas, na pecuária, nas casas e jardins, na saúde pública, no combate de vetores de doenças transmissíveis, etc.

Segundo a resolução 12/74 da antiga Comissão Nacional de Normas e Padrões para alimentos (CNNPA) do Ministério da Saúde, pesticida é: “substância (ou mistura de substâncias) destinada a prevenir a ação, ou destruir direta ou indiretamente insetos, ácaros, roedores, fungos, nematóides, ervas daninhas, bactérias e outras formas de vida prejudiciais à lavoura, à pecuária, a seus produtos

e outras matérias primas” ; incluem-se os desfolhantes, os dissecentes e as substâncias reguladoras do crescimento vegetal².

Atualmente, aproximadamente 600 ingredientes ativos são utilizados mundialmente na formulação de pesticidas e estão registrados para o uso específico na agricultura. Destes 350 contribuem com 98% dos pesticidas utilizados, sendo que 80% deles são rotineiramente usados na agricultura de países da América do Sul, como o Brasil³. Esses pesticidas abrangem uma ampla variedade de substâncias químicas com diferentes grupos químicos, com diferentes modos de ação, biotransformação e eliminação. Dentre essas classes de substâncias podemos citar os compostos organoclorados, carbamatos, organofosforados, piretróides, bipiridílios, triazinas e clorofenóis. A maior parte destes compostos pode causar riscos à saúde humana e ao meio ambiente, que, na maioria das vezes, não são aparentes ou conhecidos⁴.

Segundo estudo realizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), somente no ano de 98 foram gastos 2,6 bilhões de dólares na comercialização de pesticidas no Brasil, onde o país aparece como o quarto produtor mundial de pesticidas. O meio-ambiente recebeu uma descarga de 101 milhões de litros de fungicidas, herbicidas e inseticidas, e somente os herbicidas, que são muito utilizados nas plantações de soja, representam dois terços da quantidade total⁵. Quando utilizados, em diversas culturas os pesticidas são levados para o solo pela água da chuva ou irrigação e aí podem ser degradados por luz solar, calor ou mesmo ocorrer interações com as partículas do solo, gerando produtos tóxicos ou não. Podem ser absorvidos pelo solo, ou serem levados pelas enxurradas para os rios e reservatórios naturais de água e, também, podem atingir os lençóis subterrâneos de

água, contaminando-os e conseqüentemente comprometendo o seu uso⁶. Apesar de esforços realizados para se desenvolver métodos alternativos de controle de pragas, como o controle biológico, nada indica que, num curto prazo de tempo, os pesticidas sejam substituídos por métodos totalmente biológicos. Todavia, torna-se necessário, ainda hoje, estudar os efeitos desses produtos e monitorar os níveis de resíduos no meio ambiente, de modo que sejam eficientemente utilizados para atenuar seus efeitos negativos⁷.

As técnicas tradicionalmente utilizadas na análise de pesticidas são as cromatográficas, destacando-se as cromatográficas gasosa e líquida. Essas técnicas são precisas, sensíveis e seletivas, porém são trabalhosas e relativamente caras. Diante destas desvantagens, surge a necessidade de se desenvolver técnicas mais rápidas, mais baratas e tão sensíveis quanto às técnicas cromatográficas⁷.

1.2 – Métodos empregados na análise de pesticidas

A análise de resíduos de pesticidas em amostras ambientais e em diferentes meios é comumente realizada utilizando-se técnicas cromatográficas. Estas constituem um conjunto de técnicas relacionadas à separação e análise de uma larga variedade e tipos de espécies em diferentes matrizes.

A importância atribuída a estas técnicas na análise ambiental refere-se à facilidade em efetuar as separações, identificar e quantificar as espécies presentes na amostra por meio de detectores específicos a cada tipo de analito. A quantificação pode ser realizada utilizando-se somente os detectores cromatográficos ou em conjunto com outros métodos, como os espectroscópicos e eletroanalíticos.

A aplicação de técnicas cromatográficas requer a utilização de algumas etapas de preparação da amostra antes que ela possa ser analisada, evitando assim os interferentes e, principalmente, a contaminação da coluna cromatográfica. Esta etapa de preparação da amostra é longa e complexa, o que propicia um aumento no tempo de análise, e conseqüentemente uma elevação nos custos operacionais. Ainda pode não ser uma técnica qualitativamente eficiente, necessitando assim, de técnicas auxiliares para a segurança na identificação das espécies presentes na amostra⁸.

Desta forma, surge a necessidade de se desenvolver técnicas mais rápidas, baratas e tão sensíveis quanto às técnicas cromatográficas.

As técnicas eletroanalíticas surgem como uma ferramenta importante para a análise qualitativa e quantitativa de pesticidas. A principal vantagem dessas técnicas é a possibilidade da medida ser efetuada diretamente na amostra sem separações prévias, sendo possível a análise de materiais coloridos ou amostras contendo partículas sólidas dispersas⁹.

A rapidez na realização das análises, o baixo custo na instrumentação e dos materiais utilizados quando comparados aos utilizados nos métodos cromatográficos e a sensibilidade em relação à presença de interferentes, fez com que as técnicas eletroanalíticas pudessem ser utilizadas com sucesso na análise de resíduos de pesticidas em água, solo, alimentos e até mesmo em fluidos biológicos^{10,11}.

Atualmente, com o desenvolvimento tecnológico e conseqüente desenvolvimento na instrumentação eletroanalítica, os limites de detecção determinados por esses métodos já podem ser comparados aos dos métodos cromatográficos, quando se utilizam técnicas de pulso e de redissolução.

1.3– Técnicas eletroanalíticas

As técnicas eletroanalíticas basicamente são a resposta, em termos de variação de corrente que circula pelo circuito eletrônico de medida, a uma referida variação de potenciais aplicados ao eletrodo de trabalho⁷.

Estas técnicas estão sendo cada vez mais utilizadas em diferentes áreas do conhecimento, tais como, medicina, bioquímica, biologia molecular, química ambiental e físico-química¹², com o objetivo de se obter informações fundamentais sobre as propriedades das substâncias. Estudos de processos de oxidação e redução em diferentes meios, de adsorção em superfícies e de mecanismo de transferência de elétrons, utilizando-se inclusive eletrodos modificados, nos dão uma idéia das inúmeras aplicações atuais das técnicas eletroanalíticas¹³. A sua utilização depende da presença, na estrutura do composto a ser analisado, de grupos ou sítios eletroativos que são os grupos passíveis de sofrerem processos de redução e ou oxidação. Contudo, é possível tornar um composto não eletroativo em um composto eletroativo, pela substituição ou adição de um grupo eletroativo, eliminando desta forma uma das limitações ao uso destas técnicas.

O trabalho de Hance¹⁴ em 1970 foi um marco ao uso destes métodos. Em seu estudo, mostrou o comportamento eletroquímico de 35 herbicidas em 5 eletrólitos suportes diferentes e observou que destes, 28 apresentavam eletroatividade em algum dos eletrólitos usados.

A partir daí, as inúmeras informações que podem ser obtidas com a análise dos resultados fornecidos pelas técnicas eletroanalíticas, começaram a ser intensamente exploradas.

1.3.1 – Técnicas de Pulso

O avanço tecnológico resultante da evolução da informática, propiciou o desenvolvimento de técnicas eletroanalíticas, principalmente, pela viabilização da instrumentação eletroquímica. O interfaceamento com equipamentos eletroquímicos possibilitou o controle digital da perturbação imposta ao eletrodo de trabalho, assim como da medida do sinal resultante, e com o conseqüente desenvolvimento das técnicas voltamétricas, em especial das técnicas de pulso que, na década de 50, começaram a substituir as técnicas polarográficas até então utilizadas¹⁵.

As técnicas de pulso estão baseadas na cronoamperometria, isto é, na medida da corrente elétrica em função do tempo de aplicação de um respectivo pulso de potencial. Tanto a largura do pulso quanto o degrau de potencial que é aplicado no eletrodo para promover o processo faradaico estão relacionados com as características da corrente medida¹⁶.

Nestas técnicas, a perturbação do potencial do eletrodo não é uma função linear do tempo do experimento, sendo que o modo da variação de potencial segue uma seqüência de pulsos de potenciais, cujas respostas de corrente obtidas dependem de como estes pulsos são aplicados. Justamente essa diferença na maneira como são aplicados os pulsos é que define as características básicas de cada uma destas técnicas¹⁷. Algumas dessas técnicas de pulso são: polarografia de pulso normal (PPN), polarografia de pulso diferencial (PPD), polarografia de pulso reverso (PPR), voltametria de pulso diferencial (VPD), voltametria de onda quadrada (VOQ), voltametria múltipla de onda quadrada (VMOQ), entre outras.

Neste trabalho foi realizado um estudo comparativo entre os desempenhos analíticos das técnicas eletroanalíticas voltametria de pulso diferencial (VPD), voltametria de onda quadrada (VOQ) e voltametria de múltiplas ondas quadradas (VMOQ), utilizando a resposta de redução do herbicida paraquat sobre ultramicroeletrodo de ouro (UME-Au).

1.3.1.1 – Voltametria de pulso diferencial

Esta técnica foi desenvolvida originalmente para o eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) por Barker e Gardner em 1960. Como mostra a figura 1.1 o potencial aplicado é o produto da superposição periódica de pulsos de amplitude constante sobre uma rampa linear de potencial. A medida da corrente é feita em dois pontos a cada pulso, consecutivamente: um imediatamente antes da aplicação do pulso e outro próximo ao fim deste. A primeira corrente é a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é a contribuição da corrente faradaica que subtraídas e, então, graficadas contra o potencial da rampa linear, originam um voltamograma de pulso diferencial, com a forma de uma curva gaussiana¹⁸.

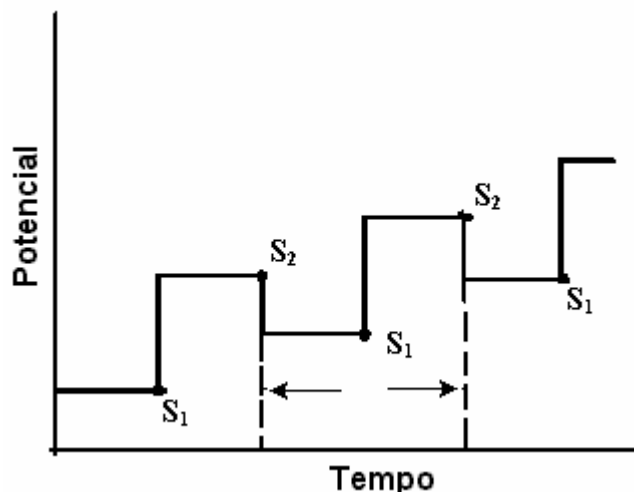


Figura 1.1: Representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo em VPD, onde S_1 é o primeiro intervalo imediatamente antes da aplicação do pulso e S_2 é o segundo intervalo após a aplicação do pulso.

O potencial de pico (E_p) é uma característica da espécie em estudo, e também do meio (pH, natureza do eletrólito de suporte, temperatura etc).

Além de estar relacionada à concentração do analito, a altura do pico também é função da amplitude do pulso aplicado a . No entanto, valores mais elevados de amplitude afetam a resolução de picos vizinhos por ficarem mais largos. Um valor típico de amplitude, adotado para VPD, é de 50mV, pois nesse valor ocorre uma relação favorável entre sensibilidade e resolução.

A principal vantagem desta técnica é o baixo limite de detecção que pode ser obtido: dependendo do analito entre 10^{-7} a 10^{-8} mol L⁻¹. Uma outra característica também vantajosa é a curva em forma de pico, que oferece maior segurança na medida da corrente e na localização do potencial de pico¹⁹.

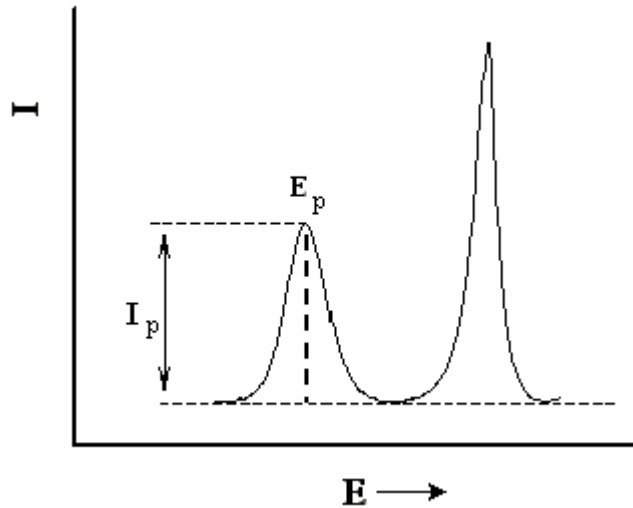


Figura 1.2: Voltamograma esquemático de pulso diferencial.

A diferenciação entre as correntes capacitiva e faradaica que a técnica permite, é o fator responsável pelo significativo aumento na sensibilidade que ela apresenta comparada à voltametria de corrente contínua. A brusca variação no potencial, pela aplicação do pulso, faz com que ocorra simultaneamente uma repentina alteração na corrente que flui pelo eletrodo de trabalho, cujas principais componentes são a corrente capacitiva (i_c) e a corrente faradaica (i_f).

1.3.1.2 – Voltametria de Onda Quadrada

A voltametria de onda quadrada (VOQ) é uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas e sensíveis. Os valores de limites de detecção podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Além disso, a análise dos parâmetros característicos desta técnica também possibilita a avaliação cinética e mecanística do processo eletródico em estudo¹⁸.

Em 1969, Ramaley e Krause^{20,21}, com base nos trabalhos de Barker, desenvolveram a teoria da VOQ, porém utilizaram eletrodos estacionários, eliminando assim a influência dos ruídos intensificados pelo uso do capilar de mercúrio. Contudo, as varreduras de potenciais eram limitadas para pequenos valores de amplitude, e conseqüentemente, baixas velocidades de varreduras, o que provoca uma perda de sensibilidade analítica.

Já em 1977, Christie, Turner e Osteryoung^{22,23}, analisaram estas limitações e chegaram ao modelo mais atual de VOQ, onde as varreduras de corrente em função dos pulsos de potenciais aplicados são feitas em velocidades superiores a 100 mV s^{-1} , e as medidas de corrente sendo realizadas apenas ao final do pulso de potencial, onde a magnitude da corrente capacitiva já está minimizada. Esta metodologia possibilitou uma sensível melhora na sensibilidade da técnica, tornando mais viável sua aplicação para análises. O tratamento dado por eles, possibilitava a utilização de eletrodos não-planares, o que não foi considerado anteriormente.

Atualmente na VOQ, a forma da curva de corrente-potencial é originada da aplicação de potenciais de altura α , (amplitude do pulso de potencial), que variam de acordo com uma escada de potenciais e com largura $\tau/2$ (largura do pulso de potencial) e duração τ (período). Na curva de potencial-tempo, a largura do pulso ($\tau/2$) e a frequência de aplicação dos pulsos são chamados de t e f , respectivamente, onde f é dada por ($1/t$). As medidas de corrente são feitas ao final dos pulsos diretos e reversos e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante (ΔI) de forma diferencial, e apresenta excelente sensibilidade e baixa influência de correntes capacitivas. Esta medida é precedida de um tempo inicial (t_i), que é onde o eletrodo

de trabalho é polarizado a um potencial onde a reação redox não ocorre²⁴. A Figura 1.3 apresenta a forma de aplicação de potencial típica da VOQ.

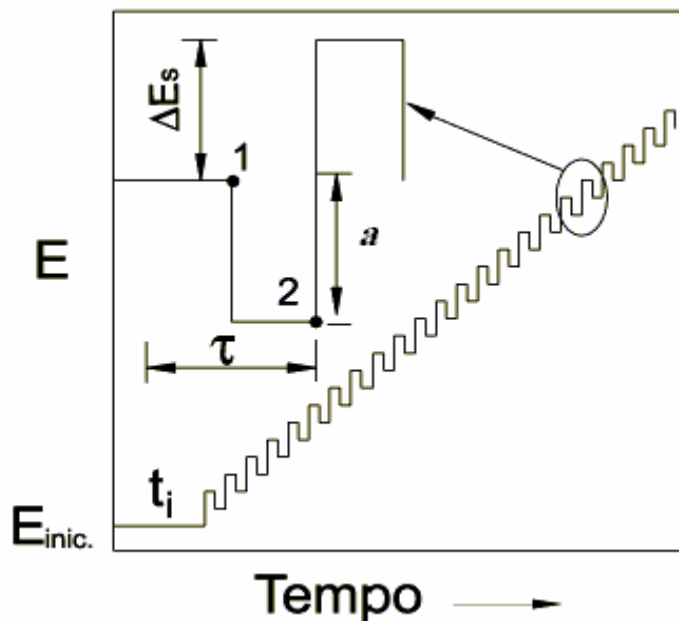


Figura 1.3: Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada

Os voltamogramas teóricos associados a: (1) um sistema reversível e (2) um sistema irreversível, com a separação observada das correntes direta, inversa e resultante, são apresentados na Figura 1.4, sendo que todos possuem perfis voltamétricos semelhantes aos que eram obtidos na polarografia de onda quadrada.

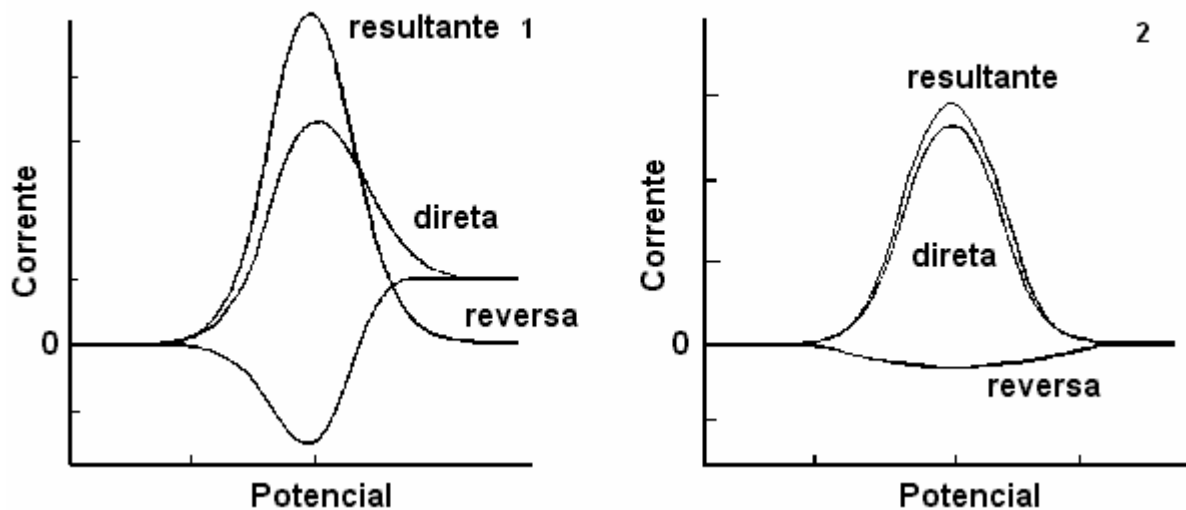


Figura 1.4: Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada onde 1) representa um processo redox de um sistema reversível e 2) de um sistema irreversível

As curvas de corrente-potencial apresentam perfil bem definido e são, em geral, simétricas, já que as correntes são medidas no final de cada semiperíodo e as variações na altura e na largura do pulso de potencial são sempre constantes, para um determinado intervalo de potenciais.

Dentre as vantagens apresentadas pela VOQ, do ponto de vista prático, poderíamos destacar a possibilidade de se obter correntes de pico bem definidas em experimentos realizados em alta velocidade de varredura, com melhora na sensibilidade da técnica. E ainda, por tratar-se de uma técnica de pulso, a corrente faradaica pode ser coletada em um intervalo de tempo adequado para que a contribuição da corrente capacitiva tenha se minimizado.

1.3.1.3 – Voltametria de Múltiplas Ondas Quadradas

Como já citado anteriormente, as inovações na instrumentação eletroanalítica, obtidas a partir do desenvolvimento de compostos eletrônicos modernos, possibilitaram o uso de técnicas capazes de aumentar ainda mais a razão sinal-ruído e diminuir, assim, a concentração detectável de espécies orgânicas e inorgânicas em diferentes matrizes, utilizando variadas superfícies eletródicas, incluindo microeletrodos que originam correntes na faixa de nano e pico ampères²⁵.

Portanto, os limites de detecção obtidos pela VOQ podem ser ainda melhorados utilizando-se a voltametria de múltiplas ondas quadradas (VMOQ).

A VMOQ é uma técnica de múltiplos pulsos de potenciais baseada na tradicional voltametria de onda quadrada^{26,27}. A maneira de aplicação de potencial nesta técnica é similar à voltametria de onda quadrada, mas com a diferença de que para cada degrau de potencial podem ser aplicados mais de um par de pulsos de potencial de sinais opostos. Em poucos segundos o pico voltamétrico é produzido a partir da diferença das somas de cargas medidas durante os períodos diretos e reversos, possibilitando a obtenção de correntes maiores que as obtidas com quaisquer técnicas de pulso convencionais^{28,29}.

A Figura 1.5 apresenta o modo de aplicação de potencial na VMOQ, onde N é o número de pulsos dentro de cada degrau de potencial, $1/f$ a duração total dos pulsos em um mesmo degrau de potencial, a representa a amplitude dos pulsos e ΔE_s a altura do degrau ou incremento de varredura de potencial.

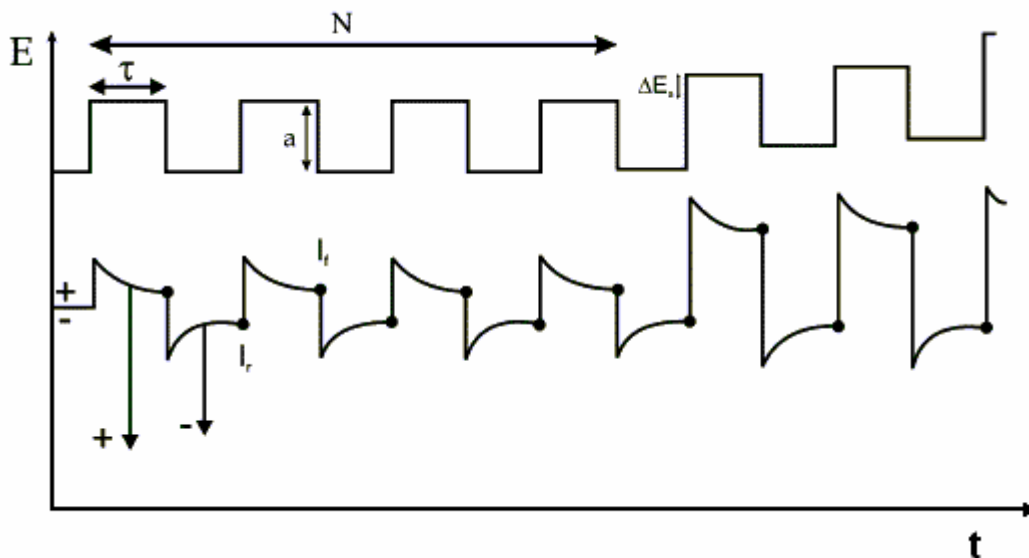


Figura 1.5: Modo de aplicação de potencial na VMOQ como foi utilizado neste trabalho

A VMOQ não pode substituir a VOQ, mas a complementa, já que a otimização dos parâmetros voltamétricos é realizada utilizando-se a VOQ. Após esta otimização, as respostas obtidas com o uso da VMOQ apresentam melhor relação sinal/ruído e podem ser obtidas em velocidades superiores àquelas empregadas por técnicas de pulso convencionais.

1.4- O herbicida paraquat

O paraquat (1,1-dimetil-4,4-dicloreto de dipiridílio), um herbicida de contato não-seletivo, é amplamente utilizado em mais de cem países em culturas de fumo, algodão, arroz, café, cana-de-açúcar, feijão, maçã, soja e uva, entre outras³⁰.

Também conhecido como *metil-viologeno*, é um herbicida pertencente à classe toxicológica I, onde estão agrupadas substâncias com propriedades extremamente tóxicas ao ambiente e à saúde humana. Na Figura 1.6 é apresentada a fórmula estrutural do herbicida paraquat.

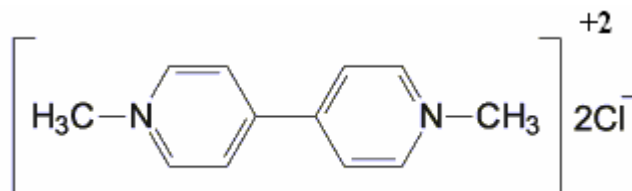


Figura 1.6: Fórmula estrutural do herbicida paraquat.

O paraquat não existe em estado natural. Widel e Russo foram os responsáveis por sua síntese, e publicaram seus trabalhos em 1882. Contudo, as propriedades herbicidas do paraquat só foram descobertas em 1955³¹, e sua utilização começou em 1962³². Sua classe química, um dipiridílio, possui poucos representantes como o diquat, o benzoquat e o difenzoquat.

Os primeiros casos fatais relacionados com a substância foram acidentais e ocorreram em 1964, mas só foram relatados em 1966³³. No organismo humano, acumula-se principalmente nos pulmões, onde aparece o radical paraquat. Nesse órgão, o paraquat sofre uma redução por um elétron com a flavoenzima *NADPH – citocromo P450 reductase*. O radical formado juntamente com o oxigênio presente nos pulmões rapidamente auto oxida produzindo um ânion radical superóxido que regenera o paraquat. A repetição dos ciclos de redução e re-oxidação do paraquat nos pulmões podem ocorrer, produzindo uma grande quantidade de espécies de

oxigênio reativo, gerando o stress oxidativo, que pode levar o indivíduo à morte em aproximadamente 30 dias após a ingestão³⁴.

Em animais, a dose letal média (LD₅₀) oral varia de 22 a 262 mg/Kg, dependendo da espécie³⁵. Em humanos, não existe consenso, mas sabe-se que a ingestão de 10 a 15 mL de uma solução a 20%, concentração na qual o produto normalmente é comercializado, seria suficiente para provocar intoxicações fatais, embora existam relatos de fatalidades provocadas pela ingestão de apenas 1 mL dessa solução³⁶.

Em geral, é comercializado como Gramoxone[®], Gramoxil[®], Agroquat[®], Gramuron[®], Paraquat[®] e Paraquol[®], ou também como parte em misturas com outros princípios ativos, como no Secamato[®]³⁷.

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) por meio da Portaria n° 10 de 08 de março de 1985, define a legislação específica para a utilização do paraquat em agropecuária em geral. Define ainda os limites máximos de resíduos permitidos (LMR) para a maior parte das culturas onde seu uso é liberado³⁸.

Apesar de toda a regulamentação, o uso abusivo e descontrolado do paraquat pode ocasionar a contaminação dos mananciais de água devido à sua elevada solubilidade (700 g/L). Em geral é pouco absorvido pelo solo. Surge assim, a necessidade de metodologias de análise e quantificação de seus resíduos em amostras de água de abastecimento, superficiais e subterrâneas.

A determinação, na prática do paraquat tem sido feita por diferentes técnicas analíticas como: espectrofotometria³⁹, análise em fluxo⁴⁰, cromatografia líquida com detector de massa⁴¹, polarografia⁴² e imunoensaios⁴³.

Eletroquimicamente, ele tem sido investigado em várias superfícies eletródicas, incluindo eletrodos sólidos⁴⁴, microeletrodos⁴⁵, eletrodos de mercúrio⁴² e eletrodos quimicamente modificados⁴⁶.

Neste trabalho utilizamos o ultramicroeletrodo de ouro (UME-Au) nas análises do pesticida, tanto em água pura, como em águas naturais. A escolha do UME-Au foi feita em função de algumas de suas propriedades singulares, como a alta velocidade no transporte de massa, baixa sensibilidade à queda ôhmica e elevada relação corrente faradaica/corrente capacitiva⁴⁷.

1.5– O tratamento dos dados analíticos

A Química Analítica moderna tem um caráter essencialmente quantitativo. Mesmo quando uma resposta qualitativa é solicitada, métodos quantitativos têm de ser empregados para obtê-la. Nenhum resultado quantitativo tem qualquer valor, a menos que ele seja acompanhado de alguma estimativa dos erros inerentes. Um conhecimento dos erros experimentais é crucial para interpretação inequívoca dos resultados. Os estatísticos dizem que erros randômicos afetam a precisão ou a reprodutibilidade de um experimento, enquanto que os erros sistemáticos afetam a exatidão, isto é, a proximidade do valor real⁴⁸.

A análise instrumental oferece a possibilidade de se experimentar um grande intervalo de concentrações, ao invés de uma única amostra medida repetidas vezes. Isso significa que os resultados obtidos são calculados e os erros envolvidos avaliados.

Quando um analista utiliza uma série de amostras, nas quais a concentração do analito é conhecida, esses padrões de calibração são medidos no instrumento analítico sob as mesmas condições do que aquelas a serem utilizadas para o teste de uma solução desconhecida.

Uma vez que o gráfico de calibração foi obtido, a concentração do analito em qualquer análise é obtida, por interpolação⁴⁸.

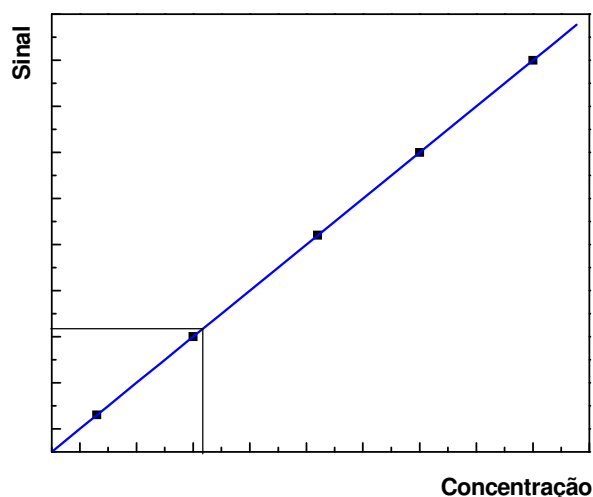


Figura 1.7: Gráfico de calibração

Esse procedimento geral dá origem a uma série de importantes questões estatísticas:

- i) A curva de calibração é linear? Se não for linear, qual é a sua forma?
- ii) Considerando-se que cada ponto, na curva de calibração, é sujeita a erros, qual é a melhor reta (ou curva) que passa por esses pontos?

- iii) Assumindo que a curva de calibração é realmente linear, quais são os erros estimados e os limites de confiança para a tangente e o intercepto desta linha?
- iv) Quando a curva de calibração for usada pelo analista numa determinação de uma amostra, quais são os erros e limites de confiança para a concentração encontrada?
- v) Qual é o limite de detecção do método? Isto é, qual é a menor concentração do analito que pode ser detectada com um nível de confiança pré-determinado.

Alguns aspectos devem ser considerados ao se graficar curvas de calibração. Inicialmente, é importante que os padrões de calibração cubram todo o intervalo de concentração requerido para a análise posterior. As concentrações das amostras são normalmente determinadas por interpolação, e não por extrapolação⁴⁸.

É de importância crucial incluir o valor para uma amostra do “branco” na curva de calibração. O “branco” não contém qualquer quantidade de analito deliberadamente adicionado, mas contém os mesmos solventes, reagentes, etc., do que as outras amostras e é sujeito exatamente ao mesmo procedimento analítico que as amostras.

O sinal do instrumento lido para a amostra do “branco” freqüentemente não será zero. Ele é, naturalmente, sujeito a erros, como todos os outros pontos da curva de calibração.

Finalmente, deve-se notar que a curva de calibração deve ser plotada sempre com a resposta do instrumento na vertical (y) e com as concentrações dos padrões na horizontal (x). Os procedimentos descritos neste trabalho assumem que todos os

erros estão na direção y e que as concentrações padrão (valores de x) estão livres de erros.

1.6 - Determinação eletroanalítica do paraquat e outros pesticidas e o tratamento dos dados analíticos

Análises do paraquat e outros pesticidas em matrizes ambientais e diferentes meios têm sido realizadas utilizando-se várias técnicas. Nesta revisão, destacaremos as técnicas eletroanalíticas no estudo destas substâncias e as metodologias usadas no tratamento dos dados analíticos.

Oliveira *et al.*⁴⁹ apresentaram uma avaliação de um eletrodo de carbono vítreo recoberto com filme de Nafion[®], para a determinação de paraquat em águas de rio e urina por voltametria de pulso diferencial. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram avaliados utilizando-se a relação $LD = 3S_B / b$, onde S_B é o desvio padrão de 10 picos de correntes medidas do branco e b é a tangente da curva analítica.

No trabalho de De Souza e Machado⁴⁵ verificou-se o comportamento eletroquímico do paraquat em água pura sobre microeletrodos de platina, ouro e fibra de carbono utilizando-se voltametria de onda quadrada em altas frequências. Destacou-se a importância em se trabalhar com altas frequências de aplicação de pulsos utilizando os microeletrodos, já que esses valores de frequência são praticamente impossíveis de se alcançar com eletrodos tradicionais devido, principalmente, às correntes capacitivas obtidas. A dependência linear das correntes de pico com a concentração de pesticida em solução, possibilitou a construção de

curvas de trabalho para o paraquat sobre as três superfícies diferentes e o cálculo dos limites de detecção para os dois picos de redução foi avaliado pela relação $LD = 3S_B / b$, onde S_B é o desvio padrão da média de medidas do branco (média de 8 voltamogramas), tomadas no potencial equivalente àquele do pico da redução do paraquat e b é a inclinação da reta de trabalho.

Massaroppi *et al.*⁵⁰ usaram a voltametria de onda quadrada para a determinação eletroanalítica do picloram em meio aquoso. Uma aplicação prática foi levada a efeito, com amostras de águas contaminadas artificialmente com o herbicida. Estas amostras consistiam de água pura e de três diferentes amostras, coletadas em três diferentes riachos da região, dois dos quais eram altamente poluídos com efluentes domésticos e industriais. Os limites de detecção (LD) foram calculados considerando a média de dez voltamogramas para soluções do branco por meio da equação $LD = 3S_B / b$.

De Souza *et al.*⁵¹ utilizaram a múltipla voltametria de onda quadrada para a determinação eletroanalítica do herbicida paraquat com microeletrodos de ouro em diferentes amostras de águas naturais, alimentos, e bebidas. O estudo mostrou que a aplicação de múltiplos pulsos em um mesmo degrau de potencial permitiu a detecção do pesticida em nível nanomolar depois da otimização das condições voltamétricas e experimentais. Curvas analíticas foram construídas para os dois picos de redução do herbicida, onde as correntes de pico foram diretamente proporcionais à concentração do pesticida que variou de $5,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Os limites de detecção e quantificação encontrados em eletrólito puro foram de 0,044 ppb, 0,360 ppb e 0,146 ppb e 1,199 ppb, para os picos 1 e 2

respectivamente, sendo usadas as mesmas relações já mencionadas nos outros trabalhos desta revisão para a determinação de tais valores.

Melgar e Machado⁵² avaliaram o conteúdo do inseticida Fenitrothion em três diferentes formulações comerciais utilizando a voltametria de onda quadrada com o eletrodo de gota suspensa de mercúrio. Em princípio, as determinações do pesticida foram feitas em uma solução tampão BR (pH 10,5) preparada com água pura. Nestas soluções os limites de determinação e quantificação encontrados foram 1,44 ppb e 4,80 ppb, respectivamente. Tais limites foram obtidos com as equações recomendadas pela IUPAC, já mencionadas nos outros trabalhos desta revisão. Numa próxima etapa amostras de Periphos CE[®], Sumithion UBV[®] e Sumithion 500 CE[®] foram diluídas e os conteúdos de Fenitrothion avaliados pelo método de adição de padrão.

El Mhammedi *et al.*⁵³ utilizaram o mesmo método eletroanalítico que os autores acima citados para a determinação de traços de paraquat utilizando eletrodo de pasta de carbono modificado com fosfato natural. A resposta do herbicida frente a este eletrodo relacionou-se com: a concentração do herbicida, o tempo de pré-concentração, o recobrimento do eletrodo com fosfato natural e com as medidas de pH em solução. O limites de detecção ($LD = 3S_B / b$) e quantificação ($LQ = 10S_B / b$) para o pico 1 foram $7,80 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,59 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente, em eletrólito puro. O método proposto foi aplicado para a determinação de paraquat em amostras de águas naturais com resultados satisfatórios.

Interações entre os pesticidas atrazina, imazaquin, metribuzin e paraquat foram investigadas por Filho *et al.*⁵⁴ com o polímero condutor poli-(*o*-etoxianilina)-POEA, utilizando-se as técnicas de microscopia de força atômica (MFA),

espectrofotometria de ultravioleta visível (UV-vis) e espectroscopia de impedância eletroquímica, onde por meio de medidas elétricas realizadas com um sensor formado por filme de POEA, foi possível distinguir e determinar os limites de detecção (IUPAC) dos pesticidas em solução aquosa, cujos valores encontrados foram: 0,008 mg L⁻¹ para a atrazina; 0,005 mg L⁻¹ para o imazaquin; 0,044 mg L⁻¹ para o metribuzin e 3,612 mg L⁻¹ para o paraquat.

Hernández-Olmos *et al.*⁵⁵ estudaram o comportamento eletroquímico do pesticida thiram, um carbamato, utilizando voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada em eletrodo de microdisco de ouro e microeletrodos cilíndricos de fibra de carbobo (CFMEs) em baixas concentrações de solventes orgânicos como o tolueno e o acetato de etila. As respostas de oxidação obtidas por VOQ em CFMEs em acetato de etila foram analiticamente adequadas para a determinação de pequenos níveis de concentração de thiram. Um gráfico linear de calibração foi obtido para o intervalo de concentração do pesticida entre $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $6,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. O limite de detecção de thiram foi de $4,3 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, onde foram adotadas recomendações da IUPAC para esta determinação. Neste trabalho foram analisados extratos de uvas, fungicidas comerciais e preparações farmacêuticas contendo o pesticida.

Zen *et al.*⁵⁶ desenvolveram um eletrodo modificado com Nafion[®] (NCME) para a determinação de paraquat por voltametria de onda quadrada de redissolução catódica. Curvas de calibração linear foram obtidas para um intervalo de concentração do paraquat entre 0 – 80 ppb, com um limite de detecção de 0,5 ppb, que foi determinado utilizando a mesma relação utilizada nos outros trabalhos citados nesta revisão, em solução fosfato (pH = 8) com período de pré-concentração de 4 min. Foram investigados vários fatores que pudessem influenciar na

determinação do pesticida. A metodologia desenvolvida neste estudo foi utilizada para análise do pesticida em amostras reais de água.

A determinação eletroquímica do paraquat foi realizada utilizando-se a técnica de análise de injeção em fluxo (BIA) por Simões *et al.*⁵⁷, onde os resultados mostraram que o herbicida pode ser detectado em níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$ com pequenos volumes injetados da amostra ($< 100 \mu\text{L}$), com tempo inferior a 2 segundos para cada medida. Rapidez nas análises, alta reprodutibilidade e boa sensibilidade são algumas vantagens apontadas para o método utilizado. O tratamento de dados foi semelhante aos dos outros trabalhos abordados nesta revisão.

Lopes *et al.*⁵⁸ aplicaram um eletrodo comum de grafite pirolítico modificado por metaloftalocianina aliado à voltametria de onda quadrada no estudo do comportamento eletroquímico do paraquat e no desenvolvimento de um método para a determinação analítica do herbicida em amostras naturais de água.

Estudos mostraram que $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ftalocianina de cobalto com um tempo de adsorção de 10 min foram suficientes para obter confiabilidade e estabilidade da modificação para o emprego do eletrodo no desenvolvimento do procedimento analítico para a determinação do analito em águas naturais⁵⁸.

Otimizados os parâmetros experimentais e voltamétricos, a variação na concentração do paraquat entre $5,00 \times 10^{-7}$ e $2,91 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ mostrou uma relação linear, com limites de detecção e quantificação de 26,53 e 88,23 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, e foram calculados pela relação recomendada pela IUPAC⁵⁸.

Esta revisão nos permite concluir que as técnicas eletroanalíticas têm sido utilizadas com sucesso na análise do paraquat e outros pesticidas em diferentes matrizes.

O estabelecimento de relações diretas entre a concentração do analito e algumas das propriedades elétricas como corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga elétrica; a possibilidade das medidas serem realizadas diretamente na amostra, sem necessidade de etapas de pré-purificações; o curto tempo na realização das análises; o baixo custo da instrumentação e dos materiais utilizados, se comparados às técnicas cromatográficas e espectroscópicas; a baixa sensibilidade em relação à presença de interferentes, são vantagens que fazem com que elas sejam cada vez mais intensamente utilizadas. Em alguns trabalhos foram encontrados limites de detecção tão baixos que podem ser comparados aos das técnicas tradicionalmente utilizadas na análise de compostos orgânicos e inorgânicos em diferentes amostras.

No tratamento dos dados analíticos, na maioria dos trabalhos não houve a preocupação com a avaliação dos erros e limites de confiança dos resultados experimentais. Os limites de detecção e quantificação foram calculados utilizando-se o sinal do “branco”, e é importante ressaltar que o “branco” não contém qualquer quantidade do analito deliberadamente adicionado.

2 – OBJETIVOS

Considerando-se o caráter quantitativo da Química Analítica moderna e a importância no tratamento dos dados analíticos, neste trabalho se propõe a utilização de uma metodologia de análise do herbicida paraquat em águas puras e naturais por meio da comparação do desempenho eletroanalítico das técnicas de pulso, voltametria de pulso diferencial, voltametria de onda quadrada e voltametria múltipla de onda quadrada e realizar o tratamento estatístico dos dados, levando-se em consideração as estimativas dos erros inerentes e os limites de confiança na avaliação dos resultados obtidos.

Pretende-se ainda, a determinação dos limites de detecção e quantificação por meio das curvas de calibração, onde serão considerados todos os pontos utilizados para a confecção das curvas, com seus respectivos erros, e incluído o valor para uma amostra do “branco” nesta avaliação.

Pretende-se também, comparar o método de tratamento estatístico dos dados com o método recomendado pela IUPAC.

3 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Nesta seção são apresentados, a instrumentação, os materiais e os reagentes utilizados nas análises do pesticida paraquat. Também é apresentada a metodologia utilizada no tratamento estatístico dos dados analíticos.

3.1 – Instrumentação

Os experimentos voltamétricos foram realizados em dois potenciostatos, um Voltalab modelo PGZ 402 da Radiometer Analytical, acoplado a um microcomputador AMD K6-2 500 MHZ, com uma interface serial do tipo RS 232 e o software eletroquímico Voltmaster 4.05 também da Radiometer Analytical, e um Potenciostato/ Galvanostato, modelo 273A EG&G PARC acoplado a um microcomputador dotado com o programa M-270 também da PARC.

Uma politriz da Struers modelo DPU 10 da Panambra Ind. Técnica S/A foi utilizada para o polimento do ultramicroeletrodo.

A limpeza da superfície do UME-Au após o polimento, foi efetuada utilizando-se um equipamento de ultrasom da Thornton.

A observação da superfície do UME-Au foi realizada utilizando-se um Microscópio Óptico modelo PME Olympus Tokyo.

Uma gaiola de Faraday, construída em aço inox e revestida internamente com filme plástico foi utilizada para a minimização dos ruídos.

3.2 – Cella eletroquímica e eletrodos

Foi utilizada nos experimentos uma cela eletroquímica construída em vidro e com capacidade para 25 mL, juntamente com uma tampa de Teflon[®], construída especificamente para o encaixe do UME-Au e o eletrodo de referência. A Figura 3.1 apresenta um esquema da cela eletroquímica utilizada durante as análises.

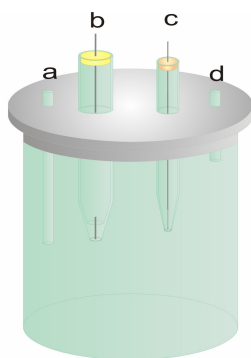


Figura 3.1: Cella eletroquímica utilizada, com: (a) entrada de N₂, (b) eletrodo de referência, (c) UME-Au e (d) saída de N₂.

O eletrodo de referência utilizado foi Ag/AgCl em KCl 3,0 mol L⁻¹. Nos experimentos foi utilizado o UME-Au com 25 µm de diâmetro como eletrodo de trabalho.

Para o polimento e limpeza da superfície eletródica foram utilizadas lixas da 3M do Brasil com granulometrias 1500 e 2000 mesh e alumina (Al₂O₃) com 0,01 µm e a superfície do eletrodo constantemente visualizada utilizando-se o microscópio metalográfico.

Após a etapa de polimento mecânico, o UME-Au foi colocado em um béquer com solução de HNO₃ 10% e levado ao ultra-som por cerca de 10 minutos para limpeza e, posteriormente, lavado exaustivamente em água ultrapurificada.

Para se observar o perfeito funcionamento elétrico e eletroquímico do UME-Au foi utilizado o microscópio metalográfico para visualizar as condições da superfície do eletrodo e confirmar sua área geométrica. A caracterização eletroquímica foi realizada utilizando-se dados experimentais obtidos com a técnica de voltametria cíclica em meio de H_2SO_4 , $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e comparando-os com dados já amplamente conhecidos e divulgados em literatura^{59,60,61}.

A Figura 3.2 apresenta o voltamograma cíclico para o UME-Au obtido em meio de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . O perfil voltamétrico é característico deste metal e é concordante com os dados publicados na literatura^{59,60,61}, demonstrando o perfeito funcionamento do UME-Au.

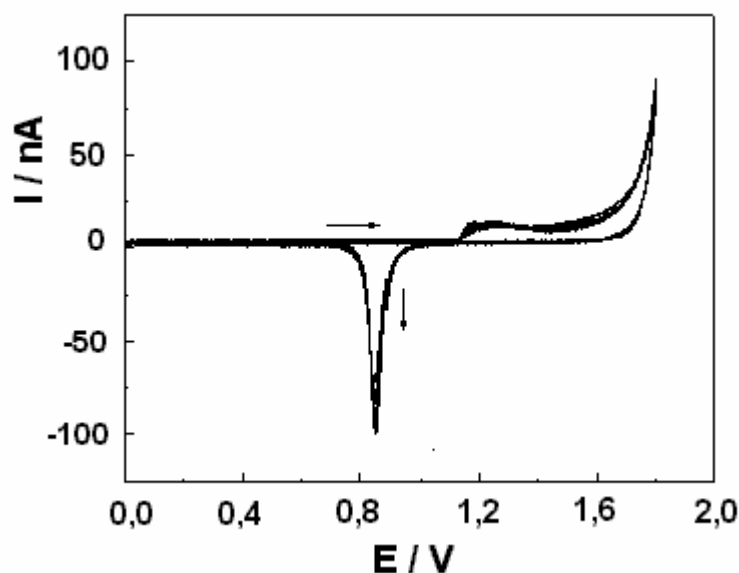


Figura 3.2: Voltametria cíclica de estado estacionário, utilizando UME-Au com $25\mu\text{m}$ diâmetro nominal em meio de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

3.3 – Materiais e reagentes utilizados

Todos os reagentes utilizados nas análises eletroquímicas são de pureza analítica (PA) e todas as soluções utilizadas foram preparadas em água ultrapurificada originadas de uma unidade de purificação Milli-Q, procedência Millipore Corporation.

O pesticida paraquat foi obtido comercialmente da Merck e apresenta pureza de 98%.

A solução estoque de paraquat na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada utilizando-se água ultrapurificada e as demais soluções foram preparadas à partir desta solução estoque.

Durante o procedimento experimental para a determinação eletroanalítica do paraquat, toda a vidraria utilizada passou por um procedimento de limpeza adotado com o intuito de assegurar a ausência de quaisquer resíduos orgânicos ou metálicos, que pudessem interferir nas análises. Para isto, foi utilizada uma solução sulfonítrica [$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_3$ 1:1 (v/v)] e posterior lavagem com água ultrapurificada em sistema de purificação Milli-Q e Osmose Reversa.

Antes das análises, as soluções foram desaeradas por borbulhamento de N_2 super seco da White Martins por cerca de 10 minutos.

Foram utilizadas pipetas automáticas Boeco, de 50 μL e 100 μL com ponteiros de polipropileno.

3.4 – Metodologia de trabalho

A determinação eletroanalítica de quaisquer espécies orgânicas deve ser feita depois da avaliação das condições experimentais (eletroatividade, eletrólito de suporte, concentração hidrogeniônica do meio) e voltamétricas (amplitude dos pulsos de potencial, incremento de varredura e frequência de aplicação dos pulsos), onde é possível obter as melhores respostas em termos de intensidade de corrente e perfil voltamétrico.

3.4.1 – Escolha do eletrólito de suporte e concentração hidrogeniônica do meio e parâmetros da VOQ.

O eletrólito de suporte, a concentração hidrogeniônica do meio e os parâmetros da VOQ foram os mesmos otimizados no trabalho de De Souza ⁶² desenvolvido no GMEME (Grupo de materiais eletroquímicos e métodos eletroanalíticos) durante o desenvolvimento de metodologia para a determinação dos pesticidas paraquat e diclorvos em diferentes matrizes por VOQ.

3.4.2 – Parâmetros da VMOQ

Foram utilizadas as mesmas condições experimentais e voltamétricas otimizadas para VOQ, porém com uma programação de múltiplos pulsos de potencial sobrepostos em um mesmo degrau de potencial. Todos os pulsos de potencial aplicados foram simétricos, ou seja, o pulso direto foi exatamente igual ao pulso

reverso, e todos os pares de pulsos de potenciais aplicados apresentaram a mesma duração. As medidas de corrente foram realizadas antes (corrente reversa) e após aplicação de cada pulso (corrente direta) e as correntes resultantes são apresentadas como a média da diferença entre todas as correntes diretas e reversas.

3.4.3 – Parâmetros da VPD

Os parâmetros envolvidos na VPD são: amplitude dos pulsos de potencial (a), incremento de varredura (ΔE_s) e tempo de aplicação do pulso (t). Os valores de corrente e potencial de pico foram avaliados em função da variação de cada um destes parâmetros isoladamente, afim de se observar os valores nos quais as correntes de pico são máximas possíveis e com perfis voltamétricos bem definidos.

3.4.4 – Aplicação da metodologia para a determinação do paraquat em eletrólito de suporte preparado com água ultrapurificada

Utilizando os parâmetros voltamétricos otimizados para se obter as melhores respostas de redução do pesticida sobre UME-Au, curvas de trabalho foram construídas em eletrólito de suporte preparado em água ultrapurificada e os limites de detecção e quantificação foram determinados utilizando-se as 3 técnicas voltamétricas.

3.4.5 – Aplicação da metodologia para a determinação do pesticida em águas naturais

A metodologia foi aplicada para amostras de águas naturais. Estas amostras foram coletadas no rio Mogi Guaçu e os níveis de contaminação das amostras foram avaliados em função da quantidade de matéria orgânica presente, utilizando-se dados experimentais de demanda química e bioquímica de oxigênio, DQO e DBO respectivamente.

Essas amostras foram coletadas e armazenadas em geladeira, sem nenhuma etapa de tratamento. Para as análises eletroquímicas, as amostras de águas naturais foram utilizadas para a preparação das soluções de eletrólito de suporte, sendo posteriormente utilizadas para a construção de curvas de trabalho do paraquat.

3.4.6 – O tratamento estatístico dos dados analíticos

A avaliação dos erros experimentais, os limites de confiança e os cálculos dos limites de detecção e quantificação foram calculados a partir do procedimento estatístico descrito em Miller & Miller ⁴⁸. Para se estimar quão bem os pontos experimentais se ajustam em uma linha reta, foi calculado o coeficiente de correlação produto-momento, r , dado por:

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}} \quad (1)$$

onde (\bar{x}, \bar{y}) é a posição conhecida como “centróide” de todos os pontos, sendo a média aritmética dos valores de x (concentrações dos padrões) e a dos valores de y (resposta do instrumento). O coeficiente de correlação pode variar no intervalo entre $-1 \leq r \leq +1$. O valor de $r = +1$ descreve uma correlação perfeita, isto é, todos os pontos experimentais, caem numa linha reta. A equação algébrica que satisfaz um gráfico linear é dada por:

$$y = a + bx \quad (2)$$

onde **b** é a tangente da linha e **a** o intercepto no eixo y .

Assumindo que existe uma correlação linear entre o sinal analítico (y) e a concentração (x), deve ser calculada a melhor linha reta entre os pontos da curva de calibração, considerando os erros experimentais de cada um deles.

Os procedimentos descritos assumem que todos os erros estão na direção y e que as concentrações padrão (valores de x) estão livres de erros. Desta forma, procura-se uma reta que minimize os desvios na direção y entre os dados experimentais e a reta calculada. Como alguns desses desvios, conhecidos tecnicamente como os resíduos y , serão positivos e outros negativos, é conveniente tentar minimizar a soma dos quadrados dos resíduos. Isso explica o uso freqüente do termo “método dos mínimos quadrados” para esse procedimento.

A tangente **b** e o intercepto no eixo y da linha **a**, calculados com base nesse princípio são dados por:

$$b = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad (3)$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (4)$$

A linha calculada desta maneira é conhecida como curva de regressão de y em x, isso é, a curva indicando como y varia quando x é colocado nos valores escolhidos.

Os erros aleatórios nos valores para a tangente e intercepto são importantes e as equações usadas para calculá-los serão consideradas. Inicialmente foi calculada a estatística $S_{y/x}$ que é dada por:

$$S_{y/x} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2} \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (5)$$

$S_{y/x}$ é o desvio padrão estimado de cada ponto do gráfico, incluindo o ponto do “branco”, com uma variação de erros normalmente distribuída apenas na direção y.

A Equação (5) utiliza os valores residuais de y (\hat{y}_i), sendo os pontos na curva de regressão calculada que correspondem aos valores individuais de x, isso é, os valores ajustados de y. Esses valores são facilmente calculados com a equação de regressão.

Numa regressão linear, o número de graus de liberdade é $(n - 2)$, sendo n o número de experimentos realizados, o que reflete a consideração óbvia de que somente uma linha reta pode ser traçada passando por dois pontos dados.

Com o valor calculado de $S_{y/x}$ pode-se calcular S_b e S_a , os desvios padrão para a tangente (b) e o intercepto (a).

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\left\{ \sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right\}^{\frac{1}{2}}} \quad (6)$$

$$S_a = S_{y/x} \left\{ \frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (7)$$

Esses valores de desvio padrão podem ser utilizados para se estimar os limites de confiança para a tangente ($b \pm t_{(n-2)} \times S_b$) e para o intercepto ($a \pm t_{(n-2)} \times S_a$), onde t é o parâmetro de Student (valor tabelado), que pode ser tomado no nível de confiança desejado e $(n - 2)$ graus de liberdade.

Uma vez que a tangente e o intercepto de uma curva de regressão tenham sido determinados, é simples calcular um valor de x correspondente a qualquer valor medido de y . A determinação do erro no valor de x é dada por:

$$S_{x_0} = \frac{S_{y/x}}{b} \left\{ 1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (8)$$

na expressão acima y_0 é o valor experimental de y , a partir do qual o valor de concentração x_0 pode ser determinado. S_{x_0} é o desvio padrão estimado de x_0 . Os limites de confiança puderam ser calculados como $x_0 = t_{(n-2)} \times S_{x_0}$.

Finalmente foram determinados os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ).

Em termos gerais, o limite de detecção de um analito pode ser descrito como aquela concentração que dá um sinal (y) no instrumento significativamente diferente do sinal do “branco” ou da “linha de base”⁴⁸.

Para os cálculos do LOD e LOQ foram utilizadas as relações:

$$\text{LOD} = y_B + 3 S_B \quad (9)$$

$$\text{LOQ} = y_B + 10 S_B \quad (10)$$

nessas equações y_B é o valor do sinal do “branco” e S_B é o desvio padrão do “branco”.

O significado da definição de limite de detecção dado pela Equação (9) é ilustrado, com detalhes, na Figura 3.3

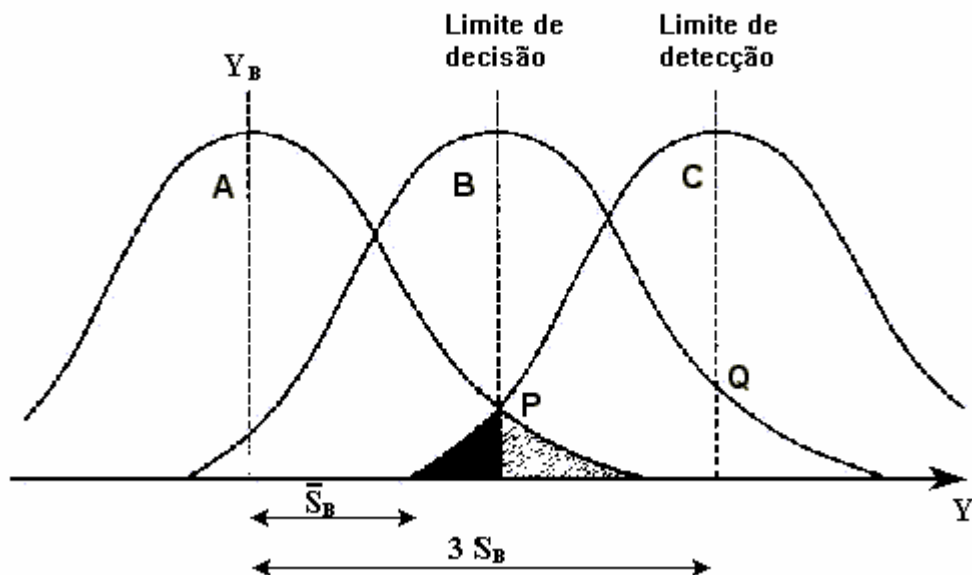


Figura 3.3: Distribuição normal do sinal do branco para o cálculo do limite de detecção.

Um analista ao estudar as concentrações no nível de traços se confronta com dois problemas: ele não quer reivindicar a presença de um analito que está ausente, mas ele também não quer reportar a ausência do analito que, de fato, está presente. A possibilidade de qualquer desses erros deve ser minimizada por uma definição precisa de limite de detecção.

Na Figura 3.3, a curva A representa a distribuição normal dos valores medidos do sinal do “branco”. É possível identificar um ponto, $y = P$, além do limite superior dessa distribuição, e assumir que um sinal maior que esse é improvável que pertença ao “branco”, enquanto que um sinal menor que P deve ser assumido como sendo do “branco”. Entretanto para uma amostra dando um sinal médio P, 50% do sinal observado será menor que P, desde que o sinal tenha uma distribuição normal.

A probabilidade de se concluir que essa amostra não difere do “branco”, quando ela de fato difere, é, assim 50%.

O ponto P, que tem sido chamado de limite de decisão é, assim insatisfatório como limite de detecção.

Um ponto mais adequado situa-se em $y = Q$, pois Q está duas vezes mais afastado de y_B que P. Pode-se mostrar que, se $y_B - Q$ for 3,28 vezes o desvio padrão do “branco”, S_B , então a probabilidade de cada um dos dois erros acontecerem (indicados pela área hachurada da Figura 3.3) é de apenas 5%. Se, como sugerido na Figura 3.3, a distância for de 3 S_B , a probabilidade de ambos os erros será de cerca de 7%, sendo este valor considerado por muitos analistas como sendo uma boa definição de limite de detecção.

Algumas tentativas foram feitas no sentido de se definir um limite posterior, chamado de limite de quantificação (ou limite de determinação) como o menor limite para uma medida quantitativa precisa, em oposição à detecção qualitativa.

Um valor indicado pela Equação (10) foi sugerido para esse limite, mas seu uso ainda é bastante restrito.

O valor do intercepto (a), calculado pela regressão, pode ser utilizado como uma estimativa do valor de y_B , o sinal do “branco”. Ele deve ser uma estimativa mais precisa de y_B do que o único valor medido do “branco”. Para o S_B utiliza-se o desvio padrão do intercepto (S_a).

Os erros envolvidos nos cálculos do LOD e do LOQ podem ser avaliados pela combinação de erros dos parâmetros das Equações (6) e (7). Assim, os desvios padrão associados a essa soma são:

$$S_{LOD} = (S_a^2 + S_b^2)^{1/2} \quad (11)$$

$$S_{LOQ} = (S_a^2 + S_b^2)^{1/2} \quad (12)$$

e os limites de confiança são dados por $LOD \pm t_{(n-2)} \times S_{LOD}$ e $LOQ \pm t_{(n-2)} \times S_{LOQ}$.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aqui são apresentados os resultados obtidos com os testes de eletroatividade do paraquat em UME-Au e também a otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos para VPD e VMOQ. Como já citado na parte experimental, o eletrólito de suporte, a concentração hidrogeniônica do meio e os parâmetros voltamétricos da VOQ utilizados nas análises, foram os mesmos otimizados no trabalho de De Souza⁶². Tais resultados foram utilizados para a análise do paraquat por meio das técnicas eletroanalíticas VPD, VOQ e VMOQ e curvas de trabalho foram construídas em eletrólito de suporte preparado com água ultrapurificada, considerando-se o pico 1, por apresentar maior sensibilidade para o paraquat, pois, de acordo com trabalhos da literatura e com os resultados obtidos na otimização dos parâmetros voltamétricos no trabalho de De Souza⁶², o pico 1 é referente a uma reação em solução, onde a superfície eletródica serve apenas como intermediadora na transferência eletrônica. Os limites de detecção e quantificação foram calculados utilizando-se o procedimento estatístico descrito em Miller & Miller⁴⁸. A mesma metodologia foi aplicada a amostras de águas naturais, sem nenhuma etapa de pré-tratamento ou separação prévia e os resultados estão aqui apresentados e discutidos.

Finalmente será apresentada uma análise comparativa entre o método estatístico utilizado neste trabalho para os cálculos de LOD e LOQ e o método recomendado pela IUPAC.

4.1 – Eletroatividade do pesticida paraquat

Testes de eletroatividade do pesticida paraquat sobre UME-Au utilizando-se VC foram realizados e o perfil voltamétrico está apresentado na Figura 4.1, com a identificação dos picos de redução e oxidação. Para o sentido negativo de potenciais de varredura (redução), observou-se na velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} a presença de uma onda voltamétrica com potencial de meia-onda em torno de $-0,71 \text{ V vs. Ag/AgCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$ (Pico1) e um pico de redução em aproximadamente $-1,01 \text{ V}$ (Pico 2).

Quando a varredura foi invertida (oxidação) surgiu um pico de potencial próximo a $-0,86 \text{ V}$ (Pico 3) e um pico de corrente em $-0,72 \text{ V}$ (Pico 4). Estes dois picos são referentes à oxidação do produto formado na varredura anterior, no pico 2. Além disto, um terceiro pico é evidente em $-0,60 \text{ V}$ (Pico 5).

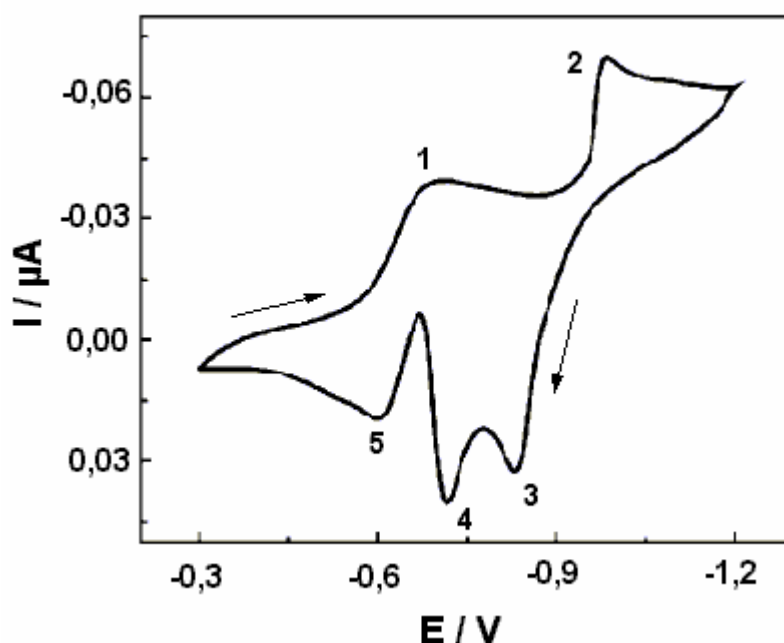
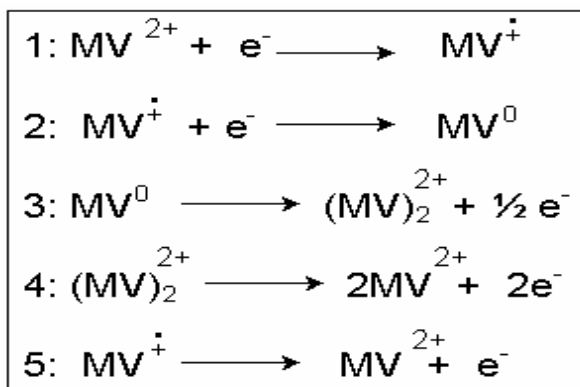


Figura 4.1: Voltamograma cíclico para $4,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 5,5$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ sobre UME-Au.

Esta resposta eletroquímica está de acordo com alguns trabalhos publicados na literatura^{39, 42, 44} e o mecanismo de transferência eletrônica envolvido em cada um dos picos voltamétricos já foi discutido em alguns destes trabalhos. As etapas de transferência eletrônica, correspondentes aos picos voltamétricos identificados na Figura 4.1 são todas reversíveis, e a formação do pico 2 é acompanhada pela formação de um composto intermediário de cor azul intenso adsorvido na superfície eletródica, daí o nome dado ao composto de *metil-viologeno*. O esquema 4.1 apresenta o mecanismo de redução e oxidação eletroquímica para o paraquat⁶² em cada um dos picos identificados na Figura 4.1, onde MV, indica *metil viologeno*, o nome comumente conhecido do paraquat.



Esquema 4.1: Esquema para o mecanismo de redução e oxidação eletroquímica para o paraquat, onde MV é o pesticida paraquat também conhecido por *metil viologeno*.

Os testes de eletroatividade do paraquat também foram executados utilizando-se VOQ, com varredura de potenciais de 0 V a -1,2 V utilizando-se UME-Au em eletrólito de suporte de Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ e $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$ e uma concentração de $4,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do pesticida. Observa-se dois picos de

redução bem definidos, com o pico 1 em $-0,64$ V e o pico 2 em $-0,94$ V , com as correspondentes componentes reversas, indicando, novamente, a reversibilidade do processo eletródico. Como usual em VOQ, a corrente resultante é a soma dos módulos das componentes direta e reversa. A Figura 4.2 apresenta o voltamograma de onda quadrada obtido para o paraquat em UME-Au .

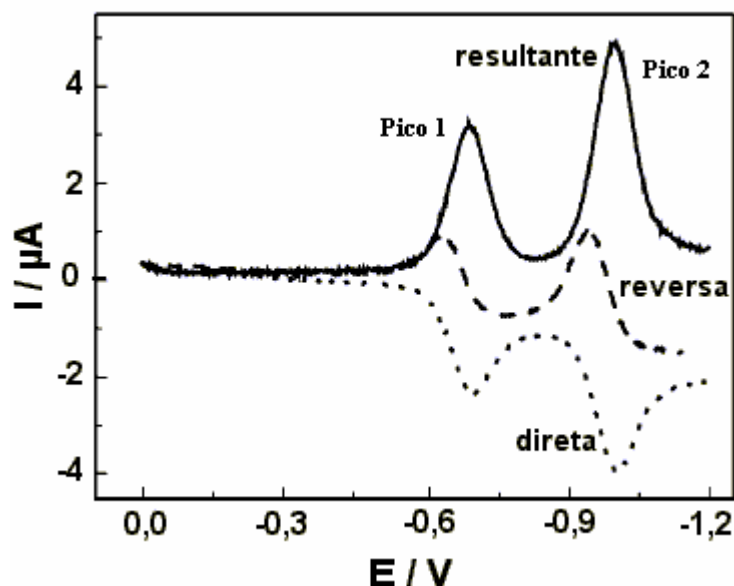


Figura 4.2 : Voltamograma de onda quadrada para $4,25 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de paraquat em meio de Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, $f = 100$ s⁻¹, $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 2,0$ mV sobre UME-Au.

4.2 – Variação dos múltiplos pulsos de potencial (*N*).

O número de pulsos dentro de cada degrau de potencial (*N*) foi avaliado. Em princípio, o efeito do aumento de *N* resultou numa melhora da sensibilidade analítica.

A Figura 4.3 mostra uma série de voltamogramas de múltipla onda quadrada obtidos para a redução do paraquat em UME-Au quando *N* variou de 2 a 8, que são os limites entre os quais o valor varia no instrumento e software utilizados. Pôde-se

observar que o aumento no valor de N resulta numa melhora do sinal analítico e também uma relação linear entre I_p e N para ambos os picos, demonstrando uma melhora no sinal analítico quando múltiplos pulsos são utilizados. Com base nestas observações, curvas analíticas para VMOQ foram construídas utilizando-se 8 pulsos de potencial em cada degrau.

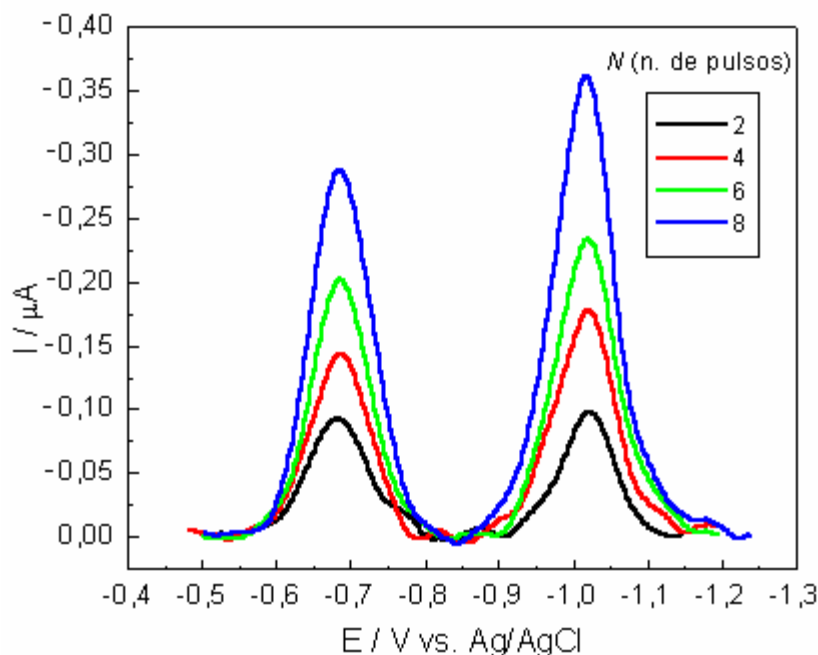


Figura 4.3- Múltiplos voltamogramas de onda quadrada obtidos para $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} de paraquat sobre UME-Au, em meio de Na_2SO_4 $0,1$ mol L^{-1} , $f = 250$ s^{-1} , $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 2$ mV e diferentes números de pulsos dentro de cada degrau da escala de potenciais

A Figura 4.4 mostra que a relação entre as correntes de pico e o número de pulsos segue uma relação linear onde para $n=2$ têm-se a voltametria de onda quadrada clássica.

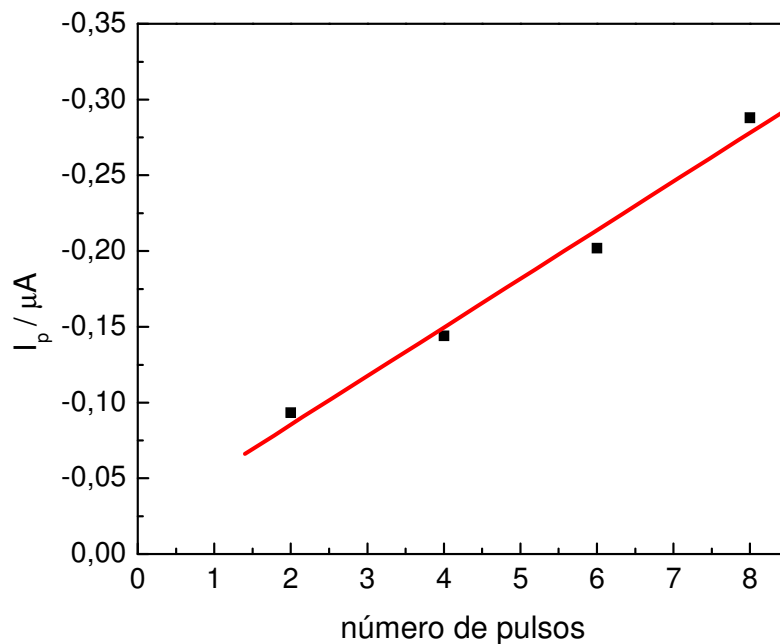


Figura 4.4 – Relação entre as correntes de pico (I_p) para o pico 1 e o número de pulsos aplicados.

4.3 – Variação dos parâmetros voltamétricos (amplitude, incremento de aplicação dos pulsos de potencial, velocidade de varredura e largura dos pulsos) para VPD.

4.3.1 – Influência da amplitude do pulso (a).

A influência da amplitude de pulso foi estudada com variações de amplitude de 10 mV a 80 mV, largura do pulso de 10 ms e incremento de varredura de 2 mV, como mostrado na Figura 4.5, onde observa-se que o aumento da amplitude de pulsos de potenciais não provocou um deslocamento considerável dos potenciais de pico. Contudo, as correntes de pico sofreram um aumento que foi acompanhado por variação na largura de meia-altura dos dois picos voltamétricos.

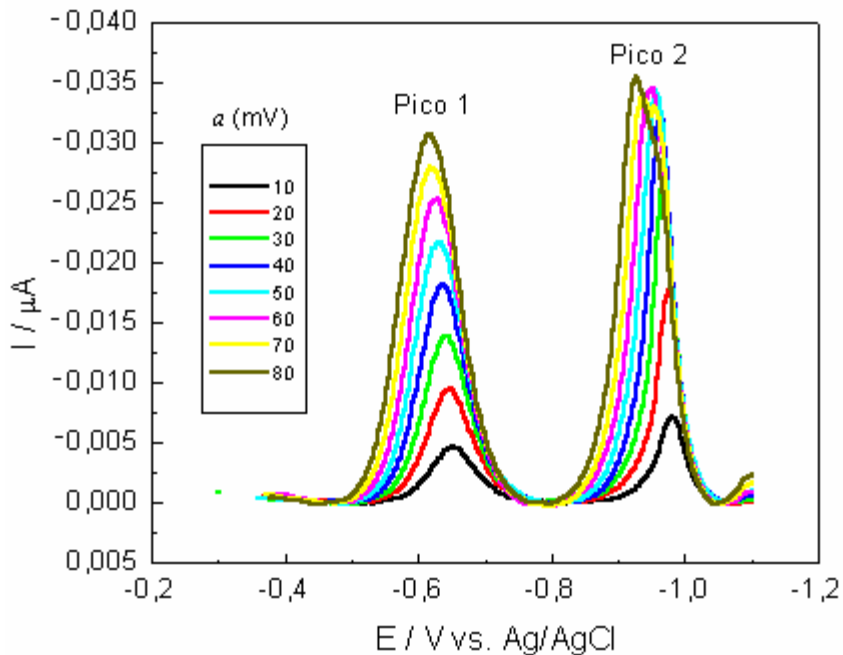


Figura 4.5 – Voltamogramas de pulso diferencial de $5,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat em meio Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para UME-Au, com $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e várias amplitudes de aplicação de pulsos de potencial.

Uma observação prévia da influência da amplitude dos pulsos de potencial considerando-se o pico 1, mostrou um perfil bem definido, e as correntes de pico aumentaram linearmente com a amplitude dos pulsos até 50 mV, acima desse valor o aumento não é linear. Assim, para as aplicações analíticas a amplitude utilizada foi de 50 mV. A Figura 4.6 apresenta a relação das correntes de pico em função da variação das amplitudes de pulso de potencial para o pico 1.

Para valores de a maiores que 50 mV, os pontos começam a se afastar da linha reta, devido, provavelmente, ao alargamento do pico resultante, ou seja, ao aumento do valor de $\Delta E_{1/2}$.

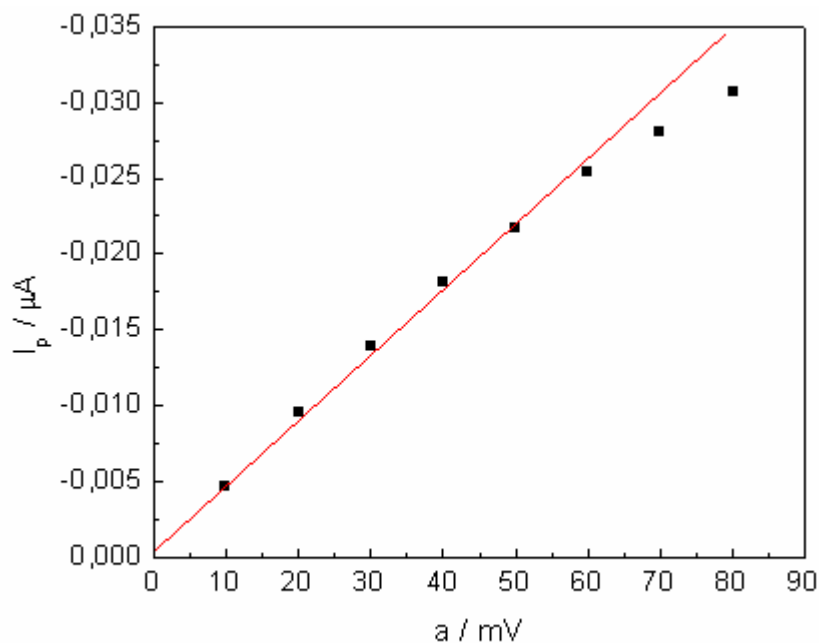


Figura 4.6 – Relação das correntes do pico 1 com a amplitude dos pulsos de potenciais para o paraquat em UME-Au, com os mesmos parâmetros da Figura 4.5.

4.3.2 – Variação do incremento de potencial (ΔE_s)

O aumento do incremento para a análise do paraquat, na prática, provocou um ligeiro deslocamento dos picos de potenciais para valores mais catódicos. O incremento de varredura foi variado de 2 mV até 10 mV, e as melhores respostas voltamétricas foram obtidas para o valor de 2mV. Assim, o valor de incremento de varredura na VPD para as análises foi de 2 mV e a Figura 4.7 apresenta os voltamogramas resultantes da variação desta grandeza para a redução do paraquat em UME-Au.

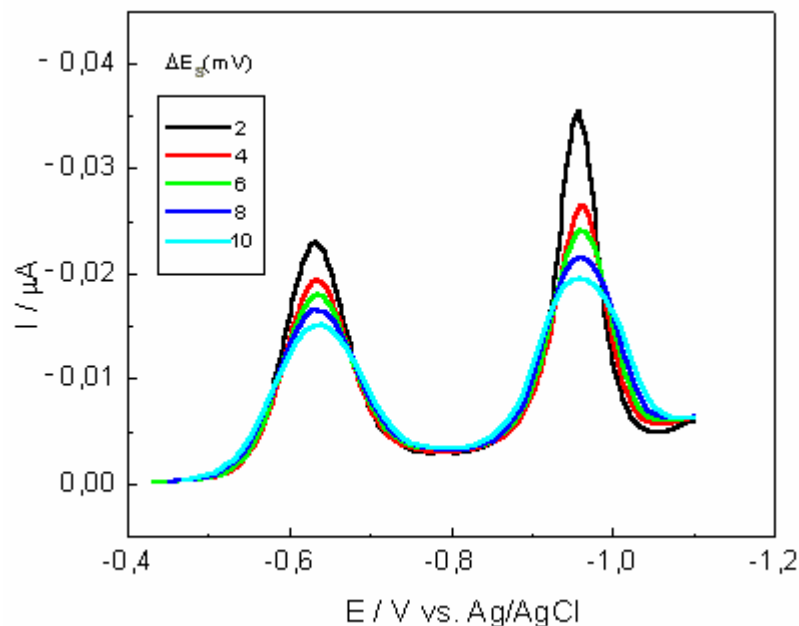


Figura 4. 7 – Voltamogramas de pulso diferencial de $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para UME-Au, com $a = 50 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e vários incrementos de potencial.

4.3.3 – Influência da velocidade de varredura (v)

Outro parâmetro importante a ser estudado na VPD é a velocidade de varredura. Foram avaliadas variações entre 10 e 40 mV s^{-1} e as melhores respostas em termos de correntes de pico obtidas (maior sensibilidade), separação entre eles (melhor resolução) e linearidade, isto é, as correntes de pico aumentaram linearmente com a velocidade de varredura, foi a velocidade de 20 mV s^{-1} , sendo este valor utilizado para as análises do pesticida em águas puras e naturais.

Os voltamogramas de pulso diferencial com as variações na velocidade de varredura estão apresentados na Figura 4.8.

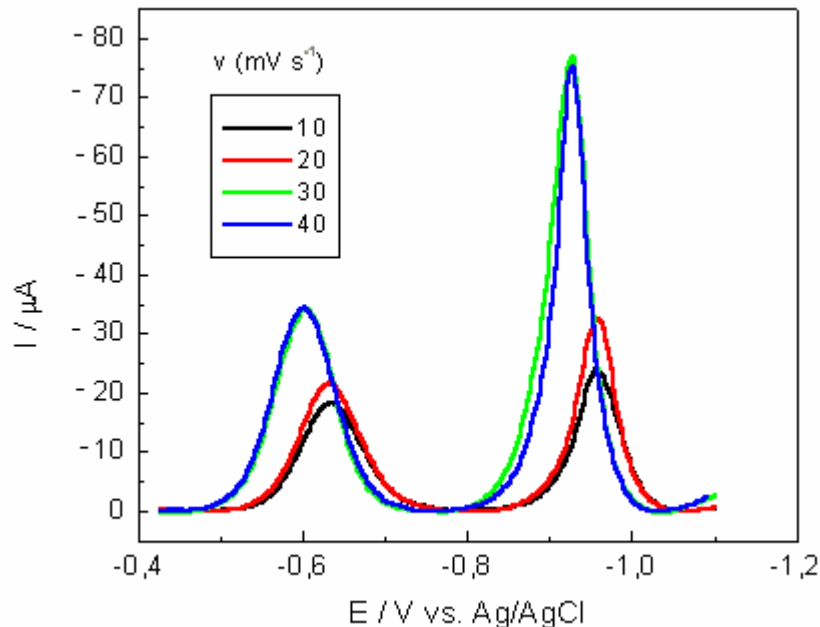


Figura 4.8 – Voltamogramas de pulso diferencial para $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat sobre UME-Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e várias velocidades de varredura.

4.4 – Aplicação da metodologia para a determinação do paraquat em eletrólito de suporte preparado com água ultrapurificada.

Foram construídas curvas de trabalho em eletrólito preparado com água ultrapurificada, utilizando-se as condições experimentais e voltamétricas otimizadas para VPD, VOQ e VMOQ, para posterior aplicação em amostras de água coletadas no rio Mogi-Guaçu, na cidade de São Carlos/SP.

Nestas condições é mais fácil de se desenvolver a metodologia para a análise de pesticida e se avaliar os limites de detecção e de quantificação e a viabilidade da aplicação da metodologia em águas naturais.

No entanto, antes da construção de cada curva de trabalho, foram realizados alguns tratamentos eletroquímicos na superfície do eletrodo de trabalho. Estes

tratamentos consistiram na aplicação de potenciais suficientemente positivos para uma intensa liberação de oxigênio, provocando uma condição altamente oxidante que resultou numa completa limpeza da superfície eletródica, seguida por ciclagens de potenciais em meio ácido e posterior ciclagem de potenciais no eletrólito suporte de trabalho, onde então era iniciada a adição da solução estoque do pesticida.

4.4.1 – Curvas de trabalho para a redução do pesticida paraquat em UME-Au utilizando-se VPD.

Com adições consecutivas de alíquotas do pesticida, observou-se um aumento proporcional da corrente de pico em função do aumento de concentração do paraquat, no intervalo de concentração avaliado, que foi de $0,999 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $10,880 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Na Figura 4.9 são apresentados os voltamogramas obtidos.

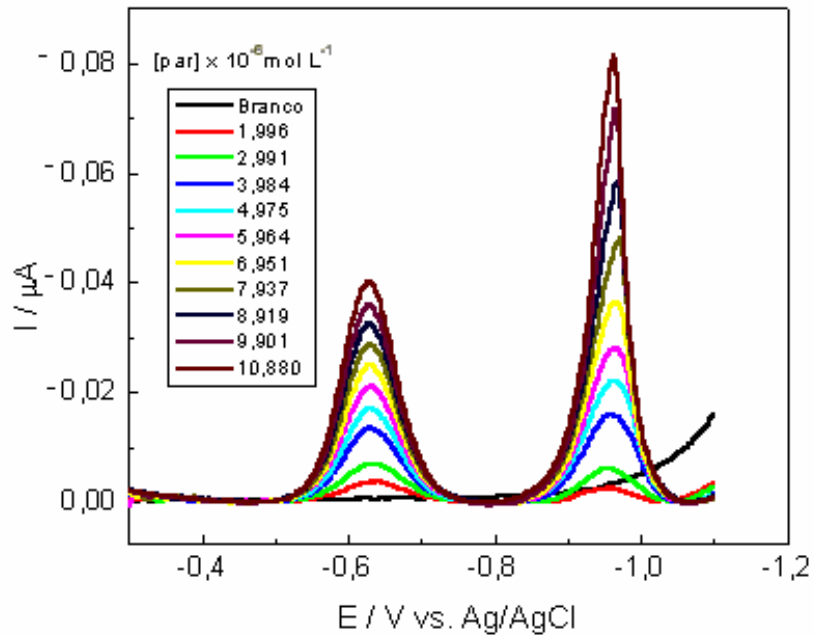


Figura 4.9 – Voltamogramas de pulso diferencial para o paraquat em UME- Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A dependência linear das correntes de pico com a concentração do pesticida em solução foi testada pelo coeficiente de correlação produto-momento descrito pela Equação 1. O valor obtido de $r = 0,9986$, junto com o aspecto visual da Figura 4.10 é conclusivo sobre a linearidade da curva analítica⁴⁸.

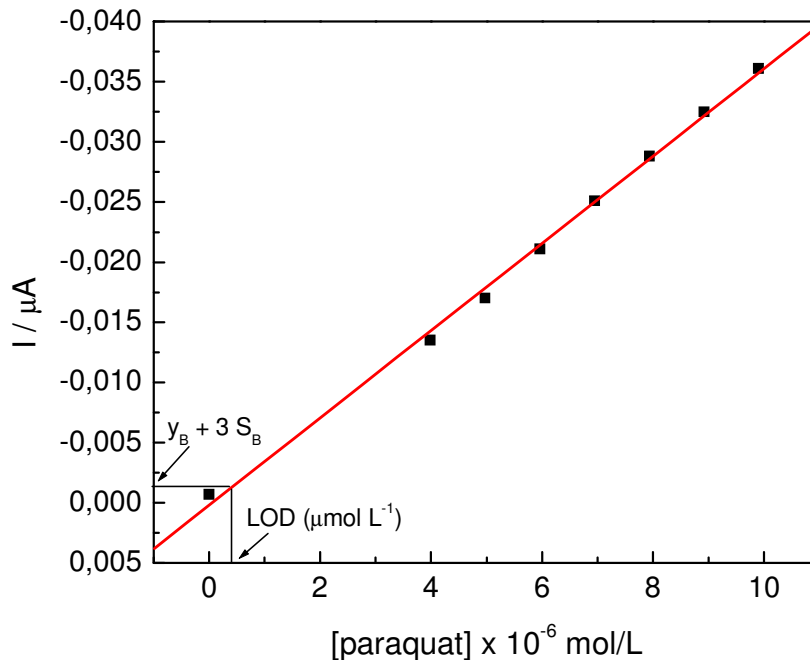


Figura 4.10 – Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME - Au com as mesmas condições da Figura 4.9, considerando-se o pico 1.

Os dados da Tabela 4.1 foram utilizados para calcular a equação linear da reta, seguindo as Equações 3 e 4. Neste caso, $b = -0,00406 \text{ A mol}^{-1}$ e $a = 0,00342 \text{ } \mu\text{A}$. Então, a equação da curva analítica pode ser descrita por $I_p = 0,00342 \times 10^{-6} \text{ A} - 0,00406 \text{ A mol}^{-1} \cdot [\text{paraquat}] \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida os erros associados aos cálculos de a e b foram avaliados. Assim, os valores de \hat{y} (resíduos dos valores das correntes de pico calculadas e experimental) foram calculados a partir da regressão linear e incluídos na Tabela 4.1. A partir da Equação 5, o valor do parâmetro estatístico $S_{y/x}$ é obtido como 0,00053. Usando este valor e as Equações 6 e 7, os desvios padrão para a inclinação e o intercepto são calculados como $S_b = 0,00006$ e $S_a = 0,00040$, respectivamente. Agora, o limite de confiança pode ser calculado

considerando o grau de liberdade do experimento (n-2, isto é, 6) e o parâmetro de Student (*t*) para o nível de confiança 95%, isto é, 2,45⁴⁸.

Assim, o valor para o limite de confiança para a reta é $b = -4,06 \times 10^{-3} \pm 1,47 \times 10^{-4}$ A mol⁻¹ e o intercepto é $a = 3,42 \times 10^{-3} \pm 9,80 \times 10^{-4}$ μA. A curva analítica final é descrita por $I_p = (3,42 \times 10^{-3} \pm 9,80 \times 10^{-4}) \times 10^{-6}$ A - $(4,06 \times 10^{-3} \pm 1,47 \times 10^{-4})$ A mol⁻¹ . [paraquat]x10⁻⁶ mol L⁻¹.

Tabela 4.1 – Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em água pura por VPD.

<i>x</i> (μmol L ⁻¹)	<i>y</i> (μA)	$x - \bar{x}$	$y - \bar{y}$	$(x - \bar{x})(y - \bar{y})$	$(x - \bar{x})^2$	$(y - \bar{y})^2$	\hat{y}	$(y - \hat{y})^2$	x^2
0,000	0,0042	-6,0789	0,02544	-0,15463	36,95272	0,00065	0,00342	0,00000061	0,0000
3,984	-0,0135	-2,0949	0,00774	-0,01621	4,38850	0,00006	-0,01274	0,00000058	15,8723
4,975	-0,0170	-1,1039	0,00424	-0,00468	1,21854	0,00002	-0,01676	0,00000006	24,7506
5,964	-0,0211	-0,1149	0,00014	-0,00002	0,01320	0,00000	-0,02077	0,00000011	35,5693
6,951	-0,0251	0,8721	-0,00386	-0,00337	0,76060	0,00001	-0,02478	0,00000011	48,3164
7,937	-0,0288	1,8581	-0,00756	-0,01405	3,45263	0,00006	-0,02877	0,00000000	62,9960
8,919	-0,0325	2,8401	-0,01126	-0,03199	8,06631	0,00013	-0,03276	0,00000007	79,5486
9,901	-0,0361	3,8221	-0,01486	-0,05681	14,60864	0,00022	-0,03674	0,00000041	98,0298
48,631	-0,1699	0,0000	0,00000	-0,28175	69,46114	0,00114	-0,16990	0,00000193	365,0829
Médias									
6,079	-0,0212								
b	a								
-0,00406	0,00342								
Sy/x	Sb	Saz	Lodi (μA)	LOD (μmol/L)	LOD (μg/L)	LOQ (μg/L)			
0,00053	0,00006	0,00040	0,00221	0,29716	55,3460	184,4865			

Na metodologia proposta neste trabalho, o valor do desvio padrão do intercepto, S_a , é usado para o cálculo do limite de detecção, no lugar do desvio padrão de 10 medidas do “branco” (IUPAC). Para isso, são usadas as Equações 9 e 10. Nessas equações, y_B é a corrente obtida da equação da reta, acima, para a concentração de paraquat igual a 0 na solução, e S_B é o desvio padrão para a

corrente do “branco” medida. O valor de a , o intercepto calculado pela regressão, pode ser utilizado como uma estimativa do valor de y_B , o sinal do “branco” e S_B , o desvio padrão do intercepto (S_a).

Combinando na Equação 9, esses valores fornecem o sinal correspondente ao limite de detecção. Usando a equação da reta descrita anteriormente, para a curva analítica, esse sinal é convertido a $LOD = 2,9716 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Multiplicando este número por 186,25 (massa molar do paraquat) é encontrado $LOD = 55,35 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (55,35 ppb). Isso corresponde a um limite de quantificação de $184,49 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (184,49 ppb). Os erros envolvidos nos cálculos do LOD e LOQ puderam ser avaliados pelas Equações 11 e 12. Utilizando os valores de S_a e S_b dados na Tabela 4.1, $S_{LOD} = 4,04 \times 10^{-4}$ e $S_{LOQ} = 4,04 \times 10^{-4}$. Novamente, os limites para o intervalo de confiança puderam ser obtidos como $LOD = 55,35 \pm 0,18 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $LOQ = 184,49 \pm 0,18 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$

Em todas as curvas de calibração foi incluído o valor para uma amostra do “branco”, já que as medidas das soluções do “branco” servem para se avaliar a resposta da metodologia para impurezas ou espécies interferentes e a corrente capacitiva do sistema.

4.4.2 – Curvas de trabalho para a redução do pesticida paraquat em UME-Au utilizando-se VOQ.

Foi construída a curva analítica em eletrólito puro em UME-Au utilizando-se VOQ. Os voltamogramas de onda quadrada para as diferentes concentrações de paraquat são apresentados na Figura 4.11. Pôde-se observar um aumento na corrente de pico com o aumento da concentração de paraquat.

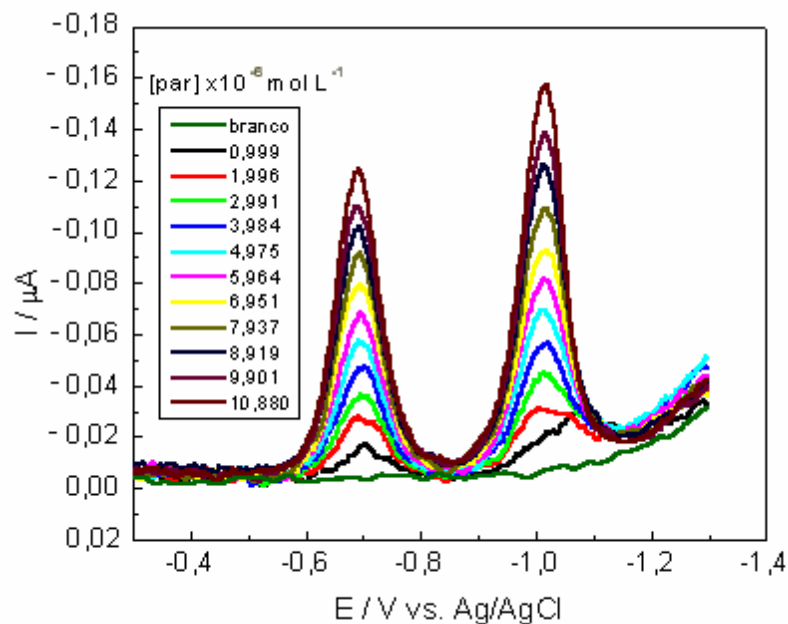


Figura 4.11 – Voltamogramas de onda quadrada para o paraquat em UME - Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 250 \text{ s}^{-1}$.

A curva analítica está apresentada na Figura 4.12 e o tratamento estatístico na Tabela 4.2. Foi aplicado o mesmo tratamento estatístico descrito anteriormente para VPD. O valor obtido de $r = 0,9994$ comprova a linearidade da curva analítica⁴⁸. A curva analítica pôde ser descrita por $I_p = (-5,19 \times 10^{-3} \pm 1,70 \times 10^{-4}) \times 10^{-6} \text{ A} - (1,07 \times 10^{-2} \pm 3,54 \times 10^{-4}) \text{ A mol}^{-1} [\text{paraquat}] \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Nesse caso o $\text{LOD} = (37,50 \pm 0,32) \mu\text{g L}^{-1}$ e $\text{LOQ} = (124,99 \pm 0,32) \mu\text{g L}^{-1}$.

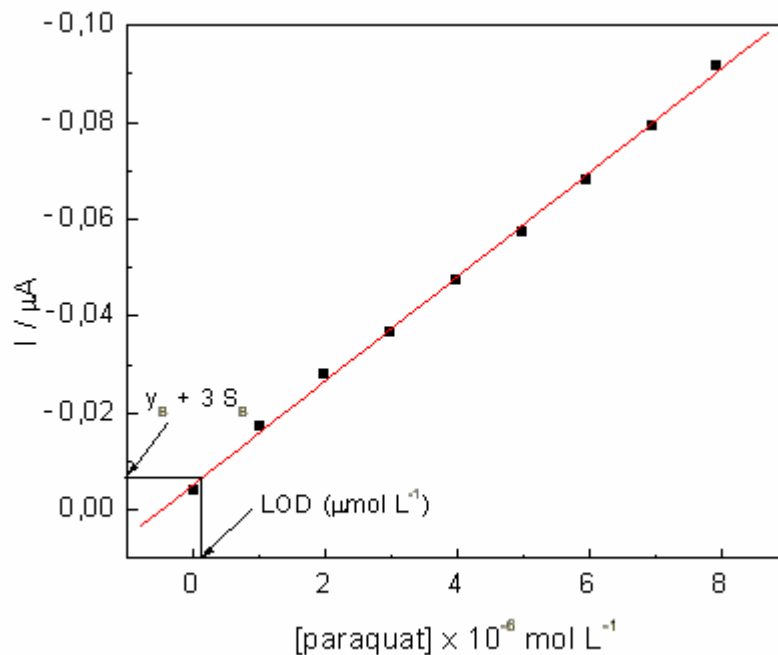


Figura 4.12 – Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME - Au com as mesmas condições da Figura 4.11, considerando-se o pico 1.

Tabela 4.2 – Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em água pura por VOQ.

x ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	y (μA)	$x - \bar{x}$	$y - \bar{y}$	$(x - \bar{x})(y - \bar{y})$	$(x - \bar{x})^2$	$(y - \bar{y})^2$	\hat{y}	$(y - \hat{y})^2$	x^2
0	-0,0042	-3,98	0,0435	-0,1733	15,8200	0,00190	-0,00519	0,00000097	0
0,999	-0,0172	-2,9784	0,0305	-0,0910	8,8711	0,00094	-0,01588	0,00000173	0,9980
1,996	-0,0280	-1,9814	0,0197	-0,0391	3,9261	0,00039	-0,02656	0,00000207	3,9840
2,991	-0,0366	-0,9864	0,0111	-0,0110	0,9730	0,00012	-0,03721	0,00000038	8,9460
3,984	-0,0474	0,0065	0,0003	0,0000	0,00004	0,00000	-0,04785	0,00000020	15,8722
4,975	-0,0574	0,9975	-0,0096	-0,0096	0,9951	0,00009	-0,05846	0,00000112	24,7506
5,964	-0,0683	1,9865	-0,0205	-0,0407	3,9464	0,00042	-0,06905	0,00000056	35,5692
6,951	-0,0792	2,9735	-0,0314	-0,0934	8,8420	0,00099	-0,07962	0,00000018	48,3164
7,937	-0,0917	3,9595	-0,0439	-0,1739	15,6780	0,00193	-0,09018	0,00000232	62,9959
35,79	-0,43	3,55E -15	0,0000	-0,6323	59,0520	0,00678054	-0,43000	0,00000954	201,4326
Média	b	a							
3,977	-0,04778	-0,01071	-0,00519						
Sy/x	Sb	Saz	Lodi (μA)	LOD ($\mu\text{mol/L}$)	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)			
0,00116	0,00015	0,00072	-0,00734	0,20132	37,4962	124,9872			

4.4.3 – Curvas de trabalho para a redução do pesticida paraquat em UME-Au utilizando-se VMOQ.

O mesmo estudo foi realizado utilizando-se VMOQ e os resultados voltamétricos para as diferentes concentrações de paraquat estão apresentados na Figura 4.13. Pôde-se observar que a corrente de pico aumenta com o aumento de concentração de paraquat.

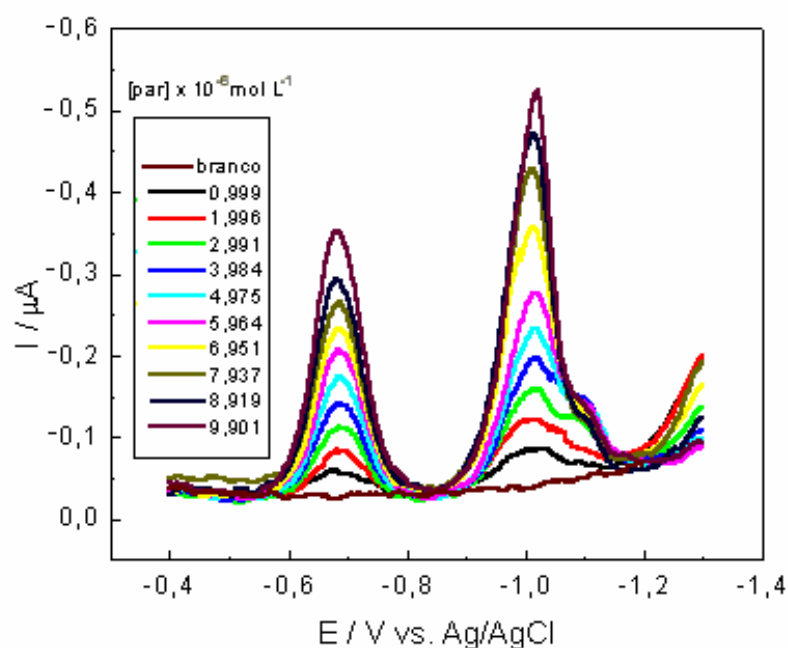


Figura 4.13 – Múltiplos voltamogramas de onda quadrada para o paraquat em UME -Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $N = 8$ e $f = 250 \text{ s}^{-1}$.

A dependência linear entre a corrente de pico e a concentração de paraquat foi testada pelo coeficiente de correlação produto-momento descrito anteriormente. Com o valor $r = 0,9998$ comprova a linearidade da curva analítica apresentada na Figura 4.14.

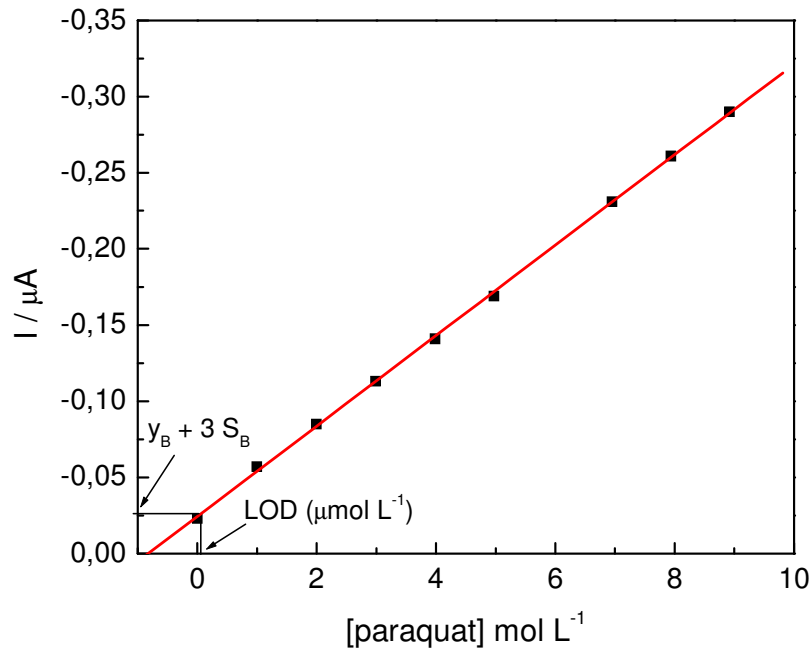


Figura 4.14 – Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME-Au com as mesmas condições da Figura 4.13, considerando-se o pico 1.

O tratamento estatístico utilizando-se VMOQ está apresentado na Tabela 4.3. A equação da reta é descrita por $I_p = (-2,58 \times 10^{-2} \pm 2,67 \times 10^{-3}) \times 10^{-6} \text{ A} - (2,95 \times 10^{-2} \pm 5,19 \times 10^{-4}) \text{ A mol}^{-1} \cdot [\text{paraquat}] \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Os limites são dados por $\text{LOD} = (21,42 \pm 0,51) \mu\text{g L}^{-1}$ e $\text{LOQ} = (71,41 \pm 0,51) \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 4.3 – Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em água pura por VMOQ.

x ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	y (μA)	$x - \bar{x}$	$y - \bar{y}$	$(x - \bar{x})(y - \bar{y})$	$(x - \bar{x})^2$	$(y - \bar{y})^2$	\hat{y}	$(y - \hat{y})^2$	x^2
0,000	-0,0270	-4,3058	0,12567	-0,54109	18,53972	0,01579	-0,02579	0,00000146	0,0000
0,999	-0,0570	-3,3068	0,09567	-0,31635	10,93478	0,00915	-0,05523	0,00000314	0,9980
1,996	-0,0850	-2,3098	0,06767	-0,15629	5,33507	0,00458	-0,08461	0,00000016	3,9840
2,991	-0,1130	-1,3148	0,03967	-0,05215	1,72864	0,00157	-0,11392	0,00000086	8,9461
3,984	-0,1410	-0,3218	0,01167	-0,00375	0,10354	0,00014	-0,14319	0,00000477	15,8723
4,975	-0,1690	0,6692	-0,01633	-0,01093	0,44786	0,00027	-0,17239	0,00001147	24,7506
6,951	-0,2310	2,6452	-0,07833	-0,20721	6,99720	0,00614	-0,23061	0,00000015	48,3164
7,937	-0,2610	3,6312	-0,10833	-0,39338	13,18577	0,01174	-0,25967	0,00000178	62,9960
8,919	-0,2900	4,6132	-0,13733	-0,63355	21,28182	0,01886	-0,28860	0,00000196	79,5486
38,752	-1,3740	0,0000	0,00000	-2,31471	78,55441	0,06823	-1,37400	0,00002574	245,4119
Médias									
4,306	-0,15267								
b	a								
-0,02947	-0,02579								
Sy/x	Sb	Saz	Lodi (μA)	LOD ($\mu\text{mol/L}$)	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)			
0,00192	0,00022	0,00113	-0,02918	0,11503	21,4235	71,4117			

4.5 – Aplicação da metodologia para a determinação do pesticida em águas naturais.

A metodologia proposta foi então aplicada a amostras de águas naturais coletadas no rio Mogi-Guaçu, na cidade de São Carlos/SP. Estas amostras foram coletadas e armazenadas em geladeira. Solução de eletrólito de suporte Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada utilizando-se essas águas. Curvas de trabalho foram construídas com os parâmetros otimizados para a análise do pesticida, utilizando-se as três técnicas eletroquímicas nesse estudo. As menores concentrações mensuráveis do paraquat nessas amostras foram calculadas, isto é, LOD* e LOQ*, afim de observar a interferência de possíveis componentes dessas amostras na metodologia utilizada.

4.5.1 – Curvas de trabalho para a redução do paraquat em UME-Au utilizando-se VPD.

O mesmo procedimento analítico foi aplicado utilizando-se o eletrólito de suporte preparado com as amostras de águas do rio Mogi-Guaçu. Na Figura 4.15 são apresentados os voltamogramas de pulso diferencial obtidos.

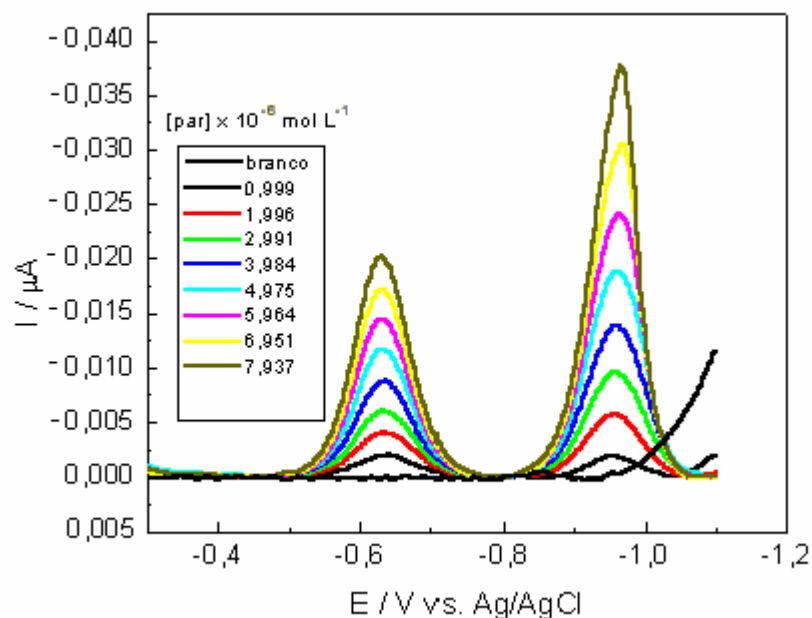


Figura 4.15 – Voltamogramas de pulso diferencial para o paraquat em UME - Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A dependência linear entre a corrente de pico e a concentração do paraquat foi novamente verificada e com o valor $r = 0,9961$ a linearidade da curva analítica, apresentada na Figura 4.16, pôde ser comprovada.

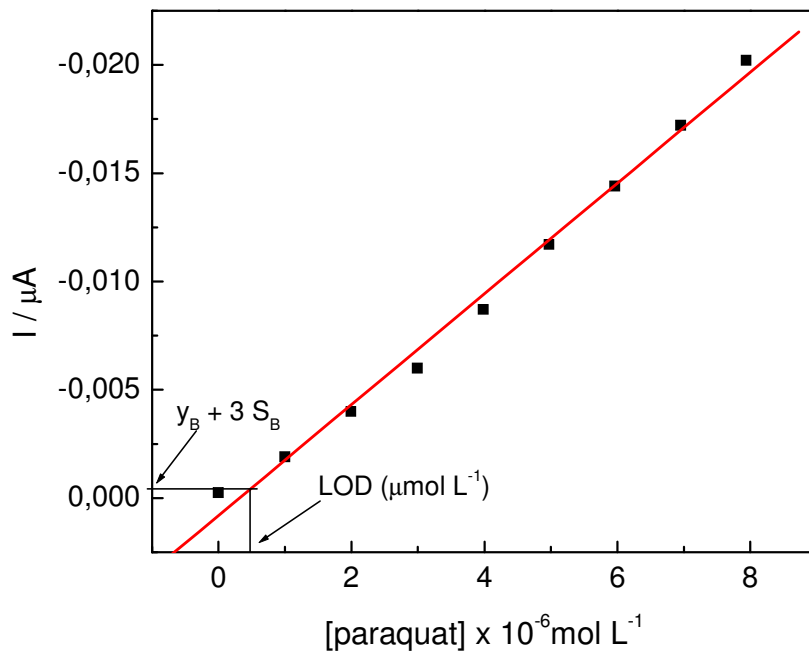


Figura 4.16 – Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME - Au com as mesmas condições da Figura 4.15, considerando-se o pico 1.

O tratamento estatístico aplicado utilizando-se VPD na análise de águas naturais está apresentado na Tabela 4.4. A equação da reta é descrita por $I_p = (1,02 \times 10^{-3} \pm 7,79 \times 10^{-4}) \times 10^{-6} \text{ A} - (2,60 \times 10^{-3} \pm 1,65 \times 10^{-4}) \text{ A mol}^{-1} \cdot [\text{paraquat}] \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Nesse caso $\text{LOD}^* = (70,52 \pm 0,15) \mu\text{g L}^{-1}$ e $\text{LOQ}^* = (235,06 \pm 0,15) \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 4.4 – Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em águas naturais por VPD.

x ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	y (μA)	$x - \bar{x}$	$y - \bar{y}$	$(x - \bar{x})(y - \bar{y})$	$(x - \bar{x})^2$	$(y - \bar{y})^2$	\hat{y}	$(y - \hat{y})^2$	x^2
0,000	0,0003	-3,9774	0,00965	-0,03838	15,82006	0,00009	0,00102	0,00000046	0,0000
0,999	-0,0019	-2,9784	0,00741	-0,02206	8,87113	0,00005	-0,00157	0,00000011	0,9980
1,996	-0,0040	-1,9814	0,00531	-0,01051	3,92612	0,00003	-0,00416	0,00000003	3,9840
2,991	-0,0060	-0,9864	0,00331	-0,00326	0,97307	0,00001	-0,00674	0,00000055	8,9461
3,984	-0,0087	0,0066	0,00061	0,00000	0,00004	0,00000	-0,00932	0,00000039	15,8723
4,975	-0,0117	0,9976	-0,00239	-0,00239	0,99512	0,00001	-0,01190	0,00000004	24,7506
5,964	-0,0144	1,9866	-0,00509	-0,01012	3,94640	0,00003	-0,01446	0,00000000	35,5693
6,951	-0,0172	2,9736	-0,00789	-0,02347	8,84203	0,00006	-0,01703	0,00000003	48,3164
7,937	-0,0202	3,9596	-0,01089	-0,04313	15,67808	0,00012	-0,01959	0,00000038	62,9960
35,797	-0,0838	0,0000	0,00000	-0,15333	59,05207	0,00040	-0,08376	0,00000198	201,4326
Médias									
3,977	-0,00931								
b									
a									
-0,00260	0,00102								
Sy/x	Sb	Saz	Lodi (μA)	LOD ($\mu\text{mol/L}$)	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)			
0,00053	0,00007	0,00033	0,00004	0,37862	70,5178	235,0589			

4.5.2 – Curvas de trabalho para a redução do paraquat em UME-Au utilizando-se VOQ.

O mesmo estudo foi realizado utilizando-se VOQ na análise do pesticida em eletrólito de suporte preparado com águas do rio Mogi-Guaçu. Os resultados voltamétricos para as diferentes concentrações de paraquat estão apresentados na Figura 4.17.

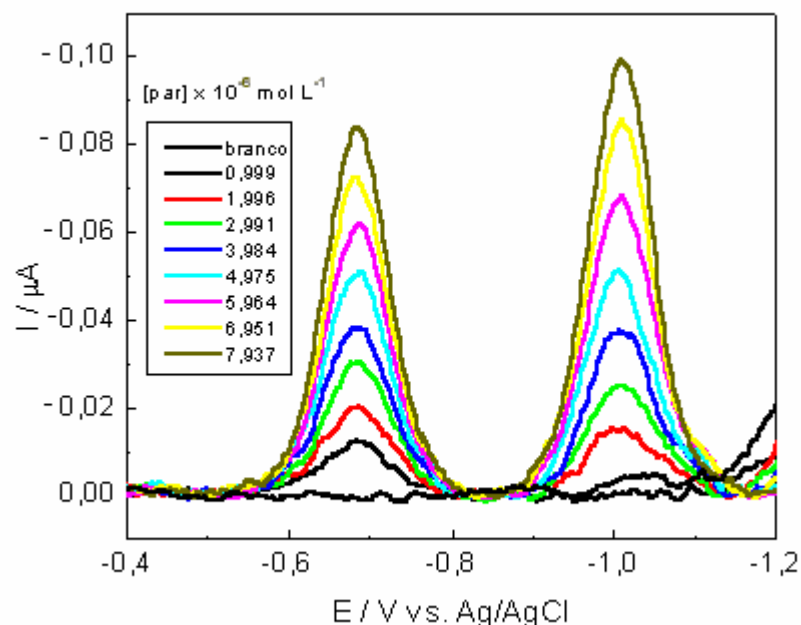


Figura 4.17 – Voltamogramas de onda quadrada para o paraquat em UME -Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 250 \text{ s}^{-1}$.

Pôde-se observar que a corrente de pico aumentou com o aumento da concentração do pesticida. O coeficiente de correlação produto-momento $r = 0,9986$ juntamente com o gráfico da curva de calibração, Figura 4.18, asseguram a linearidade da curva analítica⁴⁸.

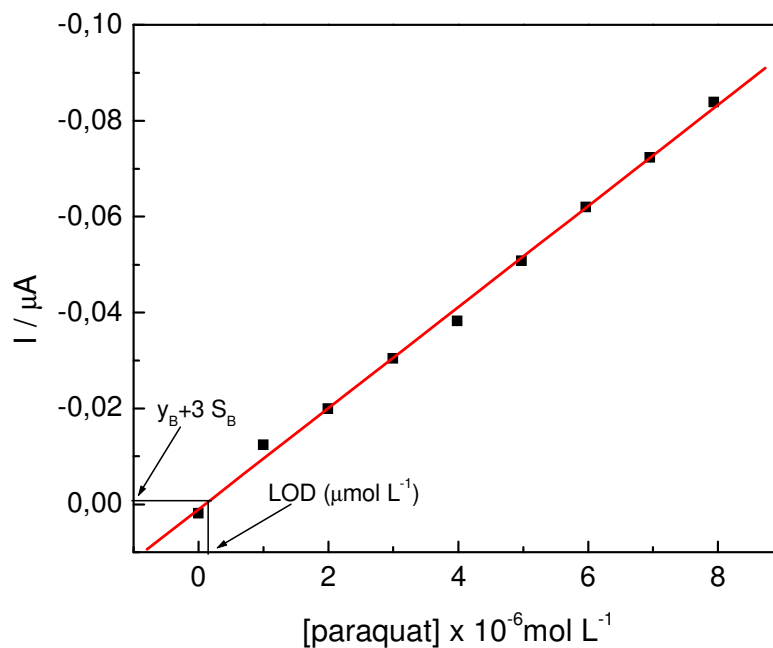


Figura 4.18 – Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME-Au com as mesmas condições da Figura 4.17, considerando-se o pico 1.

A curva analítica pôde ser descrita por $I_p = (1,04 \times 10^{-3} \pm 2,36 \times 10^{-4}) \times 10^{-6} \text{ A} - (1,06 \times 10^{-2} \pm 4,96 \times 10^{-4}) \text{ A mol}^{-1} \cdot [\text{paraquat}] \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Nesse caso o $\text{LOD}^* = (52,76 \pm 0,19) \mu\text{g L}^{-1}$ e $\text{LOQ}^* = (175,86 \pm 0,19) \mu\text{g L}^{-1}$.

O tratamento estatístico utilizado nesta análise está apresentado na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 – Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em águas naturais por VOQ.

x ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	y (μA)	$x - \bar{x}$	$y - \bar{y}$	$(x - \bar{x})(y - \bar{y})$	$(x - \bar{x})^2$	$(y - \bar{y})^2$	\hat{y}	$(y - \hat{y})^2$	x^2
0,000	0,0019	-3,9774	0,04281	-0,17028	15,82006	0,00183	0,00104	0,00000074	0,0000
0,999	-0,0124	-2,9784	0,02851	-0,08492	8,87113	0,00081	-0,00950	0,00000842	0,9980
1,996	-0,0199	-1,9814	0,02101	-0,04163	3,92612	0,00044	-0,02001	0,00000001	3,9840
2,991	-0,0304	-0,9864	0,01051	-0,01037	0,97307	0,00011	-0,03051	0,00000001	8,9461
3,984	-0,0383	0,0066	0,00261	0,00002	0,00004	0,00001	-0,04098	0,00000718	15,8723
4,975	-0,0508	0,9976	-0,00989	-0,00986	0,99512	0,00010	-0,05143	0,00000040	24,7506
5,964	-0,0620	1,9866	-0,02109	-0,04189	3,94640	0,00044	-0,06186	0,00000002	35,5693
6,951	-0,0724	2,9736	-0,03149	-0,09363	8,84203	0,00099	-0,07227	0,00000002	48,3164
7,937	-0,0839	3,9596	-0,04299	-0,17022	15,67808	0,00185	-0,08267	0,00000151	62,9960
35,797	-0,3682	3,5527E-15	0,00000	-0,62279	59,05207	0,00659	-0,36820	0,00001832	201,4326
Médias									
3,977	-0,0409								
b	a								
-0,01055	0,00104								
Sy/x	Sb	Saz	Lodi (μA)	LOD ($\mu\text{mol/L}$)	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)			
0,00162	0,00021	0,00100	-0,00195	0,28327	52,7587	175,8620			

4.5.3 – Curvas de trabalho para a redução do paraquat em UME-Au utilizando-se VMOQ.

Finalmente utilizou-se a VMOQ na análise do pesticida em eletrólito de suporte preparado com amostras de águas naturais. Os múltiplos voltamogramas de onda quadrada para as várias concentrações do pesticida são apresentados na Figura 4.19.

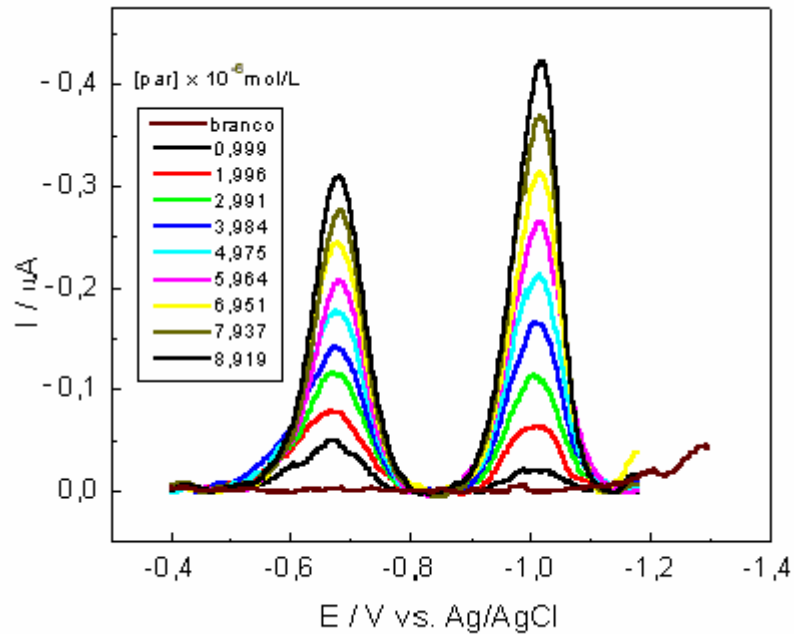


Figura 4.19 – Múltiplos Voltamogramas de onda quadrada para o paraquat em UME -Au em meio de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, $N=8$ e $f = 250 \text{ s}^{-1}$.

A curva analítica está apresentada na Figura 4.20 e o tratamento estatístico na Tabela 4.6. O valor obtido de $r = 0,9996$ comprova a relação linear da curva de trabalho⁴⁸.

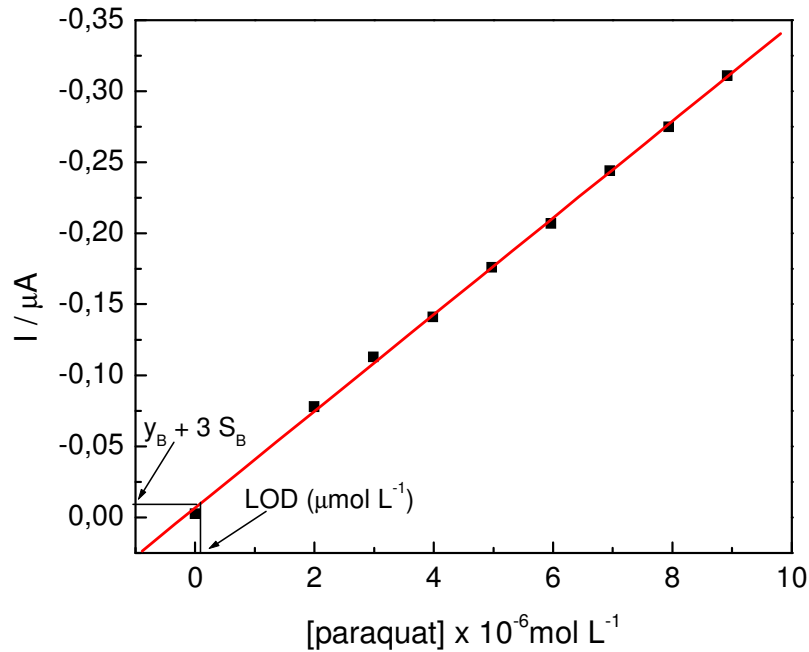


Figura 4.20 – Curva de trabalho para o paraquat sobre o UME - Au com as mesmas condições da Figura 4.19, considerando-se o pico 1.

A curva analítica pôde ser descrita por $I_p = (-1,01 \times 10^{-2} \pm 3,33 \times 10^{-3}) \times 10^{-6} \text{ A} - (3,35 \times 10^{-2} \pm 5,90 \times 10^{-4}) \text{ A mol}^{-1} \cdot [\text{paraquat}] \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Nesse caso $\text{LOD}^* = (23,59 \pm 0,63) \mu\text{g L}^{-1}$ e $\text{LOQ}^* = (78,62 \pm 0,63) \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 4.6 – Parâmetros estatísticos para a determinação de paraquat em águas naturais por VMOQ.

x ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	y (μA)	$x - \bar{x}$	$y - \bar{y}$	$(x - \bar{x})(y - \bar{y})$	$(x - \bar{x})^2$	$(y - \bar{y})^2$	\hat{y}	$(y - \hat{y})^2$	x^2
0,000	-0,0100	-4,8574	0,16278	-0,79068	23,59477	0,02650	-0,01011	0,00000001	0,0000
1,996	-0,0780	-2,8614	0,09478	-0,27120	8,18786	0,00898	-0,07696	0,00000109	3,9840
2,991	-0,1130	-1,8664	0,05978	-0,11157	3,48361	0,00357	-0,11028	0,00000742	8,9461
3,984	-0,1410	-0,8734	0,03178	-0,02776	0,76291	0,00101	-0,14353	0,00000639	15,8723
4,975	-0,1760	0,1176	-0,00322	-0,00038	0,01382	0,00001	-0,17671	0,00000051	24,7506
5,964	-0,2070	1,1066	-0,03422	-0,03787	1,22447	0,00117	-0,20983	0,00000803	35,5693
6,951	-0,2440	2,0936	-0,07122	-0,14911	4,38297	0,00507	-0,24289	0,00000124	48,3164
7,937	-0,2750	3,0796	-0,10222	-0,31480	9,48366	0,01045	-0,27590	0,00000082	62,9960
8,919	-0,3110	4,0616	-0,13822	-0,56140	16,49623	0,01911	-0,30879	0,00000489	79,5486
43,717	-1,5550	0,0000	0,00000	-2,26476	67,63031	0,07587	-1,55500	0,00003041	279,9832
Médias									
4,857	-0,17278								
b	a								
-0,03349	-0,01011								
Sy/x	Sb	Saz	Lodi (μA)	LOD ($\mu\text{mol/L}$)	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)			
0,00208	0,00025	0,00141	-0,01436	0,12664	23,5862	78,6206			

4.6 – Resultados do paraquat em UME- Au usando VPD, VOQ e VMOQ em águas puras e naturais

A Figura 4.21 mostra as curvas analíticas resultantes da análise do pesticida em águas puras e naturais. As curvas resultantes da VMOQ indicam uma melhora no sinal analítico, representado pelo aumento nas correntes de pico, em torno de 3,0 vezes comparado com VOQ e 10,0 vezes em relação a VPD, considerando-se o pico 1. A importância de tal melhora não pode ser subestimada, já que é uma evidência conclusiva sobre a maior sensibilidade obtida utilizando-se VMOQ quando comparada com VOQ e VPD. Adicionalmente observa-se que a variação da inclinação das curvas de trabalho obtida na análise de amostras de água do rio Mogi-

Guaçu são muito próximas em relação àquelas obtidas utilizando-se o eletrólito de suporte preparado com água ultrapurificada para as três técnicas utilizadas neste trabalho, mostrando que os vários compostos orgânicos e inorgânicos presentes nas amostras de águas naturais não interferem na análise do paraquat. Este comportamento era esperado, pois, de acordo com os trabalhos da literatura e com os resultados obtidos na otimização dos parâmetros voltamétricos obtidos por De Souza⁶² e neste trabalho, o pico 1 é referente a uma reação em solução, na interface do eletrodo, onde a superfície eletródica serve apenas como intermediadora na transferência eletrônica. Assim, os interferentes presentes nas amostras que possam adsorver na superfície do eletrodo não interferem nos resultados finais das correntes de redução do paraquat.

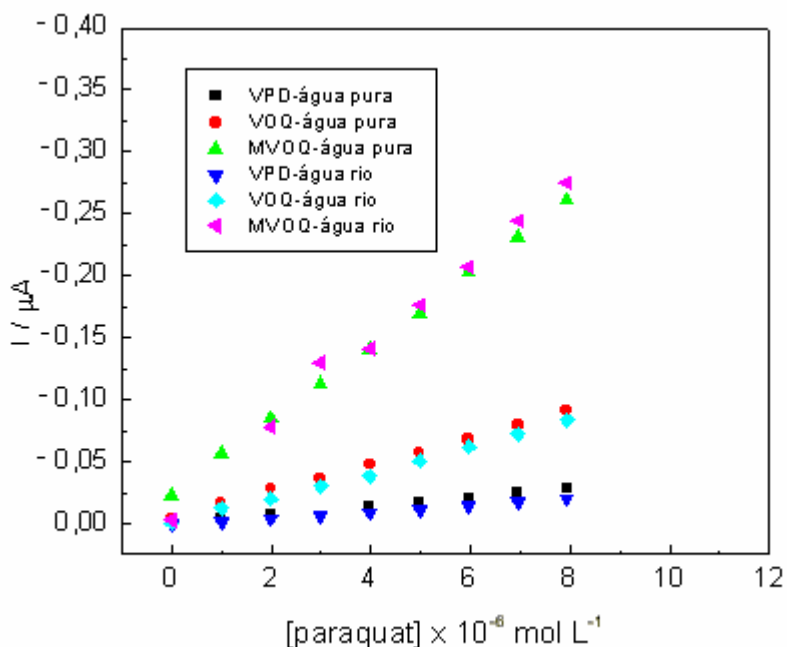


Figura 4.21 – Curvas de trabalho para o paraquat em UME-Au em águas puras e naturais utilizando-se VPD, VOQ e VMOQ.

Uma avaliação dos níveis de contaminação das amostras do rio Mogi-Guaçu foi realizada utilizando-se as análises de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e DQO (Demanda Química de Oxigênio).

A capacidade da matéria orgânica presente em uma amostra de água natural de consumir oxigênio é determinada pela DBO. Quanto maior o valor de DBO, maior será a quantidade de matéria orgânica contida na amostra. Se ao invés de uma reação de oxidação catalisada pela ação de microrganismos a oxidação for via utilização de forte oxidante, temos a DQO. Devido à ação do agente oxidante, geralmente dicromato dissolvido em ácido sulfúrico, muitos compostos orgânicos estáveis também acabam por serem oxidados nas análises de DQO, fornecendo valores superiores àqueles obtidos por DBO⁶³.

A Tabela 4.7 apresenta os valores de DBO e DQO das amostras coletadas no rio Mogi-Guaçu e estas análises foram realizadas pelo Laboratório de Saneamento, da Escola de Engenharia de São Carlos. Para as amostras de água ultrapurificada o valor esperado para DBO e DQO é zero.

Tabela 4.7 – Resultados experimentais de DBO e DQO das amostras de águas naturais.

Parâmetro	Amostras de água
DBO (mg L⁻¹)	1,0
DQO (mg L⁻¹)	22,0

Dos resultados apresentados na Tabela 4.8, pôde-se observar uma diminuição no limite de detecção em torno de 3,0 vezes em relação a VPD e 2,0 vezes comparado a VOQ, quando se utilizou VMOQ.

Tabela 4.8 – Resultados obtidos com a regressão linear das curvas de trabalho para a detecção do paraquat em UME-Au em águas puras e naturais, utilizando-se VPD, VOQ e VMOQ.

VPD		
Parâmetro	Água pura	Água rio
r	0,9986	0,9961
a (µA)	$3,42 \times 10^{-3} \pm 9,80 \times 10^{-4}$	$1,02 \times 10^{-3} \pm 7,79 \times 10^{-4}$
b (A / mol L ⁻¹)	$-4,06 \times 10^{-3} \pm 1,47 \times 10^{-4}$	$-2,60 \times 10^{-3} \pm 1,65 \times 10^{-4}$
LOD / LOD* (µmol L ⁻¹)	0,2972 ± 0,0010	0,3786 ± 0,0008
LOD / LOD* (ppb)	55,35 ± 0,18	70,52 ± 0,15
LOQ / LOQ* (ppb)	184,49 ± 0,18	235,06 ± 0,15
VOQ		
r	0,9994	0,9986
a (µA)	$-5,19 \times 10^{-3} \pm 1,70 \times 10^{-4}$	$1,04 \times 10^{-3} \pm 2,36 \times 10^{-4}$
b (A / mol L ⁻¹)	$-1,07 \times 10^{-2} \pm 3,54 \times 10^{-4}$	$-1,06 \times 10^{-2} \pm 4,96 \times 10^{-4}$
LOD / LOD* (µmol L ⁻¹)	0,2013 ± 0,0017	0,2833 ± 0,0024
LOD / LOD* (ppb)	37,50 ± 0,32	52,76 ± 0,19
LOQ / LOQ* (ppb)	124,99 ± 0,32	175,86 ± 0,19
VMOQ		
r	0,9998	0,9996
a (µA)	$-2,58 \times 10^{-2} \pm 2,67 \times 10^{-3}$	$-1,01 \times 10^{-2} \pm 3,33 \times 10^{-3}$
b (A / mol L ⁻¹)	$-2,95 \times 10^{-2} \pm 5,19 \times 10^{-4}$	$-3,35 \times 10^{-2} \pm 5,90 \times 10^{-4}$
LOD / LOD* (µmol L ⁻¹)	0,1150 ± 0,0027	0,1266 ± 0,0034
LOD / LOD* (ppb)	21,42 ± 0,51	23,59 ± 0,63
LOQ / LOQ* (ppb)	71,41 ± 0,51	78,62 ± 0,63

* menor concentração mensurável de paraquat em amostras de águas naturais.

4.7 – Cálculos de limite de detecção (LD) e de limite de quantificação (LQ) pelo método recomendado pela IUPAC.

Nesta etapa utilizou-se o método recomendado pela IUPAC para o cálculo do limite de detecção (LD), como sendo a menor concentração de um analito que dará um sinal igual a três vezes o nível de ruído da linha de base⁶⁴, foi calculado em eletrólito de suporte preparado com água ultrapurificada e com amostras de águas naturais, considerando-se o pico 1 e utilizando-se as três técnicas eletroanalíticas por meio da relação 13.

$$LD = \frac{3S_B}{b} \quad (13)$$

onde S_B é o desvio padrão da média de medidas do branco (neste caso utilizou-se a média de 10 brancos) e b é a inclinação da reta de trabalho. Nestas condições a confiabilidade é de 95%.

Além do limite de detecção, o limite de quantificação (LQ) foi também avaliado. Esse valor é definido como sendo o menor valor determinado para a metodologia proposta onde consideramos que o limite do equipamento ainda não foi atingido, mas a confiabilidade atingida é de 99%⁶⁵. Considerando-se a metodologia proposta o valor de LQ é dado pela relação:

$$LQ = \frac{10S_B}{b} \quad (14)$$

O valor do coeficiente de correlação produto-momento (r), o desvio padrão da média aritmética de dez brancos (S_B), a inclinação da curva de trabalho (b), os valores dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para a redução do paraquat em UME-Au em águas puras e naturais , utilizando-se VPD, VOQ e VMOQ estão apresentados na Tabela 4.9.

Tabela 4.9 – Resultados obtidos com a construção de curvas de trabalho para a detecção do paraquat em UME- Au utilizando-se VPD, VOQ e VMOQ.

VPD		
Parâmetro	Água pura	Água rio
r	0,9986	0,9961
b (A / mol L ⁻¹)	4,06x10⁻³	2,60x10⁻³
S_B (µA)	2,14x10⁻⁴	2,37x10⁻⁴
LD / LD* (µmol L ⁻¹)	1,58x10⁻¹	2,73x10⁻¹
LD / LD* (ppb)	29,43	50,93
LQ / LQ* (ppb)	98,17	169,77
VOQ		
r	0,9994	0,9986
b (A / mol L ⁻¹)	1,07x10⁻²	1,06x10⁻²
S_B (µA)	6,96x10⁻⁵	9,75x10⁻⁵
LD / LD* (µmol L ⁻¹)	1,95x10⁻²	2,76x10⁻²
LD / LD* (ppb)	3,63	5,14
LQ / LQ* (ppb)	12,11	17,13
VMOQ		
r	0,9998	0,9996
b (A / mol L ⁻¹)	2,95x10⁻²	3,35x10⁻²
S_B (µA)	1,96x10⁻⁵	3,31x10⁻⁵
LD / LD* (µmol L ⁻¹)	1,98x10⁻³	2,96x10⁻³
LD / LD* (ppb)	0,37	0,55
LQ / LQ* (ppb)	1,24	1,84

* menor concentração mensurável de paraquat em águas naturais

Na Tabela 4.10 comparamos os resultados obtidos para os cálculos de limites de detecção utilizando-se a metodologia usada neste trabalho e o método recomendado pela IUPAC.

Tabela 4.10 – Resultados obtidos para os cálculos de limites de detecção utilizando-se a metodologia usada neste trabalho e a recomendada pela IUPAC.

VPD		
Parâmetros	Água pura	Água rio
$Y_B = a$ (μA)	$3,42 \times 10^{-3} \pm 9,80 \times 10^{-4}$	$1,02 \times 10^{-3} \pm 7,79 \times 10^{-4}$
$S_B = S_a$ (μA)	$4,00 \times 10^{-4}$	$3,30 \times 10^{-4}$
$\text{LOD} = Y_B + 3 S_B$ (ppb) / LOD^*	$55,35 \pm 0,18$	$70,52 \pm 0,15$
S_B (μA)	$2,14 \times 10^{-4}$	$2,37 \times 10^{-4}$
b ($\text{A} / \text{mol L}^{-1}$)	$4,06 \times 10^{-3}$	$2,60 \times 10^{-3}$
$\text{LD} = 3 S_B / b$ (ppb) / LD^*	29,43	50,93

VOQ		
Parâmetros	Água pura	Água rio
$Y_B = a$ (μA)	$-5,19 \times 10^{-3} \pm 1,70 \times 10^{-4}$	$1,04 \times 10^{-3} \pm 2,36 \times 10^{-4}$
$S_B = S_a$ (μA)	$7,20 \times 10^{-4}$	$1,00 \times 10^{-3}$
$\text{LOD} = Y_B + 3 S_B$ (ppb) / LOD^*	$37,50 \pm 0,32$	$52,76 \pm 0,19$
S_B (μA)	$6,96 \times 10^{-5}$	$9,75 \times 10^{-5}$
b ($\text{A} / \text{mol L}^{-1}$)	$1,07 \times 10^{-2}$	$1,06 \times 10^{-2}$
$\text{LD} = 3 S_B / b$ (ppb) / LD^*	3,63	5,14

VMOQ		
Parâmetros	Água pura	Água rio
$Y_B = a$ (μA)	$-2,58 \times 10^{-2} \pm 2,67 \times 10^{-3}$	$-1,01 \times 10^{-2} \pm 3,33 \times 10^{-3}$
$S_B = S_a$ (μA)	$1,13 \times 10^{-3}$	$1,41 \times 10^{-3}$
$\text{LOD} = Y_B + 3 S_B$ (ppb) / LOD^*	$21,42 \pm 0,51$	$23,59 \pm 0,63$
S_B (μA)	$1,96 \times 10^{-5}$	$3,31 \times 10^{-5}$
b ($\text{A} / \text{mol L}^{-1}$)	$2,95 \times 10^{-2}$	$3,35 \times 10^{-2}$
$\text{LD} = 3 S_B / b$ (ppb) / LD^*	0,37	0,55

* menor concentração mensurável de paraquat em águas naturais

Dos resultados apresentados na Tabela 4.10, observa-se uma diferença de até 2 ordens de grandeza nos resultados de LD, quando foram calculados levando-se em consideração a metodologia recomendada pela IUPAC. Se esses valores não forem bem avaliados, podem levar o analista à conclusões equivocadas.

5 – CONCLUSÕES

Neste trabalho se utilizou uma metodologia estatística para o tratamento dos dados obtidos com três técnicas eletroquímicas (voltametria de pulso diferencial, voltametria de onda quadrada e voltametria de múltiplas ondas quadradas), para a detecção do pesticida paraquat em matrizes de laboratório e em água do Rio Mogi-Guaçu. Não foi detectado paraquat originalmente presente nas amostras de água do rio.

As três técnicas forneceram resultados idênticos àqueles observados anteriormente, indicando que as técnicas foram aplicadas de maneira correta na quantificação de paraquat. Dentro desta perspectiva, a técnica mais sensível ao paraquat foi a múltipla voltametria de onda quadrada e a menos sensível a voltametria de pulso diferencial.

Dos dois picos de redução obtidos, utilizou-se as correntes de pico do primeiro, no potencial de $-0,64$ V, por tratar-se de uma reação eletródica associada a um processo em solução, com menos interferência de processos de adsorção de espécies presentes nas respectivas matrizes (contaminantes).

O tratamento estatístico utilizado foi muito conveniente para a obtenção de alguns parâmetros não usuais neste tipo de determinação.

O primeiro deles é o erro associado às determinações de concentrações de analito obtidas de curvas analíticas.

Em estatística é sabido que nenhum dado numérico tem qualquer valor, a não ser que a ele seja associada uma estimativa dos erros cometidos ao calculá-lo.

Assim, não basta tirar o valor da concentração do pesticida da curva analítica, porém também o erro associado. Isto foi feito com sucesso e exemplos destes cálculos podem ser encontrados, por exemplo, na Tabela 4.8.

O segundo parâmetro obtido com a metodologia estatística empregada aqui foi o limite de detecção para cada uma das técnicas voltamétricas utilizadas.

Segundo a IUPAC (International Union for Pure and Applied Chemistry) a forma para se calcular o limite de detecção para técnicas voltamétricas emprega a equação:

$$LD = \frac{3S_B}{b}$$

onde S_B é o desvio padrão de n medidas do branco, no potencial equivalente ao pico voltamétrico do analito e b a tangente da curva analítica. Por convenção, n deve ser um número grande, como 10 medidas.

Pode-se, assim, observar que o valor do limite de detecção é fortemente dependente de um parâmetro obtido na ausência do analito de interesse. Além disso, estatisticamente, quanto maior for n , menor será o limite de detecção.

Claramente esta não é uma boa metodologia para o cálculo do limite de detecção.

Neste trabalho, este importante parâmetro foi calculado (juntamente com os erros envolvidos na determinação) diretamente na curva de calibração onde, como todos os outros pontos, o sinal do “branco” foi obtido apenas uma vez e graficado em conjunto com as outras concentrações do analito.

O “desvio padrão do branco” foi substituído pelo erro da intersecção, obtido com toda a curva analítica. Assim, a equação acima se tornou:

$$LD = \frac{3S_a}{b}$$

onde, agora, S_a é o erro do intercepto, calculado com todos os pontos da curva de calibração.

A diferença dos resultados obtidos com estes dois métodos é considerável como apresentado na Tabela 4.10. No ponto de vista deste trabalho, a nova metodologia estatística é muito mais eficiente para evidenciar um sinal significativamente diferente do ruído, fornecendo valores reais de limite de detecção e não valores tão baixos que se encontram fora da curva analítica.

Desta forma, neste trabalho mostrou-se uma discussão sobre o cálculo dos valores de limites de detecção e de quantificação, propondo-se uma metodologia alternativa ao procedimento padrão da IUPAC.

6 – PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Como perspectiva para trabalhos futuros, podemos pensar na utilização da metodologia empregada nesta pesquisa no tratamento dos dados analíticos para a análise de outros pesticidas em substituição aos métodos padrão comumente utilizados.

A tradicional voltametria de onda quadrada poderá ser utilizada na otimização de parâmetros experimentais e voltamétricos para o desenvolvimento de métodos de determinação eletroanalítica de outros dipiridílios em culturas diversas. A VMOQ aliada à VOQ poderá ser empregada através da avaliação de programações de múltiplos pulsos de potenciais adequadas aos compostos de interesse, onde curvas de calibração serão construídas e o tratamento estatístico realizado, com a avaliação dos erros experimentais, para posterior aplicação em amostras de águas naturais e alimentos tais como: batata, couve, morango, laranja, etc.

É importante ressaltar que os resultados obtidos na detecção e quantificação de diferentes compostos por meio da metodologia usada neste estudo nos dão uma informação física e realística do analito de interesse.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBOSA, L. C. A. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**. Viçosa: Editora UFV, 2004. 215 p.
2. LARA, W.H; BATISTA, G.C. Pesticidas. **Química Nova**, v. 15, n. 2, p. 161-166, 1992.
3. RICHARDSON, M. Pesticides – friend or foe? **Water Science Technology**, v. 37, n. 8, p. 19-25, 1998.
4. UNNEVER, J.; PINGALI, P.L.; ZILBERMAN, D. Changing pesticide policies: Introduction. **Food Policy**, v. 22, n. 2, p. 105-106, 1997.
5. SILVA, S.C. Brasil é o 4º maior consumidor de agrotóxicos. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 18 jul. 1999. Geral Ambiente, p. A16
6. VAZ, Carlos Manuel Pedro. **Metodologia eletroanalítica para medida de atrazina em solução e isotermas de adsorção em solos**. 1994. 96 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.
7. VAZ, C. M. P.; CRESTANA, S.; MACHADO, S. A. S.; MAZO, L. H.; MASSAROPI, M. R. C.; AVACA, L. A. Determinação de pesticidas por técnicas eletroanalíticas. **Pesticidas, Revista Técnico-Científica – CEPPA**, v. 6, p. 55-74, 1996.
8. COLLINS, C. H. **Princípios básicos de cromatografia**. Campinas: Ed. Unicamp, 1990. 143 p.
9. RUPP, E. B.; ZUMAN, P. Polarographic determination of some pesticides. Application to a study of their adsorption on lignin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 10, p. 2016-2021, 1992.
10. VAZ, C. M. P.; CRESTANA, S.; MACHADO, S. A. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A. Electroanalytical Determination of the Herbicide Atrazine in Natural Waters. **International Journal Environmental Analytical Chemistry**, v. 62, p. 65-76, 1996.
11. SZCZEPANIAK, W.; CZYZOWICZ, B.; REN, M. Voltammetric determination of pometrine in soil and water. **Analytica Chimica Acta**, n. 305, p. 207-211, 1995.
12. BRAININA, K. H. Advances in voltammetry. **Talanta**, v. 34, p. 41-50, 1987.
13. SKOOG, D. A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. 5.ed. Philadelphia: Saunders, 1998. 917 p.

- 14.HANCE, R. J. Polarography of Herbicides – A Preliminary Survey. **Pesticides Science**, v. 01, p. 112-113, 1970.
- 15.WIGHTMAN, R. M.; MALOY, J.T.; FAULKNER, L. R.; OSTERYOUNG, R. A.; ANSON, F. C. **Analytical Chemistry**, v. 54, p. 698A, 1982.
- 16.OSTERYOUNG, J.; OSTERYOUNG, R. Square wave voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 101A-110A, 1985.
- 17.OSTERYOUNG, J.; SCHREINER, M. M. Recent Advances in Pulse Voltammetry. **CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 19, p. S1-S27, 1988. Supplement 1.
- 18.DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de Onda Quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.
- 19.CHRISTIAN, G. D. **Analytical Chemistry**. 4. ed. New York: John Wiley, 1986. 335 p.
- 20.RAMALEY, L.; KRAUSE JÚNIOR, M. S. Theory of Square Wave Voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 1362-1365, 1969.
21. RAMALEY, L.; KRAUSE JÚNIOR, M. S. Analytical application of Square Wave Voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 1365-1369, 1969.
- 22.CHRISTIE, J.H.; TURNER, J. A.; OSTERYOUNG, R. A. Square wave voltammetry at the dropping mercury electrode: theory. **Analytical Chemistry**, v. 49, n. 13, p. 1899-1903, 1977.
- 23.CHRISTIE, J.H.; TURNER, J. A.; OSTERYOUNG, R. A. Square wave voltammetry at the dropping mercury electrode: experimental. **Analytical Chemistry**, v. 49, n. 13, p. 1904-1908, 1977.
- 24.OSTERYOUNG, J.; OSTERYOUNG, R. Square wave voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 101A-110A, 1985.
- 25.DE SOUZA, D.; GALLI, A.; CALEGARO M. L.; MACHADO, S. A. S. Utilização da Múltipla Voltametria de Onda Quadrada na determinação eletroanalítica de compostos orgânicos e inorgânicos. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 458-463, 2006.
- 26.RAMALEY, L.; KRAUSE J. M. S. Theory of Square Wave Voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 1362-1365, 1969.
- 27.LOVRIC, M.; KOMORSKY-LOVRIC, S. Square Wave Voltammetry of an Adsorbed Reactant. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 248, p. 239-253, 1988.

- 28.FATOUROS, N.; SIMONIN, J. P.; CHEVALET, J. Theory of multiple square wave voltammetries. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 213, p. 01-16, 1986.
- 29.CHEVALET, J.; CHAMPAGNE, G. Y.; GASTONGUAY, L.; LACASSE, R.; LADOUCEUR, M.; FATOUROS, N.; KRULIC, D. Development of electroanalytical instrumentation. Application to the determination of electroactive species at low concentration in various fields. **Journal de Chimie Physique**, v. 93, p. 804-817, 1996.
- 30.PETER, B.; WARTENA, M.; KAMPINGA, H. H.; KONINGS, A. W. T. Role of lipid peroxidation and DNA damage in paraquat toxicity and the interaction of paraquat with ionizing radiation. **Biochemical Pharmacology**, v. 43, n. 4, p. 705-715, 1992.
- 31.SERRA, A.; DOMINGOS, F.; MARTINS PRATA, M. Intoxicação por paraquat. **Acta Médica Portuguesa**, v. 16, p. 25-32, 2003.
- 32.HONG, S. Y.; HWANG, K. Y.; LEE, E. Y.; EUN, S. W.; CHO, S. R.; HAN, C. S.; PARK, Y. H.; CHANG, S. K. Effect of vitamin C on plasma total antioxidant status in patients with paraquat intoxication. **Toxicology Letters**, v. 126, p. 51-59, 2002.
- 33.BULLIVANT, C. M. Accidental poisoning by paraquat: report of two cases in man. **British Medical Journal**, v. 5498, p. 1272-1273, 1966.
- 34.MELCHIORRI, D.; REITER, R. J.; SEWERYNEK, E.; HARA, M.; CHEN, L.; NISTICO, G. Paraquat toxicity and oxidative damage. **Biochemical Pharmacology**, v. 51, p. 1095-1099, 1996.
- 35.ECOBICHON, D. J. Toxic effects of pesticides. In: AMDUR, M. O.; DOULL, J.; KLAASE, C.D.(Ed.). **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 4. ed. New York: Mc Graw Hill, 1991. Cap. 22, p. 763-810.
- 36.TEARE, R. D. Poisoning by paraquat. **Medicine, Science, and the Law**, v. 16, n. 1, p. 9-12, 1976.
- 37.ALONZO, H. G. A.; CORRÊA, C. L. Praguicidas. In: OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003. p. 437-458.
- 38.AGROTÓXICOS e Toxicologia – Legislação. Disponível em: <<http://www.anvisa.Com.Br/toxicologia/monografias250903.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2007.
- 39.RAI, M. K.; DAS, J. V.; GUPTA, V. K. A sensitive determination of paraquat by spectrophotometry. **Talanta**, v. 45, p. 343-348, 1997.
- 40.SAAD, B.; ARIFFIN, M.; SALEN, M. I. Flow injection potentiometric determination of paraquat in formulations and biological samples. **Talanta**, v. 47, p. 1231-1236, 1998.

41. TAGUCHI, V. Y.; JENKINS, S. W. D.; CROZIER, P. W.; WANG, D. T. Determination of diquat and paraquat in water by liquid chromatography (electrospray ionization) mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 9, n. 8, p. 830-839, 1998.
42. WALCARIUS, A.; LAMBERTS, L. Square wave voltammetric determination of paraquat and diquat in aqueous solutions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 406, p. 59-68, 1996.
43. HENNION, M. C.; BARCELÓ, D. Strengths and limitations of immunoassays for effective and efficient use for pesticide analysis in water samples: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 362, n. 2-3, p. 3-34, 1998.
44. MONK, P. M. S.; TURNER, C.; AKHTAR, S. P. Electrochemical behaviour of methyl viologen in a matrix of paper. **Electrochimica Acta**, v. 44, p. 4817-4826, 1999.
45. DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S. Estudo eletroanalítico do herbicida paraquat em soluções aquosas por voltametria de onda quadrada utilizando ultramicroeletrodos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 644-647, 2003.
46. LU, T. H.; SUN, I. W. Electrocatalytic determination of paraquat using a nafion film coated glassy carbon electrode. **Talanta**, v. 53, p. 443-451, 2000.
47. CORREIA, A. N.; MASCARO, L. H.; MACHADO, S. A. S.; MAZO L. H.; AVACA, L. A. Ultramicroeletrodos. Parte I: Revisão teórica e perspectivas. **Química Nova**, v. 18, n. 5, p. 475-480, 1995.
48. MILLER, J. C.; MILLER, J. N. **Statistic for analytical chemistry**. New York: Ellis Horwood, 1993. 268 p.
49. OLIVEIRA, U. M. F.; LICHTIG, J.; MASINI, J. C. Evaluation of a Nafion coated glassy carbon electrode for determination of paraquat by differential pulse voltammetry. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 735-741, 2004.
50. MASSAROPPI, M. R. C.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Electroanalytical determination of the herbicide Picloram in natural waters by square wave voltammetry. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 1, p. 113-119, 2003.
51. DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; PIRES, R. C. Multiple square wave voltammetry for analytical determination of paraquat in natural water, food, and beverages using microelectrodes. **Talanta**, v. 69, p. 1200-1207, 2006.
52. MELGAR, L. Z.; MACHADO, S. A. S. Determination of Fenitrothion in commercial formulations by square wave voltammetry and UV-Vis Spectroscopy. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 4, p. 743-748, 2005.

53. EL MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; CHTAINI, A. Electrochemical studies and square wave voltammetry of paraquat at natural phosphate modified carbon paste electrode. **Journal of Hazardous Materials**, v. 145, p. 1-7, 2007.
54. FILHO, N. C.; VAZ, C. M. P.; LEITE, F. L.; CARVALHO, E. R.; CARLOS, E.; MATTOSO, L. H. C. Study of poly(*o*-Ethoxyaniline) interactions with herbicides and evaluation of conductive polymer potential used in electrochemical sensors. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 3, p. 577-584, 2007.
55. HERNANDEZ-OLMOS, M. A.; AGÜÍ, L.; YAÑEZ-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J. M. Analytical voltammetry in low-permittivity organic solvents using disk and cylindrical microelectrodes. Determination of thiram in ethyl acetate. **Electrochimica Acta**, v. 46, p. 289-296, 2000.
56. ZEN, J.; JENG, S.; CHEN, H. Determination of paraquat by square wave voltammetry at a perfluorosulfonated ionomer/clay-modified electrode. **Analytical Chemistry**, v. 68, p. 498-502, 1996.
57. SIMÕES, F. R.; VAZ, C. M.; BRETT, C. A. Electroanalytical detection of the pesticide paraquat by batch injection analysis. **Analytical Letters**, v. 40, p. 1800-1810, 2007.
58. LOPES, I. C.; DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; TANAKA, A. A. Voltammetric detection of paraquat pesticide on a phthalocyanine-based pyrolytic graphite electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 388, n. 8, p. 1907-1914, 2007.
59. WOODS, R. Chemisorption at electrodes. In: BARD, A. J. **Electroanalytical Chemistry**. New York: MerceL Dekker, 1976. p. 1-162.
60. CONWAY, B. E.; ANGERSTEIN-KOZLOWSKA, H.; SHARP, W. B. A. Ultrapurification of water for electrochemical and surface work by catalytic pyrodistillation. **Analytical Chemistry**, v. 45, n. 8, p. 1331-1336, 1973.
61. SANTOS, Mauro Coelho. **Estudo da deposição em regime de subtensão de Ag, Cd, Zn e Sn sobre substratos em meio ácido**. 1997. 154 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.
62. DE SOUZA, Djenaine. **Utilização de ultramicroeletrodos na quantificação dos pesticidas paraquat e diclorvos em diferentes matrizes por voltametria de onda quadrada**. 2004. 167f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
63. COLIN, B. **Environmental Chemistry**. 2. ed. New York: W. H. Freeman, 2000. 557 p.

64.MOCAK, J.; BOND, A. M.; MITCHEL, S.; SCOLLARY, G. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: application to voltammetric and stripping techniques. **Pure and Applied Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 297-328, 1997.

65.LEITE, F. **Validação em Análise Química**. 3. ed. Campinas: Editora Átomo, 1998. 224 p.