

ANDIARA PAULINA DE ASSIS

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DO HERBICIDA TEBUTIURUM EM AMOSTRAS DE AÇÚCAR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A848d  
2012

Assis, Andiará Paulina de, 1988-

Desenvolvimento de um método voltamétrico para  
determinação do herbicida tebutiuram em amostras de  
açúcar / Andiará Paulina de Assis. – Viçosa, MG, 2012.  
xxii, 132f. : il. ; (algumas color.) ; 29cm.

Orientador: Leonardo Luiz Okumura.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 124-132.

1. Herbicidas. 2. Voltametria. 3. Açúcar. I. Universidade  
Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de  
Pós-Graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 632.954

ANDIARA PAULINA DE ASSIS

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DO HERBICIDA TEBUTIURUM EM AMOSTRAS DE AÇÚCAR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 23 de novembro de 2012.

---

Maria do Carmo Hespagnol da Silva

---

Maximiliano Luis Munford

---

Mayura Maques Magalhães Rubinger  
(Coorientadora)

---

Leonardo Luiz Okumura  
(Orientador)

*“A maior recompensa do nosso trabalho não é o que nos pagam por ele, mas aquilo em que ele nos transforma.” (John Ruskin)*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pela força e sustento. Adoração eterna!

A toda minha família, meus avós Hilda, Sebastião e Zita, aos meus irmãos Pedro e Matheus, às minhas tias, tios, primos e principalmente aos meus pais, Paulina Ângela e Pedro Claver, pelo apoio, confiança e incentivo. Obrigada a todos pelos valores e amor familiar.

Ao Guilherme Machado pelo companheirismo e carinho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Leonardo Luiz Okumura, pela experiência e competência que dedicou a cada etapa desse trabalho, pelo exemplo de pessoa e profissional. Meus sinceros agradecimentos.

Agradeço também a todos os amigos e colegas do Grupo de Eletroanalítica Aplicada (GEAP) pelo companheirismo no trabalho e pelos momentos de descontração. E a todos os amigos, que tanto contribuíram com carinho e motivação.

As professoras Dr<sup>a</sup> Mayura M. Magalhães Rubinger e Dr<sup>a</sup> Maria Eliana L. Ribeiro de Queiroz pela coorientação do trabalho.

Aos professores Dr<sup>a</sup> Maria do Carmo Hespagnol da Silva e Dr. Maximiliano Luis Munford que aceitaram o convite para participação na banca de defesa e acrescentaram na finalização deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa, particularmente ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes/Reuni, pelo auxílio financeiro na forma de bolsa de estudos.

Muito Obrigada!

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	vii
LISTA DE TABELAS .....	xviii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIACIONES .....	xix
RESUMO .....	xxi
ABSTRACT .....	xxii
1 Introdução .....	1
1.1 Aspectos históricos e econômicos da cana-de-açúcar .....	2
1.2 Produção de açúcar .....	6
1.3 Aplicação de agroquímicos em lavouras de cana-de-açúcar .....	15
1.4 Tebutiurom (TBH) .....	20
1.4.1 Considerações gerais .....	20
1.4.2 Métodos de determinação de TBH .....	23
1.5 Técnicas eletroquímicas para determinação de agroquímicos .....	25
1.5.1 Voltametria cíclica (VC) .....	27
1.5.2 Voltametria de varredura linear (LSV) .....	29
1.5.3 Voltametria de onda quadrada (SWV) .....	29
1.5.4 Voltametria de pulso diferencial (DPV) .....	30
2 Objetivos .....	32
2.1 Objetivo Geral .....	33
2.2 Objetivos Específicos .....	33
3 Materiais e métodos .....	34
3.1 Solventes, reagentes e adsorventes .....	35
3.1.1 Solução padrão de TBH .....	36
3.1.2 Eletrólito de suporte .....	36
3.1.3 Amostras comerciais .....	37
3.2 Instrumentação .....	37
3.2.1 Eletrodo de trabalho .....	38
3.2.2 Equipamentos auxiliares .....	38
3.3 Parte experimental .....	38
3.3.1 Caracterização eletroquímica do TBH por voltametria cíclica (VC) .....	39
3.3.3 Teste de estabilidade da solução de trabalho .....	39

3.4 Cromatografia em camada delgada (CCD) .....	39
3.5 Estudo das melhores condições experimentais.....	40
3.5.1 Estudos dos parâmetros da LSV .....	40
3.5.2 Estudos dos parâmetros da SWV .....	41
3.5.3 Estudos dos parâmetros da DPV .....	41
3.5.4 Correção de linha de base .....	41
3.5.5 Estudo de pré-concentração .....	41
3.6 Influência do pH.....	42
3.7 Curva Analítica .....	42
3.7.1 Avaliação da melhor proporção de matriz para construção das curvas analíticas.....	43
3.8 Validação .....	43
3.8.1 Seletividade.....	44
3.8.2 Linearidade.....	44
3.8.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	44
3.8.4 Exatidão .....	45
3.8.5 Precisão .....	46
3.9 Efeito de matriz.....	47
3.10 Estudo de interferente .....	48
4 Resultados e discussão .....	49
4.1 Estudo do eletrólito de suporte .....	50
4.2 Escolha do eletrodo de trabalho .....	57
4.3 Teste estabilidade .....	59
4.4 Caracterização eletroquímica de TBH por voltametria cíclica (VC) ....	60
4.4.1 Comportamento eletroquímico de TBH em eletrodo de carbono vítreo (GCE) .....	60
4.4.2 Estudo de ciclos sucessivos.....	61
4.4.3 Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial.....	62
4.5 Mecanismo de oxidação de TBH.....	68
4.5.1 Cromatografia em camada delgada (CCD) .....	69
4.6 Escolha dos parâmetros experimentais.....	70
4.6.1 Estudos dos parâmetros da LSV .....	70
4.6.2 Estudos dos parâmetros da SWV .....	73
4.6.3 Estudos dos parâmetros da DPV .....	77

4.6.4 Escolha da melhor técnica voltamétrica para desenvolvimento da metodologia analítica.....	81
4.6.5 Estudo de pré-concentração .....	82
4.7 Curva analítica na ausência de matriz.....	88
4.8 Influência da proporção de matriz para construção da curva analítica	91
4.9 Curva analítica na presença de matriz .....	96
4.10 Validação .....	101
4.10.1 Seletividade.....	101
4.10.2 Linearidade.....	101
4.10.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) .....	102
4.10.4 Exatidão .....	103
4.10.5 Precisão .....	107
4.11 Efeito de matriz.....	109
4.12 Estudo de interferente .....	111
5 Conclusão .....	113
6 Propostas futuras.....	116
7 Referências.....	124

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Área de cultivo de cana-de-açúcar no Brasil.....	3
<b>Figura 2.</b> Produção de cana-de-açúcar no Brasil .....	3
<b>Figura 3.</b> Representação dos estados brasileiros na produção de cana-de-açúcar. ....	4
<b>Figura 4.</b> Produção nacional de açúcar.....	5
<b>Figura 5.</b> Divisão do mercado mundial de agroquímicos em 2010.....	17
<b>Figura 6.</b> Consumo de agroquímicos no Brasil .....	17
<b>Figura 7.</b> Culturas responsáveis pelo consumo de agroquímicos no Brasil	18
<b>Figura 8.</b> Venda de produtos formulados por classe de uso no Brasil no período entre o 2º semestre de 2010 e 1º semestre de 2011 .....	18
<b>Figura 9.</b> Fórmula estrutural do herbicida tebutirom.....	20
<b>Figura 10.</b> a) forma de aplicação do potencial de varredura em VC; b) sinal voltamétrico registrado para um sistema tipicamente reversível em VC; c) sinal voltamétrico registrado para um sistema quase reversível em VC; d) sinal voltamétrico registrado para um sistema irreversível em VC.....	27
<b>Figura 11.</b> a) Aplicação de potencial em função do tempo b) voltamograma cíclico gerado para um sistema totalmente (Adaptado de SKOOG <i>et al.</i> , 2006).....	28
<b>Figura 12.</b> a) forma de aplicação do potencial de varredura em LSV; b) sinal voltamétrico registrado em LSV; .....	29
<b>Figura 13.</b> a) forma de aplicação do pulso de potencial em SWV; b) sinal voltamétrico registrado em SWV.....	30
<b>Figura 14.</b> a) forma de aplicação do pulso de potencial em DPV; b) sinal voltamétrico registrado para DPV. ....	31
<b>Figura 15.</b> Instrumentação utilizada: a) potenciostato/galvanostato PGSTAT 302N e b) célula eletroquímica com arranjo de três eletrodos .....	37
<b>Figura 16.</b> Voltamogramas cíclicos utilizando HCl 0,10 mol L <sup>-1</sup> como eletrólito de suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH (1,00 mmol L <sup>-1</sup> ). a) varredura no sentido anódico 0,00 a +1,50 V e b) varredura no sentido catódico 0,00 a -1,50 V. Condições experimentais: $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . .	51

- Figura 17.** Voltamograma cíclico utilizando  $\text{CrCl}_3$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 52
- Figura 18.** Voltamograma cíclico utilizando  $\text{KCl}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 52
- Figura 19.** Voltamograma cíclico utilizando  $\text{LiCl}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 52
- Figura 20.** Voltamograma cíclico utilizando  $\text{KNO}_3$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 53
- Figura 21.** Voltamograma cíclico utilizando tampão amoniacoal como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 53
- Figura 22.** Voltamograma cíclico utilizando tampão carbonato como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 54
- Figura 23.** Voltamograma cíclico utilizando  $\text{NaOH}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 54
- Figura 24.** Voltamograma cíclico utilizando  $\text{KOH}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 55

- Figura 25.** Voltamograma cíclico utilizando  $\text{BF}_4\text{TBA/DMF}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 55
- Figura 26.** Voltamogramas cíclicos utilizando  $\text{BF}_4\text{TBA/DMF}$  (—), tampão carbonato (—), tampão amoniacal (—),  $\text{NaOH}$  (—) e  $\text{KOH}$  (—) como eletrólito de suporte na análise e uma solução de  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de TBH... 56
- Figura 27.** Relação entre a corrente de pico e o potencial de pico utilizando  $\text{BF}_4\text{TBA/DMF}$  (◀); tampão amoniacal (■); tampão carbonato (●);  $\text{NaOH}$  (▼) e  $\text{KOH}$  (▲) como eletrólito de suporte. .... 57
- Figura 28.** Voltamograma cíclico utilizando eletrodo de trabalho de ouro e  $\text{KOH}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito de suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 58
- Figura 29.** Voltamograma cíclico utilizando eletrodo de trabalho de diamante dopado com boro e  $\text{KOH}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito de suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . .... 58
- Figura 30.** Voltamograma cíclico utilizando eletrodo de trabalho de grafite pirolítico e  $\text{KOH}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito de suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 59
- Figura 31.** Voltamograma cíclico de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em  $\text{KOH}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  no dia em que foi preparada (—), uma (—), duas (—), três (—), cinco (—), seis (—) e sete (—) semanas depois..... 60
- Figura 32.** Voltamogramas cíclicos sucessivos de solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em GCE sem limpeza do eletrodo de trabalho entre as medidas, sendo: 1º ciclo (a); 2º ciclo (b) e 10º ciclo (c). .... 62
- Figura 33.** Voltamogramas cíclicos de solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em  $\text{KOH}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes velocidades de varredura, utilizando GCE. 63
- Figura 34.** Variação da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial para uma solução de  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de TBH em  $\text{KOH}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com GCE..... 64

<b>Figura 35.</b> Variação da corrente de pico em função da velocidade de varredura de potencial para uma solução de 1,00 mmol L <sup>-1</sup> de TBH em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> com GCE.....	64
<b>Figura 36.</b> Variação do logaritmo da corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura de potencial para uma solução de 1,00 mmol L <sup>-1</sup> de TBH em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> com GCE.....	65
<b>Figura 37.</b> Variação do potencial de pico (E <sub>p</sub> ) em função da velocidade de varredura de potencial para uma solução de 1,00 mmol L <sup>-1</sup> de TBH em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> com GCE.....	66
<b>Figura 38.</b> Variação do potencial de pico (E <sub>p</sub> ) em função do logaritmo da velocidade de varredura de potencial para uma solução de 1,00 mmol L <sup>-1</sup> de TBH em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> com GCE.....	67
<b>Figura 39.</b> Variação da função corrente (i <sub>p</sub> / v <sup>1/2</sup> ) em relação à velocidade de varredura de potencial para uma solução de 1,00 mmol L <sup>-1</sup> de TBH em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> com GCE.....	67
<b>Figura 40.</b> Ilustração do resultado obtido em cromatografia em camada delgada da solução estoque de TBH (1) e solução obtida após adição do TBH ao eletrólito de suporte (KOH) (2), utilizando fase móvel hexano: acetato de etila (1:5 v/v).....	69
<b>Figura 41.</b> Voltamogramas referentes ao estudo da influência do incremento de varredura da LSV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE.....	71
<b>Figura 42.</b> Estudo da influência do incremento de varredura da LSV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE.....	71
<b>Figura 43.</b> Voltamogramas referentes ao estudo da influência da velocidade de varredura de potencial da LSV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE.....	72
<b>Figura 44.</b> Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial para a análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE.....	73
<b>Figura 45.</b> Voltamogramas referentes ao estudo da influência da amplitude de pulso da SWV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE.....	73

<b>Figura 46.</b> Estudo da influência da frequência da SWV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. $I_v = 1,5$ mV e $f = 50$ Hz. ....	74
<b>Figura 47.</b> Voltamogramas referentes ao estudo da influência da frequência da SWV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. ....	75
<b>Figura 48.</b> Estudo da influência da frequência para a análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. $A_p = 75$ mV e $I_v = 1,5$ mV ....	75
<b>Figura 49.</b> Voltamogramas referentes ao estudo da influência do incremento de varredura de potencial da SWV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. ....	76
<b>Figura 50.</b> Estudo da influência do incremento de varredura de potencial da SWV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. $A_p = 75$ mV e $f = 100$ Hz. ....	77
<b>Figura 51.</b> Voltamogramas referentes ao estudo da influência da velocidade de varredura de potencial da DPV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. ....	77
<b>Figura 52.</b> Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial da DPV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. $A_p = 100$ mV e $t_p = 2$ ms. ....	78
<b>Figura 53.</b> Voltamogramas referentes ao estudo da influência da amplitude de pulso da DPV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. ....	79
<b>Figura 54.</b> Estudo da influência da amplitude de pulso da DPV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. $t_p = 2$ ms e $v = 200$ mV s <sup>-1</sup> . ....	79
<b>Figura 55.</b> Voltamogramas referentes ao estudo da influência do tempo de pulso da DPV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. ....	80
<b>Figura 56.</b> Estudo da influência do tempo de pulso da DPV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L <sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em GCE. $A_p = 200$ mV e $I_v = 200$ mV. ....	81

- Figura 57.** Voltamogramas da análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por LSV (a), SWV (b) e DPV (c). ..... 82
- Figura 58.** Voltamogramas referentes ao estudo da influência da aplicação de potenciais de depósito para análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por SWV.  $t_d = 30\text{s}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . ..... 83
- Figura 59.** Estudo da influência da aplicação do potencial de depósito na resposta eletroquímica da análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por SWV.  $t_d = 30\text{s}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . (●) sem depósito. . 83
- Figura 60.** Voltamogramas referentes ao estudo da influência da aplicação de potenciais de depósito para análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por DPV.  $t_d = 30\text{s}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  ..... 84
- Figura 61.** Estudo da influência da aplicação de potencial de depósito na resposta eletroquímica da análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por DPV.  $t_d = 30\text{s}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ . (●) sem depósito. .... 84
- Figura 62.** Voltamogramas referentes ao estudo da influência da aplicação de tempos de depósito para análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por SWV.  $E_d = -0,2 \text{ V}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  ..... 85
- Figura 63.** Influência da variação do tempo de depósito na resposta eletroquímica da análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por SWV.  $E_d = -0,2 \text{ V}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . (●) sem depósito. .... 85
- Figura 64.** Voltamogramas referentes ao estudo da influência da aplicação de tempos de depósito para análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por DPV.  $E_d = -0,2 \text{ V}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  ..... 86
- Figura 65.** Estudo da Influência da variação do tempo de depósito na resposta eletroquímica da análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por DPV.  $E_d = -0,6$ ;  $C_{\text{TBH}} = 1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ . (●) sem depósito... 86
- Figura 66.** Distribuição da espécie protonada ( $\alpha_0$ ) e desprotonada ( $\alpha_1$ ) do herbicida TBH em diferentes valores de pH. .... 87
- Figura 67.** Estudo da influência do pH na resposta eletroquímica para a análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por DPV. (—) pH 2, (—) pH 7 e (—) pH 13. .... 88
- Figura 68.** Influência do pH na resposta eletroquímica da análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por DPV. .... 88

- Figura 69.** Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por SWV em diferentes concentrações: branco (a); 8,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (b); 9,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (c); 10,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (d); 11,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (e); 12,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (f); 13,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (g); 14,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (h); 15,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (i); 16,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (j); 18,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (k). Eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . Condições voltamétricas SWV:  $A_p = 75 \text{ mV}$ ;  $f = 100 \text{ Hz}$ ;  $t_v = 2 \text{ ms}$ . ..... 89
- Figura 70.** Curva analítica de TBH por SWV na ausência de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . ..... 90
- Figura 71.** Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por DPV em diferentes concentrações: branco (a); 0,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (b); 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (c); 2,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (d); 3,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (e); 4,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (f); 5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (g); 6,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (h); 8,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (i). Eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . Condições voltamétricas DPV:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ ;  $A_p = 200 \text{ mV}$ ;  $t_p = 2 \text{ ms}$ . ... 90
- Figura 72.** Curva analítica de TBH por DPV na ausência de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . ..... 91
- Figura 73.** Voltamogramas do estudo da influência de matriz de açúcar cristal na resposta voltamétrica de uma solução padrão TBH 1,00 mmol  $\text{L}^{-1}$  por SWV. Eletrólito de suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$  em eletrodo de carbono vítreo. Branco (a); ausência de matriz (b); volume de solução de açúcar adicionado 100,0  $\mu\text{L}$  (c); 200,0  $\mu\text{L}$  (d); 1000,0  $\mu\text{L}$  (e); 2000,0  $\mu\text{L}$  (f). ..... 92
- Figura 74.** Estudo da influência da concentração de açúcar cristal na resposta voltamétrica do TBH por SWV. .... 92
- Figura 75.** Voltamogramas do estudo da influência de matriz de açúcar mascavo na resposta voltamétrica de uma solução padrão TBH 1,00 mmol  $\text{L}^{-1}$  por SWV. Eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ ; EGC. Branco (a); ausência de matriz (b); volume de solução de açúcar adicionado 100,0  $\mu\text{L}$  (c); 200,0  $\mu\text{L}$  (d); 1000,0  $\mu\text{L}$  (e); 2000,0  $\mu\text{L}$  (f). ..... 93
- Figura 76.** Estudo da influência da concentração de açúcar mascavo na resposta voltamétrica por SWV ..... 93
- Figura 77.** Voltamogramas do estudo da influência de matriz de açúcar mascavo na resposta voltamétrica de uma solução padrão TBH 1,00 mmol  $\text{L}^{-1}$  de TBH por DPV. Eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ ; EGC. Branco (a); ausência de matriz (b); Volume de solução de açúcar adicionado 100,0  $\mu\text{L}$  (c); 200,0  $\mu\text{L}$  (d); 500,0  $\mu\text{L}$  (e). ..... 94

- Figura 78.** Estudo da influência da concentração de açúcar mascavo na resposta voltamétrica por DPV. .... 94
- Figura 79.** Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por SWV na presença de matriz de açúcar cristal em diferentes concentrações: branco (a); 9,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (b); 10,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (c); 11,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (d); 12,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (e); 13,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (f); 14,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (g); 16,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (h); 18,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (i). Eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . Condições voltamétricas SWV:  $A_p = 75 \text{ mV}$ ;  $f = 100 \text{ Hz}$ ;  $I_v = 2 \text{ ms}$ . .... 96
- Figura 80.** Curva analítica de TBH por SWV na presença de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . Matriz: Açúcar Cristal..... 97
- Figura 81.** Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por SWV na presença de matriz de açúcar mascavo em diferentes concentrações: branco (a); 9,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (b); 10,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (c); 11,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (d); 12,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (e); 13,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (f); 14,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (g); 16,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (h); 18,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (i). Eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . Condições voltamétricas SWV:  $A_p = 75 \text{ mV}$ ;  $f = 100 \text{ Hz}$ ;  $I_v = 2 \text{ ms}$ . .... 97
- Figura 82.** Curva analítica de TBH por SWV na presença de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . Matriz: Açúcar Mascavo. .... 98
- Figura 83.** Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por DPV na presença de matriz de açúcar cristal em diferentes concentrações: branco (a); 0,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (b); 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (c); 2,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (d); 3,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (e); 4,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (f); 5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (g); 6,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (h); 7,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (i). Eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . Condições voltamétricas: DPV:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ ;  $A_p = 200 \text{ mV}$ ;  $t_p = 2 \text{ ms}$ . .... 99
- Figura 84.** Curva analítica de TBH por DPV na presença de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . Matriz: Açúcar cristal. .... 99
- Figura 85.** Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por DPV na presença de matriz de açúcar mascavo em diferentes concentrações: branco (a); 0,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (b); 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (c); 2,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (d); 3,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (e); 4,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (f); 5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (g); 6,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$

(h); 7,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (i). Eletrólito suporte KOH 0,10 mol $\text{L}^{-1}$ . Condições voltamétricas: DPV: $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ ; $A_p = 200 \text{ mV}$ ; $t_p = 2\text{ms}$ .....	100
<b>Figura 86.</b> Curva analítica de TBH por DPV na presença de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH 0,10 mol $\text{L}^{-1}$ . Matriz: Açúcar mascavo. ....	100
<b>Figura 87.</b> Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra A de açúcar cristal nas concentrações a) 1,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , b) 2,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , c) 3,98 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e d) 4,97 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBH.....	104
<b>Figura 88.</b> Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra B de açúcar cristal nas concentrações a) 1,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , b) 2,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , c) 3,98 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e d) 4,97 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBH.....	104
<b>Figura 89.</b> Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra C de açúcar cristal nas concentrações a) 1,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , b) 2,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , c) 3,98 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e d) 4,97 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBH.....	105
<b>Figura 90.</b> Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra A de açúcar mascavo nas concentrações a) 1,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , b) 2,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , c) 3,98 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e d) 4,97 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBH.....	105
<b>Figura 91.</b> Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra B de açúcar mascavo nas concentrações a) 1,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , b) 2,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , c) 3,98 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e d) 4,97 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBH.....	106
<b>Figura 92.</b> Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra C de açúcar mascavo nas concentrações a) 1,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , b) 2,99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , c) 3,98 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e d) 4,97 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBH.....	106
<b>Figura 93.</b> Função de recuperação: relação entre o valor teórico (referência) e o valor calculado. Ideal (■); Açúcar Cristal – Amostra A (●); Açúcar Cristal – Amostra B (▲); Açúcar Cristal – Amostra C (►); Açúcar Mascavo – Amostra A (▼); Açúcar Mascavo – Amostra B (◄) e Açúcar Mascavo – Amostra C (◆).....	107
<b>Figura 94.</b> Curvas analíticas obtidas por SWV na ausência de matriz (■), presença de matriz de açúcar mascavo (●) e presença de matriz de açúcar cristal (▲).....	110
<b>Figura 95.</b> Curvas analíticas obtidas por DPV na ausência de matriz (■), presença de matriz de açúcar mascavo (●) e presença de matriz de açúcar cristal (▲).....	110

- Figura 96.** Estudo da influência da presença de possíveis interferentes. Corrente registrada sem presença de interferentes ( $\blacktriangle$ ); na presença de NaCl ( $\blacksquare$ ); e na presença de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $\bullet$ ). Condições DPV:  $A_p = 200\text{mV}$ ,  $v = 25\text{ mV s}^{-1}$  e  $t_p = 2\text{ms}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 2,0\ \mu\text{mol L}^{-1}$ . ..... 112
- Figura 97.** Voltamogramas cíclicos da análise de solução padrão de TBH  $1,00\text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta (30 % óleo mineral 70 % grafite) (—) ausência de matriz (...) 100,00  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco..... 118
- Figura 98.** Voltamogramas cíclicos da análise de solução padrão de TBH  $1,00\text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta (30 % silicone 70 % grafite) (—) ausência de matriz (...) 100,00  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco..... 118
- Figura 99.** Voltamogramas cíclicos da análise de solução padrão de TBH  $1,00\text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta (5 % glicerol 25 % silicone 70 % grafite) (—) ausência de matriz (...) 100,0  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco..... 119
- Figura 100.** Voltamograma cíclico da análise de solução padrão de TBH  $1,00\text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo: carbono vítreo (—); pasta: 30 % óleo mineral 70 % grafite (—); 30 % silicone 70 % grafite (—); pasta: 5 % glicerol 25 % silicone 70 % grafite (—). ..... 119
- Figura 101.** Voltamograma cíclico da análise de solução padrão de TBH  $1,00\text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta: 20 % MWCNT 50 % grafite 30 % silicone. (—) Ausência de matriz (...) 100,0  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco..... 120
- Figura 102.** Voltamograma cíclico da análise de solução padrão de TBH  $1,00\text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta: 10 % MWCNT 60 % grafite 30 % silicone. (—) Ausência de matriz (...) 100,0  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco..... 121
- Figura 103.** Voltamograma cíclico da análise de solução padrão de TBH  $1,00\text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta: 5 % MWCNT 65 % grafite 30 % silicone. (—) Ausência de matriz (...) 100,0  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco..... 121

**Figura 104.** Voltamograma cíclico da análise de solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta: 1 % MWCNT 69 % grafite 30 % silicone. (—) Ausência de matriz (...) 100,0  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco..... 122

**Figura 105.** Influência da proporção de MWCNT na composição do eletrodo de pasta de grafite e silicone. .... 122

**Figura 106.** Comparação intensidade de corrente de pico, obtidas por voltametria cíclica com diferentes eletrodos. Carbono vítreo (■); Pasta: 70 % grafite 30 % óleo mineral (●); Pasta: 70 % grafite 30 % silicone (▼); Pasta: 5 % MWCNT 65 % grafite 30 % silicone (▲)..... 123

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Composição do caldo de cana-de-açúcar .....	8
<b>Tabela 2.</b> Concentração de minerais no caldo de cana.....	9
<b>Tabela 3.</b> Propriedades físicas e químicas do tebutirom .....	21
<b>Tabela 4.</b> Formulações que contêm TBH como ingrediente ativo registrados no MAPA em 2012.....	22
<b>Tabela 5.</b> Metodologias de determinação de TBH.....	24
<b>Tabela 6.</b> Teste de solubilidade do TBH em diferentes eletrólitos suporte..	50
<b>Tabela 7.</b> Resumo do estudo dos parâmetros instrumentais de LSV, SWV e DPV .....	81
<b>Tabela 8.</b> Equações das curvas analíticas construídas para determinação voltamétrica de TBH e seus respectivos coeficientes de correlação linear (r) .....	102
<b>Tabela 9.</b> Limites de quantificação e quantificação .....	103
<b>Tabela 10.</b> Resultados dos ensaios de recuperação aparente de TBH para diferentes amostras de açúcar cristal .....	104
<b>Tabela 11.</b> Resultados dos ensaios de recuperação aparente de TBH para diferentes amostras de açúcar mascavo .....	105
<b>Tabela 12.</b> Repetibilidade, expressa pelo coeficiente de variação (CV) para as várias concentrações e amostras açúcar cristal de analisadas no teste de recuperação aparente.....	108
<b>Tabela 13.</b> Repetibilidade, expressa pelo coeficiente de variação (CV) para as várias concentrações e amostras açúcar mascavo de analisadas no teste de recuperação aparente.....	108
<b>Tabela 14.</b> Precisão intermediária, expresso pelo coeficiente de variação (CV) para as várias concentrações e amostras de açúcar cristal e mascavo analisadas no teste de recuperação aparente. ....	108

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATÓES

$A_p$  – amplitude de pulso

ABIQUIM – Associação Brasileira da Indústria Química

ABRASCO – Associação Brasileira de Saúde Coletiva

ANVISA – Agência Nacional de vigilância sanitário

$b$  – coeficiente angular

CCD – cromatografia em camada delgada

CCPR – Comitê do codex sobre resíduos de pesticida

CG – cromatografia gasosa

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

CLAE-EM - cromatografia líquida de alta eficiência acoplado com detector espectrômetro de massa

CNS – Conselho Nacional de Saúde

CONAB – Companhia Nacional do Abastecimento

CV – coeficiente de variação

DMF – dimetilformamida

DPR – desvio padrão relativo

DPV – voltametria de pulso diferencial

$E_p$  – potencial de pico

$E_d$  – potencial de depósito

$f$  – frequência

FB<sub>4</sub>TBA – tetrafluorborato de tetrabutilamônio

GAFTA – Gerência de ações de ciência e tecnologia em alimentos

GCE - eletrodo de carbono vítreo

IDA - ingestão diária aceitável

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

$I_p$  – corrente de pico

$I_v$  – incremento de varredura

IA – ingredientes ativos

LMR – limite máximo de resíduos

LD – limite de detecção

LQ – limite de quantificação

LSV – voltametria de varredura linear

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MMA – Ministério do Meio Ambiente

MS - Ministério da Saúde

ISO - Organização Internacional do Açúcar

OMS - Organização Mundial da Saúde

$r$  – coeficiente de correlação

$R_f$  – fator de retenção

R.A. (%) – porcentagem de recuperação aparente

$S_b$  – desvio padrão do branco

Secex - Secretaria do Comércio Exterior

SINDAG – Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola

SWV – voltametria de onda quadrada

$t_p$  – tempo de pulso

TBH – tebutiurom

UNICA - União da Indústria de Cana-de-açúcar

UV – ultravioleta

$v$  – velocidade de varredura de potencial

VC – voltametria cíclica

VIM - Vocabulário Internacional de Metrologia

## RESUMO

ASSIS, Andiará Paulina de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Novembro de 2012, **Desenvolvimento de um método voltamétrico para determinação do herbicida tebutiuram em amostras de açúcar**, Orientador: Leonardo Luiz Okumura, Coorientadores: Mayura Marques Magalhães Rubinger e Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

O açúcar é um produto largamente consumido em todo o mundo, sendo o Brasil o maior produtor, consumidor e exportador mundial desse produto. As lavouras de cana-de-açúcar, principal matéria-prima para produção de açúcar no Brasil, vem se expandindo a cada ano, assim como intensificando sua produção por hectare. Visando garantir o bom desenvolvimento e produtividade da cana-de-açúcar, grandes quantidades de agroquímicos são aplicadas nessas lavouras, sendo os herbicidas a classe de agroquímico mais utilizado nessa cultura. O tebutiuram, alvo desse estudo, é um herbicida importante no combate, pré e pós-emergência, de plantas daninhas infestantes da cultura de cana-de-açúcar. Considerando a importância de se avaliar a segurança alimentar da população, esse trabalho propõe um método confiável para análise voltamétrica de tebutiuram em matriz de açúcar (cristal e mascavo), envolvendo as técnicas de voltametria de onda quadrada (SWV) e pulso diferencial (DPV) em eletrodo de carbono vítreo. Adicionalmente, um estudo do comportamento eletroquímico deste herbicida foi realizado por voltametria cíclica (VC). Os estudos sugerem que a oxidação de tebutiuram, ou de um composto de sua reação com o eletrólito de suporte, ocorre por meio de transferência irreversível de um elétron entre o analito e eletrodo de trabalho, próximo ao potencial +1,16 V vs. Ag|AgCl, KCl<sub>sat</sub> 3M em solução de eletrólito de suporte KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>. As análises quantitativas foram realizadas satisfatoriamente por SWV e DPV, sendo que a DPV se mostrou mais sensível e seletiva, com limites de detecção de 0,119 μmol L<sup>-1</sup>, 0,142 μmol L<sup>-1</sup> e 0,125 μmol L<sup>-1</sup>, e quantificação 0,396 μmol L<sup>-1</sup>, 0,475 μmol L<sup>-1</sup> e 0,417 μmol L<sup>-1</sup> na ausência de matriz, presença de matriz de açúcar cristal e açúcar mascavo, respectivamente, e com repetibilidade entre 0,53 % e 13,83 %, precisão intermediária entre 4,14 % e 15,01 % e recuperação entre 84,19 % e 113,99 %.

## ABSTRACT

ASSIS, Andiará Paulina de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, November 2012, **Development of a voltammetric method for determination of herbicide tebuthiuron in samples of sugar**, Adviser: Leonardo Luiz Okumura. Co-advisers: Mayura Marques Magalhães Rubinger and Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

Sugar is a product widely consumed around the world, of which Brazil is the largest producer, consumer and exporter. The crops of sugar cane, the main raw material for sugar production in the Brazil, expand every year, as well as increasing their production per hectare. Aiming to guarantee proper development and productivity of sugar cane, large quantities of agrochemicals are applied in these crops, being the herbicides and pesticides more frequently used. Tebuthiuron is an important herbicide against pre and post-emergence of infesting weed in the culture of sugar cane. Considering the importance of ensuring food safety for the population, this paper proposes a reliable method of voltammetric analysis of tebuthiuron in sugar matrix (brown and crystal), involving the techniques of square wave voltammetry (SWV) and differential pulse (DPV) at glassy carbon electrode. Additionally, a study of the electrochemical behavior of this herbicide was performed by cyclic voltammetry (CV). These studies suggest that oxidation of tebuthiuron, or the product of its reaction with a supporting electrolyte, occurs through the irreversible transfer of one electron between the analyte and the working electrode, close to the potential +1.16 V vs. Ag | AgCl<sub>sat</sub>, KCl 3M in 0.10 mol L<sup>-1</sup> KOH supporting electrolyte solution. The quantitative analysis was performed satisfactorily by DPV and SWV, but DPV was more sensitive and selective, with detection limits of 0.119 μmol L<sup>-1</sup>, 0.142 μmol L<sup>-1</sup> and 0.125 μmol L<sup>-1</sup>, and quantification of 0.396 μmol L<sup>-1</sup>, 0.475 μmol L<sup>-1</sup> e 0.417 μmol L<sup>-1</sup> in the absence of matrix, the presence of crystal sugar matrix and brown sugar, respectively, and with repeatability between 0.53 % and 13.83 %, precision intermediate between 4.14 % and 15.01 % and recovery between 84.19 % and 113.99 %.

# ***1 Introdução***

---

## 1.1 Aspectos históricos e econômicos da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar pertence à família das gramíneas e ao gênero *Saccharum*. Atualmente são conhecidas e catalogadas cerca de trinta espécies de variedades de cana-de-açúcar. Das espécies reconhecidas pelos botânicos, a mais cultivada no Brasil é a *Saccharum officinarum*, por apresentar baixo conteúdo de fibras e alto teor de sacarose (CHEN & CHOU 1993; CASTRO, 2007).

Quando comparada a outras plantas, a cana-de-açúcar exibe elevada eficiência na conversão de energia solar em açúcar (COSTA, 2005) e é esta a característica que a torna tão importante no cenário econômico mundial.

Oriunda da Nova Guiné, a cana-de-açúcar era uma espécie de planta silvestre e ornamental na região. Segundo historiadores, a cultura se disseminou pelo mundo iniciando pelo sul do Oceano Pacífico, Indonésia, China, Arquipélago da Malásia e Golfo de Bengala. No Brasil, a cultura foi introduzida com o apoio oficial do Rei D. João III, com mudas trazidas da Ilha da Madeira por Martim Afonso de Souza, em 1532, embora, seja admitida a existência de cana-de-açúcar como planta nativa no continente americano (DELGADO & CESAR, 1977; LEME, 2005 *apud* FAVERO, 2011).

O cultivo de cana-de-açúcar em terras brasileiras se iniciou no estado de São Paulo em 1533, para o abastecimento do primeiro engenho de produção de açúcar no Brasil, fundado próximo à cidade de Santos. Dois anos depois foi fundado um engenho em Pernambuco, próximo à cidade de Olinda. Na época o Brasil, ainda colônia de Portugal, destinava sua produção ao abastecimento dos países europeus (DELGADO & CESAR, 1977).

Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, seguido por Índia, Tailândia e Austrália. Na safra de 2010/2011 foram produzidas mais de 620 milhões de toneladas, o equivalente a 25 % da produção mundial (UNICA, 2012).

De acordo com a União da Indústria de Cana-de-açúcar (UNICA), o cultivo da cana-de-açúcar no Brasil ocupa mais de 9 milhões de hectares ou cerca de 3 % de toda a terra agricultável do país (UNICA, 2012). A Figura 1 mostra, através de dados consolidados, a expansão das lavouras de cana no território brasileiro nos últimos anos. No ano de 2000 a área ocupada pela

cultura era de aproximadamente 4,9 milhões de hectares e em 2010 esse número quase dobrou, ficando próximo de 9,2 milhões de hectares (UNICA, 2012).

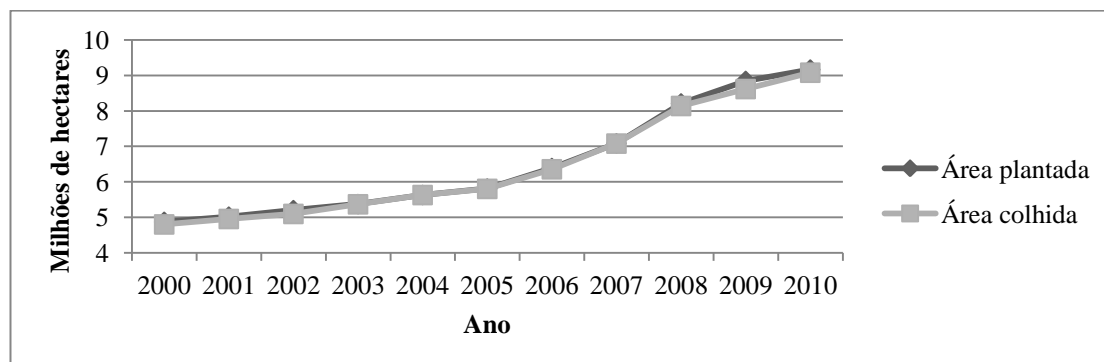


Figura 1. Área de cultivo de cana-de-açúcar no Brasil  
Fonte: UNICA, 2012

A Figura 2 mostra o crescimento da produção nacional de cana-de-açúcar expresso em toneladas. Ela passou de 254,9 milhões de toneladas, na safra de 2000/2001, para 624,5 milhões de toneladas em 2010/2011, um aumento de aproximadamente 145 % (CONAB, 2012).

Segundo dados da Companhia Nacional do Abastecimento (CONAB), a lavoura de cana-de-açúcar continuará em expansão no Brasil nos próximos anos. E não é somente a área plantada que está em expansão, a produtividade das lavouras também vem crescendo. Na safra de 2011/12 a produtividade média brasileira foi de 68,289 kg ha<sup>-1</sup> e para a safra 2012/2013 a produtividade média está estimada em 70,289 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2012).

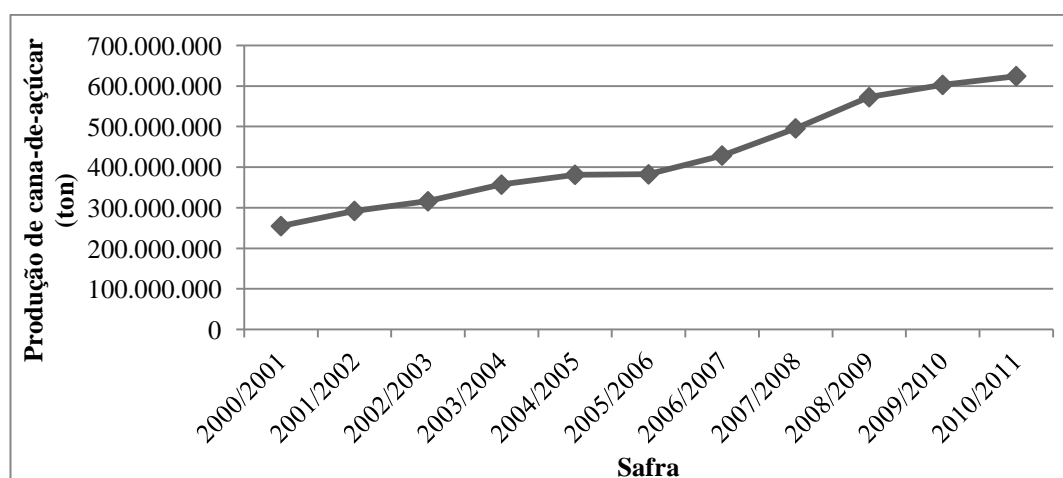


Figura 2. Produção de cana-de-açúcar no Brasil  
Fonte: MAPA, 2010a; 2010b; 2011b; CONAB, 2012.

Segundo estudo realizado pela UNICA, até 2020 a produção anual de cana-de-açúcar deve se aproximar de um bilhão de toneladas. Após 2020, a área cultivada deve se estabilizar, mas o volume de cana produzida deve continuar crescendo em função de novas tecnologias aplicadas à lavoura, incluindo o desenvolvimento de novas variedades de cana, aplicação de eficientes agroquímicos e técnicas de colheita (UNICA, 2012).

O estado de São Paulo é o maior produtor brasileiro de cana-de-açúcar, responsável por 51,66 % da produção nacional, seguido por Minas Gerais com 8,97 %, Goiás com 8,54 %, Paraná com 7,17 %, Mato Grosso do Sul com 6,31 %, Alagoas com 5,35 % e Pernambuco com 3,48 %, sendo que os demais estados possuem uma representação abaixo de 3 % (CONAB, 2012).

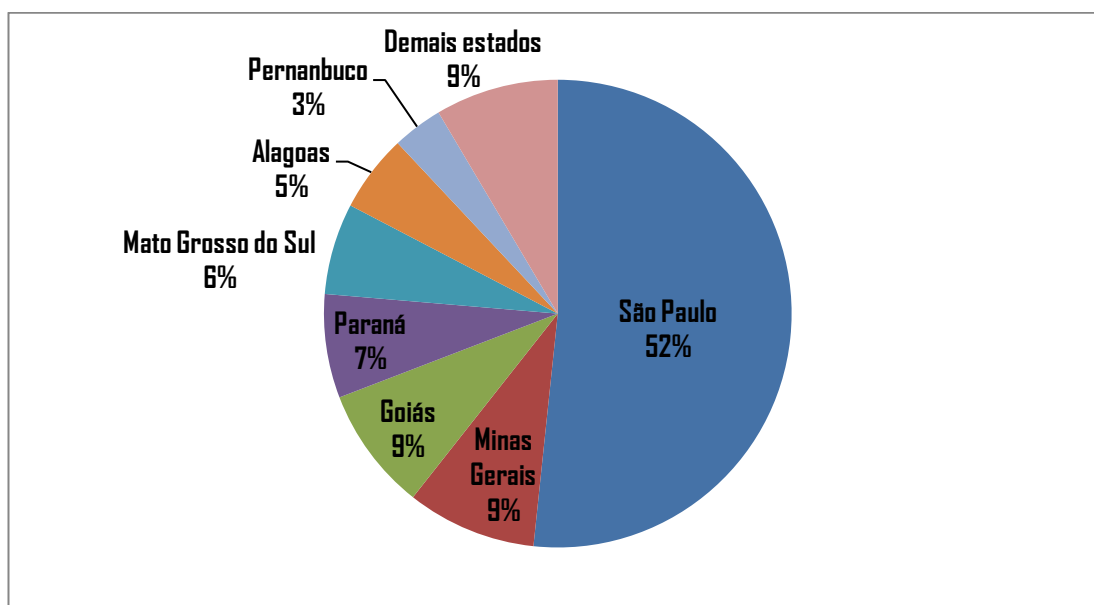


Figura 3. Representação dos estados brasileiros na produção de cana-de-açúcar.

Fonte: CONAB, 2012.

A cana-de-açúcar participa como matéria-prima para a produção de diversos produtos de importância econômica. O caldo é utilizado para produção de açúcar, álcool, rapadura, melado, cachaça, e o resíduo (bagaço) pode ser queimado em caldeira e utilizado na produção de vapor e energia elétrica ou ainda na fabricação papel, plástico biodegradável, adubo, ração animal, entre outros (VASCONCELOS, 2002 *apud* NATALINO, 2006). Dentre

os vários produtos derivados da cana-de-açúcar, um que merece destaque devido a sua importância na economia do Brasil é o açúcar.

O cultivo da cana para a produção de açúcar é uma das primeiras atividades econômicas documentadas na história do Brasil. Na época em que o Brasil era colônia de Portugal, o açúcar era um produto escasso devido à falta de áreas cultiváveis na Europa e por esse motivo era também muito valioso. A produção de açúcar no Brasil, ainda colônia, era exportada para Portugal, que enriqueceu com o repasse do produto para toda a Europa (UNICA, 2012).

Hoje o Brasil, maior produtor e exportador de açúcar do mundo, é responsável, em termos mundiais, por aproximadamente 25 % da produção e 50 % das exportações de açúcar. O açúcar produzido no Brasil é destinado a cerca de 110 países (CONAB, 2012; MAPA, 2012<sup>a</sup>, UNICA 2012).

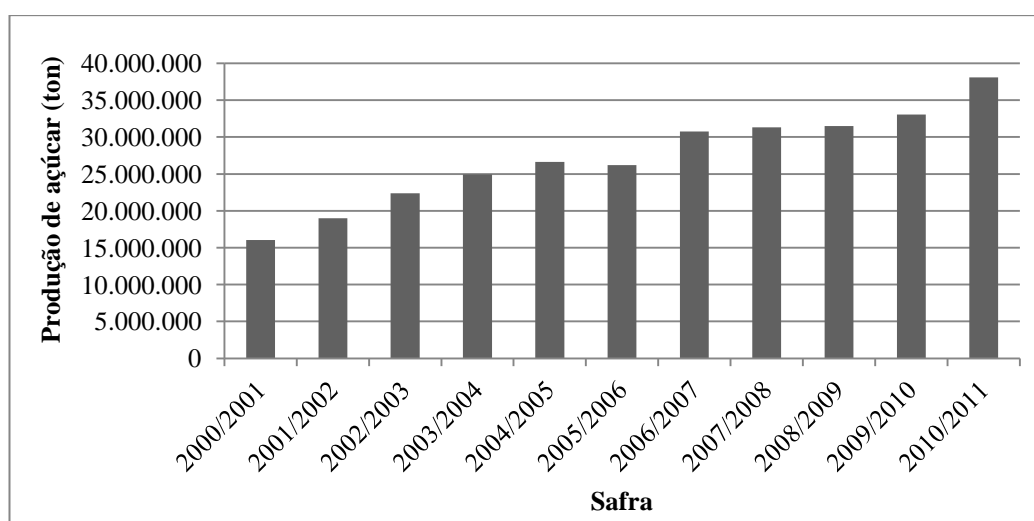


Figura 4. Produção nacional de açúcar  
Fonte: MAPA, 2010a; 2011b.

Segundo o Relatório de Exportação da Receita Federal, em 2011 o açúcar ocupou o quarto lugar na lista dos produtos mais exportados do país, ficando atrás apenas do minério de ferro e seus concentrados, petróleo e soja. Movimentando sozinho mais de US\$ 14 bilhões (BRASIL, 2012; UNICA, 2012).

O Brasil também é um dos maiores consumidores de açúcar do mundo, em 2011 o país consumiu aproximadamente 12 milhões de toneladas. O

consumo de açúcar no Brasil continua crescendo, principalmente em virtude do aumento do consumo dos produtos industrializados com alto teor de açúcar, como refrigerantes, chocolates e sorvetes (COSAN, 2012).

A relevância da cana-de-açúcar no agronegócio e na economia brasileira é indiscutível e apesar do Brasil destacar-se no cenário internacional por toda sua tecnologia já empregada nas diferentes etapas de produção, a pesquisa científica ainda tem muito a contribuir para a maximização do processo produtivo, desde a lavoura até a indústria, e na manutenção e controle da qualidade do produto final, destinado ao consumo.

## **1.2 Produção de açúcar**

O açúcar é um alimento que faz parte da dieta de todos os povos, fornece energia de fácil e rápida assimilação. Destina-se principalmente a adoçar bebidas e alimentos, sendo obtido a partir do beneficiamento de méis cristalizáveis da cana-de-açúcar, beterraba e outros vegetais (NATALINO, 2006).

A produção de açúcar de cana segue basicamente as seguintes etapas: colheita, extração do caldo, purificação, evaporação, cristalização, centrifugação e acondicionamento (DELGADO & CESAR, 1977).

A cana pode ser colhida verde ou queimada, manualmente ou mecanicamente, inteira ou picada. Após a colheita segue para a pesagem e coleta de amostra, onde serão pagos os produtores de acordo com a qualidade da matéria-prima, ou seja, a quantidade de sacarose presente. O estágio de maturação da cana é um fator particularmente importante nessa etapa de avaliação, visto que o rendimento e a qualidade do caldo diferem significativamente durante o período de maturação (DELGADO & CESAR, 1977; FAVERO, 2011).

A etapa seguinte é o preparo da cana-de-açúcar para a extração do caldo. Inicialmente é feita a limpeza da cana, que pode ser realizada utilizando uma corrente de ar ou água. O produto já limpo é picado e desintegrado, utilizando-se geralmente um conjunto de facas rotativas e/ou um desfibrador, visando o rompimento das células que contêm o caldo rico em sacarose (TFOUNI, 2005; DELGADO & CESAR, 1977).

A cana, limpa e picada, é destinada para a etapa de extração do caldo. A extração ocorre na indústria, geralmente, através da moagem ou difusão. A moagem é o sistema utilizado em 98 % das usinas do Brasil (DELGADO & CESAR, 1977; FAVERO, 2011). O sistema de moagem utiliza como método de extração a compressão, seguido de embebição. Nesse processo a cana é introduzida em moendas para extração do caldo por meio de prensas. Para um maior rendimento e aproveitamento da sacarose, o bagaço que sai das moendas é lavado com água e passa por nova compressão, esse processo é chamado embebição do bagaço. A embebição pode ser realizada mais de uma vez consecutiva (CHEN & CHOU 1993; TFOUNI, 2005).

Já na difusão a cana é colocada em difusores, onde o caldo extraído por um fluxo de água, permitindo a lixiviação da sacarose contida nas membranas. O equipamento que se convencionou chamar de difusor é na realidade um lixiviador de cana (FAVERO, 2011).

A composição do caldo de cana é influenciado por vários fatores, como: variedade, clima, solo, adubação, estágio de desenvolvimento da cultura e muitos outros (DELGADO & CESAR, 1977). De maneira geral, ele carrega em solução todos os constituintes solúveis da cana, como sacarose, açúcares redutores (glicose e frutose), amido, sais orgânicos e inorgânicos, ácidos orgânicos, e matérias nitrogenadas como proteínas e aminoácidos, além de pentosanas e pectinas, e também compostos insolúveis leves e pesados em suspensão, como bagacilhos, fibras, principalmente celulose e lignina, corantes e ceras (SOUZA, 1988 *apud* FAVERO, 2011).

Os principais constituintes do caldo de cana-de-açúcar e sua porcentagem em relação total de sólidos solúveis são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição do caldo de cana-de-açúcar

<b>Componente</b>	<b>Sólidos solúveis (%)</b>
Açúcares	75-92
Sacarose	71-88
Glicose	2-4
Frutose	2-4
Sais	3,0-4,5
de sais inorgânicos	1,5-4,5
de sais orgânicos	1,0-3,0
Ácidos Orgânicos	1,5-5,5
Ácidos carboxílicos	1,1-3,0
Aminoácidos	0,5-2,5
Outros não-açúcares orgânicos	
Proteínas	0,5-0,6
Amidos	0,001-0,100
Gomas	0,3-0,6
Ceras, lipídeos e fosfolipídios	0,05-0,15
Outros	3,0-5,0

Fonte: CHEN & CHOU, 1993.

Os principais não açúcares presentes no caldo de cana-de-açúcar são os compostos inorgânicos (WALFORD, 1996 *apud* FAVERO, 2011). Embora alguns minerais, como sílica, possam ocorrer como sólidos insolúveis, os constituintes inorgânicos de maior preocupação no processamento são aqueles dissolvidos no caldo. A tabela 2 apresenta os constituintes minerais no caldo de cana-de-açúcar com relação ao total de sólidos solúveis (CHEN & CHOU, 1993).

Tabela 2. Concentração de minerais no caldo de cana

Elemento	Sólidos solúveis (%)	
	Caldo cru	Caldo clarificado
Potássio	0,4-2,0	0,3-1,0
Sódio	0,3-0,10	0,03-0,009
Sulfato	0,11-0,52	0,16-0,44
Cloro	0,11-0,29	0,10-0,26
Cálcio	0,17-0,32	0,27-0,55
Magnésio	0,20-0,33	0,20-0,40
Silício	0,06-0,71	0,07-0,33
Fósforo	0,01-0,04	0,02-0,08
Ferro	0,06-0,14	0,01-0,03

Fonte: Adaptado de CHEN & CHOU, 1993.

Os fosfatos, a sílica, o magnésio e o cálcio são parcialmente removidos pela clarificação. Já o potássio, cloreto, sódio e baixas concentrações de sulfato são pouco afetados pela clarificação, tendendo a permanecer no açúcar produzido (CHEN & CHOU, 1993; PRATI & CAMARGO, 2008).

O processo de limpeza do caldo se inicia com a passagem do caldo por peneiras para a retirada de impurezas grosseiras, tais como: bagaço, pedaços de pedra, areia e terra. O caldo recolhido é destinado para etapa de clarificação. É nessa etapa que se define o tipo de açúcar que será produzido (DELGADO & CESAR, 1977).

O Brasil produz em maior proporção, dois tipos de açúcar: o cristal branco (VVHP – *very very high polarization*), que envolve procedimentos de sulfitação e calagem na etapa de clarificação, e o açúcar bruto (VHP - *very high polarization*) que utiliza apenas a calagem. Estes açúcares servem como matéria-prima das refinarias para a produção dos mais diversos tipos de açúcares presentes no mercado. Sendo o açúcar bruto o principal exportado pelo Brasil. Já na produção do açúcar mascavo não é utilizado nenhum aditivo químico nessa etapa do processamento (DELGADO & CESAR, 1977; NATALINO, 2006).

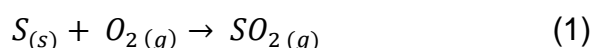
A etapa de clarificação é a principal etapa de limpeza do caldo, e seu objetivo principal é a remoção dos não-açúcares, os quais podem se encon-

trar na forma solúvel, coloidal e em suspensão. O processo consiste em promover a coagulação máxima das impurezas e formar um precipitado insolúvel que adsorva e arraste os compostos responsáveis pela coloração e aparência turva do caldo, separando a matéria suspensa por sedimentação. Além das tradicionais etapas de sulfitação e/ou calagem, também pode ocorrer a adição de compostos poliméricos e fosfatos solúveis, como auxiliares do processo (COPERSUCAR, 2012; CHEN & CHOU, 1993).

### Sulfitação

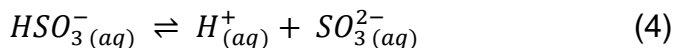
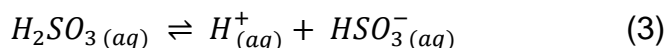
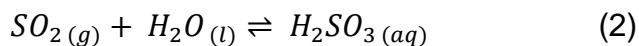
Quando o objetivo é a produção do açúcar cristal branco a clarificação começa com a sulfitação. A sulfitação consiste basicamente na adição de dióxido de enxofre gasoso ( $SO_2$ ) ao caldo de cana, pré-aquecido, até atingir o valor de pH igual ou inferior a quatro. A redução do pH do meio auxilia na precipitação e na remoção de proteínas do caldo, na diminuição da viscosidade, eliminação de materiais corantes, além da desinfecção do caldo (CHEN & CHOU, 1993; DELGADO & CESAR, 1977).

O dióxido de enxofre adicionado ao caldo é resultante da queima do enxofre elementar em presença de ar, de acordo com a Equação (1).

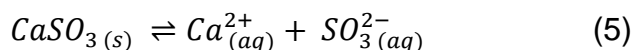


O controle da umidade do ar que entra nos fornos de enxofre é importante, pois, em presença de água o enxofre queima formando o trióxido de enxofre ( $SO_3$ ) ao invés do dióxido de enxofre ( $SO_2$ ). Quando em contato com o caldo, o  $SO_3$  transforma-se imediatamente em ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) prejudicial ao processo (FAVERO, 2011).

Inicialmente, o  $SO_2$  ao ser borbulhado no caldo de cana é absorvido pela água até atingir o ponto de equilíbrio formando o ácido sulfuroso ( $H_2SO_3$ ), que através de um equilíbrio estabelecido pela água e o  $SO_2$  acidifica o meio segundo a Equação (2) que se ioniza como demonstrado nas Equações (3) e (4), formando o íon bissulfito e sulfito: (HONIG, 1953).



Posteriormente é realizada a etapa de calagem. Nesse meio, tem-se um conjunto de reações ácido-base que leva à neutralização da acidez anteriormente formada, e a obtenção do precipitado pouco solúvel de sulfito de cálcio, conforme a Equação (5) (FAVERO, 2011), o qual atua na remoção de impurezas:

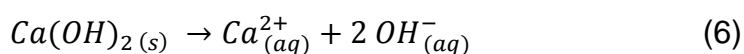


Além da formação do sulfito de cálcio, mostrado na reação 5, outros sais, como os fosfatos de cálcio, são formados em menores quantidades e também auxiliam o processo de clarificação (DEBEN, 1976).

### Calagem

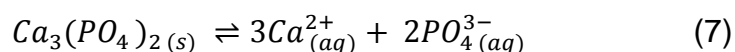
A calagem consiste na adição o hidróxido de cálcio ao caldo de cana, geralmente em temperaturas elevadas. Esse processo é considerado simples, e o mais antigo utilizado para purificar o caldo de cana-de-açúcar. O efeito da reação dos constituintes do caldo de cana-de-açúcar com o cálcio tende a aglutinar as partículas, que com o aumento de massa e a ligeira diminuição na densidade, tendem a precipitar (CHEN & CHOU, 1993).

Uma vez em solução, o hidróxido de cálcio é dissociado, como mostra a Equação (6):



A adição de íons cálcio em presença de íons fostato, contidos no caldo de cana-de-açúcar, forma o principal composto produzido na calagem, o

fosfato tricálcico. Ele é considerado o maior responsável pela centralização das aglutinações coloidais, de acordo com a Equação (7) (FAVERO, 2011).



Assim como a temperatura, as concentrações de fosfato e cálcio são fatores determinantes na eficiência da remoção de substâncias coloidais dispersas. Quando o caldo de cana possui baixo teor de fosfato (< 200 mg L<sup>-1</sup>), muitas usinas realizam a adição de fosfatos solúveis para induzir a formação do precipitado e melhorar a eficiência do processo (DELGADO & CESAR, 1977).

Segundo CHEN & CHOU (1993), a clarificação pode ser conduzida de diferentes maneiras em função da combinação entre a sequência e forma da adição de SO<sub>2</sub> e Ca(OH)<sub>2</sub> (pode ocorrer em batelada, contínua, com controle manual ou automático) e o controle de temperatura (sulfitação a quente, a frio ou com aquecimento gradativo).

Apesar de a sulfitação ser o processo mais utilizado na produção de açúcar cristal branco no Brasil, e também em outros países, este processo apresenta alguns aspectos que têm restringido o seu uso. Entre estes, destacam-se as normas de segurança alimentar, operacional e ambiental.

Parte do enxofre utilizado permanece no açúcar sob a forma de sais e a presença desse resíduo na alimentação pode causar danos à saúde. Além disso, o SO<sub>2</sub> utilizado no processo, geralmente obtido pela queima de enxofre elementar em fornos rotativos na própria indústria, lança grandes quantidades de SO<sub>2</sub> na atmosfera, provocando problemas como: chuvas ácidas, desconforto no ambiente de trabalho das fábricas e corrosão em metais nas instalações industriais (RUAS, 1993; SILVA *et al.*, 2008; ARAÚJO, 2007).

Assim, vários estudos têm surgido apresentando propostas alternativas para substituir a etapa de sulfitação. Um exemplo é a utilização do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), sendo este processo conhecido por carbonatação (FAVERO, 2011) e a utilização de filtração por membranas (UMEBARA, 2010).

O caldo devidamente tratado, de acordo com o tipo de açúcar que se deseja produzir, é enviado para o aquecimento com a finalidade de acelerar

as reações e a floculação, e posteriormente enviado aos decantadores para a remoção dos compostos precipitados (lodo). O caldo claro saído do decantador é enviado para a seção de evaporação, enquanto o lodo ou borra passa por filtros rotativos a vácuo para a recuperação da sacarose remanescente. Desta filtração, resulta uma torta muito utilizada para adubação, e o caldo recuperado é retornado para uma nova clarificação (DELGADO & CESAR, 1977).

Na etapa de evaporação, o caldo claro é concentrado, dando origem ao xarope. O xarope é enviado a um próximo evaporador, onde, sob condições especiais de temperatura e pressão, se inicia a fase de cristalização da sacarose. Ao fim da etapa de cristalização tem-se uma mistura de cristais de sacarose e de melado. Essa mistura é mantida sob vácuo e resfriada, para que se complete o crescimento dos cristais. Depois de resfriada, ela é centrifugada com o objetivo de separação dos cristais de sacarose do melado. O melado resultante desta operação pode ser retornado ao processo, ou enviado para a produção de álcool. O açúcar centrifugado é encaminhado ao secador para retirada do excesso de umidade e posteriormente ensacado (DELGADO & CESAR, 1977).

O açúcar deve ser produzido, embalado e armazenado de modo que garanta ao consumidor final uma qualidade aceitável e segurança alimentar. Segundo OLIVEIRA *et al.* (2007) os itens de qualidade considerados mais relevantes na avaliação do açúcar são:

- Grau de polarização (pol), expresso em graus Zucker (°Z), que define a porcentagem de sacarose no açúcar. Quanto maior o grau de polarização mais elevada é a pureza do produto, sendo o mínimo de 99,5 %, exceto para o açúcar mascavo que exibe pol inferior.
- Cor, expressa em unidades ICUMSA (U.I), avaliada pela capacidade de passagem de luz, de comprimento de onda definido em 420 nm, através de uma solução de 50 % (m/v) de açúcar. A presença de cor é associada a um produto de menor qualidade.
- Granulometria, definido pelo tamanho médio dos cristais (AM), que variam de 0,5 a 0,8 mm e sua uniformidade (CV), que varia de 24 – 35 %. Os parâmetros ideais são definidos de acordo com a finalidade de uso do produto.

➤ Resíduos insolúveis, são avaliados pela presença de partículas retidas em uma membrana de 8 $\mu$ . O teor dessas partículas pode variar de 10 a 60 mg kg<sup>-1</sup> nos diferentes tipos de açúcar e é geralmente devido à presença de resíduos de bagaço, sílica, sais minerais, gomas, açúcar carbonizado entre outros.

➤ Partículas magnetizáveis, geralmente provenientes de partes metálicas dos equipamentos de processo que escaparam dos sistemas de separação magnética instalados nas usinas. É considerado aceitável um limite máximo de resíduo 5 mg kg<sup>-1</sup>.

➤ Dióxido de enxofre, resíduo do processo de clarificação do caldo. Sendo o limite máximo de SO<sub>2</sub> residual estabelecido pelo *Codex Alimentarius* como 15 mg kg<sup>-1</sup> em açúcar branco para consumo direto e de 20 mg kg<sup>-1</sup> pelo Ministério da Saúde (CNS/MS, 1988).

➤ Amido, produzido pela cana e presente nas folhas, internódios e pontas da cana, não são completamente removidos no processo de fabricação do açúcar e parte deles pode se depositar no interior dos cristais. Sua concentração máxima aceitável no açúcar comercial é de 180 mg kg<sup>-1</sup>.

➤ Dextrana, produto de deterioração da sacarose pela ação do microorganismo *Leuconostoc mesenteroides*. Uma das principais características da presença de dextrana no açúcar é o aumento da viscosidade de soluções açucaradas, impedimento de endurecimento de balas e dificuldade na filtração de caldas de açúcar, entre outros.

➤ Metais, os principais metais analisados no açúcar são cobre, chumbo e arsênio pela sua toxidez, e ferro pela sua participação em reações secundárias de amarelamento do produto.

➤ Resíduos de agrotóxicos. Mais de 40 princípios ativos dos produtos químicos aplicados na cana-de-açúcar são analisados no produto acabado, e os resultados não revelam a presença de resíduos acima do limite de detecção dos métodos utilizados.

➤

É válido resaltar que segundo a Gerência de ações de ciências e tecnologia (GACTA) da ANVISA os limites máximos de resíduos (LMR) de agrotóxicos que são estabelecidos pela ANVISA para os produtos *in natura*, somente em casos em que houver dados científicos que comprovem que no

processamento existe a concentração desse resíduo será estabelecido um LMR específico para um determinado produto processado. Caso contrário, prevalece o LMR do produto *in natura*, esse mesmo conceito é adotado pelo Comitê do Codex sobre Resíduos de Pesticidas (CCPR). Até o momento não existem dados que comprovem a concentração de nenhum princípio ativo aplicado às lavouras de cana-de-açúcar durante o processo de produção de açúcar, sendo então, válidos os LMR estabelecidos para a própria cana-de-açúcar também válidos para o produto final (ANVISA, 2008).

### **1.3 Aplicação de agroquímicos em lavouras de cana-de-açúcar**

O cultivo da cana-de-açúcar, como o de qualquer cultura em larga escala comercial, sem o emprego de agroquímicos é possível, porém tornaria a sua comercialização impraticável nos preços atuais do mercado (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Assim, atrelado ao crescimento da produção mundial de alimentos, o mercado de agroquímicos tem se desenvolvido fortemente.

A utilização de agroquímicos constitui a principal estratégia do campo para combater e prevenir pragas agrícolas e garantir a produtividade da lavoura. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) os agroquímicos, também chamados de defensivos agrícolas, agrotóxicos ou pesticidas, são usados na agricultura como uma proposta vantajosa para o aumento da produtividade e qualidade dos produtos ou até mesmo, no intuito de reduzir o trabalho e a energia gastos no processo produtivo (ANVISA, 2011). Porém o uso desordenado dessas substâncias pode trazer sérios prejuízos à saúde humana e ao meio ambiente.

Por definição, segundo o disposto no decreto nº 4.074, de 04 de janeiro 2002 que regulamenta a lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 2002):

*“Agrotóxicos e afins são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da*

*ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, desseccantes, estimuladores e inibidores de crescimento;”*

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (HOLLAND, 1996):

*“Pesticidas são substâncias ou mistura de substâncias utilizadas na produção, colheita ou no armazenamento de alimentos. Eles são bio-ativos e capazes de prevenir, destruir ou combater espécies indesejáveis que, de alguma maneira, possam interferir na produção, no processamento, armazenamento, transporte e estocagem de alimentos, produtos agrícolas em geral, madeira e produtos derivados de madeira.”*

Os agroquímicos podem ser classificados em herbicidas, inseticidas, fungicidas, acaricidas e compreendem também substâncias utilizadas no combate a insetos domésticos ou quaisquer agentes preventivos à ação de vetores de doenças que possam ser transmitidas ao homem ou animais domésticos como, por exemplo, febre amarela, doença de chagas, malária, entre outras e substâncias usadas como reguladoras no crescimento de plantas, agentes desfolheantes e desseccantes (GALLI *et al.*, 2006).

Em 2011, o bom desempenho do agronegócio brasileiro se refletiu nas vendas de agroquímicos. Segundo o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG) as indústrias de agroquímicos terminaram o ano com vendas recordes de US\$ 8,5 bilhões, 16,3 % a mais do que as de 2010 (SINDAG, 2012).

Segundo dados da ANVISA e do Observatório da Indústria dos Agrotóxicos da Universidade Federal do Paraná (UFPR), divulgados durante o 2º Seminário sobre Mercado de Agrotóxicos e Regulação, realizado em abril de 2012 na cidade de Brasília (DF), enquanto, nos últimos dez anos, o mercado mundial de agroquímicos cresceu 93 %, o mercado brasileiro cresceu 190 %. Em 2008, o Brasil assumiu o posto de maior mercado mundial de agroquímicos (ANVISA & UFPR, 2012; CARNEIRO *et al*, 2012).

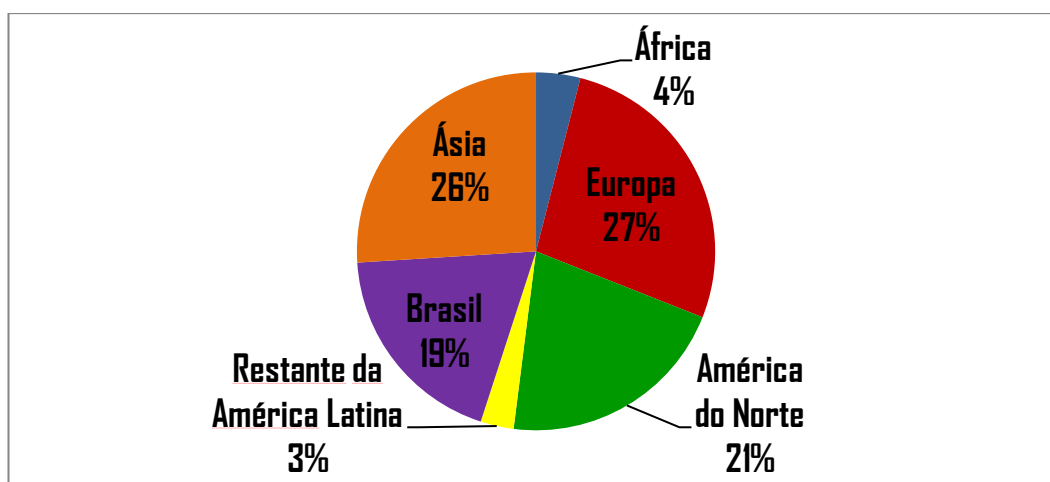


Figura 5. Divisão do mercado mundial de agroquímicos em 2010  
 Fonte: Phillips McDougall / UIPP (2011) *apud* ANVISA & UFPR (2012)

Dados do SINDAG ilustram esse crescimento do consumo de agroquímicos no Brasil. No ano de 2002 o mercado nacional registrou a venda de 599 milhões de litros de agroquímicos, já em 2011 esse número subiu para 852 milhões de litros, conforme ilustrado a Figura 6.

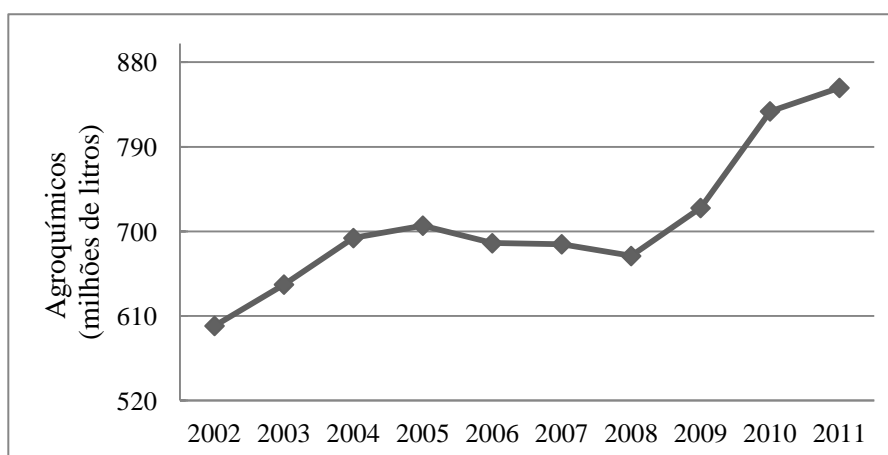


Figura 6. Consumo de agroquímicos no Brasil  
 Fontes: SINDAG, 2009 e 2012; MAPA, 2010a e 2010b.

As culturas que registraram um maior consumo desses produtos em 2011 foram: soja, milho, algodão e cana-de-açúcar. Juntos foram responsáveis por 80 % do consumo nacional de agroquímicos (SINDAG, 2012; MAPA, 2010b).

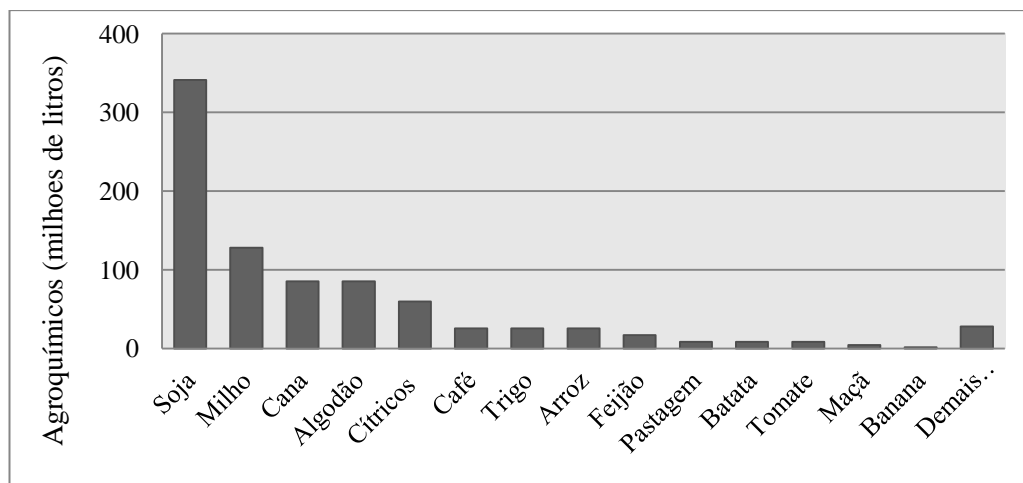


Figura 7. Culturas responsáveis pelo consumo de agroquímicos no Brasil  
Fonte: Elaborado com dados SINDAG (2012); MAPA (2010).

Dentre os agroquímicos comercializados no Brasil, os herbicidas representam a maior fatia na representação do consumo no mercado. De acordo com a ANVISA, eles representam 45 % do total de agroquímicos comercializados no país, os fungicidas representam 14 %, os inseticidas 12 % e as demais categorias somam 29 % (ANVISA & UFPR, 2012).

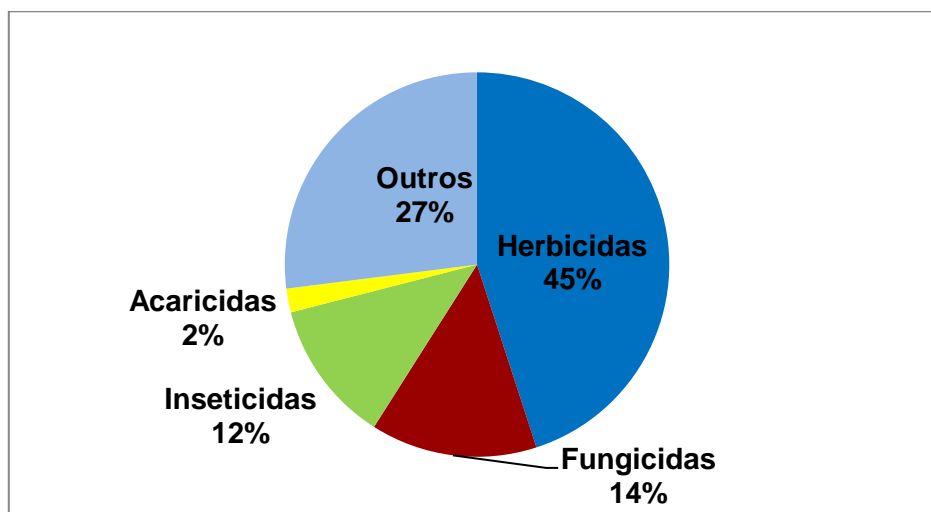


Figura 8. Venda de produtos formulados por classe de uso no Brasil no período entre o 2º semestre de 2010 e 1º semestre de 2011  
Fonte: ANVISA & UFPR (2012).

A cultura da cana-de-açúcar absorve grande quantidade desses insumos no seu ciclo de produção. Segundo o dossiê da ABRASCO (2012) 434 ingredientes ativos (IA) e 2.400 formulações de agroquímicos estão registrados no Ministério da Saúde (MS), no Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (MAPA) e Ministério do Meio Ambiente (MMA) e são permitidos no Brasil de acordo com os critérios de uso e indicação estabelecidos em suas monografias (CARNEIRO *et al.*, 2012). Desses pelo menos 63 IA, disponíveis em diferentes formulações e marcas, são destinados à cultura de cana-de-açúcar, sendo os herbicidas em maiores quantidade com 40 IA, seguidos de inseticidas com 15 IA, fungicidas com 4 IA, reguladores de crescimento com 2 IA, feromônio com 1 IA e adjuvante com 1 IA (ARMAS *et al.*, 2005). Segundo o SINDAG a cana-de-açúcar é a cultura com o segundo maior consumo de herbicida no país, ficando atrás apenas da soja (SINDAG, 2012).

Se o cenário atual já é suficientemente preocupante, do ponto de vista da saúde pública, uma vez que são reconhecidos malefícios causados à saúde pelo contato e ingestão desses compostos, deve-se levar em conta que as perspectivas são de agravamento dos problemas nos próximos anos devido ao crescimento do consumo de agroquímicos.

Os dados do monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos no Brasil são divulgados pela ANVISA. É a ANVISA quem geralmente determina os valores de limites máximos de resíduos (LMR) permitidos para um determinado produto, em uma determinada cultura, dentro da faixa de segurança toxicológica e também o fator de ingestão diária aceitável (IDA), um parâmetro global definido pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que aplica-se a toda substância química que possa ser ingerida e ilustra a quantidade máxima dessa substância que pode ser ingerida por um indivíduo durante toda a vida, sem lhe oferecer risco à saúde, à luz dos conhecimentos atuais (CARNEIRO *et al.*, 2012).

Mesmo diante de dados que demonstram o enorme emprego de herbicidas em lavouras de cana-de-açúcar, alguns herbicidas, não são monitorados em um de seus principais produtos, o açúcar. Para tanto, esse trabalho se propõe a desenvolver um método analítico para avaliar os riscos de contaminação do açúcar pelo herbicida TBH.

## 1.4 Tebutiurom (TBH)

### 1.4.1 Considerações gerais

O 1-(5-*tert*-butil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1,3-dimetilurea, ingrediente ativo de nome comum tebutiurom (TBH) é um herbicida derivado da uréia e de classificação toxicológica II (altamente tóxico) de acordo com a ANVISA. Sua aplicação é recomendada em pré e pos-emergência das plantas infestantes na cultura de cana-de-açúcar e pastagens (ANVISA, 2012). Ele apresenta boa seletividade à cultura, controle de espécies de grande relevância, alta solubilidade facilitando sua movimentação no solo e elevada persistência, com meia vida de 12 a 15 meses (U.S. EPA, 1994; RODRIGUES & ALMEIDA, 2005; CAUX *et al.*, 1997).

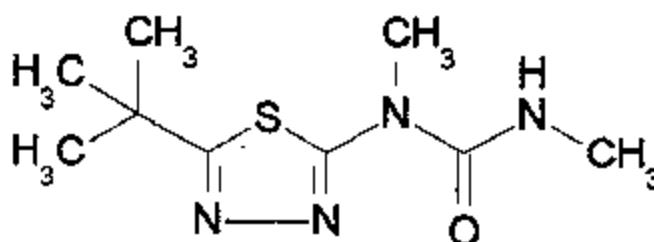


Figura 9. Fórmula estrutural do herbicida tebutiurom

Os herbicidas derivados da uréia atuam inibindo a fotossíntese. Uma vez dentro do tecido vegetal o TBH é transportado até as membranas dos cloroplastos onde atua paralisando a fixação de CO<sub>2</sub> e a produção de ATP e NADPH<sub>2</sub>, essenciais para a manutenção da vida (TOFOLI, 2004).

O TBH é eficiente no controle de diversas plantas daninhas de grande importância para a cultura de cana-de-açúcar. As doses de aplicação variam de 0,8 a 1,2 kg ha<sup>-1</sup> em função das características físicas do solo e uma única aplicação pode manter a cultura limpa até a época de colheita (RODRIGUES & ALMEIDA, 2005).

A tabela 3 resume algumas características físicas e químicas do composto.

Tabela 3. Propriedades físicas e químicas do tebutiuram

Propriedade		Referência
Massa molar	228,31 g mol <sup>-1</sup>	RODRIGUES & AL-MEIDA (2005)
Estado físico a 25 °C	Sólido branco cristalino	U.S. EPA (1994)
Temperatura de fusão	159-161 °C	U.S. EPA (1994)
Solubilidade a 25 °C em:		
Água	2,5 g L <sup>-1</sup>	
Acetona	70 g L <sup>-1</sup>	
Acetonitrila	60 g L <sup>-1</sup>	WSSA (1983) <i>apud</i>
Benzeno	3,7 g L <sup>-1</sup>	CAUX <i>et al.</i> (1997)
Clorofórmio	250 g L <sup>-1</sup>	
Hexano	6,1 g L <sup>-1</sup>	
Metanol	170 g L <sup>-1</sup>	
Pressão de vapor	0,27 mPa a 25 °C 2,7 x 10 <sup>-6</sup> mm Hg	U.S. EPA (1994)
Coeficiente de partição octanol/água (log K <sub>ow</sub> )	1,79	U.S. EPA (1989) <i>apud</i> CAUX <i>et al.</i> (1997)
Constante de dissociação (pK <sub>a</sub> )	1,2	WEBER (1980)

A degradação do TBH é feita principalmente de forma microbiana. As perdas por fotodecomposição e volatilização são insignificantes. Uma vez que o TBH exibe baixa pressão de vapor, prevê-se que quantidades insignificantes do herbicida são susceptíveis de serem liberados para a atmosfera (U.S. EPA, 1994; RODRIGUES & ALMEIDA, 2005).

De acordo com CAUX *et al.* (1997), a empresa Eli Lilly and Co. (agora DowElanco) introduziu o TBH no Brasil em 1974 sob o número de código EL-103 para uso na cultura de cana-de-açúcar. Atualmente são registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) 14 formulações com este ingrediente ativo. A tabela 4 apresenta a relação das formulações contendo TBH como ingrediente ativo registradas no MAPA.

Tabela 4. Formulações que contêm TBH como ingrediente ativo registrados no MAPA em 2012

Nome do produto	Titular do registro	Formulação
Aval	Volcano Agrociência Indústria e comércio de defensivos agrícolas Ltda	SC – Suspensão Concentrada
Aval 100	Volcano Agrociência Indústria e comércio de defensivos agrícolas Ltda	GR – Granulado
Aval 800	Volcano Agrociência Indústria e comércio de defensivos agrícolas Ltda	WG – Granulado Dispersível
Bimate SA	Dow Agrosciences Industrial Ltda	WP - Pó Molhável
Butiron	Milenia Agrociências S.A.	SC - Suspensão
Combine 500 SC	Dow Agrosciences Industrial Ltda	SC – Suspensão Concentrada
Fortalezabr	Ouro Fino Química Ltda	SC - Suspensão
Graslan 100 Peletizado	Dow Agrosciences Industrial Ltda	GR – Granulado
Lava	Volcano Agrociência Indústria e comércio de defensivos agrícolas Ltda	SC – Suspensão Concentrada
Lava 100	Volcano Agrociência Indústria e comércio de defensivos agrícolas Ltda	GR - Granulado
Lava 800	Volcano Agrociência Indústria e comércio de defensivos agrícolas Ltda	WG – Granulado Dispersível
Perflan	Dow Agrosciences Industrial Ltda	WP - Pó Molhável
Perflan 800 BR	Dow Agrosciences Industrial Ltda	WP - Pó Molhável
Spike	Dow Agrosciences Industrial Ltda	SC – Suspensão Concentrada

Fonte: MAPA (2012b)

Ao contrário da ANVISA, que classifica o TBH de forma geral como altamente tóxico, a Agência Nacional de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S. EPA) classifica o TBH como moderadamente tóxico por via oral, levemente tóxico por inalação, praticamente não tóxico por via dérmica, podendo causar ligeira irritação para os olhos.

De acordo com uma série de estudos realizados por diversos pesquisadores citados no trabalho de CAUX *et al.* (1997), ainda não existem indica-

tivos de que o TBH apresente qualquer potencial carcinogênico ou mutagênico. A U.S. EPA também classifica este composto como não carcinogênico e não mutagênico, como base em diversos estudos realizados na data de registro do ingrediente. O TBH também parece não apresentar nenhum efeito sobre o desenvolvimento gestacional (U.S. EPA, 1994).

Estes estudos também indicaram que o herbicida TBH e seus metabólicos não são bioacumulados a um grau significativo em mamíferos, pois, quando ingerido o TBH é metabolizado e rapidamente excretado. Porém, estudos realizados para avaliação de sua toxicidade crônica sugerem que a exposição prolongada a este composto pode resultar em alguns prejuízos à saúde. Dentre os resultados observados nos animais submetidos à ingestão de TBH por longos períodos de tempo, verificaram-se sinais de perda de peso, levando à anorexia, aumento do coração e rim, danos a células pancreáticas, aumento da glândula tireoide e elevação nos valores de glicose no sangue (CAUX *et al.*, 1997; U.S. EPA, 1994).

Sabendo-se da quantidade de herbicidas aplicados nas plantações de cana-de-açúcar e tendo em vista a enorme importância desta cultura para a economia do país, além das preocupações com a saúde humana e ambiental, fica evidente a importância do desenvolvimento de metodologias de determinação de resíduos desse herbicida nos produtos derivados da cana-de-açúcar.

#### **1.4.2 Métodos de determinação de TBH**

Tradicionalmente a determinação de resíduos de agroquímicos nas mais variadas matrizes é realizada utilizando-se técnicas cromatográficas acopladas a diversos detectores, tais como detector por captura de elétrons, fluorescência, ultravioleta-visível, ionização de chama, entre outros. A determinação de compostos orgânicos utilizando técnicas cromatográficas é muito sensíveis, e podem fornecer resultados com limites de detecção bastante baixos, na faixa de nanogramas a microgramas por litro ( $\text{ng L}^{-1}$  a  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Contudo, são técnicas que dependem de longas e, algumas vezes, complicadas etapas de preparação das amostras e utilizam grande quantidade de reagentes (COLLINS, 1990; LANÇAS, 2009).

O TBH é um composto termicamente instável e sua determinação é geralmente realizada por meio de técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou cromatografia gasosa (CG) após derivatização (CAUX *et al.*, 1997). Segundo a ANVISA o LMR para esse herbicida em cana-de-açúcar é  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ , sendo esse LMR também considerado para produtos derivados da cana-de-açúcar que não comprovem sua concentração durante seu processamento (ANVISA, 2008; ANVISA, 2012).

A tabela 5 lista algumas metodologias de determinação de TBH reportadas na literatura.

Tabela 5. Metodologias de determinação de TBH

Matriz	Extração / Derivatização	Processo	Recuperação (%)	LD / LQ	Referência
Água	Cloreto de metileno	CG / detector termoiônico seletivo	97,2	$1,3 \mu\text{g L}^{-1}$ / NR	EDGELL <i>et al.</i> (1991)
	Diclorometano	CLAE/detector UV 254 nm	85 – 96	$0,1 / 4,0 \mu\text{g L}^{-1}$	CERDEIRA <i>et al.</i> (2007)
Cana-de-açúcar	HCl:metanol (1:1) e $\text{KCl}_{\text{sat}}$ / acetato de etila	CG / detector fotométrico de chama	48 - 81	$0,01 \text{ mg L}^{-1}$ / NR	LOH <i>et. al</i> (1978)
Bagaço da cana-de-açúcar	HCl:metanol (1:1) e $\text{KCl}_{\text{Sat}}$ / acetato de etila	CG / detector fotométrico de chama	84 - 95	$0,1 \text{ mg L}^{-1}$ / NR	LOH <i>et. al</i> (1978)
Melaço	$0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ HCl e $\text{KCl}_{\text{sat}}$ / acetato de etila	CG / detector fotométrico de chama	58 - 94	$0,01 \text{ mg L}^{-1}$ / NR	LOH <i>et. al</i> (1978)
Caldo de cana	$0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ HCl e $\text{KCl}_{\text{Sat}}$ / acetato de etila	CG / detector fotométrico de chama	47 - 85	$0,01 \text{ mg L}^{-1}$ / NR	LOH <i>et. al</i> (1978)
Solo	metanol	CLAE/detector UV 254 nm	90 – 103	$0,01 / 0,02 \text{ mg kg}^{-1}$	CERDEIRA <i>et al.</i> (2007)
	metanol	CLAE/detector UV 254nm	90 - 103	$0,01 / 0,02 \text{ mg kg}^{-1}$	BICALHO <i>et al.</i> (2010)
Açúcar	$0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ HCl e $\text{KCl}_{\text{Sat}}$ / acetato de etila	CG / detector fotométrico de chama	50 - 85	$0,01 \text{ mg L}^{-1}$ / NR	LOH <i>et al.</i> (1978)

\*NR = Não reportado

Apesar da versatilidade, sensibilidade e eficiência das análises cromatográficas, elas são consideradas onerosas. A instrumentação geralmente é cara, além do grande gasto com reagentes, o que eleva o custo final das análises (LANÇAS, 2009).

No intuito de desenvolver um método suficientemente seletivo, sensível, preciso e exato, que possa ser realizado em curto espaço de tempo, com baixo custo e ainda considerando as preocupações ambientais atuais, muitos estudos têm sido realizados nos últimos anos. Assim, muitas técnicas analíticas têm sido exploradas para determinação e monitoramento de agroquímicos em diversas matrizes. Dentre tantas, podemos destacar as técnicas eletroquímicas, que são técnicas que fornecem resultados rápidos e confiáveis, com um pequeno consumo de reagentes e, geralmente, sem etapas complicadas de preparo da amostra.

### **1.5 Técnicas eletroquímicas para determinação de agroquímicos**

Em geral, as técnicas eletroquímicas possibilitam o estabelecimento de relações diretas entre propriedade elétrica mensuráveis do analito, como corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga, com algum parâmetro químico intrínseco do analito (SKOOG *et al.*, 2006; BRETT & BRETT, 1993; WANG, 2001).

Em 1970, HANCE foi um dos pioneiros na utilização de técnicas eletroquímicas para determinação de resíduos de agroquímicos. Em seu trabalho, HANCE estudou o comportamento eletroquímico de 35 herbicidas em 5 eletrólitos suporte diferentes, utilizando a polarografia. Ele observou que 28, dos 35 agroquímicos estudados, apresentaram eletroatividade em algum dos eletrólitos usados. Com a resposta eletroativa foi possível construir curvas analíticas e, posteriormente, aplicar a metodologia para analisar amostras de reais de águas (HANCE, 1970 *apud* GALLI *et al.*, 2006).

As técnicas eletroquímicas apresentam algumas vantagens frente às técnicas cromatográficas, tradicionalmente empregadas para determinação desse tipo de composto. A principal delas é a possibilidade, na maioria das vezes, de realizar a análise direta da amostra, sem a necessidade de etapa de separação ou pré-tratamento, e também a possibilidade de análise de

materiais coloridos ou amostras contendo partículas sólidas dispersas (GALLI *et al.*, 2006). Mesmo em alguns casos, onde a utilização de técnicas eletroanalíticas para análise de amostras muito complexas requerer etapas de preparo da amostra, estas são mais simplificadas, de menor custo e necessitam menor tempo e consumo de reagentes (CODOGNOTO *et al.*, 2004; RIPP *et al.*, 1992). Além disso, elas apresentam outras vantagens como o curto tempo de análises, o baixo custo relativo da instrumentação e baixa sensibilidade em relação à presença de interferentes (GALLI *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2003). Tudo isso faz com que as técnicas eletroquímicas sejam uma alternativa viável para a determinação de resíduos de agroquímicos nas mais diversas matrizes.

Dentre as diversas técnicas classificadas como eletroquímicas, destaca-se a grande aplicabilidade das técnicas voltamétricas. As técnicas voltamétricas baseiam-se na medida de intensidade da corrente elétrica, em uma célula eletroquímica, em função da aplicação de uma determinada diferença de potencial, induzindo a uma reação de oxirredução entre o analito e a superfície de um eletrodo de trabalho, na qual a velocidade de oxidação ou redução do analito é limitada pela velocidade de transferência de massa do analito, presente na solução amostra, até a superfície do eletrodo. A resposta obtida, corrente versus potencial, é denominada voltamograma e possibilita a obtenção de dados quantitativos e qualitativos das espécies envolvidas na reação (SKOOG *et al.*, 2006).

As informações obtidas pelas técnicas voltamétricas são altamente dependentes da superfície eletródica utilizada, uma vez que as reações de oxirredução monitoradas ocorrem entre o analito e a superfície do eletrodo de trabalho. Este eletrodo deve apresentar características importantes como: elevada razão sinal-ruído, boa reprodutibilidade da superfície, adequação à janela de potencial de trabalho, condutividade elétrica e, principalmente, deve ser considerado o comportamento redox do analito de interesse na superfície do eletrodo. O analito deve interagir com a superfície eletródica resultando na transferência de elétrons (WANG, 2001; BARD & FAULKNER, 2001). Alguns materiais frequentemente utilizados para construção de eletrodos sólidos são platina, ouro, carbono, irídio, ródio, paládio, níquel, ferro, cobre e tungstênio (GALLI *et al.*, 2006).

As técnicas voltamétricas mais utilizadas são: voltametria cíclica, voltametria de varredura linear, voltametria de onda quadrada, voltametria de pulso diferencial (GARRIDO *et al.*, 2004). A forma como o potencial é aplicado e a forma como o sinal analítico (corrente) é adquirido, diferenciam as técnicas voltamétricas citadas.

### 1.5.1 Voltametria cíclica (VC)

A voltametria cíclica (VC) baseia-se na aplicação de uma varredura linear de potencial ( $E$ ), de forma triangular, ao eletrodo de trabalho, ou seja, é realizada uma varredura no sentido pré-selecionado (catódico ou anódico) e posteriormente no sentido inverso, a uma velocidade preestabelecida. O potencial aplicado atua como força motriz para gerar uma corrente ( $i$ ) faradáica pela oxidação e/ou redução do analito, a qual é mensurada e plotada *versus* o potencial, fornecendo um voltamograma cíclico (BARD & FAULKENER, 2001; WANG, 2001; SKOOG *et al.*, 2006). A Figura 10 exibe a forma de aplicação do potencial (Figura 10.a) e o sinal voltamétrico obtido (Figura 10.b-d).

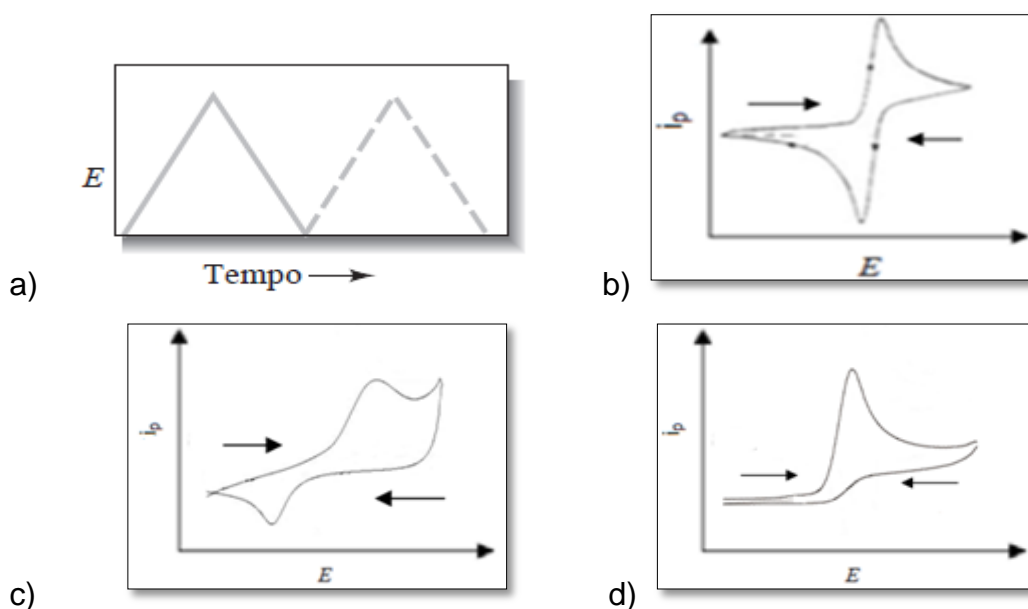


Figura 10. a) forma de aplicação do potencial de varredura em VC; b) sinal voltamétrico registrado para um sistema tipicamente reversível em VC; c) sinal voltamétrico registrado para um sistema quase reversível em VC; d) sinal voltamétrico registrado para um sistema irreversível em VC.

A Figura 11 exemplifica de forma mais detalhada a relação entre a aplicação de potencial e a obtenção do sinal analítico na voltametria cíclica para um sistema totalmente reversível.

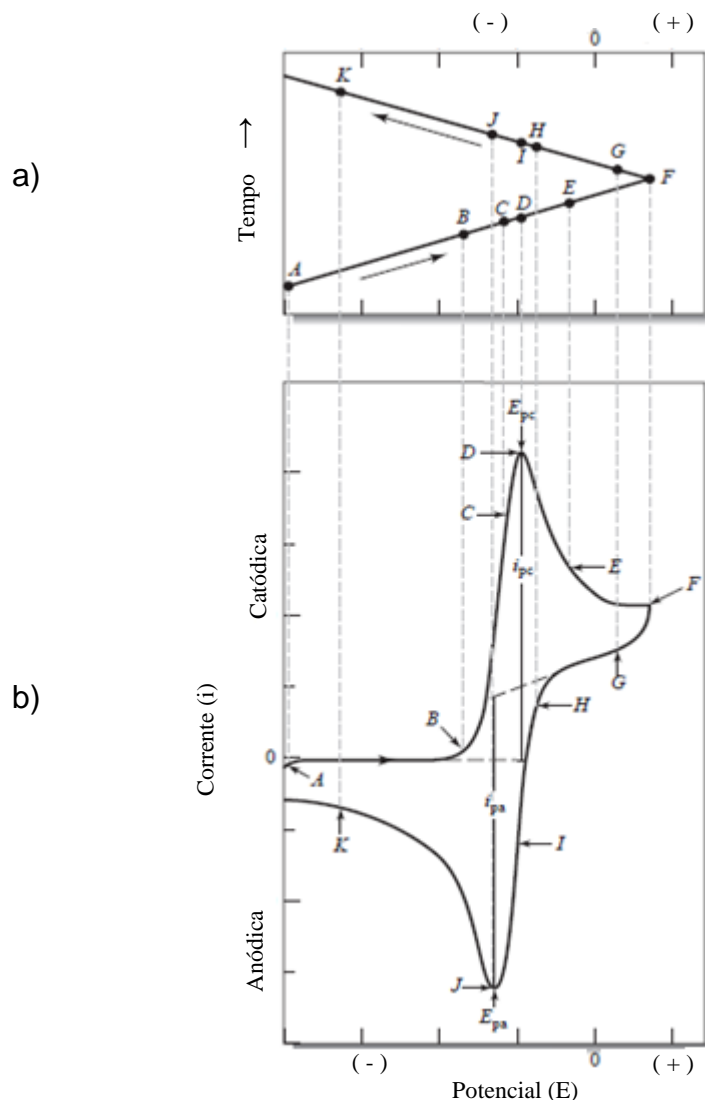


Figura 11. a) Aplicação de potencial em função do tempo b) voltamograma cíclico gerado para um sistema totalmente (Adaptado de SKOOG *et al.*, 2006).

A VC é a técnica voltamétrica mais utilizada para obter informações qualitativas, sendo geralmente a primeira análise realizada em um estudo eletroquímico. Em geral, ela possibilita uma rápida determinação do potencial redox da espécie eletroativa em estudo, possibilita obter informações termodinâmicas e cinéticas de transferência de elétrons do processo redox e informações sobre processos de adsorção do analito na superfície do eletrodo de trabalho. Entretanto, não é utilizada frequentemente para análises

quantitativas devido a sua baixa sensibilidade, uma vez que não se tem boa discriminação entre corrente capacitiva (indesejável) e faradáica (desejável) nesta técnica. As técnicas onde o potencial é aplicado em forma de pulsos, por outro lado, oferecem uma alta sensibilidade, devido a discriminação entre a corrente faradáica e a corrente capacitiva (BARD & FAULKNER, 2001; SKOOG *et al.*, 2006; WANG, 2001).

### 1.5.2 Voltametria de varredura linear (LSV)

Na voltametria de varredura linear, do inglês “*linear sweep voltammetry*” (LSV), o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia linearmente com o tempo (SKOOG *et al.*, 2006).

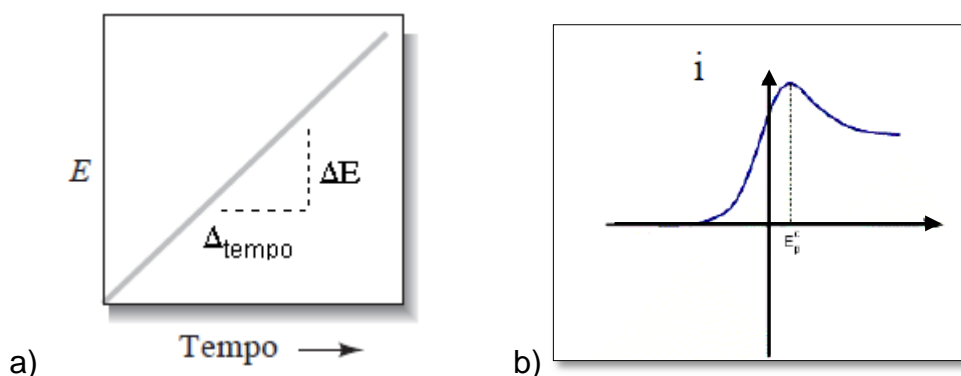


Figura 12. a) forma de aplicação do potencial de varredura em LSV; b) sinal voltamétrico registrado em LSV;

A corrente é lida de forma direta, em função do potencial aplicado. Esta técnica também não é muito sensível, uma vez que a corrente total lida possui contribuições tanto da corrente faradáica quanto da corrente capacitiva (PACHECO, 2004).

### 1.5.3 Voltametria de onda quadrada (SWV)

A voltametria de onda quadrada, do inglês “*square-wave voltammetry*” (SWV), é uma técnica voltamétrica onde o potencial é aplicado em forma de pulso. O pulso de potencial é aplicado ao eletrodo de trabalho como onda quadrada simétrica, sobreposta a uma rampa de potencial na forma de es-

cada (SOUZA *et al.*, 2003; WANG, 2001), como o representado na Figura 13.

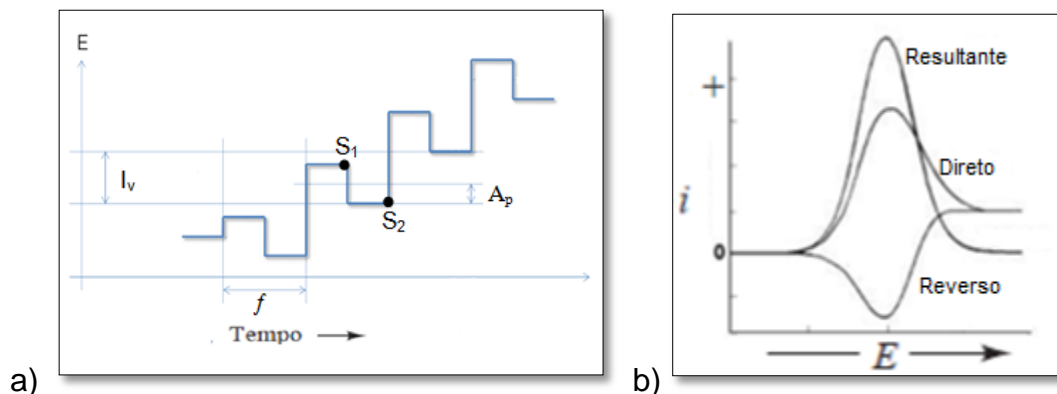


Figura 13. a) forma de aplicação do pulso de potencial em SWV; b) sinal voltamétrico registrado em SWV.

A corrente é amostrada duas vezes, uma ao final do pulso direto ( $S_1$  – Figura 13.a) e outra ao final do pulso reverso ( $S_2$  – Figura 13.a), sendo o voltamograma obtido o resultado da diferença entre essas duas correntes amostradas *versus* a rampa de potencial aplicado. A contribuição da corrente reversa pode variar, sendo menor quanto menor for à reversibilidade do sistema redox (SKOOG *et al.*, 2006).

Como a amostragem da corrente é realizada no final da aplicação do pulso há uma minimização da contribuição da corrente capacitiva sobre a corrente total lida. Pois, uma vez que se aplica o pulso de potencial, ocorre um acréscimo da contribuição tanto da corrente capacitiva como corrente faradaica, porém a corrente capacitiva diminui exponencialmente em função do tempo, enquanto a corrente faradaica diminui linearmente. Isso contribui para a elevação a sensibilidade da técnica (PACHECO, 2004; WANG, 2001).

#### 1.5.4 Voltametria de pulso diferencial (DPV)

Na voltametria de pulso diferencial, do inglês “*differential pulse voltammetry*” (DPV), pulsos de amplitude preestabelecidos sobrepostos a uma rampa de potencial crescente são aplicados ao eletrodo de trabalho, conforme ilustrado na Figura 14 (SKOOG *et al.*, 2006; WANG, 2001).

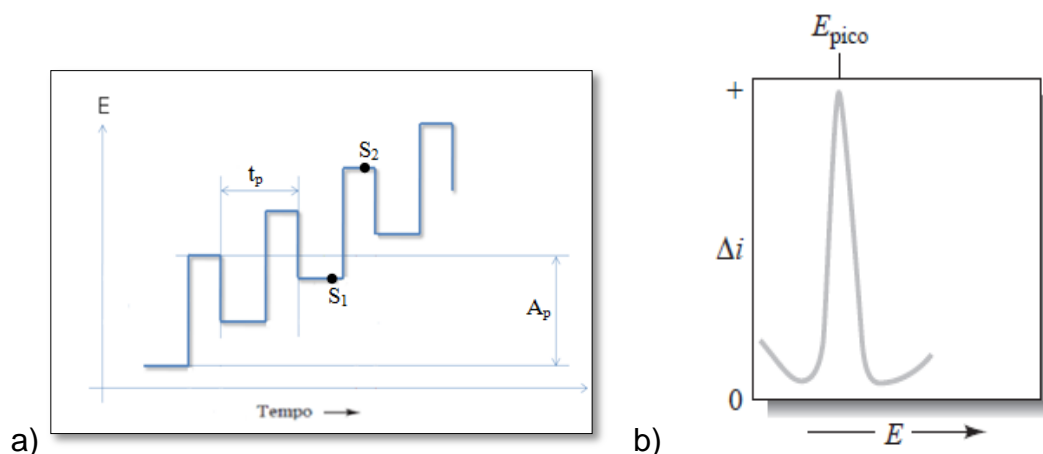


Figura 14. a) forma de aplicação do pulso de potencial em DPV; b) sinal voltamétrico registrado para DPV.

A corrente é medida duas vezes, uma antes da aplicação do pulso ( $S_1$  – Figura 14.a) e outra ao final do pulso ( $S_2$  – Figura 14.a). A primeira corrente é subtraída da segunda, e a diferença das correntes é plotada *versus* o potencial aplicado (WANG, 2001).

O objetivo de se registrar a diferença entre as duas leituras é fazer a discriminação da corrente capacitiva, assim como na SWV. Uma vez que a corrente capacitiva decai rapidamente após a aplicação do pulso, enquanto a corrente faradáica diminui em um período de tempo maior. Assim, é possível desvincular o valor da primeira leitura de corrente da segunda, aumentando a sensibilidade da técnica (WANG, 2001).

## ***2 Objetivos***

---

## 2.1 Objetivo Geral

- Desenvolver método voltamétrico para determinação do herbicida tebutiuram em amostras de açúcar.

## 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a melhor solução de eletrólito de suporte e o melhor eletrodo de trabalho para o desenvolvimento da metodologia;
- Caracterizar o sistema redox através do estudo da influência da velocidade de varredura utilizando VC;
- Estimar o número de elétrons transferidos entre o analito e o eletrodo de trabalho;
- Escolher os melhores parâmetros instrumentais das técnicas voltamétricas LSV, SWV e DPV, dentro de um intervalo estudado, para determinação de TBH;
- Escolher a técnica voltamétrica mais sensível para o desenvolvimento da metodologia;
- Construir curvas analíticas utilizando a técnica voltamétrica escolhida, na ausência e na presença de matriz de açúcar;
- Avaliar o efeito de possíveis interferentes da matriz;
- Aplicar e validar a metodologia desenvolvida para a análise de amostras de açúcar comercial.

### ***3 Materiais e métodos***

---

### 3.1 Solventes, reagentes e adsorventes

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico de pureza (P.A.) e não foram submetidos a nenhuma etapa prévia de purificação. Para construção das curvas analíticas utilizou-se água ultrapura obtidas pelo sistema Millipore Milli-Q.

O TBH, de grau de pureza 99,9 %, foi obtido da Sigma-Aldrich® (Pestanal Reference Material). O metanol utilizado para preparo de solução padrão foi obtido da Fisher®, com grau de pureza cromatográfico de 99 %.

Os diversos reagentes utilizados para preparo das soluções de eletrólito de suporte foram: hidróxido de sódio e cloreto de potássio obtidos da SYNTH com grau de pureza de respectivamente 97,0 e 99,0 %, hidróxido de potássio, cloreto de lítio, cloreto de crômio(III), nitrato de potássio, cloreto de amônio e dimetilformamida (DMF) obtidos da VETEC com grau de pureza de 85, 99, 97, 99, 99,5 e 99,8 %, respectivamente. Ácido clorídrico e ácido nítrico, obtidos da VETEC com grau de pureza de 36,5-38,0 % e 65 %, respectivamente. Solução tampão carbonato (pH 10) obtido da ACROS ORGANICS e tetrafluorborato de tetrabutilamônio (BF<sub>4</sub>TBA) também obtido da ACROS ORGANICS com grau de pureza de 95,0 %.

Para o estudo de interferentes foram utilizadas soluções aquosas de ácido sulfúrico obtido da VETEC com grau de pureza de 95-99 % e cloreto de sódio também obtido da VETEC com grau de pureza de 97 %.

Nos estudos de cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizado clorofórmio obtido da Sigma-Aldrich® para extração de TBH, de pureza igual 99,9 %. O hexano, também fornecido pela Sigma Aldrich®, com pureza maior que 95 % e acetato de etila fornecido pela VETEC com pureza 99,5 %, foram utilizados como eluentes na CCD. As placas utilizadas para CCD foram obtidas da Whatman, confeccionadas por depósito de uma camada de 250 µm de sílica gel sobre alumínio.

O nitrogênio utilizado para desoxigenar a solução na célula eletroquímica foi obtido da White Martins, com teor de pureza de 99,9 %.

### 3.1.1 Solução padrão de TBH

A solução estoque contendo o TBH foi preparada em metanol a uma concentração de  $43,80 \text{ mmol L}^{-1}$  ou  $10,00 \text{ g L}^{-1}$ , armazenada em frasco de vidro e acondicionada em dessecador. Todas as outras soluções de TBH foram preparadas no mesmo dia em que foram utilizadas, mediante diluição adequada da solução estoque.

### 3.1.2 Eletrólito de suporte

Inicialmente foram testadas 10 composições de soluções de eletrólitos de suporte: tampão amoniacal (pH 9,4), tampão carbonato (pH 10,0), tetrafluorborato de tetrabutílamônio ( $\text{BF}_4\text{TBA}$ ) em dimetilformamida (DMF) a uma concentração de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  e soluções aquosas de cloreto de lítio, cloreto de cromo(III), ácido clorídrico, cloreto de potássio, nitrato de potássio, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, todas em concentrações de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ .

Como critérios de avaliação e escolha do melhor eletrólito de suporte foram observados, visualmente, a formação de precipitado ao se adicionar o TBH à solução de eletrólito de suporte. Posteriormente, todas as soluções foram analisadas por VC no sentido anódico e catódico para verificar a presença de pico de corrente correspondente, que pudesse elucidar a ocorrência de uma transferência eletrônica entre o analito e a superfície eletródica, utilizando um eletrodo de carbono vítreo. Sempre foi analisado o branco, ou seja, uma solução de eletrólito de suporte sem adição de TBH, e posteriormente com a adição de TBH, para assegurar que a presença do pico fosse mesmo referente ao comportamento redox do analito em estudo.

Foram estabelecidos como critérios para a escolha do melhor eletrólito de suporte: correntes faradáticas estáveis e reproduzíveis, voltamogramas com picos bem definidos, correntes de maior intensidade e menor valor de potencial de pico. Todos os testes foram realizados em triplicata.

### 3.1.3 Amostras comerciais

Foram adquiridas amostras comerciais de açúcar cristal e mascavo de diversas marcas disponíveis no mercado e acondicionadas no laboratório em temperatura ambiente.

As medidas eletroquímicas foram realizadas diretamente nas amostras de açúcar dissolvida em água, sem etapas de separação ou purificação.

A metodologia de preparo da amostra foi descrita por GARBELLINI (2005). Primeiramente, foi preparada uma solução aquosa de açúcar de 50,00 g L<sup>-1</sup>, e diferentes alíquotas dessa solução foram adicionadas à célula eletroquímica contendo o eletrólito de suporte e o herbicida em estudo. A análise foi devidamente realizada, para avaliar a possibilidade de determinação de TBH na presença dessa matriz.

### 3.2 Instrumentação

As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato modular, modelo PGSTAT 128N (Metrohm Pensalab), interfaciado a um computador pelo software General Purpose Electrochemical System (GPES), versão 4.9, utilizando uma célula eletroquímica de 50 mL com arranjo de três eletrodos, sendo um eletrodo de trabalho, um eletrodo auxiliar de platina e um eletrodo de Ag|AgCl, KCl<sub>sat</sub> 3M como referência (Figura 15).



Figura 15. Instrumentação utilizada: a) potenciostato/galvanostato PGSTAT 302N e b) célula eletroquímica com arranjo de três eletrodos

### 3.2.1 Eletrodo de trabalho

Foram realizados testes com um eletrodo de carbono vítreo de área  $0,071 \text{ cm}^2$ , eletrodo de ouro e eletrodo de grafite pirolítico ambos de área  $0,196 \text{ cm}^2$ , todos fabricados pela Metrohm<sup>®</sup>. Também foi testado o eletrodo de diamante dopado com boro, de área de  $0,071 \text{ cm}^2$ , da Windsor Scientific. No intuito de avaliar qual a superfície eletródica onde o analito exibiria melhor resposta voltamétrica, os eletrodos foram avaliados através de VC. Foi considerado como critério de avaliação: maior intensidade de corrente e menor valor de potencial de pico, além da repetibilidade da medida.

A limpeza da superfície dos eletrodos foi realizada com o polimento mecânico por aproximadamente um minuto, antes de cada medida, utilizando-se um feltro metalográfico (Buehler, microcloth PSA 2), contendo uma suspensão de  $\alpha$ -alumina (Buehler, micropolish) com granulometria de 0,3 e  $0,05 \mu\text{m}$ . Todas as análises foram realizadas com no mínimo três replicatas.

### 3.2.2 Equipamentos auxiliares

Foi utilizada uma balança de precisão analítica de quatro casas decimais modelo AX200 da Shimadzu e um pHmetro acoplado a um eletrodo de vidro, ambos da Metrohm.

## 3.3 Parte experimental

Estudos preliminares foram realizados para encontrar as melhores condições experimentais que permitissem a determinação sensível e seletiva do TBH na matriz de interesse, utilizando as técnicas voltamétricas específicas, seja diretamente ou a partir de um produto de reação do TBH com o eletrólito de suporte.

Antes do início de todas as análises realizadas nesse trabalho, foi borbulhado gás nitrogênio na solução contida na célula voltamétrica para remover o oxigênio dissolvido que pudesse interferir nas respostas voltamétricas.

### 3.3.1 Caracterização eletroquímica do TBH por voltametria cíclica (VC)

Para a caracterização do TBH por VC, foram definidas as condições experimentais iniciais: janela de potencial varrido de 0 a +1,50 V e de 0 a -1,50 V vs. Ag|AgCl, KCl<sub>sat</sub> 3M e velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>. Sendo a concentração de TBH na célula eletroquímica de 1,00 mmol L<sup>-1</sup>.

Para estudo de influência da velocidade de varredura de potencial, variou-se a velocidade de varredura em um intervalo entre 10 e 500 mV s<sup>-1</sup>, em uma janela de potencial de 0 a +1,35 V vs. Ag|AgCl, KCl<sub>sat</sub> 3M.

Todas as análises foram realizadas, no mínimo em triplicata. Após cada medida o eletrodo foi devidamente limpo, por polimento mecânico.

Também foi realizado o estudo de ciclos sucessivo. Nesse estudo foram registrados sucessivamente 10 ciclos voltamétricos sem que houvesse nenhum tipo de limpeza da superfície eletródica entre as medidas.

### 3.3.3 Teste de estabilidade da solução de trabalho

A fim de avaliar a estabilidade da solução de trabalho, foi realizada semanalmente, em triplicata, a análise de uma mesma solução de TBH com concentração de 1,00 mmol L<sup>-1</sup>, em um longo intervalo de tempo.

As análises foram realizadas por VC e a solução mantida em recipiente de vidro acondicionado na geladeira. Antes de cada análise a solução era mantida a temperatura ambiente por aproximadamente uma hora, para se estabelecer um equilíbrio térmico.

### 3.4 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Para investigar a possibilidade de reação do analito com a solução do eletrólito de suporte foram realizados experimentos de cromatografia em camada delgada (CCD). A CCD é uma técnica de adsorção líquido-sólido onde a separação se dá pela diferença de afinidade dos componentes do analito pela fase estacionária e a fase móvel. A CCD é um método simples, rápido, visual, econômico e predominantemente escolhido para o acompanhamento de reações orgânicas (DEGANI *et al.*, 1998).

O experimento foi conduzido da seguinte maneira: preparou-se 25,00 mL de uma solução 1,00 mmol L<sup>-1</sup> de TBH em eletrólito de suporte KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Após duas horas realizou-se extração líquido-líquido, em triplicata, utilizando três volumes de 30,0 mL de clorofórmio. Essa solução foi concentrada evaporando-se o clorofórmio a temperatura ambiente e sob pressão reduzida. Essa amostra foi aplicada sobre uma placa de sílica ao lado da solução estoque de TBH. A placa de CCD foi introduzida numa cuba de vidro contendo a fase móvel adequada. Após a eluição, as placas de CCD foram reveladas com luz UV ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ), com solução alcoólica de ácido fosfomolibdico e solução aquosa de permanganato de potássio.

### **3.5 Estudo das melhores condições experimentais**

Em busca de obter uma melhor metodologia eletroquímica, foi realizado um estudo dos efeitos dos diversos parâmetros experimentais que podem afetar o resultado analítico, procurando estabelecer as condições experimentais que produzam um resultado com acurácia adequados ao seu propósito de uso (MAPA 2011a).

As melhores condições experimentais das técnicas voltamétricas descritas a seguir foram realizadas de maneira univariada e todas as análises foram realizadas no mínimo em triplicata, utilizando uma solução padrão de TBH de concentração de 1,00 mmol L<sup>-1</sup>.

Em todos os casos foram avaliados como critério de escolha dos melhores parâmetros instrumentais, a intensidade da corrente de pico ( $I_p$ ), o potencial de pico ( $E_p$ ), largura do pico a meia altura e a repetibilidade da análise.

#### **3.5.1 Estudos dos parâmetros da LSV**

Na LSV foram estudados os parâmetros: incremento ( $I_v$ ) e velocidade de varredura de potencial ( $v$ ). Primeiro foi estudado o  $I_v$  mantendo-se fixo  $v$  em um valor arbitrário. Posteriormente foi estudado a  $v$  mantendo-se fixo o valor de  $I_v$  escolhido.

### 3.5.2 Estudos dos parâmetros da SWV

O estudo da técnica SWV foi realizada variando-se a amplitude de pulso ( $A_p$ ), a frequência ( $f$ ), e o incremento de varredura ( $I_v$ ).

Primeiramente foi estudado a  $A_p$ , fixando arbitrariamente os valores de  $f$  e  $I_v$ . Posteriormente foi estudada a  $f$ , fixando-se valor de  $I_v$  (arbitrário) e  $A_p$ . Por último foi estudado o  $I_v$ , fixando-se os valores de  $f$  e  $A_p$ , anteriormente estudados.

### 3.5.3 Estudos dos parâmetros da DPV

Os parâmetros estudados para DPV foram a velocidade de varredura de potencial ( $v$ ), amplitude de pulso ( $A_p$ ) e tempo de pulso ( $t_p$ ).

Primeiramente foi estudado a  $v$ , fixando-se valores de  $A_p$  e  $t_p$  arbitrariamente. Posteriormente foi estudada a  $A_p$ , fixando-se valor de  $t_p$  (arbitrário) e  $v$ . Por último foi estudado o  $t_p$ , fixando-se os valores de  $v$  e  $A_p$  anteriormente estudados.

### 3.5.4 Correção de linha de base

Todos os voltamogramas obtidos foram submetidos à correção de linha de base utilizando ferramenta disponível no software GPES, versão 4.9. Para as medidas realizadas por SWV e DPV a correção foi realizada utilizando a média móvel (*moving average*), e curva de base exponencial (*exponential base curve*) para medidas realizadas por LSV.

### 3.5.5 Estudo de pré-concentração

A avaliação da influência da pré-concentração sobre a resposta voltamétrica para determinação de TBH, foi testada aplicando potenciais de deposição ( $E_d$ ). O  $E_d$  do analito é o potencial que se aplica ao eletrodo de trabalho antes de se iniciar a medida voltamétrica. Com a aplicação deste potencial altera-se o valor da capacitância da dupla camada, alterando, tam-

bém, a capacidade que o analito tem de adsorver ou se pré-concentrar na superfície do eletrodo de trabalho (PACHECO, 2004).

Este estudo foi realizado aplicando-se diferentes potenciais ao eletrodo de trabalho, em diferentes intervalos de tempo, antes da realização da medida voltamétrica, utilizando os parâmetros escolhidos no estudo anterior. A influência da pré-concentração foi avaliada através da variação na intensidade da corrente de pico ( $I_p$ ), repetibilidade das medidas voltamétricas e deslocamento do potencial de pico ( $E_p$ ).

### **3.6 Influência do pH**

A fim de se avaliar a influência do pH na resposta voltamétrica para a análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ , foi realizada a adição de pequenas alíquotas de ácido concentrado à célula eletroquímica, sendo o pH monitorado com um pHmetro e, posteriormente, realizada a análise voltamétrica.

### **3.7 Curva Analítica**

Para construção das curvas analíticas foram realizadas análises de soluções padrão de TBH em, no mínimo, oito diferentes níveis de concentração em solução de eletrólito suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , na presença e na ausência de matriz.

A partir da variação dos resultados analíticos obtidos para as diferentes concentrações analisadas foram construídas curvas analíticas pela relação da intensidade  $I_p$  e a concentração do analito. Através dessa relação plotou-se um gráfico e o ajuste dos pontos foi realizado através de uma regressão linear utilizando o método dos mínimos quadrados. A equação obtida por esse ajuste permitiu a avaliação de parâmetros como a linearidade da faixa concentração utilizada e a sensibilidade do método.

### 3.7.1 Avaliação da melhor proporção de matriz para construção das curvas analíticas

A influência da matriz nas respostas voltamétricas do herbicida em estudo foi avaliada através da observação da variação da resposta analítica fornecida pela oxidação do TBH na presença de várias concentrações de matriz na célula eletroquímica.

### 3.8 Validação

A validação é um estudo experimental que objetiva demonstrar que o procedimento analítico avaliado é adequado à aplicação proposta, de forma a assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos (ANVISA, 2003; MAPA, 2011a). Neste trabalho a validação foi conduzida através da avaliação dos seguintes parâmetros: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

Diversas são as formas pelas quais se pode conduzir a validação de um método analítico, guiada por documentos de recomendações de validação nacionais ou internacionais. Neste trabalho o estudo da validação se baseou principalmente no Manual de Garantia de Qualidade Analítica do MAPA (2011), na Resolução-RE nº 899 de 29 de maio de 2003 da ANVISA, na terceira revisão do documento DOQ-CGCRE-008 de orientação sobre validação de métodos analíticos do INMETRO, nos documentos da IUPAC (1978), sobre cálculo de limites de detecção e quantificação e BURNS *et al.* (2002) sobre recuperação e recuperação aparente (ANVISA, 2003; INMETRO, 2010; MAPA, 2011a; IUPAC 1978 e BURNS *et al.*, 2002).

Os critérios de validação: linearidade, seletividade, LD e LQ foram avaliados tanto para a metodologia desenvolvida por SWV quanto DPV. Os demais critérios foram avaliados somente para aquela metodologia que demonstrou melhor desempenho na determinação do herbicida em estudo.

### 3.8.1 Seletividade

A seletividade visa demonstrar a capacidade do método de medir adequadamente um composto de interesse na presença de outros componentes, tais como impurezas e componentes da matriz (ANVISA, 2003), de modo que assegure que o sinal analítico seja do composto de interesse, mesmo na presença de matrizes complexas. Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão seriamente comprometidas (INMETRO, 2010).

Segundo recomendação do INMETRO, o estudo da seletividade envolveu ensaios com a amostra, com e sem a presença do padrão do analito. Sendo avaliada qualitativamente pela observação da presença de picos de corrente em potenciais próximo ou igual ao potencial de pico de oxidação do TBH, na análise dos brancos, com e sem a presença de matriz, com o objetivo de assegurar que o pico de corrente monitorado é devido à atividade eletródica do analito.

### 3.8.2 Linearidade

Linearidade é a capacidade de o método produzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003; MAPA, 2011a).

O critério linearidade foi avaliado pela observação dos coeficientes de correlação ( $r$ ) obtidos pelo ajuste linear das curvas analíticas construídas como e sem a presença de matriz.

### 3.8.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

A sensibilidade do procedimento analítico é principalmente determinada pela inclinação  $b$  da curva analítica. Se a curva de analítica é uma reta, a sensibilidade é constante em toda a faixa de trabalho (MAPA, 2011a). A sensibilidade influencia diretamente nos LD e LQ do método.

O LD de um método é definido pela ANVISA como a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, com precisão e exatidão aceitáveis, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. E o LQ é definido como a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis (ANISA, 2003). Esses parâmetros foram calculados, segundo recomendação da IUPAC (1978), pelas equações 8 e 9.

$$LD = 3 \times \frac{S_b}{b} \quad (8)$$

$$LQ = 10 \times \frac{S_b}{b} \quad (9)$$

onde  $S_b$  é o valor do desvio padrão referente à medida da intensidade de corrente de 12 leituras do branco medidas exatamente no potencial de pico de oxidação de TBH. E  $b$  é o coeficiente angular da curva analítica (IUPAC, 1978).

Esses parâmetros foram avaliados para as duas metodologias (SWV e DPV).

### 3.8.4 Exatidão

A exatidão do método foi avaliada através do estudo de recuperação com matriz branca fortificada, segundo recomendação do MAPA (MAPA, 2011a).

Os testes de recuperação foram realizados na presença de matriz de açúcar cristal e mascavo de diferentes marcas presentes no mercado.

Inicialmente foi preparada uma solução do eletrólito de suporte na presença da matriz em estudo. Essa solução foi analisada para verificar a ausência de picos de corrente no mesmo  $E_p$  do TBH. Posteriormente foram feitas quatro adições sucessivas de 20,00 , 10,00 , 10,00 e 10,00  $\mu\text{L}$  de solução padrão de TBH, 1,00  $\text{mmol L}^{-1}$ . Sendo que essa contaminação proposital da solução branca com analito permitiu o cálculo da recuperação em quatro diferentes níveis de concentração, contemplando a faixa linear das

curvas analíticas construídas. A recuperação, ou recuperação aparente, foi calculada segundo recomendação da ANVISA, MAPA, INMETRO e IUPAC, utilizando a equação (10) (ANVISA, 2003; INMETRO, 2010; MAPA, 2011a e BURNS *et al.*, 2002):

$$R.A (\%) = \frac{C_E}{C_T} \times 100 \quad (10)$$

onde  $C_E$  é a concentração média calculada experimentalmente e  $C_T$  é a concentração teórica.

### 3.8.5 Precisão

Precisão foi avaliada sob condições de repetibilidade e precisão intermediária.

O Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM), adotado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) define a precisão de medição como o grau de concordância entre indicações ou valores medidos, obtidos por medições repetidas, no mesmo objeto ou em objetos similares, sob condições especificadas. Geralmente é expressa numericamente por indicadores de incerteza tais como: dispersão, desvio-padrão, variância ou coeficiente de variação. A precisão de medição é utilizada para definir a repetibilidade (ANVISA), também chamada de repetitividade de medição (INMETRO) e também a precisão intermediária de medições e a reprodutibilidade (ANVISA 2003; INMETRO, 2009; 2010).

A repetibilidade foi avaliada sob as condições descritas pelo INMETRO, sendo as análises realizadas utilizando um conjunto de condições as quais compreendem o mesmo procedimento de medição, o mesmo analista, o mesmo sistema de medição, as mesmas condições de operação e o mesmo local, em curto período de tempo, ou seja, no mesmo dia. O estudo foi feito utilizando-se quatro concentrações, contemplando a faixa de linearidade da curva analítica, sendo todas as análises realizadas em cinco replicatas. (ANVISA, 2003; INMETRO, 2009; 2010).

A avaliação da precisão intermediária foi realizada através de análises repetidas de soluções padrão num conjunto de condições, as quais compreendem o mesmo procedimento de medição e o mesmo local, o mesmo analista, obtidos em dias diferentes e/ou equipamentos diferentes. Para este estudo também se utilizou quatro níveis de concentrações, os mesmos utilizados para avaliação da repetibilidade, contemplando a faixa de linearidade da curva analítica, sendo todas as análises realizadas em cinco replicatas (ANVISA, 2003; INMETRO, 2009; 2010). O objetivo da avaliação da precisão intermediária é verificar se o mesmo laboratório, fornecerá, utilizando a mesma metodologia, os mesmos resultados para amostras iguais ou semelhantes.

Os resultados de repetibilidade e precisão intermediária foram expressos através do desvio padrão relativos (DPR), também conhecidos como coeficiente de variação (CV), dos experimentos acima descritos, calculados através da equação 11 (INMETRO, 2010).

$$CV = DPR = \frac{S}{CMD} \times 100 \quad (11)$$

onde  $S$  é o desvio padrão das medidas e  $CMD$  a concentração média determinada.

### 3.9 Efeito de matriz

A matriz da amostra pode conter componentes que interferem no desempenho da medição analítica. O estudo do efeito desses componentes, conhecido como efeito de matriz, visa averiguar a influência desses na resposta analítica do método. A presença de interferentes pode aumentar ou reduzir a intensidade do sinal analítico, e a magnitude do efeito também pode depender da concentração (INMETRO, 2010; MAPA, 2011a).

Para investigar melhor a interferência da matriz na resposta eletroquímica do TBH na presença de matriz de açúcar foram comparadas as curvas analíticas construídas na presença e ausência de matriz, e avaliada sua

influência através da modificação da sensibilidade do método, expresso pelo coeficiente angular da curva analítica.

### **3.10 Estudo de interferente**

Além disso, também foi estudada separadamente a influência de possíveis interferentes presente na matriz de açúcar na resposta analítica do método. Para isso foram preparadas soluções de TBH  $2,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  e registrada a leitura dessa amostra. Posteriormente, foram preparadas soluções com a mesma concentração de TBH e concentrações de possíveis interferentes, 100, 200 e 500 vezes maior que o analito. Para cada uma dessas soluções foram realizadas medidas voltamétricas e registrada a intensidade de  $I_p$ . Por fim, foram comparadas as respostas obtidas e avaliada a influência da presença dos interferentes estudados. Os interferentes escolhidos para este estudo foram ácido sulfúrico e cloreto de sódio, por serem fontes de compostos possivelmente presentes no açúcar processado (OLIVEIRA *et al.*, 2007; CHEN & CHOU, 1993).

## ***4 Resultados e discussão***

---

#### 4.1 Estudo do eletrólito de suporte

O eletrólito de suporte é uma solução de substância iônica cuja concentração é tipicamente de 10 a 100 vezes maior que as demais espécies na célula eletroquímica. As funções principais do eletrólito suporte são: diminuir a resistividade da solução, manter a força iônica do meio constante e evitar o transporte do analito por migração (PACHECO, 2004).

A primeira etapa de desenvolvimento da metodologia voltamétrica proposta foi encontrar uma solução de eletrólito de suporte adequada para determinação eletroquímica de TBH.

Inicialmente foi realizado um teste de solubilidade do analito em 10 soluções de eletrólito de suporte diferentes. Para isso foi adicionado um volume de 100,00  $\mu\text{L}$  de solução estoque de TBH, de concentração 43,80  $\text{mmol L}^{-1}$ , a um *ependorf* contendo 500,00  $\mu\text{L}$  de solução de eletrólito de suporte. A solução foi homogeneizada e observada, para verificar se ocorreria a formação de precipitado ou alguma outra mudança visual perceptível da solução. Os resultados estão listados na tabela 6.

Tabela 6. Teste de solubilidade do TBH em diferentes eletrólitos suporte

<b>Eletrólito suporte</b>	<b>Solvente</b>	<b>Resultado</b>
HCl 0,10 $\text{mol L}^{-1}$	Água	Solúvel
CrCl <sub>3</sub> 0,10 $\text{mol L}^{-1}$	Água	Solúvel
KCl 0,10 $\text{mol L}^{-1}$	Água	Solúvel
LiCl 0,10 $\text{mol L}^{-1}$	Água	Solúvel
KNO <sub>3</sub> 0,10 $\text{mol L}^{-1}$	Água	Solúvel
Tampão amoniacal (pH 9,4)	Água	Solúvel
Tampão carbonato (pH 10)	Água	Solúvel
NaOH 0,10 $\text{mol L}^{-1}$	Água	Solúvel
KOH 0,10 $\text{mol L}^{-1}$	Água	Solúvel
BF <sub>4</sub> TBA 0,10 $\text{mol L}^{-1}$	DMF	Solúvel

Como pode ser visto na Tabela 6, o TBH se mostrou, aparentemente, solúvel em todos os eletrólitos testados. Então, todas as soluções foram analisadas por VC, no sentido anódico e catódico, utilizando um eletrodo de

carbono vítreo (GCE - *glassy carbon electrode*), como eletrodo de trabalho, um contra-eletrodo de platina e um eletrodo de referência de Ag|AgCl, KCl<sub>sat</sub> 3M.

Para essa análise, a célula eletroquímica foi preparada contendo um volume de 10,00 mL do eletrólito de suporte. Foram registrados voltamogramas dessa solução, comumente chamados de branco. Posteriormente, foi adicionada uma alíquota de 228,00  $\mu\text{L}$  de solução estoque de TBH (concentração final de aproximadamente  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ) à célula eletroquímica e registrados os voltamogramas nos mesmos intervalos de potencial. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A Figura 16 evidencia os voltamogramas cíclicos registrados utilizando uma solução de HCl como eletrólito de suporte. No intervalo de varredura de 0,00 a +1,50 V (Figura 16a), assim como no intervalo de 0,00 a -1,50 V (Figura 16b), não foi observada a presença de nenhum pico de corrente anódico ou catódico que elucidasse a ocorrência de atividade oxidorredutiva do analito. O pico exibido próximo ao potencial +0,71 V, na Figura 15a, para varredura reversa de potencial, não se refere a nenhum processo de oxidação do analito, uma vez que, o mesmo encontra-se presente tanto na solução do branco, como na presença do analito.

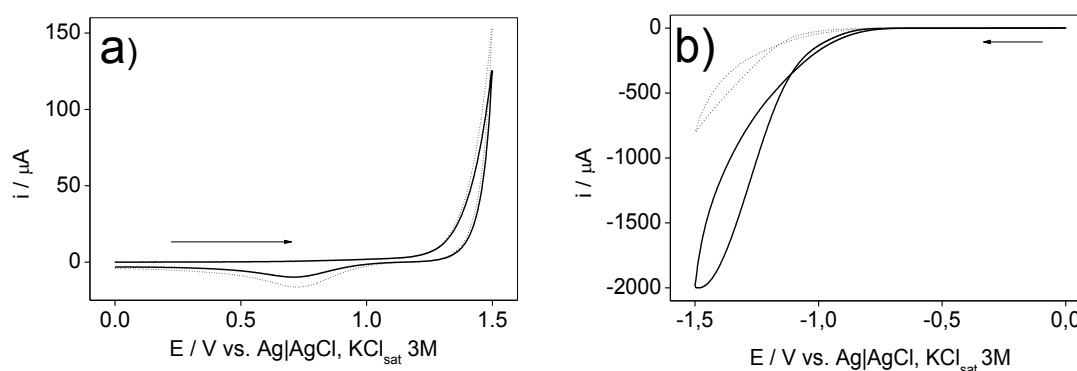


Figura 16. Voltamogramas cíclicos utilizando HCl  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito de suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico 0,00 a +1,50 V e b) varredura no sentido catódico 0,00 a -1,50 V. Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

As Figuras 17, 18, 19 e 20 mostram que semelhante ao resultado obtido para a solução de HCl, com a utilização de soluções de  $\text{CrCl}_3$ , KCl, LiCl e  $\text{KNO}_3$ , respectivamente, não se observou diferença entre os voltamogramas

do branco e da solução contendo o analito. Conclui-se, assim, que nenhum sinal de eletroatividade foi encontrado para o TBH nestas condições.

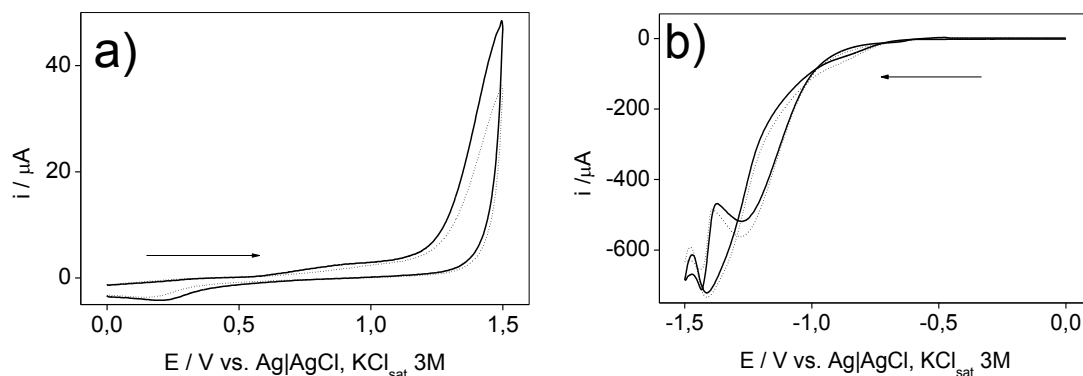


Figura 17. Voltamograma cíclico utilizando  $\text{CrCl}_3$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

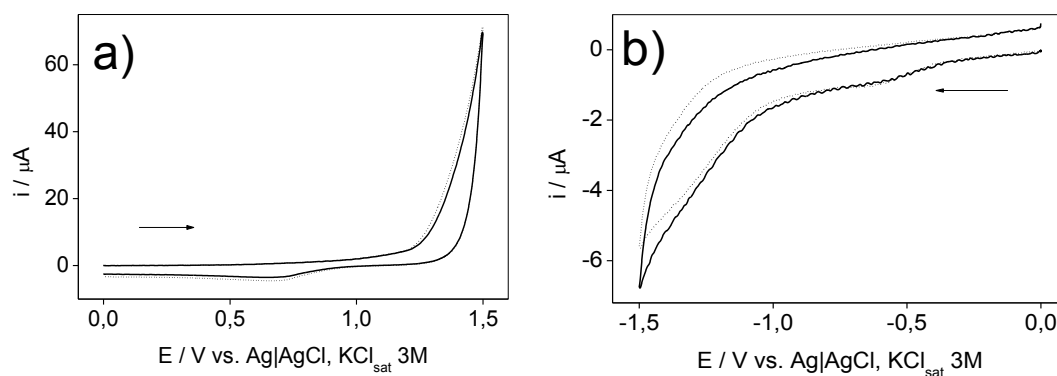


Figura 18. Voltamograma cíclico utilizando  $\text{KCl}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

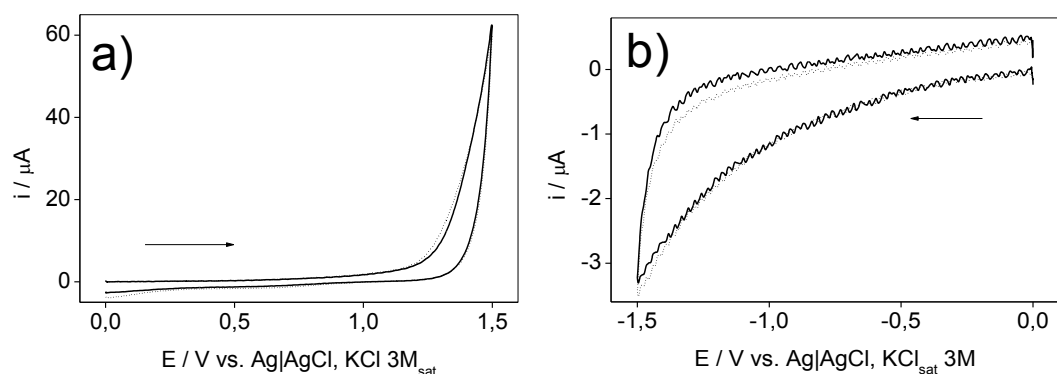


Figura 19. Voltamograma cíclico utilizando  $\text{LiCl}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

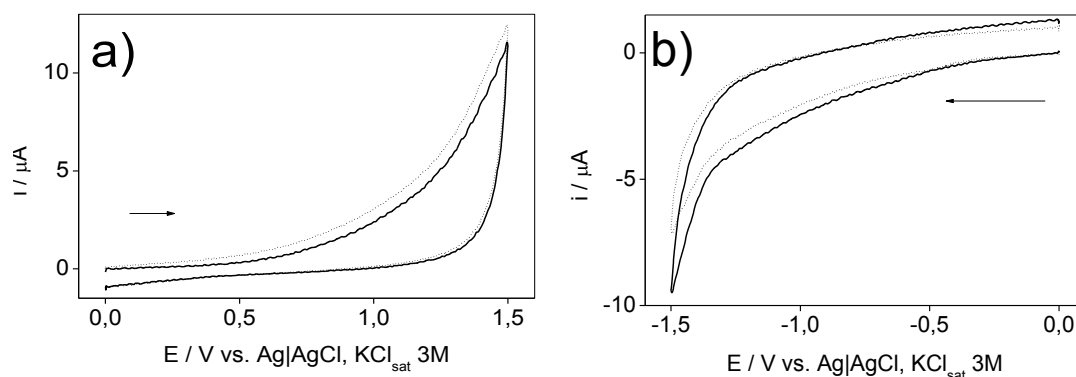


Figura 20. Voltamograma cíclico utilizando  $\text{KNO}_3$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Já com a utilização de uma solução de tampão amoniacal ( $\text{pH } 9,4$ ) pode-se observar um pico de oxidação próximo ao potencial  $+1,33 \text{ V}$ , na solução contendo o TBH, Figura 21a. No entanto, nenhum pico de redução foi registrado para o TBH, como mostrado na Figura 21b.

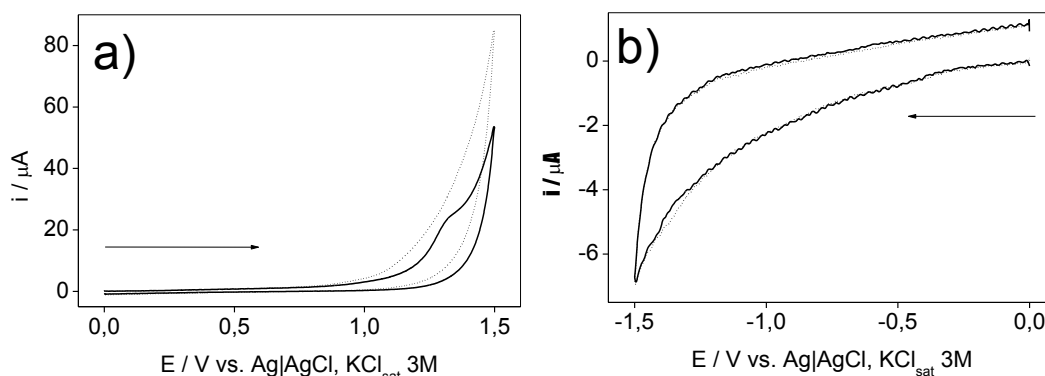


Figura 21. Voltamograma cíclico utilizando tampão amoniacal como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico  $0,00$  a  $+1,50 \text{ V}$  e b) varredura no sentido catódico  $0,00$  a  $-1,50 \text{ V}$ . Condições experimentais:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Também foi possível observar um pico anódico na representação da Figura 22a, pouco definido, próximo ao potencial  $+1,26 \text{ V}$ , com a utilização de tampão carbonato ( $\text{pH } 10,0$ ), e nenhum pico de redução, como mostrado na Figura 22b.

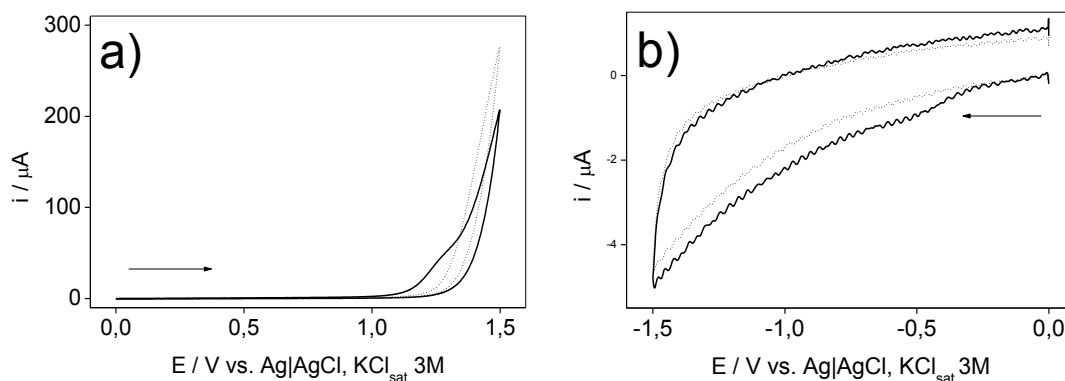


Figura 22. Voltamograma cíclico utilizando tampão carbonato como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico 0,00 a +1,50 V e b) varredura no sentido catódico 0,00 a -1,50 V. Condições experimentais:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Nas Figuras 23 e 24, referentes à utilização de uma solução de eletrólito de suporte contendo NaOH e KOH, respectivamente, pode-se observar a presença de picos anódicos mais definidos após a adição do analito, ambos próximo ao potencial +1,16 V (Figuras 23a e 24a). Como não foi observada a presença de nenhum pico de corrente nesse mesmo potencial nos voltamogramas do branco, atribui-se a presença do pico à oxidação do TBH. Também não foi observado nenhum pico de redução conforme evidencia as Figuras 23b e 24b.

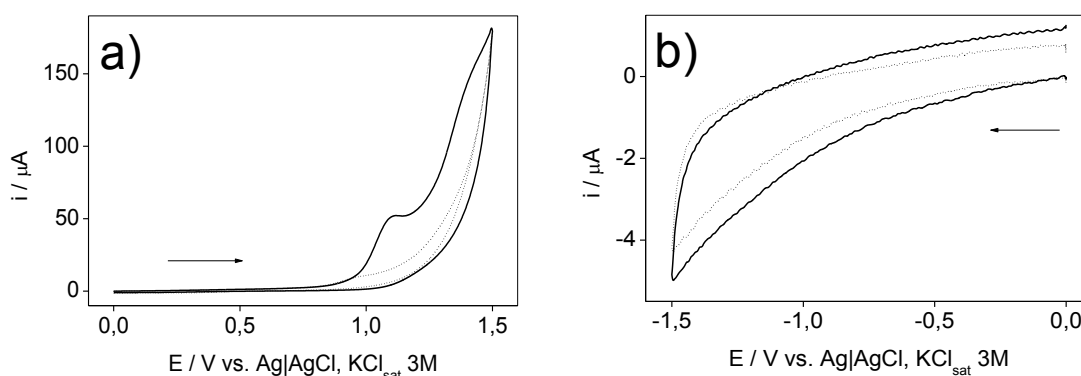


Figura 23. Voltamograma cíclico utilizando NaOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico 0,00 a +1,50 V e b) varredura no sentido catódico 0,00 a -1,50 V. Condições experimentais:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

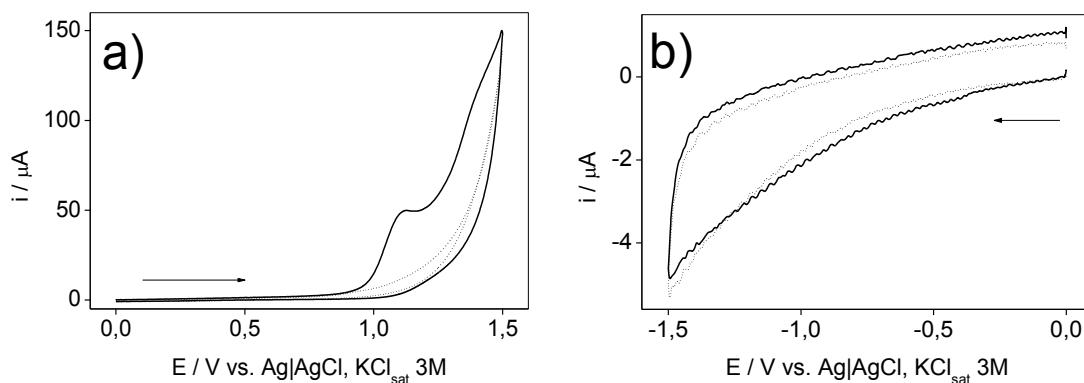


Figura 24. Voltamograma cíclico utilizando KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico 0,00 a +1,50 V e b) varredura no sentido catódico 0,00 a -1,50 V. Condições experimentais:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

A Figura 25 mostra os voltamogramas cíclicos registrados utilizando como eletrólito de suporte uma solução de  $\text{BF}_4\text{TBA/DMF}$ . Pode-se observar a presença de um pico de oxidação bem definido, porém de baixa intensidade  $I_p$ , próximo ao potencial +1,17 V (Figura 25a), e um pico de redução discreto próximo ao potencial -1,38 V (Figura 25b), ambos atribuídos ao comportamento redox do analito.

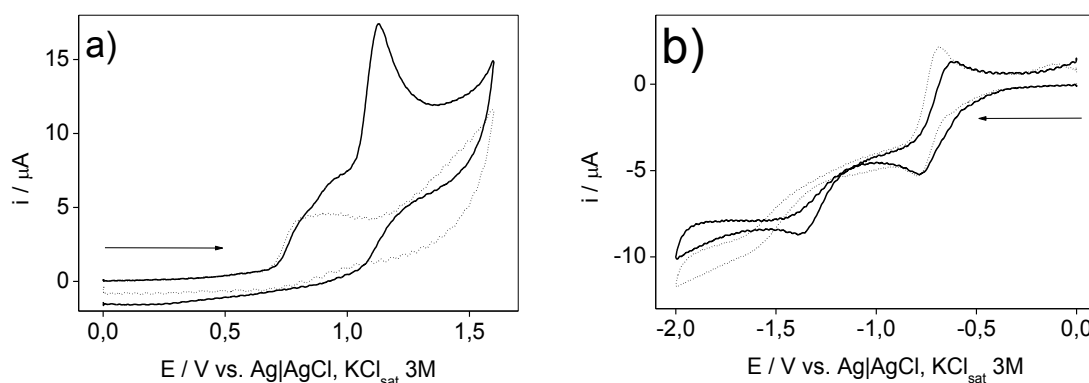


Figura 25. Voltamograma cíclico utilizando  $\text{BF}_4\text{TBA/DMF}$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). a) varredura no sentido anódico 0,00 a +1,50 V e b) varredura no sentido catódico 0,00 a -1,50 V. Condições experimentais:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Apesar do aparecimento de um pico de redução próximo ao potencial -1,38 V, quando se utilizou  $\text{BF}_4\text{TBA/DMF}$  como eletrólito de suporte, os voltamogramas anódicos apresentaram melhores respostas quanto à intensidade de corrente, então, realizou-se a comparação das respostas dos eletró-

litos que apresentaram  $I_p$  em potencial anódico, a fim de avaliar e escolher a melhor solução do eletrólito para o estudo mais detalhado do comportamento do TBH em intervalo de potencial positivo.

A Figura 26 apresenta os voltamogramas cíclicos de todos os eletrólitos estudados que apresentaram pico de oxidação para o TBH.

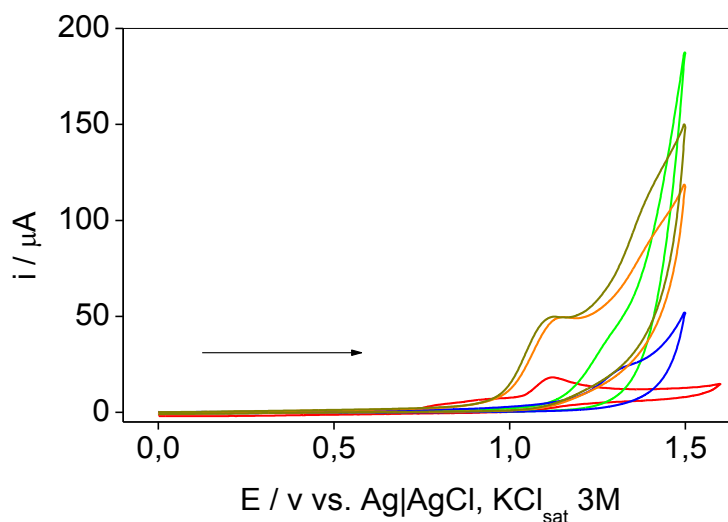


Figura 26. Voltamogramas cíclicos utilizando  $\text{BF}_4\text{TBA/DMF}$  (—), tampão carbonato (—), tampão amoniacal (—),  $\text{NaOH}$  (—) e  $\text{KOH}$  (—) como eletrólito de suporte na análise e uma solução de  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de TBH.

A comparação entre os resultados obtidos com a utilização de cada um desses eletrólitos também pode ser visualizada na Figura 27, que apresenta uma comparação em relação as correntes de pico e os potenciais de pico anódico do TBH em cada situação. É possível observar através das Figuras 26 e 27 que as respostas obtidas com a utilização de  $\text{NaOH}$  e  $\text{KOH}$  como eletrólito de suporte foram bastante semelhantes, sendo que o  $\text{KOH}$  apresentou um potencial de pico ligeiramente menor, com menor desvio padrão nos resultados das replicatas.

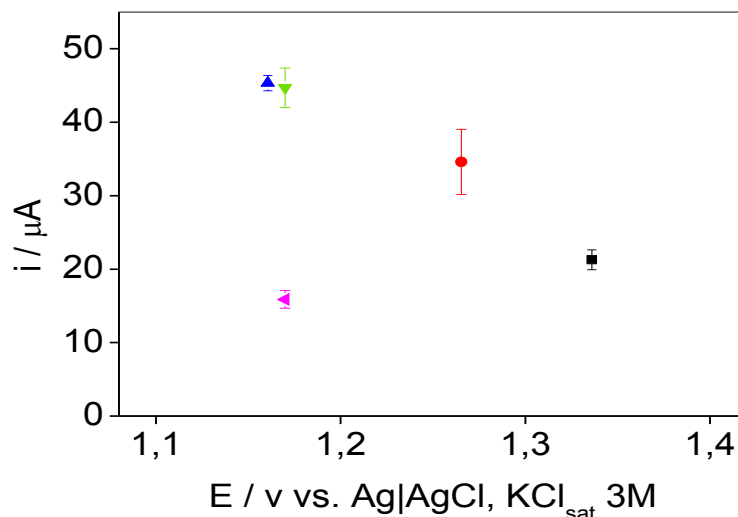


Figura 27. Relação entre a corrente de pico e o potencial de pico utilizando BF<sub>4</sub>TBA/DMF (◄); tampão amoniacal (■); tampão carbonato (●); NaOH (▼) e KOH (▲) como eletrólito de suporte.

Assim, fez-se a opção pela utilização do KOH como eletrólito de suporte para desenvolvimento da metodologia eletroquímica. Os resultados obtidos neste estudo, também foram base para a escolha do intervalo de potencial de trabalho, sendo a escolha pelo monitoramento do pico de oxidação do TBH.

#### 4.2 Escolha do eletrodo de trabalho

Tendo-se fixando os parâmetros definidos no estudo anterior, foram testados outros três tipos de eletrodos de trabalho. Para esse estudo, sempre registrou-se o voltamograma referente ao branco, e todas as leituras voltamétricas foram realizadas em no mínimo três replicatas. A seletividade do eletrodo em condições experimentais específicas também evita que a corrente faradáica proveniente de substâncias potencialmente interferentes se manifestem (PACHECO, 2004).

As Figuras 28 e 29 mostram que o TBH não exibe nenhum pico de oxidação no intervalo estudado, com a utilização do eletrodo de ouro e do eletrodo de diamante dopado com boro.

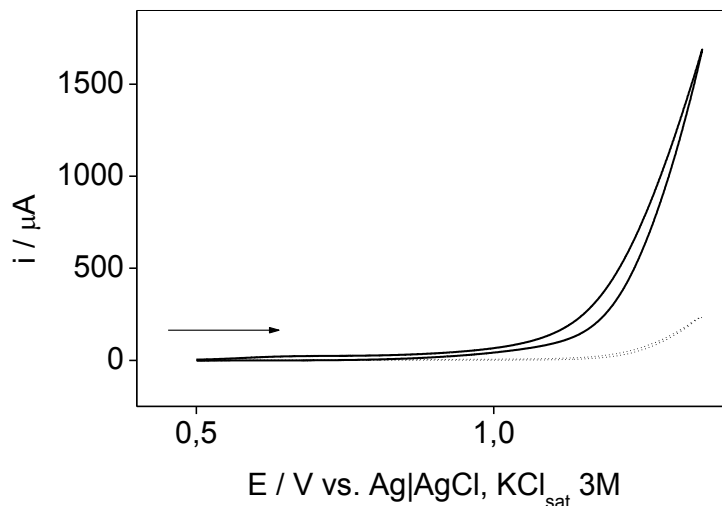


Figura 28. Voltamograma cíclico utilizando eletrodo de trabalho de ouro e KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> como eletrólito de suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH (1,00 mmol L<sup>-1</sup>). Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

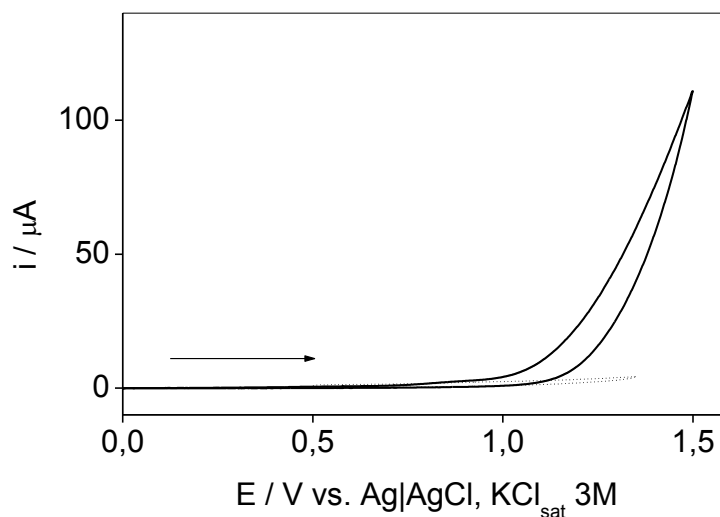


Figura 29. Voltamograma cíclico utilizando eletrodo de trabalho de diamante dopado com boro e KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> como eletrólito de suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH (1,00 mmol L<sup>-1</sup>). Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Já a Figura 30 mostra a presença de um pico de oxidação próximo ao potencial +1,18 V, com a utilização do eletrodo de grafite pirolítico na presença de TBH. Nota-se, também, que o voltamograma cíclico referente ao branco apresenta um pico, porém com menor intensidade de corrente, em potencial semelhante ao TBH, o que torna essa determinação pouco recomendada em função da não distinção da contribuição redox da solução do eletrólito de suporte e do TBH.

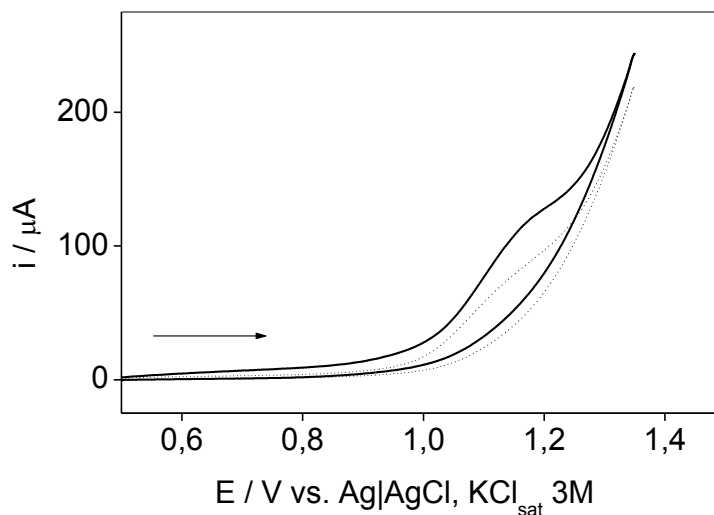


Figura 30. Voltamograma cíclico utilizando eletrodo de trabalho de grafite pirolítico e KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito de suporte na ausência (...) e na presença (—) de TBH ( $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Condições experimentais:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Assim, foi feita a escolha pela utilização do eletrodo de carbono vítreo no desenvolvimento da metodologia, uma vez que o mesmo exibiu picos voltamétricos mais definidos e em menores valores de potencial de pico, além de melhor repetibilidade entre as medidas voltamétricas.

#### 4.3 Teste estabilidade

Com o objetivo de avaliar a estabilidade do analito na solução do eletrólito de suporte, foi preparada uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Essa solução foi analisada por VC semanalmente conforme descrito no item 3.3.3 deste trabalho. A Figura 31 apresenta os resultados obtidos para os diferentes dias de análise.

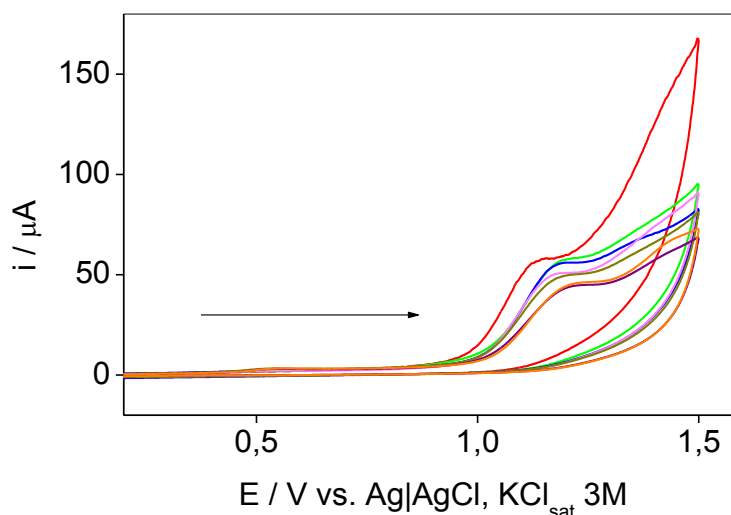


Figura 31. Voltamograma cíclico de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  no dia em que foi preparada (—), uma (—), duas (—), três (—), cinco (—), seis (—) e sete (—) semanas depois.

Logo após a primeira semana foi possível observar um pequeno deslocamento de  $E_p$  para valores mais positivos, esse deslocamento se manteve praticamente inalterado durante as semanas seguintes, também foi observada uma queda gradativa, semana após semana, na intensidade de  $I_p$ . A queda de  $I_p$  registrada na sétima semana corresponde a 21 % da intensidade de corrente original registrada para solução recém-preparada. Dessa forma, todas as análises qualitativas e quantitativas posteriores foram feitas com a solução de TBH recém-preparada, mediante adequada diluição de uma solução estoque de TBH.

#### 4.4 Caracterização eletroquímica de TBH por voltametria cíclica (VC)

##### 4.4.1 Comportamento eletroquímico de TBH em eletrodo de carbono vítreo (GCE)

Com base nos resultados anteriores, optou-se por realizar este estudo do TBH, numa janela de potencial que variou entre  $+0,50 \text{ V}$  à  $+1,35 \text{ V}$ , utilizando eletrodo de GCE e eletrólito suporte de KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Nessas condições foi monitorado um pico de corrente anódica próximo ao potencial  $+1,16 \text{ V}$  atribuído ao processo de oxidação do herbicida em estudo.

Inicialmente, a ausência de pico no sentido reverso de varredura na VC sugere que a oxidação do TBH ocorre com uma transferência eletrônica irreversível.

A avaliação de alguns parâmetros específicos nos próximos estudos permitiu elucidar melhor a característica redox do sistema estudado.

#### **4.4.2 Estudo de ciclos sucessivos**

A fim de se obter mais informações sobre as características da oxidação do herbicida TBH na superfície do eletrodo de trabalho, realizou-se o estudo de varreduras sucessivas de potencial, utilizando a VC, sem que fosse realizado qualquer procedimento de limpeza do eletrodo de trabalho entre um ciclo e outro. Para isso, foram realizadas 10 varreduras sucessivas, num intervalo de +0,50 à +1,35 V, com velocidade de varredura de potencial de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Pode-se observar pelos voltamogramas ilustrados na Figura 32 uma queda gradativa da intensidade da corrente de pico ciclo após ciclo. Entre o 1º e o 2º ciclo houve uma queda de aproximadamente 43,9 % na intensidade da corrente de pico, sendo difícil a visualização da definição do pico de oxidação do analito no 10º ciclo. Tal comportamento sugere que a superfície do eletrodo foi gradativamente passivada pela adsorção do TBH ou de um produto de sua oxidação, dificultando a troca de elétrons entre a superfície do GCE e o analito em solução. Os resultados deste estudo evidenciam a necessidade de limpeza mecânica do eletrodo de trabalho após cada medida eletroquímica.

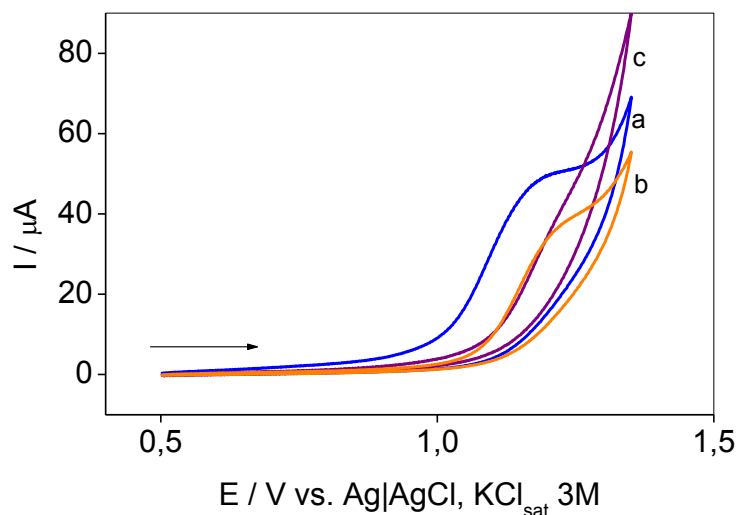


Figura 32. Voltamogramas cíclicos sucessivos de solução de TBH 1,00 mmol L<sup>-1</sup> em GCE sem limpeza do eletrodo de trabalho entre as medidas, sendo: 1° ciclo (a); 2° ciclo (b) e 10° ciclo (c).

#### 4.4.3 Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial

##### 4.4.3.1 Mecanismo de transporte de massa

Informações úteis sobre o mecanismo eletroquímico de transferência eletrônica podem ser obtidos através do estudo da influência da variação da velocidade de varredura de potencial ( $v$ ) utilizando a VC.

A Figura 33 apresenta os voltamogramas cíclicos registrados para uma mesma solução de TBH 1,00 mmol L<sup>-1</sup> variando-se a  $v$  entre 10 e 500 mV s<sup>-1</sup>.

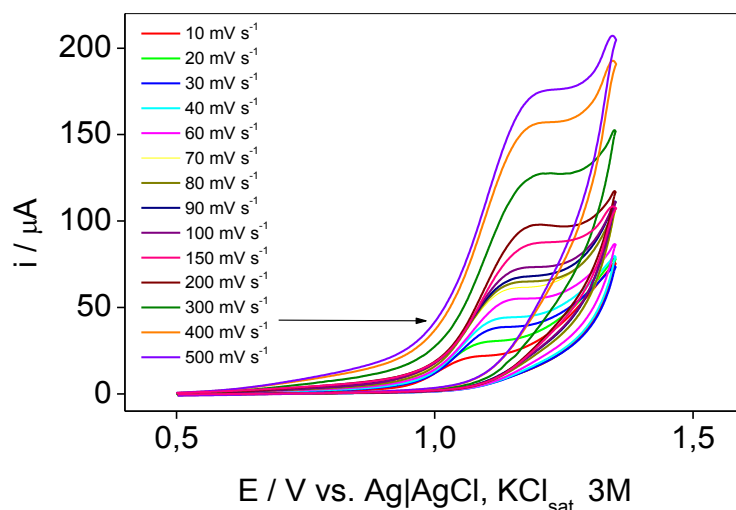


Figura 33. Voltamogramas cíclicos de solução de TBH 1,00 mmol L<sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> em diferentes velocidades de varredura, utilizando GCE.

Observa-se nos voltamogramas cíclicos da Figura 33 um aumento gradativo na intensidade de  $I_p$  em função do aumento de  $v$ . A linearidade entre a intensidade de  $I_p$  e a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ( $v^{1/2}$ ), dados pela equação  $I_p \text{ (A)} = -3,529 + 6,585 [v^{1/2}]$ , com  $r = 0,996$ , conforme ilustrado na Figura 34, é um indicativo de que o principal mecanismo de transporte de massa do analito no interior da solução até a superfície do eletrodo de trabalho é dado por difusão (BARD & FAULKNER, 2001), ou seja, a taxa de reação é limitada por difusão.

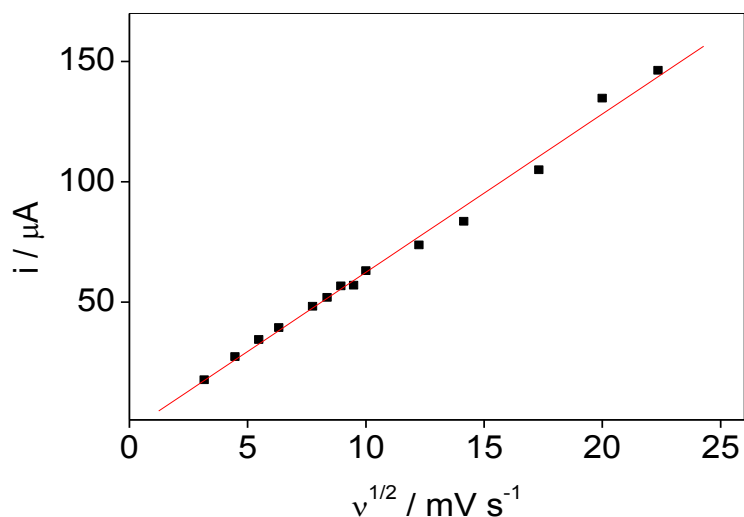


Figura 34. Variação da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial para uma solução de  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de TBH em  $\text{KOH } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com GCE.

Caso contrário, quando o principal processo de transporte de massa no sistema é dado por adsorção é observada uma linearidade na relação entre os valores  $I_p$  e a  $v$  (BARD & FAULKNER, 2001), como podemos observar na figura 35, o melhor ajuste para essa relação não se dá pelo modelo linear.

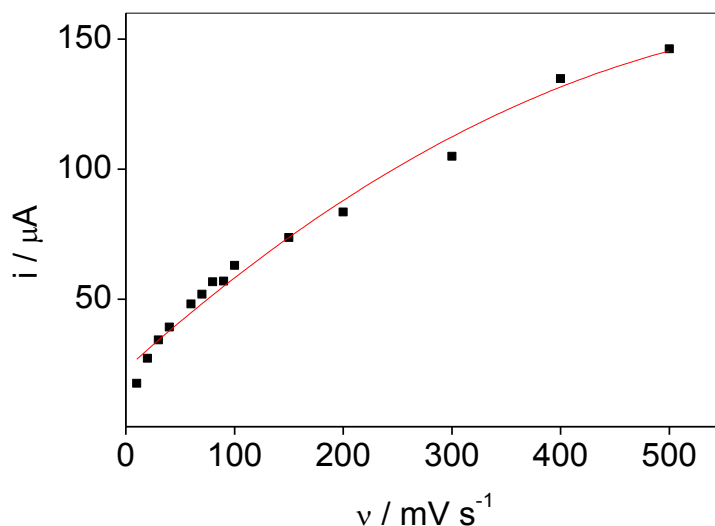


Figura 35. Variação da corrente de pico em função da velocidade de varredura de potencial para uma solução de  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de TBH em  $\text{KOH } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com GCE.

Outro indicativo de que o principal processo de transporte de massa do sistema se dá por difusão, é observado pelos valores do coeficiente an-

gular do ajuste linear entre  $\log(I_p)$  vs.  $\log(v)$  (Figura 36). Quando os valores do coeficiente angular desse ajuste se aproximam de 0,50 é indicativo de que o principal processo de transporte de massa presente no sistema é dado por difusão, enquanto valores de coeficiente angular próximos de 1,0 são um indicativo de processo controlado por adsorção (BARD & FAULKNER, 2001). Mais uma vez os resultados observados são coerentes, como pode ser visto pela equação da reta  $\log(I_p) = 0,747 + 0,522 [\log(v)]$ , com  $r = 0,998$ .

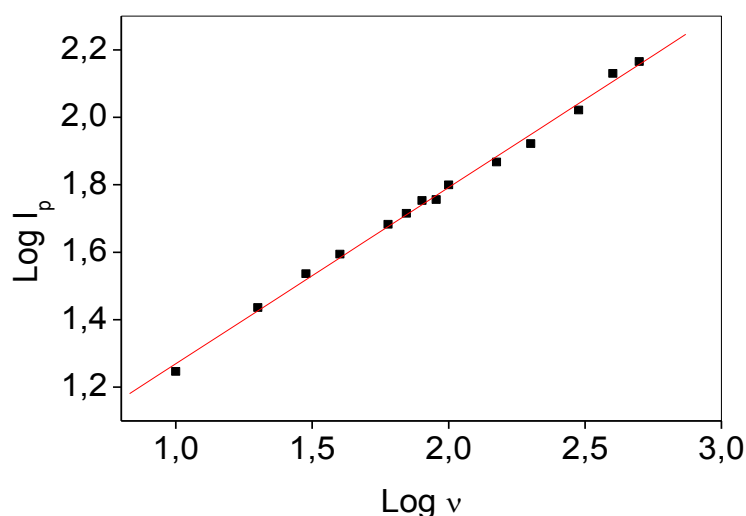


Figura 36. Variação do logaritmo da corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura de potencial para uma solução de 1,00 mmol L<sup>-1</sup> de TBH em KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> com GCE.

#### 4.4.3.1 Reversibilidade do sistema redox

Através dos principais parâmetros extraídos dos voltamogramas cíclicos gerados pela variação da  $v$ , também é possível obter informações sobre a reversibilidade do sistema em estudo, bem como, elucidar os mecanismos de reações eletroquímicas, detecção da existência de reações acopladas e etc. (BRETT & BRETT, 1993).

O voltamograma cíclico formado por um sistema irreversível geralmente não apresenta pico na varredura reversa de potencial. Isso porque nesses sistemas, não ocorre o equilíbrio Nernstiano, ou seja, a velocidade de transferência eletrônica não mantém o equilíbrio das espécies eletroativas na superfície do eletrodo durante o intervalo de tempo da medida experimental. Essa configuração do voltamograma cíclico pode ser observada

para o sistema em estudo (Figura 24a). Porém, apesar de ser um indicativo, somente a ausência de pico no sentido de varredura reversa não define a transferência eletrônica como irreversível, pois uma reação química acoplada ao processo eletródico pode estar associada ao sistema, consumindo rapidamente a espécie formada na superfície do eletrodo pela varredura direta de potencial (TOLEDO, 2006).

Outros critérios de diagnóstico de que o sistema seja irreversível é o deslocamento de  $E_p$  para potenciais mais positivos com o aumento da  $v$  (Figura 37) e a linearidade de  $E_p$  vs.  $\log(v)$  (Figura 38) dada por  $E_p = 1,060 + 0,0061 [\log(v)]$ ,  $r = 0,979$  nesse estudo (BRETT & BRETT, 1993), ambas as configurações são apresentadas pelo sistema estudado.

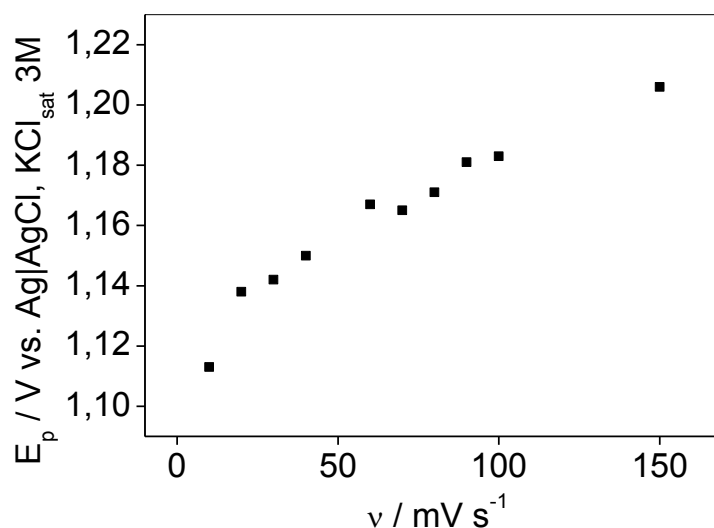


Figura 37. Variação do potencial de pico ( $E_p$ ) em função da velocidade de varredura de potencial para uma solução de  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com GCE.

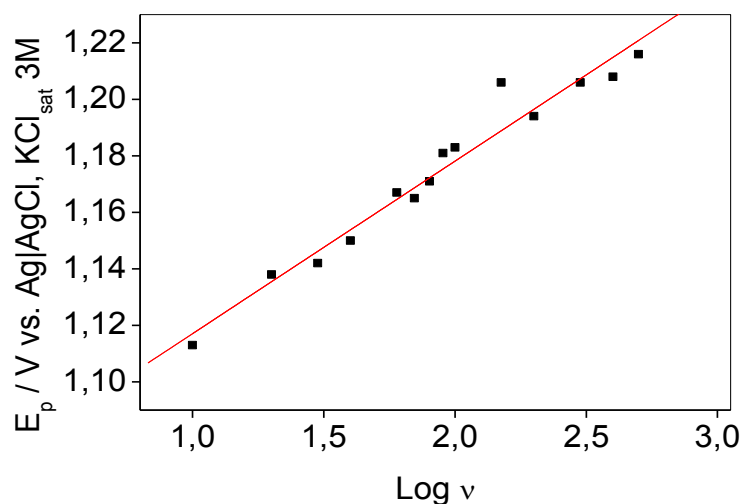


Figura 38. Variação do potencial de pico ( $E_p$ ) em função do logaritmo da velocidade de varredura de potencial para uma solução de  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de TBH em  $\text{KOH } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com GCE.

Segundo NICHOLSON & SHAIN (1964), também é um indicativo de que a transferência eletrônica seja totalmente irreversível a permanência, praticamente constante, da razão ( $i_p / v^{1/2}$ ) com o aumento da velocidade de varredura de potencial aplicada. Essa configuração também foi verificada para o sistema estudado, como pode ser visto na Figura 39.

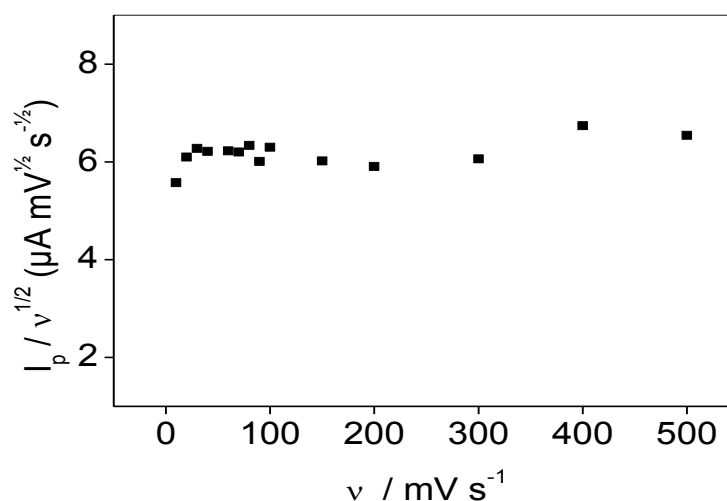


Figura 39. Variação da função corrente ( $i_p / v^{1/2}$ ) em relação à velocidade de varredura de potencial para uma solução de  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de TBH em  $\text{KOH } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com GCE.

Resumidamente, todos os experimentos levam a afirmar que a hipótese da movimentação do analito no interior da solução até a superfície do

eletrodo se dá por difusão e que a transferência eletrônica realmente ocorre de forma irreversível.

#### 4.4.3.1 Estudo do número de elétrons transferidos

Segundo BRETTE & BRETTE (1993) é possível calcular de maneira teórica o número de elétrons transferidos no processo redox utilizando dados obtidos experimentalmente por DPV, através da equação abaixo:

$$W_{1/2} = \frac{3,52 RT}{n F} \quad (12)$$

onde  $n$  é o número de elétrons transferidos,  $F$  é a constante de Faraday ( $96.485,3399 \text{ C mol}^{-1}$ ),  $T$  é a temperatura em Kelvin ( $298 \text{ K}$ ),  $R$  é a constante geral dos gases perfeitos ( $8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ),  $W_{1/2}$  é a largura à meia altura do pico referente ao processo eletrodico (obtido experimentalmente).

Reorganizando a Equação 12 podemos dizer que o número de elétrons transferidos é igual a 0,090 dividido pelo valor de  $W_{1/2}$  obtido experimentalmente por DPV.

$$n = \frac{0,090}{W_{1/2}} \quad (13)$$

Empregando a equação 13,  $n$  foi calculado como 0,9, assim, estima-se seja transferido um elétron do analito para a superfície eletrodica de carbono vítreo durante a oxidação do TBH.

#### 4.5 Mecanismo de oxidação de TBH

Indicativos apontam que a oxidação do TBH ocorre com a transferência eletrônica de um elétron de maneira irreversível. Porém, antes de propor um mecanismo de oxidação foi realizado um estudo para investigar ocorrência de reação entre o analito e o eletrólito de suporte.

#### 4.5.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Com o intuito de saber se ao adicionar o analito à solução de eletrólito de suporte ele permaneceria na mesma forma ou sofreria algum tipo de reação, foram feitas análises utilizando cromatografia em camada delgada (CCD). Para isso, foi aplicada no ponto 1 (Figura 40), da placa de CCD, uma porção da solução estoque de TBH e, no ponto 2, a solução obtida após a adição do TBH ao eletrólito de suporte, conforme descrito no item 3.4 desse trabalho.

Assim como pode ser visto através dos resultados apresentados na Figura 40, em contato com a solução de eletrólito de suporte o analito sofre reação química, outros produtos. É importante resaltar que foi feito o mesmo teste como o branco e este não apresentou nenhum resultado.

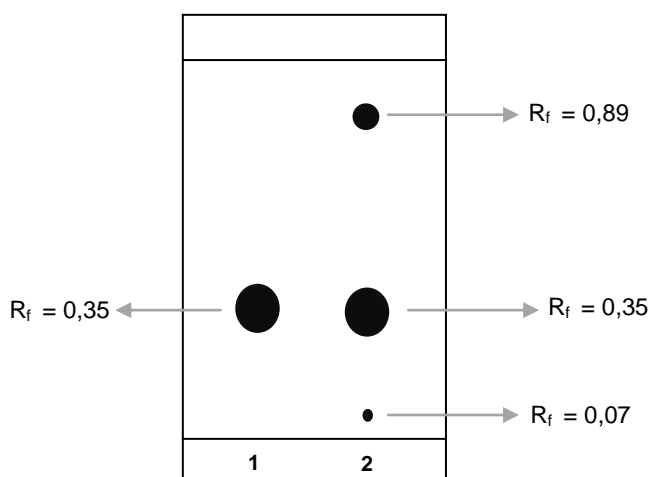


Figura 40. Ilustração do resultado obtido em cromatografia em camada delgada da solução estoque de TBH (1) e solução obtida após adição do TBH ao eletrólito de suporte (KOH) (2), utilizando fase móvel hexano: acetato de etila (1:5 v/v).

Foi possível observar na placa de CCD, uma mancha maior e de coloração mais intensa, para a solução preparada após o contato do analito com eletrólito de suporte, apresentando fator de retenção ( $R_f$ ) semelhante ao da mancha referente à solução padrão estoque de TBH, indicando que, possivelmente, a maior proporção de TBH se encontra na forma molecular nesta solução, assim como na solução estoque. Ainda assim, não se pode afirmar que a eletroatividade monitorada se deve somente ao TBH e não a um de

seus produtos. Outros ensaios envolvendo técnicas de separação, detecção e identificação, como por exemplo, CLAE-EM, seriam necessários para identificar os compostos formados pela reação do analito com o eletrólito suporte, e posteriormente, definir qual deles é eletroativo. A partir desses dados será possível, então, propor um mecanismo de transferência eletrônica.

Mesmo sem identificar o componente eletroativo na solução é possível qualificar e quantificar analiticamente a amostra, uma vez que o sinal produzido por sua presença é seletivo e apresenta uma relação entre a concentração do TBH e o sinal analítico gerado.

#### **4.6 Escolha dos parâmetros experimentais**

A escolha dos parâmetros das técnicas eletroquímicas de pulso foi realizada conforme descrito no item 3.5 desse trabalho.

##### **4.6.1 Estudos dos parâmetros da LSV**

Os parâmetros estudados na LSV foram o incremento ( $I_v$ ) e velocidade de varredura ( $v$ ). Primeiro estudou-se o  $I_v$ . Para isso, fixou-se o valor de  $50 \text{ mV s}^{-1}$  para  $v$  e atribuíram-se valores variados para  $I_v$ . Os valores de  $I_v$  atribuídos foram de 1 , 5 , 10 , 20 , 30 , 40 e 50 mV. Os voltamogramas resultantes de todos os valores atribuídos para  $I_v$  podem ser vistos na Figura 41.

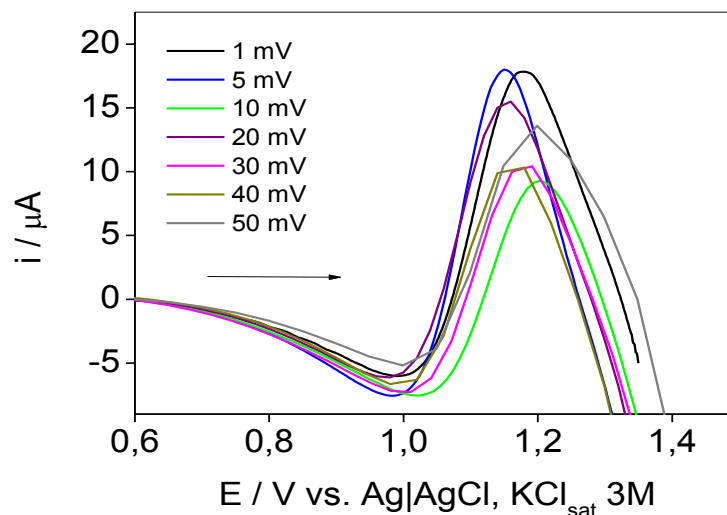


Figura 41. Voltamogramas referentes ao estudo da influência do incremento de varredura da LSV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.

Apesar dos valores de 1 mV, 5 mV e 10 mV terem apresentado as maiores intensidades de  $I_p$ , as respostas utilizando esses parâmetros não apresentaram boa repetibilidade, como pode ser visto na Figura 42. Também é possível observar pelos resultados ilustrados na Figura 41, que em nenhum dos valores houve alargamento do pico a meia altura ou grande deslocamento do  $E_p$ , porém em valores de  $I_v$  maiores que 20 mV a resolução do voltamograma foi comprometida.

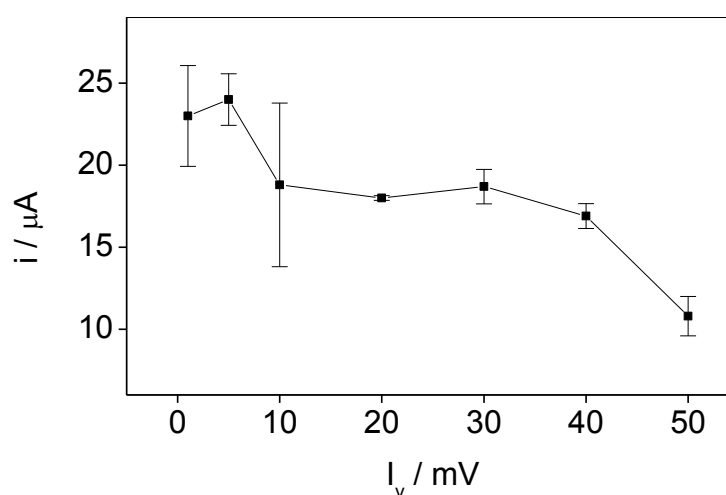


Figura 42. Estudo da influência do incremento de varredura da LSV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.

Diante desses resultados, o melhor para o  $I_v$  para determinação de TBH por LSV, nas condições experimentais adotadas, foi definido como sendo 20 mV, uma vez que para esse valor obteve-se  $I_p$  com repetibilidade satisfatória.

Depois de fixado o valor escolhido para  $I_v$ , variou-se os valores de  $v$ , entre o intervalo de 10 e 125 mV s<sup>-1</sup>. Todos os voltamogramas obtidos em diferentes valores de  $v$  são mostrados na Figura 43. Também não houve alargamento do pico a meia altura, mas o  $E_p$  teve um pequeno deslocamento, para valores mais positivos, com o aumento de  $v$ .

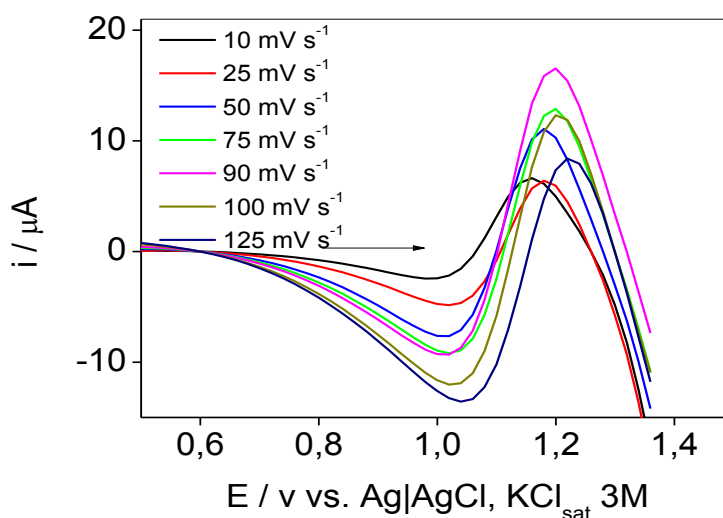


Figura 43. Voltamogramas referentes ao estudo da influência da velocidade de varredura de potencial da LSV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L<sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> em GCE.

É possível observar através da Figura 44, que o resultado obtido com  $v$  igual a 90 mV s<sup>-1</sup> exibiu tanto maior intensidade de  $I_p$  como satisfatória repetibilidade, e, por isso, esse valor foi escolhido como o melhor valor para determinação de TBH por LSV, nas demais condições experimentais adotadas.

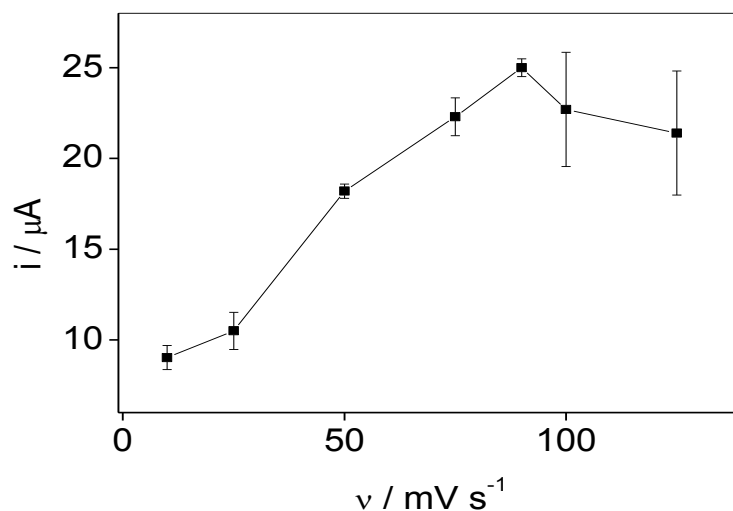


Figura 44. Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial para a análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.

#### 4.6.2 Estudos dos parâmetros da SWV

O primeiro parâmetro estudado na SWV foi a amplitude de pulso ( $A_p$ ). Para isso fixou-se o valor de 50 Hz para frequência ( $f$ ) e 1,5 mV para incremento de varredura ( $I_v$ ), e variou-se o valor de  $A_p$ , utilizando valores entre 10 mV e 100 mV. A Figura 45 mostra os voltamogramas obtidos pela utilização de todos os diferentes valores atribuídos a  $A_p$ .

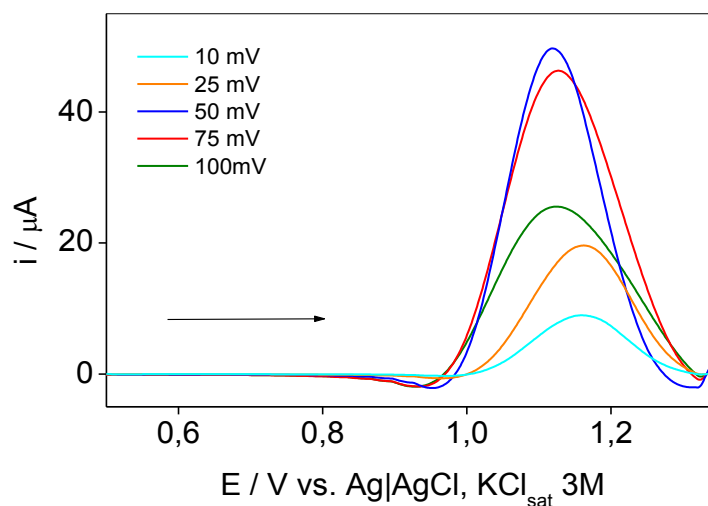


Figura 45. Voltamogramas referentes ao estudo da influência da amplitude de pulso da SWV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.

É possível observar pelos resultados ilustrados na Figura 46, que a intensidade de  $I_p$  aumenta com o aumento de  $A_p$  até  $A_p \leq 50$  mV, quando os valores de  $A_p$  são maiores que 50 mV ocorre uma queda gradativa na  $I_p$ . Apesar da maior intensidade de  $I_p$  ser obtida com  $A_p$  igual a 50 mV, esse valor também exibiu os maiores valores de desvio padrão entre as medidas, ou seja, pior repetibilidade. Já os resultados obtidos com  $A_p$  igual a 75 mV exibiram elevado  $I_p$  e boa repetibilidade. Diante desses resultados 75 mV foi escolhido como  $A_p$  o melhor para determinação de TBH por SWV, nas condições experimentais adotadas.

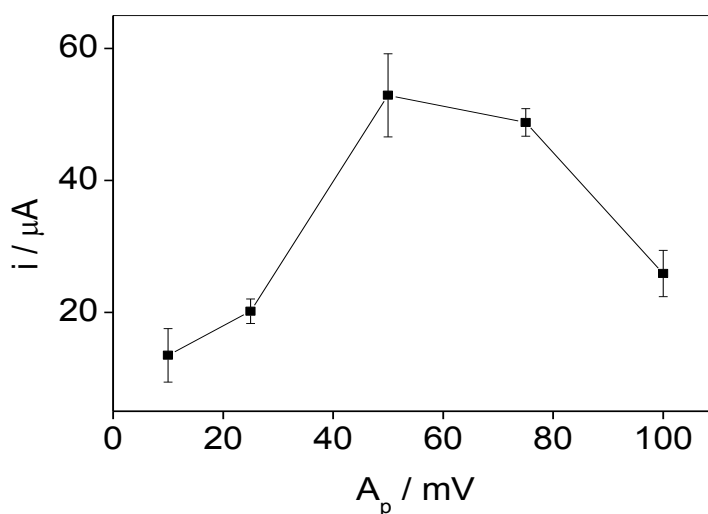


Figura 46. Estudo da influência da frequência da SWV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.  $I_v = 1,5 \text{ mV}$  e  $f = 50 \text{ Hz}$ .

Em seguida, para escolha da  $f$ , foram variados os valores atribuídos a esse parâmetro entre 10 e 100 Hz, mantendo-se fixos o valor escolhido para  $A_p$  e  $1,5 \text{ mV}$  para  $I_v$ . Os voltamogramas obtidos para todos os valores de  $f$  podem ser vistos na Figura 47.

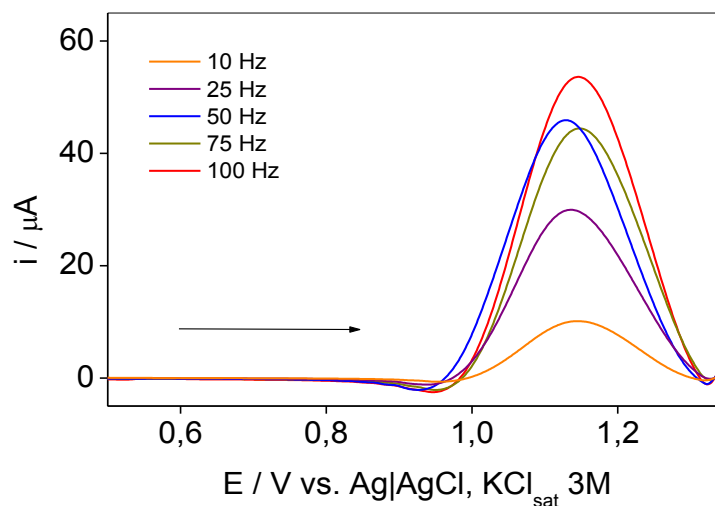


Figura 47. Voltamogramas referentes ao estudo da influência da frequência da SWV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.

É possível observar na Figura 47, que para nenhum dos valores atribuídos a  $f$ , houve alargamento do pico ou grande deslocamento de  $E_p$ . A Figura 48 mostra que a intensidade de  $I_p$  cresce com o aumento da frequência e se estabiliza para valores de  $f$  acima de 75 Hz. A frequência definida como a melhor para esta determinação foi estabelecida como sendo 100 Hz, por ter apresentado valor satisfatório de  $I_p$  e boa repetibilidade.

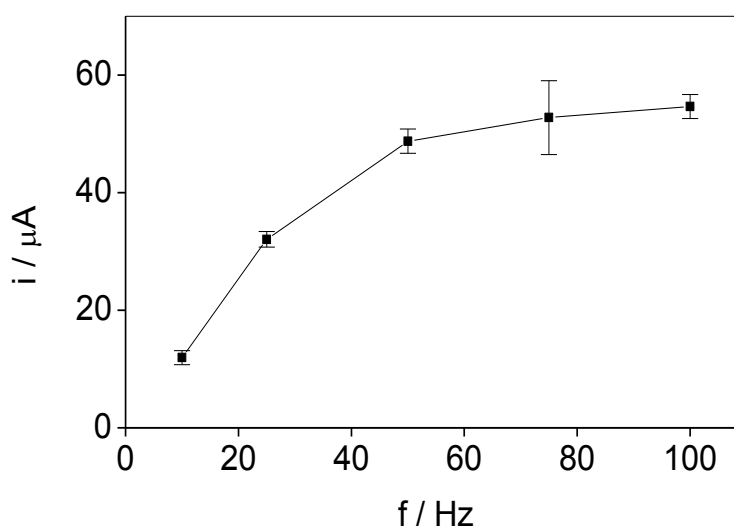


Figura 48. Estudo da influência da frequência para a análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.  $A_p = 75 \text{ mV}$  e  $I_v = 1,5 \text{ mV}$

Por último foi estudado o  $I_v$ . Para isso foram fixados os melhores valores de  $A_p$  e  $f$ , e avaliado o resultado da resposta eletroquímica de diversos valores de  $I_v$ . Os valores atribuídos para  $I_v$  foram 1, 2,5, 5, 7,5, 10 e 15 mV. A Figura 49 apresenta os voltamogramas registrados para os diferentes valores de  $I_v$ . É possível observar que houve um pequeno deslocamento de  $E_p$  para valores mais positivos como o aumento do  $I_v$  e não foi observado o alargamento do pico para nenhum dos valores atribuídos.

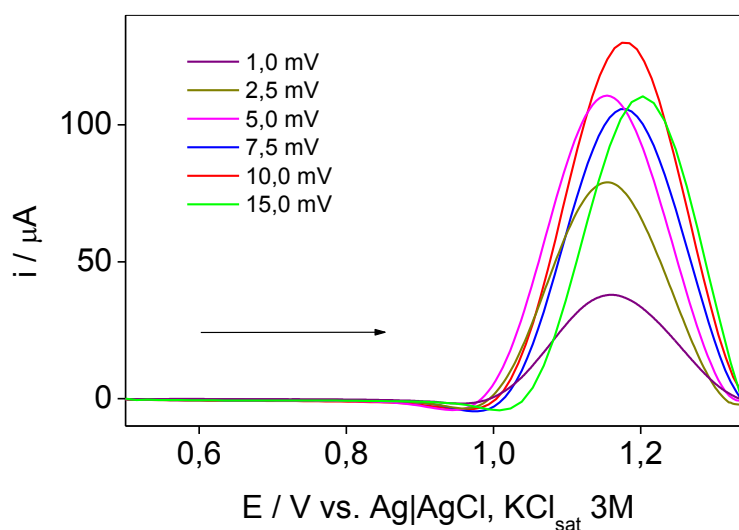


Figura 49. Voltamogramas referentes ao estudo da influência do incremento de varredura de potencial da SWV na análise de uma solução de TBH 1,00 mmol L<sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> em GCE.

Na Figura 50 é possível visualizar melhor a influência de  $I_v$  na intensidade de  $I_p$ , sendo os maiores valores de  $I_p$  exibidos para  $I_v$  igual a 5 mV, 10 mV e 15 mV. Porém, os resultados exibidos para  $I_v$  igual a 5 mV tiveram maior repetibilidade. Por isso, 5 mV foi definido como  $I_v$  melhor para determinação de TBH por SWV nas condições experimentais adotadas.

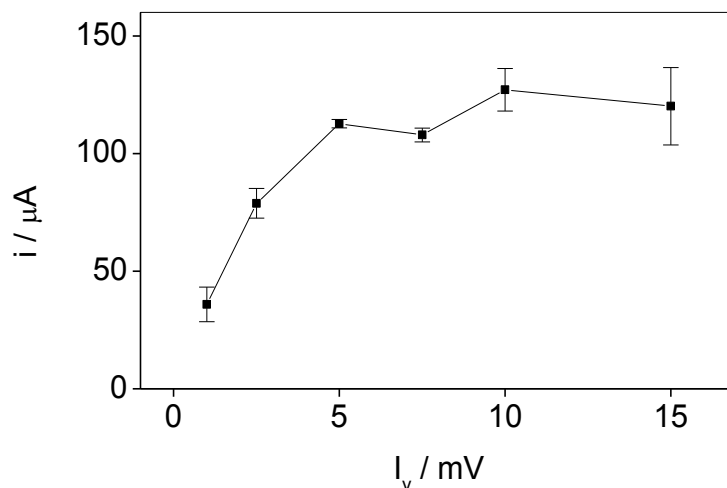


Figura 50. Estudo da influência do incremento de varredura de potencial da SWV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.  $A_p = 75 \text{ mV}$  e  $f = 100 \text{ Hz}$ .

#### 4.6.3 Estudos dos parâmetros da DPV

O primeiro parâmetro estudado DPV foi a velocidade de varredura de potencial ( $v$ ). Para isso, fixaram-se valores para a amplitude de pulso ( $A_p$ ) em  $100 \text{ mV}$ , para o tempo de pulso ( $t_p$ ) em  $2 \text{ ms}$  e variou-se o valor de  $v$ . Os valores atribuídos foram  $2, 5, 8, 10, 15, 20$  e  $25 \text{ mV s}^{-1}$ , respectivamente. A Figura 51 mostra os voltamogramas obtidos para todos os valores de  $v$  testados.

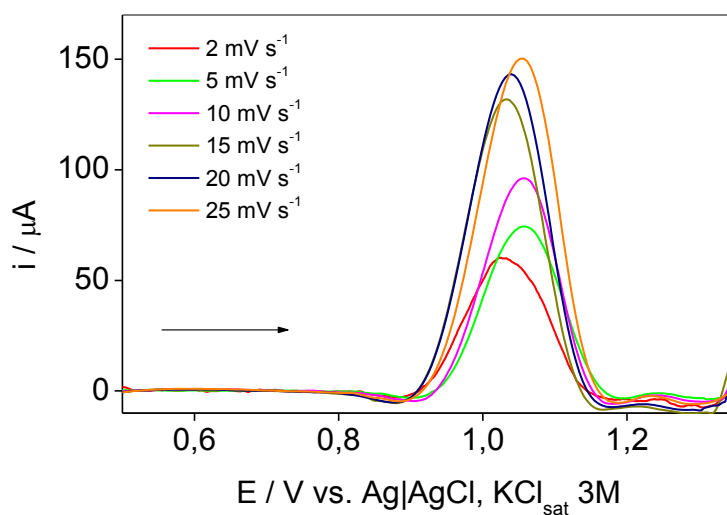


Figura 51. Voltamogramas referentes ao estudo da influência da velocidade de varredura de potencial da DPV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.

Foi observado um aumento da  $I_p$ , em função do aumento de  $v$ , até a velocidade de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , e, a partir dessa velocidade a  $I_p$  parece se estabilizar. O aumento de  $v$  não acarretou em alargamento do pico e nem grande deslocamento do  $E_p$ .

Os resultados obtidos para  $v$  iguais a  $20$  e  $25 \text{ mV s}^{-1}$  demonstraram maiores  $I_p$  e foram bastante semelhantes. Porém, os valores obtidos para  $v$  igual  $25 \text{ mV s}^{-1}$  apresentaram maior repetibilidade, como pode ser visto na Figura 52. Diante desses resultados a  $v$  de  $25 \text{ mV s}^{-1}$  foi determinada como sendo o melhor valor para determinação de TBH, nas condições estudadas por DPV.

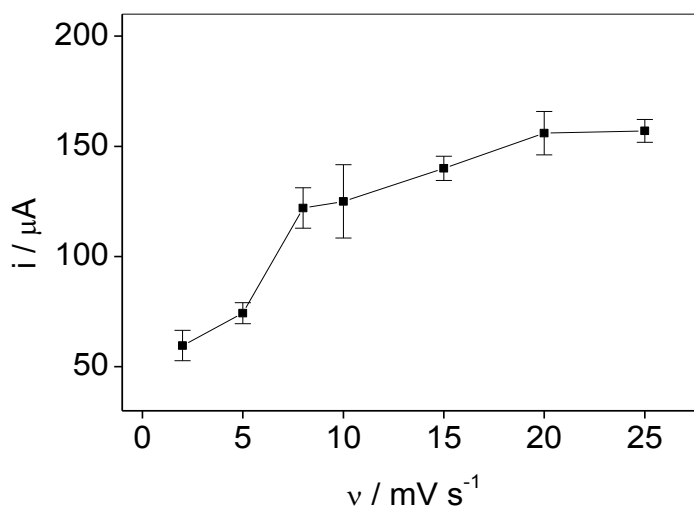


Figura 52. Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial da DPV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.  $A_p = 100 \text{ mV}$  e  $t_p = 2 \text{ ms}$ .

Em seguida, fixando o valor anteriormente definido para  $v$  e  $2 \text{ ms}$  para  $t_p$ , variou-se o valor de  $A_p$ . Os valores atribuídos para  $A_p$  foram de  $10$ ,  $50$ ,  $100$ ,  $150$ ,  $175$ ,  $200$  e  $250 \text{ mV}$ . Os voltamogramas resultantes desse estudo podem ser vistos na Figura 53.

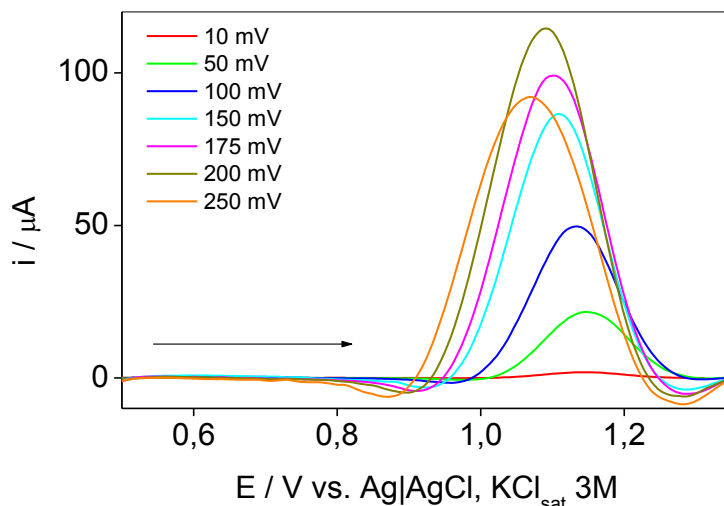


Figura 53. Voltamogramas referentes ao estudo da influência da amplitude de pulso da DPV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.

$E_p$  desloca-se para valores mais positivos quanto menor  $A_p$  e, também, não foi observado o alargamento do pico a meia altura com o aumento de  $A_p$ . Também é possível observar, na Figura 54, que a intensidade de  $I_p$  aumentou com o aumento até  $A_p = 175 \text{ mV}$ , estabilizando-se em  $200 \text{ mV}$  com uma queda em  $250 \text{ mV}$ . Foi adotado como o melhor valor para determinação de TBH por DPV, nas condições desse estudo,  $A_p = 200 \text{ mV}$ , por ter apresentado maiores valores de  $I_p$  e maior repetibilidade.

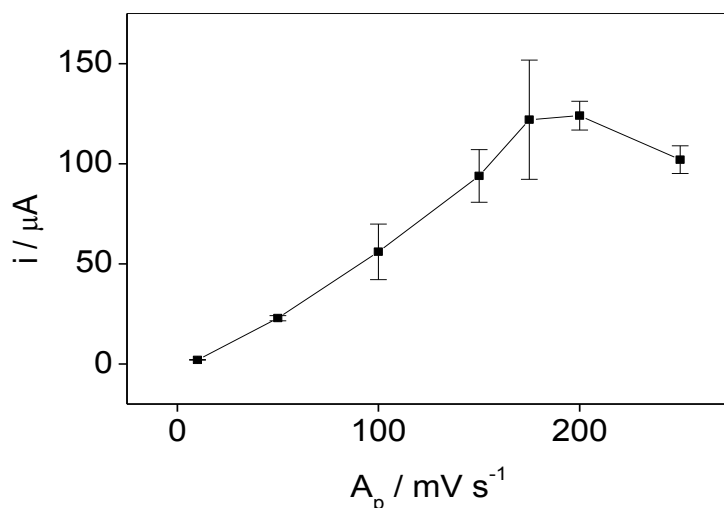


Figura 54. Estudo da influência da amplitude de pulso da DPV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.  $t_p = 2 \text{ ms}$  e  $v = 200 \text{ mV s}^{-1}$ .

Por último foi estudado  $t_p$ , para isso, fixaram-se os valores previamente escolhidos para  $A_p$  e  $v$ , e variou-se o valor atribuído para  $t_p$ . Os valores atribuídos para  $t_p$  foram 2, 5, 10, 50 e 100 ms. Os voltamogramas que apresentam os resultados desse estudo podem ser vistos na Figura 55. Pode-se observar que em nenhum dos valores atribuídos houve grande alargamento do pico a meia altura e a utilização de  $t_p$  maiores levou a uma leve diminuição de  $E_p$ .

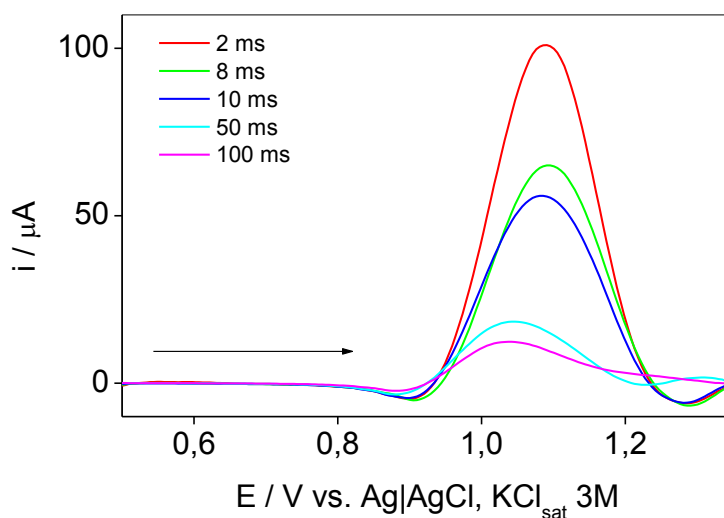


Figura 55. Voltamogramas referentes ao estudo da influência do tempo de pulso da DPV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.

Os resultados apresentados na Figura 56 evidenciam que quanto menor o  $t_p$ , maior foi a  $I_p$  registrada. A repetibilidade das análises foi boa para todos os valores, exceto para  $t_p$  igual a 10 ms. Assim, o  $t_p$  estabelecido como o melhor foi 2 ms, o menor valor atingido pelo instrumento.

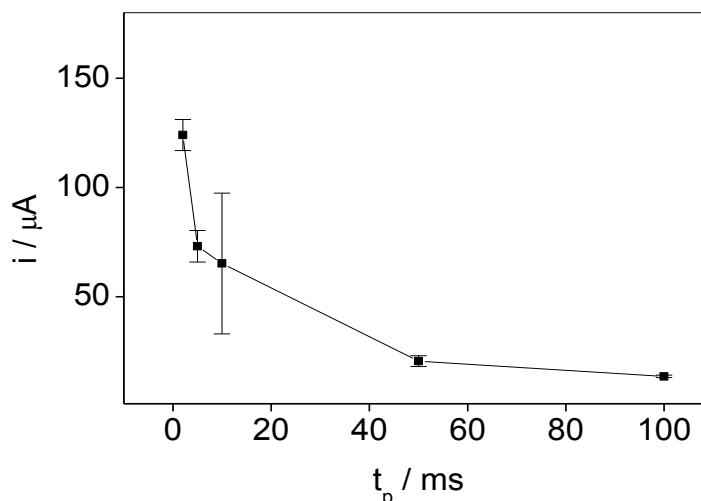


Figura 56. Estudo da influência do tempo de pulso da DPV na análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE.  $A_p = 200 \text{ mV}$  e  $I_v = 200 \text{ mV}$ .

#### 4.6.4 Escolha da melhor técnica voltamétrica para desenvolvimento da metodologia analítica

No intuito de comparar e avaliar as respostas voltamétricas das três técnicas, uma mesma solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  foi analisada pelas três técnicas, utilizando os melhores parâmetros definidos no estudo anterior. Um resumo do estudo e escolha dos melhores parâmetros experimentais de LSV, SWV e DPV é apresentado na Tabela 7.

Tabela 7. Resumo do estudo dos parâmetros instrumentais de LSV, SWV e DPV

Técnica	Parâmetro	Faixa estudada	Melhor valor
LSV	$I_v$	1 – 50 mV	20 mV
	$v$	10 – 125 $\text{mV s}^{-1}$	90 $\text{mV s}^{-1}$
SWV	$A_p$	10 – 100 mV	75 mV
	$f$	10 – 100 Hz	100 Hz
	$I_v$	1 – 15 mV	5 mV
DPV	$v$	2 – 25 $\text{mV s}^{-1}$	25 $\text{mV s}^{-1}$
	$A_p$	10 – 250 mV	200 mV
	$t_p$	2 – 100 ms	2 ms

Os voltamogramas registrados da oxidação do herbicida TBH nas condições definidas podem ser vistos na Figura 57. É possível observar cla-

ramente que a maior intensidade de  $I_p$  é obtida pela utilização de DPV, sendo LSV a técnica que apresentou menor sensibilidade analítica.

Com a utilização de DPV a oxidação de TBH ocorreu em um valor de potencial menor, próximo a +1,01 V, enquanto para LSV esse valor foi de +1,18 V e SWV +1,11 V. Essa é também uma característica importante, uma vez que potenciais de pico menores tornam a técnica mais seletiva.

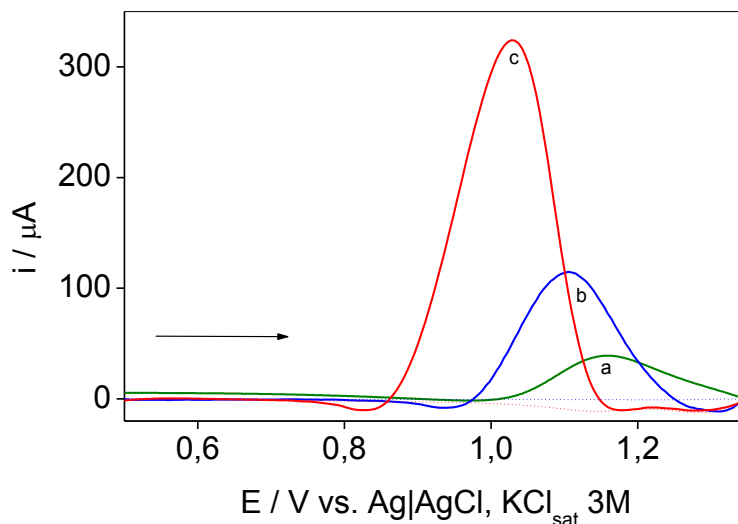


Figura 57. Voltamogramas da análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em  $\text{KOH } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por LSV (a), SWV (b) e DPV (c).

#### 4.6.5 Estudo de pré-concentração

Na tentativa de melhorar a sensibilidade da metodologia em desenvolvimento, foi realizado um estudo da influência da utilização de pré-concentração por eletrólise. Nessa etapa foi avaliada a influência de aplicação de diferentes potenciais de depósito ( $E_d$ ) em intervalos de tempo ( $t_d$ ) variados, na resposta eletroquímica da determinação de TBH. Este estudo foi realizado tanto para as técnicas SWV e DPV, as quais se mostraram mais sensíveis para essa determinação.

Semelhante à escolha dos parâmetros das técnicas de pulso, para a avaliação da influência da pré-concentração do analito no eletrodo de trabalho, fixou-se um dos parâmetros avaliados e variou-se o outro. Primeiro foi avaliado a influência do  $E_d$ . Para isso fixou-se um  $t_d$  de 30 s. Posteriormente, escolheu-se o  $E_d$  que apresentou melhor resultado e variou-se o  $t_d$ .

Os  $E_d$  variaram de  $-0,2$  a  $-1,0$  V e o  $t_d$  de 10 a 90 s.

Os voltamogramas registrados para e influência de  $E_d$  podem ser vistos na Figura 58, para SWV e na Figura 60, para DPV. Também através das Figuras 59 e 61, referentes à SWV e DPV, respectivamente, é possível visualizar que para nenhum  $E_d$  aplicado, em ambas as técnicas, os resultados apresentaram-se melhores para a intensidade de  $I_p$  do que os obtidos sem a aplicação de nenhum  $E_d$ .

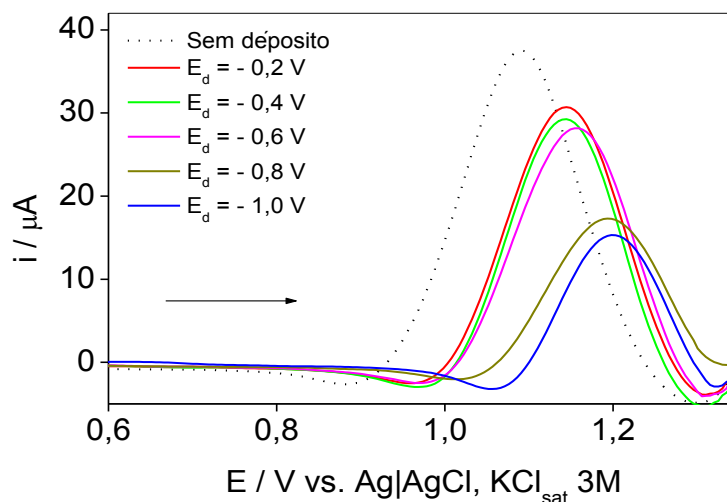


Figura 58. Voltamogramas referentes ao estudo da influência da aplicação de potenciais de depósito para análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por SWV.  $t_d = 30\text{s}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

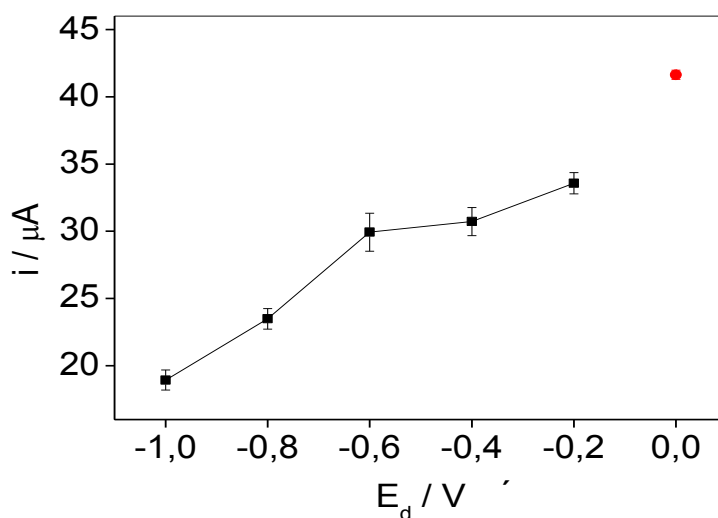


Figura 59. Estudo da influência da aplicação do potencial de depósito na resposta eletroquímica da análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por SWV.  $t_d = 30\text{s}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . (●) sem depósito.

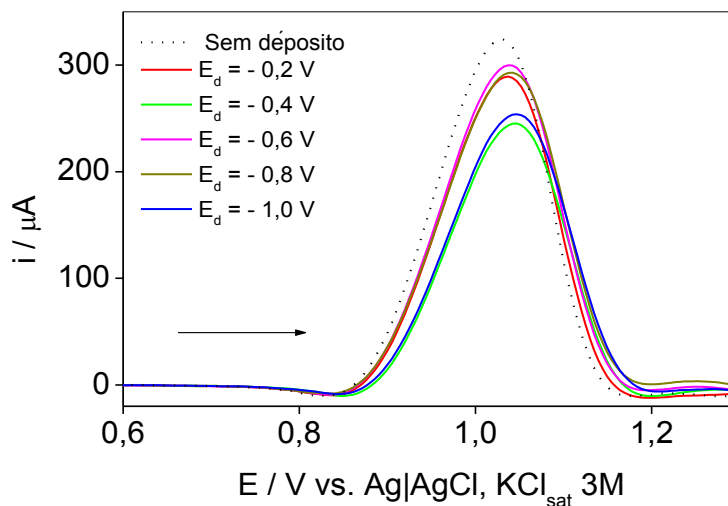


Figura 60. Voltamogramas referentes ao estudo da influência da aplicação de potenciais de depósito para análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por DPV.  $t_d = 30\text{s}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 1,00 \text{ mmol L}^{-1}$

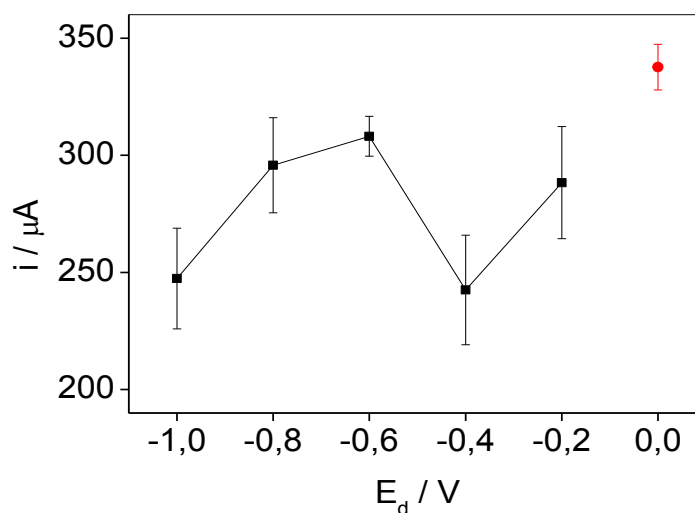


Figura 61. Estudo da influência da aplicação de potencial de depósito na resposta eletroquímica da análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por DPV.  $t_d = 30\text{s}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ . (●) sem depósito.

Mesmo que aparentemente, a aplicação de  $E_d$  não melhore as respostas voltamétricas das duas técnicas para a determinação de TBH, foram escolhidos e fixados os  $E_d$  de  $-0,2 \text{ V}$  para SWV, e de  $-0,6 \text{ V}$  para DPV, para se avaliar a resposta voltamétrica da determinação de TBH em diferentes  $t_d$ . Os resultados podem ser vistos nas Figuras 62 e 63, para SWV e 64 e 65, para DPV.

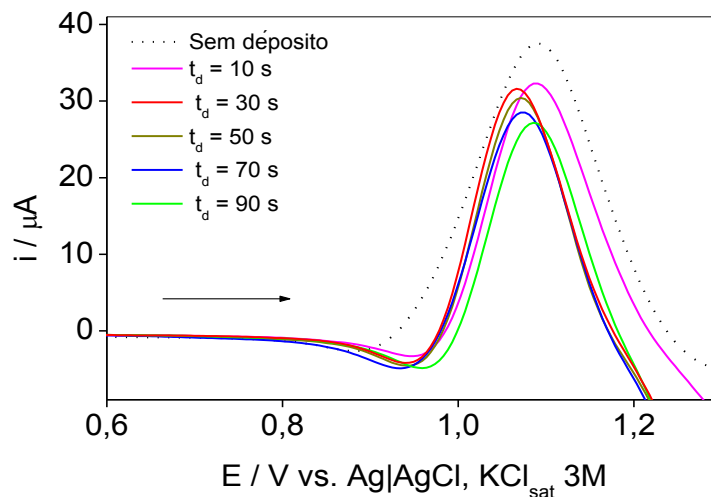


Figura 62. Voltamogramas referentes ao estudo da influência da aplicação de tempos de depósito para análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por SWV.  $E_d = -0,2 \text{ V}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

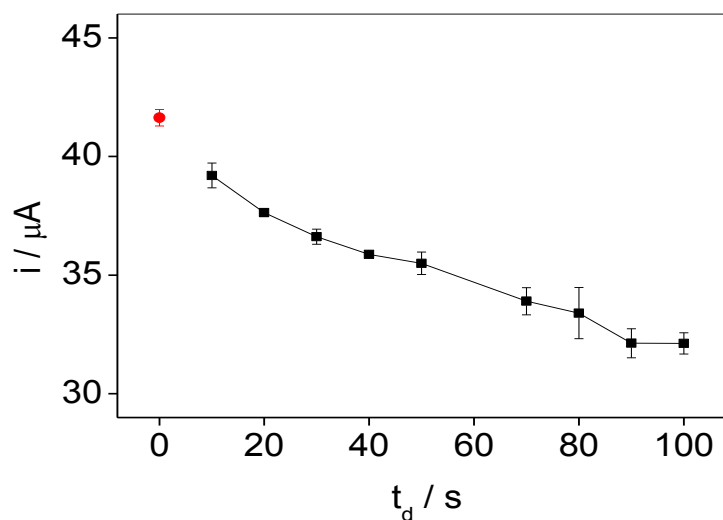


Figura 63. Influência da variação do tempo de depósito na resposta eletroquímica da análise de uma solução de TBH em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por SWV.  $E_d = -0,2 \text{ V}$ ;  $C_{\text{TBH}} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . (●) sem depósito.

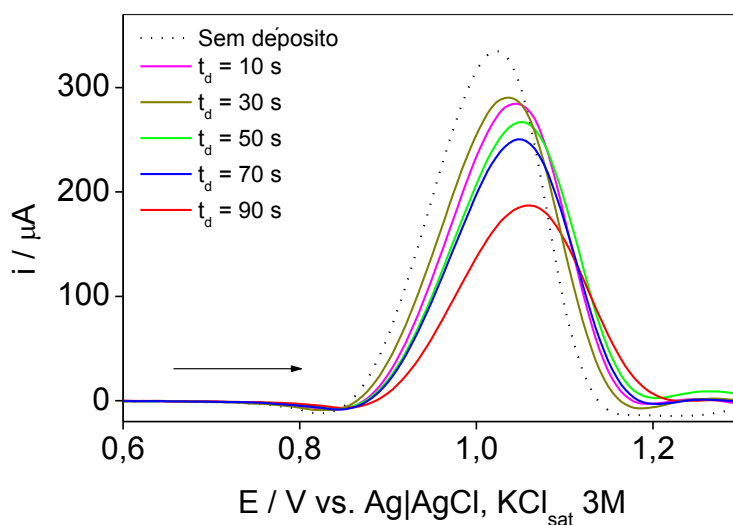


Figura 64. Voltamogramas referentes ao estudo da influência da aplicação de tempos de depósito para análise de uma solução de TBH em KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> em GCE por DPV. E<sub>d</sub> = - 0,2 V; C<sub>TBH</sub> = 1,00 mmol L<sup>-1</sup>.

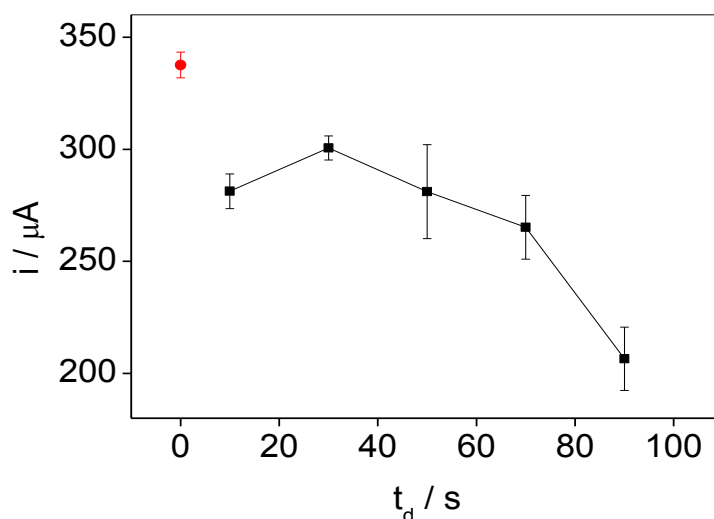


Figura 65. Estudo da Influência da variação do tempo de depósito na resposta eletroquímica da análise de uma solução de TBH em KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> em GCE por DPV. E<sub>d</sub> = - 0,6; C<sub>TBH</sub> = 1,00 mmol L<sup>-1</sup>. (●) sem depósito.

Os resultados evidenciaram que não há uma melhora de  $I_p$  na resposta voltamétrica da determinação de TBH com a utilização de pré-concentração por eletrólise. Assim, optou-se por não utilizar a etapa de pré-concentração.

#### 4.6.6 Influência do pH

Vários estudos mostram que a variação do pH pode interferir drasticamente na resposta analítica de alguns compostos. De acordo com WEBER (1980) o TBH exibe propriedades básicas apenas, ele mantém-se sob a forma molecular em níveis de pH altos, mas ioniza-se para as formas catiônicas em valores baixos de pH. Considerando o  $pK_a$  do TBH descrito no trabalho de WEBER (1980) e desconsiderando a possibilidade de reação do analito com a solução do eletrólito de suporte, de acordo com os cálculos realizados utilizando a planilha AlfaDist.12v.7 (OLIVEIRA, s.d.), após o pH 3 praticamente todo o analito em solução esta sob a forma molecular ( $\alpha_1$ ).

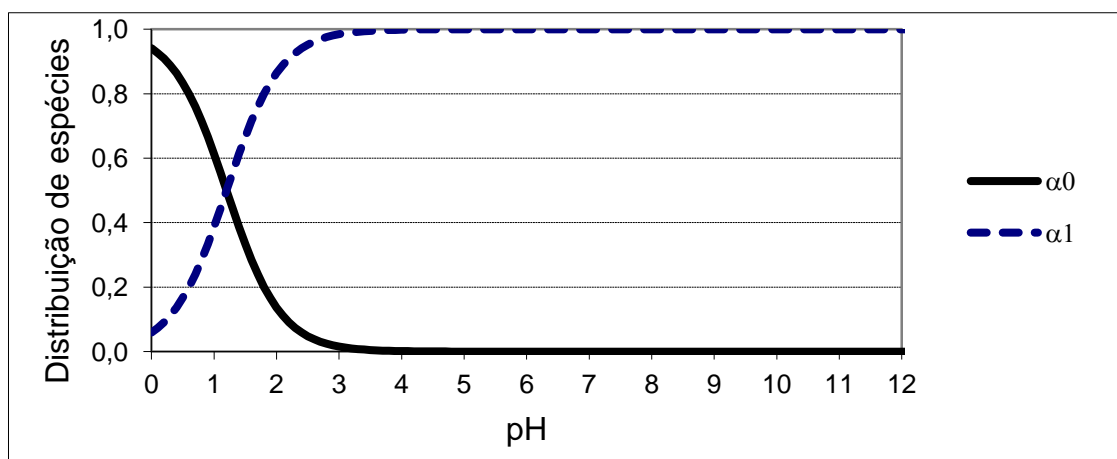


Figura 66. Distribuição da espécie protonada ( $\alpha_0$ ) e desprotonada ( $\alpha_1$ ) do herbicida TBH em diferentes valores de pH.

A influência do pH na resposta voltamétrica utilizando a técnica DPV foi avaliada. Para este estudo pequenos volumes de ácido sulfúrico foram adicionados a uma solução  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de TBH, para que não houvesse grandes alterações no volume final da célula eletroquímica. O pH foi monitorado com um eletrodo de vidro conectado a um pHmetro. Uma vez estabilizado o valor de pH medido, foi realizada a leitura voltamétrica da solução e os voltamogramas resultantes dessa leitura são apresentados da Figura 67. As Figura 67 e 68 mostram que a determinação de TBH é extremamente dependente do pH, sendo impossível sua determinação eletroquímica em valores de pH ácido ou neutros, nas condições adotadas neste estudo.

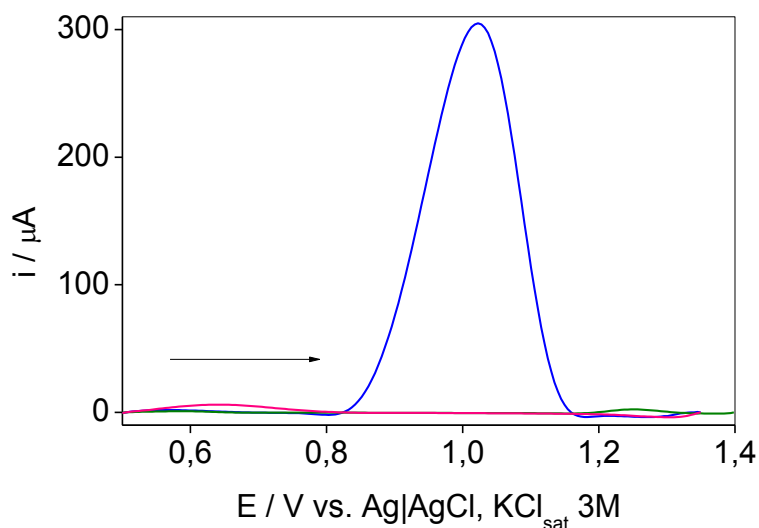


Figura 67. Estudo da influência do pH na resposta eletroquímica para a análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por DPV. (—) pH 2, (—) pH 7 e (—) pH 13.

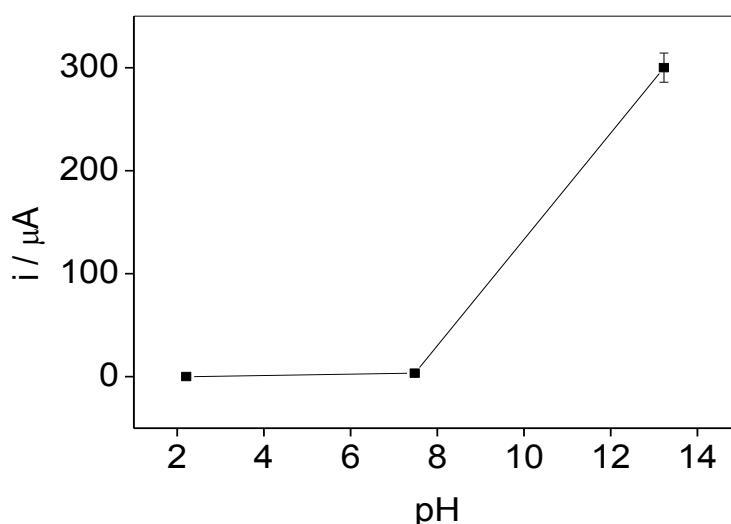


Figura 68. Influência do pH na resposta eletroquímica da análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  em KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em GCE por DPV.

#### 4.7 Curva analítica na ausência de matriz

Neste trabalho foram construídas curvas analíticas para TBH utilizando as técnicas de SWV e DPV a partir da solução padrão estoque do agrotóxico. Para isso, foram preparadas soluções de eletrólito de suporte, KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , com diferentes concentrações de TBH, variando de  $8,0$  a  $18,0 \text{ μmol L}^{-1}$ , para SWV, e de  $0,5$  a  $8,0 \text{ μmol L}^{-1}$ , para DPV.

As Figuras 69 e 71 mostram os voltamogramas obtidos da determinação de TBH em diferentes concentrações, por SWV e DPV, respectivamente.

Foi observado um deslocamento do  $E_p$  para valores menores quando as concentrações de TBH foram muito baixas para ambas as técnicas. O  $E_p$  registrado por SWV para soluções com concentração de  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  foi próximo de  $+1,11 \text{ V}$ , enquanto para concentrações utilizadas para construção da curva analítica foram próximos de  $+1,03 \text{ V}$ . Essa diferença foi ainda maior para DPV, que para soluções de concentração de  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  apresentaram  $E_p$  próximo a  $+1,01 \text{ V}$  e para concentrações mais baixas empregadas na curva analítica, apresentaram  $E_p$  próximos a  $+0,89 \text{ V}$ . No entanto, como esperado, nenhum pico foi observado no branco nesses potenciais. Comportamento semelhante já foi relatado por SILVA & ZUNIGA (2012), para determinação eletroquímica de ácido ascórbico.

As curvas analíticas apresentadas nas Figuras 70 e 72 foram construídas pelo ajuste linear da relação entre  $I_p$  versus a concentração analítica de TBH e podem ser descritas pelas equações  $I_p \text{ (A)} = -8,493 \times 10^{-6} + 1,144 C_{\text{TBH}} \text{ (}\mu\text{mol L}^{-1}\text{)}$  com  $r = 0,995$  (Figura 70) para SWV, e  $I_p \text{ (A)} = 8,383 \times 10^{-6} + 3,653 C_{\text{TBH}} \text{ (}\mu\text{mol L}^{-1}\text{)}$  com  $r = 0,999$  (Figura 72) para DPV.

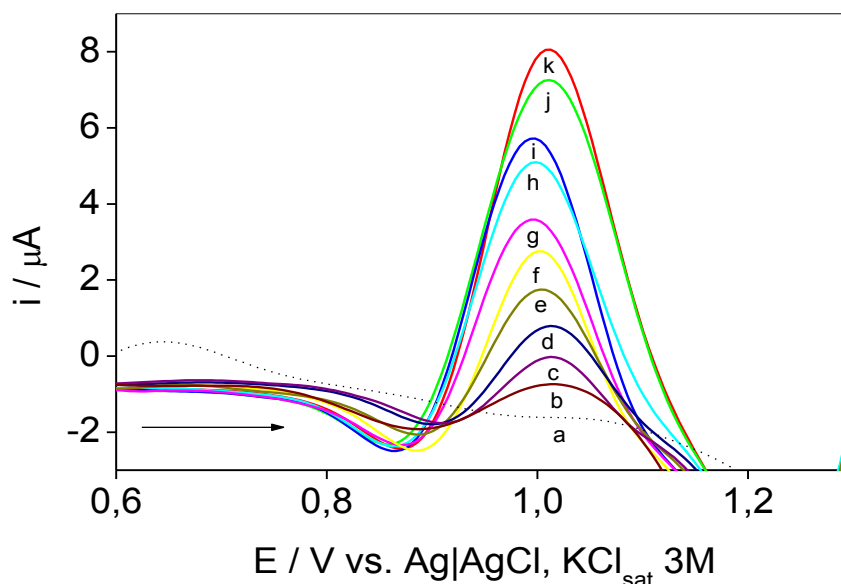


Figura 69. Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por SWV em diferentes concentrações: branco (a);  $8,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (b);  $9,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (c);  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (d);  $11,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (e);  $12,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (f);  $13,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (g);  $14,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (h);  $15,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (i);  $16,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (j);  $18,0$

$\mu\text{mol L}^{-1}$  (k). Eletrólito suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Condições voltamétricas SWV:  $A_p = 75 \text{ mV}$ ;  $f = 100 \text{ Hz}$ ;  $t_v = 2 \text{ ms}$ .

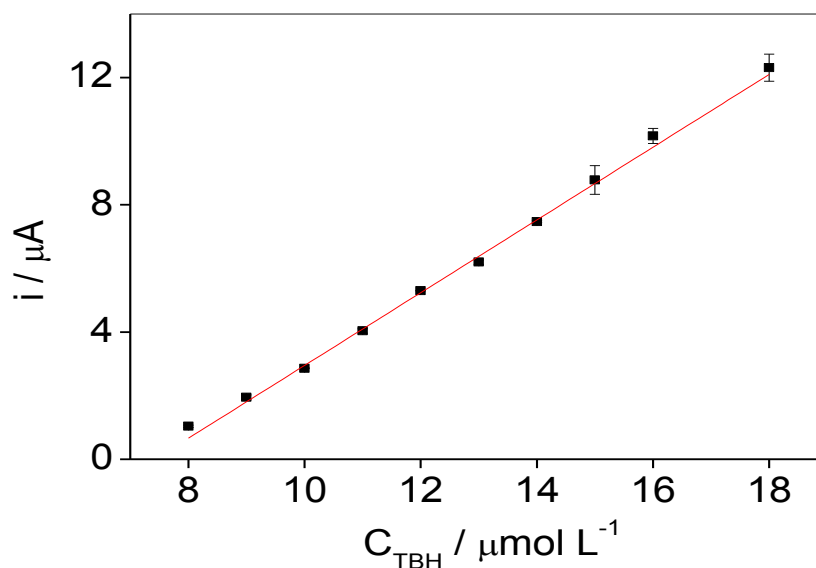


Figura 70. Curva analítica de TBH por SWV na ausência de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ .

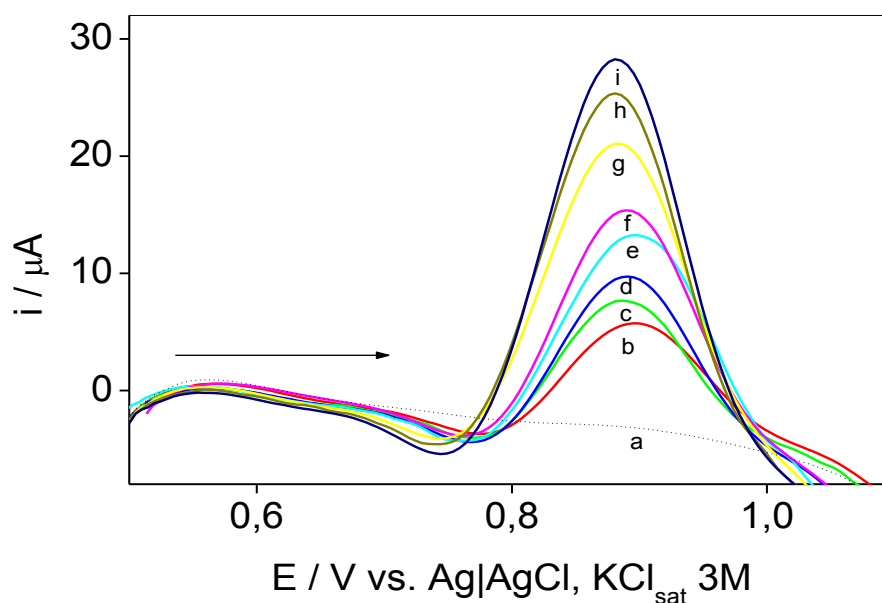


Figura 71. Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por DPV em diferentes concentrações: branco (a);  $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  (b);  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (c);  $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (d);  $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (e);  $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (f);  $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (g);  $6,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (h);  $8,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (i). Eletrólito suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Condições voltamétricas DPV:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ ;  $A_p = 200 \text{ mV}$ ;  $t_p = 2 \text{ ms}$ .

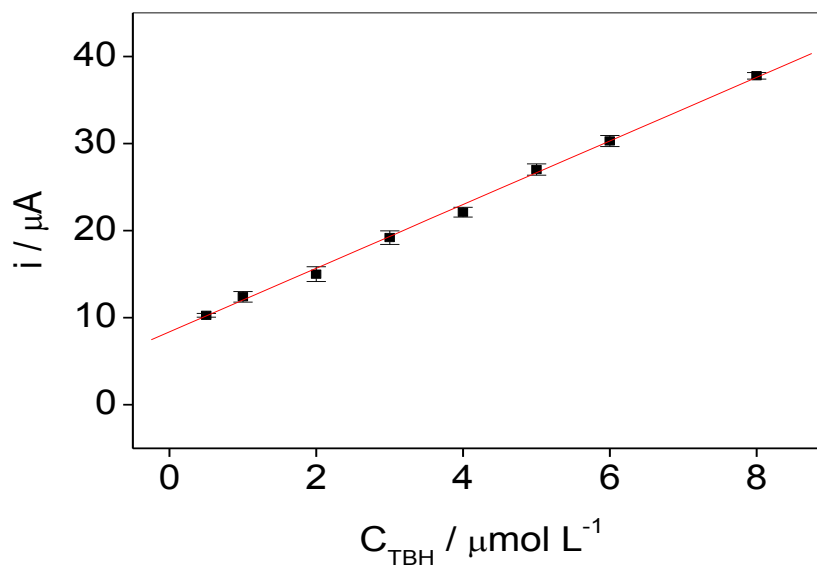


Figura 72. Curva analítica de TBH por DPV na ausência de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>.

#### 4.8 Influência da proporção de matriz para construção da curva analítica

Antes da construção das curvas analíticas na presença de matriz, foi realizado um estudo para avaliar qual a concentração ideal da matriz que permitisse a construção da curva analítica na sua presença. Para este estudo foram preparadas diversas soluções padrão de TBH 1,00 mmol L<sup>-1</sup> em KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>, com diferentes volumes de solução de matriz, conforme descrito no item 3.1.3 deste trabalho. Registrou-se a  $I_p$  para cada uma dessas soluções. Adicionalmente, também foi preparada outra solução de eletrólito de suporte com a presença de matriz, no entanto, sem a adição de TBH, os voltamogramas dessas soluções foram registrados para verificar a existência de pico de oxidação de algum componente presente na matriz no  $E_p$  próximo ou igual ao do TBH. Todos os voltamogramas registrados por SWV para açúcar cristal e mascavo e, por, DPV para açúcar mascavo, podem ser vistos nas Figuras 73, 75 e 77, respectivamente. As Figuras 74, 76 e 78 apresentam a relação entre a concentração de matriz e  $I_p$ .

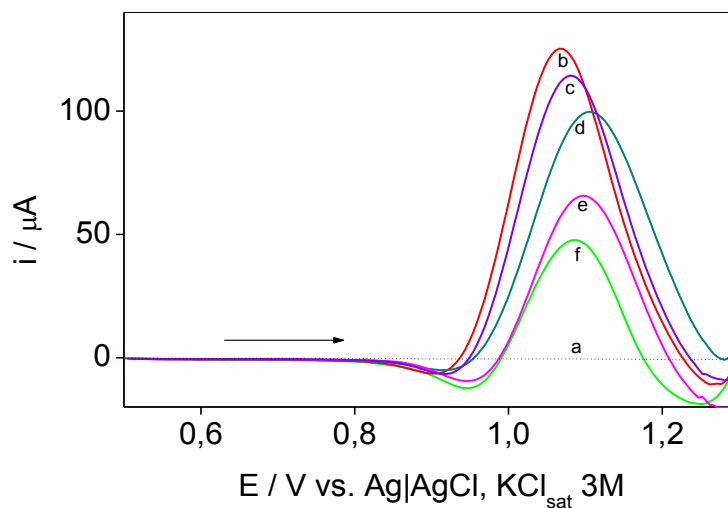


Figura 73. Voltamogramas do estudo da influência de matriz de açúcar cristal na resposta voltamétrica de uma solução padrão TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  por SWV. Eletrólito de suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em eletrodo de carbono vítreo. Branco (a); ausência de matriz (b); volume de solução de açúcar adicionado  $100,0 \text{ μL}$  (c);  $200,0 \text{ μL}$  (d);  $1000,0 \text{ μL}$  (e);  $2000,0 \text{ μL}$  (f).

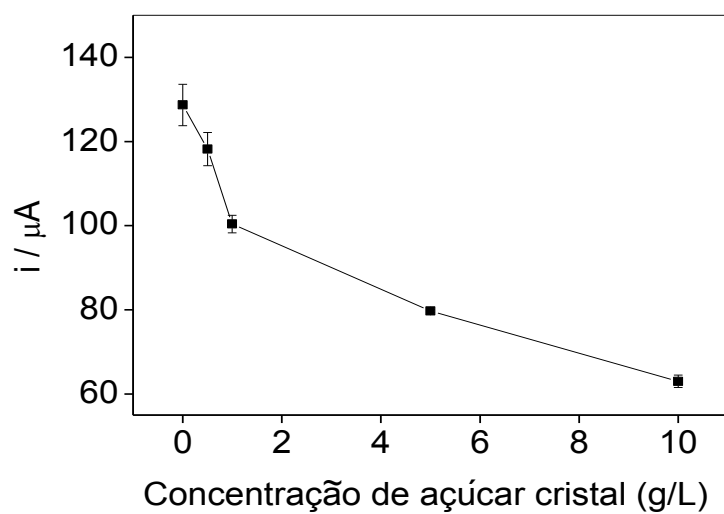


Figura 74. Estudo da influência da concentração de açúcar cristal na resposta voltamétrica do TBH por SWV.

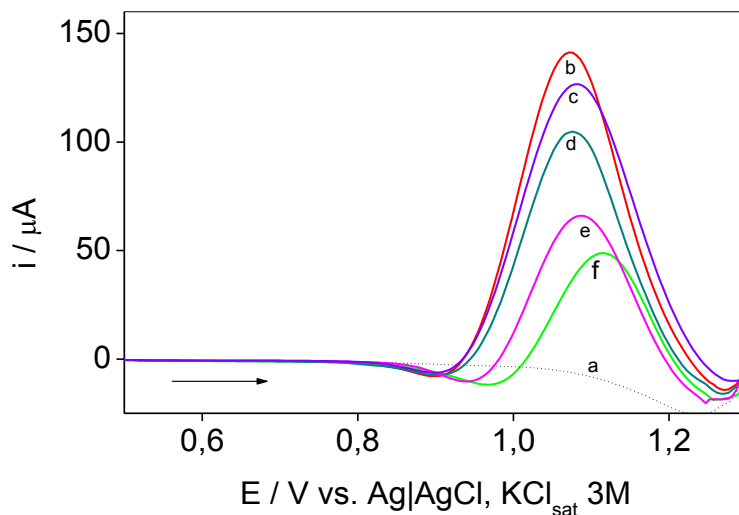


Figura 75. Voltamogramas do estudo da influência de matriz de açúcar mascavo na resposta voltamétrica de uma solução padrão TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  por SWV. Eletrólito suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ; EGC. Branco (a); ausência de matriz (b); volume de solução de açúcar adicionado  $100,0 \mu\text{L}$  (c);  $200,0 \mu\text{L}$  (d);  $1000,0 \mu\text{L}$  (e);  $2000,0 \mu\text{L}$  (f).

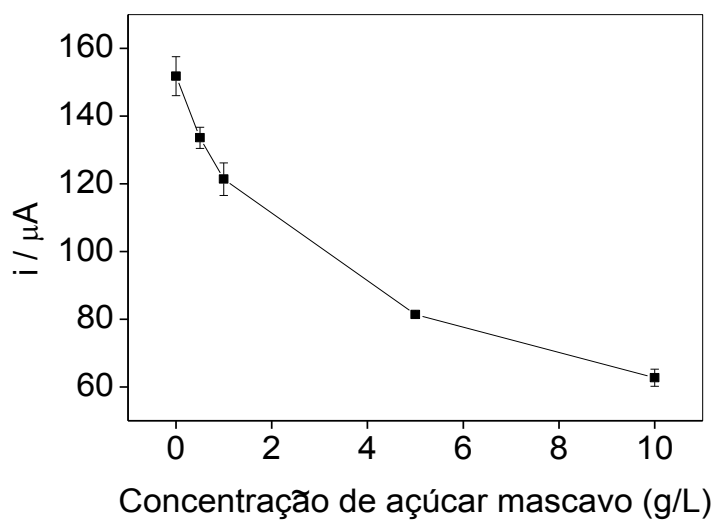


Figura 76. Estudo da influência da concentração de açúcar mascavo na resposta voltamétrica por SWV.

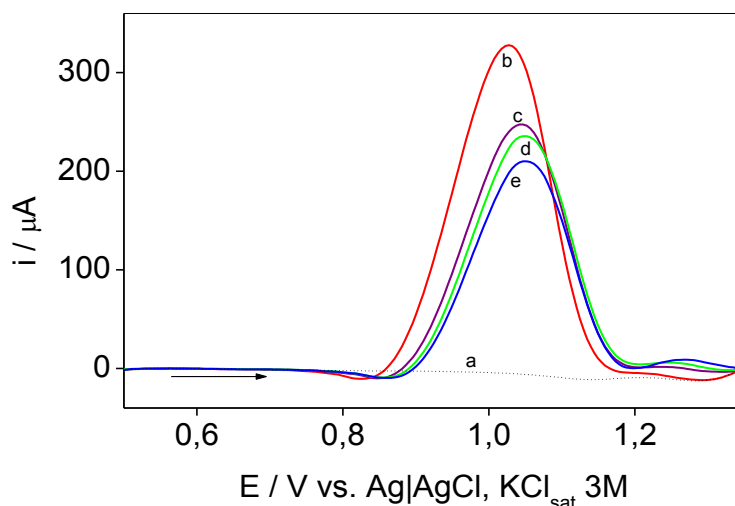


Figura 77. Voltamogramas do estudo da influência de matriz de açúcar mascavo na resposta voltamétrica de uma solução padrão TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de TBH por DPV. Eletrólito suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ; EGC. Branco (a); ausência de matriz (b); Volume de solução de açúcar adicionado  $100,0 \mu\text{L}$  (c);  $200,0 \mu\text{L}$  (d);  $500,0 \mu\text{L}$  (e).

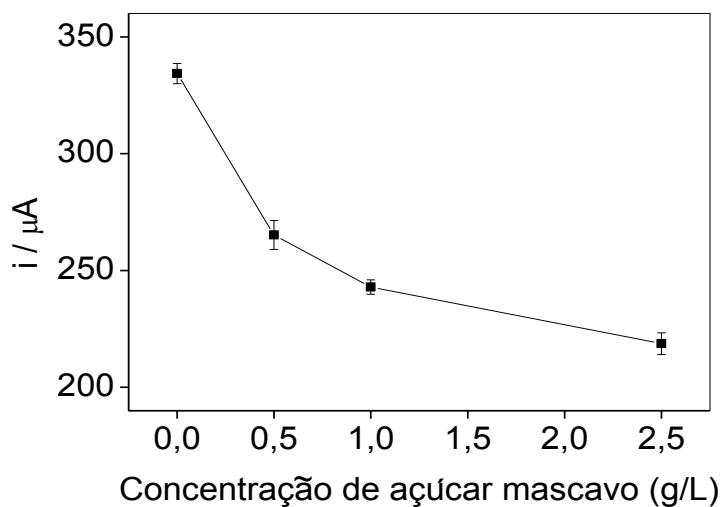


Figura 78. Estudo da influência da concentração de açúcar mascavo na resposta voltamétrica por DPV.

O comportamento exibido pelo açúcar mascavo e cristal, analisados por SWV foi semelhante, parecendo não haver grande diferença entre a interferência dessas duas matrizes. Como o mesmo comportamento observado para as duas matrizes analisadas por SWV foram semelhantes, este teste foi realizado somente para açúcar mascavo por DPV, que apresentou o mesmo comportamento. Em todos os casos foi verificada uma queda na in-

tensidade de  $I_p$  com a adição de matriz, sendo que essa queda acentuou-se com o aumento da concentração da solução de açúcar na célula eletroquímica. Resultado semelhante também foi obtido por GARBELLINI (2005), para determinação eletroquímica de outros agroquímicos na presença de açúcar mascavo. A determinação de TBH em concentrações pequenas e em presença de concentrações elevadas de açúcar compromete a análise quantitativa e esse efeito deve ser considerado na proposição da curva analítica na presença de matriz.

A queda da intensidade de corrente registrada pode estar relacionada com o aumento da resistência da solução à passagem de corrente elétrica, consequência da adição de grande quantidade de um composto molecular ao meio.

A resistência é a oposição que o corpo condutor oferece ao fluxo de carga. A resistência pode ser definida pela equação 14 (WALKER, 2009; HEWITT *et al.*, 2002).

$$R = \frac{\Delta E}{i} \quad (14)$$

ou seja,

$$i = \frac{\Delta E}{R} \quad (15)$$

onde  $R$  é a resistência,  $\Delta E$  é a diferença de potencial aplicado e  $i$  a corrente resultante (WALKER, 2009).

Através da equação 15 podemos observar que, considerando uma mesma diferença de potencial aplicado, a intensidade de corrente registrada será tanto menor quanto maior for o valor da resistência do meio por ela percorrido.

Mesmo com a queda da intensidade de  $I_p$ , foi verificada viabilidade da construção de curvas analíticas na presença dessa matriz, uma vez que o pico de oxidação do herbicida TBH se mostrou bem resolvido. Para a construção das curvas analíticas foi escolhido o menor volume de matriz experimentado nesse estudo, ou seja, as soluções utilizadas na construção da curva analítica na presença de matriz foram preparadas com a adição 100,0

$\mu\text{L}$  de solução de açúcar ( $50,0 \text{ g L}^{-1}$ ), sendo a concentração de açúcar na célula eletroquímica com volume final de  $10,00 \text{ mL}$  de  $0,5 \text{ g L}^{-1}$ .

#### 4.9 Curva analítica na presença de matriz

A metodologia foi, então, aplicada para a quantificação do herbicida TBH na presença de açúcar mascavo e cristal. A faixa de concentração estudada por SWV foi de  $9,0$  a  $18,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ . As Figuras 79 e 80 mostram os voltamogramas e a curva analítica, respectivamente, para determinação de TBH na presença de açúcar cristal. A equação do ajuste linear da curva analítica na presença de açúcar cristal é dada por  $I_p (\text{A}) = -3,501 \times 10^{-6} + 0,599 C_{\text{TBH}} (\mu\text{mol L}^{-1})$ , com  $r = 0,998$ .

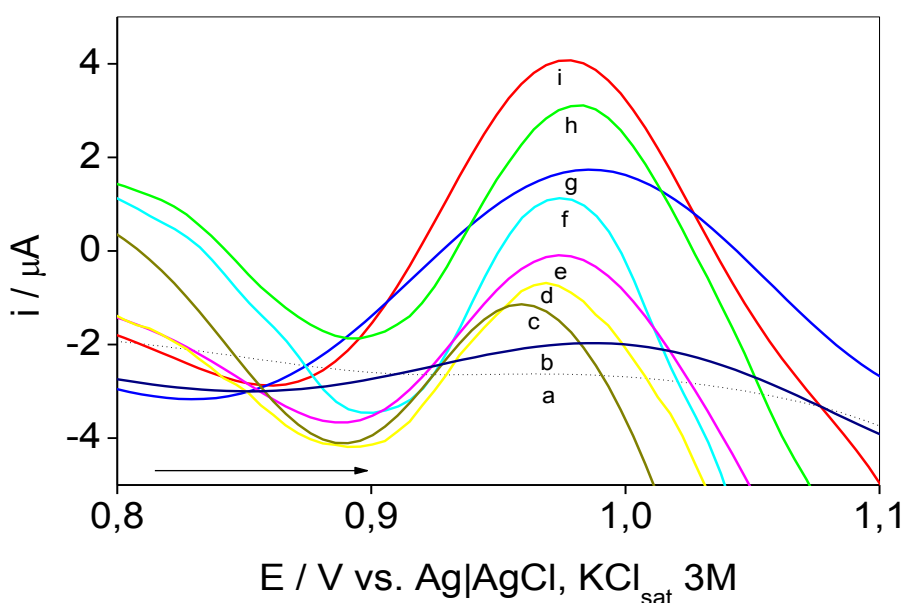


Figura 79. Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por SWV na presença de matriz de açúcar cristal em diferentes concentrações: branco (a);  $9,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (b);  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (c);  $11,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (d);  $12,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (e);  $13,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (f);  $14,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (g);  $16,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (h);  $18,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (i). Eletrólito suporte  $\text{KOH } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Condições voltamétricas SWV:  $A_p = 75 \text{ mV}$ ;  $f = 100 \text{ Hz}$ ;  $I_v = 2 \text{ ms}$ .

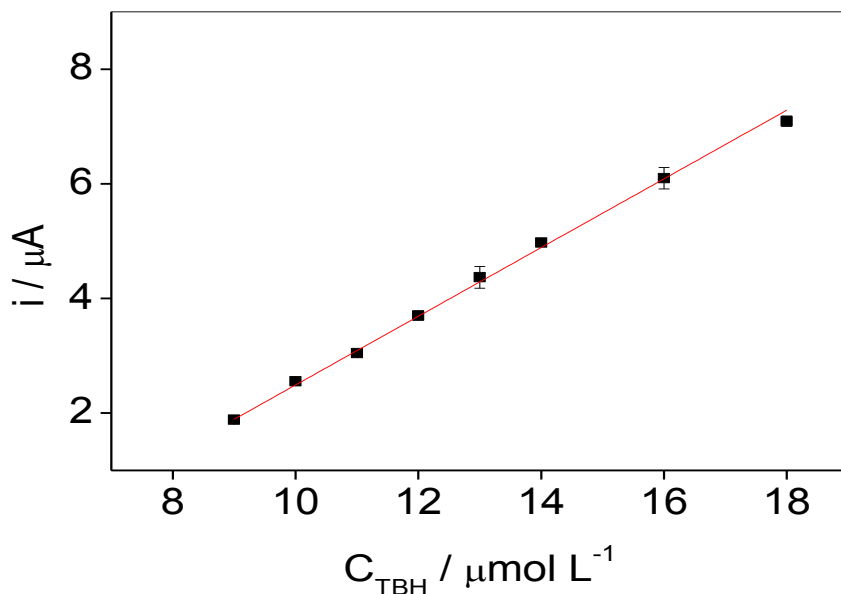


Figura 80. Curva analítica de TBH por SWV na presença de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Matriz: Açúcar Cristal.

Nas Figuras 81 e 82 são apresentados os voltamogramas e a curva analítica, respectivamente, para determinação de TBH por SWV na presença de açúcar mascavo. A equação do ajuste linear da curva analítica na presença de açúcar mascavo é dada por  $I_p \text{ (A)} = - 4,173 \times 10^{-6} + 0,656 C_{TBH} \text{ (}\mu\text{mol L}^{-1}\text{)}$ , com  $r = 0,995$ .

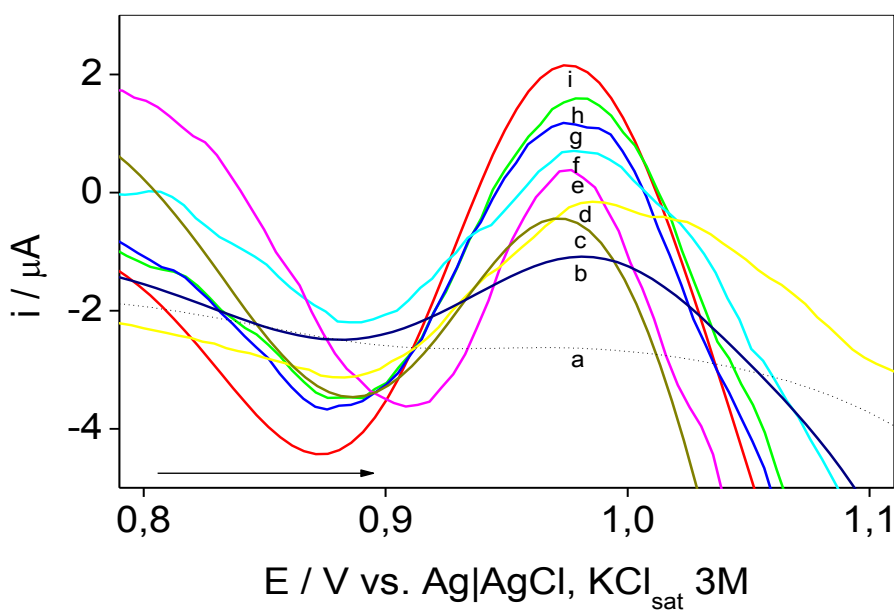


Figura 81. Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por SWV na presença de matriz de açúcar mascavo em diferentes concentrações: branco (a); 9,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (b); 10,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (c); 11,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (d); 12,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (e); 13,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (f); 14,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (g).

L<sup>-1</sup> (d); 12,0 μmol L<sup>-1</sup> (e); 13,0 μmol L<sup>-1</sup> (f); 14,0 μmol L<sup>-1</sup> (g); 16,0 μmol L<sup>-1</sup> (h); 18,0 μmol L<sup>-1</sup> (i). Eletrólito suporte KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Condições voltamétricas SWV: A<sub>p</sub> = 75 mV; f = 100 Hz; t<sub>v</sub> = 2ms.

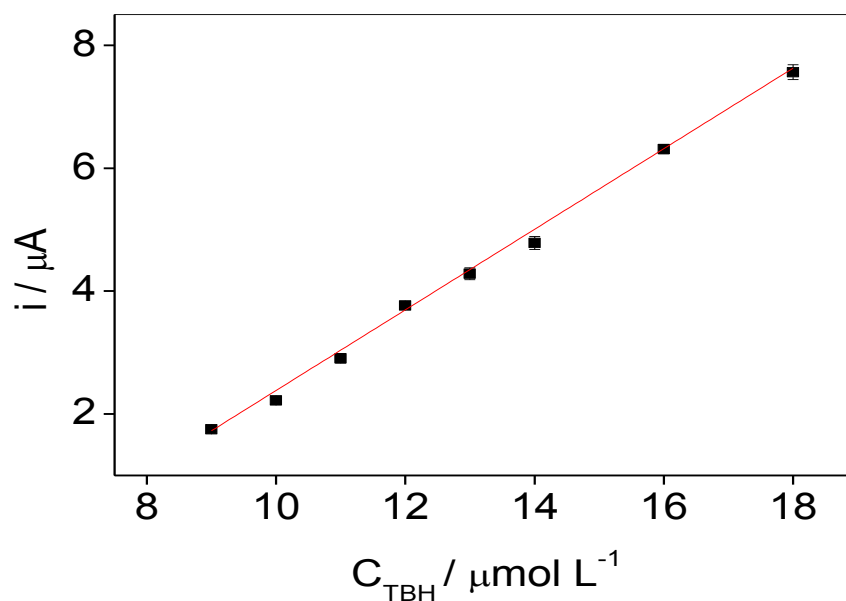


Figura 82. Curva analítica de TBH por SWV na presença de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Matriz: Açúcar Mascavo.

Em algumas concentrações os picos de oxidação de TBH na presença de matriz, monitorados por SWV, se mostraram um pouco alargados e mal resolvidos, porém isso não interferiu na corrente de pico exibida por eles, como pode ser visto pela linearidade da curva analítica.

Para DPV, a faixa de concentração estudada variou no intervalo de 0,5 à 7,0 μmol L<sup>-1</sup>. Essa técnica se mostrou mais sensível para determinação de TBH, nas condições estabelecidas neste trabalho, se comparada a SWV.

Nas Figuras 83 e 84 são apresentados os voltamogramas e a curva analítica, respectivamente, obtidos pela determinação de TBH em diferentes concentrações na presença de açúcar cristal, cuja equação de ajuste linear é dada por  $I_p (A) = 5,435 \times 10^{-6} + 2,506 C_{TBH} (\mu\text{mol L}^{-1})$ , com  $r = 0,999$ .

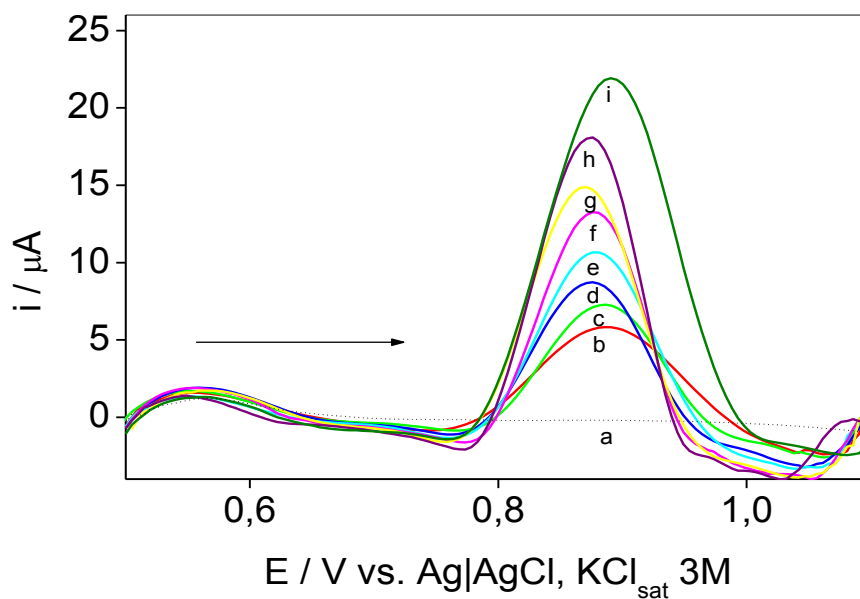


Figura 83. Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por DPV na presença de matriz de açúcar cristal em diferentes concentrações: branco (a);  $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  (b);  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (c);  $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (d);  $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (e);  $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (f);  $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (g);  $6,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (h);  $7,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (i). Eletrólito suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Condições voltamétricas: DPV:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ ;  $A_p = 200 \text{ mV}$ ;  $t_p = 2 \text{ ms}$ .

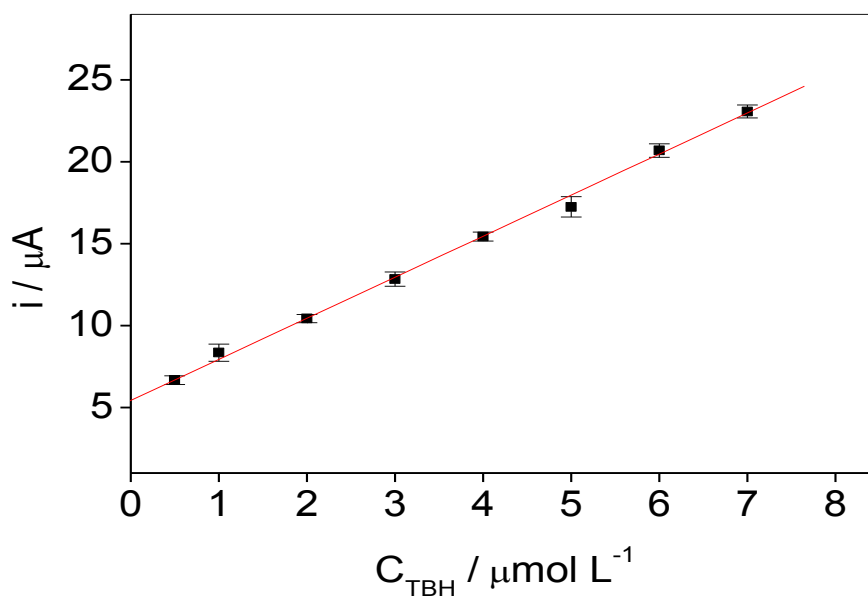


Figura 84. Curva analítica de TBH por DPV na presença de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Matriz: Açúcar cristal.

Já nas Figuras 85 e 86 são apresentados os voltamogramas e a curva analítica, respectivamente, obtidos pela determinação de diferentes concen-

trações de TBH na presença de açúcar mascavo, cuja equação de ajuste linear é dada por  $I_p \text{ (A)} = 5,339 \times 10^{-6} + 2,663 C_{\text{TBH}} \text{ (}\mu\text{mol L}^{-1}\text{)}$ , com  $r = 0,997$ .

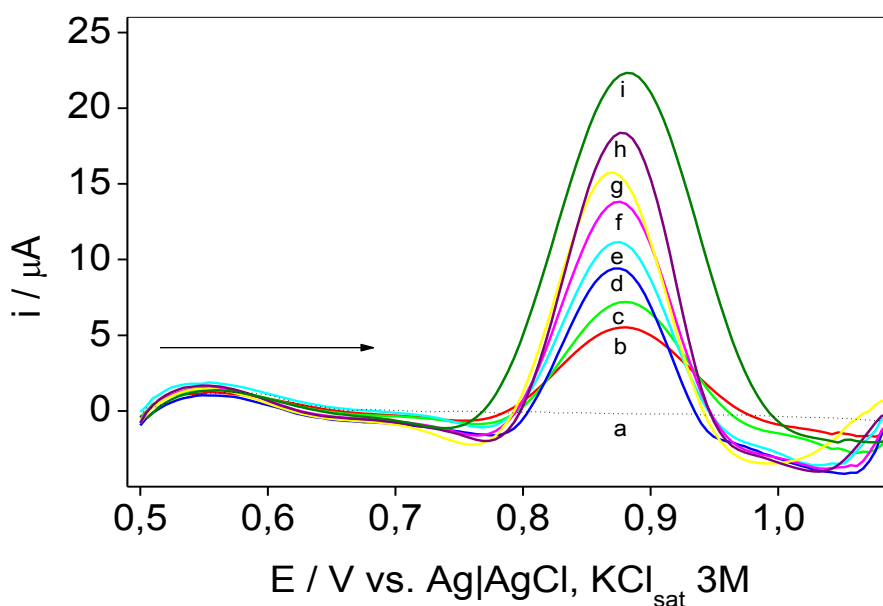


Figura 85. Voltamogramas do pico de oxidação de TBH em eletrodo de carbono vítreo por DPV na presença de matriz de açúcar mascavo em diferentes concentrações: branco (a);  $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  (b);  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (c);  $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (d);  $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (e);  $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (f);  $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (g);  $6,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (h);  $7,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  (i). Eletrólito suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Condições voltamétricas: DPV:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ ;  $A_p = 200 \text{ mV}$ ;  $t_p = 2 \text{ ms}$ .

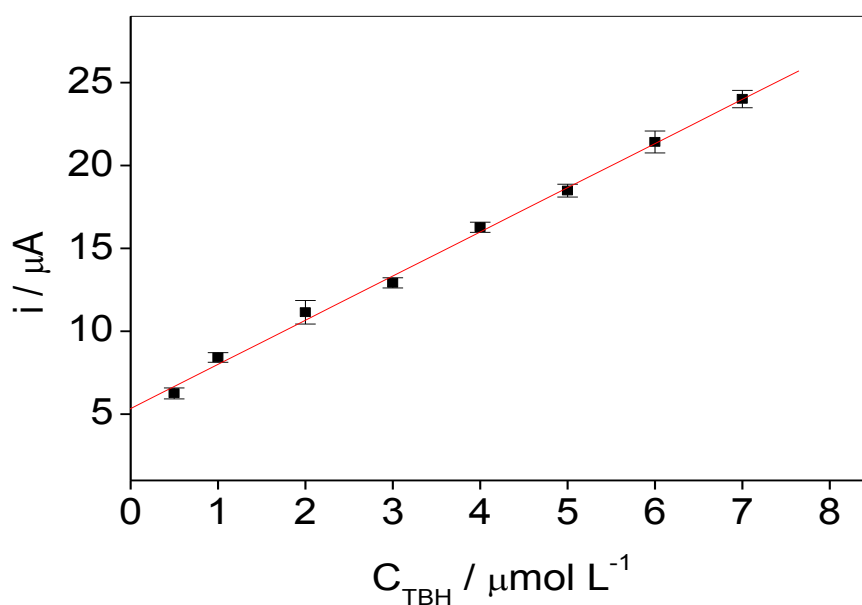


Figura 86. Curva analítica de TBH por DPV na presença de matriz. Eletrodo de trabalho de carbono vítreo e eletrólito suporte KOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Matriz: Açúcar mascavo.

Ao contrário do observado nos voltamogramas obtidos por SWV, na presença de matriz não foi observada deformação ou alargamento dos voltamogramas obtidos por DPV.

## **4.10 Validação**

### **4.10.1 Seletividade**

Durante todo o desenvolvimento do trabalho teve-se uma preocupação especial com a leitura com branco antes de todas as análises realizadas. O branco é constituído de todos os reagentes e solventes utilizados na determinação, sem a presença do analito, com ou sem a presença de matriz (SKOOG *et al.*, 2006). Em nenhuma das situações de análise foi observada a presença de picos de corrente em potencial igual ou próximo ao pico de oxidação do analito. Este resultado pode ser visto nas Figuras 69, 71, 79, 81, 83 e 85 que mostram os voltamogramas obtidos para todas as curvas analíticas construídas, juntamente com o branco de cada situação.

### **4.10.2 Linearidade**

A linearidade obtida pela relação da concentração de TBH e da intensidade de  $I_p$ , dentro dos intervalos de concentração estudados, é mostrada na Tabela 8, e se mostrou satisfatória em todos os casos.

Tabela 8. Equações das curvas analíticas construídas para determinação voltamétrica de TBH e seus respectivos coeficientes de correlação linear (r)

Técnica	Matriz	Equação da curva analítica	Coefficiente de correlação (r)
SWV	Ausência	$I_p(A) = -8,493 \times 10^{-6} + 1,144 C_{TBH} (\mu\text{mol L}^{-1})$	0,994
	Açúcar Cristal	$I_p(A) = -3,501 \times 10^{-6} + 0,599 C_{TBH} (\mu\text{mol L}^{-1})$	0,998
	Açúcar Mascavo	$I_p(A) = -4,173 \times 10^{-6} + 0,656 C_{TBH} (\mu\text{mol L}^{-1})$	0,995
DPV	Ausência	$I_p(A) = 8,383 \times 10^{-6} + 3,652 C_{TBH} (\mu\text{mol L}^{-1})$	0,999
	Açúcar Cristal	$I_p(A) = 5,434 \times 10^{-6} + 2,506 C_{TBH} (\mu\text{mol L}^{-1})$	0,999
	Açúcar Mascavo	$I_p(A) = 5,339 \times 10^{-6} + 2,663 C_{TBH} (\mu\text{mol L}^{-1})$	0,997

Os coeficientes de correlação linear (r) obtidos para as curvas analíticas construídas por SWV, na ausência de matriz, na presença de açúcar cristal e açúcar mascavo foram respectivamente 0,994, 0,998 e 0,995. Esse número esteve ainda mais próximo do ideal, para as curvas analíticas construídas por DPV, sendo, para estes casos,  $r = 0,999$  na ausência de matriz, 0,999 na presença de açúcar cristal e 0,997 na presença de açúcar mascavo.

Em todos os casos os valores são aceitáveis segundo a ANVISA, que estabelece como critério mínimo aceitável  $r \geq 0,99$ .

#### 4.10.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

Para calcular o LD e o LQ dos métodos, foram primeiramente realizadas doze medidas do branco, por cada uma das técnicas e condições para qual esse parâmetro foi avaliado e, assim, calculado o desvio padrão ( $S_b$ ) da corrente exibida no mesmo potencial de pico do TBH. Utilizando esses valores, a equação da curva analítica específica, e as equações 8 e 9, descritas no item 3.8.3, foi possível calcular os LD e LQ das metodologias. Os resultados são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Limites de quantificação e quantificação

Técnica	Matriz	b	S <sub>b</sub>	LD		LQ	
				( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	( $\text{mg L}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	( $\text{mg L}^{-1}$ )
SWV	Ausência de matriz	1,144	$3,441 \times 10^{-7}$	0,902	0,206	3,001	0,685
	Açúcar Cristal	0,599	$3,559 \times 10^{-7}$	1,782	0,407	5,941	1,356
	Açúcar Mascavo	0,656	$3,329 \times 10^{-7}$	1,522	0,347	5,075	1,158
DPV	Ausência de matriz	3,653	$1,447 \times 10^{-7}$	0,119	0,027	0,396	0,090
	Açúcar Cristal	2,506	$1,190 \times 10^{-7}$	0,142	0,032	0,475	0,108
	Açúcar Mascavo	2,663	$1,111 \times 10^{-7}$	0,125	0,028	0,417	0,095

Pode-se observar que LD e LQ obtidos com a utilização de DPV foram muito menores se comparados com aqueles obtidos por SWV.

Todos os parâmetros de validação apresentados até aqui se mostraram mais satisfatórios com a utilização da técnica DPV do que aqueles apresentados por SWV. Dessa forma, os próximos parâmetros serão avaliados somente para DPV.

#### 4.10.4 Exatidão

Dentre os processos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método estão o ensaio de recuperação e a comparação de métodos (ANVISA, 2003). Nesse trabalho a exatidão foi estudada através de ensaios de recuperação aparente de quatro níveis de concentrações diferentes do analito em estudo conforme descrito no item 3.8.4 deste trabalho.

Estes ensaios foram realizados na presença de matriz de açúcar cristal e mascavo, de diferentes marcas disponíveis no mercado, uma vez que nenhuma delas apresentou sinal da presença do herbicida TBH na análise do branco. As Figuras 87, 88, 89, 90, 91 e 92 apresentam os voltamogramas obtidos para a adição sucessiva de 20,0, 10,0, 10,0 e 10,0  $\mu\text{L}$  de solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  nas diferentes amostras. O volume final na célula eletroquímica foi corrigido e a recuperação calculada para cada ensaio utilizando a equação 10, os resultados são apresentados nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10. Resultados dos ensaios de recuperação aparente de TBH para diferentes amostras de açúcar cristal

Matriz de açúcar cristal	Concentração ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )			
	1,99	2,99	3,98	4,97
	Recuperação (%)			
Amostra A	89,46	90,79	108,80	93,92
Amostra B	108,79	91,33	94,24	97,47
Amostra C	102,81	103,71	92,30	91,45

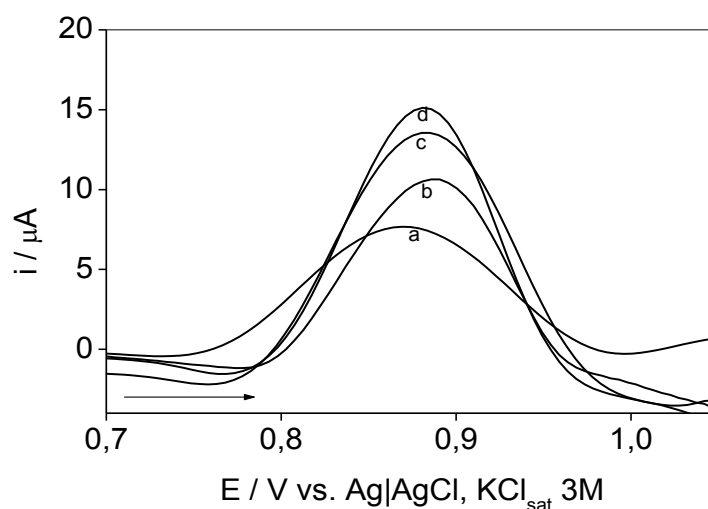


Figura 87. Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra A de açúcar cristal nas concentrações a)  $1,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , b)  $2,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , c)  $3,98 \mu\text{mol L}^{-1}$  e d)  $4,97 \mu\text{mol L}^{-1}$  de TBH.

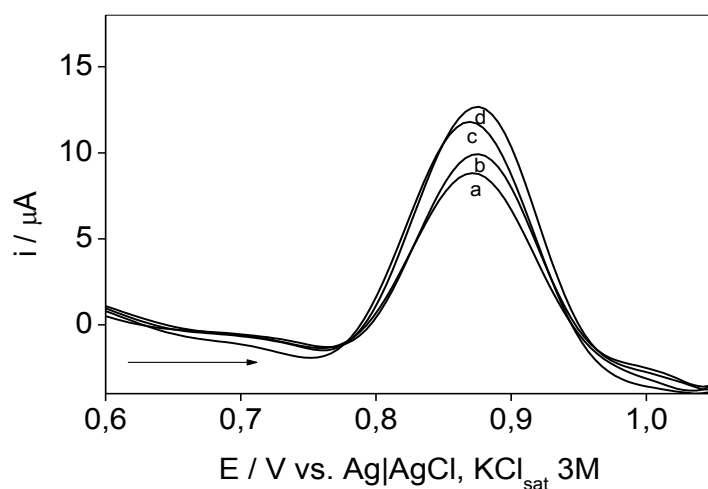


Figura 88. Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra B de açúcar cristal nas concentrações a)  $1,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , b)  $2,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , c)  $3,98 \mu\text{mol L}^{-1}$  e d)  $4,97 \mu\text{mol L}^{-1}$  de TBH.

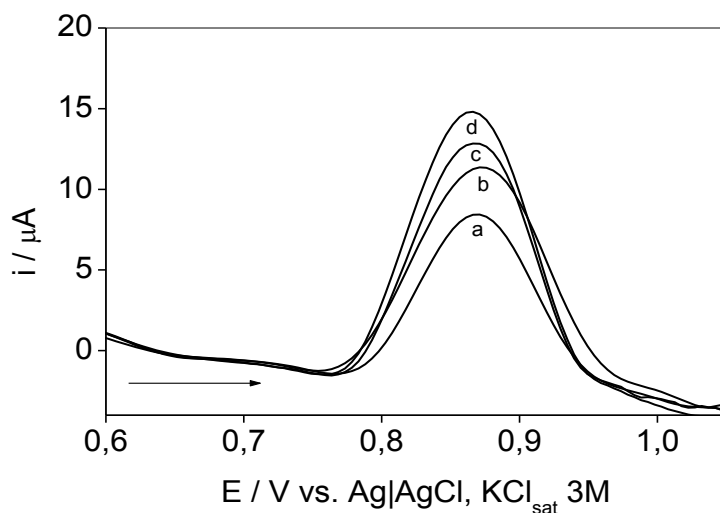


Figura 89. Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra C de açúcar cristal nas concentrações a)  $1,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , b)  $2,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , c)  $3,98 \mu\text{mol L}^{-1}$  e d)  $4,97 \mu\text{mol L}^{-1}$  de TBH.

Tabela 11. Resultados dos ensaios de recuperação aparente de TBH para diferentes amostras de açúcar mascavo

Matriz de açúcar mascavo	Concentração ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )			
	1,99	2,99	3,98	4,97
	Recuperação (%)			
Amostra A	84,19	95,19	102,07	104,70
Amostra B	113,99	102,39	97,71	99,98
Amostra C	99,82	105,09	104,12	97,62

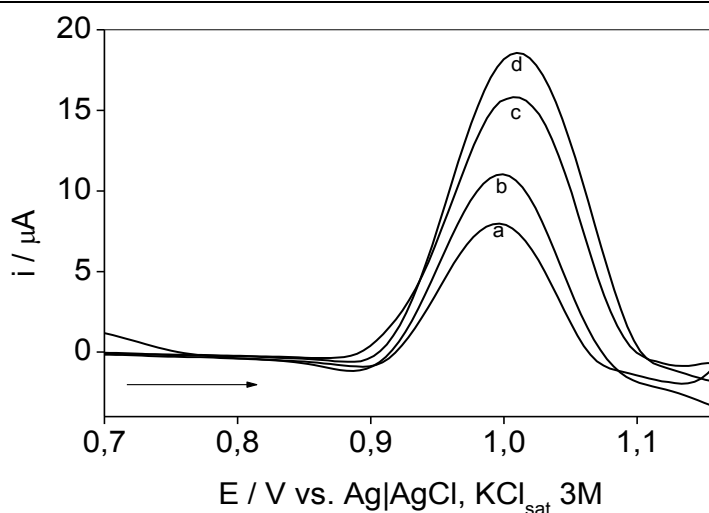


Figura 90. Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra A de açúcar mascavo nas concentrações a)  $1,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , b)  $2,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , c)  $3,98 \mu\text{mol L}^{-1}$  e d)  $4,97 \mu\text{mol L}^{-1}$  de TBH.

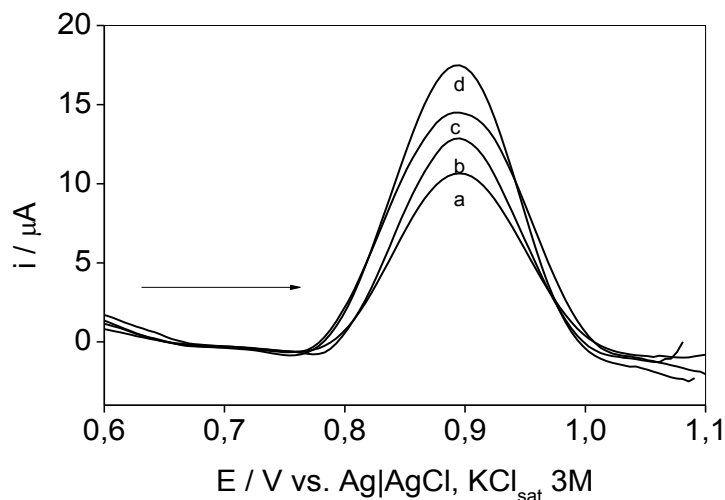


Figura 91. Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra B de açúcar mascavo nas concentrações a)  $1,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , b)  $2,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , c)  $3,98 \mu\text{mol L}^{-1}$  e d)  $4,97 \mu\text{mol L}^{-1}$  de TBH.

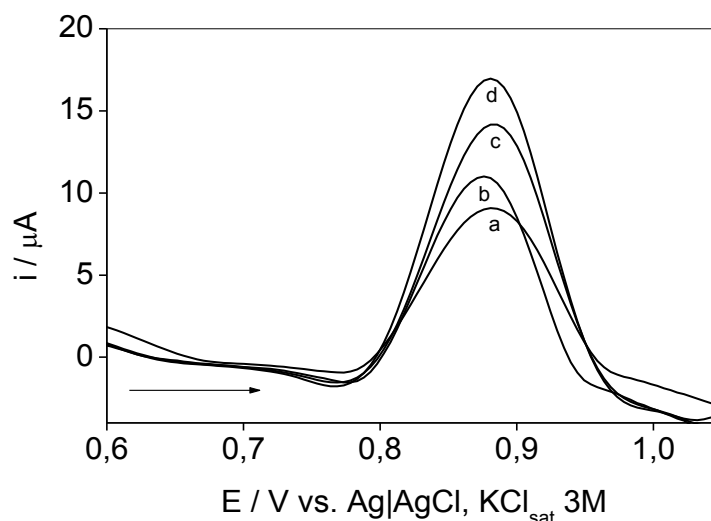


Figura 92. Voltamogramas obtidos nos ensaios de recuperação aparente para amostra C de açúcar mascavo nas concentrações a)  $1,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , b)  $2,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ , c)  $3,98 \mu\text{mol L}^{-1}$  e d)  $4,97 \mu\text{mol L}^{-1}$  de TBH.

Considerando-se que os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120 %, com precisão de até  $\pm 20 \%$  (RIBANI *et al.*, 2004), todas as amostras se mostraram dentro da faixa de recuperação aceitável.

Ainda podemos concluir que os desvios nos valores de recuperação se deram por erros aleatórios, uma vez que variaram para valores maiores e menores do que o esperado, demonstrando que a metodologia apresentada não é tendenciosa, ou mesmo, que não apresenta erros sistemáticos.

A Figura 93 apresenta um gráfico da recuperação ideal sugerido pela IUPAC (BURNS *et al.*, 2002), onde a concentração calculada é igual a concentração teórica, juntamente com os gráficos de todos os ensaios de recuperação realizados. É possível observar que em nenhum dos casos os gráficos obtidos experimentalmente se afastaram, de maneira discrepante, dos valores ideais.

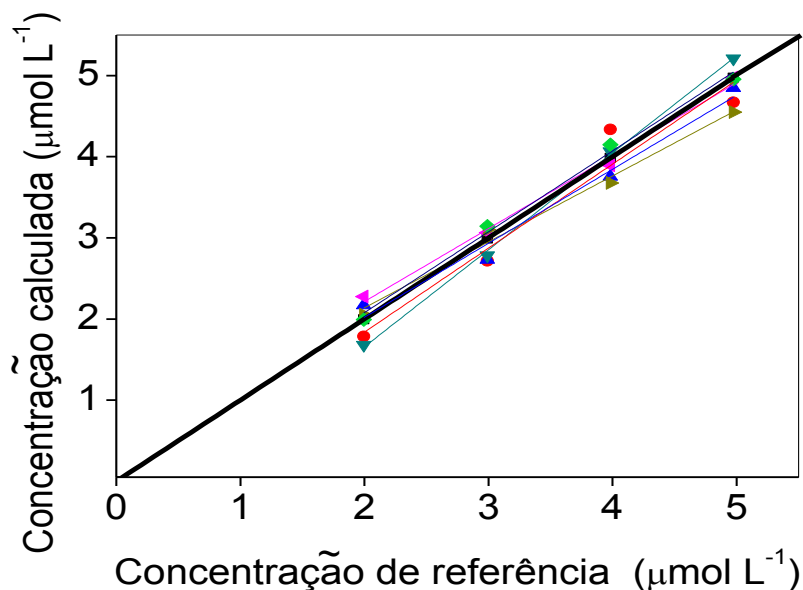


Figura 93. Função de recuperação: relação entre o valor teórico (referência) e o valor calculado. Ideal (■); Açúcar Cristal – Amostra A (●); Açúcar Cristal – Amostra B (▲); Açúcar Cristal – Amostra C (►); Açúcar Mascavo – Amostra A (▼); Açúcar Mascavo – Amostra B (◄) e Açúcar Mascavo – Amostra C (◆).

#### 4.10.5 Precisão

A precisão, avaliada pelos critérios de repetibilidade e precisão intermediária, foi calculada para da metodologia desenvolvida por DPV utilizando a equação 11, conforme descrito no item 3.8.5 desse trabalho.

Cada amostra foi analisada em um dia diferente. As Tabelas 12 e 13 mostram a repetibilidade da análise de cada amostra separadamente.

Tabela 12. Repetibilidade, expressa pelo coeficiente de variação (CV) para as várias concentrações e amostras açúcar cristal de analisadas no teste de recuperação aparente.

Matriz de açúcar cristal	Concentração ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )			
	1,99	2,99	3,98	4,97
Coeficiente de variação (%)				
Amostra A	2,09	0,53	2,53	3,52
Amostra B	8,88	6,35	13,47	4,29
Amostra C	5,25	13,83	7,89	7,51

Tabela 13. Repetibilidade, expressa pelo coeficiente de variação (CV) para as várias concentrações e amostras açúcar mascavo de analisadas no teste de recuperação aparente.

Matriz de açúcar mascavo	Concentração ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )			
	1,99	2,99	3,98	4,97
Coeficiente de variação (%)				
Amostra A	11,73	3,99	3,69	3,10
Amostra B	11,09	6,26	7,81	5,93
Amostra C	6,02	12,87	8,59	8,65

A repetibilidade do método, expresso pelo coeficiente de variação das análises, variou entre 0,53 e 13,83, estando estes valores abaixo de 20 % conforme o recomendado (RIBANI *et al.*, 2004).

Utilizando os dados obtidos em dias diferentes para as amostra de matriz semelhante, foi possível avaliar a precisão intermediária do método. Os resultados desse estudo são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Precisão intermediária, expresso pelo coeficiente de variação (CV) para as várias concentrações e amostras de açúcar cristal e mascavo analisadas no teste de recuperação aparente.

Matriz	Concentração ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )			
	1,99	2,99	3,98	4,97
Coeficiente de variação (%)				
Açúcar Cristal	9,75	7,29	12,53	4,14
Açúcar Mascavo	15,01	9,51	6,50	6,57

Tanto a repetibilidade como a precisão intermediária do método apresentaram valores de coeficiente de variação abaixo de 20 %. Isso permite afirmar que a metodologia desenvolvida apresenta boa exatidão (RIBANI *et al.*, 2004).

#### 4.11 Efeito de matriz

A sensibilidade do procedimento analítico é principalmente determinada pela inclinação da curva analítica. Quando o ajuste os pontos da curva analítica se dá por um modelo linear, como é o caso do sistema em estudo, a sensibilidade é constante em toda a faixa de trabalho e é determinada, principalmente, pela inclinação  $b$  da curva analítica (MAPA, 2011a).

O coeficiente angular ( $b$ ) das curvas analíticas obtidas por SWV foram 1,144 na ausência de matriz, 0,599 na presença de matriz de açúcar cristal e 0,656 na presença de matriz de açúcar mascavo. Já para as curvas analíticas obtidas por DPV, os coeficientes angulares foram 3,652, 2,506 e 2,663, para as curva construídas na ausência de matriz, na presença de açúcar cristal e açúcar mascavo, respectivamente.

É possível, através desses dados, observar a que existe uma influência negativa da presença da matriz na sensibilidade de ambas as metodologias desenvolvidas. Para SWV foi notada uma queda média de aproximadamente 45 % da sensibilidade com a introdução da matriz. Para DPV essa queda média da sensibilidade foi em torno de 29 %. Esse resultado também pode ser visualizado nas Figuras 94 e 95, que compara as curvas construídas na ausência e presença de matriz.

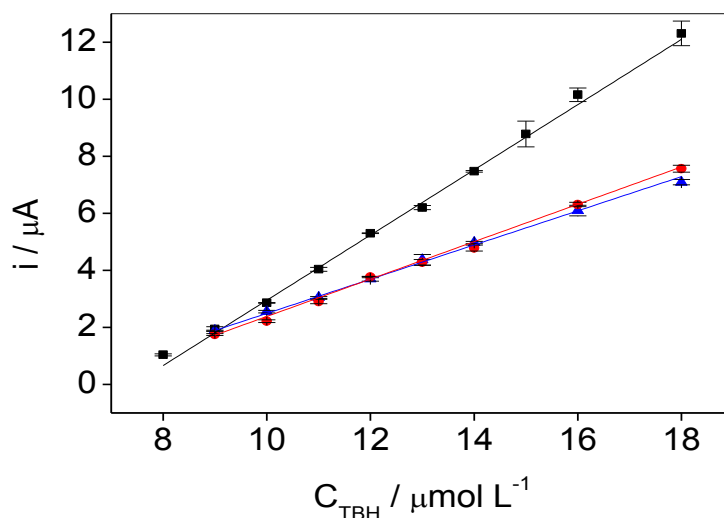


Figura 94. Curvas analíticas obtidas por SWV na ausência de matriz (■), presença de matriz de açúcar mascavo (●) e presença de matriz de açúcar cristal (▲).

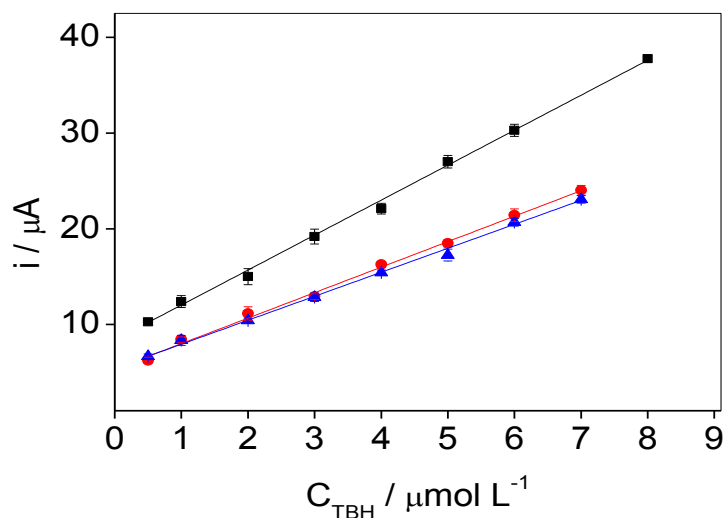


Figura 95. Curvas analíticas obtidas por DPV na ausência de matriz (■), presença de matriz de açúcar mascavo (●) e presença de matriz de açúcar cristal (▲).

Com a utilização da técnica voltamétrica SWV, o efeito de matriz parece ser altamente dependente da concentração do analito. Já com a utilização de DPV esse relação parece ser mais discreta.

Esse efeito de matriz observado em ambos os casos pode estar relacionado com o aumento da resistência do meio ao fluxo de cargas, uma vez que a matriz é uma substância molecular. O comportamento observado para o açúcar cristal e mascavo não se diferenciou muito, sendo a inclinação da reta apresentada pela presença de açúcar mascavo levemente maior do que

a apresentada pela reta do açúcar cristal. Isso pode estar relacionado com o maior teor de sacarose do açúcar cristal, que conferiria ao meio uma maior concentração dessa substância, e assim, acarretar em uma maior dificuldade de movimentação de cargas em solução.

Mesmo com uma queda da sensibilidade ocasionado pela presença de matriz de açúcar, a determinação de TBH é viável, uma vez que a presença da matriz não impossibilitou a detecção ou quantificação do analito pela metodologia desenvolvida.

#### **4.12 Estudo de interferente**

Na tentativa de identificar possíveis compostos presentes no açúcar que possam afetar a resposta voltamétrica do sistema, foi realizado um estudo de interferentes. Para isso foram adicionadas à célula eletroquímica algumas substâncias possivelmente presentes no açúcar, conforme descrito no item 3.10 deste trabalho.

Como foi verificado anteriormente que em meio ácido ou neutro a resposta voltamétrica é altamente comprometida, foi realizado o monitoramento do pH da solução com a adição das diferentes alíquotas de solução de  $H_2SO_4$ , um dos interferentes escolhidos para o estudo, antes de se realizar a leitura voltamétrica. Não foi registrado nenhuma grande alteração nesses valores, apesar da solução de KOH não ser uma solução tampão, a elevada concentração de base no meio configura uma região pseudo tamponante (OLIVEIRA, 2009).

A figura 96 apresenta o resultado das correntes registradas para o estudo de interferentes  $H_2SO_4$  e NaCl, em concentrações 100, 200 e 500 vezes maiores que a concentração do analito.

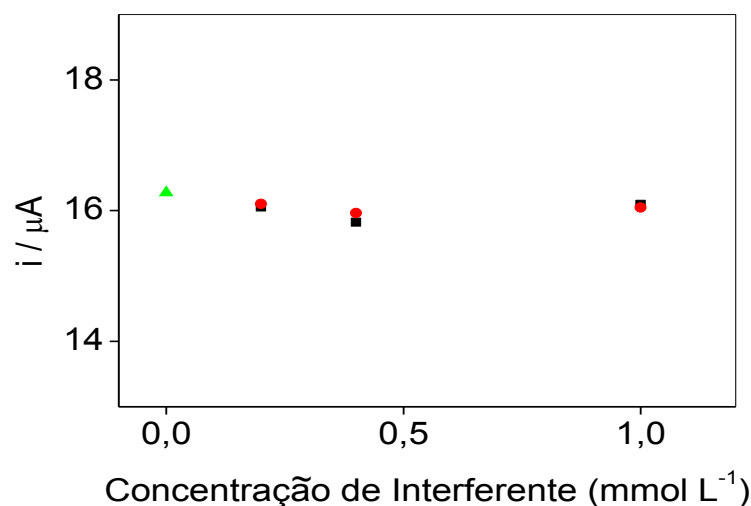


Figura 96. Estudo da influência da presença de possíveis interferentes. Corrente registrada sem presença de interferentes (▲); na presença de NaCl (■); e na presença de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (●). Condições DPV: A<sub>p</sub> = 200mV, v = 25 mV s<sup>-1</sup> e t<sub>p</sub> = 2ms; C<sub>TBH</sub> = 2,0 μmol L<sup>-1</sup>.

É possível observar através dos resultados apresentados na figura 96, que a corrente registrada para uma solução de 2,0 μmol L<sup>-1</sup> de TBH, não parece ser alterada pela presença desses interferentes no meio. Outros compostos potenciais interferentes não foram estudados por não permanecerem em solução em valores de pH tão elevados como o do meio em estudo, como é o caso de sais de ferro, cálcio, magnésio e fosfato.

## ***5 Conclusão***

---

Neste trabalho foram desenvolvidas com sucesso duas metodologias, simples, rápidas e de baixo custo para determinação voltamétrica de TBH. Ambas as metodologias utilizam eletrodo de carbono vítreo e eletrólito de suporte KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>. O estudo das características do sinal analítico exibido pelo TBH, como um pico de corrente anódica próximo ao potencial +1,16 V vs. Ag|AgCl, KCl sat 3M, sugere uma oxidação do composto de forma irreversível com a transferência de um elétron, sendo o processo de transporte de massas do sistema em estudo controlado por difusão.

Após o estudo dos parâmetros instrumentais específicos das técnicas voltamétricas escolhidas os melhores parâmetros instrumentais para determinação de TBH por LSV foram definidos como  $I_v = 20$  mV e  $v = 90$  mV s<sup>-1</sup>. Para determinação por SWV os parâmetros foram  $A_p = 75$  mV,  $f = 100$  Hz e  $v = 5$  mV s<sup>-1</sup>. E por DPV os parâmetros escolhidos foram  $v = 25$  mV s<sup>-1</sup>,  $A_p = 200$  mV e  $t_p = 2$  ms. Utilizando estes parâmetros a técnica LSV se mostrou a menos sensível, assim, estudos mais detalhados foram desenvolvidos utilizando as técnicas SWV e DPV, por se mostrarem mais sensíveis e seletivas.

As metodologias foram utilizadas para detecção e quantificação de TBH na presença de matriz de açúcar cristal e mascavo. Embora a presença de matriz de açúcar cristal e mascavo interfira negativamente no sinal do analito monitorado, em todos os casos não inibe seu monitoramento. A metodologia desenvolvida por SWV se mostrou suficientemente sensível e seletiva para detecção e quantificação do TBH. Porém a metodologia desenvolvida por DPV demonstrou maior sensibilidade e seletividade.

Conclui-se pelos resultados deste trabalho que é possível utilizar os métodos desenvolvidos para determinação de resíduos de TBH dentro da faixa de detecção e quantificação de 1,782 e 5,941  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para açúcar cristal e de 1,522 e 5,075  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para açúcar mascavo, respectivamente, por SWV. E por DPV dentro da faixa de detecção e quantificação de 0,142 e 0,475  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para açúcar cristal e de 0,125 e 0,417  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para açúcar mascavo, respectivamente, com repetibilidade entre 0,53% e 13,83%, precisão intermediária entre 4,14% e 15,01% e exatidão entre 84,19% e 113,99%.

Também é possível afirmar que apesar do grande emprego do herbicida estudado em lavouras de cana-de-açúcar, não foi observada a presença de TBH em nenhuma das amostras analisadas no teste de recuperação aparente, dentro do limite de detecção dos métodos desenvolvidos.

## ***6 Propostas futuras***

---

Considerando o interesse analítico de sempre desenvolver técnicas de análises mais sensíveis e seletivas, observou-se a possibilidade do desenvolvimento uma metodologia semelhante à apresentada neste trabalho, porém, com a utilização de eletrodo de trabalho composto por pasta de carbono para determinação de TBH. Os bons resultados obtidos por testes realizados com a utilização de eletrodo de pasta de carbono para determinação desse herbicida indicam que o eletrodo de pasta pode ser muito mais sensível que o eletrodo de carbono vítreo para essa determinação. As Figuras 97, 98 e 99, mostram os voltamogramas obtidos com a utilização de três aglutinantes diferente na confecção da pasta de carbono.

As análises foram realizadas por voltametria cíclica (VC), utilizando eletrodo de trabalho de pasta de carbono (com diferentes composições em massa), contra eletrodo de platina e eletrodo de referência de Ag|AgCl, KCl<sub>sat</sub> 3M, varrendo-se uma janela de potencial de +0,50 à +1,35 V, com velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>, em eletrólito suporte KOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Primeiramente, realizou-se uma leitura do branco, para garantir a seletividade da determinação, depois foi adicionada alíquota de solução padrão de TBH de forma que a concentração do analito na célula eletroquímica fosse de 1,00 mmol L<sup>-1</sup>. A solução foi homogeneizada e registrados os voltamogramas. Ainda foi realizada a adição de 100,0 µL da solução de açúcar mascavo, para verificar a possibilidade da interferência de matriz de modo que pudesse inviabilizar a determinação do TBH. Todas as análises foram realizadas em triplica e antes do início das medidas foi borbulhado N<sub>2</sub> por 15 minutos na solução contida na célula.

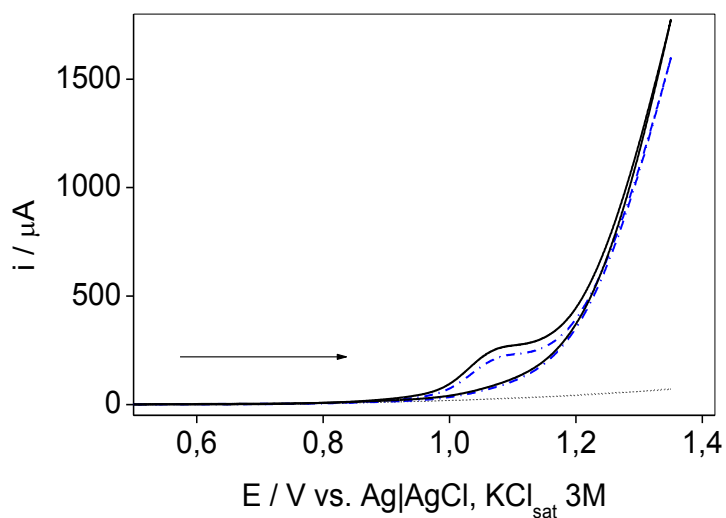


Figura 97. Voltamogramas cíclicos da análise de solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta (30 % óleo mineral 70 % grafite) (—) ausência de matriz (---) 100,00  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco.

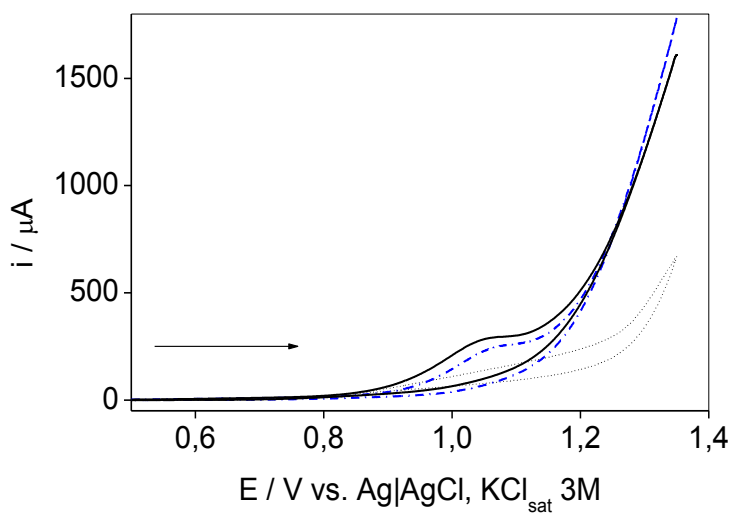


Figura 98. Voltamogramas cíclicos da análise de solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta (30 % silicone 70 % grafite) (—) ausência de matriz (---) 100,00  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco.

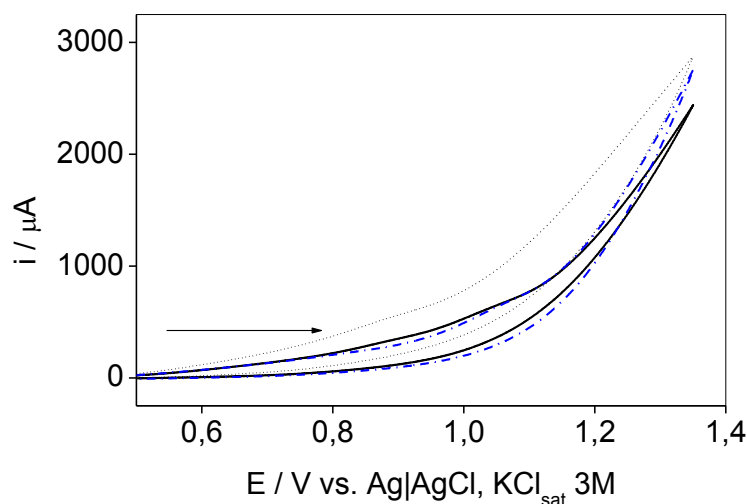


Figura 99. Voltamogramas cíclicos da análise de solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta (5 % glicerol 25 % silicone 70 % grafite) (—) ausência de matriz (... ) 100,0  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (... ) branco.

Os eletrodos que utilizaram na sua composição somente óleo mineral ou silicone na confecção da pasta mostraram pico de corrente anódica bem mais definido após a adição do pesticida. Já, a pasta que utilizou 5 % de glicerol em sua composição não demonstrou bons resultados em VC. A Figura 100 apresenta a comparação dos voltamogramas obtidos para a análise de uma solução de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ , utilizando os diferentes eletrodos de pasta e também o eletrodo de carbono vítreo.

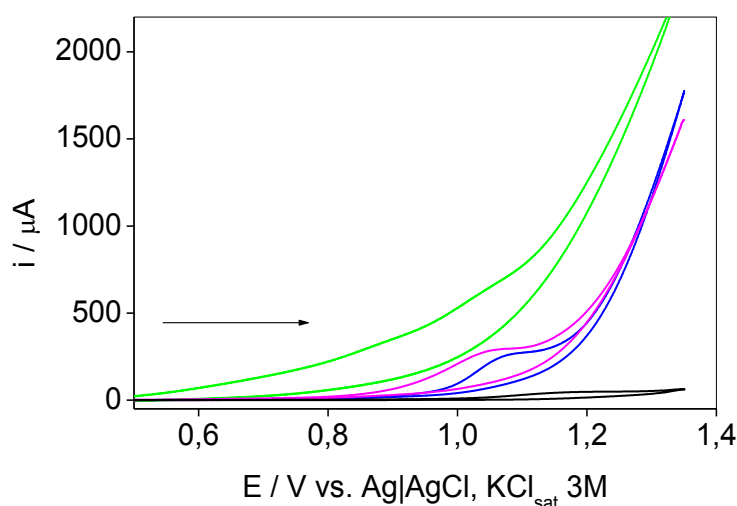


Figura 100. Voltamograma cíclico da análise de solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo: carbono vítreo (—); pasta: 30 % óleo mineral 70 % grafite (—); 30 % silicone 70 % grafite (—); pasta: 5 % glicerol 25 % silicone 70 % grafite (—).

É visualmente nítida a maior intensidade de corrente de pico com a utilização dos eletrodos de pasta de composição 30 % óleo mineral 70 % grafite e 30 % silicone 70 % grafite. Isso se deve, hipoteticamente, pela maior interação do analito com a superfície do eletrodo de trabalho.

Com base nos resultados obtidos, o eletrodo confeccionado com 30 % silicone 70 % grafite foi o que apresentou melhor sensibilidade e aparentemente melhor seletividade, devido ao menor potencial de pico. Assim, ele foi escolhido para testar a influência da introdução de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT, do inglês “*multiwall carbon nanotube*”) na pasta.

Foram testadas as proporções de 1 , 5 , 10 e 20 % de MWCNT na composição da pasta. Os voltamogramas registrados estão apresentados nas Figuras 101, 102, 103 e 104.

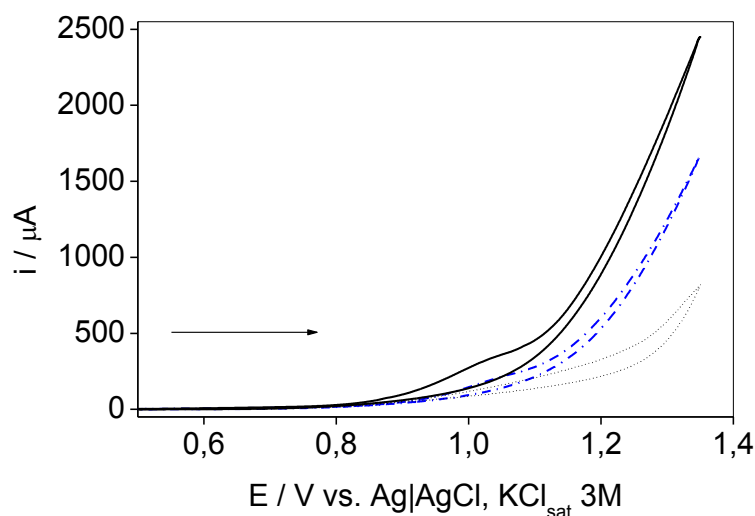


Figura 101. Voltamograma cíclico da análise de solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta: 20 % MWCNT 50 % grafite 30 % silicone. (—) Ausência de matriz (... ) 100,0  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (... ) branco.

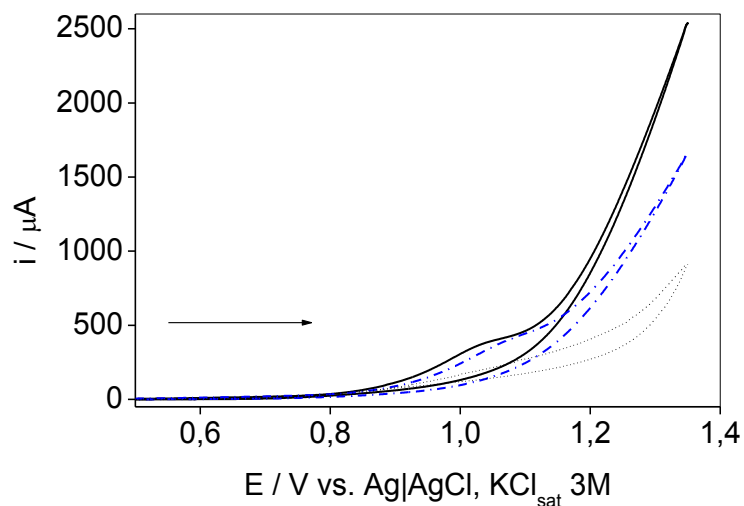


Figura 102. Voltamograma cíclico da análise de solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta: 10 % MWCNT 60 % grafite 30 % silicone. (—) Ausência de matriz (---) 100,0  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco.

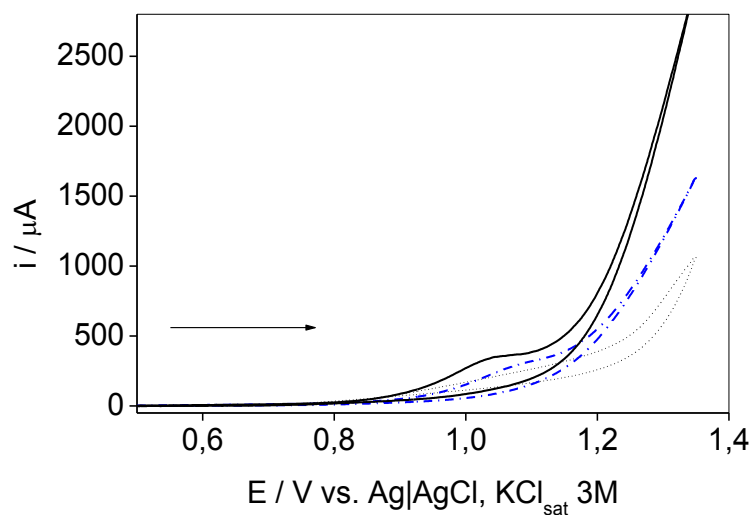


Figura 103. Voltamograma cíclico da análise de solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta: 5 % MWCNT 65 % grafite 30 % silicone. (—) Ausência de matriz (---) 100,0  $\mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco.

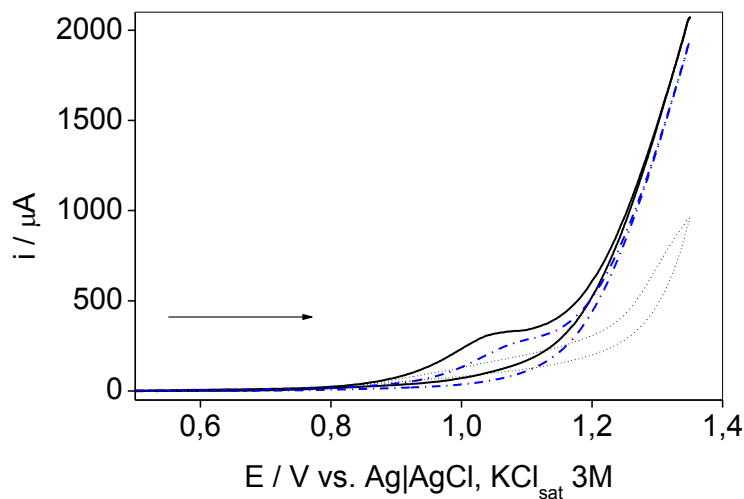


Figura 104. Voltamograma cíclico da análise de solução padrão de TBH  $1,00 \text{ mmol L}^{-1}$  com eletrodo de pasta: 1 % MWCNT 69 % grafite 30 % silicone. (—) Ausência de matriz (---)  $100,0 \mu\text{L}$  de solução de açúcar mascavo (...) branco.

A presença de quantidades maiores ou iguais a 10 % de MWCNT na pasta ocasionou uma menor compactação da pasta e, frequentemente, ocorria o desmoronamento da pasta durante as análises, contribuindo para os grandes desvios das respostas, como pode ser visto na Figura 105.

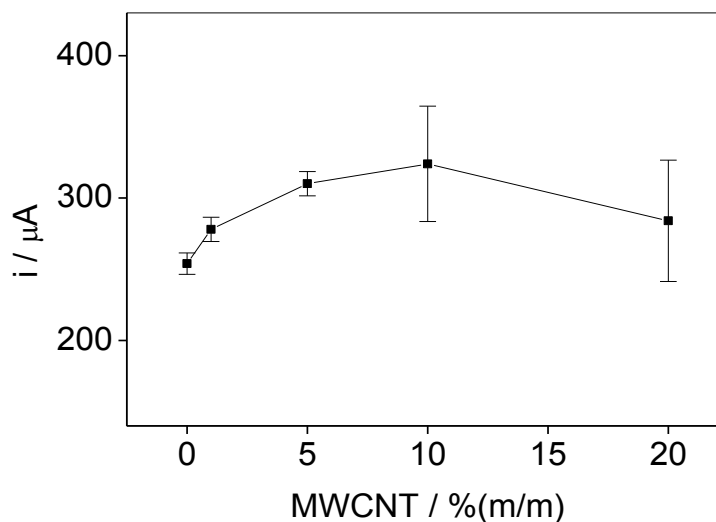


Figura 105. Influência da proporção de MWCNT na composição do eletrodo de pasta de grafite e silicone.

Também é possível observar através da Figura 105, que a presença de MWCNT melhorou a resposta voltamétrica conforme se aumentou a pro-

porção de nanotubos, até o máximo de 10 %, após esse valor houve um decaimento na resposta. Adicionalmente, até a concentração de 5 % de MWCNT na composição do eletrodo verificou-se que os desvios obtidos pelas medidas, aparentemente, não se modificaram muito.

A Figura 106 apresenta a relação entre a corrente de pico e o potencial de pico de alguns eletrodos de pasta e do eletrodo de carbono vítreo, com o objetivo de comparação entre os eletrodos avaliados.

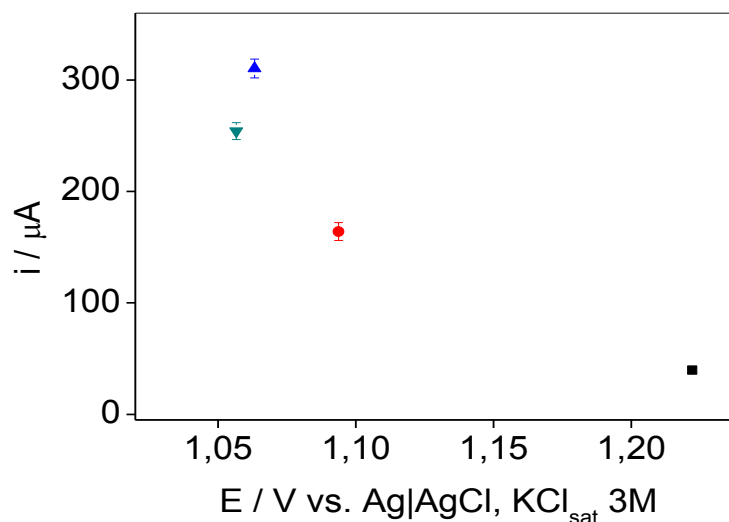


Figura 106. Comparação intensidade de corrente de pico, obtidas por voltametria cíclica com diferentes eletrodos. Carbono vítreo (■); Pasta: 70 % grafite 30 % óleo mineral (●); Pasta: 70 % grafite 30 % silicone (▼); Pasta: 5 % MWCNT 65 % grafite 30 % silicone (▲).

As respostas obtidas com eletrodo de pasta composto por 5 % MWCNT 65 % grafite 30 % silicone, se mostrou o mais sensível e seletivo, além de baixos desvios nos resultados das análises.

Embora sejam necessários estudos mais aprofundados para reconhecer e caracterizar a interação do analito com essa superfície eletródica e a utilização de técnicas voltamétricas mais sensíveis para esse novo sistema, que possibilitem afirmar a potencialidade de utilização deste eletrodo para determinação de TBH, essa parece ser uma alternativa promissora.

## ***7 Referências***

---

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em <[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)> Acesso em: abril de 2011.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Disponível em <[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)> Acesso em: maio de 2012.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. I Seminário regional de orientação ao setor regulador na área de alimentos - Acre. 2008.

ANVISA & UFPR - Agência Nacional de Vigilância Sanitária e Universidade Federal do Paraná. Mercado e Regulação de Agrotóxicos. Relatório ANVISA - UFPR sobre Mercado e Regulação de Agrotóxicos 2012 . Brasília, 2012.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Índice monográfico do tebutiuram. Disponível em: <[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)> Acesso em: maio 2012.

ARAÚJO, F. A. Processo de clarificação do caldo de cana pelo método da bicarbonatação. *Revista Ciências & Tecnologia* , p. 1-6, 2007.

ARMAS, E.; MONTEIRO, R. T.; AMÂNCIO, A.; CORREA, R. M.; GUERCIO, M. A. Uso de agrotóxicos em cana-de-açúcar na bacia do rio Corumbataí e o risco de poluição hídrica. *Química Nova* , 28 (6), p. 975-982, 2005.

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

BERRADA, H.; FONT, G. M. Determination of urea pesticide residues in vegetable, soil, and water sampl. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 33 (1), p. 19-41, 2003.

BICALHO, S. T.; LANGENBACH, T.; RODRIGUES, R. R.; CORREIA, F. V.; MATALLO, M. B.; LUCHINI, L. C. Herbicide distribution in soils of a riparian forest and neighboring sugar cane field. *Geoderma* , 158, p. 392–397, 2010.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989 . Brasília, 2002.

BRASIL. Relatório da Receita Federal - Relatório de Exportações. Disponível em: <<http://www.receita.fazenda.gov.br/aduana/Exportacao/default.htm>> Acesso em: junho de 2012.

BRETT, A. M.; BRETT, C. M. *Electrochemistry - Principles, Methods, and Applications*. Nova York: Oxford University Press, 1993.

BURNS, D. T.; DANZER, K.; TOWNSHEND, A. Use of the terms "recovery" and "apparent recovery" in analytical procedures. *Recommendations - International Union of Pure Applied Chemistry (IUPAC)* , 74 (11), p. 2201–2205, 2002.

CALDAS, E.; SOUZA, L. C. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. *Revista de Saúde Pública*, 34 (5), p. 529-537, 2000.

CARNEIRO, F. F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R. M.; AUGUSTO, L. G. S.; RIZOLLO, A.; MULLER, N. M.; ALEXANDRE, V. P.; FRIEDRICH, K.; MELLO, M. S. C. Dossiê ABRASCO –Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde -1ª Parte. 98 f. ABRASCO, Rio de Janeiro, 2012.

CASTRO, S. B. Tecnologia do açúcar. *Revista Universitaria da Universidade Federal do Pernambuco (UFPE)*. Recife, 2007.

CAUX, P.-Y. K. Canadian Water Quality Guidelines for Tebuthiuron. *Environ Toxicol Water Qual*, 12, p. 61-95, 1997.

CERDEIRA, A.; DESOUZA, M.; QUEIROZ, S. C.; FERRACINI, V. L.; BOLONHEZI, D.; GOMES, M. A. Leaching and half-life of the herbicide tebuthiuron on a recharge area of Guarany aquifer in sugarcane fields in Brazil. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 42, p. 635–639, 2007.

CHEN, J. C.; CHOU, C. *Cane Sugar Handbook. A manual for cane sugar manufacturers and their chemists*. 12 ed. New York: John Wiley & Sons, 1993.

CODOGNATO, L.; ZUIN, V. G.; De SOUZA, D.; YARIWAKE, J. H.; MACHADO, S. A.; AVACA, L. A. Electroanalytical and chromatographic determination of pentachlorophenol and related molecules in a contaminated soil: a real case example. *Microchemical Journal*, 77, p. 177–184, 2004.

COLLINS, C. H. *Princípios básicos de cromatografia*. Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Campinas, 1990.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Levantamento de safra. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: maio de 2012.

COPERSUCAR - Cooperativa de produtores de cana, açúcar e álcool de São Paulo LTDA. Disponível em: <<http://www.copersucar.com.br/>>. Acesso em: junho de 2012.

COSAN. Disponível em: < <http://www.cosan.com.br/Cosan>>. Acesso em: junho de 2012.

COSTA, M. Distribuição e crescimento radicular em soqueiras de cana-deaçúcar: dois cultivares em solos com características distintas. Tese (doutorado em agronomia), 88 f. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

DEBEN, J. The chemistry of calcium phosphate precipitation in cane juice clarification. *International Sugar Journal* , 78 (7), p. 73-75, 1976.

DEGANI, A. L.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia, um breve ensaio. *Química Nova na Escola* , 7, p. 21-25, 1998.

DELGADO, A. A.; CÉSAR, M. A. Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana (Vol. I). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1977.

EDGEELL, K. W.; JENKINS, E. L.; LOPEZ-AVILA, V.; LONGBOTTOM, J. E. Capillary column gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection for the determination of nitrogen and phosphorus containing pesticides in finished drinking waters: Collaborative study. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 74, p.295–309, 1991.

FAVERO, D. M. Clarificação do caldo de cana-de-açúcar pelo processo de carbonatação. Dissertação (mestrado em tecnologia de alimentos), 80 f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

GALLI, A.; SOUZA, D. D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. *Química Nova* , 29 (1), p. 105-112, 2006.

GARBELLINI, G. S. Determinação eletroquímica de pesticidas residuais em amostras dos principais derivados de cana-de-açúcar. Dissertação (mestrado em ciências), 164 f. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

GARRIDO, E. M.; DELERUE-MATOS, C.; LIMA, J. L.; BRETT, A. M. Electrochemical Methods in Pesticides Control. *Analytical letters* , 37, p. 1755–1791, 2004.

HANCE, R. Polarography of herbicides - a preliminary survey, *Pestic. Sci* 1(112), 1970. In: GALLI, A.; de SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A. *Química Nova* , 29 (1), p. 105-112, 2006.

HEWITT, P. G.; RICCI, T. F.; GRAVINA, M. H. Física Conceitual. 9 ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

HOLLAND, P. T. Glossary of terms relating to pesticides. Recommendations - International Union of Pure Applied Chemistry (IUPAC), 68 (5), p. 1167-1193, 1996.

HONIG, P. Principles of sugar technology (Vol. I). Nova York: Elsevier Publishing Company, 1953.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade. Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia 1. Rio de Janeiro, 2009.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade. Orientação sobre validação de métodos analíticos - DOQ-CGCRE-008 / Revisão 03, 2010.

IUPAC - International Union of Pure Applied Chemistry. Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis-II. Spectrochimica Acta, partB , 33, p. 241-245, 1978.

LANÇAS, F. M. Cromatografia líquida moderna. Campinas: Átomo, 2009.

LEME, J. R. A., Estudos comparativos dos métodos de determinação e de estimativa de teores de fibra e de açúcares redutores em cana-de-açúcar (*Sccharum spp.*). 151 f. Dissertação (mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Quiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

LOH, A.; WEST, S. D.; MACY, T. D. Gas chromatographic analysis of tebuthiuron and its metabolites in grass, sugarcane and sugarcane by-products. J. Agricul. Food Chem , 26, p. 410–413, 1978.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio: Brasil 2009/2010 a 2019/2020. Brasília, 2010.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Relatório da produção brasileira de cana, açúcar e etanol. Período entre 2000 e 2011. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: maio de 2012.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de garantia da qualidade analítica. Brasília, 2011a.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Acompanhamento da produção sucroalcooleira, safra 2010/2011. Disponível em: <[www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)>. Acesso em: maio de 2012b.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio : Brasil 2011/2012 a 2021/2022. Brasília, 2012b.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Consulta por formulações com tebutiurum como principio ativo. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)> Acesso em: junho de 2012b.

CNS/MS. Conselho Nacional de Saúde / Ministério da Saúde. Resolução CNS/MS n.º 04, de 24 de novembro de 1988 , Seção I. Brasília: Diário Oficial da União (D.O.U.), 1998.

NATALINO, R. Caracterização de açúcar mascavo aplicando análise das componentes principais a dados espectrométricos. Dissertação (mestrado em agroquímica), 52 f. Universidade Federal de Viçosa, 2006.

NICHOLSON, R. S.; SHAIN, I. Theory of Stationary Electrode Polarography. Analytical Chemistry , 36, p. 706-723, 1978.

OLIVEIRA, A. F. Equilíbrio em soluções aquosas. Campinas: Átomo, 2009.

OLIVEIRA, A. F. Planilha Excel simplificada para cálculo de graus de dissociação (AlfaDist 12v.7). s.d.

OLIVEIRA, D. T.; ESQUIAVETO, M. M.; SILVA JÚNIOR, J. F. Impacto dos itens da especificação do açúcar na indústria alimentícia. Ciência e Tecnologia Alimentos , 27, p. 99-102, 2007.

PACHECO, W. F. Desenvolvimento e comparação de métodos voltamétricos para a determinação de ciclofenil e primaquina em medicamentos e em urina. Dissertação (mestrado em química), 111 f. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Rio de Janeiro, 2004.

PRATI, P.; CAMARGO, G. A. Características do caldo-de-cana e sua influência na estabilidade da bebida. Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas , 2, p. 37-44, 2008.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDINS, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforético. Química Nova, 27 (5), p. 771-780, 2004.

RIPP, E. B.; ZUMAN, P.; SESTHKOVL, I.; HORLAK, V. Polarographic determination of some pesticides. Application to a study of their adsorption on lignin. Journal of agricultural and food chemistry , 40, p. 2016-2021, 1992.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. Guia de herbicidas (Vol. 5). Londrina, 2005.

RUAS, T. C. B. G. O ácido sulfuroso na sulfitação do caldo misto das usinas açucareiras. Dissertação (mestrado em ciências e tecnologia de alimentos), 75 f. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

RUTHERFORD, B. S.; SHACKELFORD, D. D.; ULMER, J. J. Determination of Tebuthiuron and Metabolites in Bovine Milk by GC-MSD. Journal of Agric. Food. Chemistry , 43, p. 2110-2116, 1995.

SILVA, D. X.; ZUNIGA, A. D.-. Evaluation of the electro-catalytic oxidation of ascorbic acid, using a platinum electrode modified with poly-3-methylthiophene. *Enciclopédia Biosfera* , 8 (14), p. 1924-1941, 2012.

SILVA, R. B.; WOLQUIND, C. S.; SILVA, F. S.; PORTO, A. G.; CARVALHO, F. T. Aplicação da produção mais limpa no processo de clarificação do caldo de cana para produção de açúcar. Encontro Nacional de Engenharia de Produção, Rio de Janeiro, 2008.

SINDAG - Sindicato Nacional das Indústrias de Defensivos Agrícolas. Anais do Workshop: Mercado Brasileiro de Fitossanitários; Avaliação da Exposição de Misturadores, Abastecedores e Aplicadores de Agrotóxicos. Brasília, 2009.

SINDAG -Sindicato Nacional das Indústrias de Defensivos Agrícolas. Dados de produção e consumo de agrotóxicos. Disponível em: <[www.sindag.com.br](http://www.sindag.com.br)>. Acesso em: maio de 2012.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica. 8ª ed. São Paulo:THOMSON, 2006.

SOARES, G. B. Desenvolvimento de método eletroanalíticos para determinação de diuron e ametrina e estudos de sorção em solos sob mata e cana-de-açúcar. Dissertação (mestrado em química), 189 f. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2009.

SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TOLEDO, R. A., PEDROSA, V. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: Aplicações. *Química Nova* , 27 (5), p. 790-797, 2004.

SOUZA, D.; MACHADO, S. A.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspctos teóricos. *Química Nova* , 26 (1), p. 81-89, 2003.

SOUZA, J. Estudo da eficiência de alguns polieletrólitos utilizados na clarificação do caldo de cana. Dissertação (mestrado em agronomia), 101 f. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988. In: FAVERO, D. M.; Clarificação do caldo de cana-de-açúcar pelo processo de carbonatação. Dissertação (mestrado em tecnologia de alimentos), 80 f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

TFOUNI, S. A. Estudo do efeito do processamento na contaminação de cana-de-açúcar e derivados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Tese (doutorado em ciência de alimentos), 113 f. Universidade Estadual de Campinas, Campina, 2005.

TODD, G. C.; GILBSON, W. R.; KEHR, C. C. Oral toxicity of tebuthiuron (1-(5-tert-butyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-1,3-dimethylurea) in experimental animals. *Food and Cosmetics Toxicology*, 12, p. 461–470, 1974.

TOFOLI, G. Deposição e lixiviação do herbicida tebuthiuron em palha de cana-de-açúcar. Tese (doutorado em agronomia), 62 f. Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

TOLEDO, R. A. Estudo eletroquímico e desenvolvimento de novas metodologias eletroanalíticas para determinação de antidepressivos tricíclicos e neurotransmissores. Tese (doutorado em ciências), 172 f. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

U.S. EPA - United States Environmental Protection Agency. Office of pesticide program, registration eligibility decision, tebuthiuron, 1994. Disponível em: <[www.epa.gov](http://www.epa.gov)>. Acesso em: Junho de 2012.

UMEBARA, T. Microfiltração de caldo de cana: caracterização do caldo permeado e retentado. Dissertação (mestrado em tecnologia de alimentos), 100 f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

UNICA - União da Indústria de Cana-de-açúcar. Disponível em: <[www.unica.com.br](http://www.unica.com.br)>. Acesso em: junho de 2012.

VASCONCELOS, J. N., Derivados da cana-de-açúcar. STAB: açúcar, álcool e subprodutos, 20 (3), p. 16-18, 2002. In: NATALINO, R. Caracterização de Açúcar Mascavo aplicando análise das componentes principais a dados espectrométricos. Dissertação (mestrado em agroquímica), 52 f. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

WALFORD, S. N. Composition of cane juice. Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association, Durban, 70, p. 265-266, 1996. In: FAVERO, D. M. Clarificação do caldo de cana-de-açúcar pelo processo de carbonatação. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), 80 f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

WALKER, J. Fundamentos de Física (Vol. 3). 8 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009.

WANG, J. Analytical Electrochemistry. 2 ed. New York: John Wiley e Sons, 2001.

WEBER, J. B. Ionization of buthidazole, VEL3510, tebuthiuron, fluridone, metribuzin, and prometry. *Weed Science*, 28 (5), p. 467-474, 1980.

WSSA - Weed Science Society of America. Herbicide Handbook of the Weed Science Society of America, 1983. In: CAUX, P.-Y.; KENT, R. A.; BERGERON, V.; WARNER, J. E.; BUSHARDA, J. Canadian Water Quality

Guidelines for Tebuthiuron. Environmental toxicology and water quality , 12, p. 61-95, 1997.