

Universidade de São Paulo
Instituto de Química de São Carlos

**DETERMINAÇÃO ELETROQUÍMICA DE PESTICIDAS
RESIDUAIS EM AMOSTRAS DOS PRINCIPAIS DERIVADOS
DA CANA-DE-AÇÚCAR**

Gustavo Stoppa Garbellini

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos, da Universidade
de São Paulo, como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Mestre em
Ciências – Química Analítica.**

Orientador: Prof. Dr. Luis Alberto Avaca

São Carlos

2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Dedicatória

Dedico..

A Carol, pelo amor, carinho, dedicação, compreensão e principalmente paciência por agüentar longas discussões sobre eletroquímica nos sábados à noite Teamo. Você é especial!

Aos meus pais, por sempre estarem por perto nos momentos de necessidade, pelo amor, carinho e confiança no meu esforço. Este trabalho é fruto também do esforço de vocês. Amo vocês!

Ao meu irmão Vitor, que embora eu não possa estar sempre por perto, você está no meu coração. Sinto saudades.

Às outras pessoas da minha família pelo incentivo e alegria que transmitem

Ao Prof. Dr. Luis Alberto Avaca, pela orientação durante o trabalho, pelos elogios, ensinamentos, conselhos, confiança e paciência com a discussão dos resultados. Obrigado pela oportunidade

Agradecimentos

Ao Grupo de Materiais Eletroquímicos e Materiais Eletroanalíticos (GMEME) por dar-me a oportunidade e o prazer de trabalhar.

Ao Prof. Dr. Sérgio Antônio Spindola Machado, por algumas discussões sobre o trabalho e pela amizade

Ao Marcelo Callegaro pela amizade e discussões sobre futebol.

Ao João Tiengo, por toda a ajuda durante o trabalho, principalmente no início, quando cheguei a esse grupo de pesquisa.

Aos meus amigos Válber e Murilo, pela ajuda e amizade

À Andréa e a Cláudia, pelo grande auxílio durante a etapa final do trabalho.

À Prof^a Dr^a Janete H. Yariwake, pelas discussões, conselhos sobre o trabalho e amostras de flavonóides

Aos outros amigos do laboratório: Rafael, Fabiano, Andressa, Djenaine, GianCarlo, Katlin, Milena, Josiane, Soninha, Michele, Renata, Inês, Hugo, Lídia, Marisa, André, Alexandra, Raquel, Mauro e Deborah.

À CNPq, pela bolsa de estudos concedida, pois sem ela seria impossível a realização do trabalho.

ÍNDICE

<i>LISTA DE FIGURAS</i>	<i>iv</i>
<i>LISTA DE TABELAS</i>	<i>x</i>
<i>LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS</i>	<i>xi</i>
<i>RESUMO</i>	<i>xiv</i>
<i>ABSTRACT</i>	<i>xvi</i>
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Considerações Gerais	1
1.2 Herbicidas	5
1.2.1 Triazinas	5
1.2.1.1 Atrazina	6
1.2.1.2 Ametrina	7
1.2.1.3 Simazina	8
1.2.2 Feniluréias	9
1.2.2.1 Diuron	10
1.3 Legislação Ambiental	11
1.4 Cana-de-açúcar	12
1.4.1 Caldo de cana	14
1.4.2 Rapadura	15
1.4.3 Açúcar Mascavo	16
1.5 Técnicas cromatográficas de análise	17
1.6 Técnicas eletroanalíticas	18
1.6.1 Considerações gerais	18
1.6.1.1 Voltametria cíclica (VC)	19
1.6.1.2 Voltametria de onda quadrada (SWV)	22
1.6.1.2.1 Desenvolvimento de modelos teóricos	23
1.6.1.2.2 Critérios de diagnóstico para reações redox	26
1.6.1.2.3 Vantagens da SWV	28
1.7 Estado da arte referente à determinação eletroanalítica de pesticidas em diversas amostras	29
1.7.1 Triazinas	30
1.7.2 Feniluréias	35
2 OBJETIVOS	36
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	37
3.1 Reagentes e Soluções	37
3.2 Instrumentação	38
3.2.1 Eletrodos	39
3.2.2 Células Eletrolíticas	39
3.2.3 Ajuste de pH	40
3.3 Amostras de caldo de cana, rapadura e açúcar mascavo	40
3.4 Metodologia	41
3.4.1 Voltametria de onda quadrada e voltametria cíclica	41
3.4.1.1 Redução eletroquímica da atrazina e da ametrina	41
3.4.1.2 Redução eletroquímica da simazina e da atrazina	42
3.4.1.3 Redução eletroquímica do diuron	42

3.4.1.4	Análise eletroquímica das amostras de caldo de cana	43
3.4.1.5	Análise eletroquímica da rapadura	43
3.4.1.6	Análise eletroquímica do açúcar mascavo	43
3.4.1.7	Análise eletroquímica da clorofila e da sacarose	44
3.4.1.8	Análise eletroquímica dos flavonóides	44
3.4.2	Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	45
3.4.2.1	Extração líquido – líquido do caldo de cana	45
3.4.2.2	Análise cromatográfica do caldo de cana (amostra 1)	45
3.4.3	Espectroscopia de Absorção na região UV-vis	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1	Determinação eletroanalítica da atrazina e ametrina	47
4.1.1	Curva analítica individual para a atrazina	47
4.1.2	Curva analítica individual para a ametrina	50
4.1.3	Deconvolução dos sinais voltamétricos	52
4.1.4	Curvas analíticas para a mistura atrazina-ametrina	54
4.1.5	Estudos de recuperação da atrazina e ametrina individuais e da mistura	59
4.2	Determinação eletroanalítica da atrazina e ametrina em amostras de derivados de cana-de-açúcar	60
4.2.1	Amostra de caldo de cana 1 (São Carlos-SP)	60
4.2.2	Amostra de caldo de cana 2 (Ibaté –SP)	71
4.2.3	Amostra de rapadura	74
4.2.4	Amostra de açúcar mascavo	76
4.3	Estudo eletroquímico e determinação eletroanalítica da simazina	81
4.3.1	Influência do pH do meio	82
4.3.2	Influência da frequência	86
4.3.3	Ensaios realizados a altas frequências	89
4.3.4	Influência da amplitude	91
4.3.5	Efeito do incremento de varredura	92
4.3.6	Curva analítica para a simazina	94
4.3.7	Experimentos de recuperação	96
4.3.8	Tentativa de separação dos picos de redução da atrazina e simazina	97
4.4	Determinação eletroanalítica de simazina em amostras de derivados de cana-de-açúcar	98
4.4.1	Amostra de caldo de cana 1 (São Carlos – SP)	98
4.4.2	Amostra de caldo de cana 2 (Ibaté – SP)	108
4.4.3	Amostra de rapadura	111
4.4.4	Amostra de açúcar mascavo	112
4.5	Determinação eletroanalítica do diuron	115
4.6	Determinação eletroanalítica do diuron em amostras de derivados de cana-de-açúcar	116
4.7	Verificação da eletroatividade da clorofila e da sacarose sobre o mercúrio e efeitos de possíveis interferências na detecção dos herbicidas	117
4.8	Estudo eletroquímico dos flavonóides	118
4.8.1	Determinação eletroanalítica dos flavonóides em caldo de cana	120
4.8.2	Efeitos de possíveis flavonóides na detecção dos herbicidas em amostras de caldo de cana	122
4.9	Separação cromatográfica das triazinas por HPLC/UV	123
4.10	Determinação cromatográfica dos herbicidas estudados nas amostras do caldo de cana	125
4.10.1	Caldo de cana 1 (São Carlos)	125

4.10.2	Caldo de cana 2 (Ibaté)	130
4.11	Estudo da possível reação química entre componentes do caldo de cana (flavonóides) e herbicidas por espectroscopia de ultravioleta (UV-Vis)	131
4.12	Considerações finais e perspectivas futuras	133
5	<i>CONCLUSÕES</i>	135
6	<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	137

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Herbicidas mais utilizados na cultura de cana-de-açúcar. 1: 2,4-D; 2: Glicina substituída (glifosato); 3: MSMA; 4: Feniluréias (diuron); 5: Triazinas (ametrina); 6: Imidazolinonas (Plateau®); 7: Isoxaflutole (Provence®).	3
Figura 2: Fórmula estrutural da atrazina.	7
Figura 3: Fórmula estrutural da ametrina.	8
Figura 4: Fórmula estrutural da simazina.	8
Figura 5: Fórmula estrutural do diuron.	10
Figura 6: Núcleo fundamental dos flavonóides e posições de substituições.	14
Figura 7: Forma de aplicação do potencial na voltametria cíclica.	20
Figura 8: Voltamograma cíclico para uma solução de $K_3Fe(CN)_6$ $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} .	21
Figura 9: Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada ⁵⁰ .	22
Figura 10: Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada onde (1) representa um processo redox de um sistema reversível e (2) de um sistema irreversível ⁵¹ .	23
Figura 11: Representação esquemática de uma célula voltamétrica de três eletrodos.	40
Figura 12: Fluxograma de extração das triazinas da amostra de caldo de cana.	45
Figura 13: Voltamogramas de onda quadrada para a atrazina em diferentes concentrações: 0,0 (1); 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11). Inserção: Dependência da intensidade da corrente de pico com a concentração para a atrazina. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $pH = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.	48
Figura 14: Voltamogramas de onda quadrada para a ametrina em diferentes concentrações: 0,0 (1); 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10) e $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11). Inserção: Dependência da intensidade da corrente de pico com a concentração para a ametrina. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $pH = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.	51
Figura 15: Voltamogramas de onda quadrada para a atrazina (1) e ametrina (2), $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (cada composto). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $pH = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.	52
Figura 16: Voltamograma de onda quadrada para a mistura de atrazina e ametrina, $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (cada composto). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $pH = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. Linhas pontilhadas: Valores de potenciais dos compostos individualmente (puros): Atrazina (E_p : $-0,98 \text{ V}$) e Ametrina (E_p : $-1,04 \text{ V}$).	53
Figura 17: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para a mistura da atrazina e ametrina, $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (cada composto). Experimental (1) e Ajustado (2). Após a deconvolução tem-se a separação dos picos, atrazina (3) e ametrina (4). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $pH = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.	54
Figura 18: Voltamogramas de onda quadrada para a mistura atrazina – ametrina com variação da concentração de atrazina: 0,0 (ambos os compostos) (1); 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); $6,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (7) e fixação da concentração de ametrina em $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (2-7). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $pH = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.	55

Figura 19: Voltamogramas de onda quadrada para a mistura atrazina – ametrina com variação da concentração de ametrina: 0,0 (ambos os compostos) (1); 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10) $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹(11) e fixação da concentração de atrazina em $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (2-11). Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH = 2,0, f = 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. _56

Figura 20: Curvas analíticas para atrazina pura (A), atrazina na presença de $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de ametrina após deconvolução (B), ametrina pura (A1) e para ametrina na presença de $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de atrazina após deconvolução (B1) em água pura. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH = 2,0, f = 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. _____57

Figura 21: Voltamograma de onda quadrada obtido para a adição de 500 μL da amostra de caldo de cana 1 à 10 ml de eletrólito suporte. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. _____61

Figura 22: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para adições de quantidades conhecidas de (A) Atrazina e (B) Ametrina ao caldo de cana 1 (500 μL) contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana (1). Concentrações analisadas: 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); $6,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (5). Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. _____62

Figura 23: Voltamogramas de onda quadrada para adição de 50 (1); 100 (2); 200 (3); 300 (4); 400 (5); 500 μL (6) de caldo de cana 1 a 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. Inserção: Dependência do potencial do pico menos catódico com alíquotas de caldo de cana adicionadas ao eletrólito suporte. _____63

Figura 24: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de Atrazina e Ametrina a 50 μL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana (1). Concentrações analisadas dos herbicidas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (11). Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. _____64

Figura 25: Comparação entre curvas analíticas da (A) Atrazina e (B) Ametrina em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 μL do caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. _____66

Figura 26: (A) Voltamogramas de onda quadrada para adições de diferentes quantidades do caldo de cana 1 a $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de atrazina (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. (B) Voltamogramas cíclicos para adições de diferentes quantidades do caldo de cana 1 a $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de atrazina (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0 e v = 100 mV s⁻¹. Quantidades de caldo de cana 1 adicionados: 10 (2); 30 (3); 50 (4); 100 (5); 150 (6); 200 (7); 250 (8); 300 (9); 350 (10); 400 (11); 450 (12) e 500 μL (13). _____68

Figura 27: (A) Voltamogramas de onda quadrada para adições de diferentes quantidades do caldo de cana 1 a $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de ametrina (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. (B) Voltamogramas cíclicos para adições de diferentes quantidades do caldo de cana 1 a $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de ametrina (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0 e v = 100 mV s⁻¹. Quantidades de caldo de cana 1 adicionados: 10 (2); 30 (3); 50 (4); 100 (5); 150 (6); 200 (7); 250 (8); 300 (9); 350 (10); 400 (11); 450 (12) e 500 μL (13). _____70

Figura 28: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para adições de 50 μL das amostras de caldo de cana 1 e 2 a 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. _____71

Figura 29: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de (A) Atrazina e (B) Ametrina a 50 μL da amostra de caldo de cana 2 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana 2 (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (11). Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV. _____73

Figura 30: Voltamograma de onda quadrada para adição de 500 μL de uma solução aquosa de rapadura 0,040 g mL^{-1} a 10 mL de eletrólito suporte. Deconvolução: Experimental (1) e Ajustado (2). Picos das substâncias desconhecidas (3 e 4). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 75

Figura 31: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de (A) Atrazina e (B) Ametrina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μL de uma solução aquosa de rapadura 0,040 g mL^{-1} . Amostra de rapadura (1). Concentrações analisadas: 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); $6,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (5). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 75

Figura 32: Voltamogramas de onda quadrada para adição de 500 μL de uma solução aquosa de açúcar mascavo 0,040 g mL^{-1} a 10 mL de eletrólito suporte. Deconvolução: Experimental (1) e Ajustado (2). Picos das substâncias desconhecidas (3 e 4). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 77

Figura 33: (A) Voltamogramas de onda quadrada para adições de 50 μL (1) e 500 μL (2) de uma solução aquosa de açúcar mascavo 0,040 g L^{-1} a 10 mL de eletrólito suporte. (B) Voltamograma de onda quadrada para adição de 50 μL de uma solução aquosa de açúcar mascavo 0,040 g L^{-1} a 10 mL de eletrólito suporte. Deconvolução: Experimental (1) e Ajustado (2). Picos das substâncias desconhecidas (3 e 4). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 78

Figura 34: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de (A) Atrazina e (B) Ametrina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 50 μL de uma solução aquosa de açúcar mascavo 0,040 g mL^{-1} . Amostra de açúcar mascavo (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 79

Figura 35: Comparação entre curvas analíticas da (A) Atrazina e (B) Ametrina em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 μL de uma solução aquosa de açúcar mascavo 0,040 g mL^{-1} contido em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 80

Figura 36: Voltamograma de onda quadrada para a redução da simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Componentes: 1) Corrente resultante, 2) Corrente direta, 3) Corrente reversa. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH = 3,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 82

Figura 37: Voltamogramas de onda quadrada da simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) para diferentes valores de pH: 0,5 (1); 0,75 (2); 1,0 (3); 1,5 (4); 2,0 (5); 2,5 (6); 3,0 (7); 3,5 (8); 4,0 (9). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 83

Figura 38: Variação da intensidade da corrente de pico em função do pH para a redução da simazina. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 84

Figura 39: Variação do potencial de pico com o pH para a simazina. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 85

Figura 40: Voltamograma de onda quadrada para a redução da simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Deconvolução: (o) Valores Experimentais; (____) Valores Ajustados. Pré e pós-picos (1 e 3); Pico principal referente ao processo de redução (2). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 0,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 86

Figura 41: Influência da variação da frequência da onda quadrada no aspecto geral dos voltamogramas da simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Frequências: 10 (1); 20 (2); 30 (3); 40 (4); 50 (5); 60 (6); 70 (7); 80 (8); 90 (9); 100 (10). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH = 3,5, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 87

Figura 42: Dependência da intensidade da corrente de pico com a frequência para a redução da simazina. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH = 3,5, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 88

Figura 43: Dependência do potencial de pico com o logaritmo da frequência da onda quadrada para a redução da simazina. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 89

Figura 44: Voltamograma de onda quadrada para a redução da simazina ($2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Componentes: Corrente resultante (1), Corrente direta (2), Corrente reversa (3). Condições: H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$, $f = 3000 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 90

Figura 45: Influência da variação da amplitude nos voltamogramas de onda quadrada para a simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Amplitudes: 10 (1); 20 (2); 30 (3); 40 (4); 50 (5); 60 mV(6). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 91

Figura 46: Dependência da intensidade da corrente de pico com a variação de amplitude da onda quadrada para a simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 92

Figura 47: Influência da variação do incremento de varredura nos voltamogramas de onda quadrada para a simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Incrementos: 2 (1); 4 (2); 6 (3); 8 (4); 10 mV (5). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$. _____ 93

Figura 48: Efeito da variação do incremento de varredura sobre as intensidades de correntes (■) e potenciais (▲) de pico para a simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$. _____ 94

Figura 49: Voltamogramas de onda quadrada para a simazina em diferentes concentrações: 0,0 (1); 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 95

Figura 50: Dependência da intensidade da corrente de pico com a concentração para a simazina. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 96

Figura 51: Voltamogramas de onda quadrada para a redução da (A) Atrazina e (B) Simazina, $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (cada composto). Componentes: 1: Corrente resultante; 2: Corrente direta; 3: Corrente reversa. Condições: H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$, $f = 3000 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. _____ 98

Figura 52: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para adições de quantidades conhecidas de simazina à 500 μL da amostra de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: 5,0 (2); 7,0 (3); $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (4). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 99

Figura 53: Voltamogramas de onda quadrada para adição de 50 μL (A) e 500 μL (B) de caldo de cana 1 a 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 100

Figura 54: Voltamogramas de onda quadrada para a adição de quantidades conhecidas de simazina a 50 μL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: $1,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (2-11). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 101

Figura 55: Voltamogramas de onda quadrada para a adição de quantidades conhecidas de simazina a 50 μL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 102

Figura 56: Voltamogramas de onda quadrada para a simazina em diferentes concentrações: 0,0 (1); 1,0 (2); 2,0 (2); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 103

Figura 57: Dependência da intensidade da corrente de pico com a concentração para a redução da simazina. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 104

Figura 58: Comparação entre curvas analíticas da simazina em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 μL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 105

Figura 59: (A) Voltamogramas de onda quadrada para adições de diferentes quantidades do caldo de cana 1 a $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de simazina (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. (B) Voltamogramas cíclicos para adições de diferentes alíquotas do caldo de cana 1 a simazina $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0 e $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Quantidades adicionadas (A) e (B): 10 (2); 30 (3); 50 (4); 100 (5); 150 (6); 200 (7); 250 (8); 300 (9); 350 (10); 400 (11); 450 (12); 500 μL (13). _____ 107

Figura 60: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de simazina a 50 μL do caldo de cana 2 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana 2 (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 109

Figura 61: Comparação entre curvas analíticas da simazina em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 μL do caldo de cana 2 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 110

Figura 62: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de simazina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μL de uma solução aquosa de rapadura 0,040 g mL⁻¹. Amostra de rapadura (1). Concentrações analisadas: 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); $6,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (5). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 111

Figura 63: Voltamogramas de onda quadrada para a adição de quantidades conhecidas de simazina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μL de uma solução aquosa de rapadura 0,040 g mL⁻¹. Amostra de açúcar mascavo (1). Concentrações analisadas: 6,0 (2); 7,0 (3); 9,0 (4); $10 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (5). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 3,5, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 113

Figura 64: Voltamogramas de onda quadrada para a adição de 50 μL (1) e 500 μL (2) de uma solução aquosa de açúcar mascavo 0,040 g mL⁻¹ à 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 3,5, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 113

Figura 65: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de simazina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μL de uma solução aquosa de rapadura 0,040 g mL⁻¹. Açúcar mascavo (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (2); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 3,5, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 114

Figura 66: Voltamograma de onda quadrada referente a análise de $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de simazina em 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μL de uma solução aquosa de rapadura 0,040 g mL⁻¹. Deconvolução: Experimental (1) e Ajustado (2). Picos separados: Amostra de açúcar mascavo (3) e simazina (4). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 3,5, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 115

Figura 67: (A) Voltamograma de onda quadrada para a redução do diuron ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). (B) Deconvolução: Experimental (1) e Ajustado (2). Picos das substâncias desconhecidas (3 e 4). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. _____ 116

Figura 68: Estrutura química do diuron e da 3,4-dicloroanilina. _____ 116

Figura 69: Estruturas dos flavonóides estudados. _____ 119

Figura 70: Voltamogramas de onda quadrada para os flavonóides em uma concentração de $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para cada composto: Luteolina (1), Orientina (2), Apigenina (3) e Quercetina (4). Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f: 100 s⁻¹, a: 50 mV, ΔE_s: 10 mV. _____ 119

Figura 71: Voltamogramas de onda quadrada para adições de flavonóides (quercetina, orientina, apigenina e luteolina) a amostra de caldo de cana 1. Caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9), 9,0 (10); 10,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ (11). Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f: 100 s⁻¹, a: 50 mV, ΔE_s = 10 mV. _____ 121

Figura 72: Cromatogramas HPLC-UV para soluções padrões das triazinas (Concentrações: Triazinas = $9,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Condições: Fase móvel: acetonitrila/água (NH₄OH 0,01 % pH = 8,1) 40/60 v/v, com fluxo de 0,8 mL min⁻¹ em condição isocrática, comprimento de onda de 222 nm. _____ 124

Figura 73: Cromatograma HPLC-UV para o extrato de caldo de cana 1. Condições: Fase móvel: acetonitrila/água (NH₄OH 0,01 % pH = 8,1) 40/60 v/v, com fluxo de 0,8 mL min⁻¹ em condição isocrática, comprimento de onda de 222 nm. _____ 126

Figura 74: (A) Cromatogramas HPLC-UV para as adições de quantidades conhecidas de simazina ao extrato de caldo de cana 1. (B) Figura ampliada destas adições. Extrato do caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: 3,0 (2); 6,0 (3); $9,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (4). Condições: Fase móvel: acetonitrila/água (NH₄OH 0,01 % pH = 8,1) 40/60 v/v, com fluxo de 0,8 mL min⁻¹ em condição isocrática, comprimento de onda de 222 nm. _____ 127

Figura 75: Cromatogramas para as adições de quantidades conhecidas de atrazina (A) e ametrina (B) ao extrato de caldo de cana 1. Figuras ampliadas das adições de atrazina (C) e ametrina (D) ao extrato. Extrato do caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: 3,0 (2); 6,0 (3); $9,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (4). Condições: Fase móvel: acetonitrila/água (NH₄OH 0,01 % pH = 8,1) 40/60 v/v, com fluxo de 0,8 mL min⁻¹ em condição isocrática, comprimento de onda de 222 nm. _____ 128

Figura 76: Espectros de absorção óptica na região do UV-vis do branco (1); 50 μL de caldo de cana 1(2); atrazina $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (3); mistura experimental atrazina-caldo de cana 1 (4) e mistura teórica atrazina-caldo de cana 1 (5) em Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ (pH 2,0). Caminho óptico das cubetas: 1,0 cm. 132

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Limites máximos de resíduos (LMRs) de triazinas em alimentos.	12
Tabela 2: Limites máximos de resíduos (LMRs) de diuron em alimentos.	12
Tabela 3: Procedência e pureza dos reagentes utilizados.....	37
Tabela 4: Resultados de regressão linear da curva analítica e valores dos limites de detecção e de quantificação para a atrazina em água pura, utilizando a SWV.....	49
Tabela 5: Resultados de regressão linear da curva analítica e valores dos limites de detecção e de quantificação para a ametrina em água pura, utilizando a SWV.	51
Tabela 6: Resultados da regressão linear das curvas analíticas e valores dos limites de detecção e de quantificação para os compostos individuais e na forma de misturas, utilizando a SWV.	58
Tabela 7: Resultados das curvas de recuperação para atrazina e ametrina individuais e para a mistura, obtidos em água pura (eletrólito suporte), utilizando o HMDE.....	60
Tabela 8: Resultados da regressão linear das curvas analíticas e valores de limites de detecção da atrazina e ametrina obtidos em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 µL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte.....	67
Tabela 9: Resultados da regressão linear das curvas analíticas e valores de limites de detecção da atrazina e ametrina obtidos em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 µL de caldo de cana 2 contido em 10 mL de eletrólito suporte.....	74
Tabela 10: Resultados da regressão linear das curvas analíticas e valores de limites de detecção da atrazina e ametrina obtidos em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 µL de açúcar mascavo contido em 10 mL de eletrólito suporte.	81
Tabela 11: Resultados da regressão linear das curvas analíticas (intervalo de concentração: $1,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹) e valores de limites de detecção da simazina obtidas em água pura Milli-Q (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 µL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte	106
Tabela 12: Resultados da regressão linear das curvas analíticas (intervalo de concentração: $3,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹) e valores de limites de detecção da simazina obtidos em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 µL de caldo de cana 2 contido em 10 mL de eletrólito suporte.....	110
Tabela 13: Comparação entre valores de $E_{1/2}^{85}$ e de potenciais de pico para os flavonóides estudados.	122

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- SINDAG** - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola
- HPLC/UV** - Cromatografia líquida de alta eficiência com detector por ultravioleta
- CG-MS** - Cromatografia gasosa com detector de massa
- DMFS** - Dispersão da matriz em fase sólida
- SFE** - Extração em fase sólida
- HR-GC** - Cromatografia gasosa de alta resolução
- EPA** - Agência de Proteção Ambiental Americana
- ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CONAMA** - Conselho Nacional de Meio Ambiente
- EEC** - Comunidade Econômica Européia
- LMR_s** - Limite Máximo de Resíduos
- Unicamp** - Universidade Estadual de Campinas
- SWV** - Voltametria de onda quadrada
- ECS** - eletrodo de calomelano saturado
- VC** - Voltametria Cíclica
- E_{pa}** - potencial de pico anódico
- E_{pc}** - potencial de pico catódico
- I_{pa}** - corrente de pico anódico
- I_{pc}** - corrente de pico catódico
- f** - frequência de aplicação de pulsos de potenciais
- a** - amplitude de pulsos de potenciais
- ΔE_s** - incremento de varredura de potenciais
- Γ_A e Γ_B** - excessos superficiais de reagente e produto adsorvido

D_A e D_B - coeficientes de difusão de reagente e produto

x - distância da espécie eletroativa até a superfície do eletrodo de trabalho

I_r - corrente resultante

I_d - corrente direta

I_i - corrente inversa

$a_{p/2}$ - largura de meia altura

DC - corrente direta

PD - Pulso diferencial

FSDPV - voltametria de pulso diferencial com varredura rápida

SMDE - eletrodo de gota estática de mercúrio

HMDE - eletrodo de gota pendente de mercúrio

CEC - processo químico-eletrólítico-químico

LD - limites de detecção

LQ - limites de quantificação

S_B - desvio padrão da média aritmética

b - valor do coeficiente angular da reta de calibração

Γ - concentração superficial da espécie adsorvida

q - área do eletrodo

n - número de elétrons

α - coeficiente de transferência eletrônica

F - constante de Faraday

k - fator de retenção

SBSE-TDS-GC-MS - extração por sorção em barra magnética associada a dessorção térmica e cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas

MASE-LVI-GC-MS - extração por solvente assistida por membrana combinada com a injeção de grandes volumes e cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas

DME - eletrodo gotejante de mercúrio

E_{1/2} - potencial de meia-onda

RESUMO

Este trabalho descreve o desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para a determinação dos herbicidas atrazina, ametrina e simazina em diferentes amostras dos principais derivados da cana-de-açúcar produzidos no Brasil, como o caldo de cana, a rapadura e o açúcar mascavo por meio da voltametria de onda quadrada (SWV) sobre o eletrodo de mercúrio. Estudos da eletroquímica do diuron bem como de outros possíveis interferentes tais como a sacarose, clorofila e vários flavonóides foram também realizados.

Após a otimização dos parâmetros experimentais da SWV, foram construídas curvas analíticas em soluções de água pura (Milli-Q) para a redução da atrazina e ametrina puras e para uma mistura desses dois herbicidas, neste caso, com o auxílio de um procedimento matemático de deconvolução, em um intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Os limites de detecção e de quantificação (LD e LQ, respectivamente) foram determinados para os diferentes casos e também para soluções de simazina pura.

Para atrazina e ametrina puras, os valores de LD foram $3,7 \mu\text{g L}^{-1}$ e $4,3 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, enquanto estes valores aumentaram para $4,8 \mu\text{g L}^{-1}$ e $6,5 \mu\text{g L}^{-1}$ na presença de $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do outro componente. No caso da simazina, o sinal voltamétrico não pode ser separado do sinal da atrazina e medidas foram realizadas somente em soluções puras representando um LD de $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

O diuron apresentou um pico de redução alargado que após deconvolução revelou a existência de dois picos de aproximadamente mesma intensidade. Isso é causado pela hidrólise espontânea que gera um derivado eletroativo (3,4-dicloroanilina), que torna a quantificação do diuron mais difícil.

As amostras de caldo de cana foram analisadas adicionando-se diferentes quantidades ao eletrólito suporte assim como quantidades conhecidas dos herbicidas. Os resultados obtidos pela SWV mostraram ausência de resíduos detectáveis da atrazina, ametrina, simazina e diuron. Entretanto, notaram-se importantes efeitos da matriz bem como interferências causadas por flavonóides presentes nas amostras como indicado pela forte presença de picos de redução em soluções contendo caldo de cana e por experimentos separados realizados com a quercetina, apigenina, orientina e luteolina nas mesmas condições voltamétricas. Esses efeitos diminuiriam consideravelmente a sensibilidade das medidas e os valores de LD foram 7,5, 5,4 e 32,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a atrazina, ametrina e simazina, respectivamente. Resultados similares foram obtidos para as análises da rapadura, açúcar mascavo e uma diferente amostra de caldo de cana, enquanto testes realizados com outros dois possíveis interferentes (sacarose e clorofila) mostraram que essas substâncias não são eletroativas nas condições experimentais estudadas.

Além disso, as intensidades dos picos do caldo de cana diminuem com a adição dos herbicidas, sugerindo a existência de reações químicas redox ou associações (formação de aduto) entre os flavonóides e os herbicidas adicionados que impedem a detecção destes herbicidas. Esses efeitos foram também observados nas medidas por HPLC/UV e por espectroscopia UV-Vis e levantam sérias dúvidas sobre os resultados reportados na literatura visto que a presença de herbicidas poderia ser mascarada por essas reações.

ABSTRACT

This work describes the development of electroanalytical methodologies for the determination of the herbicides atrazine, ametrine and simazine in different samples of sugar cane using some of its main Brazilian-made derivatives, namely, “caldo de cana”, “rapadura” and “açúcar mascavo” by Square Wave Voltammetry (SWV) on a mercury electrode. Studies of the electrochemistry of diuron as well as of other possible interferences such as sucrose, chlorophyll and several flavonoids were also carried out.

After optimization of the experimental SWV parameters, analytical curves in Milli-Q water solutions were recorded for the reduction of pure atrazine, pure ametrine and for a mixture of these two herbicides (a mathematical deconvolution program was used in the later case) in the concentration interval of 1.0×10^{-6} a 10.0×10^{-6} mol L⁻¹. The detection and quantification limits (DL and QL, respectively) were determined for the different cases and also for pure simazine solutions.

For pure atrazine and pure ametrine, the DL values were $3.7 \mu\text{g L}^{-1}$ and $4.3 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively, while they increased to $4.8 \mu\text{g L}^{-1}$ and $6.5 \mu\text{g L}^{-1}$ in the presence of 3.0×10^{-6} mol L⁻¹ of the other component. In the case of simazine, its signal could not be separated from that of atrazine and measurements were carried out only in pure solutions rendering a DL of $7.5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Diuron presented a wide SWV reduction peak that after deconvolution revealed the existence of two peaks of approximately the same intensity. This is caused by a spontaneous hydrolysis that generates an electroactive derivative (3,4-dichloroaniline) thus making very difficult its proper quantification.

Samples of “caldo de cana” were analyzed adding different amounts to the supporting electrolyte plus known quantities of the herbicides. The SWV results

showed the absence of detectable residues of either atrazine, ametrine, simazine or diuron. Meanwhile, there were important matrix effects as well as interferences caused by the flavonoids present in the samples as indicated by the strong presence of reduction peaks in the “caldo de cana” solutions and by separate experiments carried out with quercetin, apigenin, orientin and luteolin under the same SWV conditions. These effects diminished considerably the sensibility of the measurements and the DL were 7.5, 5.4 and 32,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ for atrazine, ametrine and simazine, respectively. Similar results were obtained for the analyses of “rapadura”, “açúcar mascavo” and a different “caldo de cana” sample while tests carried out with other two of the possible interferences (sucrose and chlorophyll) showed that these substances are not electroactive under the present experimental conditions.

Moreover, the intensity of those “caldo de cana” peaks diminishes with the addition of the herbicides thus suggesting the existence of chemical redox reactions or associations (adduct formation) between the flavonoids and the added herbicides that prevent their detection. These effects were also observed in the measurements by HPLC and by UV-Vis spectroscopy and raised serious doubts on the results reported in the literature since the presence of herbicides could be disguised by those reactions.

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Considerações Gerais*

Devido ao grande crescimento populacional, tem sido necessária a utilização de pesticidas na agricultura para atender a demanda alimentícia. Atualmente, é difícil imaginar a produção de alimentos sem o uso dos pesticidas, pois tais produtos melhoram a produtividade agrícola podendo, eventualmente, diminuir os preços dos alimentos e da mão de obra. Denominam-se pesticidas todas as substâncias de origem natural ou sintética utilizadas no controle e/ou na eliminação/diminuição de pragas (insetos, ervas daninhas, etc), as quais acarretam prejuízos na produção de alimentos, ou transferem enfermidades aos seres humanos e a outros organismos. Herbicidas são substâncias químicas que possuem finalidade de controlar ou matar plantas daninhas que se desenvolvem juntamente com nossas culturas¹.

No entanto, o uso indiscriminado e sem critérios trouxeram e estão trazendo problemas muitos sérios para o ambiente e saúde humana. Dados estatísticos da SINDAG (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola) mostram que as vendas de agroquímicos registraram alta de 60,7 % em 2003, para US\$ 3,136 bilhões. Neste ano, as vendas de fungicidas praticamente dobraram, passando de US\$ 360 milhões para US\$ 713 milhões. Já a receita com herbicidas subiu 54,3 % no ano, para US\$ 1,5 bilhão. As vendas de inseticidas totalizaram US\$ 725 milhões (alta de 55 %) e as acaricidas somaram US\$ 80 milhões (11 % acima de 2002). Em relação às culturas, a maior expansão aconteceu na área de soja, com alta de 86,8 %, para US\$ 1,38 bilhão. O incremento da área plantada de algodão fez as vendas de defensivos crescerem 83,1 %, para US\$ 324 milhões. As entregas no setor milho totalizaram US\$ 284 milhões, aumento impulsionado pela maior área

plantada na safrinha. Também houve maior procura nas áreas de citros (15,6 %) e cana-de-açúcar (11,6 %)².

O consumo desses produtos difere nas várias regiões do país, onde se misturam atividades agrícolas intensivas e tradicionais. Pela elevada quantidade total de herbicidas usados, algumas culturas merecem atenção por ocuparem extensas áreas no Brasil, como é o caso da soja, do milho e da cana-de-açúcar³.

A região de Ribeirão Preto, SP, é abastecida com águas de mananciais subterrâneos provenientes do aquífero Guarani, o maior e mais importante lençol de água subterrânea de toda a região centro-sul do Brasil. A extensão desse aquífero ultrapassa fronteiras estaduais e internacionais (passa por oito estados brasileiros e partes da Argentina, Uruguai e Paraguai), ocupando área de aproximadamente 1.200.000 Km². Na microbacia do Córrego do Espreado, localizado nesta região, encontra-se um dos pontos de recarga do aquífero, cuja água se infiltra nas camadas mais profundas do solo. O predomínio da monocultura intensiva de cana-de-açúcar e a presença de solo arenoso aumentam a vulnerabilidade da água subterrânea à exposição de agrotóxicos aplicados na superfície. Torna-se assim imprescindível à realização de estudos que abordem de forma integrada os aspectos relacionados com a qualidade da água dos lençóis subterrâneos e as práticas agrícolas abordadas na região ⁴.

Sendo a cana-de-açúcar a cultura agrícola predominante na região, pesquisas* nas principais indústrias e associações interessadas nesta cultura foram realizadas e constatou-se que os herbicidas da classe das triazinas (principalmente

* Fontes: 1. Andef (Associação Nacional de Defesa Vegetal); 2. Coopercitrus Viradouro/SP; 3. Coopercitrus Bebedouro/SP; 4. Usina Santa Elisa S.A. ; 5. Associação dos fornecedores de cana da região de Catanduva; 6. Dow Agrosiences; 7. Bayer; 8. Associação dos fornecedores de cana de Iguaraçu; 9. CANAPLAN – Piracicaba/SP; 10. Açucareira Corona S.A.

a ametrina) e das feniluréias, são largamente usados nesta cultura, podendo ser facilmente observado na Figura 1.

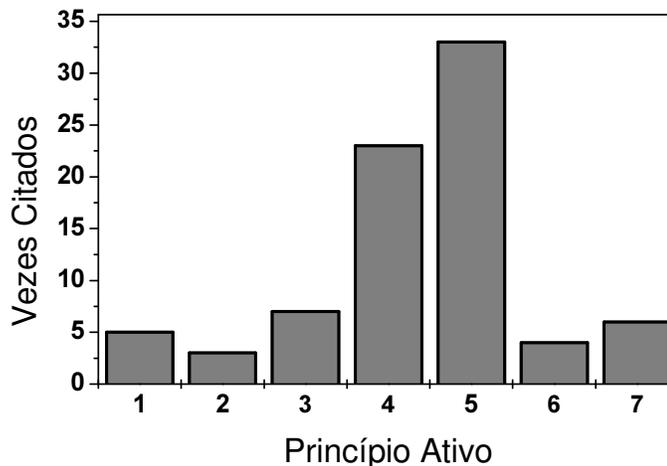


Figura 1: Herbicidas mais utilizados na cultura de cana-de-açúcar. 1: 2,4-D; 2: Glicina substituída (glifosato); 3: MSMA; 4: Feniluréias (diuron); 5: Triazinas (ametrina); 6: Imidazolinonas (Plateau®); 7: Isoxaflutole (Provence®).

Diante disso, alguns trabalhos referentes a esta classe de herbicidas (triazinas) e suas aplicações na cultura de cana-de-açúcar foram encontrados^{5 - 8}. Blanco e Oliveira⁵ analisaram a persistência no solo da atrazina, simazina, ametrina e diuron em uma lavoura de cana-de-açúcar. Os resultados obtidos mostraram que estes herbicidas permanecem na camada de 0 a 10 cm de profundidade do solo, e que a persistência para ametrina foi de até 90 dias após aplicação e de até 60 dias para atrazina, simazina e diuron.

Brondi e Lanças⁶ objetivaram a determinação de resíduos de herbicidas mais empregados em cana-de-açúcar, como o tebuthiuron, hexazinona, diuron, 2,4-D e ametrina em amostras de águas. Foram utilizadas a extração líquido-líquido e a extração em fase sólida, com subsequente análise por HPLC com detecção por ultravioleta usando como fase móvel acetonitrila/água. Ambos os métodos de extração apresentaram valores de recuperação satisfatórios, perto de 94 %. Nas

análises de amostras de águas de Ribeirão das Cruzes, Ribeirão das Anhumas e Córrego do Paiol, nenhum dos compostos foi detectado.

Lanchote e col.⁷ observaram dois métodos para análise de resíduos de atrazina, ametrina e simazina em águas superficiais e provenientes do solo (lençóis de águas) coletados na Bacia do Espreado, na região de Ribeirão Preto. O método usado (HPLC) para a análise da amostra foi baseado na extração do herbicida com diclorometano:isopropanol (9:1, v/v) seguido por cromatografia em fase reversa com detecção a 220 nm. A presença de herbicidas foi confirmada por GC/MS após extração com acetato de etila. Os limites de quantificação foram de 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$ para ambos os métodos e resíduos de ametrina foram encontrados em 17 amostras entre concentrações de 0,02 a 0,23 $\mu\text{g L}^{-1}$. A presença de resíduos de atrazina e simazina não foi confirmada nas amostras analisadas e em amostras de lençóis de águas não foram encontrados resíduos dos herbicidas investigados.

Tseng e col.⁸ desenvolveram um método rápido para a determinação de resíduos de simazina em cana-de-açúcar por meio da técnica de dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) e também um clean up por florisil. Duas gramas da amostra homogeneizada foi misturado com 2 gramas do sorvente EnvirElut até a mistura homogênea ser observada. A mistura foi transferida em um cartucho de Florisil, e eluído com 25 mL de diclorometano. O eluado foi evaporado a securo, o resíduo dissolvido em acetonitrila e então determinado por HPLC a 230 nm. O limite de detecção do método foi de 0,02 mg L^{-1} e recuperações da simazina adicionada à cana-de-açúcar foram determinados em 86,9 a 94,7 % (0,1 - 0,5 mg L^{-1}).

Andrade⁹ desenvolveu métodos cromatográficos (SFE, HRGC, GC/MS) para análise de triazinas e trifluralina em amostras de derivados de cana-de-açúcar, tais como o caldo de cana, aguardente e o açúcar. Foram desenvolvidos métodos de

extração convencional e com fluido supercrítico e os resultados comparados para determinação do mais adequado para análise desses herbicidas na amostra, tendo a extração em fase sólida (SPE), um maior poder de extração que o método convencional para as amostras de caldo de cana e aguardente. Por meio da HRGC, foi possível a análise de resíduos de tais herbicidas em amostras de derivados de cana-de-açúcar, detectando em caldo de cana concentrações entre 11,6 a 45,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ de triazinas. Em uma amostra de aguardente, foi encontrado 21,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de atrazina e em amostras de açúcar, concentrações de até 2,5 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ de herbicidas não foram encontrados.

1.2 Herbicidas

1.2.1 Triazinas

Os herbicidas do grupo das triazinas compreende cerca de 30% da produção mundial¹⁰. Eles são utilizados no controle pré e pós-emergente de ervas-daninhas nas mais variadas culturas, desde a década de 50. As s-triazinas normalmente possuem um anel heterocíclico de seis membros onde os átomos de C e N são simetricamente localizados e os substituintes, localizados nas posições 2, 4 e 6, se constituem no diferencial entre as várias formulações disponíveis comercialmente¹¹. A estabilidade das s-triazinas é mais baixa que a estabilidade do benzeno, devido a perturbação do perfeito sistema de ligação π deslocalizada, pela interação dos átomos de nitrogênio no anel nas posições 1, 3 e 5, com o subsequente aumento da densidade eletrônica nessas posições e um correspondente decréscimo da densidade eletrônica nas posições 2, 4 e 6¹².

Com isso, as substituições nucleofílicas nessas posições (2, 4 e 6) são facilitadas. Os nomes das s-triazinas e suas principais propriedades são primeiramente determinadas pelo substituinte na posição 2, cujo mais freqüente, -Cl

(nome comercial terminando em -azina), -SCH₃ (-trina) e -OCH₃ (-tona). As propriedades dos cloroderivados apresentam diferenças significativas, comparadas aos outros dois grupos, enquanto, as propriedades dos metiltio- e metóxi- derivados são totalmente similares. Posições 4 e 6 são usualmente ocupadas pelos substituintes grupos amino e exercem substancialmente menores efeitos nas propriedades. Assim, a solubilidade em água de cada composto das triazinas é dependente do substituinte na posição 2 e varia de 5-750 mg L⁻¹. Derivados das s-triazinas estão entre os mais importantes herbicidas seletivos. Estes, e seus produtos de degradação são muito tóxicos, altamente resistentes e sobrevivem muitos anos no solo, água, plantas e animais. Conseqüentemente, a determinação das triazinas é muito importante para o controle ambiental¹². Dentre as mais importantes, temos a atrazina, ametrina e simazina.

1.2.1.1 Atrazina

A atrazina (2-cloro-4-(etilamino)-6-(isopropilamino)-s-triazina) é um herbicida pré e pós-emergente utilizado no controle anual de ervas-daninhas nas culturas de milho, cana-de-açúcar, sorgo, pinus, etc. Devido ao uso intenso, e por possuir uma baixa reatividade e solubilidade, é comumente detectado no monitoramento de solos e águas subterrâneas. Seus resíduos e metabólitos podem ser encontrados nestes locais após um longo tempo de sua aplicação¹³, pois seu tempo de vida médio varia de 20 a mais de 100 dias. A Figura 2 apresenta a fórmula estrutural da atrazina, observando os diferentes grupos ligantes.

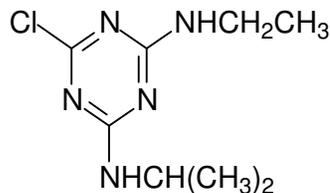


Figura 2: Fórmula estrutural da atrazina.

A atrazina é um sólido branco cristalino, com solubilidade em água de 33 mg L⁻¹ a 27 °C. Devido a sua estabilidade no ambiente, seus resíduos podem ser encontrados em frutas, vegetais e principalmente, como contaminante em águas superficiais e subterrâneas¹⁴. Do ponto de vista bioquímico, a atrazina atua como herbicida bloqueando a operação da fotossíntese na etapa fotoquímica que inicia a redução do dióxido de carbono atmosférico a carboidratos. Em concentrações elevadas, tem sido usada para eliminar todas as plantas vivas, por exemplo, para se criar áreas de estacionamento de veículos¹⁵.

1.2.1.2 Ametrina

A ametrina é uma s-triazina onde os substituintes são um grupo tiometil, um grupo etil e um grupo isopropil, formando a estrutura que leva o nome de 2-(etilamino)-4-(isopropilamino)-6-(metiltio)-s-triazina. Ela é um herbicida pré-emergente sistêmico amplamente empregado em culturas de abacaxi, banana, café, cana-de-açúcar, citrus, milho, etc. Seus resíduos e metabólitos têm sido encontrados em águas subterrâneas mesmo depois de longos períodos após sua aplicação. A ametrina é muito tóxica e pode trazer sérios prejuízos à saúde e ao ambiente¹⁶. A Figura 3 mostra a fórmula estrutural da ametrina.

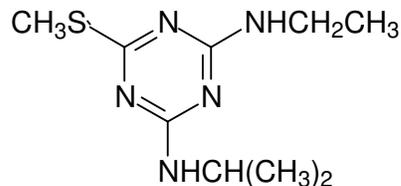


Figura 3: Fórmula estrutural da ametrina.

A ametrina é um sólido branco cristalino, ligeiramente solúvel em água, e solúvel em acetona, clorofórmio e etanol, apresentando peso molecular de 227,35 g mol⁻¹ ¹⁷. Esta molécula apresenta propriedades físico-químicas que lhe confere uma elevada persistência no ambiente, podendo persistir por até seis meses no solo.

1.2.1.3 Simazina

Simazina (2-cloro-4,6-bis(etilamina)-s-triazina) é um sólido branco cristalino, ligeiramente solúvel em água e solúvel em solventes orgânicos, tendo um valor do pKa de 1,7 para a protonação do nitrogênio no anel, implicando que acima deste valor de pH, a forma não-protonada do herbicida predomina na solução¹⁸. A fórmula estrutural da simazina está apresentada na Figura 4.

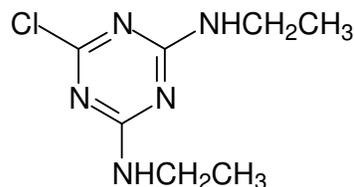


Figura 4: Fórmula estrutural da simazina.

É largamente usado em cereais, uvas, leguminosas e diversas frutas. Importantes problemas ambientais podem aparecer devido à persistência em solos e sedimentos hídricos, através da baixa solubilidade em água e forte sorção a

materiais carbonáceos e argila¹⁹. Também pode ser usado como herbicida pré-emergente no controle de ervas daninhas, nas lavouras de milho, cana-de-açúcar e em áreas não cultivadas. A hidrólise ácida ou alcalina da simazina produz um de seus mais abundantes produtos de degradação, a hidroxisimazina. A solubilidade em água é praticamente independente do pH da solução, entretanto, um aumento pronunciado da solubilidade ocorre em valores de $\text{pH} < 2,0$ ²⁰.

1.2.2 Feniluréias

Os herbicidas da classe das feniluréias formam um importante grupo de pesticidas largamente usados em pré e pós-emergência no controle de ervas daninhas em culturas de algodão, frutas e cereais. A detecção desses herbicidas e de seus metabólitos em águas superficiais e águas provenientes da lixiviação do solo têm aumentado a consciência do importante problema relacionado aos solos na determinação da qualidade da água. Geralmente, estes herbicidas apresentam altas solubilidades em águas e baixas tendências a absorverem ao solo, rendendo a eles, mobilidade no solo. Vários herbicidas desta classe e seus metabólitos têm sido detectados como contaminantes em rios, córregos, lagos e mares em diferentes partes do mundo. Podem entrar no ambiente de diversas maneiras, por exemplo, como consequência de um derramamento acidental ou pela lavagem do equipamento de pulverização. De qualquer modo, muitos desses herbicidas entram no ambiente como uma contaminação difusa seguida da prática normal de pulverização. Após a introdução em solos, vários processos afetam a distribuição vertical e horizontal dos herbicidas incluindo transporte pelo fluxo de água, sorção a componentes do solo e vários processos de degradação. A degradação pode envolver processos bióticos e abióticos, onde a biodegradação facilitada por microorganismos é especialmente interessante como principal processo na completa

mineralização de compostos aromáticos a produtos inorgânicos ofensivos²¹. Dentre essa classe de herbicidas, o diuron se apresenta como um dos mais usados na agricultura brasileira.

1.2.2.1 Diuron

O Diuron é um composto cristalino incolor na sua forma pura, não-iônico com uma moderada solubilidade em água de 42 mg L⁻¹ a 20 °C. Permanece como um sólido à temperatura ambiente com ponto de fusão de 158-159 °C. A Figura 5 mostra a fórmula estrutural do Diuron²².

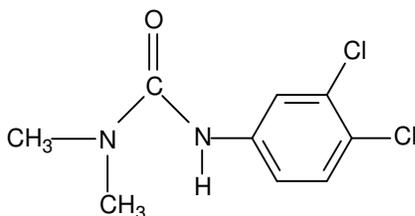


Figura 5: Fórmula estrutural do diuron.

O Diuron, (1,1-dimetil-3-diclorofenil)uréia, é um herbicida pré-emergente pertencente à família das fenilamidas e à subclasse das feniluréias. Esse composto pode ser usado para controlar uma grande variedade de ervas-daninhas, tais como, os musgos. Pode também ser usado em áreas não-cultivadas e em muitas culturas, tais como, frutas, algodão, cana-de-açúcar e trigo. Devido à sua persistência (1 mês a 1 ano), o diuron pode ser encontrado no ambiente em solos, sedimentos e águas²².

A poluição da água e do solo por este composto tem sido um sério problema devido à formação do seu principal metabólito, 3,4-dicloroanilina (3,4-DCA), composto altamente tóxico, submetendo a lixiviação e bioacumulação²². A contaminação de ambientes aquáticos por 3,4-DCA, pode também ocorrer através

de acidentes durante processos industriais, sendo este composto largamente utilizado como precursor na síntese industrial de plásticos, pesticidas e tinturas²³.

1.3 Legislação Ambiental

A Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA) estabelece limites máximos de resíduos de $3 \mu\text{g L}^{-1}$ de atrazina e $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de simazina em águas potáveis²⁴, enquanto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece um limite de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de atrazina e simazina em águas potáveis²⁵. Segundo o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) é permitido um limite máximo de resíduos de pesticidas em geral de $50 \mu\text{g L}^{-1}$, em águas residuárias (efluentes industriais)²⁶.

A Comunidade Econômica Européia (EEC) estabelece como “concentração máxima admissível” para pesticidas em água potável, como substâncias individuais, o limite de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, desde que a concentração total de pesticidas não ultrapasse $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ ²⁷. A quantidade máxima de resíduo de determinado pesticida que pode ser aceita em cada alimento destinado ao consumo humano é chamada de Limite Máximo de Resíduo (LMR). Estes limites são estabelecidos pelo “Codex Alimentarius Commission”, um corpo subsidiário da FAO (Food and Agriculture Organization) e da WHO²⁸. Na legislação brasileira, a ANVISA estabelece limites máximos de resíduos de herbicidas em diversos alimentos, mostrados nas Tabelas 1 e 2^{29,30}.

Tabela 1: Limites máximos de resíduos (LMRs) de triazinas em alimentos.

Alimentos	LMR ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) / Triazinas		
	Atrazina	Ametrina	Simazina
Abacaxi	20	20	200
Banana	----	70	200
Cana-de-açúcar	250	50	200
Café	----	50	200
Milho	250	40	200
Citros	----	20	200
Uva	----	20	200
Algodão	----	50	----
Sorgo	20	----	200
Cacau	----	----	200
Maça, Pêra	----	----	200

Tabela 2: Limites máximos de resíduos (LMRs) de diuron em alimentos.

Alimentos	LMR ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) / Diuron
Abacaxi	100
Banana	100
Cana-de-açúcar	100
Café	1000
Milho	50
Citros	100
Uva	100
Algodão	100
Trigo	50
Soja	200
Cacau	100

1.4 *Cana-de-açúcar*

A cana-de-açúcar é uma gramínea tropical pertencente à mesma classe (Andropogoneae) que o sorgo e o milho⁹. Constitui-se na principal cultura cultivada no estado de São Paulo, participando-se com aproximadamente 27% do valor da produção agropecuária utilizando, apenas 15% da área agrícola do Estado³¹.

No Brasil, em menos de 1% das áreas agricultáveis plantam-se 4,5 milhões de hectares de cana (19% da área do Reino Unido e 8% do território francês), matéria-prima que permite a fabricação de energia natural, limpa e renovável. A

cana é, em si mesma, usina de enorme eficiência: cada tonelada tem potencial energético equivalente ao de 1,2 barril de petróleo³².

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, seguido por Índia e Austrália. Na média, 55% da cana brasileira vira álcool e 45%, açúcar. Planta-se cana no Centro-Sul e no Norte-Nordeste, o que permite dois períodos de safra. Produz-se, portanto, o ano todo. Dependendo do momento de plantio, a cana demora de ano a ano e meio para ser colhida e processada pela primeira vez³².

A cana-de-açúcar é uma das mais importantes culturas agrícolas no Brasil e o conteúdo de flavonóides vem sendo estudado, pois estes compostos podem justificar a potencial utilização dos derivados de cana-de-açúcar como produtos nutracêuticos. Produtos como o caldo de cana, melado, entre outros doces produzidos a partir do caldo de cana, são tradicionalmente consumidos pelas populações em países tropicais como o Brasil e países da América Central³³.

Os flavonóides são as substâncias fenólicas mais comuns nas plantas alimentícias, tendo a estrutura baseada em um núcleo flavonídico (Figura 6), que consiste de três anéis fenólicos denominados A, B e C. O anel benzênico A é condensado com o anel C, na qual a posição 2 liga-se a um outro anel benzênico (B), como um grupo substituinte. Os flavonóides podem ser classificados em 10 classes de acordo com o processo de formação, entre eles, os flavonóis, flavonas, glicoflavonas, flavanonas e isoflavonas, e abrangem mais de 5 mil compostos. Eles podem ocorrer de forma livre (agliconas) ou ligadas a açúcares (glicosídeos), sendo a glicose, galactose, ramnose, xilose e arabinose, os mais freqüentemente encontrados³³.

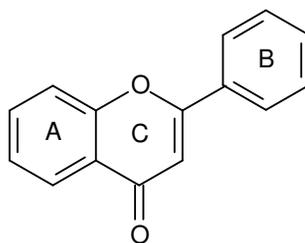


Figura 6: Núcleo fundamental dos flavonóides e posições de substituições.

A classe de flavonóides mais abundantes na cana-de-açúcar são as flavonas O- e C- glicosídeos, sendo entre elas, derivados da apigenina, diosmetina, luteolina ou tricina³⁴⁻³⁶. Colombo determinou em amostras de caldo de cana, derivados glicosilados da diosmetina e da tricina com a presença também da orientina. Observou-se também a presença de alguns outros flavonóides como o 4",5'-di-O-metil-luteolina-8-C-glicosídeo, derivado da luteolina, e os flavonóides schaftosídeo e isoschaftosídeo derivados da apigenina³³.

Sabendo-se que uma grande variedade de produtos químicos é aplicada nas plantações de cana-de-açúcar como herbicidas, fungicidas e inseticidas, e tendo em vista a enorme importância desta cultura para a economia do país, fica evidente a necessidade de um estudo qualitativo e quantitativo de resíduos de pesticidas tanto no caldo de cana quanto em seus produtos⁹. Preparados a partir do caldo de cana, a rapadura e o açúcar mascavo, também consumidos pela população brasileira, podem conter resíduos de pesticidas, pois ao contrário do álcool, da aguardente e do açúcar refinado, não passam por processos industriais, aumentando a possibilidade da detecção de resíduos de pesticidas.

1.4.1 Caldo de cana

O valor nutricional da cana está diretamente ligado ao seu alto teor de açúcar (40% a 50% de açúcares na matéria seca), uma vez que o seu conteúdo

protéico é extremamente baixo, "o que lhe confere a característica de ser um alimento muito desbalanceado em relação a seus nutrientes". A cana é uma planta composta, em média, de 65 a 75% de água, mas seu principal componente é a sacarose, que corresponde de 70% a 91% de substâncias sólidas solúveis. O caldo conserva todos os nutrientes da cana-de-açúcar, entre eles minerais (de 3 a 5%) como ferro, cálcio, potássio, sódio, fósforo, magnésio e cloro, além de vitaminas de complexo B e C. A planta contém ainda glicose (de 2% a 4%), frutose (de 2% a 4%), proteínas (0,5% a 0,6%), amido (0,001% a 0,05%) ceras e graxos (0,05% a 0,015%) e corantes, entre 3% a 5%³⁷.

Pesquisadores da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)³⁸ desenvolveram uma tecnologia de pasteurização que permitirá industrializar a popular garapa (caldo de cana). O processo de estabilização permite manter o suco envasado por até seis meses, o que vai facilitar sua venda em supermercados e à exportação.

1.4.2 Rapadura

A rapadura³⁹ é um produto sólido de sabor doce, obtido pela concentração a quente (**114° e 120° C**) do caldo da cana-de-açúcar, sua principal matéria-prima. O produto, feito de mel de engenho, algumas vezes também chamado de "raspadura" (palavra provinda do verbo raspar), origina-se da crosta de açúcar presa às paredes das tachas, retirada pela raspagem e moldada como tijolos. A rapadura é um produto muito procurado por consumidores que apreciam seu sabor e suas qualidades nutricionais. Contudo, poucos produtores ainda exploram este subproduto da cana-de-açúcar, sendo que a maioria deles desenvolve esta atividade de maneira bastante empírica. Em função de suas qualidades nutricionais, a rapadura tem sido utilizada como complemento da alimentação de populações mais

carentes, a partir de sua adição nas cestas básicas de alimentação e na merenda escolar, principalmente na região nordeste do Brasil.

Atualmente, a rapadura é comercializada em formato de tijolos, normalmente de 600 a 1200 gramas, ou de tabletes de 25 a 50 gramas, embalados em caixinhas de papelão, filmes plásticos e em papel de bala, que se constituem em uma opção moderna de consumo do produto.

1.4.3 Açúcar Mascavo

Até o final do século passado, o açúcar mascavo³⁹ se constituía no principal derivado da cana-de-açúcar e o Brasil em seu principal produtor mundial. A partir de inícios do Século XX, a produção do açúcar mascavo declinou, sendo substituída gradativamente pelos açúcares brancos, cristal ou refinado. Na década de 50, a fabricação de açúcar mascavo se tornou insignificante, passando a ser produzido em pequena escala, não mais com vistas à comercialização. Em Minas Gerais, a fabricação do açúcar mascavo é uma atividade desenvolvida desde o período colonial e, hoje, está sendo incrementada pelo alto valor nutritivo e econômico que o produto apresenta. O consumo do açúcar mascavo tem crescido devido à valorização de produtos naturais, especialmente sem aditivos químicos. Pela sua composição, que o torna um alimento altamente nutritivo, pode substituir com vantagens o açúcar cristal e o refinado na alimentação diária da família, como também ser usado na merenda escolar.

O açúcar mascavo é constituído por aglomerados de sacarose, glicose, frutose e demais substâncias que são provenientes do caldo extraído da moagem da cana-de-açúcar e que são formados após o resfriamento do xarope altamente concentrado. O processo de produção do açúcar mascavo é similar ao empregado

na produção da rapadura. A diferença está apenas na temperatura final da concentração, que deve ser maior para o açúcar mascavo.

1.5 Técnicas cromatográficas de análise

As técnicas mais utilizadas para a determinação de herbicidas são as cromatográficas, por serem métodos precisos, sensíveis e seletivos. Entre os métodos modernos de análise, a cromatografia ocupa um lugar de destaque devido a sua facilidade em efetuar a separação, identificação e quantificação das espécies químicas, por si mesma ou em conjunto com outras técnicas instrumentais de análise, como por exemplo, a espectrofotometria ou a espectrometria de massas⁴⁰.

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada através da distribuição destes componentes entre duas fases, que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra se move através dela. Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, de tal forma que cada um dos componentes é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais destes componentes⁴⁰.

Até o momento, vários trabalhos foram encontrados na literatura (de 2000 até hoje) com relação à determinação desses herbicidas (atrazina, ametrina, simazina e diuron) em diversas amostras. Alguns deles são citados e relatam o uso de uma^{8,41 - 44} ou mais combinações de técnicas cromatográficas^{7,45}.

Apesar dos métodos cromatográficos serem precisos, sensíveis e seletivos, são trabalhosos e relativamente caros. Isto tem despertado o interesse para detecção e quantificação de herbicidas por técnicas eletroanalíticas, pois, além de simples e de baixo custo, elas oferecem a possibilidade de se determinar a

concentração do herbicida diretamente na amostra, sem pré-tratamento ou separação química⁴⁶. Com o desenvolvimento tecnológico as técnicas eletroanalíticas estão sendo cada vez mais utilizadas, destacando-se entre elas, a voltametria de onda quadrada (do inglês: Square Wave Voltammetry, SWV).

1.6 *Técnicas eletroanalíticas*

1.6.1 Considerações gerais

Uma de suas mais importantes características relaciona-se com o fato destas técnicas possibilitarem o estabelecimento de relações diretas entre a concentração do analito e alguma propriedade elétrica como corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga. Como as medidas destas propriedades são facilmente acessíveis experimentalmente, as técnicas eletroanalíticas são adequadamente utilizadas na quantificação de espécies de interesse nas diferentes áreas de estudo⁴⁷.

Uma grande vantagem destas técnicas consiste na possibilidade da medida ser realizada diretamente na amostra sem necessidade de etapas de pré-purificações ou de separações prévias, além de tornar possível a análise de materiais coloridos ou amostras contendo partículas sólidas dispersas⁴⁶.

Estas vantagens, aliadas ao curto tempo na realização das análises, ao baixo custo da instrumentação e dos materiais utilizados, se comparados às técnicas cromatográficas e espectroscópicas, e à baixa sensibilidade que as técnicas eletroanalíticas apresentam em relação à presença de interferentes, fizeram com que elas sejam cada vez mais intensamente utilizadas. Sua crescente importância levou ao desenvolvimento de técnicas cada vez mais sensíveis às espécies em estudo, algumas inclusive com limites de detecção tão baixos que já podem ser

comparados aos das técnicas tradicionais utilizadas na análise de compostos orgânicos e inorgânicos em matrizes ambientais, biológicas e em alimentos⁴⁶.

Em geral, essas técnicas utilizam três eletrodos para a realização das análises. O eletrodo de trabalho, onde se varia o potencial, pode ser constituído de platina (Pt), ouro (Au), mercúrio (Hg), grafite, fibra de carbono, entre outros. O eletrodo de referência possui um potencial constante e pode ser de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl), eletrodo de calomelano saturado (Hg_2Cl_2) ou hidrogênio (H_2), dependendo do meio em que se trabalha. O eletrodo auxiliar (contra-eletrodo), constituído de um metal inerte (ex: Pt), é introduzido na célula voltamétrica para assegurar o sistema potenciostático⁴⁸.

Dentre essas técnicas, destacam-se àquelas que envolvem estudos da influência das variações de potenciais sobre as correntes elétricas que fluem por uma célula eletrolítica, ou seja, para processos redox em vários meios, adsorção em superfícies e mecanismos de transferência de elétrons, denominadas técnicas voltamétricas⁴⁷.

1.6.1.1 Voltametria cíclica (VC)

A voltametria cíclica (VC) tem se tornado uma técnica muito popular para estudos eletroquímicos iniciais de novos sistemas, mostrando ser muito útil na obtenção de informações qualitativas sobre processos eletroquímicos em várias condições⁴⁹.

Consiste de uma variação do potencial de um eletrodo, que é imerso em uma solução sem agitação, e medida da corrente resultante. O potencial do eletrodo de trabalho é controlado vs um eletrodo de referência tais como o eletrodo de calomelano saturado (ECS) ou um eletrodo de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl). O potencial controlado que é aplicado através desses dois eletrodos pode ser

considerado um sinal de excitação. O sinal de excitação para VC é uma varredura linear de potencial com a forma triangular⁴⁷, como mostra a Figura 7.

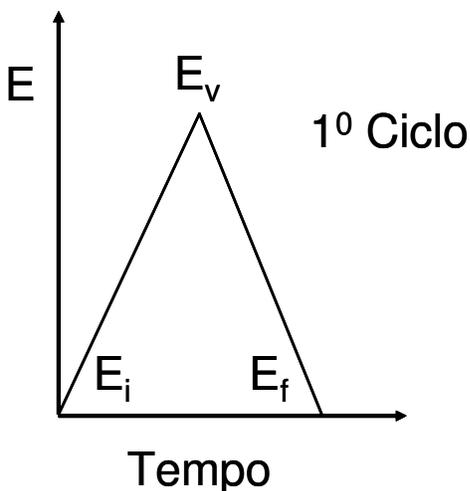


Figura 7: Forma de aplicação do potencial na voltametria cíclica.

O potencial aplicado no eletrodo de trabalho é realizado linearmente com o tempo na forma de onda triangular, partindo de um valor inicial **E_i**, até um valor limite pré-determinado, **E_v**, conhecido como potencial de vértice. Ao alcançar **E_v**, a direção da varredura é invertida e varrida até **E_f**. A direção da varredura pode ser positiva ou negativa e, em princípio, a velocidade com que o potencial é varrido pode assumir qualquer valor⁴⁷.

Um voltamograma cíclico é obtido pela medida da corrente do eletrodo de trabalho durante a varredura do potencial. A corrente pode ser considerada um sinal de resposta ao sinal de excitação do potencial⁴⁷. O voltamograma é uma apresentação da corrente (eixo vertical) vs potencial (eixo horizontal), tendo um exemplo mostrado na Figura 8.

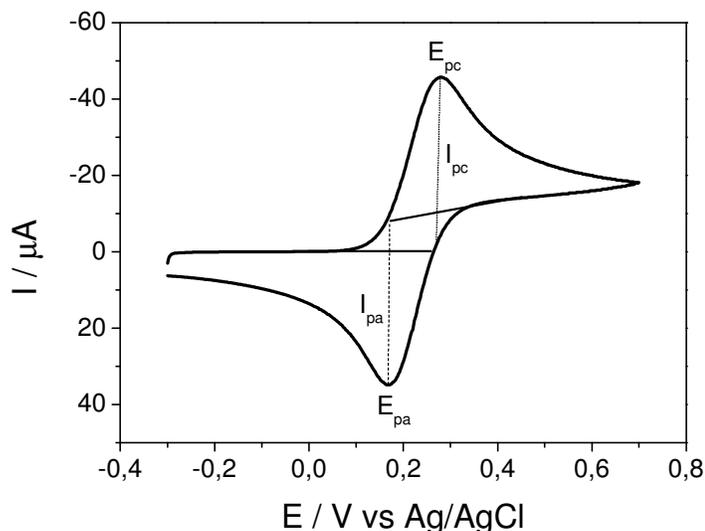


Figura 8: Voltamograma cíclico para uma solução de $K_3Fe(CN)_6$ $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} .

Os parâmetros importantes em um voltamograma cíclico são o potencial de pico anódico (E_{pa}), potencial de pico catódico (E_{pc}), a corrente de pico anódico (I_{pa}), e a corrente de pico catódico (I_{pc}). Para uma reação reversível no eletrodo, as correntes de pico catódico e anódico são aproximadamente iguais em valor absoluto, mas de sinais opostos e a diferença entre os picos de potenciais é $0,059/n$, onde n é o número de elétrons envolvidos na semi-reação⁴⁷.

Uma limitação no emprego da VC para a determinação da concentração de espécies químicas está relacionada com a dificuldade na separação do componente não faradaico da intensidade da corrente de pico. Ao se promover à programação de potenciais sobre o eletrodo, uma parte da corrente que flui a um dado potencial, é devido à carga da dupla camada elétrica. Esta corrente conhecida como capacitiva, não é proporcional à concentração do analito e, portanto, prejudica a precisão da análise⁴⁷. Para minimizar o seu efeito, foram desenvolvidas as técnicas voltamétricas de pulso como, por exemplo, a voltametria de onda quadrada (SWV).

1.6.1.2 Voltametria de onda quadrada (SWV)

A voltametria de onda quadrada (“SWV – square wave voltammetry”) é uma técnica voltamétrica de pulso onde a forma do pico de corrente resultante é proveniente da sobreposição de pulsos de potencial de altura a (amplitude de pulsos), a uma escada de potenciais de largura ΔE_s (incremento de varredura de potenciais) e duração $2t$ (período). As medidas de corrente são feitas no final dos pulsos diretos e reversos e o sinal obtido, após derivação, é dado como uma intensidade da corrente resultante, apresentando excelente sensibilidade e alta rejeição a correntes capacitivas. O pico voltamétrico resultante apresenta posição, largura e altura características do tipo de sistema redox avaliado⁵⁰. A Figura 9 apresenta a forma de aplicação do potencial da SWV.

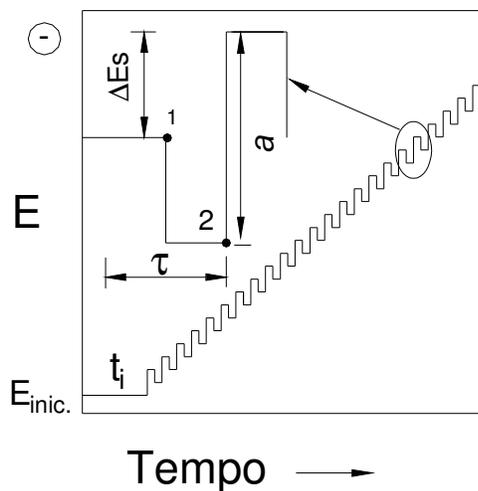


Figura 9: Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada⁵⁰.

A Figura 10 apresenta os voltamogramas teóricos associados a: (1) um sistema reversível e (2) um sistema irreversível, com a separação observada das correntes direta, inversa e resultante. As curvas de corrente-potencial apresentam perfis bem definidos e são geralmente simétricas, isto porque 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 potenciais⁵¹.

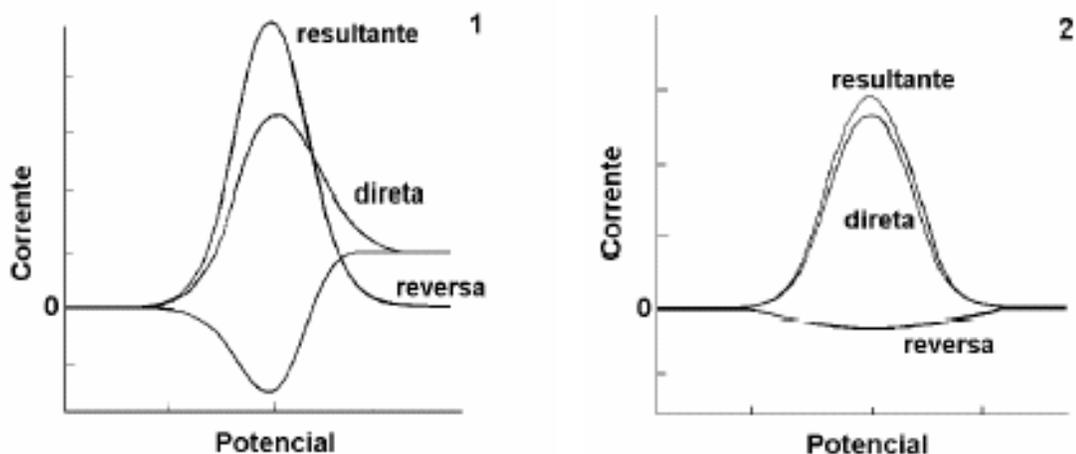


Figura 10: Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada onde (1) representa um processo redox de um sistema reversível e (2) de um sistema irreversível⁵¹.

1.6.1.2.1 Desenvolvimento de modelos teóricos

Os modelos utilizados no estudo de espécies eletroativas utilizando a SWV foram basicamente desenvolvidos por dois grupos de pesquisas, o grupo de Janet Osteryoung em Nova York, e o grupo de Milivoj Lovric na Iugoslávia. A utilização de programas computacionais capazes de simular o comportamento químico para sistemas reversíveis, quase-reversíveis e irreversíveis, possibilitou a estes dois grupos desenvolverem toda a teoria da voltametria de onda quadrada, a qual pode ser utilizada no estudo analítico e na obtenção de dados relacionados à cinética e mecanismo de reações químicas, sob as mais variadas condições⁵¹.

A adsorção de reagentes ou produtos em qualquer reação redox pode causar um aumento significativo nas respostas da SWV, quando comparadas àquelas obtidas por outras técnicas de pulso, especialmente se o sistema é irreversível ou quase-reversível⁵².

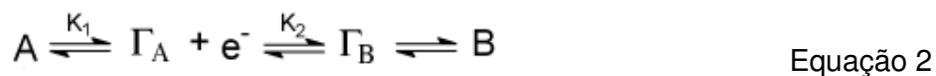
Reações redox totalmente irreversíveis são muito importantes em eletroanálise, pois muitos compostos orgânicos, normalmente contendo anéis aromáticos homocíclicos ou heterocíclicos, com grupos ligantes eletroativos sofrem reduções totalmente irreversíveis devido à baixa velocidade de transferência de carga, ou, muitas vezes por inativação rápida do produto de redução⁵².

Uma avaliação das respostas voltamétricas obtidas com a SWV, mostra que, se uma reação redox ocorre a partir de um reagente dissolvido, a corrente faradaica decresce muito mais lentamente que a corrente capacitiva. Assim, estas duas componentes podem ser separadas, se a medida é realizada ao final de cada pulso. No entanto, se a reação redox ocorre a partir de um reagente adsorvido, a relação corrente faradaica-tempo depende do grau de reversibilidade da reação e também do potencial do eletrodo de trabalho⁵³. Esta foi uma das mais importantes considerações feitas por Osteryoung e Lovric no desenvolvimento dos modelos para a SWV, além disso, eles consideraram os seguintes esquemas de reações:

(1) Adsorção do reagente



(2) Adsorção do reagente e do produto



(3) Reação redox simples, sem adsorção



onde Γ_A e Γ_B representam os excessos superficiais de reagente e produto adsorvido, respectivamente.

Tanto Osteryoung quanto Lovric consideraram que a adsorção do produto e reagente surge a partir de uma difusão linear, com o coeficiente de transferência de massa aproximadamente planar, seguindo as Leis de Fick⁵³.

Sendo assim, as reações apresentadas nos esquemas (A) e (B) foram matematicamente representadas por um sistema de equações diferenciais, definidas pela 2ª Lei de Fick:

$$\frac{\partial A}{\partial t} = D_A \left(\frac{\partial^2 A}{\partial x^2} \right) \quad \frac{\partial B}{\partial t} = D_B \left(\frac{\partial^2 B}{\partial x^2} \right) \quad \text{Equações 4 e 5}$$

onde D_A e D_B são os coeficientes de difusão de reagente e produto, respectivamente, e x é a distância da espécie eletroativa até a superfície do eletrodo de trabalho.

A solução para estas equações diferenciais levou em consideração as seguintes condições de contorno:

$t = 0, x > 0; A = A^*, B = 0$	
$\Gamma_A = 0$	somente para equação 2
$\Gamma_B = 0$	somente para equação 1
$t > 0, x \rightarrow \infty: A \rightarrow A^*, B \rightarrow 0$	
$x = 0: A_{x=0} = K_1 \Gamma_A$	somente para equação 1
$B_{x=0} = K_2 \Gamma_B$	somente para equação 2

Todo parâmetro matemático foi considerado, e a equação de Fick foi resolvida utilizando-se a transformada de Laplace e as condições de contorno mostradas aqui. Além disso, também foram consideradas a Lei de Faraday que relacionam a carga envolvida na transferência de massa sendo que, os tratamentos com integrações numéricas e várias outros cálculos matemáticos levaram ao

desenvolvimento de equações que governam as correntes de pico, a largura de picos os quais podem fornecer dados importantes, tais como: o número de elétrons envolvidos no processo redox e informações sobre a cinética e mecanismos de tais processos⁵¹.

As relações entre os parâmetros do sistema (potencial padrão, constante de velocidade e coeficiente de transferência de carga) e os parâmetros voltamétricos (altura, posição e largura do pico voltamétrico) foram considerados para o desenvolvimento e resolução das equações diferenciais apresentadas⁵¹.

De acordo com a teoria da SWV, a magnitude, perfil e posição dos picos redox dependem do grau de reversibilidade e do valor do coeficiente de transferência eletrônica da espécie eletroativa, sendo que o caráter da reação redox pode causar um aumento ou diminuição significativa na resposta obtida⁵⁴.

Sendo assim, a avaliação das respostas obtidas, após a definição dos parâmetros envolvidos na técnica, torna possível a interpretação dos resultados e a definição do tipo de reação envolvida em cada sistema estudado⁵¹.

1.6.1.2.2 Critérios de diagnóstico para reações redox

Os critérios de diagnósticos de processos redox na SWV foram desenvolvidos e testados de acordo com inúmeros cálculos teóricos, por meio de simulações de reações reversíveis, irreversíveis e quase-reversíveis. Para estas simulações, um algoritmo COOL (assim chamado em função das pessoas que o desenvolveram: Chernoff, O'Dea, Osteryoung e Lane) foi utilizado, o que possibilitou todo o tratamento teórico dado a SWV, sendo os critérios, mostrados resumidamente a seguir⁵⁵.

Se não ocorre adsorção da espécie eletroativa na superfície do eletrodo e se o coeficiente de transferência de carga (α) é considerado 0,5, então a intensidade da corrente de pico para sistemas reversíveis é cerca de três vezes maior que para sistemas irreversíveis⁵⁶, o que comprova uma maior sensibilidade da SWV para sistemas reversíveis.

Isto se deve ao fato de que a corrente resultante é a diferença entre as correntes diretas e inversas, e quanto maior a reversibilidade da reação maior é a contribuição da corrente inversa, aumentando significativamente a corrente resultante e, conseqüentemente, a resposta em termos de intensidade de corrente⁵¹.

$$I_r = I_d - I_i \quad \text{Equação 6}$$

onde I_r é a corrente resultante, I_d é a corrente direta e I_i é a corrente inversa. Como as correntes inversas são negativas, isto acaba contribuindo para um aumento da corrente resultante, melhorando a resposta voltamétrica⁵¹.

A corrente de pico (I_p) apresenta uma relação linear com a frequência de aplicação dos pulsos de potenciais, se a reação é totalmente irreversível. No entanto, se a reação é reversível, a corrente de pico é linear com o quadrado da frequência. Em uma reação quase-reversível, a relação entre a corrente de pico e a frequência não é linear⁵¹.

A dependência dos potenciais de pico com o logaritmo da frequência de aplicação dos pulsos de potenciais para sistemas totalmente irreversíveis é linear com a inclinação definida por: $\Delta E_p / \Delta \log f = -2,3RT / \alpha nF$ (ou $-59 / \alpha n$ mV). Para sistemas reversíveis sem adsorção do produto, a relação também é linear, mas com inclinação de $\Delta E_p / \Delta \log f = -2,3RT / 2nF$ (ou $-29/n$ mV). Se o reagente e o produto adsorvem e a reação redox é reversível, então os potenciais de pico são independentes da frequência de aplicação dos pulsos de potenciais⁵¹.

As correntes de pico também dependem da amplitude da onda e esta dependência é linear se $a = 20/n$ mV. Para reações redox totalmente irreversíveis, a sensibilidade analítica aumenta com o aumento da amplitude, pois a largura de meia altura ($a_{p/2}$) se mantém constante para amplitudes maiores que 20 mV. Para reações redox reversíveis com adsorção de produto e reagente, a altura do pico aumenta proporcionalmente somente para valores menores que 60 mV⁵¹.

A largura de meia altura ($a_{p/2}$) é um importante parâmetro para estimar a reversibilidade de reações redox. É independente do incremento de varredura e do tempo inicial, mas depende da amplitude dos pulsos de potenciais. Para reações redox totalmente irreversíveis a $a_{p/2}$ é independente da amplitude dos pulsos se $a > 20$ mV para adsorção do reagente e $a > 40$ mV para adsorção do produto e reagente. Sendo assim, é possível se considerar que $a_{p/2} = (63,5 \pm 0,5)/\alpha n$ e assim se estimar o valor de α ⁵¹.

Ainda pode-se concluir que para a análise de sistemas totalmente irreversíveis, a sensibilidade pode ser drasticamente aumentada usando um alto valor de incremento de varredura de potencial e pulsos de largas amplitudes⁵⁷.

1.6.1.2.3 Vantagens da SWV

Do ponto de vista prático, a maior vantagem da SWV é a facilidade na apresentação de um pico simétrico com maior intensidade de corrente que os picos obtidos na voltametria cíclica (VC), e a facilidade em medir as correntes faradaicas num intervalo de tempo onde as correntes capacitivas são negligenciáveis. Isto ocorre, pois na SWV, assim como em outras técnicas de pulso, a corrente capacitiva diminui mais rapidamente que a corrente faradaica, melhorando significativamente a sensibilidade da técnica^{50,51}.

Quando se considera a utilização do eletrodo gotejante de mercúrio, a maior vantagem da SWV é a possibilidade de se promover uma varredura completa de potencial durante o tempo de vida de uma única gota de mercúrio, reduzindo consideravelmente o tempo necessário à realização do experimento, quando comparado com as tradicionais técnicas eletroanalíticas. Além disto, o eletrodo de mercúrio apresenta sempre uma superfície limpa e reprodutível podendo ser aplicado com sucesso em análises quantitativas de diversos tipos de compostos⁵¹.

Uma outra vantagem apresentada pela SWV é a redução no ruído de fundo por meio de varreduras repetitivas. Além disso, ainda é possível pela observação dos sinais das varreduras direta e inversa, se obter a informação análoga àquelas obtidas utilizando-se a VC, porém com uma maior sensibilidade devido à minimização da contribuição da corrente capacitiva^{50,51}.

A velocidade efetiva para uma análise por SWV é dada em função do incremento de varredura de potencial e a freqüência de aplicação dos pulsos de potencial ($f\Delta E_s$). Sendo assim, tempos experimentais muito curtos podem ser obtidos utilizando-se freqüências moderadas, de maneira que os dados obtidos possam oferecer informações sobre a cinética do processo eletródico, já que habitualmente se sugerem velocidades de 2 V s^{-1} para estudos cinéticos, o que é facilmente obtido com a utilização da SWV⁵¹.

1.7 Estado da arte referente à determinação eletroanalítica de pesticidas em diversas amostras

A aplicação de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas surgiu como tentativa de se resolver os problemas de custo, manipulação e tempos observados na utilização das tradicionais técnicas cromatográficas⁵⁸.

Abaixo são citados alguns trabalhos referentes a determinações eletroanalíticas destes herbicidas em diversas amostras e ao comportamento eletroquímico destes compostos na superfície do mercúrio, mas nenhum mostrando a aplicação de metodologias eletroanalíticas para a determinação de resíduos destes herbicidas em amostras ambientais, tais como: derivados de cana-de-açúcar.

1.7.1 Triazinas

Em relação às s-triazinas, vários trabalhos sobre o comportamento eletroquímico e determinações eletroanalíticas, principalmente sobre o eletrodo de mercúrio foram encontrados. A eletroatividade do herbicida atrazina em mercúrio foi primeiramente verificada por Hayes e col.⁵⁹ em 1967. Analisando várias triazinas entre elas a simazina, propazina, prometrina e prometrona, os autores mostraram que tais herbicidas apresentam ondas polarográficas de redução em meios ácidos. Os limites de detecção encontrados foram de 1500 a 2000 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a polarografia DC e de cerca de 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a polarografia de varredura linear. Em 1970, Hence⁶⁰ usou a polarografia derivativa para a determinação de 38 pesticidas em cinco eletrólitos suportes diferentes, determinando a eletroatividade de alguns pesticidas como: dinitrofenóis, DNOC e Dinoseb, Diquat e algumas triazinas simétricas. O trabalho de Hence mostrou que 28 dos 38 compostos testados eram eletroativos em pelo menos um dos eletrólitos suporte, os quais foram escolhidos para se trabalhar numa faixa de pH de 1 a 13. Com este trabalho, surgiram as primeiras constatações de que os métodos voltamétricos podem apresentar respostas satisfatórias à monitoração destes pesticidas. Hence obteve um limite de detecção de 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a atrazina, utilizando a polarografia de varredura linear com H_2SO_4 como eletrólito.

BenadiKova e Kalvoda⁶¹ utilizaram a voltametria adsortiva para a determinação de algumas triazinas, entre elas, a ametrina, e pesticidas contendo grupos nitro, em água pura. Utilizando tampão BR como eletrólito em pH = 3,5, obtiveram um limite de detecção de 0,95 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a ametrina. Lippolis e Concialini⁶² por meio da polarografia de pulso diferencial, com uso do eletrodo gotejante de mercúrio, determinaram os herbicidas atrazina, prometrina e simazina em pH = 2,0. O limite de detecção alcançado foi de $8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, correspondendo a aproximadamente 15 $\mu\text{g L}^{-1}$. Bilewicz e col.⁶³ utilizaram a polarografia DC, polarografia PD e voltametria PD para a determinação da simazina em água pura, obtendo limites de detecção de $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (1008,3 $\mu\text{g L}^{-1}$), $2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (40,33 $\mu\text{g L}^{-1}$) e $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (20,17 $\mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente. Gálvez et al.⁶⁴ realizaram um estudo polarográfico da redução do herbicida simazina em soluções micelares e emulsões óleo-água. Usando polarografia de pulso diferencial, a simazina pôde ser determinada acima das faixas de concentrações de $8 \times 10^{-7} - 4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O limite de detecção foi de $2,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (44,4 $\mu\text{g L}^{-1}$) e o efeito da presença de outras s-triazinas no pico de redução da simazina também foi estudado. Ignjatovic e col.⁶⁵ mostraram a determinação de algumas s-triazinas (atrazina, ametrina e simazina) por polarografia de pulso diferencial em amostras de águas contaminadas com resíduos industriais e obtiveram concentrações entre 0,090 a 344,37 mg L^{-1} .

Skopalová e Kotoucek⁶⁶ realizaram estudos eletroquímicos de algumas triazinas (inclusive a atrazina) por voltametria de pulso diferencial com varredura rápida (FSDPV) em um eletrodo de gota estática de mercúrio (SMDE). A adsorção destes compostos à superfície do eletrodo de mercúrio foi utilizada para a

determinação analítica por meio da voltametria de redissolução adsortiva, realizadas em tampão BR. Os limites de detecção calculados foram de 0,1-0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Pospisil e col.⁶⁷ realizaram um estudo do comportamento eletroquímico da atrazina e terbutilazina, sendo qualitativamente similares. A redução da atrazina que envolve dois elétrons procede somente em meio ácido, onde ocorre uma protonação precedente (pK_a : 1,44). Em soluções de pH 2-4, foi observado que a corrente de redução é cineticamente controlado pela protonação, e os produtos da redução foram identificados por eletrólises em larga escala seguidos pela análise de CG-EM (Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas). Os resultados obtidos no trabalho mostraram a importância da reação de protonação para a decomposição de ambos os herbicidas pela clivagem redutiva dos substituintes, sendo o principal caminho, a perda do átomo de cloro.

Vaz e col.⁶⁸ desenvolveram uma metodologia eletroanalítica utilizando a voltametria de pulso diferencial para a determinação de atrazina em solução, visando sua aplicação em amostras reais. Os resultados mostraram que a atrazina é eletroativa em mercúrio, com uma melhor resposta voltamétrica obtida em pH = 2,3 e limite de detecção de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Ignjatovic e col.¹⁶ determinaram os herbicidas atrazina e ametrina por meio da voltametria de pulso diferencial em um eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE) em uma faixa de concentração de $1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ usando um eletrólito suporte a pH = 3,0. Este procedimento foi aplicado para a determinação seletiva de atrazina e ametrina em várias soluções padrões, com resultados de exatidão e precisão satisfatórios.

Colombini e col.⁶⁹ investigaram os produtos de degradação (desetilatrizona e desetilterbutilazina) de pesticidas triazínicos (atrazina e terbutilazina) por espectrofotometria UV e técnicas eletroquímicas. Em um ambiente suficientemente

ácido, tais compostos sofrem uma adicional degradação redox que envolve a clivagem do átomo de cloro. A reação é dependente do pH e procede via formas protonadas de ambos os compostos. Dados espectrofotométricos indicam que o pH requerido para esta reação é aproximadamente uma unidade menor que o pH requerido para a degradação dos pesticidas (moléculas originais).

O objetivo do trabalho de Galvin e col.¹⁸ foi explorar possíveis implicações no meio ambiente da redução eletroquímica da simazina e propazina. A polarografia de pulso diferencial foi utilizada com velocidade de varredura de 2 mV s^{-1} , amplitude de pulso de 15 mV e duração e pulso de 50 ms em um HMDE. A dependência da corrente de pico da simazina com o pH confirma a ocorrência de adsorção deste composto na superfície eletródica. Além disso, o estudo voltamétrico do fenômeno de adsorção indica que moléculas de simazina devem se adsorver na superfície do eletrodo de mercúrio com o anel aromático paralelo à superfície eletródica. Os autores concluíram que a perda de um átomo de cloro pode apresentar uma diminuição na ação toxicológica em relação às moléculas originais.

Cabral e col.¹⁰ realizaram um estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametrina em meio ácido utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada combinada com eletrodo de mercúrio. A metodologia eletroanalítica desenvolvida permitiu calcular um limite de detecção de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ em amostras preparadas com água pura, valor este que possibilita a aplicação desta metodologia na análise de traços deste herbicida em amostras ambientais. Dragunski⁷⁰ realizou um estudo do comportamento eletroquímico da atrazina, bem como desenvolveu uma metodologia utilizando-se a SWV para sua determinação em água pura e formulações comerciais, obtendo um limite de detecção de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

A determinação voltamétrica de herbicidas triazínicos, incluindo a ametrina, em soluções salinas utilizadas em hemodiálise foi investigada por Nascimento e col.⁷¹. Os herbicidas foram detectados com grande sensibilidade nas soluções salinas, após extração em fase de acetonitrila, utilizando o HMDE. A especiação entre as triazinas investigadas (ametrina, desmetrina, prometrina e terbutrina) não foi possível e recuperações entre 88 e 107 % foram calculados em amostras fortificadas com os analitos. Utilizando esta metodologia, limites de detecção de $0,03 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram calculados para as triazinas nas amostras salinas.

Higuera e col.⁷² estudaram por polarografia de pulso diferencial e de corrente direta, a eletroredução dos derivados s-triazínicos da atrazina em eletrodos de mercúrio, em meio ácido H_2SO_4 $2,25 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 5,0. Na polarografia de pulso diferencial, dois picos principais de redução envolvendo dois elétrons foram observados ,acompanhados de pré-pico e pós-pico, devido a adsorção de simazina no eletrodo. Em $\text{pH} < \text{pK}$, sendo pK , a constante de protonação do anel triazínico, os resultados mostraram que em primeiro estágio, a simazina sofre uma clivagem do átomo de cloro por um processo químico-eletoquímico-químico (CEC), resultando em um intermediário declorinado, que é reduzido por um processo irreversível envolvendo dois elétrons. A $\text{pH} > \text{pK}$, a protonação do anel precede o processo de redução, sendo esta reação também responsável pelo decréscimo da corrente limite. Um estudo por voltametria de varredura linear mostrou que atrazina e propazina são adsorvidos no eletrodo, mas em menor extensão, se comparado a simazina. Também nenhuma monocamada composta foi formada no eletrodo. Do ponto de vista analítico, a polarografia de pulso diferencial pode ser aplicada sob condições adequadas, tendo um menor limite da concentração do herbicida em aproximadamente $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Em um trabalho recente, Santos e col.⁷³ apresentaram a otimização da instrumentação e parâmetros em solução para a determinação de atrazina em águas de rio e formulações, por meio da SWV usando um eletrodo de mercúrio (HMDE). O limite de detecção foi de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ e a aplicação da metodologia em amostras de águas de rio contaminadas com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de atrazina resultou em recuperações de 92 a 116%.

Um outro trabalho de Santos e col.⁷⁴ descreve o desenvolvimento de um método de análise seqüencial por injeção para automatizar a determinação de atrazina por SWV explorando o conceito de análise em fluxo monosegmentado sendo a cela de fluxo adaptada ao capilar do HMDE. A faixa linear dinâmica é observada para concentrações de atrazina entre $1,16 \times 10^{-7}$ a $2,32 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, obtendo limites de detecção e quantificação de $2,1 \times 10^{-8}$ e $7,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. O método foi aplicado para a determinação de atrazina em amostras de águas de rio, obtendo resultados estatisticamente satisfatórios.

1.7.2 Feniluréias

Até o momento, poucos trabalhos sobre o comportamento eletroquímico do diuron foram encontrados. Macounova e col.⁷⁵ estudaram a eletrólise do diuron em um eletrodo de carbono vítreo usando ultrassom, para evitar a total obstrução da superfície eletródica por um filme passivado. Já Polcaro e col.²³ relatam apenas a remoção do diuron e do seu principal metabólito, 3,4-dicloroanilina (3,4-DCA) de soluções aquosas por oxidação eletroquímica. Entretanto, não foi localizado nenhum trabalho sobre a determinação eletroanalítica por meio da redução eletroquímica do diuron sobre o eletrodo de mercúrio.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para a determinação dos herbicidas atrazina, ametrina, simazina e diuron em diferentes amostras dos principais derivados da cana-de-açúcar por meio da voltametria de onda quadrada sobre o eletrodo de mercúrio. Este objetivo geral pode ser detalhado abaixo:

- Estudo das respostas eletroquímicas dos herbicidas em diferentes meios, utilizando-se eletrodo de gota pendente de mercúrio. Esses estudos serão efetuados variando-se o pH do eletrólito de suporte, a frequência de aplicação dos pulsos de potenciais, a amplitude de aplicação dos pulsos de potenciais, e o incremento de varredura de potenciais, observando-se a melhor resposta voltamétrica, tanto em termos de intensidade de corrente quanto em definição do perfil voltamétrico.
- Desenvolvimento de metodologias analíticas com o auxílio do procedimento matemático de deconvolução, para a determinação dos herbicidas, tanto individualmente quanto na forma de misturas em água Milli-Q e em amostras de derivados de cana-de-açúcar, tais como, o caldo de cana, a rapadura e o açúcar mascavo, utilizando-se a técnica de voltametria de onda quadrada.
- Avaliação das potencialidades desta técnica voltamétrica na detecção e quantificação de herbicidas de estruturas tão próximas, como no caso das triazinas e também a possibilidade de análise de derivados de cana-de-açúcar sem pré-tratamento ou “*clean up*” das amostras.
- Comparação dos resultados obtidos por SWV e HPLC/UV na análise de resíduos de herbicidas em amostras de caldo de cana.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e Soluções

A maioria dos reagentes utilizados nos experimentos é de pureza analítica (PA), e a procedência destes encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3: Procedência e pureza dos reagentes utilizados.

MATERIAL	PROCEDÊNCIA	PUREZA %
Atrazina	Ciba Geigy do Brasil	97,1
Ametrina	Ciba Geigy do Brasil	98,6
Simazina	Herbitécnica	99,1
Diuron	Syngenta	98,0
Sulfato de sódio	Merck	99,0
Ácido sulfúrico	Synth	98,0
Metanol	Merck	HPLC
Acetonitrila	Merck	HPLC
Hidróxido de amônio	Synth	99,0
Sacarose*	Reagen	---
Clorofila*	Mosteiro Dévakan	---
Apigenina*	Roth	---
Orientina*	Roth	---
Quercetina*	Sigma	---
Luteolina*	Roth	---

* as origens desses compostos estão mostradas ao longo do texto.

Foram preparadas soluções estoques dos herbicidas atrazina e ametrina nas concentrações de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e simazina e diuron nas concentrações de $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com uma mistura de 80% (v/v) de água ultrapura (Milli-Q) e metanol 20% (v/v), para assegurar a solubilidade total dos herbicidas. Para a realização das análises, as amostras foram diluídas a partir das soluções estoques. O eletrólito suporte utilizado foi o Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções tiveram o pH ajustado com pequenas quantidades de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Para a realização do estudo a altas frequências, o eletrólito suporte utilizado foi o H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura, originadas de uma unidade de purificação Milli-Q, procedência Millipore Corporation. Foram utilizadas pipetas automáticas de 50, 200 e 1000 μL (Gilson), todas com ponteiros descartáveis de polietileno.

3.2 Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram realizadas empregando dois sistemas: 1) Potenciostato Modelo 394 EG & G PARC com eletrodo de mercúrio (Modelo 303A), interfaceado ao microcomputador utilizando o programa M-394. 2) Potenciostato/Galvanostato, Modelo 273 EG & G PARC acoplado a um microcomputador dotado com o programa M-270 também da PARC.

Um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) modelo SCL-10AVP da Shimadzu acoplado a um detector espectrofotométrico UV-VIS SPD-10AVP, foi utilizado para as determinações cromatográficas das triazinas.

Os espectros de absorção óptica foram obtidos com um espectrofotômetro HITACHI U-2010 acoplado a um computador IBM-PC. Os resultados foram registrados com auxílio do software UV solutions.

3.2.1 Eletrodos

Para os estudos das reduções eletroquímicas das triazinas e do diuron e análises das amostras de derivados de cana-de-açúcar foi utilizado um sistema de eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE) da EG & G PARC, modelo 303A, composto por um eletrodo de trabalho HMDE com área de $0,0236 \text{ cm}^2$, um eletrodo de referência: Ag/AgCl em KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ (valor de potencial é de $0,222 \text{ V}$ em relação ao eletrodo reversível de hidrogênio) e um eletrodo auxiliar: fio de platina. Somente para o caso da otimização dos parâmetros da SWV para uma melhor definição do perfil voltamétrico da simazina foi utilizado um HMDE com área de $0,0207 \text{ cm}^2$. Em virtude da quebra deste eletrodo (área $0,0207 \text{ cm}^2$), foi utilizado um eletrodo de $0,0236 \text{ cm}^2$ para a continuação do trabalho.

3.2.2 Células Eletrolíticas

Para os estudos eletroanalíticos dos herbicidas com o HMDE, utilizaram-se células de vidro Pyrex[®] de compartimento único, com capacidades de 10 ou 20 mL_s equipadas com tampas em Teflon[®] contendo orifícios, para desoxigenação da solução com nitrogênio, e para o posicionamento dos eletrodos, sendo um referência (Ag/AgCl), um de trabalho e outro auxiliar. A Figura 11 ilustra as células eletroquímicas utilizadas.

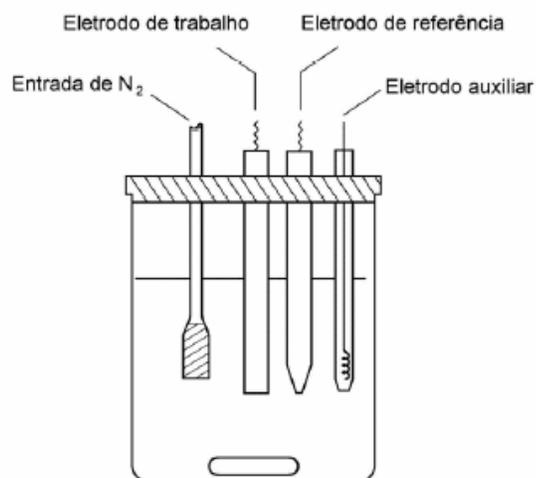


Figura 11: Representação esquemática de uma célula voltamétrica de três eletrodos.

3.2.3 Ajuste de pH

Todas as soluções tiveram seus valores de pH ajustados com um pHmetro, modelo ANALION PM 608 e um eletrodo combinado de vidro da Digimed – Instrumentação Analítica. O pHmetro era diariamente calibrado com tampões comerciais de pH 4 e 7.

3.3 Amostras de caldo de cana, rapadura e açúcar mascavo

As amostras de caldo de cana foram obtidas com vendedores ambulantes na cidade de São Carlos (amostra 1) e de Ibaté (amostra 2). Para a coleta destas amostras foi utilizada uma garrafa de água mineral de polietileno de 500 mL_s para minimização de possíveis interferentes. Após a obtenção das amostras, estas foram armazenadas no refrigerador (4^oC). As amostras de rapadura e de açúcar mascavo foram obtidas no comércio de São Carlos e mantidas à temperatura ambiente. Todas as amostras não sofreram deterioração e com isso, não comprometeram a reprodutibilidade das medidas.

3.4 Metodologia

3.4.1 Voltametria de onda quadrada e voltametria cíclica

3.4.1.1 Redução eletroquímica da atrazina e da ametrina

As medidas voltamétricas foram realizadas sobre o eletrodo de mercúrio (HMDE) em uma célula voltamétrica contendo 10 mL de eletrólito suporte (Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$), sendo esta solução, purgada com nitrogênio super seco por 5 minutos, para eliminação do oxigênio presente.

Nas condições otimizadas (pH 2,0 com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$), cada um dos herbicidas (atrazina e ametrina) apresentou um pico de redução bem definido em potenciais de $-0,98 \text{ V}$ para a atrazina e $-1,04 \text{ V}$ vs Ag/AgCl 3 mol L^{-1} para a ametrina.

Os potenciais de pico apresentaram valores muito próximos. Desta forma, em uma mistura ocorre a formação de um único pico voltamétrico com perfil alargado, indicando a sobreposição dos picos referentes aos compostos. Assim, foi desenvolvida uma metodologia de separação dos picos pelo procedimento matemático de deconvolução (Microcal Origin 6.0), possibilitando a separação dos dois picos voltamétricos, e conseqüentemente a quantificação de um herbicida na presença do outro. Foram construídas curvas analíticas em água pura para cada um dos compostos individuais e também se fixando a concentração de um dos herbicidas em $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, variando-se a concentração do outro. As curvas analíticas foram obtidas por adições de quantidades conhecidas dos herbicidas ao eletrólito suporte.

3.4.1.2 Redução eletroquímica da simazina e da atrazina

Para as medidas de voltametria de onda quadrada realizadas com o eletrodo de mercúrio (HMDE), adicionou-se à célula eletroquímica 10 mL do eletrólito suporte (Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e então purgou-se esta solução durante 5 minutos com nitrogênio super seco. Após a eliminação do oxigênio presente, foi realizada a variação dos parâmetros da SWV para uma melhor resposta voltamétrica da simazina e as curvas analíticas foram obtidas por adições de quantidades conhecidas do herbicida ao eletrólito suporte. As medidas foram realizadas em condições otimizadas num intervalo de potenciais de $-0,5 \text{ V}$ a $-1,4 \text{ V}$ com pH 3,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$, cujo composto apresentou um pico voltamétrico em $-1,10 \text{ V}$ vs Ag/AgCl.

Para a simazina e atrazina, em determinadas condições voltamétricas, os potenciais de pico apresentaram valores muito próximos. Desta forma, em uma mistura ocorre a formação de um único pico voltamétrico com perfil alargado, indicando a sobreposição dos picos referentes aos compostos.

3.4.1.3 Redução eletroquímica do diuron

Para as medidas voltamétricas com o eletrodo de mercúrio, adicionou-se a cela eletroquímica 10 mL do eletrólito suporte (Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e então purgou-se esta solução durante cinco minutos com nitrogênio super seco, para eliminação do oxigênio presente. As condições voltamétricas em um intervalo de potenciais de $-0,5$ a $-1,3 \text{ V}$, foram pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. Este herbicida apresentou um valor de potencial de pico de redução em $-1,13 \text{ V}$, bem próximo aos valores dos potenciais de redução das triazinas.

3.4.1.4 Análise eletroquímica das amostras de caldo de cana

As medidas eletroquímicas foram realizadas diretamente com as amostras de caldo de cana sem nenhum tratamento prévio ou separações. A presença de um pico voltamétrico em $-1,05\text{ V}$ vs Ag/AgCl (referente a adição de $500\ \mu\text{L}$ da amostra 1 a $10\ \text{mL}$ de eletrólito suporte), região de resposta voltamétrica das triazinas e do diuron, mostrou a possibilidade da presença de resíduos destes compostos. A essa amostra 1, foram adicionadas quantidades conhecidas dos 4 herbicidas para uma possível recuperação de resíduos destes compostos. Também foram realizadas adições de quantidades de herbicidas em um volume 10 vezes menor da amostra 1 ($50\ \mu\text{L}$ em $10\ \text{mL}$ de eletrólito suporte) pelo método da adição de padrão. Na amostra 2 de caldo de cana, os estudos foram realizados da mesma forma que na amostra 1, mas somente em $50\ \mu\text{L}$ desta amostra.

3.4.1.5 Análise eletroquímica da rapadura

As metodologias de detecção da atrazina, ametrina e simazina, inclusive o diuron, foram aplicadas a uma amostra de rapadura (solução aquosa estoque $0,040\ \text{g mL}^{-1}$). Primeiramente, foi adicionado $500\ \mu\text{L}$ da amostra sem tratamentos prévios ao eletrólito suporte, apresentando dois picos superpostos. Com isso, foram adicionadas diferentes quantidades conhecidas dos herbicidas pelo método da adição de padrão.

3.4.1.6 Análise eletroquímica do açúcar mascavo

As medidas eletroquímicas foram realizadas diretamente com a amostra de açúcar mascavo, sem etapas de separação e purificação. Diferentes quantidades de uma solução aquosa estoque $0,040\ \text{g mL}^{-1}$ de açúcar mascavo foram adicionadas à

cela eletroquímica, gerando picos voltamétricos de redução. Com isso, foram adicionadas diferentes quantidades conhecidas dos herbicidas a alíquotas da amostra contida no eletrólito suporte, para a possibilidade de detecção de resíduos destes compostos.

3.4.1.7 Análise eletroquímica da clorofila e da sacarose

A clorofila foi obtida em uma farmácia de manipulação (**Mosteiro Dévakan**) extraída da alga "*Chlorella Pyrenoidosa*". Alíquotas de diferentes quantidades de uma solução $1,012 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (50 % etanol / 50 % água) foram adicionados à cela eletroquímica para testar a eletroatividade da clorofila no eletrodo de mercúrio⁷⁶⁻⁷⁸ e também para testar se os picos de redução do caldo de cana representam a clorofila. Diferentes quantidades de uma solução aquosa de sacarose $0,584 \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionados à cela eletroquímica para testar a eletroatividade no mercúrio e também foram realizados experimentos para se observar o quanto a sacarose pode influenciar na resposta voltamétrica dos herbicidas.

3.4.1.8 Análise eletroquímica dos flavonóides

Os flavonóides analisados, apigenina, quercetina, orientina e luteolina foram obtidos com a Prof^a Dr^a Janete H. Yariwake (**Laboratório de Fitoquímica-USP**). Soluções estoques destes compostos foram preparados em metanol/água (1/1, v/v) e concentrações de $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ dos flavonóides foram analisadas a 10 mL do eletrólito suporte para a verificação da eletroatividade na superfície do mercúrio e conseqüentemente os valores dos potenciais dos picos de redução e também perfis voltamétricos. Diferentes concentrações conhecidas ($1,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) destes compostos foram analisadas em 10 mL de eletrólito suporte contendo 50 μL .

do caldo de cana (amostra 1). As medidas voltamétricas foram realizadas em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, f: 100 s^{-1} , a: 50 mV, ΔE_s : 10 mV.

3.4.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

3.4.2.1 Extração líquido – líquido do caldo de cana

O CHCl_3 foi escolhido como solvente para esta extração⁷⁹. A finalidade da extração foi obter a separação dos analitos de interesse presentes na matriz, de possíveis interferentes co-eluídos, como constituintes básicos (açúcares, clorofila, etc). A extração foi realizada em um funil de separação (3 vezes) de acordo com o fluxograma mostrado na Figura 12. Esta extração foi somente necessária para as análises cromatográficas.

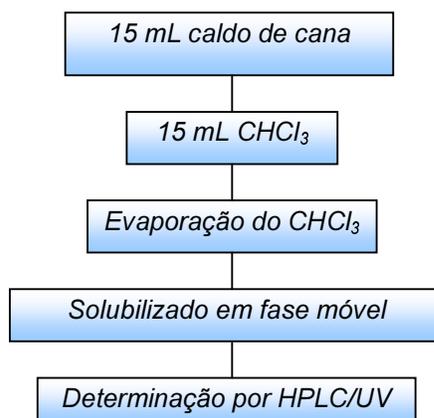


Figura 12: Fluxograma de extração das triazinas da amostra de caldo de cana.

3.4.2.2 Análise cromatográfica do caldo de cana (amostra 1)

A cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada para a separação dos picos dos três herbicidas triazínicos padrões e também para a confirmação da presença ou ausência de resíduos destes compostos na amostra de caldo de cana. Foram analisadas no extrato (1 mL) diferentes concentrações conhecidas dos herbicidas ($3,0$; $6,0$ e $9,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) separadamente pelo método da adição de

padrão. Foram injetados 20 μL de cada mistura (herbicida + extrato), no cromatógrafo para a identificação dos picos referentes aos compostos.

Para as medidas cromatográficas utilizou-se uma fase móvel Acetonitrila/ NH_4OH 0,01 % na proporção de 40/60, com fluxo de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ e eluição em condição isocrática. O comprimento de onda monitorado foi de 222 nm e o volume de injeção foi de 20 μL . A coluna utilizada foi a Supelcosil LC-18.

3.4.3 Espectroscopia de Absorção na região UV-vis

As medidas espectrofotométricas foram realizadas em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 2,0) em um intervalo de comprimento de onda de 200 a 800 nm. O caminho óptico das cubetas utilizadas foi de 1 cm. Foram preparadas soluções estoque de atrazina ($1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e de caldo de cana 1 (50 μL da amostra em 10 mL de eletrólito suporte).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção são apresentados os resultados obtidos com o eletrodo de mercúrio, onde são propostas metodologias para as determinações eletroanalíticas de atrazina, ametrina, simazina e diuron em águas puras (Milli-Q) e em amostras dos principais derivados da cana-de-açúcar, tais como o caldo de cana, a rapadura e o açúcar mascavo. Também são apresentados os efeitos de interferentes como a clorofila, sacarose e flavonóides (apigenina, luteolina, orientina e quercetina) na detecção e quantificação dos herbicidas nas amostras de caldo de cana 1 e 2. O desempenho das metodologias eletroanalíticas desenvolvidas para a detecção e quantificação de resíduos de herbicidas na amostra de caldo de cana 1 foi comparado com os obtidos pela cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC/UV) e pela espectroscopia UV-Vis.

4.1 *Determinação eletroanalítica da atrazina e ametrina*

4.1.1 **Curva analítica individual para a atrazina**

A atrazina, nas condições voltamétricas estudadas neste trabalho, apresentou um único pico de redução em um valor de potencial de pico de -0,98 V vs Ag/AgCl. O eletrólito suporte (Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹) utilizado em pH 2,0, os valores de frequência de onda quadrada (f : 100 s⁻¹), de amplitude de onda quadrada (a : 50 mV) e de incremento de varredura (ΔE_s : 2 mV) foram otimizados por Dragunski⁷⁰. Nestas condições, foi realizado uma variação do incremento de varredura (2-10 mV) para a atrazina e comparado com a mesma variação realizada para a ametrina, para se conseguir a máxima diferença entre os valores de potenciais de redução. Concluiu-se que no valor de 10 mV, houve uma maior diferença entre esses valores

de potenciais (60 mV), o que sugere a possibilidade de separação dos picos da atrazina e ametrina em uma mistura pelo procedimento matemático de deconvolução.

Estabelecidas as melhores condições para a determinação do pico de redução da atrazina (Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH = 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$) e posterior separação deste pico em relação ao pico da ametrina com o auxílio do procedimento de deconvolução, foi construída a curva analítica para atrazina individualmente e mostrada na Figura 13.

Observou-se que a intensidade de corrente de pico aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração e que não ocorrem deslocamentos nos potenciais de picos. O intervalo de concentração estudado foi de $1,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, observando também uma boa linearidade.

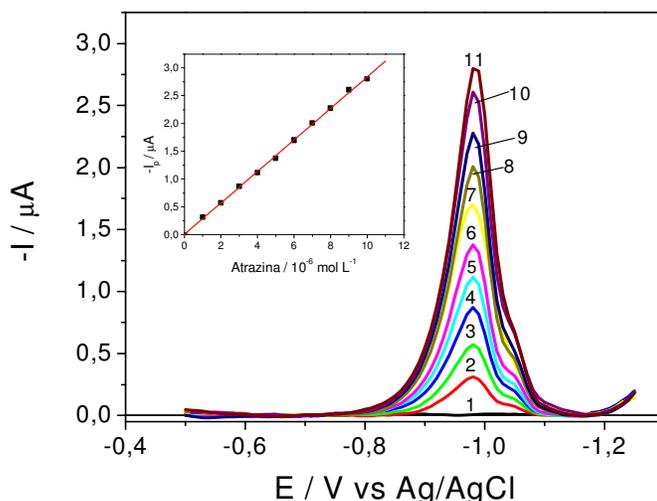


Figura 13: Voltamogramas de onda quadrada para a atrazina em diferentes concentrações: 0,0 (1); 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); 10,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ (11). Inserção: Dependência da intensidade da corrente de pico com a concentração para a atrazina. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH = 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Um limite de detecção pode ser definido como a menor concentração do analito numa amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada e um limite de quantificação pode ser definido como a menor concentração de um analito numa amostra que pode ser determinada (quantificada) com precisão e exatidão. Ambos são expressos em unidades de concentração⁵⁸. Para as determinações dos limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ) utilizaram-se os desvios padrões das médias aritméticas de 8 voltamogramas dos brancos obtidos da corrente medida no mesmo potencial do pico voltamétrico de redução da atrazina, e as equações⁸⁰:

$$\text{LD} = 3 S_B / b \quad \text{Equação 7}$$

$$\text{LQ} = 10 S_B / b \quad \text{Equação 8}$$

onde S_B é o desvio padrão da média aritmética e b o valor do coeficiente angular da reta de calibração.

Na Tabela 4, encontram-se os valores de LD e LQ e os resultados da regressão linear da curva analítica da atrazina obtida por SWV.

Tabela 4: Resultados de regressão linear da curva analítica e valores dos limites de detecção e de quantificação para a atrazina em água pura, utilizando a SWV.

Parâmetros	Valores obtidos
r	0,9995
S_B (A)	$1,63 \times 10^{-9}$
b (A / mol L⁻¹)	$2,83 \times 10^{-1}$
LD / (µg L⁻¹)	3,7
LQ / (µg L⁻¹)	12,4

A repetibilidade das medidas foi determinada por medidas sucessivas de três soluções diferentes de atrazina na faixa da curva analítica, obtendo-se desvio-padrão relativos (coeficiente de variação) menores que 2 % (n = 3).

4.1.2 Curva analítica individual para a ametrina

Para uma melhor resposta voltamétrica da ametrina, Cabral e col.¹⁰ otimizaram as condições, tais como o eletrólito suporte (Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹) em pH 2,0, os valores de frequência de onda quadrada (f : 100 s⁻¹), de amplitude de onda quadrada (a : 50 mV) e de incremento de varredura (ΔE_s : 2 mV) . Nestas condições, com exceção do ΔE_s , utilizado um valor de 10 mV, pela maior diferença de potencial de pico em relação ao potencial de pico da atrazina, a ametrina apresentou um único pico de redução em -1,04 V vs Ag/AgCl. Após a obtenção das melhores condições para a determinação do pico de redução da ametrina (Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH = 2,0, f = 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV) e posterior separação deste pico em relação ao pico da atrazina com o auxílio do procedimento de deconvolução, foi construída a curva analítica para ametrina individualmente e está mostrada na Figura 14.

Observou-se que a intensidade da corrente de pico aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração e que não ocorrem deslocamentos nos potenciais de picos. O intervalo de concentração estudado foi de $1,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, observando também uma boa linearidade. Limites de detecção e de quantificação foram calculados da mesma forma citada anteriormente.

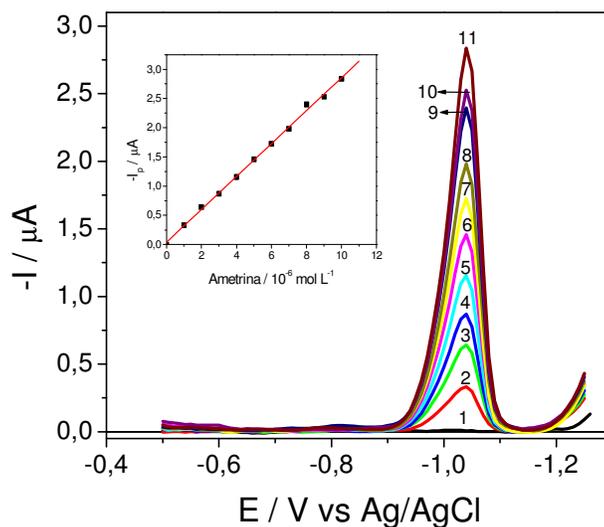


Figura 14: Voltamogramas de onda quadrada para a ametrina em diferentes concentrações: 0,0 (1); 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10) e $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11). Inserção: Dependência da intensidade da corrente de pico com a concentração para a ametrina. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Na Tabela 5, encontram-se os valores de LD e LQ e os resultados da regressão linear da curva analítica da ametrina obtidas por SWV.

Tabela 5: Resultados de regressão linear da curva analítica e valores dos limites de detecção e de quantificação para a ametrina em água pura, utilizando a SWV.

Parâmetros	Valores obtidos
r	0,9989
S_B (A)	$1,77 \times 10^{-9}$
b (A / mol L⁻¹)	$2,81 \times 10^{-1}$
LD / (μg L⁻¹)	4,3
LQ / (μg L⁻¹)	14,3

A repetibilidade das medidas foi determinada por medidas sucessivas de três soluções diferentes de ametrina na faixa da curva analítica, obtendo-se desvio-padrão relativos (coeficiente de variação) menores que 1,8 % (n = 3).

4.1.3 Deconvolução dos sinais voltamétricos

Estabelecidas as melhores condições para a separação dos picos de redução da atrazina e ametrina, foi desenvolvida uma metodologia de separação destes picos pelo procedimento matemático de deconvolução (Microcal Origin 6.0), possibilitando a separação dos picos voltamétricos, e conseqüentemente a quantificação de um herbicida na presença de outro. Na Figura 15 estão apresentados os voltamogramas da onda quadrada obtidos nas condições experimentais (Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$). Observou-se que a atrazina e ametrina possuem picos de redução nos potenciais de $-0,98 \text{ V}$ e $-1,04 \text{ V}$, respectivamente.

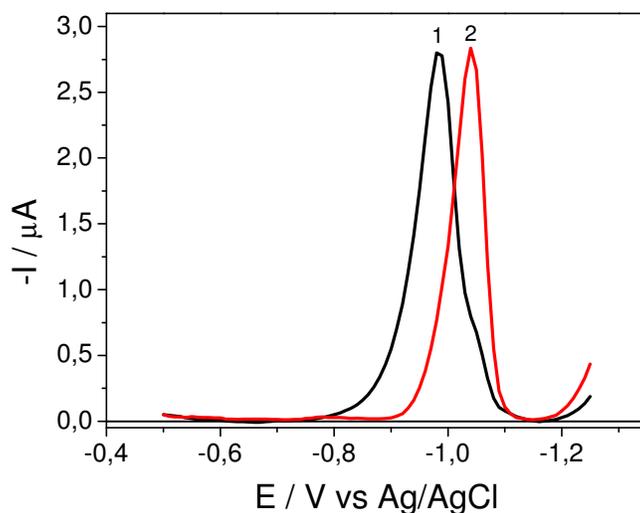


Figura 15: Voltamogramas de onda quadrada para a atrazina (1) e ametrina (2), $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (cada composto). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

O voltamograma de onda quadrada obtido para a mistura de atrazina e ametrina na proporção de 1:1, está apresentado na Figura 16.

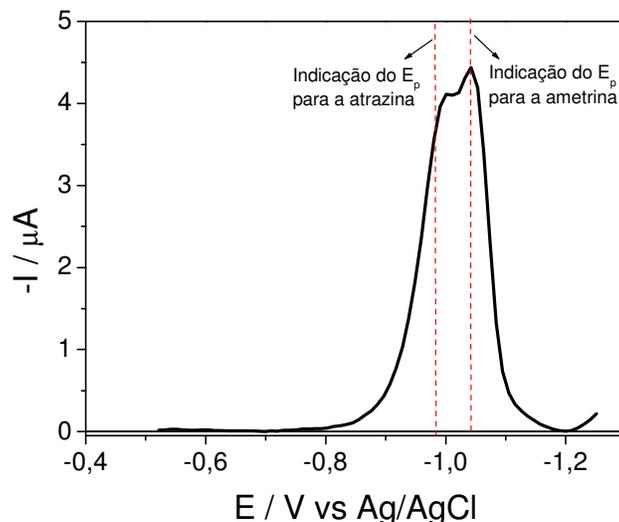


Figura 16: Voltamograma de onda quadrada para a mistura de atrazina e ametrina, $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (cada composto). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. Linhas pontilhadas: Valores de potenciais dos compostos individualmente (puros): Atrazina (E_p : $-0,98 \text{ V}$) e Ametrina (E_p : $-1,04 \text{ V}$).

Na mistura destes compostos ocorreu a sobreposição dos picos e, é necessário a deconvolução do sinal voltamétrico. Deste modo, obteve-se os sinais deconvoluídos, como apresentado na Figura 17. Pode-se observar que a curva experimental (curva 1) se sobrepõe à curva ajustada (curva 2), isto é um indicativo que a deconvolução dos sinais foi realizada com sucesso. Ainda na Figura 17, notou-se os picos deconvoluídos referentes a atrazina (curva 3) e a ametrina (curva 4), possibilitando a determinação quantitativa de cada herbicida na presença do outro em uma mesma solução.

Devido a uma satisfatória separação dos picos a $\text{pH} 2,0$, optou-se em trabalhar nesta condição para as determinações das curvas analíticas da mistura atrazina – ametrina.

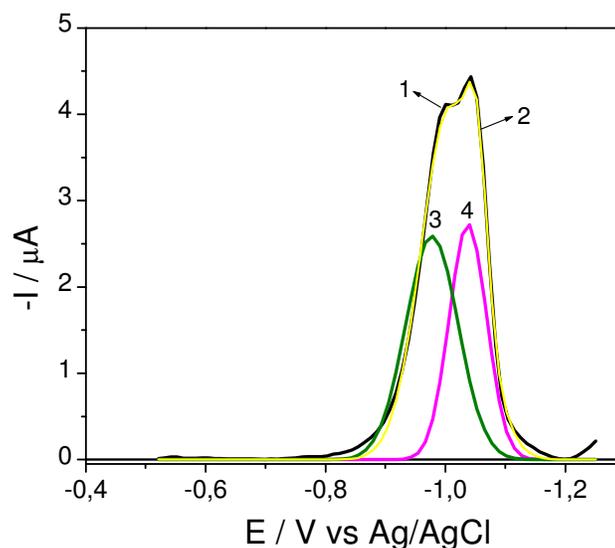


Figura 17: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para a mistura da atrazina e ametryn, $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (cada composto). Experimental (1) e Ajustado (2). Após a deconvolução tem-se a separação dos picos, atrazina (3) e ametryn (4). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

4.1.4 Curvas analíticas para a mistura atrazina-ametryn

No caso das curvas analíticas para a mistura atrazina – ametryn (com a variação e fixação da concentração de cada herbicida), em cada voltamograma foi aplicado o procedimento matemático de deconvolução, onde os picos da atrazina e ametryn individuais apresentaram os potenciais de pico de $-0,98 \text{ V}$ (atrazina) e $-1,04 \text{ V}$ (ametryn). Para as construções das curvas analíticas, anotou-se a intensidade da corrente de pico do herbicida em que se variou a concentração. Foram construídas curvas analíticas para a mistura atrazina – ametryn em água pura por adições de diferentes quantidades conhecidas ao eletrólito de suporte. Os voltamogramas de onda quadrada obtidos para a mistura atrazina – ametryn em diferentes concentrações de atrazina e fixação da concentração da ametryn ($3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) estão apresentados na Figura 18. Os voltamogramas de onda quadrada obtidos

para a mistura em diferentes concentrações de ametrina e fixação da concentração da atrazina ($3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) estão apresentados na Figura 19.

Nas Figuras 18 e 19, observou-se que as intensidades das correntes dos picos aumentam proporcionalmente com o aumento da concentração da atrazina e ametrina, ocorrendo um ligeiro deslocamento nos potenciais de pico para valores mais positivos e mais negativos, respectivamente. Notaram-se também influências de ambos processos de redução do herbicida com a concentração fixa nas respostas voltamétricas do processo de redução do herbicida em que se variou a concentração, gerando deformações nos voltamogramas, pela proximidade dos valores dos potenciais.

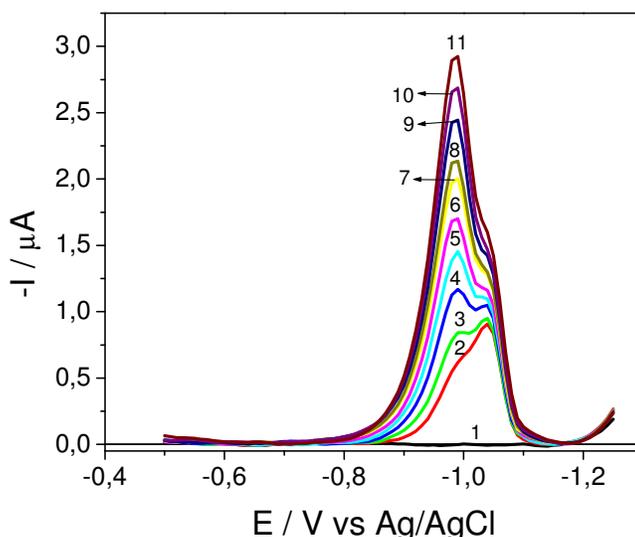


Figura 18: Voltamogramas de onda quadrada para a mistura atrazina – ametrina com variação da concentração de atrazina: 0,0 (ambos os compostos) (1); 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 $\times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (7) e fixação da concentração de ametrina em $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (2-7). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , $\text{pH} = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

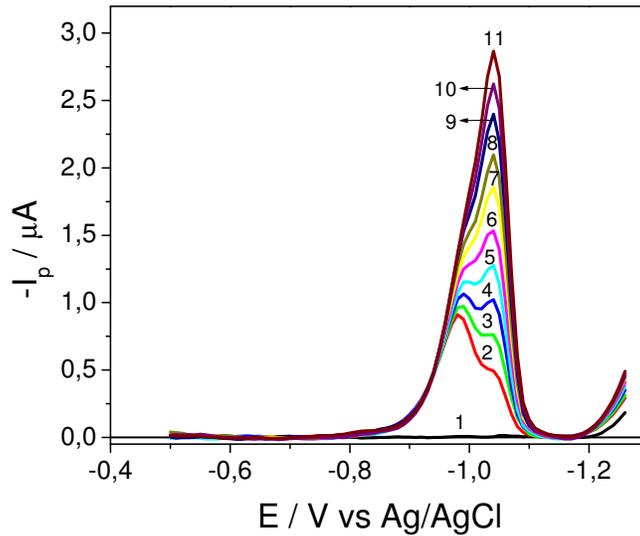


Figura 19: Voltamogramas de onda quadrada para a mistura atrazina – ametryn com variação da concentração de ametryn: 0,0 (ambos os compostos) (1); 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10) $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11) e fixação da concentração de atrazina em $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (2-11). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

A Figura 20 corresponde às curvas analíticas para a atrazina pura, atrazina na presença de $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de ametryn, ametryn pura e para a ametryn na presença de $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de atrazina em água pura (eletrólito suporte). Todas as curvas obtidas apresentaram linearidade em um intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

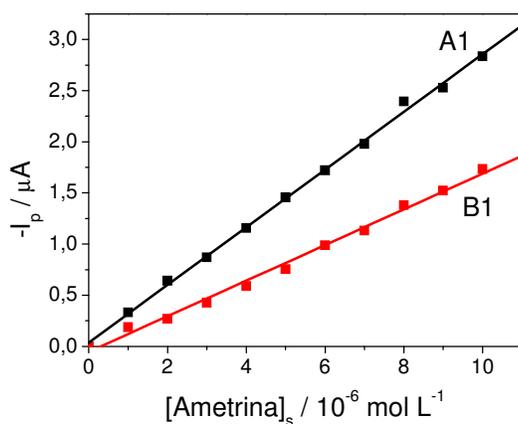
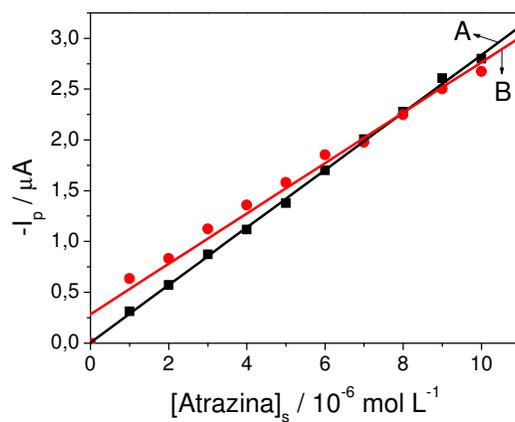


Figura 20: Curvas analíticas para atrazina pura (A), atrazina na presença de $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de ametryna após deconvolução (B), ametryna pura (A1) e para ametryna na presença de $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de atrazina após deconvolução (B1) em água pura. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,0$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Para as determinações dos limites de detecção e de quantificação foram utilizados os mesmos procedimentos e equações 7 e 8 citadas anteriormente. Na Tabela 6, encontram-se os valores de LD e LQ e os resultados das regressões lineares das curvas analíticas dos compostos individuais e na forma de misturas obtidas por SWV.

Tabela 6: Resultados da regressão linear das curvas analíticas e valores dos limites de detecção e de quantificação para os compostos individuais e na forma de misturas, utilizando a SWV.

Parâmetros	Atrazina	Ametrina	Atrazina¹	Ametrina²
r	0,9995	0,9989	0,9987	0,9968
S_B (A)	1,63 x 10 ⁻⁹	1,77 x 10 ⁻⁹	1,71 x 10 ⁻⁹	1,67 x 10 ⁻⁹
b (A / mol L⁻¹)	2,83 x 10 ⁻¹	2,81 x 10 ⁻¹	2,29 x 10 ⁻¹	1,74 x 10 ⁻¹
LD (µg L⁻¹)	3,7	4,3	4,8	6,5
LQ (µg L⁻¹)	12,4	14,3	16,1	21,8

¹ na presença de 3,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ de ametrina,

² na presença de 3,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ de atrazina

Na aplicação do procedimento matemático de deconvolução para a construção da curva analítica da variação da concentração para a atrazina na presença de 3,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ de ametrina, houve uma grande contribuição em intensidade de corrente da atrazina em relação a ametrina, gerando um aumento no valor da inclinação da curva analítica, evitando que a curva se inicie no valor de intensidade de corrente zero (origem).

Os compostos puros apresentaram valores de limites de detecção inferiores aos valores dos compostos nas misturas. Todos os valores de LD encontrados estão dentro dos limites máximos de resíduos (LMR_s) de triazinas permitidos em cana-de-açúcar pela ANVISA, que é de 250 µg Kg⁻¹ (ppb) para a atrazina e 50 µg Kg⁻¹ (ppb) para a ametrina. Estes valores de LD também estão dentro do LMR_s de pesticidas em geral em efluentes industriais permitidos pelo CONAMA (50 µg L⁻¹). Entretanto, o LD para a atrazina não se encontra dentro do LMR em águas potáveis permitidos pelo EPA (3 µg L⁻¹) e pela ANVISA (2 µg L⁻¹), sendo esta metodologia inviável para a detecção de resíduos deste composto em águas destinadas ao consumo humano.

Em relação aos trabalhos encontrados na literatura, os LD₅₀ encontrados para a atrazina e ametrina individualmente se mostraram melhores que alguns trabalhos, como por exemplo, o trabalho de Vaz e col.⁶⁸ que para a atrazina encontrou um LD de 5 µg L⁻¹. As metodologias eletroanalíticas de determinação simultânea (não existentes na literatura) de atrazina e ametrina apresentaram valores de LD₅₀ bastante satisfatórios.

4.1.5 Estudos de recuperação da atrazina e ametrina individuais e da mistura

Os experimentos de recuperação para a atrazina e ametrina individuais e na forma de misturas em água pura (eletrólito suporte) foram realizados em triplicata por adições de quantidades conhecidas dos herbicidas ao eletrólito suporte. Os valores de concentrações encontradas dos compostos foram obtidos pela extrapolação das curvas analíticas como apresentado na Tabela 7.

Os resultados obtidos indicam que é possível conseguir uma boa porcentagem de recuperação dos herbicidas em água pura, mesmo na forma de misturas, de acordo com o trabalho de Brito e col.⁸¹ que mostra que nesta faixa de concentração estudada (10⁻⁶ mol L⁻¹), o intervalo de recuperação aceito deve estar entre 60 - 115 %, sendo as metodologias propostas adequadas para aplicações em amostras de interesse. A porcentagem de recuperação da atrazina na presença de ametrina apresentou um valor acima de 100 %, pois houve uma contribuição em intensidade de corrente por parte do herbicida atrazina, aumentando a inclinação da curva de recuperação e conseqüentemente a detecção de uma maior quantidade de herbicida recuperada se comparado ao valor adicionado na cela eletroquímica.

Tabela 7: Resultados das curvas de recuperação para atrazina e ametrina individuais e para a mistura, obtidos em água pura (eletrólito suporte), utilizando o HMDE.

Herbicidas	Concentração adicionada / 10⁻⁶ mol L⁻¹	Concentração recuperada / 10⁻⁶ mol L⁻¹	% Recuperação
Atrazina	3,50	3,41	97,4 ±1,2
Atrazina¹	1,02	1,17	114,7±2,1
Ametrina	3,50	3,38	96,6 ±1,5
Ametrina²	1,02	0,89	87,2 ±2,0

¹ na presença de 3,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ de ametrina,

² na presença de 3,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ de atrazina.

4.2 Determinação eletroanalítica da atrazina e ametrina em amostras de derivados de cana-de-açúcar

4.2.1 Amostra de caldo de cana 1 (São Carlos-SP)

As metodologias de detecção da atrazina e ametrina foram aplicadas no caldo de cana 1 sendo inicialmente adicionado 500 µL do caldo de cana à cela eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte. O voltamograma de onda quadrada que representa o pico de redução do caldo de cana está mostrado na Figura 21.

Observou-se um pico bem definido de caráter gaussiano em -1,06 V, tendo a suspeita do pico corresponder os processos de redução da atrazina e ametrina. Com isso, foram adicionadas diferentes quantidades conhecidas de atrazina e ametrina pelo método da adição de padrão.

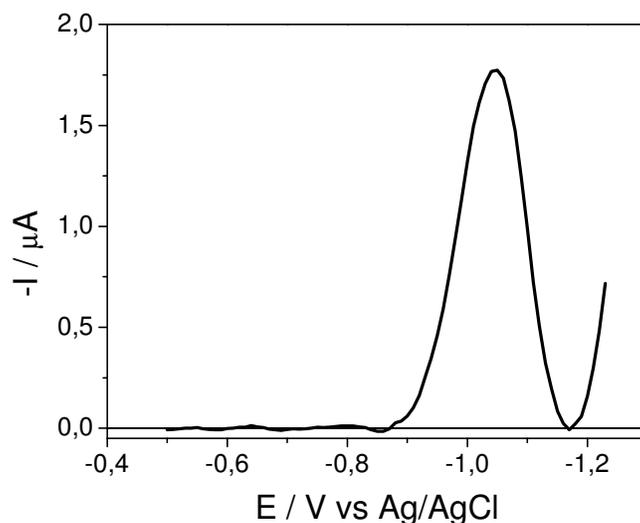


Figura 21: Voltamograma de onda quadrada obtido para a adição de 500 μL da amostra de caldo de cana 1 à 10 ml de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

A Figura 22 representa as adições dos respectivos herbicidas ao caldo de cana. Na Figura 22A, mostrou-se a ausência de atrazina neste caldo de cana, pela não modificação da intensidade da corrente de pico, com adição de diferentes quantidades da atrazina. Já para a ametrina, houve um aumento na intensidade da corrente de pico, mas não significativo, acarretando uma imperfeita construção da curva de recuperação.

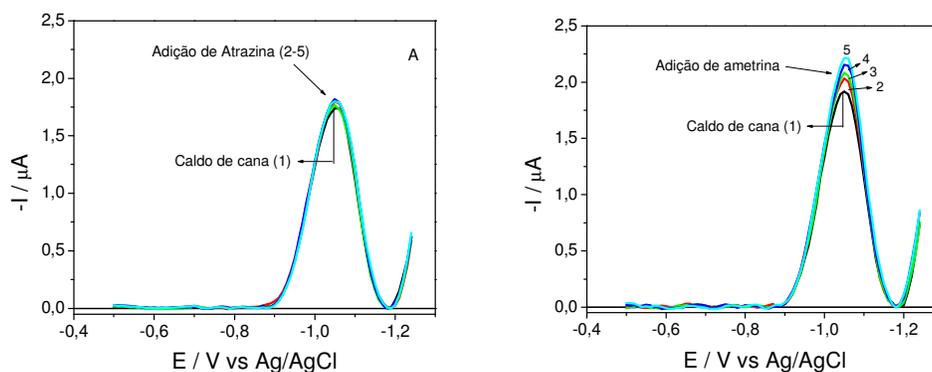


Figura 22: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para adições de quantidades conhecidas de (A) Atrazina e (B) Ametrina ao caldo de cana 1 (500 μL) contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana (1). Concentrações analisadas: 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); $6,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (5). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Com isso, a proposta nesta etapa de trabalho, foi adicionar uma menor quantidade de amostra, para melhorar as curvas de recuperação e também para minimizar os efeitos de interferentes. Adicionou-se 50 μL da amostra à cela eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte. Os voltamogramas de onda quadrada referentes à adição de 50 a 500 μL do caldo de cana à cela eletroquímica contendo o eletrólito suporte estão mostrados na Figura 23.

Com adições de menores quantidades da amostra, houve um desdobramento em dois picos voltamétricos, principalmente no caso de 50 μL (Pico menos catódico: -0,85 V e Pico mais catódico: -1,16 V) e também uma grande mudança nos valores de potenciais de ambos os picos em relação ao pico em -1,06 V, como mostra a inserção na Figura 23. O aumento na intensidade da corrente do pico menos catódico em função do aumento da quantidade de caldo de cana não se mostrou linear e estudos específicos para o entendimento desse efeito devem ser realizados em pesquisas adicionais.

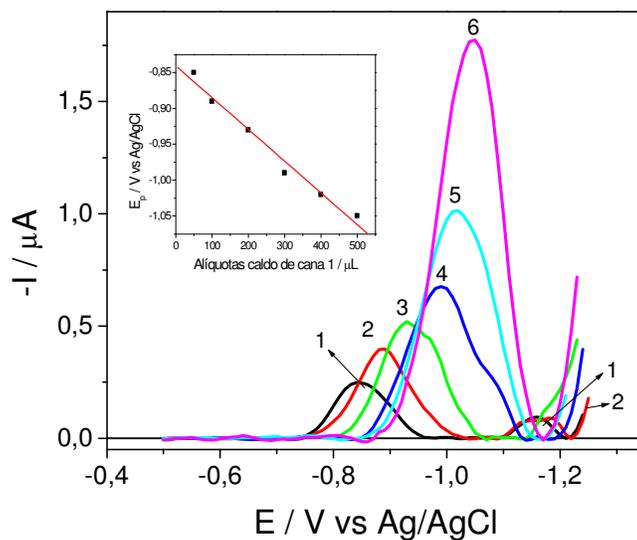


Figura 23: Voltamogramas de onda quadrada para adição de 50 (1); 100 (2); 200 (3); 300 (4); 400 (5); 500 μL (6) de caldo de cana 1 a 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. Inserção: Dependência do potencial do pico menos catódico com alíquotas de caldo de cana adicionadas ao eletrólito suporte.

Foram adicionadas diferentes quantidades de atrazina e ametrina pelo método da adição de padrão em $50 \mu\text{L}$ do caldo de cana contido em 10 mL de eletrólito suporte. Os perfis dos voltamogramas da adição dos herbicidas estão mostrados na Figura 24. Foi mostrado que os picos de redução encontrados em $50 \mu\text{L}$ do caldo de cana não representam os herbicidas em questão. As sucessivas adições dos herbicidas ocasionam uma diminuição nas intensidades das correntes dos picos de redução do caldo de cana, principalmente no pico 1 (menos catódico) em $-0,85 \text{ V}$.

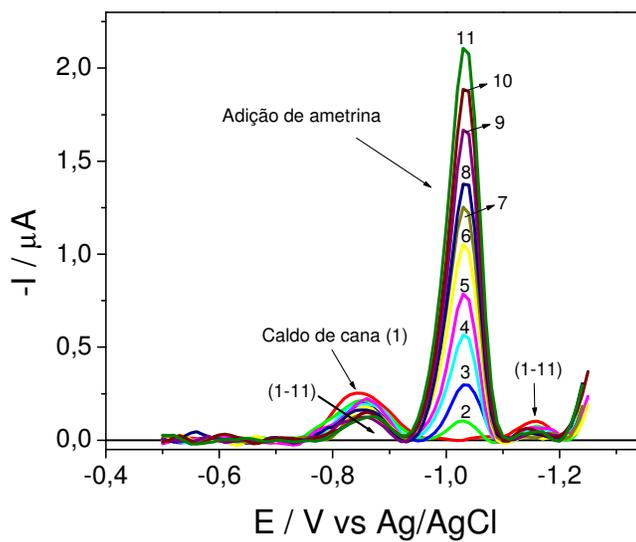
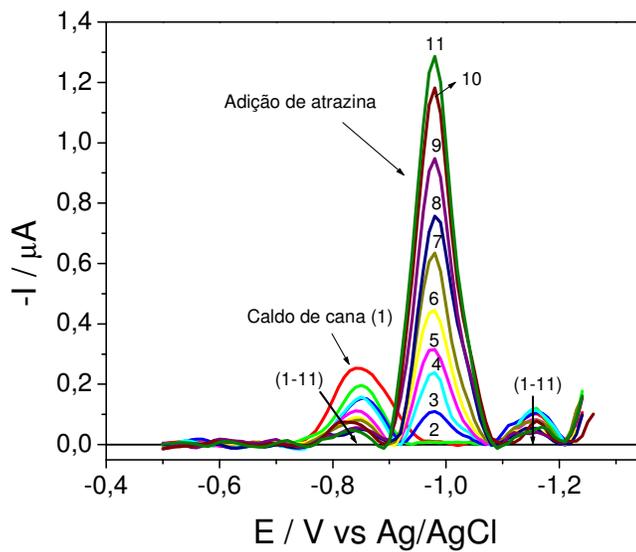


Figura 24: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de Atrazina e Ametrina a 50 μL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana (1). Concentrações analisadas dos herbicidas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); 10,0 $\times 10^{-6}$ mol L^{-1} (11). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Outra observação interessante foi que o pico de redução do caldo de cana (-0,85 V) interfere de modo mais significativo no pico de redução da atrazina em relação ao pico de redução da ametrina, certamente pela maior proximidade dos picos voltamétricos do caldo de cana e da atrazina. Suspeitou-se então de significativos efeitos da matriz e de uma interação entre os herbicidas e substâncias presentes no caldo de cana, possivelmente identificados como flavonóides (**Esse estudo de identificação de flavonóides será descrito posteriormente neste trabalho, Seção 4.8**), sugerindo uma possível reação química redox ou associação entre as espécies. **Esses estudos das considerações citadas acima serão explorados nas Seções 4.10 e 4.11.** As comparações entre as curvas analíticas dos compostos em água pura (eletrólito suporte) e dos compostos em 50 µL do caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte estão mostradas na Figura 25.

Observou-se uma diminuição na sensibilidade (diminuições nas inclinações das curvas analíticas dos compostos na presença da amostra em relação aos compostos puros) do método em ambos os casos, sendo uma maior perda de sensibilidade para o caso da atrazina devido a uma maior interferência do pico 1 (menos catódico) de redução do caldo de cana no pico de redução da atrazina.

Essa perda de sensibilidade dos métodos de detecção dos herbicidas na presença de 50 µL do caldo de cana contido no eletrólito suporte gera um aumento nos valores de LD dos compostos, se comparados aos valores obtidos em água pura (eletrólito suporte), como mostra a Tabela 8.

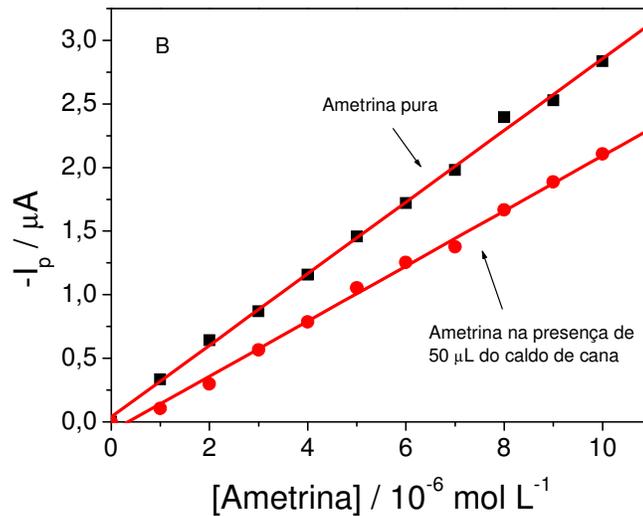
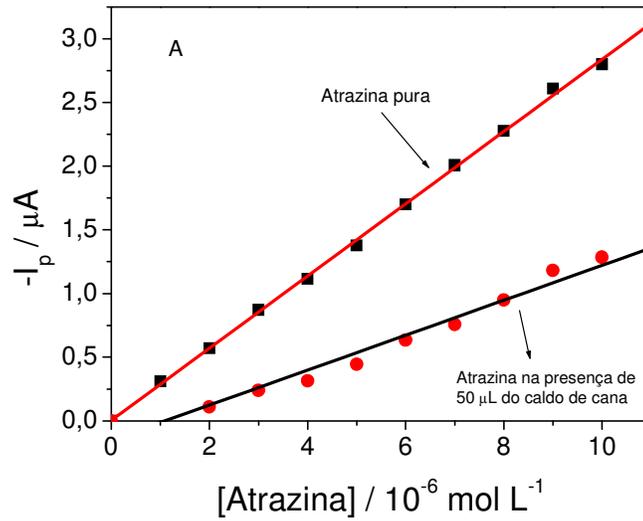


Figura 25: Comparação entre curvas analíticas da (A) Atrazina e (B) Ametrina em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 μL do caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 50 mV, ΔE_s = 10 mV.

As curvas analíticas da atrazina e ametrina na presença do caldo de cana 1 não passam pela origem dos eixos devido às respostas dos herbicidas em concentrações abaixo de $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ serem bastante minimizadas pela presença de potenciais interferentes (possivelmente flavonóides), principalmente

para a atrazina. Além disso, a primeira adição de atrazina, não mostra um valor de intensidade de corrente.

Tabela 8: Resultados da regressão linear das curvas analíticas e valores de limites de detecção da atrazina e ametrina obtidos em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 µL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte.

Herbicidas	r	S_B (A)	b (A / mol L⁻¹)	LD (µg L⁻¹)
Atrazina	0,9995	1,63 x 10 ⁻⁹	2,83 x 10 ⁻¹	3,7
Atrazina*	0,9842	1,58 x 10 ⁻⁹	1,37 x 10 ⁻¹	7,5
Ametrina	0,9989	1,77 x 10 ⁻⁹	2,81 x 10 ⁻¹	4,3
Ametrina*	0,9982	1,71 x 10 ⁻⁹	2,17 x 10 ⁻¹	5,4

* na presença de 50 µL de caldo de cana 1 em 10 mL de eletrólito suporte.

Essa interessante interação foi comprovada por experimentos de adição de diferentes quantidades do caldo de cana à cela eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte e uma concentração fixa dos herbicidas, tanto por SWV quanto por VC. A Figura 26 mostra os voltamogramas de onda quadrada e cíclicos para a adição do caldo de cana a uma concentração fixa de atrazina.

Observou-se uma grande interferência do caldo de cana na resposta voltamétrica da atrazina tanto por SWV quanto por VC. No caso da SWV, a adição de até 100 µL do caldo de cana a atrazina, mostrou a presença dos picos referentes ao caldo e a atrazina separados, mas com uma perda em intensidade de corrente do pico de redução da atrazina. Em adições maiores que 100 µL, houve uma sobreposição dos picos do caldo e da atrazina, dificultando a detecção individual do herbicida, não sendo aconselhável trabalhar com essa quantidade de caldo de cana.

Com adição de 200 a 500 µL do caldo, houve um deslocamento de potenciais do pico de redução (agora um único pico) e surpreendentemente um aumento na

intensidade de corrente. Isto deve ter ocorrido, pois com a adição de maiores quantidades de caldo de cana, o pico em $-0,85\text{ V}$ do caldo desloca-se para potenciais mais negativos, encontrando o pico de redução da atrazina, e assim formando um pico para a mistura.

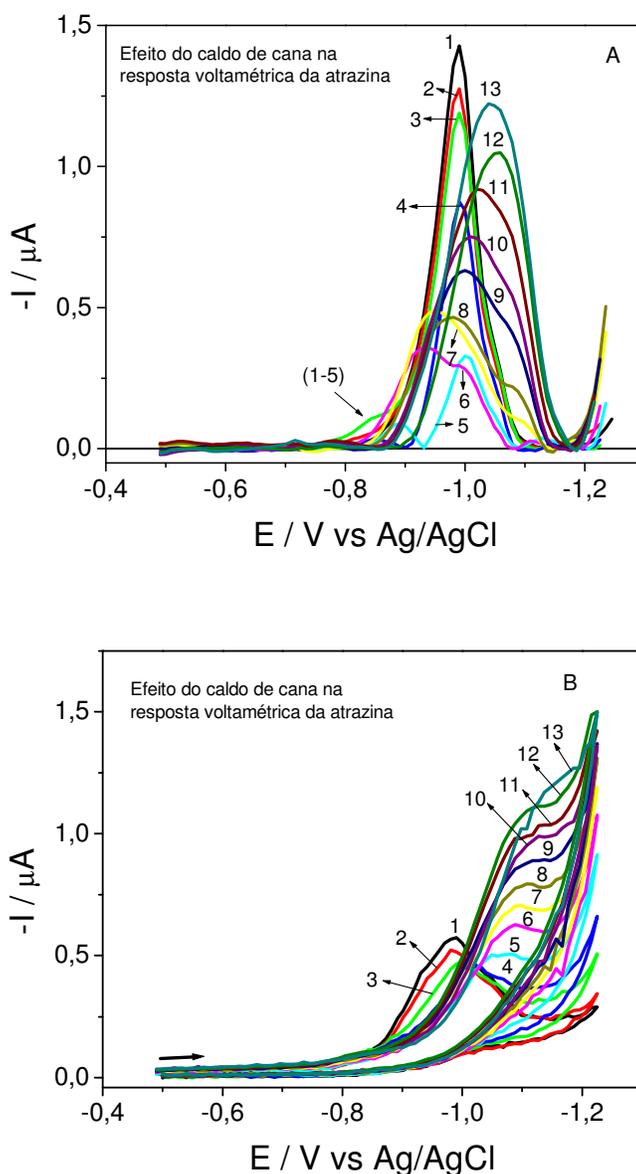


Figura 26: (A) Voltamogramas de onda quadrada para adições de diferentes quantidades do caldo de cana 1 a $5,0 \times 10^{-6}\text{ mol L}^{-1}$ de atrazina (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1\text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100\text{ s}^{-1}$, $a = 50\text{ mV}$, $\Delta E_s = 10\text{ mV}$. (B) Voltamogramas cíclicos para adições de diferentes quantidades do caldo de cana 1 a $2,0 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ de atrazina (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1\text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0 e $v = 100\text{ mV s}^{-1}$. Quantidades de caldo de cana 1 adicionados: 10 (2); 30 (3); 50 (4); 100 (5); 150 (6); 200 (7); 250 (8); 300 (9); 350 (10); 400 (11); 450 (12) e 500 μL (13).

Para VC, a interação ficou ainda mais nítida, cuja adição de 100 μL do caldo de cana a atrazina, deforma o pico voltamétrico da atrazina e o desloca para potenciais mais negativos, comprovando ainda mais a interação caldo de cana x atrazina.

Para o caso da ametrina, os voltamogramas de onda quadrada e cíclicos estão mostrados na Figura 27. Mostra-se também uma grande interferência do caldo de cana na resposta voltamétrica da ametrina tanto por SWV quanto por VC. No caso da SWV, a adição de até 150 μL do caldo a ametrina, mostrou a presença dos picos referentes ao caldo e a ametrina separados, mas com uma perda em intensidade de corrente do pico de redução da ametrina.

Em adições maiores que 150 μL , houve uma sobreposição dos picos do caldo e da ametrina, dificultando a detecção individual da ametrina, não sendo aconselhável trabalhar com essa quantidade de caldo de cana. Com adição de 200 a 300 μL do caldo, notou-se um pico da mistura caldo + ametrina, com dois “ombros” que podem mostrar ainda os picos de redução do caldo e da ametrina, embora superpostos, o que não acontece no caso da atrazina. Com essas adições, há um aumento na intensidade de corrente deste pico da mistura, pois o pico de redução do caldo desloca-se para potenciais mais negativos, encontrando o pico de redução da ametrina, aumentando a intensidade de corrente do pico da mistura. Já a partir de 350 μL , o pico da mistura se consolida e aumenta a intensidade de corrente, não havendo deslocamento do potencial para valores mais negativos como no caso da atrazina.

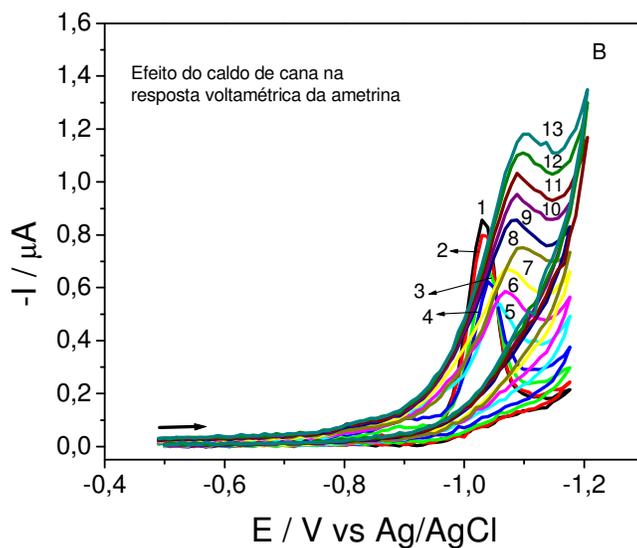
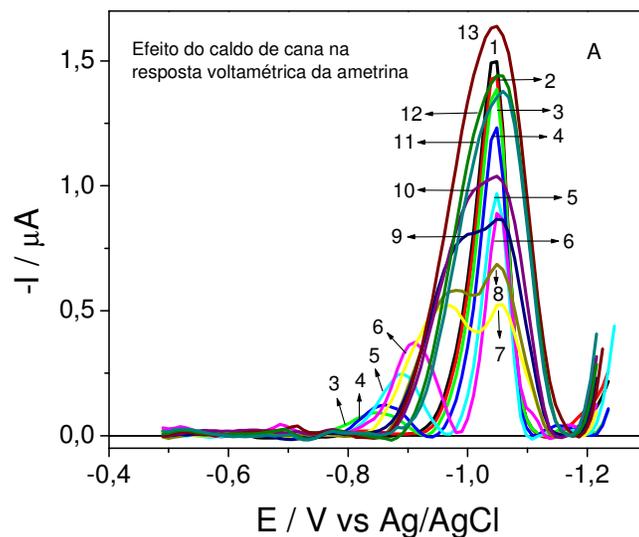


Figura 27: (A) Voltamogramas de onda quadrada para adições de diferentes quantidades do caldo de cana 1 a $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de ametrina (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. (B) Voltamogramas cíclicos para adições de diferentes quantidades do caldo de cana 1 a $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ametrina (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0 e $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Quantidades de caldo de cana 1 adicionados: 10 (2); 30 (3); 50 (4); 100 (5); 150 (6); 200 (7); 250 (8); 300 (9); 350 (10); 400 (11); 450 (12) e 500 μL (13).

Também por VC, notou-se a interferência do caldo de cana no processo de redução da ametrina, tendo em quantidades adicionadas iguais ou maiores que 150 μL de caldo de cana a ametrina, um deslocamento de potencial do pico para valores mais negativos e a formação de um pico da mistura.

4.2.2 Amostra de caldo de cana 2 (Ibaté –SP)

Uma segunda amostra de caldo de cana, obtida em Ibaté-SP, foi também analisada. Sabendo-se da significativa interferência dos possíveis flavonóides na detecção dos herbicidas, no caso até agora atrazina e ametrina, inicialmente analisou-se 50 μL da amostra em 10 mL de eletrólito suporte, como mostra a Figura 28, sendo o voltamograma obtido (50 μL de amostra 2 em 10 mL de eletrólito suporte) comparado com a amostra de caldo de cana 1.

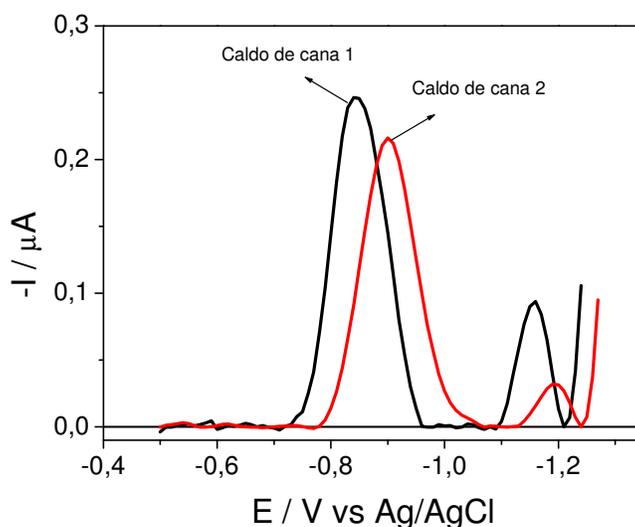


Figura 28: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para adições de 50 μL das amostras de caldo de cana 1 e 2 a 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Os picos de redução do caldo de cana da amostra 2 são semelhantes aos picos de redução referentes a amostra 1, com pequenas diferenças nos potenciais de redução, pois tratam-se de amostras diferentes. Para a detecção de resíduos de atrazina e ametrina na amostra 2 de caldo de cana, adicionou-se várias quantidades conhecidas dos herbicidas a 50 μ L da amostra contido em 10 mL de eletrólito suporte, pelo método da adição de padrão. A Figura 29 apresenta as adições destes herbicidas ao caldo de cana 2 mostrando efeitos da matriz e uma diminuição nas intensidades das correntes de picos da amostra (supostamente identificados como flavonóides) similares ao caldo de cana 1.

Foi observada a ausência de resíduos destes herbicidas também nesta amostra de caldo de cana e diminuições nas inclinações das curvas analíticas dos herbicidas na presença da amostra em comparação as curvas analíticas dos herbicidas puros, sendo essas diminuições semelhantes ao caldo de cana 1. Essas diminuições nas sensibilidades dos métodos de detecção dos compostos na presença da amostra mostraram um aumento nos valores de limites de detecção obtidos em relação aos valores de LD em água pura como mostra a Tabela 9.

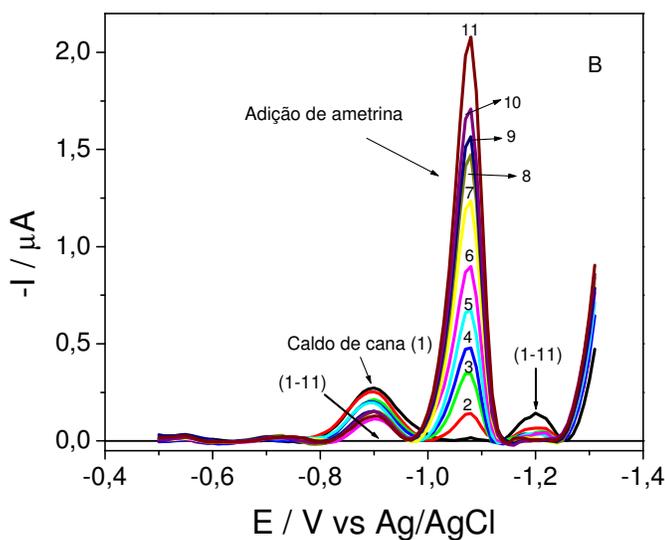
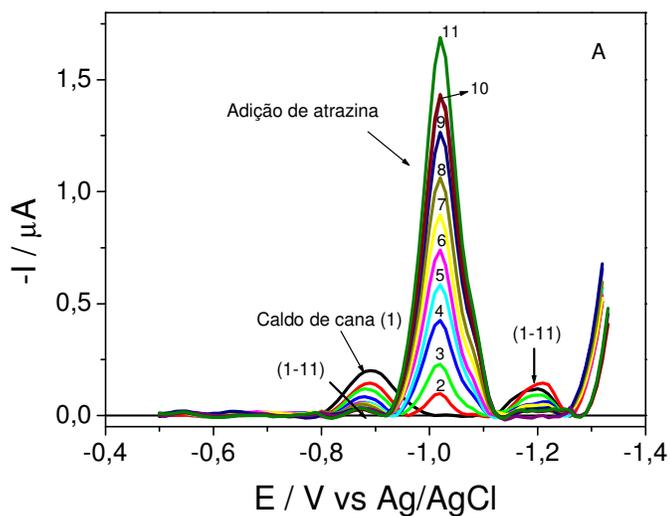


Figura 29: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de (A) Atrazina e (B) Ametrina a 50 μL da amostra de caldo de cana 2 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana 2 (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); 10,0 $\times 10^{-6}$ mol L^{-1} (11). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Tabela 9: Resultados da regressão linear das curvas analíticas e valores de limites de detecção da atrazina e ametrina obtidos em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 µL de caldo de cana 2 contido em 10 mL de eletrólito suporte.

Herbicidas	r	S _B (A)	b (A / mol L ⁻¹)	LD (µg L ⁻¹)
Atrazina	0,9995	1,63 x 10 ⁻⁹	2,83 x 10 ⁻¹	3,7
Atrazina*	0,9872	1,56 x 10 ⁻⁹	1,68 x 10 ⁻¹	6,0
Ametrina	0,9989	1,77 x 10 ⁻⁹	2,81 x 10 ⁻¹	4,3
Ametrina*	0,9950	1,69 x 10 ⁻⁹	2,07 x 10 ⁻¹	5,6

* na presença de 50 µL de caldo de cana 2 em 10 mL de eletrólito suporte.

4.2.3 Amostra de rapadura

As metodologias de determinações eletroanalítica da atrazina e ametrina foram também aplicadas a uma amostra de rapadura. Igualmente a análise do caldo de cana, foi adicionada 500 µL de uma solução aquosa de rapadura (Solução estoque: 0,040 g mL⁻¹) à cela eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte. A Figura 30 mostra o voltamograma obtido para esta quantidade da solução de rapadura adicionado ao eletrólito suporte.

Observou-se na Figura 30, dois picos superpostos formando um único pico de perfil alargado. Após a aplicação da deconvolução, pode-se ver a separação dos picos das substâncias desconhecidas (3 e 4) em valores de potenciais: **Pico 3:** E_p = -0,74 V e **Pico 4:** E_p = -0,84 V, de perfis bem definidos e de caráter gaussiano. Adicionou-se pelo método da adição de padrão, quantidades conhecidas de atrazina e ametrina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 µL de uma solução aquosa de rapadura.

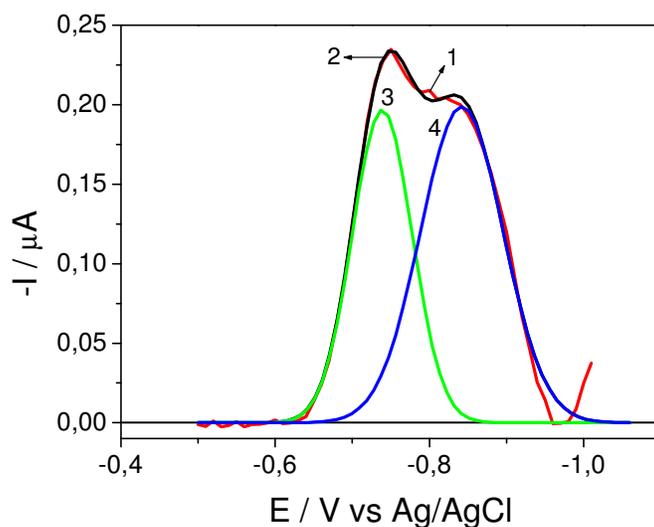


Figura 30: Voltamograma de onda quadrada para adição de 500 μL de uma solução aquosa de rapadura $0,040 \text{ g mL}^{-1}$ a 10 mL de eletrólito suporte. Deconvolução: Experimental (1) e Ajustado (2). Picos das substâncias desconhecidas (3 e 4). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

A Figura 31 mostra os voltamogramas resultantes dessas adições de atrazina e ametrina à rapadura.

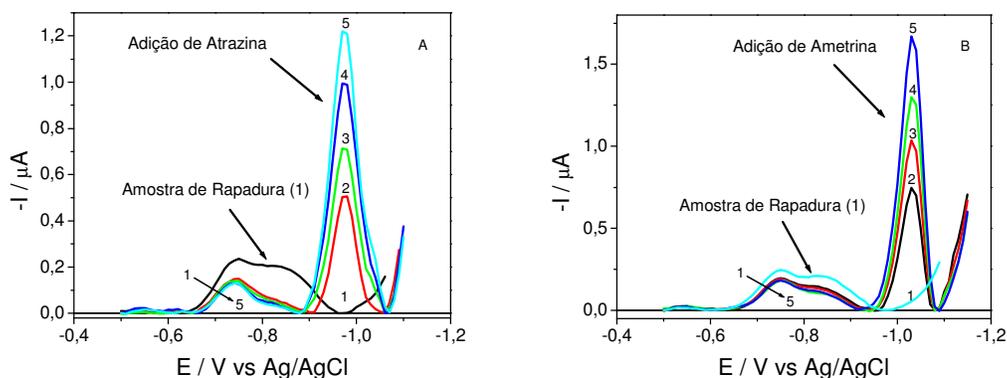


Figura 31: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de (A) Atrazina e (B) Ametrina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μL de uma solução aquosa de rapadura $0,040 \text{ g mL}^{-1}$. Amostra de rapadura (1). Concentrações analisadas: 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); $6,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (5). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

A primeira observação importante referente à Figura 31 revela que os picos de redução (1) referentes à rapadura, não correspondem às substâncias atrazina e ametrina, pois os picos dos herbicidas aparecem em potenciais mais negativos que os picos de redução da amostra. Outro aspecto importante é a diminuição na intensidade da corrente dos picos da rapadura quando diferentes quantidades dos herbicidas são adicionadas, levando a conclusão de que ocorrem possíveis interações entre os componentes da amostra, herbicidas e a superfície eletródica e a possibilidade da existência de reações químicas redox ou associações (formação de uma aduto) entre essas espécies (flavonóides e herbicidas), similares ao caldo de cana. O processo de redução da rapadura interfere no processo de redução da atrazina cujo em $-0,91\text{ V}$ há uma intersecção entre os voltamogramas referentes à rapadura e a atrazina. Já no caso da ametrina, esta intersecção (interferência no sinal voltamétrico) não ocorre de modo significativo. Suspeitou-se de efeitos da matriz e interferências das substâncias eletroativas da rapadura (possivelmente flavonóides) nas respostas dos herbicidas em questão.

4.2.4 Amostra de açúcar mascavo

A metodologia de determinação eletroanalítica da atrazina e ametrina foi também aplicada a uma amostra de açúcar mascavo. Da mesma forma que para o caldo de cana e a rapadura, foi adicionado $500\ \mu\text{L}$ de uma solução aquosa de açúcar mascavo ($0,040\ \text{g mL}^{-1}$) à cela eletroquímica contendo $10\ \text{mL}$ de eletrólito suporte. A Figura 32 mostra o voltamograma de onda quadrada para a amostra de açúcar mascavo.

Após a deconvolução, pode-se ver a separação dos picos das substâncias desconhecidas (3 e 4) em valores de potenciais: **Pico 3:** $E_p = -0,73\ \text{V}$ e **Pico 4:** $E_p =$

-0,86 V, de perfis bem definidos. Foram adicionadas quantidades conhecidas de atrazina e ametrina em 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μL de uma solução aquosa de açúcar mascavo $0,040 \text{ g mL}^{-1}$ (dados não mostrados).

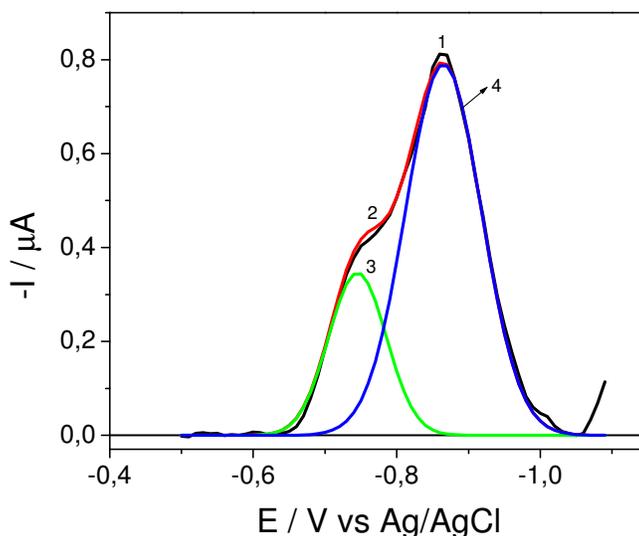


Figura 32: Voltamogramas de onda quadrada para adição de 500 μL de uma solução aquosa de açúcar mascavo $0,040 \text{ g mL}^{-1}$ a 10 mL de eletrólito suporte. Deconvolução: Experimental (1) e Ajustado (2). Picos das substâncias desconhecidas (3 e 4). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Devido à significativa interferência do processo de redução da amostra principalmente no caso da atrazina, decidiu-se analisar volumes menores de amostra, no caso, 50 μL da amostra em 10 mL de eletrólito suporte. Essa menor quantidade de amostra também não comprometeu a deconvolução dos picos, como mostra a Figura 33. Adicionalmente, a análise de uma menor quantidade de amostra causa um ligeiro deslocamento de potenciais destes picos para valores mais positivos, e também uma diminuição nas intensidades de correntes dos picos, como já era esperada.

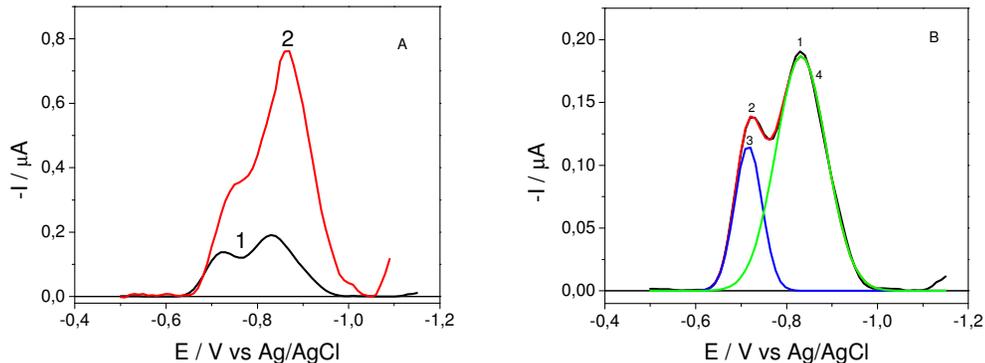


Figura 33: (A) Voltamogramas de onda quadrada para adições de 50 μL (1) e 500 μL (2) de uma solução aquosa de açúcar mascavo $0,040 \text{ g L}^{-1}$ a 10 mL de eletrólito suporte. (B) Voltamograma de onda quadrada para adição de 50 μL de uma solução aquosa de açúcar mascavo $0,040 \text{ g L}^{-1}$ a 10 mL de eletrólito suporte. Deconvolução: Experimental (1) e Ajustado (2). Picos das substâncias desconhecidas (3 e 4). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

A Figura 34 mostra os voltamogramas de onda quadrada de atrazina e ametrina adicionadas a 50 μL da amostra em 10 mL de eletrólito suporte. Foi observado que o pico de redução referente ao açúcar mascavo, não corresponde a atrazina e ametrina, pois os processos de redução destes herbicidas ocorrem a potenciais mais negativos que os processos referentes à amostra. A análise desta amostra também mostrou uma diminuição na intensidade da corrente dos picos de redução quando diferentes quantidades dos herbicidas são adicionadas, evidenciando possíveis interações entre os componentes da amostra, herbicidas e a superfície eletródica e a possibilidade da existência de reações químicas redox ou associações (formação de um aduto) entre essas espécies (flavonóides e herbicidas), similares ao caldo de cana e à rapadura.

Foram construídas curvas analíticas dos herbicidas na presença da amostra de açúcar mascavo e comparado com as curvas analíticas dos herbicidas puros, observando-se uma diminuição na sensibilidade do método de detecção dos herbicidas como mostra a Figura 35.

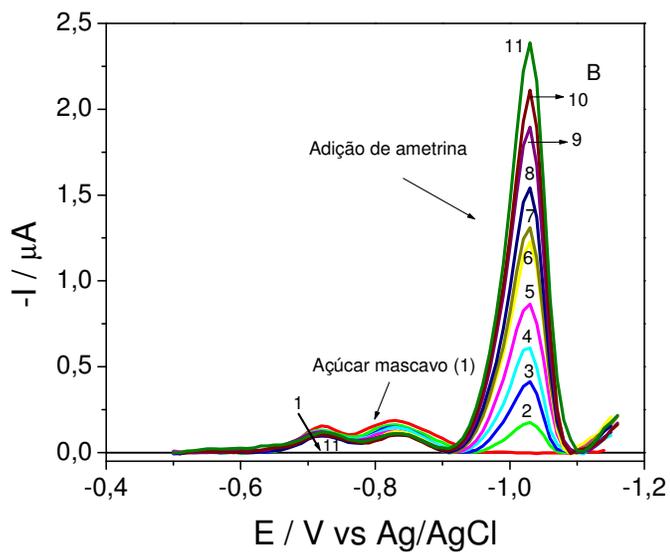
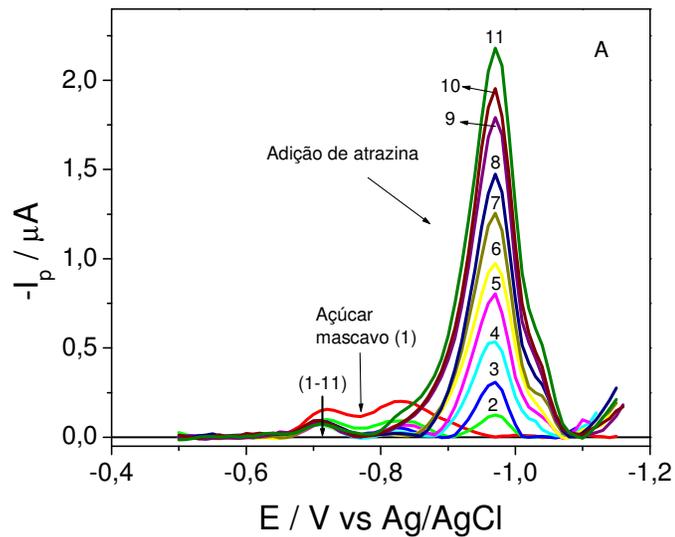


Figura 34: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de (A) Atrazina e (B) Ametrina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 50 μL de uma solução aquosa de açúcar mascavo 0,040 g mL^{-1} . Amostra de açúcar mascavo (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); 10,0 $\times 10^{-6}$ mol L^{-1} (11). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

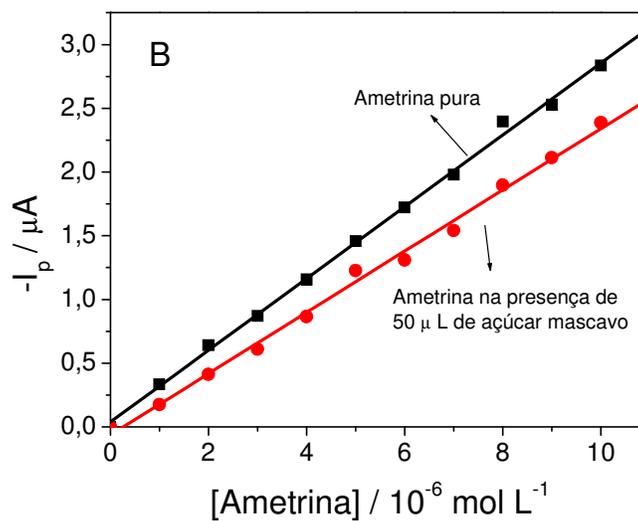
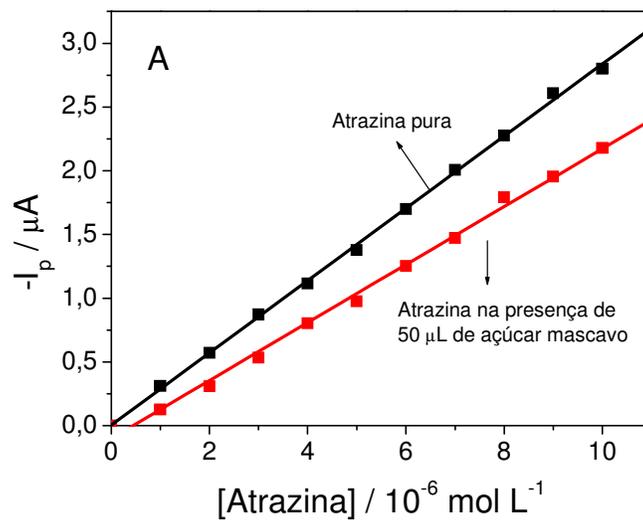


Figura 35: Comparação entre curvas analíticas da (A) Atrazina e (B) Ametrina em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 μL de uma solução aquosa de açúcar mascavo 0,040 g mL^{-1} contido em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Essa perda de sensibilidade dos métodos de detecção dos herbicidas na presença da amostra ocasionada por efeitos da matriz e interferências das substâncias eletroativas da rapadura (possivelmente flavonóides) nas respostas dos herbicidas em questão, gera um aumento nos valores de LD dos compostos, se comparados aos valores obtidos em água pura (eletrólito suporte), como mostra a Tabela 10.

Tabela 10: Resultados da regressão linear das curvas analíticas e valores de limites de detecção da atrazina e ametrina obtidos em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 µL de açúcar mascavo contido em 10 mL de eletrólito suporte.

Herbicidas	r	S _B (A)	b (A / mol L ⁻¹)	LD (µg L ⁻¹)
Atrazina	0,9995	1,63 x 10 ⁻⁹	2,83 x 10 ⁻¹	3,7
Atrazina*	0,9978	1,60 x 10 ⁻⁹	2,27 x 10 ⁻¹	4,6
Ametrina	0,9989	1,77 x 10 ⁻⁹	2,81 x 10 ⁻¹	4,3
Ametrina*	0,9976	1,73 x 10 ⁻⁹	2,40 x 10 ⁻¹	4,9

* na presença de 50 µL de açúcar mascavo em 10 mL de eletrólito suporte.

4.3 Estudo eletroquímico e determinação eletroanalítica da simazina

A simazina em Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ e pH = 3,5 apresentou somente um pico de redução em torno de -1,03 V. Na Figura 36 está apresentado um voltamograma de onda quadrada para a simazina com as separações de correntes. Observou-se que é um voltamograma de onda quadrada característico de um sistema irreversível⁵¹.

Um passo importante no desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica é a otimização dos parâmetros que possam influenciar na resposta voltamétrica. Para isto foi realizado um estudo da influência do pH do meio e dos parâmetros da SWV, como frequência de onda quadrada (f), amplitude da onda quadrada (a) e

incremento de varredura (ΔE_s) buscando, desta forma, o melhor sinal analítico⁵⁸. Esse estudo de desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para a detecção da simazina por voltametria de onda quadrada não foi encontrado na literatura.

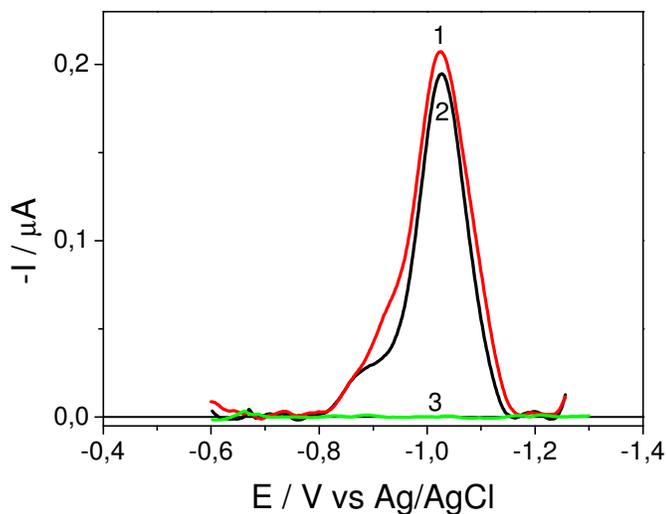


Figura 36: Voltamograma de onda quadrada para a redução da simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Componentes: 1) Corrente resultante, 2) Corrente direta, 3) Corrente reversa. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

4.3.1 Influência do pH do meio

Os voltamogramas da simazina registrados para diferentes valores de pH do meio encontram-se na Figura 37.

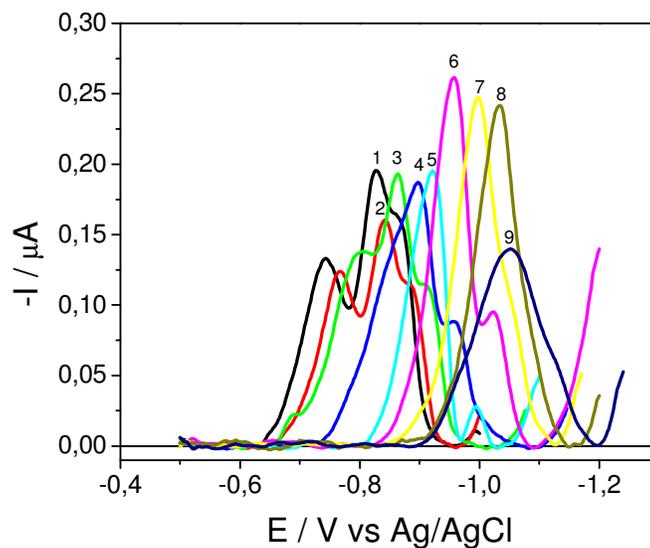


Figura 37: Voltamogramas de onda quadrada da simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) para diferentes valores de pH: 0,5 (1); 0,75 (2); 1,0 (3); 1,5 (4); 2,0 (5); 2,5 (6); 3,0 (7); 3,5 (8); 4,0 (9). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Os potenciais e as intensidades das correntes de pico de redução mostraram-se dependentes do pH do meio. A dependência da intensidade da corrente de pico em função do pH do meio está apresentada na Figura 38. Apesar do pH 2,5 apresentar uma maior intensidade de corrente, o pH de trabalho escolhido foi o de 3,5, por apresentar uma semelhante intensidade de corrente e melhor perfil voltamétrico. Em valores de pH maiores que 3,5, há um decréscimo acentuado na intensidade de corrente de pico.

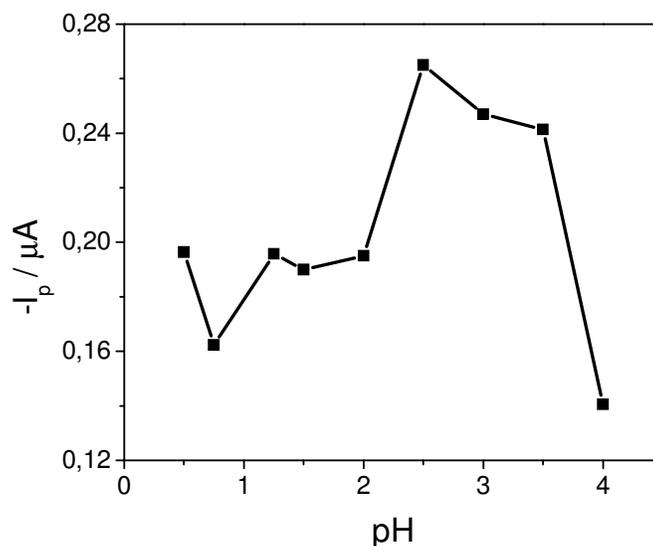


Figura 38: Variação da intensidade da corrente de pico em função do pH para a redução da simazina. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

O potencial de pico da simazina é fortemente influenciado pela variação do pH do meio. Ocorre um deslocamento do potencial de pico para valores de potenciais mais negativos com o aumento do pH, como mostra a Figura 39. Observou-se a variação do E_p em função do pH, onde foram obtidas duas retas cuja intersecção em 1,77 corresponde ao pK_a da simazina, valor este muito próximo ao encontrado na literatura que é de $1,7^{18,19}$.

Higuera e col.¹⁹ investigaram a redução polarográfica da simazina em H_2SO_4 $2,25 \text{ mol L}^{-1}$ em um pH 5. Uma ou duas ondas (superpostas) foram observadas, dependendo do pH do meio. Em ambas as técnicas de polarografia DC e DP, uma simples onda distorcida foi observada em um pH menor que 0,0; esta onda diminui em sua intensidade e desaparece em valores de pH menores que 4,0.

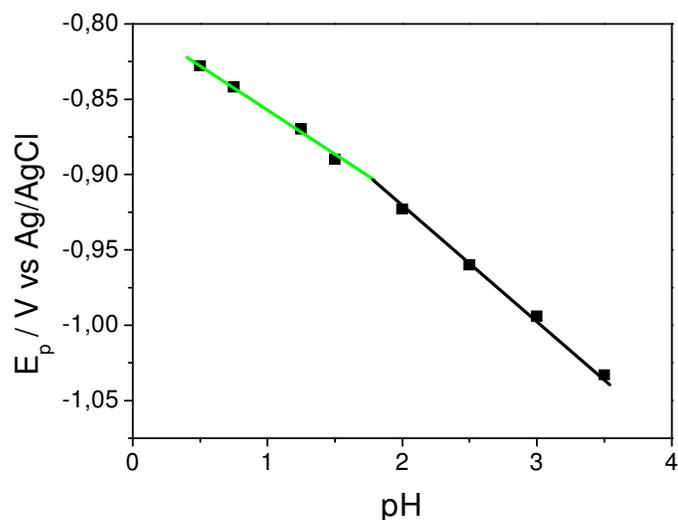


Figura 39: Variação do potencial de pico com o pH para a simazina. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Foi realizada a deconvolução dos polarogramas DP, obtendo 4 picos, sendo dois (pré-pico e pós-pico) com maiores intensidades de correntes representando os picos principais do processo de redução. Os outros dois, correspondem ao fenômeno de adsorção. Diante disso, concluíram que os picos principais referentes ao processo de redução correspondem a processos de 1^0 ordem envolvendo dois elétrons, sendo o principal transporte de massa devido à difusão. Experimentos realizados utilizando a SWV mostraram em relação a perfis voltamétricos, que em valores de pH menores que 1,0, obteve-se voltamogramas contendo 3 picos superpostos. Na Figura 40 está apresentado a deconvolução do sinal voltamétrico (SWV), resultando em 3 picos. Os picos 1 e 3 correspondem a um pré-pico e um pós-pico, respectivamente, associada com o fenômeno de adsorção na superfície do eletrodo enquanto, o pico 2 deve corresponder a um processo de redução de 1^0 ordem, envolvendo dois elétrons. Este comportamento foi previsto por Higuera e col.¹⁹.

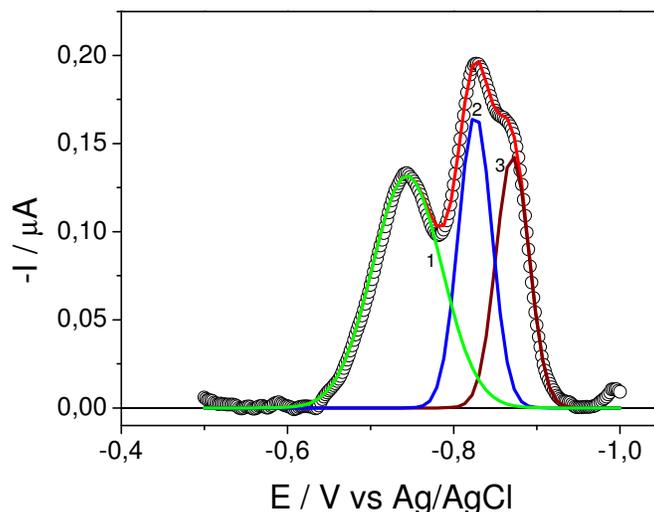


Figura 40: Voltamograma de onda quadrada para a redução da simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Deconvolução: (o) Valores Experimentais; (—) Valores Ajustados. Pré e pós-picos (1 e 3); Pico principal referente ao processo de redução (2). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 0,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

4.3.2 Influência da frequência

A frequência da onda quadrada é um dos mais importantes parâmetros da SWV, pois é ela que determina a intensidade dos sinais e, conseqüentemente, a sensibilidade do método⁵¹. A Figura 41 mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos para a simazina em função da variação da frequência. Observou-se que, com o aumento do valor da frequência, ocorre um aumento proporcional na intensidade de corrente e também ocorre um pequeno deslocamento dos potenciais de pico para regiões mais negativas. Escolheu-se a frequência de 100 s^{-1} , onde se obteve um voltamograma bem definido, com maior intensidade de corrente de pico.

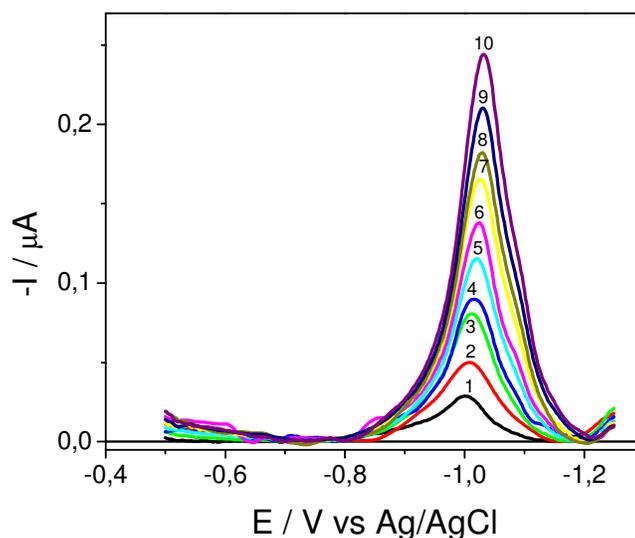


Figura 41: Influência da variação da frequência da onda quadrada no aspecto geral dos voltamogramas da simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Frequências: 10 (1); 20 (2); 30 (3); 40 (4); 50 (5); 60 (6); 70 (7); 80 (8); 90 (9); 100 (10). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Segundo a teoria proposta por O’Dea e col.⁸² para sistemas totalmente irreversíveis com processos controlados pela adsorção das espécies, a intensidade de corrente varia linearmente com a frequência de aplicação dos pulsos de potenciais.

A Figura 42 mostra o comportamento da corrente de pico em função da variação da frequência da onda quadrada para a simazina. Observou-se que a intensidade da corrente de pico varia linearmente com a frequência de onda quadrada, mostrando que o processo de redução da simazina sobre o eletrodo de mercúrio é irreversível e controlado por adsorção.

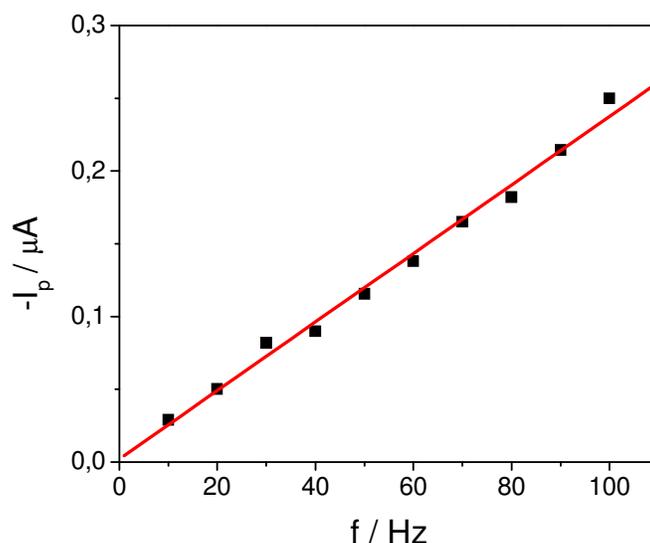


Figura 42: Dependência da intensidade da corrente de pico com a frequência para a redução da simazina. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH = 3,5, a = 50 mV, ΔE_s = 2 mV.

De acordo com os critérios de diagnósticos da voltametria de onda quadrada, a dependência dos potenciais de pico com o logaritmo da frequência para reações totalmente irreversíveis com reagentes e/ou produtos adsorvidos é linear e apresenta uma inclinação de⁵³:

$$\Delta E_p / \Delta \log f = -2,3RT / \alpha nF \quad \text{Equação 9}$$

onde: α é o coeficiente de transferência eletrônica e n é o número de elétrons envolvidos na reação eletrodica.

Na Figura 43 está apresentado o comportamento do potencial de pico em função do logaritmo da frequência, para a simazina. Observou-se um comportamento linear com inclinação de 0,04. Aplicando-se a Equação 9 tem-se $\alpha n = 1,286$, o que corresponde a um valor de α de 0,643 e dois elétrons por molécula de pesticida envolvidos no processo de redução. Este valor de α maior que 0,5 é característica comum para moléculas orgânicas⁸².

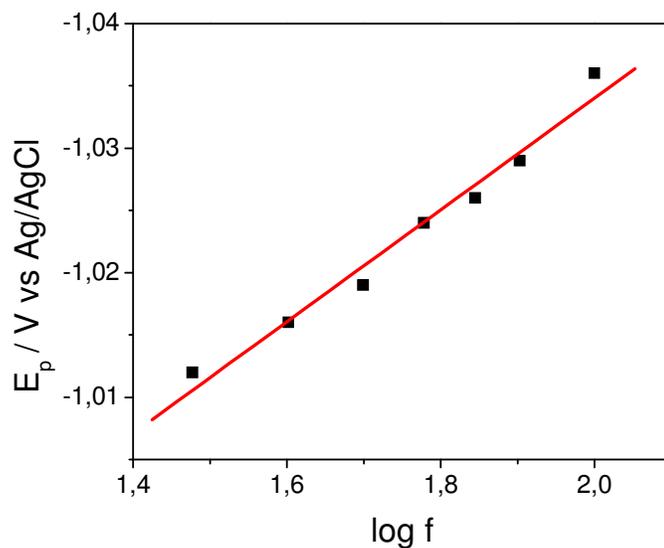


Figura 43: Dependência do potencial de pico com o logaritmo da frequência da onda quadrada para a redução da simazina. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

4.3.3 Ensaio realizados a altas frequências

Estudos preliminares com o herbicida atrazina foram realizados utilizando o H_2SO_4 como eletrólito suporte, por apresentar melhor resposta voltamétrica (reversibilidade)⁷⁰. Da mesma forma, estudos iniciais com a simazina foram realizados, a fim de investigar uma possível reversibilidade do processo de redução. Os diferentes valores de frequência analisados foram: 300, 500, 1000, 2000, 3000 e 4000 Hz. Observou-se que até a $f = 2000 \text{ Hz}$, o processo de redução da simazina ainda se constituía num processo irreversível (ausência da corrente reversa). As frequências de 3000 e 4000 Hz mostraram voltamogramas típicos de reversibilidade da simazina. A Figura 44 representa um voltamograma reversível da simazina em $\text{pH} = 1,0$ e $f = 3000 \text{ Hz}$.

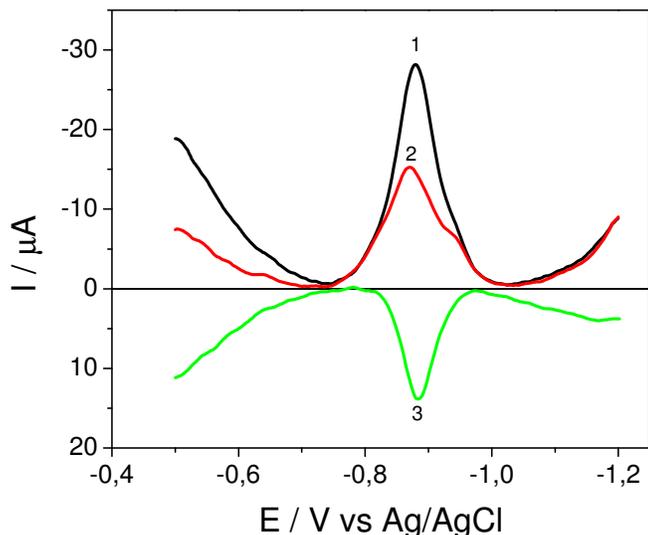


Figura 44: Voltamograma de onda quadrada para a redução da simazina ($2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Componentes: Corrente resultante (1), Corrente direta (2), Corrente reversa (3). Condições: H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$, $f = 3000 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Essa possível reversibilidade pode estar relacionada à saída do cloreto, pois se sabe que com a entrada de um elétron na molécula, a ligação C-Cl é fragilizada. No caso de haletos alquílicos, a própria existência do radical ânion é duvidoso e os processos de redução e ruptura de ligação C-Cl são considerados simultâneos⁷⁰. No presente caso, trata-se de uma ligação C-Cl numa estrutura aromática, heterocíclica e protonada. É provável que a ruptura da ligação seja menos rápida que nos outros casos e, portanto, susceptível a oxidações em altas frequências. Desta forma, a saída do cloreto seria mais ou menos lenta, e o produto intermediário da reação se formaria longe da superfície do eletrodo. Neste caso e de acordo com a literatura a saída do Cl^- pode ser visto como um grupo nucleofúgico⁷⁰.

4.3.4 Influência da amplitude

Para sistemas redox totalmente irreversíveis, a sensibilidade analítica na SWV também sofre grande influência com a variação da amplitude da onda, isto porque a largura de meia onda se mantém constante para amplitude maiores que 20 mV⁵¹. A Figura 45 mostra os voltamogramas da variação da amplitude da onda quadrada. Observou-se um deslocamento para potenciais mais positivos com o aumento no valor da amplitude de onda quadrada.

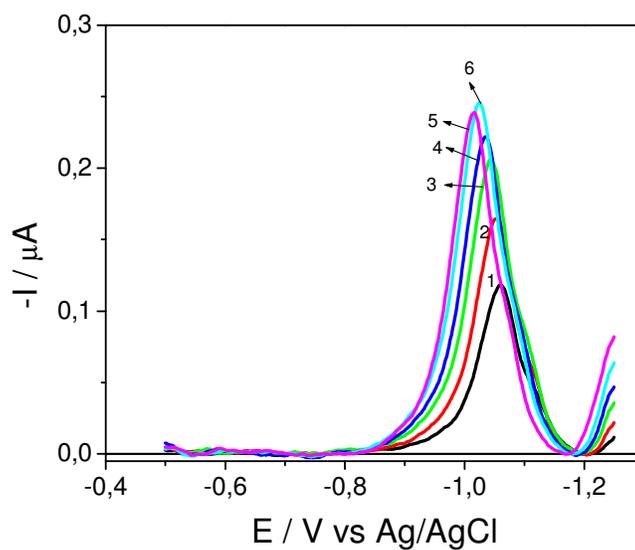


Figura 45: Influência da variação da amplitude nos voltamogramas de onda quadrada para a simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Amplitudes: 10 (1); 20 (2); 30 (3); 40 (4); 50 (5); 60 mV(6). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A Figura 46 mostra o efeito da variação da amplitude na intensidade da corrente de pico para a simazina. Para valores de amplitude menores que 30 mV, o aumento na intensidade de corrente é linear. Adicionalmente, amplitudes maiores parecem não atuar de modo significativo na sensibilidade para propósitos analíticos. Em função disto, optou-se em trabalhar com amplitude de onda quadrada de 30 mV.

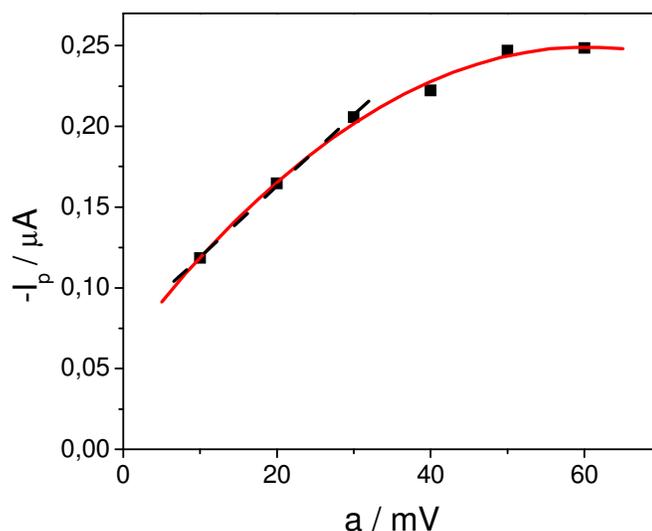


Figura 46: Dependência da intensidade da corrente de pico com a variação de amplitude da onda quadrada para a simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Considerando-se somente a partir linear do gráfico na Figura 46, é possível calcular a concentração superficial da espécie adsorvida (Γ), por meio do coeficiente angular da reta e auxílio da equação 10^{53} .

$$I_p = (5 \pm 1) 10^2 q \alpha n^2 F f a \Delta E_s \Gamma \quad \text{Equação 10}$$

onde q é a área do eletrodo, n é o número de elétrons, α o coeficiente de transferência eletrônica, F a constante de Faraday, a amplitude da onda quadrada, ΔE_s o incremento de varredura e f a frequência da onda quadrada.

O valor obtido de concentração superficial (Γ) da espécie adsorvida para a simazina foi igual a $8,48 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$ para um eletrodo de área de $0,0207 \text{ cm}^2$.

4.3.5 Efeito do incremento de varredura

A velocidade efetiva na SWV é o resultado do produto da frequência pelo incremento de varredura. Deste modo, um maior incremento de varredura pode

aumentar o sinal obtido e, assim, melhorar a sensibilidade do método⁵¹. Na Figura 47 estão apresentados os voltamogramas da variação do incremento de varredura.

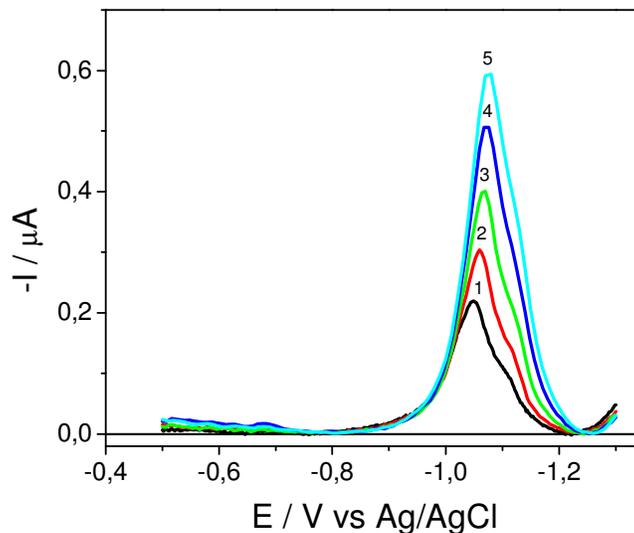


Figura 47: Influência da variação do incremento de varredura nos voltamogramas de onda quadrada para a simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Incrementos: 2 (1); 4 (2); 6 (3); 8 (4); 10 mV (5). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$.

A Figura 48 mostra a dependência do potencial e da intensidade da corrente de pico em função da variação do incremento de varredura para a simazina. Com o aumento do incremento de varredura, ocorreu um deslocamento dos potenciais de pico para valores mais negativos e um aumento significativo nas intensidades das correntes de pico. Desta forma, optou-se em trabalhar com o valor de $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

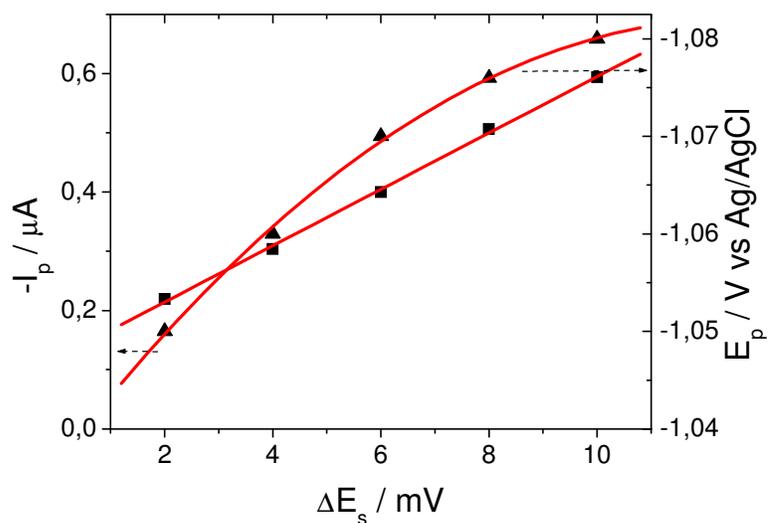


Figura 48: Efeito da variação do incremento de varredura sobre as intensidades de correntes (■) e potenciais (▲) de pico para a simazina ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$.

4.3.6 Curva analítica para a simazina

Estabelecidas as melhores condições para a determinação do pico de redução da simazina, foi construída uma curva analítica por adições de diferentes quantidades conhecidas ao eletrólito de suporte (água pura).

Os voltamogramas de onda quadrada para cada concentração de simazina são apresentados na Figura 49. Observou-se que a intensidade da corrente de pico aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração e que praticamente não ocorrem deslocamentos nos potenciais de pico.

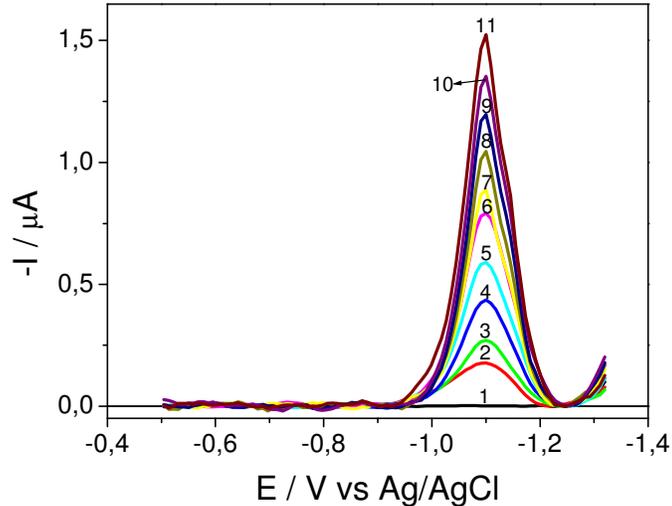


Figura 49: Voltamogramas de onda quadrada para a simazina em diferentes concentrações: 0,0 (1); 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); 10,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ (11). Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH = 3,5, f = 100 s⁻¹, a = 30 mV, ΔE_s = 10 mV.

A Figura 50 corresponde à curva analítica para a simazina em água pura, que apresentou linearidade no intervalo de concentração de 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ a 10,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹. Para a determinação do limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) da simazina, foi utilizada a relação entre o desvio padrão da resposta (S_B) e a inclinação da curva analítica (b), conforme as equações 7 e 8. A repetibilidade das medidas foi determinada por medidas sucessivas de três soluções diferentes de simazina na faixa da curva analítica, obtendo desvios-padrão relativos menores que 1,4 % (n = 3).

O desvio padrão da média aritmética de 8 voltamogramas de brancos foi obtida das correntes medidas no mesmo potencial de pico voltamétrico da redução da simazina (S_B = 1,85 x 10⁻⁹ mol L⁻¹). O limite de detecção obtido para o intervalo de concentração estudado foi de 3,7 x 10⁻⁸ mol L⁻¹ (7,5 μg L⁻¹) e o limite de quantificação foi de 1,23 x 10⁻⁷ mol L⁻¹ (24,9 μg L⁻¹), sendo o LD inferior ao valor encontrado na literatura no trabalho de Bilewicz e colaboradores⁶³, que utilizando a

voltametria de pulso diferencial, obtiveram um limite de detecção de $20,2 \mu\text{g L}^{-1}$. O valor de LD encontrado para a simazina está dentro do limite máximo de resíduos (LMR_s) permitidos em cana-de-açúcar pela ANVISA, que é de $200 \mu\text{g Kg}^{-1}$ (ppb). Também é adequado para a detecção de resíduos em efluente industriais, pois o LMR_s permitido pelo CONAMA é de $50 \mu\text{g L}^{-1}$, entretanto, não se enquadra para a detecção de resíduos em águas potáveis, pois se encontra acima do valor permitido pela ANVISA ($2 \mu\text{g L}^{-1}$) e pelo EPA ($4 \mu\text{g L}^{-1}$).

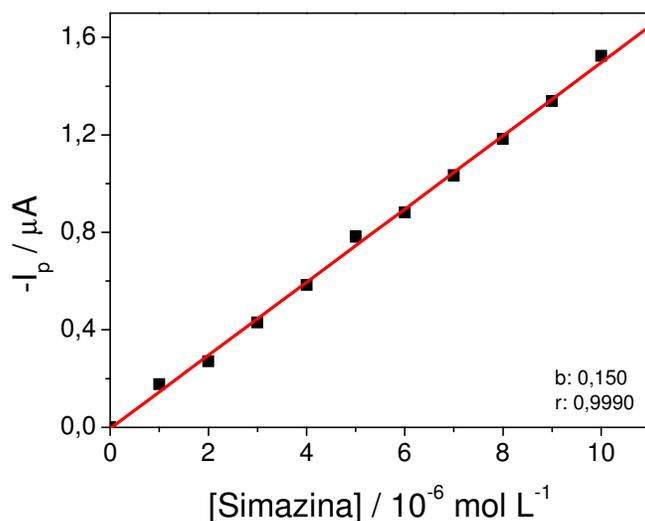


Figura 50: Dependência da intensidade da corrente de pico com a concentração para a simazina. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

4.3.7 Experimentos de recuperação

Os estudos de recuperação para a simazina padrão em água pura em uma concentração da curva analítica ($3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) apresentaram valores de $97,8 \pm 1,6 \%$. Os experimentos de recuperação foram realizados em triplicata.

4.3.8 Tentativa de separação dos picos de redução da atrazina e simazina

Os herbicidas atrazina e simazina apresentam estruturas químicas muito semelhantes, tendo seus processos de redução eletroquímica ocorrendo aproximadamente no mesmo valor de potencial. A pequena diferença (20 mV) entre os valores dos potenciais de picos de redução dos compostos, sugere-se em uma mistura, a sobreposição dos picos e com isso a necessidade da aplicação do procedimento matemático de deconvolução para a tentativa de separação dos picos.

Nas condições voltamétricas (Na_2SO_4 0,1 mol L⁻¹, pH = 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$), em uma mistura, a deconvolução dos sinais não separou os picos de redução dos compostos, impossibilitando assim a determinação quantitativa de um destes herbicidas na presença de outro.

Na tentativa de separação dos picos de redução, foram realizados estudos da variação do pH, uma variação da amplitude de onda quadrada e uma variação do incremento de varredura (ΔE_s) para ambos os compostos. Concluiu-se que não houve diferenças significativas entre os valores de potenciais referentes aos processos de redução da atrazina e simazina, sendo assim, impossível à aplicação do procedimento matemático de deconvolução e conseqüentemente, a separação dos picos de redução.

Estudos a altas freqüências, tais como: 300, 500, 1000, 2000, 3000 e 4000 s⁻¹ foram realizados, para se obter uma possível diferença entre os valores de potenciais de pico dos compostos. Na Figura 51, estão apresentados os voltamogramas de onda quadrada para ambos os compostos em freqüência de 3000 s⁻¹. Notou-se que não houve diferenças entre os valores de potenciais de picos dos compostos, sendo impossível à separação dos picos. Mostraram-se também

voltamogramas típicos de reversibilidade da atrazina e simazina em $\text{pH} = 1,0$ e $f = 3000 \text{ s}^{-1}$.

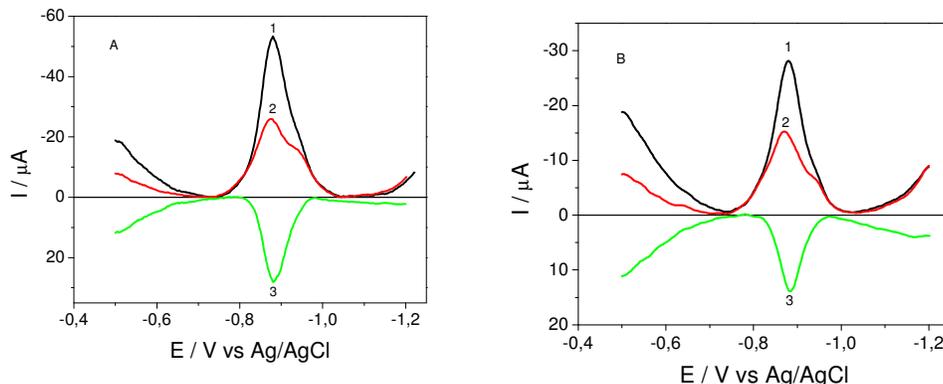


Figura 51: Voltamogramas de onda quadrada para a redução da (A) Atrazina e (B) Simazina, $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (cada composto). Componentes: 1: Corrente resultante; 2: Corrente direta; 3: Corrente reversa. Condições: H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$, $f = 3000 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Com a variação dos parâmetros experimentais analisados pela SWV, aliado a aplicação do procedimento matemático de deconvolução, não foi possível a separação dos picos de redução dos herbicidas em questão. Adicionalmente, a quantificação destes herbicidas por meio da SWV em amostras ambientais, só é possível na forma de misturas.

4.4 Determinação eletroanalítica de simazina em amostras de derivados de cana-de-açúcar

4.4.1 Amostra de caldo de cana 1 (São Carlos – SP)

A metodologia eletroanalítica de detecção de simazina foi aplicada às amostras de caldo de cana. Na amostra de caldo de cana 1, foi adicionado $500 \mu\text{L}$ da amostra à cela eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte. A Figura 52

apresenta o pico de redução do caldo de cana e posterior adições de quantidades conhecidas de simazina.

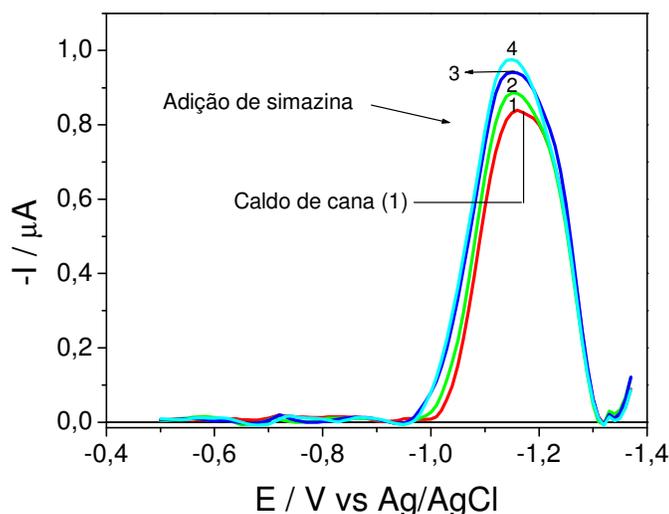


Figura 52: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para adições de quantidades conhecidas de simazina à 500 μL da amostra de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: 5,0 (2); 7,0 (3); $8,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} (4). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 3,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Observou-se na Figura 52, um pico bem definido como na análise a pH 2,0 ($I_p = -1,75 \mu\text{A}$; $E_p = -1,06 \text{ V}$), mas com um deslocamento do pico para potenciais mais negativos ($E_p = -1,16 \text{ V}$) e uma diminuição significativa na intensidade da corrente de pico ($I_p = -0,85 \mu\text{A}$). A adição de quantidades conhecidas de simazina foi realizada pela suspeita deste pico de redução corresponder a simazina. Isto acarretou uma imperfeita construção como no caso da ametrina, o que se considerou, do ponto de vista analítico, incorreto. Desta forma, adicionou-se uma quantidade de 50 μL do caldo de cana a 10 mL de eletrólito suporte para se detectar a substância de maneira mais confiável e analítica. A Figura 53 abaixo mostra a relação 50 x 500 μL de caldo de cana na presença de 10 mL de eletrólito suporte.

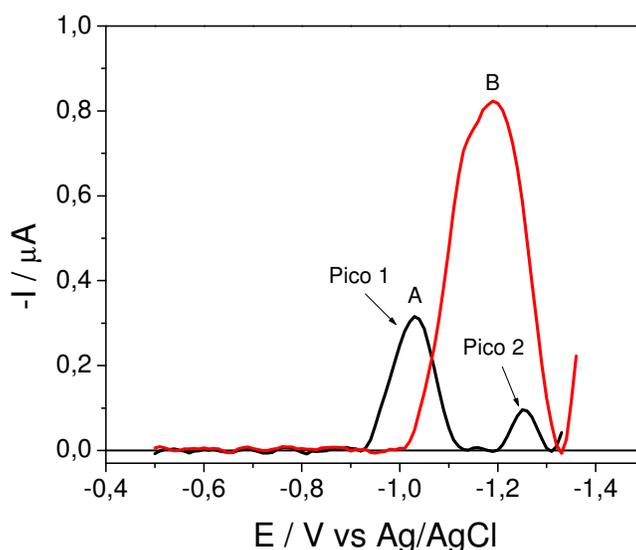


Figura 53: Voltamogramas de onda quadrada para adição de 50 μL (A) e 500 μL (B) de caldo de cana 1 a 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 3,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Como no caso do estudo a pH 2,0, a adição de uma menor quantidade da amostra, desdobra o pico referente a 500 μL da amostra (E_p : -1,19 V) em outros dois picos (Pico 1: -1,03 V e Pico 2: -1,25 V), com deslocamento dos potenciais e diminuição das intensidades das correntes em relação ao pico em -1,19 V. Os efeitos de deslocamento de potenciais e aumento na intensidade da corrente do pico menos catódico em função do aumento da quantidade de caldo de cana são semelhantes a estudos realizados a pH 2,0 e devem ser explorados em pesquisas adicionais. Foram adicionadas diferentes quantidades de simazina a 50 μL do caldo em 10 mL de eletrólito suporte pelo método da adição de padrão. Os voltamogramas de onda quadrada para a adição de simazina ao caldo estão mostrados na Figura 54.

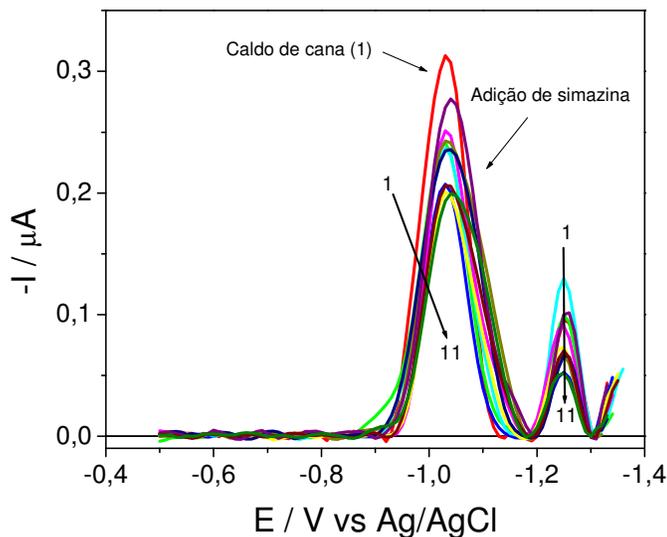


Figura 54: Voltamogramas de onda quadrada para a adição de quantidades conhecidas de simazina a 50 μL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: $1,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} (2-11). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 3,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Na Figura 54, as várias adições de quantidades conhecidas de simazina, não modificou (aumento) a intensidade de corrente de pico do caldo de cana, pelo contrário, com as adições, houve uma diminuição da intensidade de corrente do pico menos catódico da amostra, sugerindo que nesse caso, a presença de uma possível reação química redox ou associação entre as espécies (flavonóides e herbicidas) seja mais marcante em comparação a estudos a pH 2,0. Com isso, este pH 3,5 não é adequado para a detecção de resíduos de simazina na amostra de caldo de cana, analisada diretamente, ou seja, sem tratamento, por exemplo, para eliminação de interferentes.

Para se mostrar a ausência de resíduos de simazina, este estudo foi realizado a pH 2,0 (adaptação da metodologia eletroanalítica), condição diferente da melhor condição voltamétrica, para que se pudessem mostrar os dois processos de redução

(amostra e simazina). A Figura 55 mostra os voltamogramas da simazina em diferentes concentrações analisadas e do caldo de cana a pH 2,0.

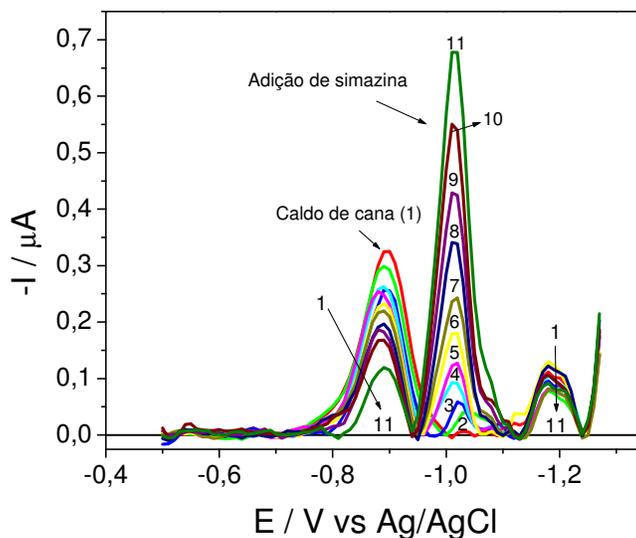


Figura 55: Voltamogramas de onda quadrada para a adição de quantidades conhecidas de simazina a 50 μL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); 10,0 $\times 10^{-6}$ mol L^{-1} (11). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Observou-se desta forma, os picos de redução do caldo de cana e da simazina separados, com uma interferência (intersecção) entre os voltamogramas de ambos em -0,95 V. Analogamente a atrazina e a ametrina, as sucessivas adições de simazina diminuem a intensidade da corrente dos picos de redução do caldo de cana.

Com isso, foi construída uma curva analítica por adições de quantidades conhecidas ao eletrólito suporte (Figura 56) nas condições voltamétricas da separação dos picos de redução do caldo de cana e da simazina, para se mostrar o quanto essa matriz pode interferir na sensibilidade do método de detecção da simazina.

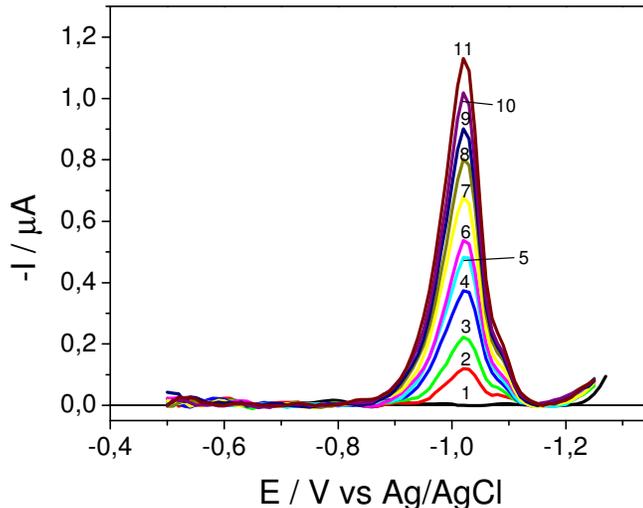


Figura 56: Voltamogramas de onda quadrada para a simazina em diferentes concentrações: 0,0 (1); 1,0 (2); 2,0 (2); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); 10,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ (11). Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 30 mV, ΔE_s = 10 mV.

Observou-se na Figura 56, que a intensidade da corrente de pico aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração e que não ocorrem deslocamentos do potencial de pico. A curva analítica no intervalo de concentração de 1,0 x 10⁻⁶ a 10,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ pode ser observada na Figura 57. Neste intervalo obteve-se boa linearidade com inclinação de 0,1122 A / mol L⁻¹ e coeficiente de correlação de 0,9990.

Limites de detecção e de quantificação foram calculados da mesma forma que em outras curvas analíticas deste trabalho. O LD obtido para o intervalo de concentração estudado foi de 4,734 x 10⁻⁸ mol L⁻¹ (9,55 μg L⁻¹) e o LQ foi de 1,578 x 10⁻⁷ mol L⁻¹ (31,8 μg L⁻¹). Esses valores de LD e LQ se apresentam menores que os valores obtidos na melhor condição voltamétrica de detecção da simazina.

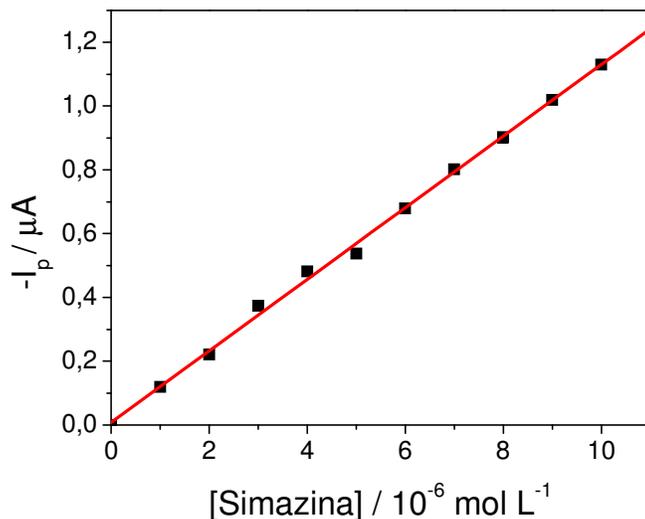


Figura 57: Dependência da intensidade da corrente de pico com a concentração para a redução da simazina. Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f= 100 s⁻¹, a = 30 mV, ΔE_s = 10 mV.

A interação foi comprovada pela comparação das curvas analíticas da simazina em água pura e em caldo de cana como mostra a Figura 58. Observou-se uma perda na sensibilidade do método, pela diminuição na inclinação na curva analítica, sendo o processo de redução da simazina extremamente prejudicado pelo processo de redução do caldo de cana. Em relação à atrazina e ametrina, pode-se dizer que o efeito da possível reação química ou associação entre as espécies é mais marcante no caso da simazina. Essa perda da sensibilidade, com certeza aumenta o LD do método, mas para este caso da simazina, não se conseguiu uma linearidade da curva analítica (dentro de todo intervalo de concentração) do herbicida na presença da amostra, sendo impossível o cálculo de LD.

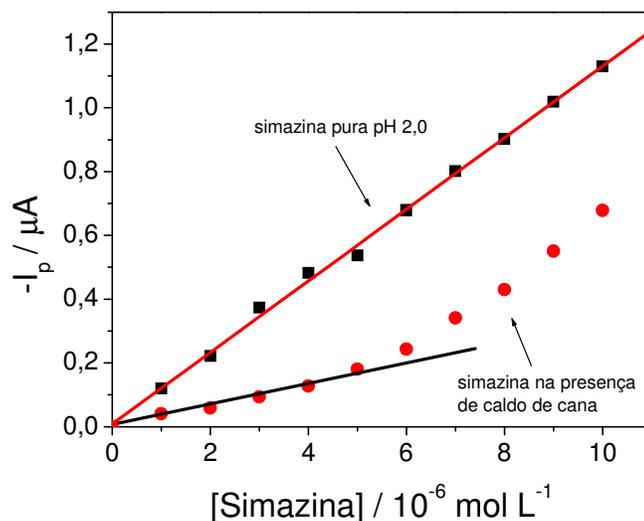


Figura 58: Comparação entre curvas analíticas da simazina em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 μL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Entretanto, no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, há uma boa linearidade, com inclinação de $3,42 \times 10^{-2} \text{ A mol L}^{-1}$ e $r = 0,9914$. Estes valores foram comparados aos valores obtidos no mesmo intervalo de concentração da simazina em água pura. Os valores das regressões lineares e limites de detecção das curvas analíticas estão descritos na Tabela 11.

Essa interação foi também comprovada por experimentos de adição de diferentes quantidades de caldo de cana à cela eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte e uma concentração fixa de simazina, tanto por SWV quanto por VC.

Tabela 11: Resultados da regressão linear das curvas analíticas (intervalo de concentração: $1,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) e valores de limites de detecção da simazina obtidas em água pura Milli-Q (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 µL de caldo de cana 1 contido em 10 mL de eletrólito suporte .

Amostra	r	S_B (A)	b (A/mol L⁻¹)	LD (µg L⁻¹)
Milli-Q	0,9939	$1,77 \times 10^{-9}$	$1,12 \times 10^{-1}$	9,6
Caldo de cana 1	0,9914	$1,83 \times 10^{-9}$	$3,42 \times 10^{-2}$	32,3

A Figura 59 mostra os voltamogramas de onda quadrada e cíclicos para a adição do caldo de cana a simazina. Como já era esperado, foi observada uma interferência do caldo de cana na resposta voltamétrica da simazina tanto por SWV quanto por VC. No caso de até 50 µL do caldo adicionado a simazina em 10 mL de eletrólito suporte, notou-se a presença dos picos de redução do caldo de cana e da simazina ainda separados, mas com uma perda em intensidade de corrente de pico do herbicida. Em adições maiores que 50 µL de caldo de cana, há uma sobreposição dos picos, dificultando a detecção individual da simazina, só sendo possível por deconvolução, não sendo aconselhável trabalhar com esta quantidade de caldo de cana. Sucessivas adições de quantidades do caldo de cana provocam ainda mais a consolidação de somente um pico, um drástico aumento na intensidade de corrente e um deslocamento para potenciais mais negativos.

Por VC, a interação fica mais nítida, cuja adição de 100 µL de caldo, deforma o pico do herbicida, além de ocasionar um deslocamento do potencial de pico para valores mais negativos, comprovando ainda mais a interação caldo de cana – herbicida.

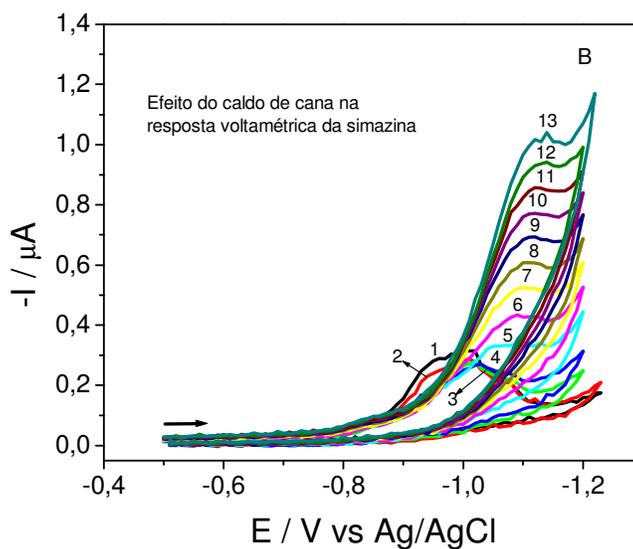
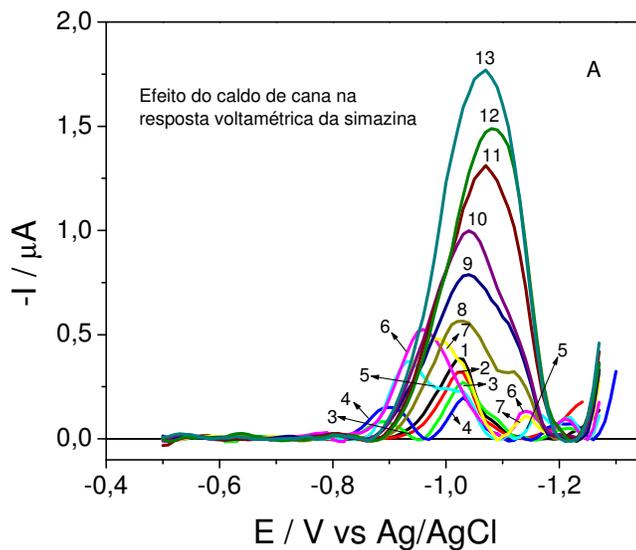


Figura 59: (A) Voltamogramas de onda quadrada para adições de diferentes quantidades do caldo de cana 1 a $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de simazina (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. (B) Voltamogramas cíclicos para adições de diferentes alíquotas do caldo de cana 1 a simazina $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (1) em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0 e $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Quantidades adicionadas (A) e (B): 10 (2); 30 (3); 50 (4); 100 (5); 150 (6); 200 (7); 250 (8); 300 (9); 350 (10); 400 (11); 450 (12); 500 μL (13).

Testes dessa possível interação também foram realizados a pH 3,5 e foi comprovado que há uma substancial interferência dos processos de redução do caldo de cana no processo de redução da simazina nesta condição de meio reacional, sendo impossível à detecção da substância (analito). Portanto, concluiu-se que para a detecção de resíduos de simazina nesta amostra de caldo de cana, não se pode analisar a amostra em pH 3,5 e sim, no pH 2,0 ou talvez em outra condição do meio reacional, buscando sempre o máximo de eliminação de interferentes, principalmente do ponto de vista eletroquímico.

4.4.2 Amostra de caldo de cana 2 (Ibaté – SP)

A amostra de caldo de cana 2 também foi analisada com sucessivas adições de diferentes quantidades de simazina, mas não na melhor condição experimental de detecção da simazina, e sim na condição de pH 2,0, onde se consegue a separação dos picos de redução do caldo e da simazina. A Figura 60 mostra os voltamogramas de onda quadrada referentes à adição de simazina a 50 μ L da amostra de caldo de cana em 10 mL de eletrólito suporte.

Foram observadas a ausência de resíduos de simazina nesta amostra de caldo de cana 2 e uma diminuição nas intensidades de correntes dos processos de redução da amostra quando diferentes quantidades dos herbicidas foram adicionadas, devido possivelmente a presença de reações químicas redox ou associações entre os flavonóides e herbicidas.

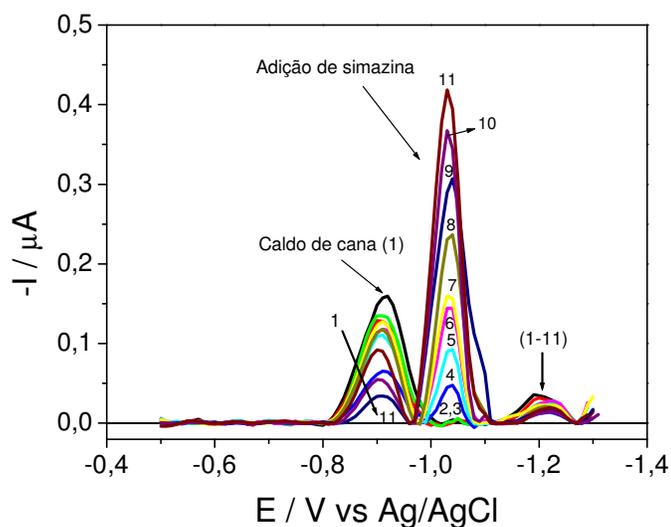


Figura 60: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de simazina a 50 μL do caldo de cana 2 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Amostra de caldo de cana 2 (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (11). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Foi construída uma curva analítica da simazina na presença da amostra e comparada com a curva analítica para o composto puro (Figura 61). Observou-se uma significativa perda na sensibilidade do método de detecção do herbicida, sendo essa diminuição (no intervalo de concentração: $3,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) na inclinação da curva analítica diferente em relação ao caldo de cana 1. Isto pode ser explicado pela diferença na magnitude da possível reação química redox ou associação entre as espécies (flavonóides-herbicidas), que gera dificuldades, no caso da amostra 2, para a detecção e quantificação da simazina, principalmente em baixas concentrações ($1,0 \times 10^{-6} - 2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), ao contrário do que acontece no caldo de cana 1, onde resíduos de simazina nessa faixa de concentração pode ser detectada.

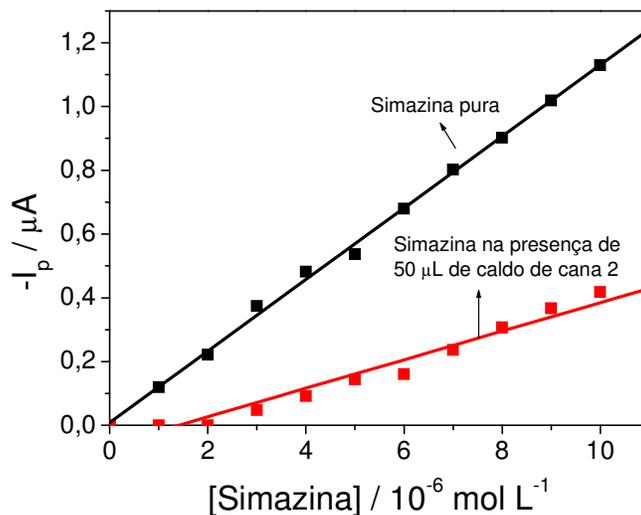


Figura 61: Comparação entre curvas analíticas da simazina em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 μL do caldo de cana 2 contido em 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f= 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Essa perda na sensibilidade do método de detecção da simazina na presença da amostra de caldo de cana 2 acarreta um aumento no valor do LD, se comparado ao valor obtido em água pura, como mostra a Tabela 12. Além disso, as duas primeiras quantidades de simazina adicionadas à amostra mostraram intensidades de corrente muito pequenas, contribuindo para a perda de sensibilidade.

Tabela 12: Resultados da regressão linear das curvas analíticas (intervalo de concentração: $3,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e valores de limites de detecção da simazina obtidos em água pura (10 mL de eletrólito suporte) e na presença de 50 μL de caldo de cana 2 contido em 10 mL de eletrólito suporte.

Amostra	r	S_B (A)	b (A/mol L^{-1})	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Milli-Q	0,9978	$1,77 \times 10^{-9}$	$1,09 \times 10^{-1}$	9,8
Caldo de cana 2	0,9926	$1,80 \times 10^{-9}$	$5,39 \times 10^{-2}$	20,2

4.4.3 Amostra de rapadura

A metodologia de detecção de simazina foi aplicada a uma amostra de rapadura. Foi adicionado 500 μL de uma solução aquosa de rapadura ($0,040 \text{ g mL}^{-1}$) a cela eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte e realizadas varreduras na melhor condição experimental da simazina (Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$). Neste pH, a amostra apresentou picos bastante deformados, sendo impossível o tratamento dos voltamogramas.

Conseqüentemente, a análise do herbicida simazina em uma amostra de rapadura foi realizada a pH 2,0, $f: 100 \text{ s}^{-1}$, $a: 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s: 10 \text{ mV}$. Nestas condições, conseguiu-se uma deconvolução experimental, mostrando os picos referentes à amostra e ao herbicida simazina, de acordo com a Figura 62.

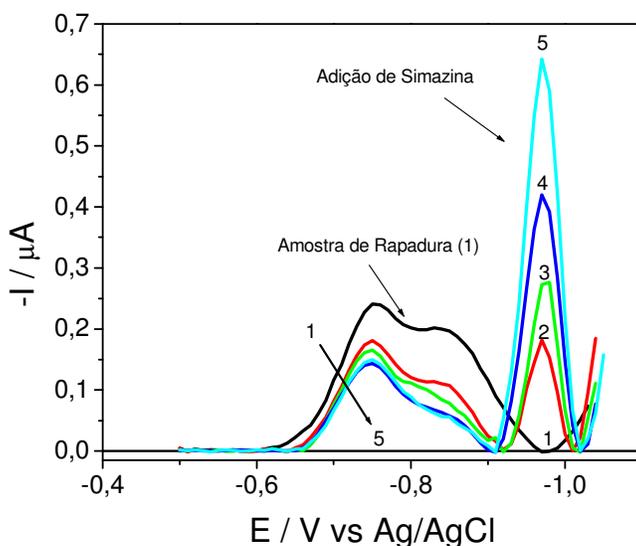


Figura 62: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de simazina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μL de uma solução aquosa de rapadura $0,040 \text{ g mL}^{-1}$. Amostra de rapadura (1). Concentrações analisadas: 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); $6,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (5). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Desta forma, a presença do pico da redução da simazina em potencial mais negativo, leva a conclusão da ausência de resíduos de simazina nesta amostra de rapadura. Adicionalmente pela Figura 62, pode-se notar uma pequena interferência do voltamograma da amostra no voltamograma referente ao processo de redução da simazina, ocasionando uma perda de sensibilidade do método de detecção deste composto. Também foi observado que sucessivas adições do herbicida diminuem as intensidades de corrente dos picos da amostra, suspeitando-se de efeitos similares ao caso da atrazina e ametrina.

4.4.4 Amostra de açúcar mascavo

A amostra de açúcar mascavo também foi analisada para uma possível detecção de simazina. Inicialmente, foram adicionados 500 μL de uma solução aquosa de açúcar mascavo $0,040 \text{ g mL}^{-1}$ a cela eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte. A amostra apresentou um pico de redução em $-1,03 \text{ V}$, de perfil bem definido e gaussiano. Devido a esse potencial tão próximo ao da resposta da simazina, foram adicionadas diferentes quantidades conhecidas do herbicida à amostra, como mostra a Figura 63.

As sucessivas adições de simazina mostraram a possibilidade de detecção da simazina nesta amostra de açúcar mascavo, mas a curva de recuperação mostrou mais uma vez uma imperfeita construção, ou seja, a adição de quantidades do composto, não modificou significativamente a intensidade da corrente de pico da amostra. Com isso, foi adicionado ao eletrólito suporte, uma menor quantidade de amostra ($50 \mu\text{L}$).

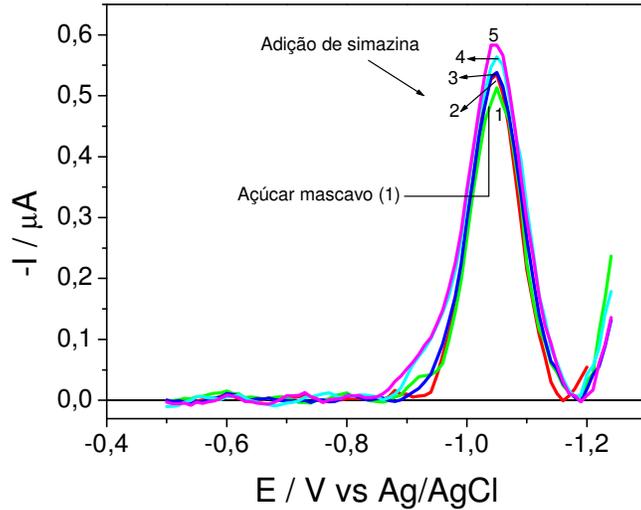


Figura 63: Voltamogramas de onda quadrada para a adição de quantidades conhecidas de simazina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μL de uma solução aquosa de rapadura $0,040 \text{ g mL}^{-1}$. Amostra de açúcar mascavo (1). Concentrações analisadas: 6,0 (2); 7,0 (3); 9,0 (4); $10 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (5). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

A relação entre diferentes quantidades da amostra adicionada ao eletrólito suporte está na Figura 64.

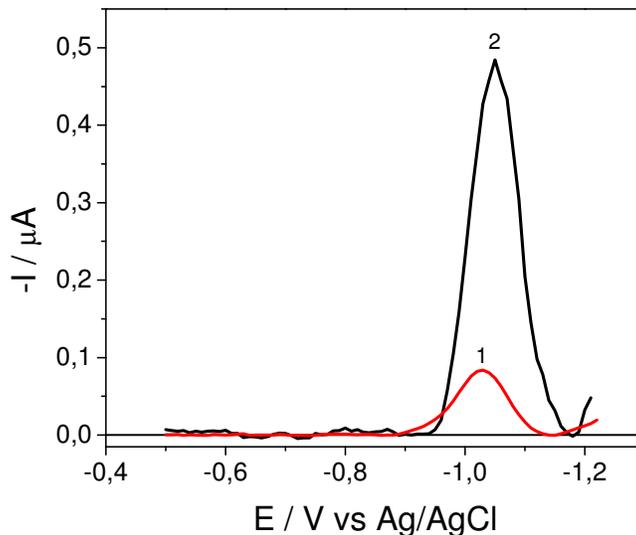


Figura 64: Voltamogramas de onda quadrada para a adição de 50 μL (1) e 500 μL (2) de uma solução aquosa de açúcar mascavo $0,040 \text{ g mL}^{-1}$ à 10 mL de eletrólito suporte. Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Foram adicionadas diferentes quantidades de simazina a 50 μL da amostra em 10 mL de eletrólito suporte como mostra a Figura 65. Uma observação importante a ser realizada mostra que o pico correspondente ao açúcar mascavo não corresponde a simazina, pois adições de simazina modificam o pico da amostra em relação à intensidade de corrente, mas desloca o potencial da então 'mistura' para valores mais negativos. Altas concentrações analisadas ($7,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}) mostram o voltamograma referente ao pico da simazina e o pico da amostra praticamente sobrepostos. Esse deslocamento do potencial do pico da mistura é explicado, pois a simazina nestas condições, apresenta uma resposta voltamétrica em -1,1 V.

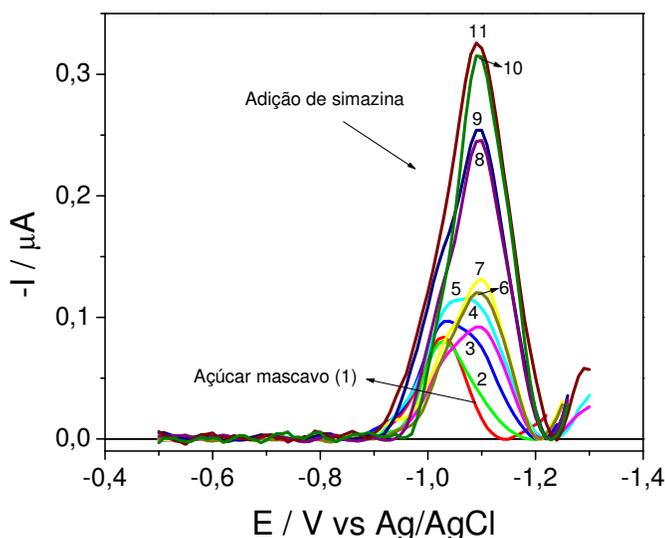


Figura 65: Voltamogramas de onda quadrada para adições de quantidades conhecidas de simazina a 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μL de uma solução aquosa de rapadura 0,040 g mL^{-1} . Açúcar mascavo (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (2); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); $10,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} (11). Condições: Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , pH 3,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Um aspecto também bastante válido aqui é a impossibilidade da detecção de possível resíduos da simazina nesta amostra sem a aplicação do procedimento matemático de deconvolução, como mostra a Figura 66. Com esse procedimento

aplicado, podem-se determinar quantitativamente resíduos de simazina na presença da substância eletroativa presente no açúcar mascavo.

Após a deconvolução, pode-se notar a separação dos picos voltamétricos da amostra e da simazina. Em altas concentrações analisadas ($7,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) de simazina presentes na solução contendo o eletrólito suporte e a amostra, a deconvolução praticamente seria impossível de ser realizada, pela pequena diferença de potenciais do pico de redução da amostra e do herbicida.

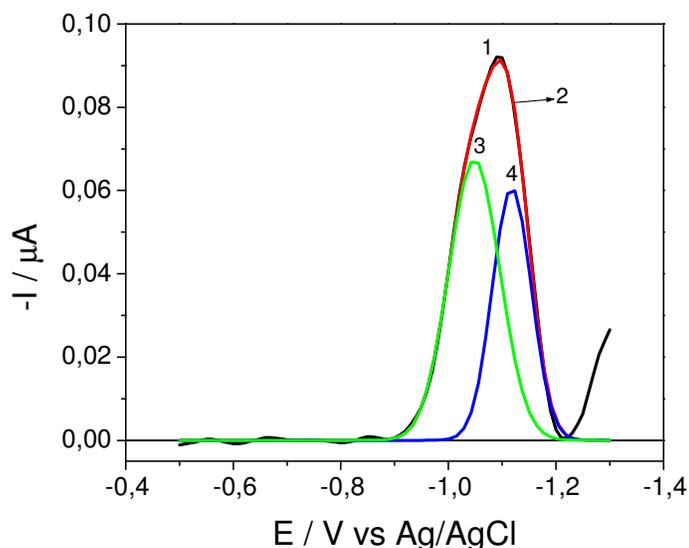


Figura 66: Voltamograma de onda quadrada referente a análise de $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de simazina em 10 mL de eletrólito suporte contendo 500 μ L de uma solução aquosa de rapadura 0,040 g mL⁻¹. Deconvolução: Experimental (1) e Ajustado (2). Picos separados: Amostra de açúcar mascavo (3) e simazina (4). Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 3,5, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

4.5 Determinação eletroanalítica do diuron

O herbicida diuron, largamente utilizado na cultura de cana-de-açúcar, também foi analisado por voltametria de onda quadrada. O diuron apresentou um pico de redução em -1,13 V com perfil voltamétrico alargado, mostrando a presença de dois picos voltamétricos por meio da aplicação do procedimento matemático de deconvolução, como mostra a Figura 67.

Trabalhos encontrados na literatura^{22,83}, mostram que o diuron sofre uma hidrólise irreversível espontânea (hidrólise do grupo amino aromático) catalisada por OH⁻ e H⁺ em uma taxa apreciável gerando um derivado mais simples, identificado como 3,4-dicloroanilina, que é responsável pelo segundo pico (Pico 4) observado.

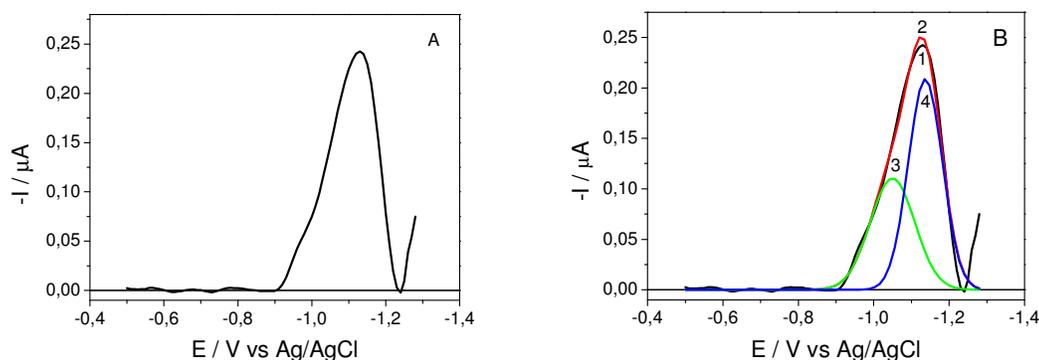


Figura 67: (A) Voltamograma de onda quadrada para a redução do diuron ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). (B) Deconvolução: Experimental (1) e Ajustado (2). Picos das substâncias desconhecidas (3 e 4). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

As estruturas dos compostos estão mostradas na Figura 68.

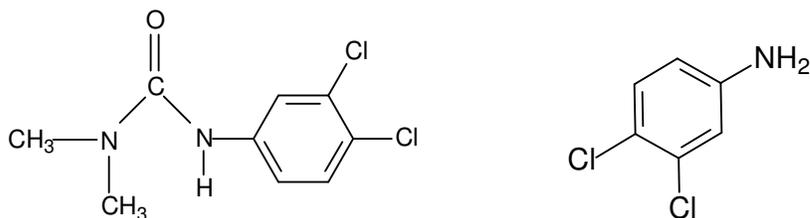


Figura 68: Estrutura química do diuron e da 3,4-dicloroanilina.

4.6 Determinação eletroanalítica do diuron em amostras de derivados de cana-de-açúcar

Nas amostras de caldo de cana, ausência de intensidade de corrente entre -1,0 e -1,13 V que caracterize a formação do pico voltamétrico referente ao diuron, mostrou que resíduos deste composto não foram encontrados em tais amostras. Em

relação às amostras de rapadura e açúcar mascavo, a ausência de intensidade de corrente entre -1,0 e -1,2 V, mostrou a não detecção de resíduos do composto.

4.7 Verificação da eletroatividade da clorofila e da sacarose sobre o mercúrio e efeitos de possíveis interferências na detecção dos herbicidas

Devido ao alto teor de sacarose presente na cana-de-açúcar e a conhecida eletroatividade da clorofila sobre a superfície do mercúrio⁷⁶⁻⁷⁸, decidiu-se mostrar a possibilidade da interferência destes compostos na detecção dos herbicidas. A clorofila em uma concentração máxima de $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, nas condições voltamétricas (SWV: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV / VC}$: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0 e $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$) não apresentou resposta voltamétrica, não correspondendo aos picos de redução referentes ao caldo de cana. Da mesma forma, a sacarose nestas condições voltamétricas não apresentou resposta e estudos da análise de concentrações da sacarose ($2,92 \times 10^{-3}$ a $2,80 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) em presença de 10 mL de eletrólito suporte contendo concentrações fixas dos herbicidas, não mostraram modificações das respostas eletroquímicas dos mesmos.

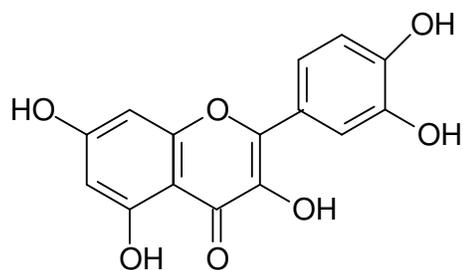
De acordo com os resultados obtidos na amostra de rapadura e no açúcar mascavo, notaram-se a presença de processos de redução de substâncias desconhecidas sobre a superfície do HMDE. Estudos mostraram que essas substâncias não são a sacarose e/ou clorofila, e também não representam produtos do tratamento térmico destes compostos, pois foram realizados tratamentos de 110 –130 °C na solução aquosa de sacarose e etanólica de clorofila (etanol / água), diminuindo em 50 % o volume total dessas soluções e realizado posteriormente adições de diferentes quantidades (50 a 500 μL) dessas soluções à cela eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte, mas não apresentaram

respostas voltamétricas. Esse tratamento térmico foi realizado, pois a rapadura e o açúcar mascavo são preparados a partir do caldo de cana (sacarose e clorofila presentes) entre temperaturas de 100 a 130 °C.

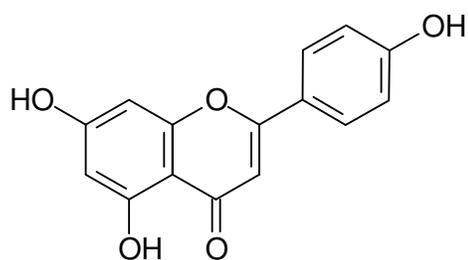
4.8 Estudo eletroquímico dos flavonóides

Sabendo-se que os picos de redução do caldo de cana (50 µL de amostra adicionado a 10 mL de eletrólito suporte) não correspondem a atrazina, ametrina, simazina, diuron, clorofila e/ou sacarose, suspeitou-se que alguns flavonóides pudessem ser responsáveis pela resposta voltamétrica da amostra sobre o eletrodo de mercúrio. Com isso, quatro dos flavonóides comumente encontrados na cana-de-açúcar (apigenina, quercetina, orientina e luteolina) foram analisados para a verificação da eletroatividade na superfície do HMDE e, conseqüentemente dos valores dos potenciais nas respostas voltamétricas. As estruturas destes compostos estão mostradas na Figura 69.

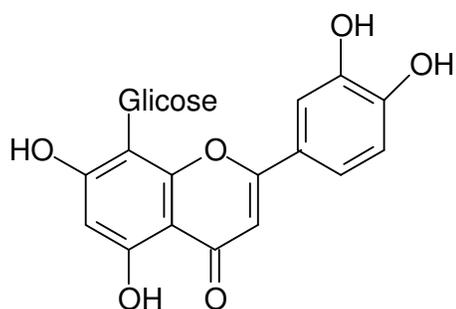
A Figura 70 mostra os voltamogramas de onda quadrada referentes aos processos de redução destes flavonóides. Sabe-se de trabalhos encontrados na literatura³³ que estes flavonóides podem ser encontrados na cana-de-açúcar. Neles observam-se picos bem definidos em potenciais de -1,14 V para a luteolina, apigenina e orientina e -1,17 V para a quercetina, entretanto, com intensidades de correntes diferentes.



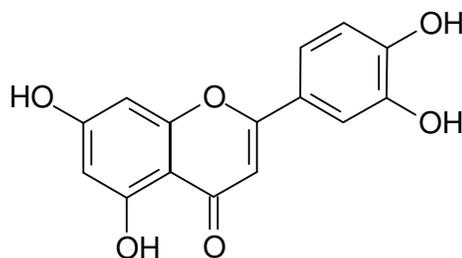
Quercetina



Apigenina



Orientina



Luteolina

Figura 69: Estruturas dos flavonóides estudados.

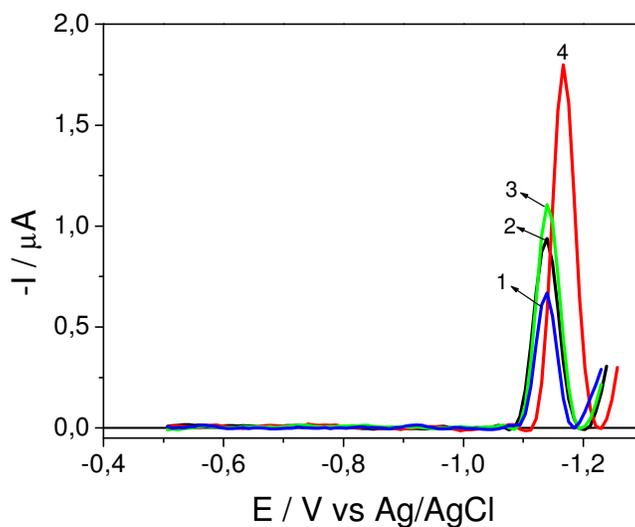


Figura 70: Voltamogramas de onda quadrada para os flavonóides em uma concentração de $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para cada composto: Luteolina (1), Orientina (2), Apigenina (3) e Quercetina (4). Condições: Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,0, f: 100 s^{-1} , a: 50 mV , ΔE_s : 10 mV .

Os flavonóides podem sofrer redução sobre o eletrodo de mercúrio via grupo carbonila no anel γ -pirona⁸⁴. Um trabalho pioneiro de Engelkemeir e colaboradores⁸⁵ mostraram as reduções eletroquímicas da apigenina, quercetina e derivados, quercitrina e flavonol sobre o eletrodo gotejante de mercúrio (DME). Os valores de potenciais de meia-onda a pH 7,7 variaram entre -1,16 a -1,63 V vs eletrodo de calomelano saturado. Notou-se, em relação aos valores de potenciais de meia-onda, que a apigenina e a quercetina apresentaram $E_{1/2}$ de -1,63 V e -1,62 V, respectivamente. Se esses valores são comparados aos valores de $E_{1/2}$ para o flavonol (-1,33 V), pentaacetato de quercetina (-1,16 V) e pentametiléter de quercetina (-1,43 V) apresentaram diferenças entre valores de $E_{1/2}$ são de 200 a 500 mV menos negativos.

4.8.1 Determinação eletroanalítica dos flavonóides em caldo de cana

Foram analisadas concentrações entre $1,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ dos flavonóides na solução contendo a amostra de caldo de cana 1 (50 μ L) e os voltamogramas de onda quadrada estão mostrados na Figura 71.

Notou-se em todos os casos, que o pico 1 (menos catódico) do caldo de cana não modificou significativamente a intensidade da corrente, não sendo representativo da atividade eletroquímica dos flavonóides estudados. Porém, o pico 2 (mais catódico) representou a detecção de uma mistura de flavonóides, pois sucessivas adições de quantidades conhecidas dos compostos, aumentou a intensidade da corrente deste pico da amostra, não ocorrendo deslocamentos de potenciais e deformações nos voltamogramas como no caso da quercetina.

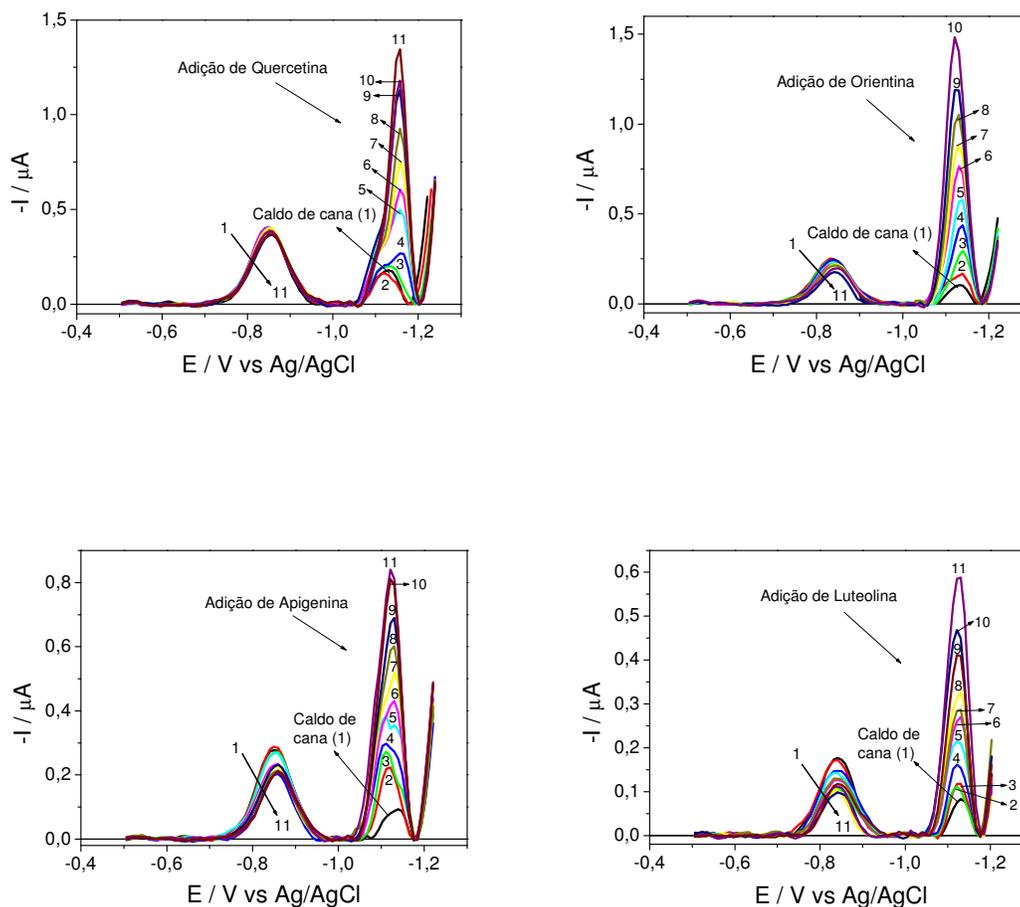


Figura 71: Voltamogramas de onda quadrada para adições de flavonóides (quercetina, orientina, apigenina e luteolina) a amostra de caldo de cana 1. Caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: 1,0 (2); 2,0 (3); 3,0 (4); 4,0 (5); 5,0 (6); 6,0 (7); 7,0 (8); 8,0 (9); 9,0 (10); 10,0 $\times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (11). Condições: Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,0, f: 100 s⁻¹, a: 50 mV, $\Delta E_s = 10$ mV.

Em relação ao pico 1 da amostra (50 μ L de amostra: Pico 1: E_p : -0,85 V), sugere-se pela diferença de $E_{1/2}$ para os flavonóides estudados, mostrada no trabalho de Engelkemeir, que este pico 1 pode representar os derivados da quercetina (pentametiléter de quercetina e/ou pentaacetato de quercetina) assim como o flavonol como mostrado na Tabela 13, por meio de valores calculados de potenciais. Como os valores de potenciais obtidos com o HMDE deslocaram-se para valores mais positivos, principalmente pela drástica mudança no valor de pH, os

valores calculados se aproximam do valor do potencial do pico 1 da amostra de caldo de cana, sugerindo que estes flavonóides sejam responsáveis pela significativa atividade eletroquímica da amostra. Entretanto, não foi possível uma confirmação destas suposições por falta de substâncias puras.

Tabela 13: Comparação entre valores de $E_{1/2}$ ⁸⁵ e de potenciais de pico para os flavonóides estudados.

Flavonóides	$E_{1/2}$ (V) (pH 7,7 vs ECS) / DME	E_p (V) (pH 2,0 vs Ag/AgCl) / HMDE
Apigenina	-1,63	-1,14
Quercetina	-1,62	-1,17
Pentametiléter de quercetina	-1,43	<u>-0,98*</u>
Pentaacetato de quercetina	-1,33	<u>-0,88*</u>
Flavonol	-1,16	<u>-0,71*</u>

* Valores calculados em relação ao E_p da quercetina.

Uma outra possibilidade de possíveis flavonóides encontrados na cana-de-açúcar³³ são os derivados glicosilados da diosmetina, da tricina e da luteolina e também derivados da apigenina (schaftosídeo e isoschaftosídeo) que por possuírem em sua estrutura química um grupo carbonila no anel γ -pirona, podem sofrer redução sobre o eletrodo de mercúrio, apesar de não terem sido encontrados, trabalhos na literatura que mostram esse processo de redução. Estes flavonóides também não foram testados por falta de substâncias padrões.

4.8.2 Efeitos de possíveis flavonóides na detecção dos herbicidas em amostras de caldo de cana

A perda de sensibilidade do método de detecção dos herbicidas é característica de amostras reais tão complexas como o caldo de cana. Neste caso,

pode ser explicada por importantes efeitos da matrix, interferência dos flavonóides presentes nas amostras ou por alguma reação química redox ou associação (formação de um aduto) entre flavonóides e herbicidas, mas essas suposições devem ser exploradas em estudos mais específicos, além disso, não temos certeza se este pico de redução do caldo de cana (menos catódico) corresponde a alguns flavonóides, mas apenas uma forte suposição desta análise qualitativa.

Uma outra possível explicação para as diminuições nas intensidades das correntes dos picos de redução das substâncias eletroativas (flavonóides) no HMDE, quando diferentes quantidades de herbicidas, no caso triazinas, são adicionadas a 10 mL de eletrólito suporte contendo 50 μ L das amostras de caldo de cana, pode ser explorada em função dos herbicidas triazínicos apresentarem forte adsorção a superfície do eletrodo de mercúrio^{72,86}. Com isso, quando uma quantidade, por exemplo, de atrazina, é adicionada ao eletrólito suporte contendo o caldo de cana (presença de alguns flavonóides), moléculas do herbicida adsorvem na superfície eletródica e conseqüentemente, diminuem a resposta voltamétrica dos flavonóides presentes no caldo de cana. Este efeito também acontece com as amostras de rapadura e de açúcar mascavo e foi notado com os três herbicidas triazínicos estudados neste trabalho.

4.9 Separação cromatográfica das triazinas por HPLC/UV

Foram realizados estudos para a separação cromatográfica da atrazina, ametrina e simazina. A Figura 72 mostra a separação em condições já estudadas⁴², o que não é possível pela voltametria de onda quadrada, devido a valores de potenciais de redução bastante próximos. Os valores dos tempos de retenção foram para a simazina, atrazina e ametrina de 8,73; 12,32; 22,0 minutos, respectivamente.

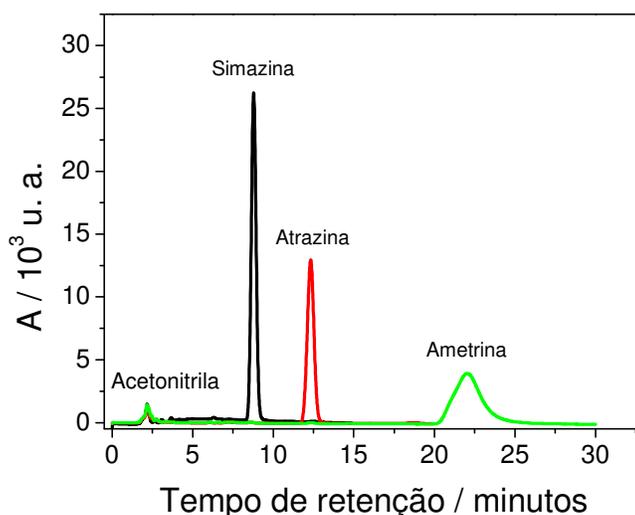


Figura 72: Cromatogramas HPLC-UV para soluções padrões das triazinas (Concentrações: Triazinas = $9,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Condições: Fase móvel: acetonitrila/água (NH₄OH 0,01 % pH = 8,1) 40/60 v/v, com fluxo de 0,8 mL min⁻¹ em condição isocrática, comprimento de onda de 222 nm.

As ordens de eluição da simazina, atrazina e ametrina podem ser explicadas pelas estruturas dessas triazinas. A basicidade desses herbicidas aumenta com os substituintes: -Cl<-SCH₃. Substituições nas posições 4 e 6 afetam a diminuição na basicidade, embora isso aumente com o aumento no número de H substituintes no grupo amino e com o comprimento do grupo alquil. O efeito indutivo (-I) é mais forte para o -Cl, o substituinte na posição 2 da simazina e atrazina, em relação ao grupo -SCH₃ da ametrina e causa um aumento na densidade de carga no anel triazínico, em particular nos átomos de N nas posições 1 e 3, resultando em uma estrutura mais polar com menor afinidade com a fase estacionária¹².

Foram calculados os fatores de retenção para os analitos, pela equação 11⁴⁷:

$$K = t_r - t_m / t_m \quad \text{Equação 11}$$

O t_R é o tempo de retenção: tempo após a injeção da amostra, que o analito demora em atingir o detector, t_m é o tempo morto, tempo em que a espécie não-retida demora para alcançar o detector (2,16 minutos). Os valores calculados foram:

Simazina – k: 3,04

Atrazina – k: 4,70

Ametrina – k: 9,18

Os valores ideais de fatores de retenção dos solutos (triazinas) em uma mistura caem no intervalo entre 2 e 10^{47} . Adicionalmente, as Cl-triazinas; simazina (k = 3,04) e atrazina (k = 4,70) apresentam tempos de retenção menores e conseqüentemente fatores de retenção menores, k, que S-triazinas, ametrina, k = 9,18. Comparando diferentes compostos com o mesmo substituinte na posição 2, o valor de k pode ser explicado considerando o grupo substituinte nas posições 4 e 6. Além disso, os valores de k das Cl-triazinas tem a seguinte ordem: simazina < atrazina¹². Diante disso, a quantificação desses herbicidas em amostras ambientais, tais como o caldo de cana, pode ser realizada.

4.10 Determinação cromatográfica dos herbicidas estudados nas amostras do caldo de cana

4.10.1 Caldo de cana 1 (São Carlos)

O extrato do caldo de cana (extração líquido-líquido com clorofórmio) apresentou o cromatograma mostrado abaixo na Figura 73. Observou-se picos bem definidos nos tempos de retenção para o **pico 1**: 2,28 minutos, **pico 2**: 6,18 minutos e **pico 3**: 13,8 minutos. Comparando-se os tempos de retenção, principalmente do pico 3, com os t_R dos herbicidas da Figura 72, notou-se a possibilidade deste pico representar tais triazinas.

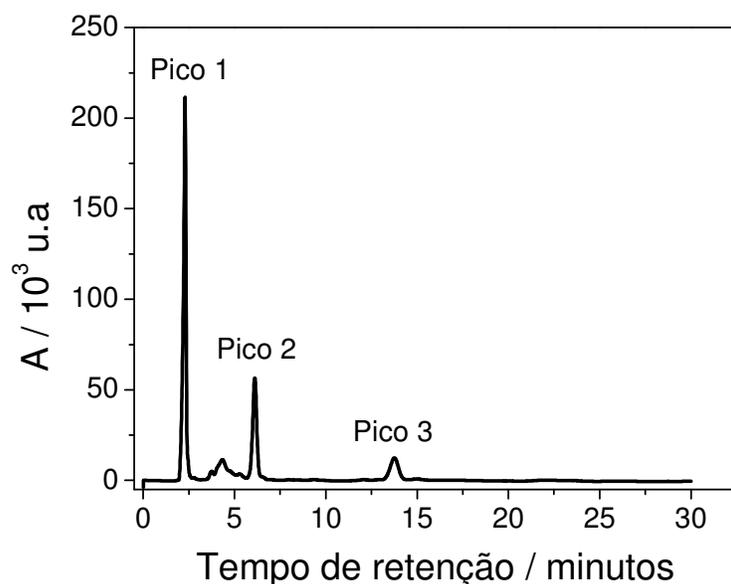


Figura 73: Cromatograma HPLC-UV para o extrato de caldo de cana 1. Condições: Fase móvel: acetonitrila/água (NH_4OH 0,01 % pH = 8,1) 40/60 v/v, com fluxo de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ em condição isocrática, comprimento de onda de 222 nm.

Com isso, a amostra (extrato) foi contaminada com diferentes quantidades conhecidas dos herbicidas para a tentativa de identificação deste pico 3. Primeiramente foram adicionados diferentes quantidades da simazina a esta amostra, sendo os cromatogramas mostrados abaixo na Figura 74.

A adição das quantidades dos herbicidas simazina mostraram picos bem definidos no t_R : 8,65 minutos, tempo menor que o t_R do pico 3 do extrato, concluindo-se que o pico 3 não representa a simazina. Em relação aos picos 1 e 2, houve uma diminuição na intensidade de área quando adicionou-se o herbicida. O pico 3 quando adicionou-se a primeira quantidade da simazina, houve uma significativa diminuição no valor de intensidade de área. Sucessivas adições mostraram o desaparecimento do pico 3 e uma perda em 26,45 % no valor de intensidade de área do pico do herbicida em uma concentração de $9,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ analisada no extrato em relação à mesma concentração ($9,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) somente em fase

móvel. Também não houve modificação no perfil cromatográfico do pico do herbicida adicionado no extrato quando comparado ao pico do herbicida somente em fase móvel.

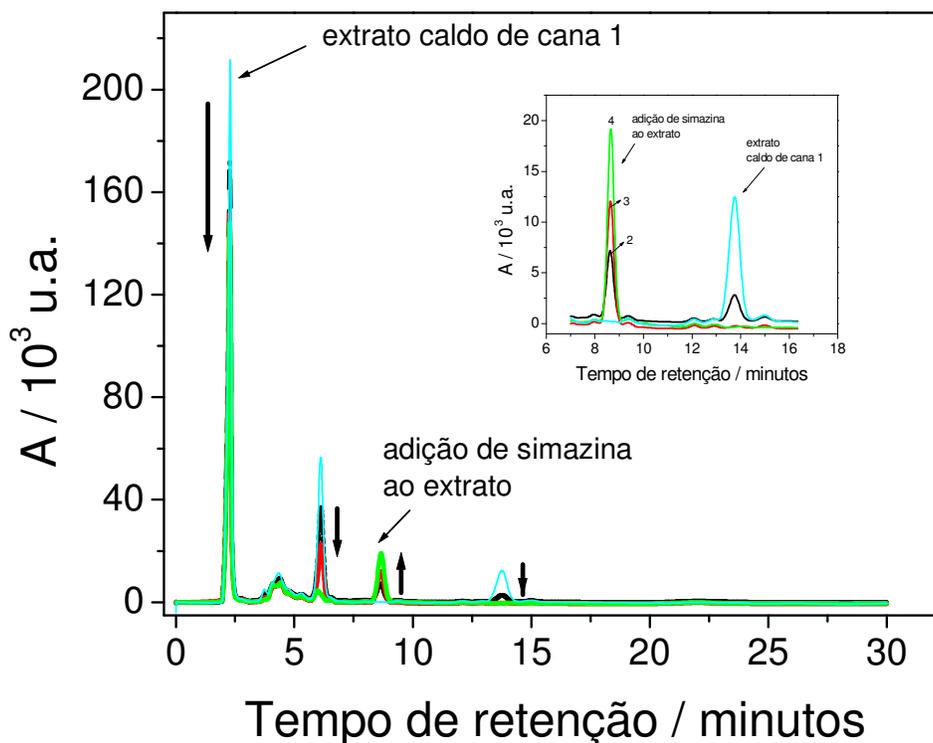


Figura 74: (A) Cromatogramas HPLC-UV para as adições de quantidades conhecidas de simazina ao extrato de caldo de cana 1. (B) Figura ampliada destas adições. Extrato do caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: 3,0 (2); 6,0 (3); $9,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (4). Condições: Fase móvel: acetonitrila/água (NH_4OH 0,01 % pH = 8,1) 40/60 v/v, com fluxo de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ em condição isocrática, comprimento de onda de 222 nm.

Analogamente, foram adicionadas quantidades de atrazina e ametrina ao extrato, sendo os cromatogramas mostrados abaixo na Figura 75. Da mesma forma, a adição dos herbicidas atrazina e ametrina mostraram picos em tempos de retenção menores e maiores que o t_R do pico 3 respectivamente. Com isso, mostrou-se a ausência de resíduos desta classe de herbicidas nesta amostra de caldo de cana. A

adição mostrou diminuição no valor de intensidade de área dos picos 1 e 2 (semelhante ao caso da simazina), enquanto houve o desaparecimento do pico 3.

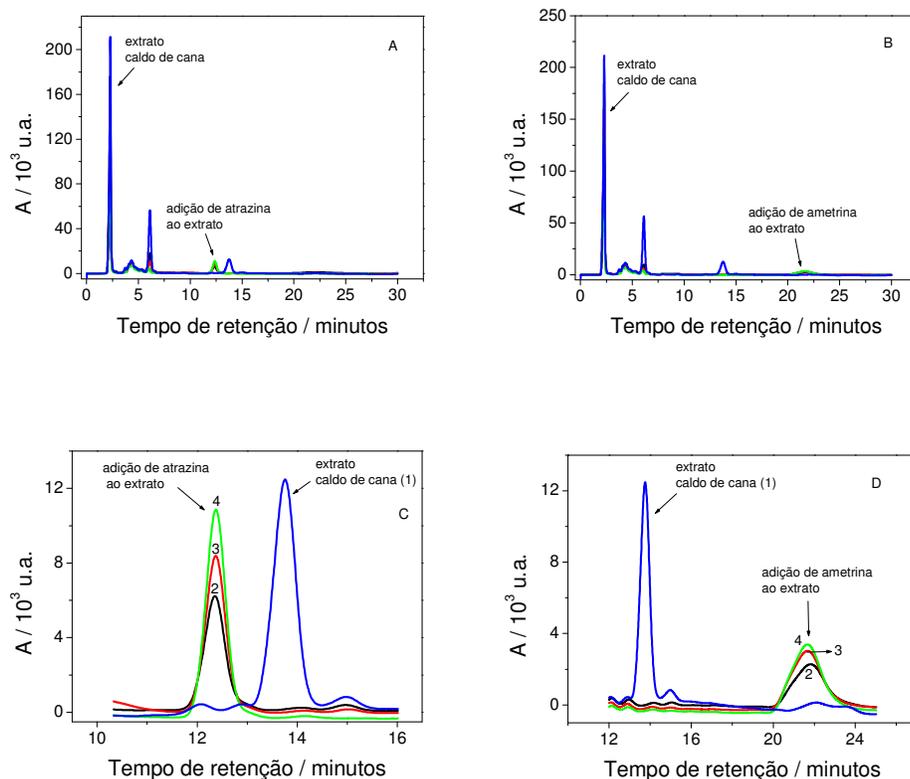


Figura 75: Cromatogramas para as adições de quantidades conhecidas de atrazina (A) e ametryn (B) ao extrato de caldo de cana 1. Figuras ampliadas das adições de atrazina (C) e ametryn (D) ao extrato. Extrato do caldo de cana 1 (1). Concentrações analisadas: 3,0 (2); 6,0 (3); $9,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (4). Condições: Fase móvel: acetonitrila/água (NH₄OH 0,01 % pH = 8,1) 40/60 v/v, com fluxo de 0,8 mL min⁻¹ em condição isocrática, comprimento de onda de 222 nm.

Houve uma perda de 16,65 % e 13,82 % no valor de intensidade de área do pico do herbicida em uma concentração de $9,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ analisada no extrato em relação à mesma concentração ($9,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) somente em fase móvel para a atrazina e ametryn, respectivamente. Também não houve modificações nos perfis dos picos dos herbicidas no extrato quando comparados aos picos somente em fase móvel.

Colombo³³ desenvolveu um procedimento de extração e análise de flavonóides no bagaço e nas folhas de cana-de-açúcar e aplicou esta metodologia na análise da garapa e nas variedades de cana geneticamente modificadas, utilizando principalmente a técnica de HPLC/UV. Apesar da otimização das condições de extração dos flavonóides do bagaço e das folhas da cana, foi impossível obter uma fração exclusivamente flavonoídica somente com o processo de extração. Desta forma, foi necessário o desenvolvimento de uma etapa de “clean up”, antecedendo às análises por cromatografia líquida, para a eliminação de interferentes que pudessem interferir nas análises ou prejudicar a coluna cromatográfica, como a clorofila. Um dos métodos testados visando à obtenção de uma fração contendo todos os flavonóides foi o sistema de solvente clorofórmio/água. Teoricamente a fase aquosa obtida deveria conter os flavonóides e a fase clorofórmica, a clorofila. Porém, neste estudo, a fase aquosa reteve os flavonóides mais polares, enquanto os flavonóides mais apolares ficaram retidos na fase clorofórmica juntamente com a clorofila e os fenóis.

Portanto, sugere-se que os picos não identificados (Picos 1 a 3) neste trabalho de mestrado possam ser de alguns flavonóides que estão presentes no caldo de cana e que ficam retidos em ambas as fases, aquosa e clorofórmica. A adição de quantidades de herbicidas mostrou o desaparecimento desses picos, principalmente do pico 3. Diante disso, cresce a possibilidade de uma reação química ou associação (formação de um aduto) entre os herbicidas e os possíveis flavonóides presentes no extrato de caldo de cana .

4.10.2 Caldo de cana 2 (Ibaté)

Os resultados obtidos pela aplicação das metodologias eletroanalíticas desenvolvidas neste trabalho na análise da amostra de caldo de cana 2 mostraram ausência de resíduos de triazinas e de diuron. Esta amostra também foi analisada por Zuin e col.⁸⁷ (**trabalho realizado em 2005**) que realizou a comparação entre duas técnicas de extração modernas e “amigas do meio ambiente”, a extração por sorção em barra magnética (SBSE) e a extração por solvente assistida por membrana (MASE), para a determinação de resíduos de 18 contaminantes orgânicos em suco de cana-de-açúcar (garapa). A SBSE, associada a dessorção térmica e cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (SBSE-TDS-GC-MS) e a MASE, combinada com a injeção de grandes volumes e cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (LVI-GC-MS) foram comparadas, considerando-se o tempo de extração, os valores de recuperação, a repetibilidade e os limites de detecção dos compostos de interesse (pesticidas da classe das triazinas, organoclorados e organofosforados, bem como de benzo[a]pireno). Os métodos baseados em SBSE e MASE foram aplicados para a análise de 9 amostras de garapa (inclusive a amostra de caldo de cana 2, analisada por SWV) provenientes da região e da cidade de São Carlos, parte da região conhecida como o “cinturão da cana-de-açúcar”, SP-Brasil. Os resultados da detecção de resíduos de pesticidas e de benzo[a]pireno determinados por ambos os métodos (**2 a 100 ng L⁻¹**) foram comparados e mostraram boa concordância.

Especificamente no caso das triazinas, as baixas concentrações (na ordem de ng L⁻¹) detectadas no trabalho de Zuin, não são possíveis de serem detectadas pelas metodologias eletroanalíticas desenvolvidas no presente trabalho, por

apresentarem valores de limites de detecção e de quantificação acima das concentrações encontradas.

As concentrações de resíduos de triazinas encontradas especificamente em amostras de caldo de cana no trabalho de Andrade⁹, **11,6 a 45,2 $\mu\text{g L}^{-1}$** , não foram detectadas neste trabalho pela SWV e também no trabalho de Zuin, por meio de métodos cromatográficos. Assim, acredita-se que as metodologias eletroanalíticas desenvolvidas estejam de acordo com as metodologias cromatográficas desenvolvidas por Zuin e colaboradores, não correspondendo às expectativas de detecção destes resíduos na ordem de 10 - 45 $\mu\text{g L}^{-1}$. Adicionalmente, Andrade julgou que as concentrações de herbicidas encontradas no caldo de cana não são prejudiciais à saúde, o que não está de acordo com os limites máximos de resíduos de tais herbicidas em águas e diversos alimentos, determinados pela legislação ambiental descrita neste trabalho e avaliada por diversos órgãos governamentais.

4.11 Estudo da possível reação química entre componentes do caldo de cana (flavonóides) e herbicidas por espectroscopia de ultravioleta (UV-Vis)

Em virtude da possibilidade da presença de alguma reação química redox ou associação entre as espécies (flavonóides e herbicidas), decidiu-se realizar estudos por espectroscopia UV-Vis, por exemplo, com a atrazina, para a confirmação de tal hipótese. A Figura 76 mostra os espectros de UV do caldo de cana puro, da atrazina em uma concentração de $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, da mistura teórica e experimental atrazina-caldo de cana.

Observou-se que o caldo de cana 1 apresentou uma banda de absorção em 272 nm, relativamente característico de flavonóides³⁶. Já a atrazina apresentou um

espectro de absorção bem definido com bandas em 221nm e 272 nm, semelhante ao encontrado na literatura¹².

As bandas do caldo de cana e da atrazina na mistura experimental se mostraram com valores de absorbância inferiores aos valores de absorbância da mistura teórica, evidenciando fortemente de que há algum tipo de reação química redox ou associações entre os herbicidas e possíveis flavonóides presentes no caldo de cana, mesmo que a concentração de atrazina estudada supere em 10 vezes a estimativa da concentração de espécies eletroativas no caldo de cana, $3,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} (na Figura 24 a intensidade da corrente de $3,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} de atrazina na presença do caldo é semelhante à intensidade da corrente do pico menos catódico de 50 μ L do caldo de cana em 10 mL de eletrólito suporte).

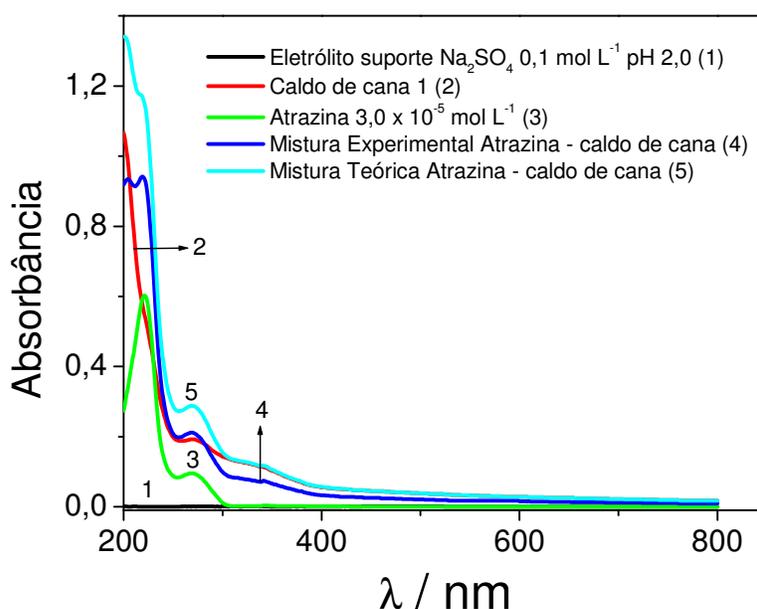


Figura 76: Espectros de absorção óptica na região do UV-vis do branco (1); 50 μ L de caldo de cana 1(2); atrazina $3,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} (3); mistura experimental atrazina-caldo de cana 1 (4) e mistura teórica atrazina-caldo de cana 1 (5) em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH 2,0). Caminho óptico das cubetas: 1,0 cm.

Neste estudo não foram considerados os efeitos de diluição da mistura experimental atrazina-caldo de cana em relação à mistura teórica, mas essa evidência, bem como a possível reação química, serão exploradas em pesquisas adicionais.

4.12 Considerações finais e perspectivas futuras

Em relação às amostras extremamente complexas de caldo de cana, deve-se em trabalhos futuros, entender por meio de diversas técnicas experimentais, as possíveis reações químicas entre os herbicidas e os flavonóides presentes no caldo de cana, pois estas podem mascarar a presença de herbicidas.

Em consideração a temperatura de preparo da rapadura e do açúcar mascavo, pode-se dizer, de acordo com trabalhos publicados na literatura^{88,89}, que estes picos de redução referentes às amostras, não devem corresponder a produtos de degradação térmica dos herbicidas em estudo, pois estes compostos apresentam uma temperatura inicial de degradação de aproximadamente 460 K (187 °C).

Substâncias que podem ser responsáveis pela atividade eletroquímica das amostras de rapadura e também do açúcar mascavo, são produtos de degradação térmica de substâncias presentes no caldo de cana e principalmente, os principais metabólitos (produtos de degradação química ou biológica) dos herbicidas triazínicos, como por exemplo, da atrazina, representados pela deetilatrizona e deisopropilatrizona (produtos de degradação biológica), que apresentam respostas voltamétricas em potenciais bem próximos ao potencial de resposta da atrazina⁷³.

É extremamente interessante e válido entender como essas substâncias “desconhecidas” presentes na rapadura e no açúcar mascavo podem influenciar na detecção dos herbicidas, ou seja, analisar os efeitos das matrizes nas respostas voltamétricas desses compostos na superfície do HMDE e também informações

eletroquímicas sobre o transporte de massa dessas substâncias à superfície eletródica bem como, se ocorrem outros processos (tanto de redução quanto de oxidação) que possam elucidar o mecanismo de reação redox dessas substâncias supostamente desconhecidas.

5 CONCLUSÕES

Nas condições voltamétricas otimizadas, a atrazina e a ametrina apresentaram picos de redução bem definidos em valores de potenciais bem próximos, ocorrendo em uma mistura, a formação de um único pico voltamétrico com perfil alargado. O uso do procedimento matemático de deconvolução possibilitou a separação dos dois picos voltamétricos e conseqüentemente a quantificação de um herbicida na presença de outro, com valores de LD compatíveis com a legislação atual.

Já no caso da simazina, não foi possível conseguir a separação de seu pico voltamétrico com aquele da atrazina devido à proximidade dos mesmos. Entretanto, sua determinação individual é muito adequada com a metodologia desenvolvida.

Os resultados obtidos por SWV para as amostras reais mostraram ausência de resíduos detectáveis de atrazina, ametrina, simazina e diuron em caldo de cana assim como significativos efeitos da matriz e interferências dos flavonóides presentes nas amostras. Este último caso foi evidenciado pelas respostas voltamétricas das soluções contendo somente caldo de cana e também em estudos realizados com vários flavonóides encontrados na cana-de-açúcar (quercetina, apigenina, orientina e luteolina). Alguns derivados desses flavonóides, principalmente da quercetina (que não foram testados), poderiam representar o pico principal do caldo de cana. Esses efeitos diminuem consideravelmente a sensibilidade dos métodos de detecção dos herbicidas em amostras de caldo de cana e aumentam os valores dos limites de detecção. Mesmo assim, os limites de detecção determinados neste trabalho se enquadram na legislação ambiental regulamentada para a cana-de-açúcar.

Para as amostras de rapadura e açúcar mascavo também não foram encontrados resíduos detectáveis dos herbicidas estudados e foram observados efeitos de interferências similares aos das amostras de caldo de cana.

Adicionalmente, as intensidades das correntes dos picos de redução registradas nas amostras de caldo de cana, rapadura e açúcar mascavo diminuem com adição de herbicidas. Isto sugere uma possível interação com a superfície eletródica onde os herbicidas se adsorvem na superfície do mercúrio e diminuem o sinal dos flavonóides. Alternativamente, esse comportamento pode ser devido à existência de reações químicas redox ou associações (formação de aduto) entre os flavonóides e os herbicidas, que podem evitar a detecção de resíduos destes herbicidas.

Esses últimos efeitos também foram observados por HPLC/UV e por espectroscopia UV-Vis e levantam sérias dúvidas sobre os resultados encontrados na literatura já que a presença de herbicidas poderia ser mascarada por essas reações. Com isso, julga-se necessário à realização de estudos específicos adicionais para a comprovação dessa possível reação química entre flavonóides e herbicidas por meio de diversas técnicas experimentais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução a Química Ambiental**. São Paulo: Bookman, 2004. 154 p.
- 2 SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA AGRÍCOLA (SINDAG). **Vendas de Defensivos devem aumentar 8 %**. Disponível em:<<http://www.sindag.com.br/new/noticias/intern.php?cod420>> Acesso em: 3 mar.2005
- 3 SPADOTTO, C. A. **Uso de herbicidas no Brasil**. Comitê do Meio Ambiente, Sociedade Brasileira da Ciência das plantas daninhas. 2002. Disponível em: <<http://.cnpma.embrapa.br/herbicidas>> Acesso em: 6 mar.2004.
- 4 CERDEIRA, A. L.; PESSOA, M. C. P. Y.; BONATO, P. S.; QUEIROZ, R. H. C.; LANCHOTE, V. L. Metodologia analítica de resíduo do herbicida 2,4-D (Ácido 2,4-Diclorofenóxiacético) em amostras de água em área de cultivo de cana-de-açúcar. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 12, p. 99-110, 2002.
- 5 BLANCO, H. G.; OLIVEIRA, D. D. Persistence of ametryne, atrazine, simazine and diuron in soil after repeated annual applications in sugar-cane culture. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, n. 9, p. 1161-1168, 1989.
- 6 BRONDI, S. H. G.; LANÇAS, F. M. HPLC determination of pesticide residues widely employed in sugar-cane cultures in river water samples. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 27, n. 1, p. 171-179, 2004.
- 7 LANCHOTE, V. L.; BONATO, P. S.; CERDEIRA, A. L.; SANTOS, N. A. G. DE CARVALHO, D.; GOMES, M. A. HPLC screening and GC-MS confirmation of triazine herbicides residues in drinking water from sugar cane area in Brazil. **Water Air and Soil Pollution**, v. 118, n. 3-4, p. 329-337, 2000.
- 8 TSENG, S. H.; LIN, Y. H.; CHANG, P. C.; CHOU, S. S.; CHANG, H. M. Determination of simazine residue in sugarcane by application of matrix solid phase dispersion (MSPD) extraction technique. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 12, n. 1, p. 74-78, 2004.
- 9 ANDRADE, Rita Mickaela Barros de. **Determinação de resíduos de herbicidas em derivados de cana-de-açúcar através de métodos analíticos de alta resolução (SFE, HRGC, GC/MS)**. 1995. 151 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.
- 10 CABRAL, M. F.; SOUZA, D.; ALVES, C. R.; MACHADO, S. A. S. Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametrina utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. **Eclética Química**, v. 28, n. 2, p. 41-47, 2003.

- 11 PACÁKOVÁ, V.; STULIK, K.; JISKRA, J. High-performance separations in the determination of triazine herbicides and their residues. **Journal of Chromatography A**, v. 754, n. 1-2, p. 17-31, 1996.
- 12 PINTO, G. M. F.; JARDIM, I. C. S. F. Use of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of triazine residues in water: validation of the method. **Journal of Chromatography A**, v. 869, n. 1-2, p. 463-469, 2000.
- 13 MELI, G.; BAGNATI, R.; FANELLI, R.; BENFENATTI, E.; AIROLDI, L. Metabolic profile of atrazine and N-nitrosoatrazine in rat urine. **Bulletin of Environmental Contaminants and Toxicology**, v. 48, n. 5, p. 701-708, 1992.
- 14 ATRAZINE IN VERMONT. CARCINOGEN & ENDOCRINE DISRUPTER. **Atrazine**. Disponível em: <<http://www.sorver.net/~dogster/atrazin2>> Acesso em: 7 jan.2004.
- 15 BAIRD, C. **Química ambiental**. Porto Alegre: Bookman, 2001. 622 p.
- 16 IGNJATOVIC, L. M.; VESELINOVIC, D. S.; MARKOVIC, D. A.; VUKELIC, N. S. Adsorptive stripping voltammetry determination of the herbicides atrazine and ametryne. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 63, n. 1, p. 75-84, 1998.
- 17 THE MERCK INDEX. **An Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals**. New Jersey: Merck, 1996. 572 p.
- 18 GALVIN, M. R.; MELLADO, J. M. R.; HIGUERA, M. J.; MONTOYA, M. R. Reductive detoxification of the s-triazine herbicides simazine and propazine at laboratory scale. **Bulletin of Electrochemistry**, v. 17, n. 2, p. 49-55, 2001.
- 19 HIGUERA, M. J.; MONTOYA, M. R.; GALVIN, R. M.; MELLADO, J. M. R. A contribution to study of the electroreduction of 2-chloro-4,6-di(ethylamino)-1,3,5-triazine (simazine) on mercury electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 474, n. 2, p. 174-181, 1999.
- 20 ESTUDO da interação de substância húmicas de solo com herbicidas s-triazinas. Disponível em: <[http://www.eesc.sc.usp.br/cetepe/cicte/ric/ric/art-6\(p35\).pdf](http://www.eesc.sc.usp.br/cetepe/cicte/ric/ric/art-6(p35).pdf)>. Acesso em: 12 mar.2004.
- 21 SORENSEN, S. R.; BENDING, G. D.; JACOBSEN, C. S.; WALKER, A.; AAMAND, J. Microbial degradation of isoproturon and related phenylurea herbicides in and below agricultural fields. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 45, n. 1, p. 1-11, 2003.
- 22 GIACOMAZZI, S.; COCHET, N. Environmental impact of diuron transformation: a review. **Chemosphere**, v. 56, n. 11, p. 1021-1032, 2004.

- 23 POLCARO, A. M.; MASCIA, M.; PALMAS, S.; VACCA, A. Electrochemical degradation of diuron and dichloroaniline at BDD electrode. **Electrochimica Acta**, v. 49, n. 4, p. 649-656, 2004.
- 24 ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Disponível em: <<http://www.epa.gov/safewater/mcl.html#mcls>>. Acesso em: 10 jan.2004.
- 25 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>> Acesso em: 4 ago.2004.
- 26 CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (RESOLUÇÕES CONAMA). Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/CONAMA/res/res86/res2086.html>>. Acesso em: 11 ago.2004.
- 27 INTERNATIONAL ASSOCIATION OF ENVIRONMENTAL ANALYTICAL CHEMISTRY. In: SAMPLE Handling of Pesticides in water. Barcelona: Active, 1994.
- 28 AMARANTE JUNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: Propriedades, Toxicidade, Usos e Legislação. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 589 – 593, 2002.
- 29 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/consulta/2002/34_2002.htm> Acesso em: 10 fev.2004.
- 30 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/consulta/2002/71_2002.htm> Acesso em: 10 ago.2004.
- 31 ORGANIZAÇÃO DE PLANTADORES DE CANA DO ESTADO DE SÃO PAULO (ORPLANA). **Perfil dos fornecedores de cana-de-açúcar no estado de São Paulo**. Disponível em:<http://www.orplana.com.br/perf_prod.htm>.Acesso em: 10 mar.2004.
- 32 UNIÃO DA AGROINDÚSTRIA CANAVIEIRA DE SÃO PAULO (UNICA). Disponível em: <www.unica.com.br/pages/artigos_palavra.asp> Acesso em: 5 set.2004.
- 33 COLOMBO, Renata. **Extração e análise cromatográfica (CLAE/UV e CLAE/EM) dos flavonóides da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*)**. 2003. 166 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
- 34 MABRY, T. J.; LIU, Y. L.; PEARCE, J. New flavonoids from sugarcane (*Saccharum*). **Journal of Natural Products**, v. 17, n. 1, p. 127-130, 1984.
- 35 McGHIE, T. K. Analysis of sugarcane flavonoids by capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography**, v, 634, n. 1, p. 107-112, 1993.

- 36 COLOMBO, R.; YARIWAKE, J. H.; QUEIROZ, E. F.; NDJOKO, K.; HOSTETTMANN, K. On-line identification of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) methoxyflavones by liquid chromatography–UV detection using post-column derivatization and liquid chromatography–massspectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1082, n. 1, p. 51-59, 2005.
- 37 FAVA, A. R. Atletas ingerem garapa para repor energia. **Net**: Campinas, mai. 2004. Jornal da Unicamp. Disponível em:
<http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/maio2004/ju250pag8a.html>
Acesso em: 14 mar.2005.
- 38 TECNOLOGIA da Unicamp permite industrializar garapa. **Net**: Campinas, mai. 2004. Disponível em:
<<http://www.estadao.com.br/ciencia/noticias/2004/mai/26/111.htm>> Acesso em: 6 abril.2005.
- 39 SISTEMA agroindustrial da cachaça de alambique. **Estudo técnico das alternativas de aproveitamento da cana-de-açúcar**. Disponível em:
<www.sebraemg.com.br/Geral/arquivo_get.aspx?cod_documento=15> Acesso em: 15 set.2004.
- 40 COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução à métodos cromatográficos**. Campinas: Editora da Unicamp, 1997. 279 p.
- 41 POZZEBON, J. M.; QUEIROZ, S. C. N.; JARDIM, I. C. S. F. Development of solid-phase extraction for triazines: Application to a biological sample. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 26, n. 5, p. 781-790, 2003.
- 42 MELO, L. F. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. New methods for solid-phase extraction and multiclass high-performance liquid chromatographic analysis of pesticides in grapes. **Journal of Chromatography**, v. 1032, n. 1-2, p. 51-58, 2004.
- 43 NOGUEIRA, J. M. F.; SANDRA, T.; SANDRA, P. Multiresidue screening of neutral pesticides in water samples by high performance liquid chromatography -electrospray mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 505, n. 2, p. 209-215, 2004.
- 44 DE LA PENÑA, A. M.; MAHEDERO, M. C.; BAUTISTA-SÁNCHEZ, A. Monitoring of phenylurea and propanil herbicides in river water by solid-phase extraction high performance liquid chromatography with photoinduced-fluorimetric detection. **Talanta**, v. 60, n. 2-3, p. 279-285, 2003.
- 45 TRAJKOVSKA, V.; PETROVSKA-JOVANOVIC, S.; CVETKOVSKI, M. Development and optimization of a method for the determination of simazine, atrazine and propazine using solid-phase extraction and HPLC/GC. **Journal of Serbian Chemical Society**, v. 63, n. 3, p. 199-204, 2001.

- 46 GALLI, A.; SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, 2005. No prelo.
- 47 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of Instrumental Analysis**. Philadelphia: Saunders College, 1998. 917 p.
- 48 BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electrochemistry**: principles, methods and applications. Oxford: Oxford University Press, 1994. 427 p.
- 49 BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods**: Fundamentals and Applications. 2. ed. New York: John Wiley, 2001. 833 p.
- 50 SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TOLEDO, R. A.; PEDROSA, V. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: Aplicações. **Química Nova**, v. 27, n. 5, 790-797, 2004.
- 51 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.
- 52 LOVRIC, M.; KOMORSKY-LOVRIC, S.; MURRAY, R. W. Adsorption effects in square-wave voltammetry of totally irreversible redox reactions. **Electrochimica Acta**, v. 33, n. 6, p. 739-744, 1988.
- 53 LOVRIC, M.; KOMORSKI-LOVRIC, S. Square-wave voltammetry of an adsorbed reactant. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 248, n. 2, p. 239-253, 1988.
- 54 NUWER, M. J.; O'DEA, J. J.; OSTERYOUNG, J. Analytical and kinetic investigations of totally irreversible electron-transfer reactions by square-wave voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 251, n. 1-2, p. 13-25, 1991.
- 55 SOUZA, D. **Utilização de ultramicroeletrodos na quantificação dos pesticidas paraquat e diclorvos em diferentes matrizes por voltametria de onda quadrada**. 2004. 167 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
- 56 LOVRIC, M.; BRANICA, M. Square-wave voltammetry peak current enhancements by adsorption and reversibility of the redox reaction. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 226, v. 1-2, p. 239-251, 1987.
- 57 FATOUROS, N.; KRULIC, D. Contribution to study of square-wave voltammetry in the case of simple irreversible reactions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 443, n. 2, p. 262-265, 1998.

- 58 CODOGNOTO, Lúcia. **Desenvolvimento de metodologias para a determinação e remoção eletroquímica de pentaclorofenol em amostras ambientais utilizando eletrodos de diamante**. 2003. 157 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
- 59 HAYES, M. H. B.; STACEY, M.; THAMPSON, J. M. Polarographic analysis of s-triazine herbicides. **Chemistry and Industry**, n. 28, p.1222-1223, 1967.
- 60 HENCE, R. J. Polarography of herbicides: a preliminary survey. **Pesticides Science**, n.1, p. 112-113, 1970.
- 61 BENADIKOVA, H.; KALVODA, R. Adsorptive stripping voltammetry of some triazines and nitro group-containing pesticides. **Analytical Letters**, v. 17, n. 13, p. 1519-1531, 1984.
- 62 LIPPOLIS, M. J.; CONCIALINI, V. Differential pulse polarographic determination of the herbicides atrazine, prometryne and simazine. **Talanta**, v. 35, n. 3, p. 235-236, 1988.
- 63 BILEWICZ, R.; GLODOWSKI, S.; KUBLIK, Z. A comparison of several electroanalytical methods of determination of simazine. **Chemia Analityczna**, v. 37, n. 2, p. 211-218, 1992.
- 64 GALVEZ, R.; PEDRERO, M.; VILLENA, F. J. M.; PINGARRON, J. M.; POLO, L. M. Polarography study of simazine in micellar and emulsified media. **Analytica Chimica Acta**, v. 273, n. 1-2, p. 343-349, 1993.
- 65 IGNJATOVIC, L. M.; MARKOVIC, D. A.; VESELINOVIC, D. S.; BESIC, B. R. Polarographic behavior and determination of some s-triazine herbicides. **Electroanalysis**, v. 5, n. 5-6, p. 529-533, 1993.
- 66 SKOPALOVÁ, J.; KOTOUCEK, M. Polarographic behavior of some s-triazine herbicides and their determination by adsorptive stripping voltammetry at the hanging mercury drop electrode. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 351, n. 7, p. 660-665, 1995.
- 67 POSPISIL, L.; TRSKOVÁ, R.; FUOCO, R.; COLOMBINI, M. P. Electrochemistry of s-triazine herbicides: reduction of atrazine and terbutylazine in aqueous solutions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 395, n. 1-2, p. 189-195, 1995.
- 68 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 of Environmental Analytical Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 67-76, 1996.
- 69 COLOMBINI, M. P.; FUOCO, R.; GIANNARELLI, S.; POSPISIL, L.; TRSKOVÁ, R. Protonation and degradation reactions of s-triazine herbicides. **Microchemical Journal**, v. 59, n. 2, p. 239-245, 1998.

- 70 DRAGUNSKI, J. C. **Aspectos analíticos e mecânicos do comportamento eletroquímico do herbicida atrazina**. 2003. 68 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
- 71 NASCIMENTO, P. C.; BOHRER, D.; DE CARVALHO, L. M.; TREVISAN, J.; PILAU, E. J.; VENDROME, Z. B.; DESSUY, M. B. Determination of triazines in hemodialysis saline solutions by adsorptive stripping voltammetry after extraction in acetonitrile. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 4, p. 577-583, 2003.
- 72 HIGUERA, M. J.; MONTOYA, M. R.; GALVIN, M. R.; MELLADO, J. M. R. Some aspects on the electrochemical behaviour atrazine and propazine on mercury electrodes. **Bulletin of Electrochemistry**, v. 19, n. 11, p. 513-520, 2003.
- 73 SANTOS, L. B. O.; ABATE, G.; MASINI, J. C. Determination of some atrazine using square wave voltammetry with the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE). **Talanta**, v. 62, n. 4, p. 667-674, 2004.
- 74 SANTOS, L. B. O.; SILVA, M. S. P.; MASINI, J. C. Developing a sequential injection-square wave voltammetry (SI-SWV) method for determination of atrazine using a hanging mercury drop electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 528, n. 1, p. 21-27, 2005.
- 75 MACOUNOVA, K.; KLIMA, J.; BERNARD, C.; DEGRAND, C. Ultrasound-assisted anodic oxidation of diuron. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 457, n. 1-2, p. 141-147, 1998.
- 76 MONCELLI, M. R.; BECUCCI, L.; DOLFI, A.; BUONINSEGNI, F. T.; AGOSTIANO, A. Monolayers and multilayers of chlorophyll *a* on a mercury electrode. **Bioelectrochemistry**, v. 56, n. 1-2, p. 159-162, 2002.
- 77 BUONINSEGNI, F. T.; BECUCCI, L.; MONCELLI, M. R.; GUIDELLI, R.; AGOSTIANO, A.; COSMA, P. Electrochemical and photoelectrochemical behavior of chlorophyll *a* films adsorbed on mercury. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 550-551, p. 229-234, 2003.
- 78 COSMA, P.; LONGOBARDI, F.; AGOSTIANO, A. Electrochemical characterization of species involved in photosynthesis: from proteins to model systems. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 564, p. 35-43, 2004.
- 79 HATRÍK, S.; TEKEL, J. Extraction methodology and chromatographic for the determination of residual pesticides in water. **Journal of Chromatography A**, v. 733, n. 1-2, p. 217-233, 1996.
- 80 PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L.; AVACA, L. A. Determinação voltamétrica de 4-clorofenol sobre o eletrodo de diamante dopado com boro utilizando a voltametria de onda quadrada. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 844-849, 2003.

- 81 BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio-Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.
- 82 O'DEA, J. J.; RIBES, A.; OSTERYOUNG, J. G. Square-wave voltammetry applied to the totally irreversible reduction of adsorbate. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 345, n. 1-2, p. 81-89, 2003.
- 83 SALVESTRINI, S.; DI CERBO, P.; CAPASSO, S. Kinetics of the chemical degradation of diuron. **Chemosphere**, v. 48, n. 1, p. 69-73, 2002.
- 84 REICHART, E.; OBENDORF, D. Determination of naringin in grapefruit juice by cathodic stripping differential pulse voltammetry at the hanging mercury drop electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 360, n. 1-3, p. 179-187, 1998.
- 85 ENGELKEMEIR, D. W.; GEISSMAN, T. A.; CROWELL, W. R.; FRIESS, S. L. Flavanones and related compounds. IV. The reduction of some naturally-occurring flavones at the dropping mercury electrode. **Journal of American Chemical Society**, v. 69, p. 155-159, 1947.
- 86 HIGUERA, M. J.; GALVÍN, R. M.; MELLADO, J. M. R.; MONTOYA, M. R. EC(EE) processes in the reduction of some 2-methylthio-4,6-di(alkylamino)-1,3,5-triazines on mercury electrodes. **Electrochemistry Communications**, v. 4, n. 1, p. 30-35, 2002.
- 87 ZUIN, V.G.; SCHELLIN, M.; MONTERO, L.; YARIWAKE, J.H.; AUGUSTO, F.; POPP, P. Comparison of Stir Bar Sorptive Extraction and Membrane-Assisted Solvent Extraction as enrichment techniques for the determination of pesticide and benzo[a]pyrene residues in Brazilian sugar cane juice. **Journal of Chromatography A** (em preparação).
- 88 RODANTE, F.; CATALANI, G.; GUIDOTTI, M. Thermal analysis and kinetic study of decomposition processes of some commercial. I. Triazine derivatives. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 53, n. 3, p. 937-956, 1998.
- 89 DROZDZEWSKA, K.; KSIAZCZAK, A.; BONIUK, H. Thermal degradation of triazine herbicides substituted by Cl. Identification of triazine degradation products. **Thermochimica Acta**, v. 424, n. 1-2, p. 123-129, 2004.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)