



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

EDUARDO HENRIQUE DUARTE

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ELETROANALÍTICOS  
PARA DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS E HERBICIDAS  
UTILIZANDO ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM  
BORO**

---

Londrina  
2017

EDUARDO HENRIQUE DUARTE

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ELETROANALÍTICOS  
PARA DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS E HERBICIDAS  
UTILIZANDO ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM  
BORO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado em Química – Associação Ampla UEL/UEPG/UNICENTRO, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Dr. César Ricardo Teixeira Tarley.  
Coorientadora: Dra. Elen Romão Sartori.

Londrina  
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Duarte, Eduardo Henrique.

Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para determinação de fármacos e herbicidas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro / Eduardo Henrique Duarte. - Londrina, 2017.  
112f. : il.

Orientador: César Ricardo Teixeira Tarley.

Coorientador: Elen Romão Sartori.

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, , 2017.

Inclui bibliografia.

1. antidepressivo tricíclico - Tese. 2. pré-tratamento catódico - Tese. 3. herbicidas - Tese. 4. extração em fase sólida. - Tese. I. Tarley, César Ricardo Teixeira . II. Sartori, Elen Romão . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. . IV. Título.

EDUARDO HENRIQUE DUARTE

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ELETROANALÍTICOS PARA  
DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS E HERBICIDAS UTILIZANDO  
ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado em Química – Associação Ampla UEL/UEPG/UNICENTRO, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira  
Tarley  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Sueli Pércio Quináia  
Universidade Estadual do Centro-Oeste -  
Unicentro

---

Prof. Dr. Mario Henrique Montazzoli Killner  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Roberta Antigo Medeiros  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Andressa Galli  
Universidade Estadual do Centro-Oeste -  
Unicentro

Londrina, 30 de maio de 2017

Dedico este trabalho à minha família,  
em especial aos meus pais.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley pela orientação científica, por todos os ensinamentos durante esses seis anos (dois de mestrado e quatro de doutorado), pelos conselhos construtivos (acadêmicos e pessoais), pelas oportunidades no grupo, pela paciência, amizade e por ter me apresentado o mundo científico.

A minha coorientadora Profa. Dra. Elen Romão Sartori pela co-orientação, paciência, amizade, todo auxílio no trabalho com o eletrodo de diamante dopado com boro, pelo incentivo e por todas as conversas ao longo do doutorado.

Aos meus queridos amigos de laboratório, pelo auxílio em todos os momentos necessários (experimentais e pessoais), pela amizade e pelo carinho. Obrigado a todos por me fazer sentir em família durante esses anos, em todos os dias de convívio.

Gostaria de agradecer também aos meus amigos de Londrina por esses dez anos de residência e por hoje fazerem parte da minha família, da minha vida, e por estarem presentes em todos meus sentimentos mais verdadeiros.

Agradeço também aos meus amigos de Assis/SP, Roberta, Thaís, Danilo, Fábio Morelli e Érika, por sempre acreditarem na minha capacidade, por estarem comigo em vários momentos que passei na minha vida.

A todos os professores e técnicos da Universidade Estadual de Londrina pela formação e amizade durante esses anos.

Aos meus pais, Maria A.L Duarte e João Ferreira Duarte (falecido em 2015) pelo apoio incondicional, pelo carinho e pelo exemplo de dignidade, honestidade, respeito e força para lutar, nunca desistir e seguir em frente. Aos meus dois irmãos (Fernando e Paulo) e minha irmã (Viviane) por todo o apoio, pelos desabafos e por sempre acreditarem no meu potencial.

E por fim e mais importante agradeço a Deus, por me acompanhar e me ajudar em cada momento da minha vida.

**MUITO OBRIGADO A TODOS.**

*"Confiança é essencial  
Felicidade é uma vantagem  
Ansiedade é uma pressa"*

*Britney Spears*

DUARTE, Eduardo Henrique. **Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para determinação de fármacos e herbicidas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro**. 2017. 112 f. Tese (Doutorado em química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

## RESUMO

Neste trabalho, descreve-se o desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para determinação de fármaco em amostras farmacêuticas e herbicidas em amostras ambientais. No Capítulo 1, é descrito um método voltamétrico simples e rápido para a determinação do antidepressivo amitriptilina utilizando eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB) em solução de ácido sulfúrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte. Sob condições de voltametria de pulso diferencial (VPD) otimizada (tempo de modulação de 5 ms, velocidade de varredura de  $70 \text{ mV s}^{-1}$  e amplitude de pulso 120 mV) o eletrodo proporcionou respostas lineares à amitriptilina na faixa de concentração de  $1,05$  a  $92,60 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e um limite de detecção (LD) de  $0,52 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . O método proposto foi aplicado com sucesso em formulações farmacêuticas, com resultados concordantes aos obtidos utilizando o método espectrofotométrico UV-Vis como método de referência (nível de confiança de 95%), recomendado pela Farmacopéia Brasileira. No Capítulo 2, um método sensível foi desenvolvido para a determinação simultânea dos herbicidas diuron (DI), 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e tebutiuron (TB) por EDDB pré-tratado catódicamente por VPD. Este procedimento analítico foi associado a uma etapa de pré-concentração prévia utilizando poli (vinilimidazol-trimetilolpropano trimetacrilato) como adsorvente. Em condições otimizadas para VPD (amplitude de pulso 108,42 mV, velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$  e tempo de modulação de 2 ms) em solução de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , foram obtidos excelentes limites de detecção para os herbicidas DI, 2, 4-D e TB, de  $0,035 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $0,12 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $0,34 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. O método descrito foi aplicado com sucesso em amostras de águas, e sua exatidão foi confirmada por teste de recuperação e com cromatografia líquida de alta eficiência como método de referência.

**Palavras-chave:** Antidepressivo tricíclico. Pré-tratamento catódico. Herbicidas. Extração em fase sólida.

DUARTE, Eduardo Henrique. **Development of electroanalytical methods for determination of drugs and herbicides using boron-doped diamond electrode.** 2017. 112 p. Thesis (Doctoral degree in Chemistry) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

## ABSTRACT

In this work, the development of electroanalytical methodologies for the determination of drugs in pharmaceutical samples and herbicides in environmental samples is described. In Chapter 1, a simple and reliable voltammetric method for determination of amitriptyline using a boron-doped diamond electrode in 0.1 mol L<sup>-1</sup> sulfuric acid solution as support electrolyte is described. Under optimized differential pulse voltammetry condition (modulation time of 5 ms, scan rate of 70 mV s<sup>-1</sup> and pulse amplitude of 120 mV) the electrode provided a linear responses to amitriptyline in the concentration range from 1.05 to 92.60 μmol L<sup>-1</sup> and a detection limit of 0.52 μmol L<sup>-1</sup>. The proposed method was successfully applied in the pharmaceutical formulations, whose results are in agreement to those obtained using UV-Vis spectrophotometric method as reference (at 95% confidence level) recommended by the Brazilian Pharmacopoeia. In Chapter 2, A highly sensitive method was investigated for the simultaneous determination of the herbicides diuron (DI), 2,4- dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and tebuthiuron (TB) using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode by differential pulse voltammetry (DPV). This analytical procedure was associated with a previous preconcentration step using poly(vinylimidazole-trimethylolpropane trimethacrylate) as adsorbent. Under optimized conditions for DPV (pulse amplitude of 108.42 mV, scan rate of 92.39 mV s<sup>-1</sup> and modulation time of 2 ms) in 0.1 mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution, excellent limits of detection have been achieved for the herbicides DI, 2,4-D and TB, 0.035 μmol L<sup>-1</sup>, 0.12 μmol L<sup>-1</sup> and 0.34 μmol L<sup>-1</sup>, respectively. The described method was success fully applied in samples of water, and its accuracy was confirmed by recovery test and comparison with high-performance liquid chromatography as reference method.

**Keywords:** Tricyclic antidepressant. Cathodically pretreated. Herbicides. Solid phase extraction.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Estrutura molecular da amitriptilina .....	26
<b>Figura 2.</b>	Estrutura química de DI (A), 2,4-D (B) e TB (C) .....	30
<b>Figura 3.</b>	Principais etapas empregadas na Extração em Fase Sólida, operada no modo isolamento do analito.....	33
<b>Figura 4.</b>	Esquema simplificado do mecanismo de crescimento do diamante a partir do radical metila.....	39
<b>Figura 5.</b>	Exemplo de terminação superficial do EDDB .....	40
<b>Figura 1.1.</b>	Representação da célula eletroquímica utilizada nos experimentos .....	46
<b>Figura 1.2.</b>	Imagem do eletrodo de diamante dopado com boro empregado nas determinações voltamétricas .....	47
<b>Figura 1.3.</b>	(A) Voltamogramas cíclicos obtidos empregando EDDB pré-tratado catodicamente: (a) $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e (b) $\text{AMT}$ $0,22 \text{ mmol L}^{-1}$ , velocidade de varredura $50 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Voltamograma cíclicos empregando EDDB pré-tratado catodicamente e (C) ECV: velocidade de varredura $50 \text{ mV s}^{-1}$ .....	49
<b>Figura 1.4.</b>	Voltamogramas cíclicos obtidos empregando EDDB com diferentes pré-tratamentos: (a) pré-tratamento anódico e (b) pré-tratamento catódico em $\text{AMT}$ $0,22 \text{ mmol L}^{-1}$ , $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ .....	51
<b>Figura 1.5.</b>	Mecanismo proposto para eletro-oxidação de $\text{AMT}$ em solução de ácido sulfúrico com EDDB pré-tratado catodicamente .....	53
<b>Figura 1.6.</b>	Voltamogramas cíclicos obtidos empregando EDDB pré-tratado catodicamente em solução de $\text{AMT}$ $0,22 \text{ mmol L}^{-1}$ (A) em diferentes concentrações de ácido sulfúrico: (a) $0,0001 \text{ mol L}^{-1}$ , (b) $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ , (c) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , (d) $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . (B) Influência do pH na determinação de $\text{AMT}$ (a) $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , (b) $\text{HNO}_3$ $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (c) pH 4,0, (d) pH 5,0, (e) pH 6,0, (f) pH 7,0 em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .....	54
<b>Figura 1.7.</b>	(A) Voltamogramas cíclicos obtidos empregando EDDB pré-tratado catodicamente em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,10 \text{ mol L}^{-1}$	

	contendo AMT 0,22 mmol L <sup>-1</sup> em diferentes velocidades de varredura, de 30 a 310 mV s <sup>-1</sup> . Inserido: dependência da linear da corrente anódica com v <sup>1/2</sup> . (B) Dependência do log da corrente anódica com log v para AMT .....	56
<b>Figura 1. 8.</b>	(A) Cronoamperograma de I <sub>pa</sub> (μA) vs tempo (s) empregando EDDB pré-tratado catodicamente em solução de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,10 mol L <sup>-1</sup> contendo AMT em diferentes concentrações (25,20 μmol L <sup>-1</sup> a 198,20 μmol L <sup>-1</sup> ); t =60s e E <sub>a</sub> = 1,35 V. (B) Correlação de I <sub>pa</sub> (μA) vs t <sup>1/2</sup> obtidos dos cronoamperogramas variando concentrações de 25,20 μmol L <sup>-1</sup> a 198,20 μmol L <sup>-1</sup> de AMT .....	58
<b>Figura 1. 9.</b>	(A) Voltamograma de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0,10 mol L <sup>-1</sup> ), variando a concentração de AMT em 1,05 μmol L <sup>-1</sup> a 92,60 μmol L <sup>-1</sup> . Tempo de modulação 5 ms; Velocidade de varredura 70 mV s <sup>-1</sup> ; Amplitude de pulso 120 mV. (B) Correlação de I <sub>pa</sub> vs [AMT], LD de 0,52 μmol L <sup>-1</sup> (Sb/N = 3) (C) Voltamograma de onda quadrada empregando EDDB com pré-tratamento catódico em H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0,10 mol L <sup>-1</sup> ), variando a concentração de AMT em 20,00 μmol L <sup>-1</sup> a 200,00 μmol L <sup>-1</sup> . Frequência 120 Hz; Incremento de varredura 4 mV; Amplitude de pulso 40 mV. (D) Correlação de I <sub>pa</sub> vs [AMT], LD de 12,40 μmol L <sup>-1</sup> (Sb/N = 3) .....	60
<b>Figura 2.1</b>	Proposta de mecanismo para a síntese do polímero de PVI.....	70
<b>Figura 2.2.</b>	Sistema <i>manifold</i> a vácuo para SPE na pré- concentração dos herbicidas DI, 2,4-D e TB .....	71
<b>Figura 2. 3.</b>	Voltamogramas cíclicos obtidos empregando o EDDB (área geométrica = 0,24 cm <sup>2</sup> ) com pré- tratamento catódico (-0,5 A cm <sup>-2</sup> ) H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,10 mol L <sup>-1</sup> , velocidade de varredura de 50 mV s <sup>-1</sup> . (A) em solução de DI 200,00 μmol L <sup>-1</sup> (B) 2,4-D 200,00 μmol L <sup>-1</sup> (C) TB 400,00 μmol L <sup>-1</sup> .....	73
<b>Figura 2. 4.</b>	(A) Voltamogramas cíclicos obtidos empregando o EDDB (área geométrica = 0,24 cm <sup>2</sup> ) com diferentes pré tratamentos	

	(a) catódico e (b) anódico em soluções de DI 200,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 2,4 -D 200,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e TB 400,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ . $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0,10 $\text{mol L}^{-1}$ , velocidade de varredura de 50 $\text{mV s}^{-1}$ .....	74
<b>Figura 2. 5.</b>	Voltamogramas cíclicos obtidos empregando o EDDB (área geométrica = 0,24 $\text{cm}^2$ ) com pré-tratamento catódico em solução DI 200,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 2,4 -D 200,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e TB 400,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de eletrólitos em concentrações iguais de 0,1 $\text{mol L}^{-1}$ . (A) ácido sulfúrico (a), ácido perclórico (b). (B) nitrato de sódio (a), tampão acetato/ácido acético(b), tampão BR(c) .....	75
<b>Figura 2. 6.</b>	Voltamogramas cíclicos obtidos empregando o EDDB (área geométrica = 0,24 $\text{cm}^2$ ) com pré-tratamento catódico em solução DI 200,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 2,4 -D 200,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e TB 400,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ variando as concentrações de $\text{H}_2\text{SO}_4$ . (A) 0,001 $\text{mol L}^{-1}$ (a), 0,01 $\text{mol L}^{-1}$ (b). (B) 0,10 $\text{mol L}^{-1}$ (a), 0,30 $\text{mol L}^{-1}$ (b) 0,50 $\text{mol L}^{-1}$ (c); velocidade de varredura 50 $\text{mV s}^{-1}$ .....	76
<b>Figura 2.7.</b>	Voltamogramas cíclicos obtidos empregando EDDB pré-tratado catodicamente em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0,10 $\text{mol L}^{-1}$ contendo (A) DI 200,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (B) 2,4 -D 200,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (C) TB 400,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura, de 10 a 100 $\text{mV s}^{-1}$ . (Gráfico inserido) Dependência da linear da corrente anódica com $v^{1/2}$ .....	78
<b>Figura 2. 8.</b>	Dependência do Log da corrente anódica com Log v (A) DI (B) 2,4-D (C) TB .....	79
<b>Figura 2. 9.</b>	Cronoamperograma de $I_{pa}$ ( $\mu\text{A}$ ) vs tempo (s) empregando EDDB pré-tratado catodicamente em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0,10 $\text{mol L}^{-1}$ contendo DI(A); 2,4-D (B); TB(C) em diferentes concentrações (40,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 160,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) .....	81
<b>Figura 2. 10.</b>	Gráficos de $I_{pa}$ ( $\mu\text{A}$ ) vs $t^{-1/2}$ obtidos dos cronoamperogramas de DI(A); 2,4-D (B); TB (C) .....	82
<b>Figura 2. 11.</b>	Diagrama de desejabilidade das respostas obtidas no planejamento fatorial no intervalo de confiança de 95% .....	87

- Figura 2. 12.** Voltamogramas de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ), variando a concentração de DI e 2,4-D em  $10,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $80,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e TB de  $50,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $225,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Tempo de modulação 2 ms; Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,42 \text{ mV}$  .....88
- Figura 2. 13.** (A) Curva analítica para o DI; (B) 2,4-D; (C) TB. Tempo de modulação 2 ms; Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,42 \text{ mV}$ .  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) .....89
- Figura 2. 14.** Voltamogramas de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ). (A) variando a concentração de DI em  $10,00$  a  $80,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e fixo  $10,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de 2,4-D e  $50,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  TB. (B) 2,4-D em  $10,00$  a  $80,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e fixo  $10,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de DI e  $50,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  TB. (C) variando a concentração de TB em  $50,00$  a  $225,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e fixo  $10,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de DI e 2,4-D. (gráfico inserido Ipa vs [Herbicidas]). Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,4 \text{ mV}$ ; tempos de modulação 2 ms.....92
- Figura 2. 15.** Voltamogramas de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ); Na presença de AH  $5 \text{ mg L}^{-1}$  e DI e 2,4-D ( $10,00$  e  $20,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ), TB  $50,00$  e  $75,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,4 \text{ mV}$ ; tempo de modulação 2ms.....94
- Figura 2. 16.** Voltamogramas de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ); variando a concentração de CRB de  $20,00$  a  $80,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e fixo  $20,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de DI e 2,4-D, TB  $75,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,4 \text{ mV}$ ; tempo de modulação 2 ms .....95
- Figura 2. 17.** Efeito do pH na retenção dos herbicidas no polímero .....97
- Figura 2. 18.** Voltamogramas de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ), variando a

concentração de DI e 2,4-D em 1,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  a 9,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e TB de 2,50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  a 25,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Tempo de modulação 2 ms; Velocidade de varredura 92,39  $\text{mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso 108,42 mV; tempo de modulação 2 ms.....98

**Figura 2. 19.** (A) Curva analítica para DI; (B) 2,4-D; (C) TB. Tempo de modulação 2 ms; Velocidade de varredura 92,39  $\text{mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso 108,42 mV; tempo de modulação 4 ms.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,10  $\text{mol L}^{-1}$ ).....99

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.1</b>	Parâmetros analíticos para a determinação voltamétrica de AMT por VPD e VOQ, usando EDDB pré-tratado catodicamente .....	59
<b>Tabela 1.2</b>	Comparação do método proposto com outros métodos eletroquímicos reportados na literatura.....	62
<b>Tabela 1.3</b>	Precisão e exatidão do método para a determinação de amitriptilina (AMT) utilizando EDDB com PTC.....	63
<b>Tabela 1.4</b>	Determinação de amitriptilina (AMT) em formulações farmacêuticas pelo método voltamétrico de pulso diferencial (VPD), usando EDDB com pré-tratamento catódico, e pelo método espectroscópico de referência .....	65
<b>Tabela 2.1</b>	Matriz de Doehlert utilizada para otimização das variáveis da técnica de voltametria de pulso diferencial .....	86
<b>Tabela 2.2</b>	Precisão e exatidão do método para determinação dos herbicidas DI, 2,4-D e TB utilizando o EDDB.....	91
<b>Tabela 2.3</b>	Comparação do método proposto com outros métodos eletroquímicos reportados na literatura em $\mu\text{mol L}^{-1}$ .....	101
<b>Tabela 2.4</b>	Precisão e exatidão do método para determinação dos herbicidas DI, 2,4-D e TB utilizando o EDDB com a etapa SPE.....	102
<b>Tabela 2.5</b>	Determinação de DI, 2,4-D e TB em amostras de água de efluente por sensor voltamétrico (EDDB) acoplado com SPE utilizando como adsorvente PVI e método de referência (HPLC).....	103

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EDDB	Eletrodo de Diamante Dopado com Boro
AMT	Amitriptilina
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, High Performance Liquid Chromatography)
ADTs	Antidepressivos tricíclicos
FIA	Análise por injeção em fluxo
EPNTC	Eletrodo de pasta de nonotubos de carbono
VPD	voltametria de pulso diferencial
VOQ	voltametria de onda quadrada
DI	Diuron
2,4-D	ácido diclorofenoxiácetico
TB	Tebutiuron
SPE	Extração em fase sólida (do inglês, Solid Phase Extraction)
PVI	polímero de poli(vinilimidazol) reticulado com trimetilpropano trimetaacrilato
EPC	Eletrodo de pasta de carbono
ECV	Eletrodo de carbono vítreo
PTA	Pré tratamento anódico
PTC	Pré tratamento catódico
LD	Limites de detecção
LQ	Limites de quantificação

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	21
1. Revisão bibliográfica .....	23
1.1. Amitriptilina .....	23
1.1.2. Determinação voltamétrica para amitriptilina .....	26
1.2. Herbicidas .....	27
1.2.1. Extração em fase solida (SPE) .....	30
1.2.2. Determinação voltamétrica dos herbicidas Di, 2,4-D e TB .....	33
1.3. Eletrodo de Diamante Dopado com Boro .....	35
<b>CAPITULO 1 – DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE AMITRIPTILINA EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS COM EMPREGO DE ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO PRÉ-TRATADO CATODICAMENTE</b> .....	41
1. 2- Objetivo Geral .....	42
1. 2. 1- Objetivos específicos .....	42
1. 3- PARTE EXPERIMENTAL .....	43
1. 3. 1- Reagentes e soluções .....	43
1. 3. 2- Instrumentação .....	43
1. 3. 3- Preparo das amostras .....	45
1. 4- RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	46
1. 4. 1- Estudo eletroquímico de AMT .....	46
1. 4. 2- Estudo do efeito da concentração e tipo de eletrólito suporte .....	50
1. 4. 3- Estudos da velocidade de varredura e da sua influencia no processo de oxidação da AMT .....	52
1. 4. 4- Escolha da técnica analítica e validação do método proposto para determinação de AMT .....	56
1. 4. 5- Aplicação do método em formulações farmacêuticas .....	61
<b>CONCLUSÃO</b> .....	63

<b>CAPITULO 2 – DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS HERBICIDAS DIURON, 2,4-D E TEBUTIURON COM ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO APÓS ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA .....</b>	<b>64</b>
<b>2. 1- Objetivo Geral .....</b>	<b>65</b>
<b>2. 1. 1- Objetivos específicos .....</b>	<b>65</b>
<b>2. 2- PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>65</b>
<b>2. 2. 1- Reagentes e soluções .....</b>	<b>66</b>
<b>2. 2. 2- Instrumentação .....</b>	<b>66</b>
<b>2. 2. 3- Etapa de pré-concentração .....</b>	<b>67</b>
<b>2. 2. 4- Preparo de amostras .....</b>	<b>68</b>
<b>2. 3- RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>69</b>
<b>2. 3. 1- Estudos do comportamento eletroquímico dos herbicidas sobre o EDDB .....</b>	<b>69</b>
<b>2. 3. 2- Estudos do efeito do pré-tratamento anódico e catódico sobre o comportamento eletroquímico do EDDB .....</b>	<b>71</b>
<b>2. 3. 3- Efeitos do eletrólito e sua concentração na oxidação dos herbicidas .....</b>	<b>72</b>
<b>2. 3. 4- Efeitos da velocidade de varredura na oxidação dos herbicidas .....</b>	<b>74</b>
<b>2. 3. 5- Determinações do coeficiente de difusão de diuron, 2,4-D e tebutiuron .....</b>	<b>77</b>
<b>2. 3. 6- Otimização das condições voltamétricas e curva analítica .....</b>	<b>80</b>
<b>2. 3. 7- Estudos de Interferentes .....</b>	<b>89</b>
<b>2. 3. 8- Estudos dos parâmetros de pré-concentração dos herbicidas e curva analítica .....</b>	<b>91</b>
<b>Conclusão .....</b>	<b>105</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>106</b>
<b>CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>112</b>

## INTRODUÇÃO

A química analítica envolve um conjunto de técnicas e métodos que propõem determinar e quantificar a composição de amostras de diferentes origens (farmacológicas, ambientais, alimentícias, biológicas, geológicas etc.). A busca por seletividade, rapidez, custo reduzido e sensibilidade ainda é um desafio para novos métodos analíticos. Segundo uma definição didática do livro *Analytical Chemistry*<sup>1</sup>, os métodos analíticos a serem desenvolvidos são esboçados por um diagrama de fluxo, que no final se tornará um ciclo com a seguinte sequência:

- Identificação dos problemas;
- Procedimento experimental;
- Condução dos experimentos e encontrar dados;
- Explorar os dados experimentais encontrados;
- Propor a solução dos problemas;

Neste sentido, esta tese tem como principal ênfase e motivação explorar as potencialidades do Eletrodo de Diamante Dopado com Boro (EDDB) na determinação de fármacos em amostras de medicamentos e herbicidas amostras de águas, respectivamente. A determinação de princípios ativos em medicamentos requer seletividade, precisão e rapidez. No caso dos herbicidas, em função das matrizes ambientais serem mais complexas e dos níveis de concentração dos herbicidas serem substancialmente baixos, procedimentos eletroanalíticos com maior sensibilidade são necessários. Neste sentido, a associação da etapa de pré-concentração com a detecção eletroquímica se mostra como uma alternativa para suprir estes problemas, pois permite aumentar o poder de detecção do método, além de excluir possíveis interferentes presentes nas matrizes.

O controle de qualidade de medicamentos está associado à determinação de princípios ativos formulações farmacêuticas, como por exemplo, os antidepressivos. O consumo destas substâncias cresceu consideravelmente ao longo da última década, o que contribuiu em relatos sobre aumento da incidência de intoxicação (superdosagem) em tentativas de suicídios.<sup>2-3</sup> Assim sendo, as quantidades referenciadas e indicadas nos rótulos dos medicamentos devem estar de acordo com a dosagem de cada princípio ativo presente nos medicamentos. Dentre os antidepressivos, a amitriptilina (AMT), pertencente à classe dos tricíclicos, amplamente prescrita em casos de depressão<sup>4</sup> em doses inferiores a 50 mg por dia,

pode ser empregada como analgésico, já que este fármaco foi primeiramente prescrito para casos de analgesia e não como antidepressivo.

Doses excessivas de AMT, ou seja, acima do prescrito pelo clínico ou valores incorretos do princípio ativo no rótulo do medicamento, podem ser nocivas à saúde, seja causando confusão mental, alucinações visuais transitórias, rigidez muscular, hipotermia e sonolência, ou até mesmo óbito em certas circunstâncias.<sup>5,6</sup> Desta forma, constata-se a importância do monitoramento de AMT em formulações farmacêuticas, com a finalidade de garantir a qualidade dos medicamentos liberados para o consumo da população.

No tocante à determinação de pesticidas em amostras ambientais, ela apresenta desafios analíticos ainda maiores em face das baixas concentrações desses compostos nas matrizes. Quando presentes no solo ou em águas de rios, esses compostos químicos causam toxicidade aguda e crônica, afetando peixes, aves e até mesmo o ser humano, causando graves doenças. No Brasil, entre os pesticidas, 56% são constituídos de herbicidas, considerando a expressiva atividade agrícola, como por exemplo, da cana de açúcar, com a alta produção de açúcar e álcool combustível (etanol), alternativa renovável para combustíveis fósseis.<sup>7</sup> Neste e em outros cultivos, podem ser utilizados três herbicidas, como o diuron (DI), 2,4-D e tebutiuron (TB), aplicados no tratamento e manutenção do solo.

Os herbicidas são inseridos nos cultivos agrícolas com a finalidade combater plantas daninhas, pois a absorção das plantas ocorre pelo sistema radicular, que leva o produto do caule para as folhas através do sistema vascular de transpiração, interrompendo o crescimento dessas plantas indesejáveis<sup>8</sup>. O crescimento desordenado das ervas daninhas resulta em prejuízos de grande porte para as plantações agrícolas. Apesar de ser prática comum, o emprego crescente de herbicidas, sobretudo sem controle, resulta em problemas de poluição ambiental em sistemas aquáticos naturais devido às propriedades de toxicidade e bioacumulação.

<sup>9,10</sup> Assim sendo, existe uma preocupação com a presença destes compostos no meio ambiente, principalmente quando relacionados à saúde humana. Por esse motivo, órgãos de regulamentações estipulam valores máximos permitidos em águas potáveis (qualidade suficiente para ser consumida), entre os quais se destacam a Agência de Proteção Ambiental Americana, nos Estados Unidos da América (USEPA, United States Environmental Protection Agency)<sup>11</sup> e o Conselho Nacional

do Meio Ambiente (CONAMA)<sup>12</sup>, no Brasil. Estas agências ambientais são responsáveis por regulamentações de substâncias nocivas à saúde humana e ao meio ambiente, incluindo pesticidas<sup>13,14</sup>, sendo estes a maior fonte de contaminação de água potável.<sup>15</sup>

Diante do exposto, a determinação do teor de fármacos em formulações farmacêuticas e de compostos agrícolas, tais como herbicidas em amostras ambientais<sup>16-20</sup>, são justificadas pelo consumo elevado de medicamentos e pelo uso descontrolado de produtos químicos na agricultura. Sendo assim, procedimentos analíticos adequados que possibilitem resultados seletivos, precisos, rápidos, simples, de baixo custo e que de preferência se coadunem com o conceito de Química Verde são cada vez mais recomendados para as Ciências Analíticas.

A determinação analítica de AMT em medicamentos pode ser realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), por métodos espectrofotométricos e por voltametria. Entretanto, a HPLC possui custos elevados e os métodos espectrofotométricos exploram reações com oxidantes fortes ou condições acentuadamente ácidas, ao passo que com a voltametria há poucos trabalhos realizados em função da baixa eletroatividade da molécula, o que requer modificações dos eletrodos.

No caso dos herbicidas DI, 2,4-D e TB, entre outros pesticidas presentes em cultivos agrícolas, a HPLC é a técnica mais utilizada no monitoramento em amostras ambientais. Porém, como já mencionado acima, ela apresenta uma metodologia de alto custo. Trabalhos voltamétricos são reportados na literatura com a finalidade de obter metodologias de menor custo, contudo, os trabalhos encontrados apresentam determinações individuais e, na sua maioria, com modificações superficiais dos eletrodos de trabalho devido ao alto potencial de oxidação destes herbicidas. Além do mais, a determinação simultânea destes três herbicidas é inexistente nos periódicos já publicados. As técnicas voltamétricas se destacam como alternativa para novas metodologias analíticas<sup>21</sup> pois apresentam vantagens significativas, como maior simplicidade, rapidez nas análises, alta sensibilidade, preparo de amostras simples e baixo custo. Na literatura encontra-se uma vasta aplicabilidade desta técnica em vários tipos de amostras, como por exemplo, em fluidos biológicos, soro sanguíneo, amostras de urina, medicamentos comerciais e amostras ambientais.<sup>22-28</sup>

O eletrodo de trabalho utilizado em metodologias voltamétricas é de grande importância para explorar o desenvolvimento de novas metodologias. Diante disso, podem-se destacar alguns eletrodos convencionais, como o eletrodo de mercúrio, carbono vítreo, eletrodos a base de grafite e nanotubos de carbono (seja em pastas ou dispersos nas superfícies dos eletrodos). Todavia, em muitas metodologias esses eletrodos são modificados com polímeros ou outros materiais com o intuito de torná-los mais seletivos e também obter maiores sensibilidades.

Neste sentido, o eletrodo explorado neste trabalho foi o de diamante dopado com boro (EDDB), pois ele tem se mostrado satisfatório nas análises de diversas amostras. O EDDB apresenta características mecânicas superiores aos eletrodos convencionais, se destacando principalmente pela ampla faixa de potencial em meio aquoso (-1,5 a +3,0 V vs Ag/AgCl),<sup>29-32</sup> característica fundamental para determinações dos analitos investigados nesta tese, principalmente os herbicidas. Além disso, destaca-se a simplicidade e a ausência da modificação na superfície do eletrodo em destaque, o que foi essencial para determinação das moléculas de AMT e dos herbicidas DI, 2,4-D e TB.

Com base no desenvolvimento de métodos analíticos e nas informações supracitadas, esta tese de Doutorado em Química tem como objetivo geral explorar as potencialidades do EDDB para determinação de fármacos e herbicidas e é dividida em dois capítulos. No Capítulo 1, o EDDB foi empregado na determinação voltamétrica do fármaco antidepressivo tricíclico amitriptilina em diferentes amostras de formulações farmacêuticas comerciais utilizando como eletrólito suporte o ácido sulfúrico 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

Já no Capítulo 2, foi desenvolvido um novo método eletroanalítico para determinação simultânea dos herbicidas Diuron, 2,4-D e Tebutiuron em amostras de águas (lagos e poço artesanal) por voltametria de pulso diferencial utilizando o EDDB pré-tratado catódicamente associado a uma etapa de pré-concentração por extração em fase sólida, que foi inserida com a finalidade de atingir uma maior detectabilidade para o método. Como adsorvente foi adotado o polímero de polivinilimidazol (PVI) reticulado com trimetilpropano trimetacrilato (TRIM), que foi sintetizado previamente pelo nosso grupo de pesquisa e apresentou uma excepcional capacidade adsortiva para o herbicida tebutiuron.<sup>33</sup>

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Harvey, David. *Modern analytical chemistry*. Vol. 381. New York: McGraw-Hill, 2000.
2. Frey R.; Schreinzer D.; Stimpfl T.; Vycudilik W.; Berzlanovich A.; Kasper S.; *Eur Neuropsychoph.* **2000**, *10*, 133.
3. Moreno, R. A.; Moreno, D. H.; Soares. M. B.; *Rev Bras Psiquiatr.* **1999**, *21*, 24.
4. Ali, M. S.; Rub, M. A.; Khan, F.; Al-Lohedan, H. A.; Kabir-ud-Din.; *J. Mol. Liq.* **2012**, *167*, 115.
5. Silveira, G.; Tarley, C. R. T.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 1653.
6. Sudoh, Y.; Desai, S. P.; Haderer, A. H.; Sudoh, S.; Gerner, P.; Anthony, D. C.; De Girolami, U.; Wang, G. W.; *Region. Anesth. Pain. M.* **2004**, *5*, 440.
7. Carolina Lourencetti,C.; Marchi, M. R. R.; Ribeiro, M, L.; *Talanta.* **2008**, *77*, 709.
8. Sorensen, S. R.; Albers, C. N.; Aamand, J.; *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**,*74*, 240.
9. Bortoletto, A. M.; Alcarde, A. R.; *Food Control* **2015**, *54*, 6.
10. Rezende, E. I. P.; Peralta-Zamora, P. G.; Abate, G.; *Quim. Nova*, **2011**, *34*, 27.
11. USEPA, National primary drinking water standards, maximum contaminant level, United States Environmental Protection Agency Office of Water.<http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm#List>. (acessado em 31/01/2017)
12. CONAMA, Conselho nacional do meio ambiente, 2005. <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>. (acessado em 31/01/2017)
13. Santana,C.M.; Ferrera, Z.S. M.; Padrón, E.T.; Rodríguez, J.J.S. *Molecules* **2009**, *14*, 320.
14. Komatsu, E.; Vaz, J. M. *Quím. Nova* **2004**, *27*, 724.
15. Lagaly, G. *Appl. Clay Sci.* **2001**, *18*, 209.
16. Nojavan,S.; Khalilian, F.; Kiaie, F. M.; Rahimi, A.; Arabanian, A.; Chalavi, S.; J. *Food Composition Anal.* **2008**, *21*, 300.
17. Yamato, S.; Nakagawa, S.; Yamazaki, N.; Aketo, T.; Tachikaw, E.; *J. Chromatogr., B.* **2010**, *878*, 3358.
18. Jham, G. N.; Muller, H. V.; Cecon, P.; *J. Stored Prod. Res.* **2008**, *44*, 82.
19. Perrone, D.; Donangelo, C. M.; Farah, A.; *Food Chem.* **2008**, *110*, 1030.

20. Silveira, G.; Tarley, C. R. T.; *Quim. Nova* **2008**, 31, 1653.
- 21- Manisankar, P.; Vedhi, C.; Selvanathan, G.; *Applied clay science*, **2005**, 29, 249.
22. Brondani, D.; Scheeren, C. W.; Dupont, J.; Vieira, I. C.; *Sens. Actuators, B.* **2009**, 140, 252.
23. França, R. F.; Oliveira, H. P. M.; Pedrosa, V. A.; Codognoto, L.; *Diamond Relat. Mater.* **2012**, 27, 54.
24. Galli, A.; Souza, D.; Garbellini, G. S.; Coutinho, C. F. B.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; Machado, S. A. S.; *Quim. Nova* **2006**, 29, 105.
25. Arenas, L. T.; Villis, P. C. M.; Arguello, J.; Landers, R.; Benvenuti, E. V.; Gushikem, Y.; *Talanta* **2010**, 83, 241.
26. Chen, D.; Deng, J.; Liang, J.; Xie, Jie.; Hu, C.; Huang, K.; *Sens. Actuators, B* **2013** 183, 594.
27. Hudari, F. F.; Duarte, E. H.; Pereira, A. C.; Dall`antonia, L.H. ; Kubota, L. T. ; Tarley, C. R. T.; *J. Electroanal. Chem.* **2013**, 696, 52.
28. Duarte, E. H.; Kubota, L.T ; Tarley, C. R. T.; *Electroanalysis* **2012**, 24, 2291.
29. Azevedo, A. F.; Ferreira, N. G.; *Quim. Nova* **2006**, 1, 129.
30. Pleskov, Y. V.; Russ, J.; *Electrochem.* **2002**, 38, 1275.
31. Compton, R. G.; Foord, J. S.; Marken, F.; *Electroanalysis* **2003**, 15, 1349.
32. Swain, G. M.; Ramesham, R.; *Anal. Chem.* **1993**, 65, 345.
33. Fonseca, R. J.; Segatelli, M. G.; Borges, K. B.;, Tarley, C. R. T.; *React. Funct. Polym.* **2015**, 93,1.

## 1. Revisão bibliográfica

### 1.1. Amitriptilina

Como mencionado na Introdução desta Tese de Doutorado, a amitriplina (AMT) é um antidepressivo muito utilizado, não só em casos de depressão, mas também como analgésico. Portanto, se faz necessário um controle de qualidade nos medicamentos comercializados.

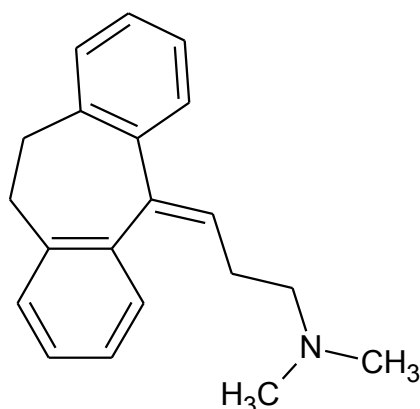
Relatos atuais mostram que mais de 120 milhões de pessoas no mundo são diagnosticadas com depressão em todas as faixas etárias, mas com maior incidência em idosos, sendo um dos grandes problemas de saúde pública. Os primeiros relatos de doenças depressivas no mundo foram diagnosticados em 1950 e os antidepressivos tricíclicos (ADTs), foram chamados de antidepressivos de primeira geração<sup>1</sup>. Esses fármacos apresentam uma melhora de 30 a 70% dos sintomas depressivos, no entanto, o tipo de medicamento deve ser prescrito de acordo com o grau de depressão (tristeza, risco de suicídio etc.). Relatos do ano de 2014 indicam que o uso dos ADTs são os mais indicados para o tratamento da depressão.<sup>2</sup>

Um relato curioso da literatura diz que a AMT pode ser utilizada em caso de prevenção da dor fantasma. Assim, ele é prescrito para pacientes que possuam algum membro do corpo amputado, já que é frequente que aqueles que retiraram uma perna, por exemplo, sintam dor no local. Ademais, o consumo de AMT impede o transporte neuronal e o bloqueio do transporte de serotonina nas vias supressoras.<sup>3</sup> O uso descontrolado de antidepressivos pode causar efeitos bastante nocivos, inclusive a fetos, provocados pelo seu uso durante a gestação. Isso ocorre, pois a depressão durante a gravidez acomete de 7 a 13% das gestantes do mundo, podendo ocasionar abortos, ou, caso a criança nasça, síndrome de abstinência neonatal ou doença pulmonar<sup>4</sup>

Os ADTs possuem este nome devido sua estrutura molecular, a qual apresenta três anéis característicos interligados, com uma cadeia lateral de três átomos de carbono com um grupo amina terminal a partir do anel central. A estrutura molecular da AMT, alvo de estudo nesta Tese, é apresentada na Figura 1. Os ADTs são divididos em dois grandes grupos: das aminas terciárias (imipramina,

amitriptilina, trimipramina e doxepina) e as aminas secundárias (desmetilimipramina, nortriplina e protiptilina).<sup>5</sup>

**Figura 1.** Estrutura molecular da amitriptilina



Fonte: próprio autor

Comumente, os métodos oficiais para determinação de fármacos estão descritos nas farmacopeias. Para a determinação de AMT, a Farmacopeia Americana emprega a HPLC ou a titulação com ácido perclórico.<sup>6,7</sup> Já a Farmacopeia Brasileira descreve o método espectrofotométrico na região UV para a dosagem de AMT em formulações farmacêuticas.<sup>8</sup>

O trabalho mais recente para determinação dos ADTs foi publicado na literatura por Zare, F *et al.*, baseado na pré-concentração dos antidepressivos AMT e nortriptilina em nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@ZrO<sub>2</sub>@N-cetilpiridina, com posterior determinação por HPLC-UV, obtendo limites de detecção de 0,04 e 0,008 ng mL<sup>-1</sup> para AMT e nortriptilina, respectivamente.<sup>9</sup>

Outros métodos espectrofotométricos também foram desenvolvidos para a quantificação de antidepressivos tricíclicos. No trabalho de Misiuk *et al.*,<sup>10</sup> foi utilizado o metavanadato de amônio como agente oxidante para determinação de imipramina e desipramina, sendo aplicado em amostras de fármacos comerciais. Em outro trabalho,<sup>11</sup> utilizando a espectrofotometria, descreve-se a determinação de trazodona, amineptina e AMT em formulações farmacêuticas de diferentes procedências. Neste trabalho, a estratégia utilizada foi a metodologia de transferência de carga da reação entre os antidepressivos (doadores de elétrons) e o reagente 7,7,8,8-tetracianoquinodimetano (receptor de elétrons), formando um

complexo de cor verde intensa, o qual foi medido em um comprimento de onda de 842 nm.

A quimiluminescência também foi empregada para a quantificação de AMT e de outros antidepressivos tricíclicos (doxepina, nortriptilina, promazina, clorpromazina, imipramina, clomipramina, desipramina, protriptilina e trimipramina).<sup>12</sup> Os mecanismos de reação desta técnica são baseados na reação entre o tris-(2,2-bipiridil) rutênio (II)  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}]$  e a amina terciária do grupo dos antidepressivos. No entanto, apenas para a doxepina foi desenvolvido um procedimento analítico e aplicado em amostras farmacêuticas. Em outro trabalho, é descrito um método condutométrico para a determinação de AMT, dotiepinina e tranilcipromina, obtendo-se 96,25 a 104,90; 95,75 a 103,12 e 97,90 a 102,30% de recuperação quando aplicados em formulações farmacêuticas de diferentes procedências (comprimidos).

13

Ainda, pode ser constatada na literatura a determinação de AMT empregando análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção potenciométrica,<sup>14</sup> utilizando um eletrodo indicador de íon seletivo construído a partir da formação de filmes de AMT e ácido fosfomolibdico ou AMT e ácido fosfotúngstico em cloreto de polivinila. Em outra determinação de AMT, foi utilizado a turbidimetria em sistema FIA, empregando o surfactante aniônico lauril sulfato de sódio, que confere a formação do par iônico AMT- surfactante, sob medidas no comprimento de onda de 410 nm.<sup>6</sup> Também foi reportada na literatura a determinação de seis antidepressivos tricíclicos por cromatografia líquida de alta eficiência associado ao sistema FIA com detecção eletroquímica, utilizando um eletrodo de diamante dopado com boro.<sup>15</sup> Neste trabalho, apenas os antidepressivos desipramina e imipramina foram determinados em amostras reais de plasma sanguíneo, obtendo recuperações de 92,3% e 90,8%, respectivamente.

Com base nas recomendações das farmacopeias mundiais, métodos analíticos explorando técnicas cromatográficas e espectrofotométricas são bastante empregadas no controle de qualidade de medicamentos farmacêuticos, contudo, podem-se observar metodologias de alto custo e que na maioria das vezes necessitam de modificadores químicos para suas determinações.

### 1.1.2. Determinação voltamétrica para amitriptilina

Na literatura é reportado o desenvolvimento de métodos voltamétricos para determinação de AMT.<sup>16-19</sup> Dentre eles, no trabalho de Toledo *et al.*<sup>16</sup> realiza-se um estudo eletroquímico e químico-quântico da AMT sobre um eletrodo de trabalho de pasta de grafite modificado com poliuretana. Os autores observaram que a oxidação irreversível de AMT ocorre em potencial de 830 mV vs Ag/AgCl, sendo a reação controlada pela adsorção do reagente e produto no eletrodo.

Ferancová *et al.*<sup>17</sup> propuseram o desenvolvimento de um sensor de carbono impresso modificado com  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CDP) e carboximetilado- $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CDPA) para a determinação de AMT. Nesse trabalho, empregou-se pré-concentração da AMT na superfície do eletrodo, seguido da determinação por voltametria de pulso diferencial. O filme modificador  $\beta$ -CDPA apresentou um melhor desempenho quando comparado com o  $\beta$ -CDP. Biryol *et al.*<sup>18</sup> utilizaram um eletrodo de pasta de carbono modificado com poli (*N*-vinilimidazol) para a determinação de imipramina e AMT em formulações farmacêuticas. Neste estudo, foi observado que a presença do modificador na pasta de carbono fornece um ganho de intensidade de sinal analítico em relação ao eletrodo sem modificação. As análises foram realizadas em solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, com uma linearidade de 1,0 x 10<sup>-5</sup> a 1,0 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> por voltametria cíclica a 100 mV s<sup>-1</sup>, sendo aplicado na determinação de AMT em produtos farmacêuticos. Recentemente, um sensor eletroquímico baseado no compósito grafite/SiO<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/DNA foi desenvolvido para determinação voltamétrica de AMT em formulação farmacêutica, obtendo um limite de detecção de 0,12  $\mu$ mol L<sup>-1</sup>.<sup>19</sup>

O trabalho voltamétrico mais recente para a determinação de AMT é baseado em eletrodo de ouro modificado superficialmente com uma mistura de nanopartículas deste material com derivado de polietilenoimina, com posterior aplicação de Nafion® 5%. Nesse estudo foi possível observar um pico de oxidação por volta de 1,20V, apresentado limites de detecção de 0,034  $\mu$ mol L<sup>-1</sup> e aplicados com sucesso em amostras farmacêuticas.<sup>20</sup>

Cabe salientar que, apesar das vantagens inerentes dos métodos voltamétricos referentes à simplicidade, baixo custo e sensibilidade, todos os métodos supracitados necessitam de prévia modificação de eletrodos base (grafite ou carbono impresso) para viabilizar a determinação de AMT devido à difícil

eletroatividade deste fármaco. Adicionalmente, a aplicabilidade destes métodos em formulações farmacêuticas tem sido pouco explorada na literatura, revelando que estudos concernentes ao desenvolvimento, aplicação e validação de métodos voltamétricos dirigidos à determinação de AMT ainda são incipientes.

Como pode ser constatada, a maioria dos métodos voltamétricos orientados à determinação de AMT requer procedimentos de modificação da superfície dos materiais eletródicos, o que implica em maior habilidade por parte do analista e, ainda, os sensores eletroquímicos usualmente não apresentam elevado tempo de vida e medidas com elevada precisão. Neste sentido, constata-se que métodos voltamétricos mais simples de serem implementados para determinação de AMT ainda são incipientes e merecem ser objeto de estudo. No grupo de pesquisa LADEMA (Laboratório de desenvolvimento de métodos analíticos) tem procurado desenvolver métodos eletroanalíticos com este propósito para determinação de fármacos, como o trabalho publicado por Duarte *et al.* Neste trabalho uma metodologia foi desenvolvida baseada em eletrodo de pasta nanotubos de carbono (EPNTC) para a determinação de AMT em meio de ácido sulfúrico, rendendo limites de detecção de  $1,61 \mu\text{mol L}^{-1}$ , e aplicado em amostras farmacêuticas de marcas e dosagens diferentes.<sup>21</sup>

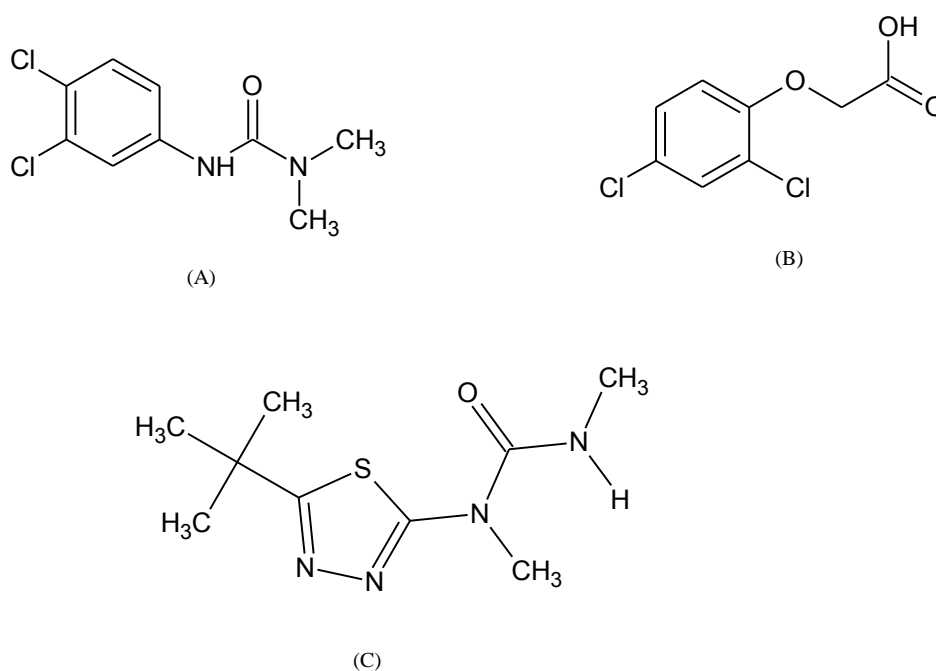
Mediante o exposto, no Capítulo 1 desta tese será apresentado os resultados relativos ao desenvolvimento de um método eletroanalítico por voltametria de pulso diferencial (VPD) utilizando um EDDB para a determinação do antidepressivo tricíclico AMT em amostras farmacêuticas explorando medidas em meio ácido ( $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). O EDDB tem-se mostrado adequado nas análises de amostras ambientais, biológicas e principalmente farmacêuticas,<sup>22-24</sup> devido as suas características mecânicas serem superiores a outros eletrodos convencionais, como será destacado em uma das seções posteriores. Destaca-se ainda, a simplicidade na quantificação de AMT em formulações farmacêuticas, uma vez que o EDDB não necessita de alguma modificação.

## 1.2. Herbicidas

O cultivo agrícola tem uma grande importância na economia mundial, e isso se deve à produção de variados tipos de grãos (milho, soja, etc.) e aos derivados da cana de açúcar (álcool, açúcar e cachaça)<sup>25,26</sup>. No entanto, para uma maior

rentabilidade na produção agrícola, faz-se necessário o uso de pesticidas, a fim de combater plantas invasoras (plantas indesejáveis). Dentre os pesticidas existentes (inseticidas, fungicidas, herbicidas, fumigantes, etc.), os herbicidas têm sido utilizados com este propósito para o preparo de solos (pré-emergência e pós-emergência), destacando-se o diuron, (DI) ácido diclorofenoxiácetico (2,4-D) e o tebutiuron (TB) (Figura 2). Os herbicidas podem ser divididos em diversas classes, sendo que o DI e TB são pertencentes à classe da fenil uréia e o 2,4-D do cloro fenoxi.<sup>27</sup> Esses produtos químicos têm sido utilizados simultaneamente em plantações do cultivo açucareiro.<sup>28</sup> Um dos problemas dos herbicidas da classe fenil uréia é o tempo de meia vida de três a seis meses, podendo chegar a anos de acordo com o ambiente.<sup>29</sup>

**Figura 2.** Estrutura química de DI (A), 2,4-D (B) e TB (C)



A importância de um controle ambiental se faz necessário, pois estes herbicidas podem estar presentes em matrizes ambientais (águas, solos, etc.) e geralmente em concentrações baixas, necessitando, portanto, de métodos analíticos com adequados limites de detecção, a fim de possibilitar um controle ambiental dentro das normas. No sentido de preconizar limites de pesticidas em amostras ambientais, órgãos mundiais de saúde já demonstraram preocupação ao recomendar limites máximos de herbicidas em amostras de águas. Dentre eles, o DI

tem os seguintes limites permitidos em águas tratadas: na Austrália de  $30,00 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $0,12 \mu\text{mol L}^{-1}$ ); na Comunidade Europeia de  $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $0,0021 \mu\text{mol L}^{-1}$ ); no Canadá  $150,00 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $0,64 \mu\text{mol L}^{-1}$ ).<sup>30</sup> Para o herbicida 2,4-D, o CONAMA<sup>7</sup> preconiza que para águas doces o limite permitido encontrado é  $30,00 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $0,13 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e de águas salobras  $10,00 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $0,045 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). No entanto, a Organização Mundial da Saúde permite um valor de  $70 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $0,31 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em águas potáveis.<sup>31,32</sup> Para o herbicida TB, não existem órgãos regulamentadores que determinem seu limite em amostras ambientais, embora, seu uso seja efetivo em cultivos de cana-de-açúcar. Entretanto, a Agência de Proteção Ambiental (EPA) estipula níveis máximos de TB permitidos em águas de irrigação em cultivos agrícolas, o valor de  $0,27 \mu\text{g L}^{-1}$ .<sup>33</sup>

A técnica analítica mais utilizada para a determinação de herbicidas é a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). No trabalho de Brondi et al.,<sup>28</sup> foi desenvolvida uma metodologia para determinação de pesticidas em cultivos de cana-de-açúcar (TB, hexazinona, DI, 2,4-D e ametrin). Três diferentes métodos de preparo de amostra incluindo a extração líquido-líquido (LLE), fase sólida (SPE) e a extração em fluido supercrítico (SFE) foram avaliados, obtendo resultados mais satisfatórios para LLE e SPE. Em um posterior trabalho, os mesmos autores exploraram os dois melhores métodos de preparo de amostra (LLE e SPE), e a metodologia abordada foi o dicloro metano como solvente para a LLE. Já para a SPE foi utilizado coluna  $C_{18}$  como suporte sólido e acetonitrila para condicionamento e eluição dos analitos. Com a finalidade de aplicar em amostras ambientais, água da cidade de Araraquara (SP) foi coletada e analisada, sendo que os valores de recuperação encontrados foram acima de 94% para os herbicidas.<sup>34</sup>

Bicalho et al.<sup>35</sup> realizaram um estudo para a determinação de DI, hexazinona e TB em solos de plantio de cana-de-açúcar após dois e três anos de aplicação, indicando a persistência destes herbicidas no meio ambiente. Neste estudo avaliaram-se amostras de solos em diferentes profundidades, tendo a superfície até 120 cm abaixo da área superficial. Levando em consideração que o solo foi tratado para o plantio de 2001 e as amostras de solo coletadas em 2004, as concentrações de herbicidas encontradas em até 120 cm de profundidade do solo foram 0,001, 0,005 e  $0,12 \mu\text{mol}$  por grama de solo de DI, hexazinona e TB, respectivamente

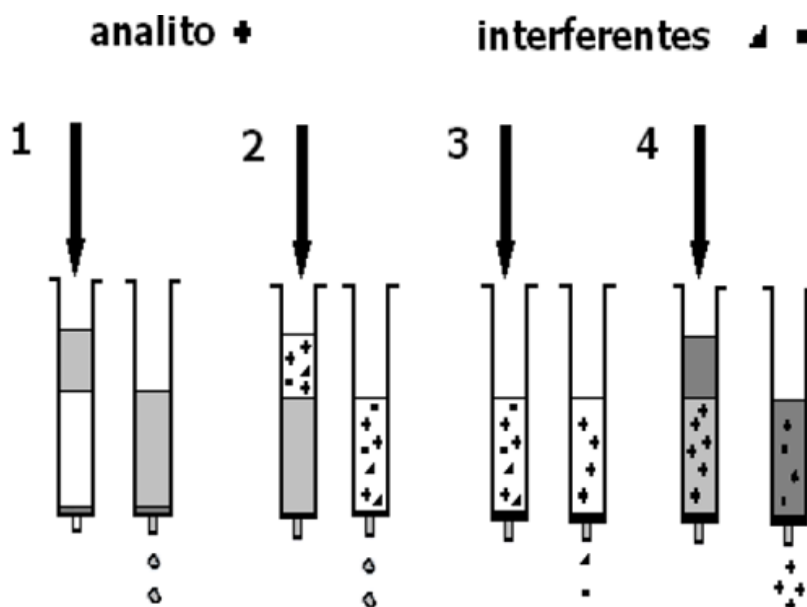
Entretanto, pode-se afirmar, segundo dados informados, que na superfície do solo esses herbicidas estão em maior concentração.

Em outro manuscrito, realizou-se uma metodologia para determinação do herbicida 2,4-D em amostras de águas.<sup>36</sup> Neste trabalho, foi empregado um polímero molecularmente impresso (MIP) como adsorvente para extração em fase sólida associado com a HPLC, utilizando como fase móvel ácido acético e metanol (15:85 v/v %). O método foi aplicado em análises de diversas amostras de águas e em urina, entretanto, em apenas uma amostra de água de rio local encontrou-se 0,0085  $\mu\text{mol L}^{-1}$  do herbicida.

### **1.2.1. Extração em fase sólida (SPE)**

Como mencionado na sessão anterior, etapas de pré-concentração têm sido utilizadas, especialmente a SPE, em análises de herbicidas em águas com intuito de elevar a detectabilidade do método e/ou promover remoção de possíveis interferentes. A técnica de SPE consiste na separação líquida - sólido que na sua forma mais habitual empregam-se adsorventes recheados em cartuchos. O procedimento usual de SPE consiste da percolação da amostra pelo cartucho contendo o adsorvente recheado. Posteriormente, uma etapa de lavagem é realizada com intuito de remover os possíveis interferentes da matriz, sem que ocorra ao mesmo tempo à remoção do analito. Por fim, o analito é eluído com pequenas quantidades de solvente. Cabe salientar que, dependendo do tipo de matriz e analito, a etapa de lavagem da SPE pode ser suprimida.<sup>37</sup> A Figura 3 exemplifica as principais etapas empregadas na SPE, das quais: a ativação e condicionamento do adsorvente (etapa 1); adsorção da amostra (etapa 2); remoção dos interferentes (lavagem) (etapa 3); eluição/ dessorção dos analitos (etapa 4).

**Figura 3.** Principais etapas empregadas na Extração em Fase Sólida, operada no modo isolamento do analito.



Fonte. Adaptado de Lanças, 2004.<sup>37</sup>

Como já mencionado, a SPE tem sido a técnica de extração mais aplicada em análises de águas para determinação de pesticidas por técnicas cromatográficas devido à simplicidade de operação e à quantidade de adsorventes comercialmente disponíveis, entre os quais existem fases sólidas, como octil ( $C_8$ ), octadecil ( $C_{18}$ ), sílica gel, carvão ativado ou grafitizado, florisil, resina de troca catiônica e aniônica, entre outros, comercializados em cartuchos e discos.<sup>38,39</sup>

A utilização de adsorventes comerciais na SPE para pesticidas é bastante destacada na literatura. Para tanto, se pode mencionar a metodologia proposta por Queiroz *et al.*, que faz uso de um cartucho  $C_{18}$  imobilizado com poli (metiloctadecil siloxano) por radiação gama para utilização em SPE na extração de diversos agrotóxicos.<sup>40</sup> Outro trabalho que reporta o uso de  $C_{18}$  também foi utilizado para determinação de vários pesticidas (carbendazin, tiofanato, lenacil, metabenzthiaziron, diuron, fenmediplan, captan e diflubenziuron).<sup>41</sup> A metodologia proposta por Colina *et al.*<sup>41</sup> foi aplicada em amostras de águas e o método desenvolvido apresentou satisfatórios limites de detecção para todos os analitos pesquisados.

A escolha do tipo e quantidade de adsorvente, volume de amostra e de solvente para ativação dos cartuchos e para a eluição dos analitos são alguns

parâmetros que devem ser considerados. Na escolha do adsorvente, devem-se levar em conta as informações a respeito dos analitos de interesse, a natureza da matriz e das impurezas a serem eliminadas. Tendo em vista que a retenção do analito no adsorvente está ligada ao tipo de material adsorvente, a escolha da fase sólida torna-se uma etapa determinante para desenvolvimento da análise.<sup>42,43</sup>

Mediante o exposto, uma fase sólida é considerada atraente quando apresenta elevada área superficial, estabilidade química, física e mecânica, rápida cinética de adsorção, além de ter sítios ativos distribuídos na superfície do material aumentando a capacidade de adsorção e, conseqüentemente, elevando o enriquecimento do analito e a detectabilidade do método.<sup>43</sup>

Nesse contexto, o desenvolvimento de novos materiais adsorventes poliméricos, contendo monômeros funcionais capazes de interagir por meio de diferentes interações intermoleculares com o analito de interesse é de grande importância para serem usados como fases extratoras em sistemas extração, visando como melhoria à maior capacidade adsortiva em relação aos materiais convencionais disponíveis no mercado. Esses polímeros apresentam significativas vantagens em relação a outros materiais adsorventes, como por exemplo: simplicidade na síntese, ausência de modificação na sua superfície para torná-los mais seletivos (uma vez que a seletividade nesses materiais se dá pela escolha dos monômeros funcionais), estabilidade química e física em diferentes solventes e em ampla faixa de pH, bem como a elevada estabilidade frente a vários ciclos de extração/eluição.<sup>44</sup>

Estudos realizados pelo grupo de pesquisa LADEMA coordenado pelo Prof. Dr. Tarley têm atuado no desenvolvimento e aplicação de diversos tipos de materiais adsorventes, em conjunto com metodologias analíticas para determinação de diversos compostos. Neste sentido, foi proposta uma nova fase extratora sintetizada por polimerização por precipitação a partir do monômero funcional 1-vinilimidazol reticulado com trimetilpropanotrimetacrilato para adsorção de herbicidas da classe das fenilureias, triazinas e triazinonas, com uma área superficial de  $377 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , alta capacidade adsortiva de  $213,83 \text{ mg g}^{-1}$ , elevado fator de pré-concentração, baixos valores para limites de detecção e quantificação. O material polimérico também apresentou elevada estabilidade frente a 161 ciclos de eluição e pré-concentração.

Neste sentido, o polímero sintetizado, conforme Fonseca e Tarley *et al.*,<sup>45</sup> por ter apresentado excelente capacidade adsorviva para o herbicida tebutiuron, foi utilizado como adsorvente para extração em fase sólida associado com a voltametria para determinação simultânea dos herbicidas DI, 2,4-D e TB, fazendo uso do eletrodo de diamante dopado com boro pré-tratado catodicamente.

### 1.2.2. Determinação voltamétrica dos herbicidas Di, 2,4-D e TB

Na literatura não existem métodos com a técnica eletroanalítica para determinação simultânea dos herbicidas DI, 2,4-D e TB, no entanto, podem ser encontrados sensores com metodologias para determinações individuais de alguns desses analitos. Wong *et al.* desenvolveram um sensor biomimético composto por eletrodo de pasta de carbono (EPC) modificado com complexo (29H,31H-fitalocianina -1,4,8,11,15,18,22,25-octobutoxi níquel (II)), como mimetizador da enzima P450, para determinação de DI em águas por técnicas de voltametria cíclica e amperometria.<sup>46</sup> O método obteve linearidade para o DI em um intervalo de concentração de 9,90 a 150,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato (pH 8,0), possibilitando obter limite de detecção de 6,14  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O mesmo sensor foi associado a uma análise por sistema de injeção em fluxo para as determinações dos pesticidas carbofuram e DI aplicados em amostras de solos e cenouras, obtendo valores de recuperação próximo de 100%.<sup>47</sup>

Outro estudo para determinação de DI foi descrito por Mugadza *et al.* .<sup>48</sup> Desenvolveu-se uma metodologia baseada na modificação do eletrodo de carbono vítreo (ECV) com tetraamino-fitalocianina de níquel polimerizado, em tampão acetato pH 4,0. Neste trabalho, obteve-se um coeficiente de difusão de  $6,43 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  e limite de detecção de 0,33  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Em outro trabalho, os mesmos autores desenvolveram um sensor baseado em tetraamino-fitalocianina de ferro(II) com nanotubos de carbono suspensos na superfície ECV para a determinação de amitrole e DI, obtendo limites de detecção de 0,21  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,26  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Entretanto, em nenhum dos trabalhos foi realizada a aplicação do método em amostras reais.<sup>49</sup>

Para o herbicida 2,4-D, trabalhos voltamétricos são relatados na literatura, dentre eles o manuscrito de De Andrade *et al.* .<sup>50</sup> que fez uso de um eletrodo

composto de pasta de grafite/poliuretano. Neste trabalho pode-se notar um pico de redução apresentado no potencial de -0,54V, por técnica de voltametria de onda quadrada, rendendo limite de detecção de  $0,079 \mu\text{mol L}^{-1}$  e possibilitando a aplicação em amostras de solo. No trabalho de Wong *et al.*<sup>51</sup> um sensor biomimético foi desenvolvido para aplicação em amostras de solos. Neste estudo, o sensor foi baseado em eletrodo de pasta de carbono modificado com complexo (5,10,15,20-tetraquis (pentafluorofenil)-21H,23H - porfirina de ferro (III)) como potencial mimetizador da enzima P450, obtendo-se limite de detecção de  $2,10 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Ainda para o herbicida 2,4-D, Prado *et al.*<sup>52</sup> relataram um sensor baseado em EPC modificado com sílica gel, o qual obteve limite de detecção de  $0,45 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Em outro estudo,<sup>53</sup> um eletrodo de mercúrio foi utilizado para determinação de 2,4-D pela técnica de voltametria onda quadrada e aplicado em amostras de solos e águas de rio. Concentrações de  $1,90 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $2,21 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solos e águas foram obtidas. Em outro trabalho, Wang *et al.*, desenvolveu um método baseado em ECV modificado com polímeros molecularmente impressos (MIP) em solução de ácido sulfúrico  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , obtendo-se limite de detecção de  $70,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ , não apresentando aplicações em amostras reais.<sup>54</sup>

No tocante à determinação voltamétrica de TB, observa-se, de acordo com a literatura, que os trabalhos ainda são incipientes. Apenas um trabalho foi reportado visando à determinação de TB em açúcar mascavo e cristal, empregando ECV e determinação por voltametria de pulso diferencial.<sup>55</sup>

De acordo com as informações acerca dos trabalhos voltamétricos dedicados à determinação dos herbicidas DI, 2,4-D e TB, constata-se a ausência de análise multiresíduo destes herbicidas, bem como a necessidade de etapas de modificação de eletrodo. Assim sendo, o segundo capítulo desta tese visa explorar as potencialidades do EDDB para a determinação simultânea de DI, 2,4-D e TB em águas naturais (poços e lagos).

Cabe salientar que o desempenho do método eletroquímico em termos de detectabilidade foi melhorado por meio da implementação de uma etapa de pré-concentração em fase sólida com o emprego do polímero poli(vinilimidazol) reticulado com trimetilpropano trimetacrilato (PVI), mencionado na secção 1.2.

### 1.3. Eletrodo de Diamante Dopado com Boro

O químico francês Antoine Lavoisier (1743-1794) foi o primeiro a desvendar a composição do diamante. Utilizando uma lente solar, ele provocou a queima do cristal, possibilitando observar que o gás resultante da combustão deveria ser o gás carbônico, pois turvava com a água de cal. Anteriormente, o diamante já era bastante conhecido (3000 a C), entretanto, era um cristal misterioso, indestrutível e de brilho atraente, que demonstrava riqueza e poder.<sup>56</sup>

Os estudos eletroquímicos e fotoeletroquímico utilizando eletrodos de diamante tiveram início no final de 1980.<sup>57</sup> No entanto, constatou-se que o diamante natural era muito caro e um material isolante (com exceção do tipo IIb, que contém boro na sua estrutura),<sup>58</sup> o que justificava a escassez de estudos reportados na literatura. Entretanto, foi averiguado que eletrodos de diamante microcristalinos possuíam menor valor comercial, e, a partir disso, eletrodos de diamante dopado com boro, nitrogênio, metais ou grupos metálicos começaram a ser extensivamente utilizados, já que seu desempenho eletroquímico era superior a outros materiais, como carbono vítreo, grafite e platina.<sup>59</sup>

O diamante se destaca como um dos melhores materiais isolantes da natureza. No entanto, suas propriedades variam de acordo com a dopagem, assim, a resposta eletroquímica dos eletrodos de diamante também depende do nível de dopagem. Os filmes de diamante possuem propriedades eletrônicas que variam desde isolantes em baixas dopagens, para semicondutor ou até mesmo comportamento semimetálicos em altos níveis de dopagens. Dentre as vantagens destes eletrodos, pode-se incluir a alta resistência a corrosão; extensa faixa de potencial de trabalho; alta inércia química e eletroquímica; correntes residuais ou de fundo pequenas, resultando numa excelente razão sinal/ruído; reprodutibilidade eletroquímica. Portanto, o eletrodo de diamante dopado com boro pode ser usado em áreas distintas, como no caso de eletrossíntese, tratamento de efluentes e na eletroanálise.<sup>57-63</sup>

Uma das vantagens já mencionadas que pode ser destacada é a extensa faixa de potencial de trabalho que o EDDB oferece (-1,5 a +3,0 V vs Ag/AgCl), uma especificidade bastante importante quando comparado com eletrodos convencionais, como carbono vítreo, por exemplo. Portanto, possibilita a investigação e estudos de analitos que possuem potenciais redox muito positivos ou negativos.<sup>22</sup> Mediante a

essa qualidade do EDDB, na literatura encontram-se trabalhos que destacam essa possibilidade e dentre eles pode-se mencionar a pesquisa reportada por Sartori et al. . Neste trabalho, foi realizada uma metodologia para a determinação de ácido acetilsalicílico, que apresentou um potencial de oxidação próximo a 1,8 V em meio de ácido sulfúrico 0,01 mol L<sup>-1</sup>. Como figuras de méritos obteve-se um limite de determinação de 2,0 x 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> e foi aplicado em amostras farmacêuticas. <sup>64</sup>

Neste sentido, ainda podem ser destacados trabalhos para determinação voltamétrica de ramipril (1,2 V) e hidroclorotiazida (1,6 V), <sup>65</sup> e também o anti-hipertensivo enalapril em 1,8 V por sistema de injeção em fluxo associado com a técnica de determinação amperométrica. <sup>66</sup>

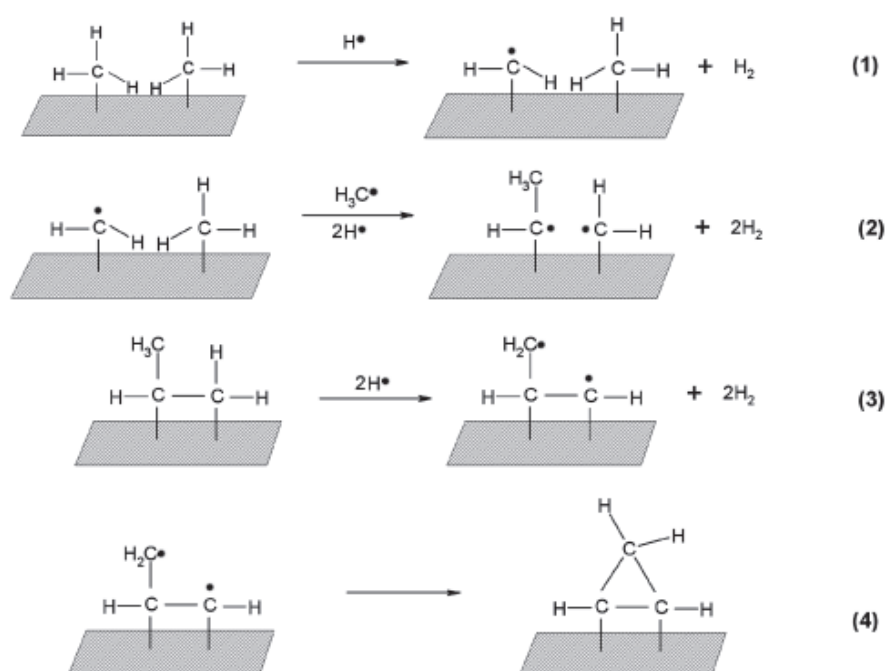
A utilização do EDDB para moléculas com alto potencial de redução também já é evidenciado, como por exemplo, na metodologia realizada para determinação do pesticida atrazina. Neste trabalho, o potencial de redução apresentado foi de aproximadamente -1,1 V vs Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>) em tampão Britton- Robinson pH 3,0. <sup>67</sup>

Há dois métodos básicos para a síntese do diamante: aqueles obtidos por alta pressão e alta temperatura (do inglês "high-pressure/high-temperature" HPHT), sendo o que mais se identifica ao processo de formação do diamante natural e aqueles obtidos por deposição química a partir da fase de vapor (do inglês "chemical vapor deposition" CVD), <sup>68</sup> que, devido à viabilidade econômica, é o principal método para síntese de diamante dopado com boro. A condutividade do diamante é obtida pela dopagem, proveniente do gás B(OCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> ou B<sub>2</sub>H<sub>6</sub> numa concentração que varia entre 10 a 20000 mg L<sup>-1</sup>, fornecendo um material com propriedades semicondutoras ou semimetálicas, dependendo do teor de boro utilizado. Com o aprimoramento do método de dopagem dos filmes de diamante por CVD, aumentou-se sua aplicação e somente na década de 90 houve o interesse por estes filmes para aplicações eletroquímicas. <sup>69</sup>

Na literatura é possível encontrar exemplos de esquemas simplificados do mecanismo de crescimento do diamante a partir do radical metila como precursor pelo método de CVD (Figura 4). Segundo de Barros *et al.*, o esquema se destaca em quatro etapas: inicialmente o hidrogênio atômico H· retira um dos H ligados ao carbono superficial (1); na sequência outros dois H são retirados e um radical metila é ligado a um dos C disponíveis (2); na terceira etapa, dois C radicalares da

superfície se ligam e outros 2H são retirados, formando novos radicais (3); por fim, na última etapa, esses novos radicais se ligam e dão continuidade ao crescimento de cristais de diamante (4). Esse crescimento é contínuo, formando a estrutura em "cadeia", até que seja interrompido, quando assim a superfície do filme não sofrerá mais retiradas de hidrogênio e nem adição do radical metila.<sup>58</sup>

**Figura 4.** Esquema simplificado do mecanismo de crescimento do diamante a partir do radical metila.<sup>58</sup>



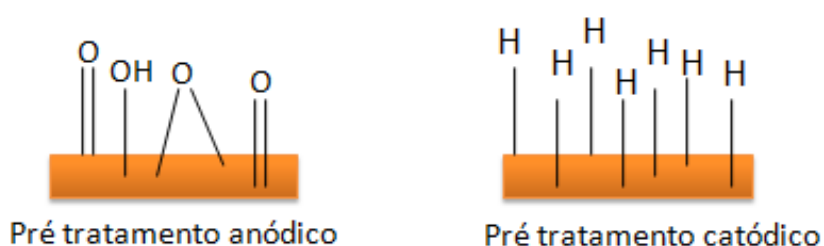
Fonte. Adaptado De Barros *et al.* 2005.<sup>58</sup>

No processo da síntese o crescimento do filme acontece a dopagem e o boro é preferencialmente utilizado nas sínteses de dopagem do diamante por possuir três elétrons na sua camada de valência e por ser um átomo pequeno, tendendo a doar os elétrons ao carbono do diamante. O material resultante possui propriedades semicondutoras tipo-p, reduzindo o band-gap, que é a energia necessária para que o elétron passe para a banda de condução.<sup>70</sup>

A etapa de pré-tratamento eletroquímico do eletrodo de diamante é muito importante, pois é realizada para se obter afinidade com diversos analitos. Essa afinidade depende da terminação na superfície do eletrodo, ou seja, a terminação

em hidrogênio apresenta um eletrodo com características hidrofóbicas e de alta condutividade (pré-tratamento catódico). A terminação superficial em oxigênio possui características hidrofílicas (pré-tratamento anódico). Essas terminações superficiais do eletrodo provêm do processo de pré-tratamento eletroquímico, acontecendo assim a redução de água para terminações em hidrogênio ou oxidação para terminações em oxigênio <sup>71</sup>, como exemplificado pela figura 5.

**Figura 5.** Exemplo de terminação superficial do EDDB.



Fonte. Próprio autor.

O estudo da importância do pré-tratamento anódico (PTA) e pré-tratamento catódico (PTC) para moléculas diversas foi evidenciado no trabalho de Oliveira *et al.* e dentre as moléculas estudadas estão guanina, adenina, citosina, timina e 8-oxoguanina. Neste trabalho foi possível observar a influência do pré-tratamento na superfície do EDDB e quanto ele interfere nos potenciais de oxidação e na magnitude de corrente dos analitos.<sup>72</sup>

O pré-tratamento na superfície do EDDB geralmente é realizado em solução de  $H_2SO_4$  durante um tempo e sob uma corrente (catódica ou anódica). O ácido sulfúrico geralmente é o mais empregado, pois no tratamento de redução contribui na taxa de reação na superfície do eletrodo, favorecendo a produção de  $H_2$  e aumentando a taxa de complexo boro-hidrogênio. Já na oxidação superficial do EDDB, o pré-tratamento faz com que as terminações em hidrogênio sejam convertidas em terminações de oxigênio, isso se deve à transformação que provavelmente ocorre por uma presença de camada adsorvida durante a oxidação de moléculas de água, formando radicais hidroxilas sobre a superfície do eletrodo.<sup>72</sup>

Na literatura é possível encontrar uma quantidade de trabalhos que abordam a comparação entre PTC e PTA. Recentemente, Broscenschi et al. realizaram um estudo comparando a reversibilidade de  $K_4Fe(CN)_6$  e a variação da intensidade de corrente da molécula de ácido ascórbico (AA). Segundo dados apresentados pelos autores, com o PTC sobre a superfície do EDDB a magnitude de corrente foi superior para AA, quando comparado com o PTA.<sup>73</sup>

No trabalho de Granger et al. foi observado que a reversibilidade do  $K_4Fe(CN)_6$  ocorre quando a terminação é catódica (hidrogênio), supondo que em superfícies em oxigênio (anódica) possui as interações bloqueadas. Entretanto, segundo relatos dos autores, pouco sabe-se sobre o diamante terminado em oxigênio ou o quanto os óxidos formados afetam a taxa de transferência de elétrons.<sup>74</sup>

Em outro trabalho, estudos de voltametria cíclica mostram que a reversibilidade do  $K_4Fe(CN)_6$  e do ferroceno em soluções aquosas são mais bem definidas quando o pré-tratamento é catódico. Além disso, é relatado que a resistividade de um elemento de alta frequência diminui de 300 para  $4 \Omega \text{ cm}^2$ , indicando que esses efeitos podem estar relacionados a uma camada passiva na superfície do EDDB.<sup>71</sup>

O efeito do pré-tratamento para o estudo redox de  $Fe(CN)_6^{4-/3-}$  também foi reportado por Salazar-Banda et al. . Neste estudo é evidenciada uma maior reversibilidade no sistema quando realizado o PTC sob a superfície do EDDB, entretanto, é identificado que depois de um certo tempo desse pré-tratamento a reversibilidade é diminuída, indicando que os locais terminados em hidrogênio desempenham um papel importante na resposta eletroquímica. Portanto, a diminuição da resposta e da repetibilidade está correlacionada com a perda de H superficial, o que justifica a diminuição progressiva da taxa de elétrons.<sup>62</sup>

O desempenho satisfatório do EDDB pré-tratado catodicamente já foi bastante evidenciado em trabalhos reportados na literatura na determinação de diversos analitos. Dentre eles, a determinação simultânea de paracetamol e cafeína em amostras farmacêuticas, rendendo limites de detecção de  $4,90 \times 10^{-7}$  e  $3,50 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ , respectivamente.<sup>75</sup> Com o mesmo pré-tratamento sob o EDDB encontram-se na literatura trabalho para a determinação de bisfenol A<sup>76</sup>, o que evidencia o desempenho satisfatório deste eletrodo para diversas moléculas.

Além disso, o EDDB sob o PTC também foi evidenciado em estudos eletroanalíticos na determinação de anti-hipertensivos, como trabalho desenvolvido para a determinação de propanolol e atenolol, apresentando baixos limites de detecção, além de um fator de recuperação próximo de 100% quando aplicados em amostras farmacêuticas.<sup>77</sup> Outros trabalhos voltamétricos podem ser destacados em formulações farmacêuticas, dentre eles a determinação simultânea dos fármacos paracetamol, cafeína e orfenadrina,<sup>22</sup> besilato de anlodipino e atenolol,<sup>78</sup> besilato de anlodipino e valsartana,<sup>79</sup> entre outros apresentados na literatura.<sup>80</sup>

Estudos com o pré-tratamento anódico mostram que a polarização da superfície do eletrodo pode aumentar o rendimento da cinética da transferência de elétrons.<sup>81</sup> No trabalho de Santos *et al.*<sup>82</sup> foi estudada a determinação dos anti-hipertensivos hidroclorotiazida e losartana por EDDB pré-tratado anódicamente, possibilitando a determinação destes fármacos em formulações farmacêuticas.

Mediante o exposto, o desempenho do pré-tratamento na superfície do eletrodo de diamante dopado com boro se faz necessário, pois possibilita maior detectabilidade para os analitos, além de gerar resultados confiáveis e reprodutivos. Ademais, pode-se concluir que a terminação, apesar de ser predominantemente catódica, depende do analito em questão. Entretanto, estudos ainda não comprovam a real interação entre os diversos analitos de estudo e as terminações do EDDB.

## **CAPITULO 1**

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE AMITRIPTILINA EM  
FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS COM EMPREGO DE ELETRODO  
DE DIAMANTE DOPADO COM BORO PRÉ-TRATADO  
CATODICAMENTE**

## 1. 2- Objetivo Geral

O Capítulo 1 desta tese tem como objetivo geral avaliar o desempenho do eletrodo de diamante dopado com boro na determinação voltamétrica do antidepressivo amitriptilina em medicamentos.

### 1. 2. 1- Objetivos específicos

®Estudar o perfil voltamétrico da amitriptilina frente aos eletrodos de DDB e CV..

®Estudar o efeito do eletrólito, influência da velocidade de varredura no processo de oxidação e a determinação do coeficiente de difusão da molécula.

®Otimizar os parâmetros das técnicas voltamétricas de pulso diferencial e onda quadrada para amitriptilina e determinação das figuras de mérito.

®Aplicação do método em medicamentos

®Avaliar a exatidão do método de amitriptilina usando espectrofotometria UV-VIS

## 1. 3- PARTE EXPERIMENTAL

### 1. 3. 1- Reagentes e soluções

Cloridrato de amitriptilina ( $\geq 98\%$ , Sigma-Aldrich, Itália) e ácido sulfúrico (Merck, 95-97%). Todas as soluções foram preparadas em água deionizada em sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Brasil) com resistividade superior a  $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ . As amostras farmacêuticas (comprimidos) foram adquiridas em farmácias comerciais locais contendo no rótulo 25 mg (Medley<sup>®</sup>, EMS<sup>®</sup>, Teuto<sup>®</sup>, Eurofarma<sup>®</sup>) e 75 mg (Amytril<sup>®</sup>) do princípio ativo por comprimido. A solução tampão fosfato foi preparada a partir da dissolução de seu sal ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  99-102 %, Merck, Darmstadt, Alemanha) e ajustado o pH para os valores desejados com  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  de HCl. As soluções estoques de AMT foram preparadas em ácido sulfúrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

### 1. 3. 2- Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram realizadas num potenciostato/galvanostato modelo PGSTAT101 da Autolab com o emprego de uma célula eletroquímica de três eletrodos, como ilustrado na Figura 1.1. O eletrodo de Ag/AgCl ( $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ ) foi empregado como referência (azul), uma espiral de fio de platina como eletrodo auxiliar (preto) e o eletrodo trabalho (preto)

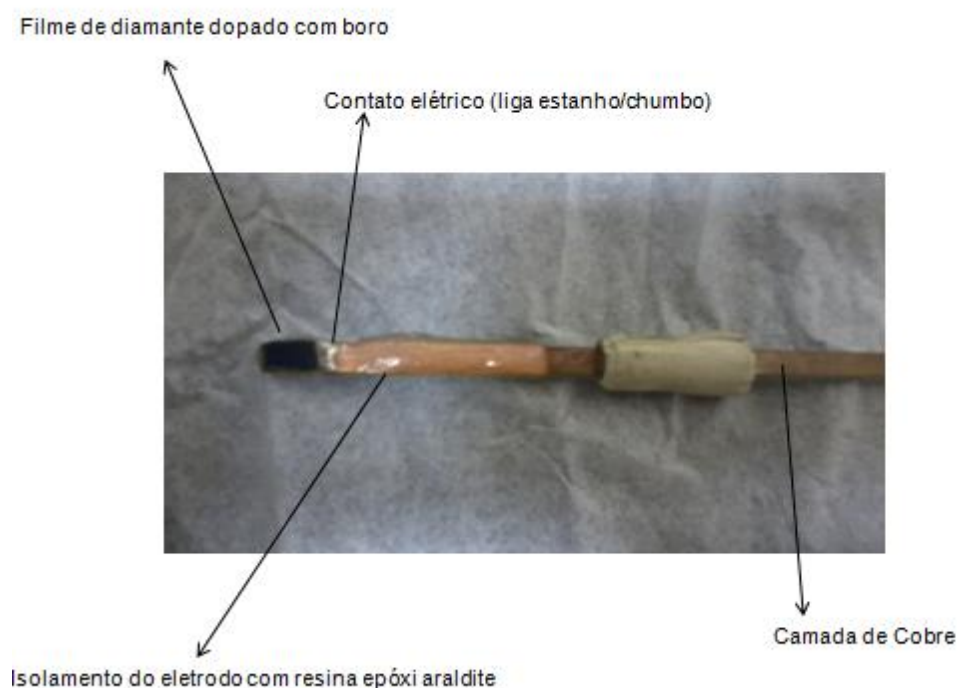
**Figura 1. 1.** Representação da célula eletroquímica utilizada nos experimentos.



Fonte. Arquivo pessoal.

O filme de diamante dopado com 8000 ppm de boro foi obtido da Adamant (Suíça). O EDDB foi preparado soldando a base de silício do filme de DDB (que contém uma fina camada de ouro) na extremidade de uma haste contendo cobre (placa de circuito eletrônico) de 10 cm de comprimento, 0,5 cm de largura e 0,1 cm de espessura, sendo isolado com resina epóxi (Araldite®), para que somente a superfície do filme de DDB ficasse exposta para as medidas eletroquímicas, apresentando dessa forma, uma área geométrica de 0,24 cm<sup>2</sup>, como apresentado na Figura 1.2.

**Figura 1. 2.** Imagem do EDDB empregado nas determinações voltamétricas.



Fonte: Arquivo pessoal

No início de cada dia de trabalho foi realizado o pré-tratamento do EDDB em uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,50 mol L<sup>-1</sup>, consistindo inicialmente em um pré-tratamento anódico 0,5 A cm<sup>-2</sup> durante 30s e o catódico -0,5 A cm<sup>-2</sup> durante 120s em um potenciostato MQPG-01 (Microquímica).

Para os ensaios realizados em medidas espectrofotométricas, foi utilizado um equipamento Perkin-Elmer do modelo Lambda 25A. Nestas análises foi utilizada uma cubeta de um centímetro de comprimento óptico, num comprimento de

onda de 239 nm. Para o preparo de amostra e para o ajuste do branco, utilizou-se ácido clorídrico 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

### 1. 3. 3- Preparo das amostras

Foram obtidas cinco amostras de medicamentos comerciais (I-V) de AMT, em que 10 comprimidos de cada embalagem foram macerados até formar um pó fino e homogêneo. Uma quantidade apropriada do comprimido foi dissolvida em ácido sulfúrico 0,50 mol L<sup>-1</sup> por meio de agitação manual de 10 minutos e posteriormente a solução foi filtrada usando papel qualitativo.<sup>6</sup>

A solução foi transferida para um balão volumétrico cujo volume foi completado até 25,00 mL. Uma alíquota de 0,10 mL do sobrenadante foi então transferida para a célula eletroquímica e o volume foi completado até 10,00 mL com ácido sulfúrico em 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Estas soluções de concentração de 40,00 µmol L<sup>-1</sup> foram analisadas pela metodologia voltamétrica, a partir dos parâmetros otimizados da técnica de voltametria de pulso diferencia (VPD).

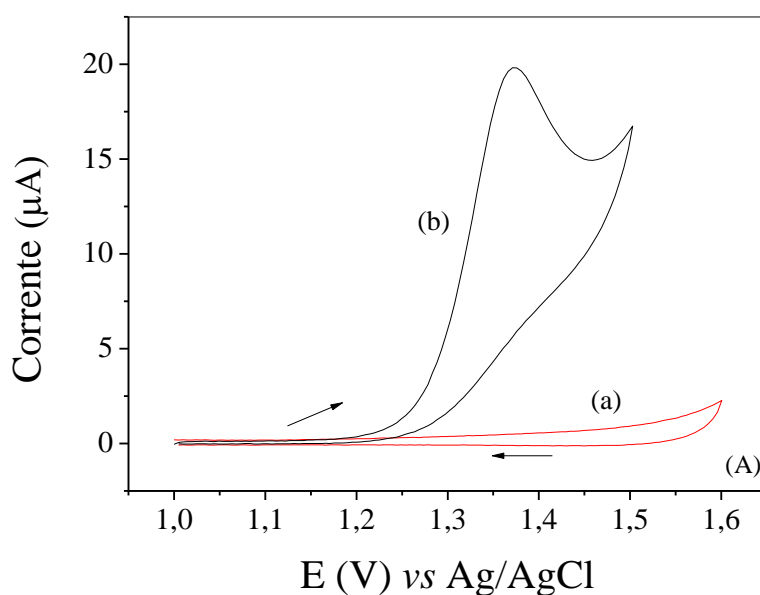
O procedimento adotado como método de referência foi baseado em medidas espectrofotométricas na região UV, conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição.<sup>8</sup> Para tanto, 20 comprimidos foram pulverizados e 10 mg foram transferidos para um balão volumétrico de 100,00 mL contendo 75,00 mL de ácido clorídrico 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Posteriormente, a mistura foi agitada manualmente por 15 minutos, inserida num banho ultrassônico, mantida por mais 15 minutos e o volume do balão volumétrico completado com ácido clorídrico 0,10 mol L<sup>-1</sup>. A mistura foi filtrada (membrana 0,22 µm) e 5,00 mL foram transferidos para um balão de 50,00 mL, cujo volume foi completado com ácido clorídrico 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Uma alíquota da amostra foi inserida na cubeta e analisada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 239 nm.

## 1. 4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

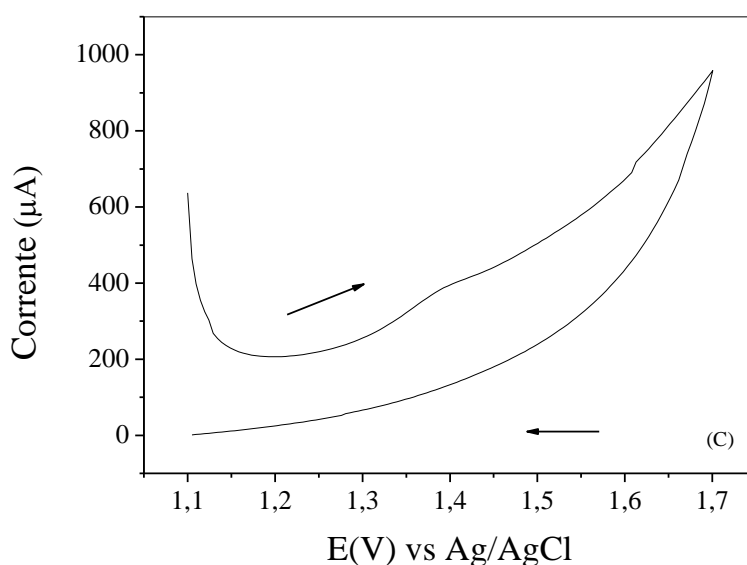
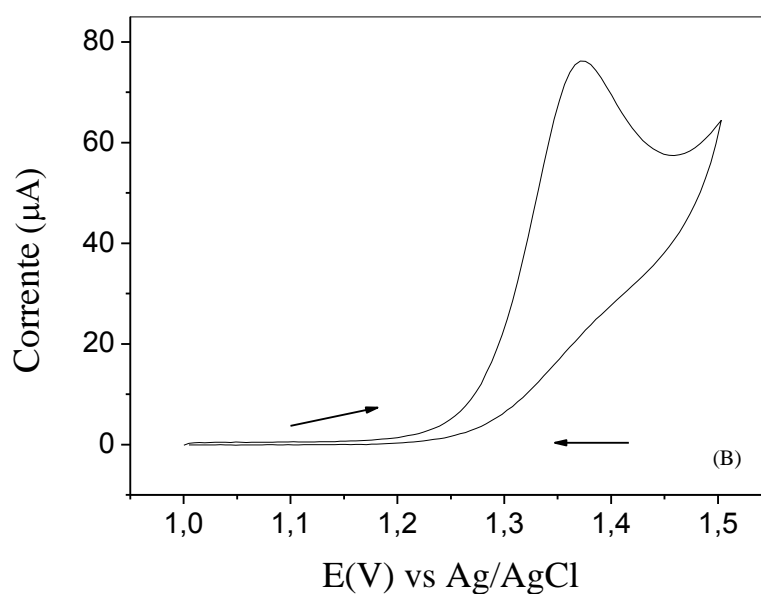
### 1. 4. 1- Estudo eletroquímico de AMT

Inicialmente, o comportamento voltamétrico para a AMT foi estudado em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  empregando a técnica de voltametria cíclica numa varredura de potencial direto de 1,0 a 1,5 V e inverso de 1,5 a 1,0 V. Na Figura 1.3 A é possível observar o perfil voltamétrico da oxidação eletroquímica da AMT ( $0,22 \text{ mmol L}^{-1}$ ) sobre o EDDB pré-tratado catodicamente. De acordo com o voltamograma, observou-se que a AMT apresenta um pico de oxidação bem definido em torno de 1,35 V, sem a presença de algum pico de redução, mostrando que o processo para este sistema é irreversível. Na literatura é relatado que a utilização de ácido sulfúrico facilita a oxidação da AMT, resultando na formação de um cátion radicalar.<sup>83</sup>

**Figura 1.3.** (A) Voltamogramas cíclicos obtidos empregando EDDB pré-tratado catodicamente: (a)  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  e (b) AMT  $0,22 \text{ mmol L}^{-1}$ , velocidade de varredura  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Voltamograma cíclicos empregando EDDB pré-tratado catodicamente e (C) ECV: velocidade de varredura  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

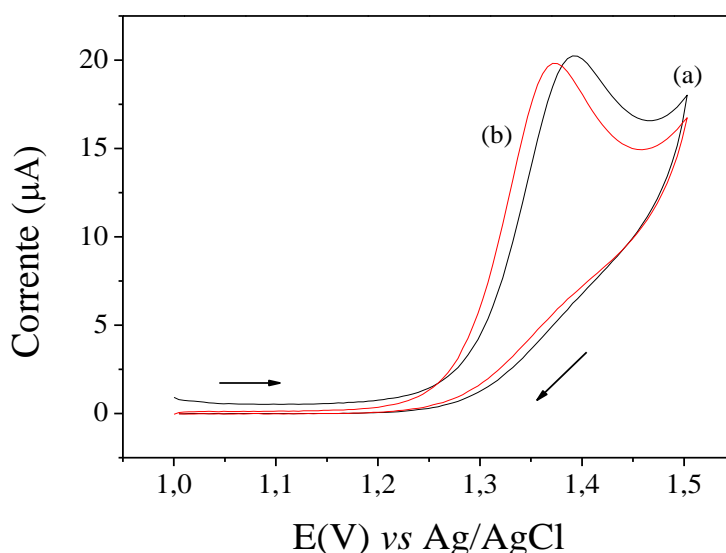


Com intuito de ressaltar o desempenho eletroanalítico do EDDB na oxidação da AMT, foi realizado um ensaio com um eletrodo de carbono vítreo comercial (ECV). De acordo com o apresentado na Figura 1.3 B e C, neste experimento é possível observar que a utilização do EDDB é vantajosa em relação ao ECV, considerando um aumento considerável na magnitude de corrente, uma vez que, neste eletrodo, a corrente capacitiva observada foi substancialmente grande, prejudicando a resolução do pico de oxidação da AMT. Este comportamento é explicado pelo elevado potencial utilizado.



Em outro estudo, o efeito do pré-tratamento do EDDB na presença de AMT foi investigado, uma vez que o desempenho eletroquímico deste eletrodo é dependente de sua terminação superficial (oxigênio ou hidrogênio),<sup>71</sup> como já mencionado na seção 1.3. Na Figura 1.4 são mostrados os voltamogramas cíclicos para a AMT obtidos com o EDDB, pré-tratados anódica e catódicamente.

**Figura 1.4.** Voltamogramas cíclicos obtidos empregando EDDB com diferentes pré-tratamentos: (a) pré-tratamento anódico e (b) pré-tratamento catódico em AMT 0,22 mmol L<sup>-1</sup>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,10 mol L<sup>-1</sup>, velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>.



Observou-se que o efeito da terminação da superfície em hidrogênio (PTC) apresentou um perfil voltamétrico mais bem definido, com menor potencial de oxidação (1,37 V) e também maior repetibilidade entre as medidas, selecionando-o para a determinação de AMT nos próximos experimentos. A terminação superficial do EDDB, bem como seu pré-tratamento, já foi investigada na literatura. Suffredini *et al.*<sup>71</sup> relatou que o pré-tratamento catódico diminui o limite de detecção eletroanalítico para moléculas orgânicas, além de garantir resultados confiáveis e reproduzíveis. Essas condições para o EDDB são relatadas em recentes trabalhos para quantificações de moléculas orgânicas em formulações farmacêuticas, como já apresentados na seção 1.1.<sup>78-80</sup>

O efeito do tempo de duração do pré-tratamento catódico aplicado sob a superfície do EDDB também foi investigado, nos tempos de 120, 150 e 180 s. Nesse

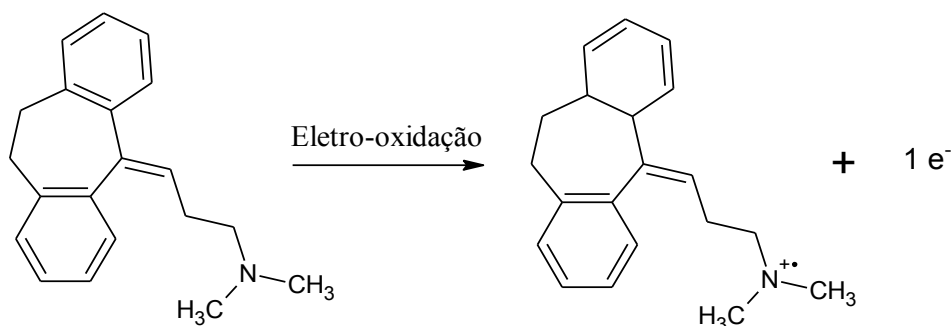
estudo, foi possível avaliar que o tempo de 120 s garante melhor resposta tanto em termos de definição de perfil voltamétrico como de repetibilidade entre as medidas para a determinação de AMT. Este pré-tratamento foi realizado uma vez ao dia, antes de iniciar as medidas voltamétricas, sendo precedido pelo pré-tratamento anódico, para garantir a limpeza da superfície do eletrodo e estabilidade entre as medidas.

Cabe enfatizar que com o emprego deste eletrodo não houve necessidade de limpeza ou renovação da superfície entre as medidas, realizando-se várias medidas ao longo do dia de trabalho, sem a necessidade de efetuar um novo pré-tratamento, garantindo simplicidade no desenvolvimento da metodologia analítica.

A fim de propor o mecanismo de oxidação da molécula, empregou-se o voltamograma obtido para a AMT em solução de ácido sulfúrico (Figura 1.3 A) e a equação  $E_p - E_{p/2} = 47,7/\alpha n$ ,<sup>84</sup> em que  $E_p$  e  $E_{p/2}$  é o potencial de oxidação e o potencial de meia onda, respectivamente,  $\alpha$  é o coeficiente de transferência (0,5 para sistemas irreversíveis em moléculas orgânicas)<sup>85</sup> e  $n$  é o número de elétrons transferidos. Calculou-se o número de elétrons transferidos no processo de oxidação da AMT sobre o EDDB pré-tratado catodicamente. Sendo  $E_p = 1,35$  V e  $E_{p/2} = 1,25$  V,  $n$  foi calculado como 0,95, indicando que a oxidação da AMT envolve um elétron.

Na Figura 1.5 é apresentado o mecanismo de oxidação proposto para a AMT, no qual há perda de um elétron na oxidação do átomo de nitrogênio do grupo amina, resultando na formação de um cátion radical, facilitado pelo ácido sulfúrico, que é conhecido por ser um agente oxidante capaz de gerar cátions radicalares de trialkilaminas.<sup>83</sup> É importante mencionar que o mecanismo proposto também tem sido reportado para oxidação eletroquímica de aminas alifáticas.<sup>86</sup> Cabe citar que os resultados relativos ao efeito do pH no processo de oxidação da AMT, que serão mostrados posteriormente, também darão suporte a este tipo de mecanismo proposto.<sup>21</sup>

**Figura 1.5.** Mecanismo proposto para eletro-oxidação de AMT em solução de ácido sulfúrico com EDDB pré-tratado catodicamente.



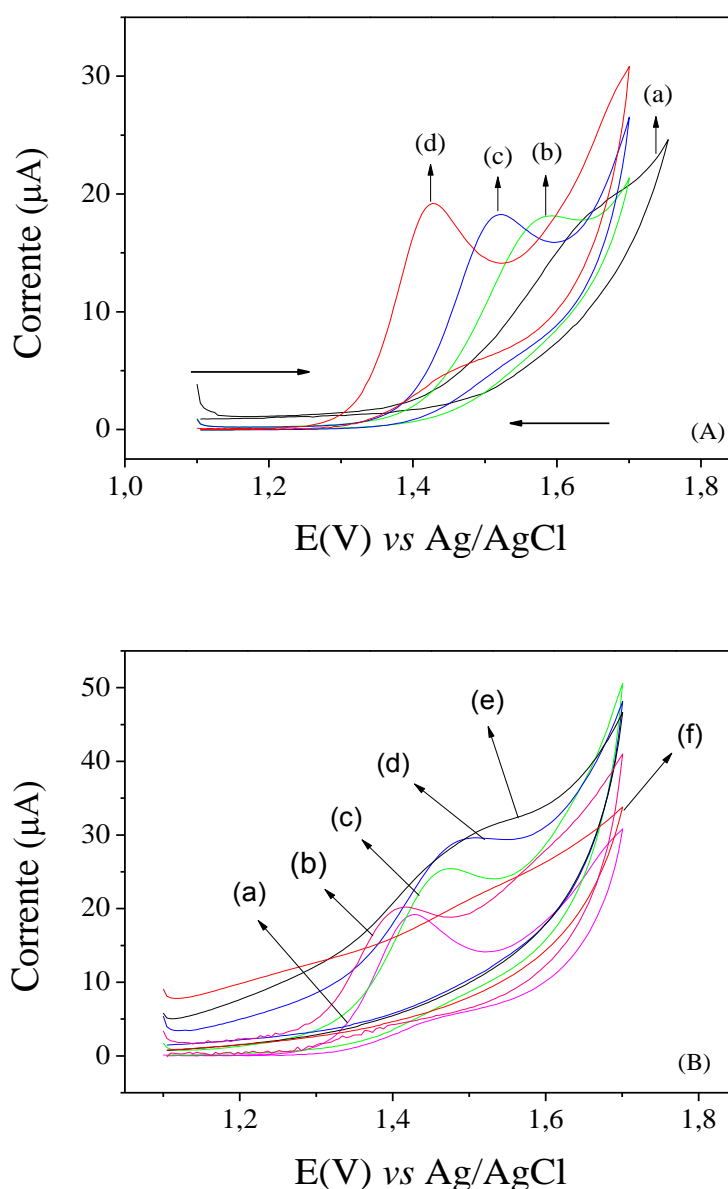
Fonte: próprio autor.

#### 1. 4. 2- Estudo do efeito da concentração e tipo de eletrólito suporte

Inicialmente, investigou-se o efeito da influência da concentração do ácido sulfúrico na determinação de AMT, numa faixa de concentração de  $0,0001 \text{ mol L}^{-1}$  a  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . De acordo com os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 1. 6. A, observa-se uma diminuição da corrente de oxidação da AMT com o decréscimo da concentração do  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , bem como deslocamento dos potenciais de oxidação da AMT para valores mais positivos.

Utilizando o ácido sulfúrico  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte, obteve-se maior intensidade de corrente e menor potencial de oxidação para a AMT, selecionando-o para os estudos posteriores. Estes resultados apresentados indicam que pode ocorrer interação eletrostática do fármaco carregado positivamente em meio ácido ( $\text{pK}_a$  9,4) com o sulfato adsorvido sobre a superfície do eletrodo pré-tratado catodicamente, sobretudo em meio ácido mais concentrado, facilitando o processo de transferência de elétron.

**Figura 1. 6.** Voltamogramas cíclicos obtidos empregando EDDB pré-tratado catodicamente em solução de AMT  $0,22 \text{ mmol L}^{-1}$  (A) em diferentes concentrações de ácido sulfúrico: (a)  $0,0001 \text{ mol L}^{-1}$ , (b)  $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ , (c)  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , (d)  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . (B) Influência do pH na determinação de AMT (a)  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , (b)  $\text{HNO}_3$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  (c) pH 4,0, (d) pH 5,0, (e) pH 6,0, (f) pH 7,0 em solução de tampão fosfato  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ .



Também foi avaliado em outro estudo a resposta voltamétrica obtida para a oxidação da AMT em solução de ácido sulfúrico  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  comparada com aquelas obtidas em solução de tampão fosfato  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes valores de

pH, numa faixa de 4,0 a 7,0 e em ácido nítrico 0,10 mol L<sup>-1</sup> (Figura 1.6. B). Neste experimento é possível destacar que com o aumento do pH há deslocamento dos potenciais de oxidação para valores mais positivos e uma diminuição da intensidade da corrente, sendo que em pH 7,0 não se observa pico de oxidação. Estes resultados corroboram o mecanismo proposto com a perda de um elétron e a formação de um cátion radicalar, mas diferem do mecanismo proposto por Toledo *et al.*<sup>16</sup>, no qual ocorre a perda de um elétron do átomo C16 da cadeia alifática da molécula e a saída de um próton do átomo C17, com maior densidade de carga negativa.

Esta diferença nos mecanismos pode ser atribuída, conforme já mencionado, ao efeito do ácido sulfúrico no meio que facilita a oxidação da AMT protonada. Em relação ao ácido nítrico observou-se que o potencial de oxidação da AMT foi próximo às medidas realizadas em ácido sulfúrico, no entanto, com magnitude de corrente inferior. Assim sendo, adotou-se para os posteriores estudos a solução de ácido sulfúrico 0,10 mol L<sup>-1</sup> como eletrólito suporte.

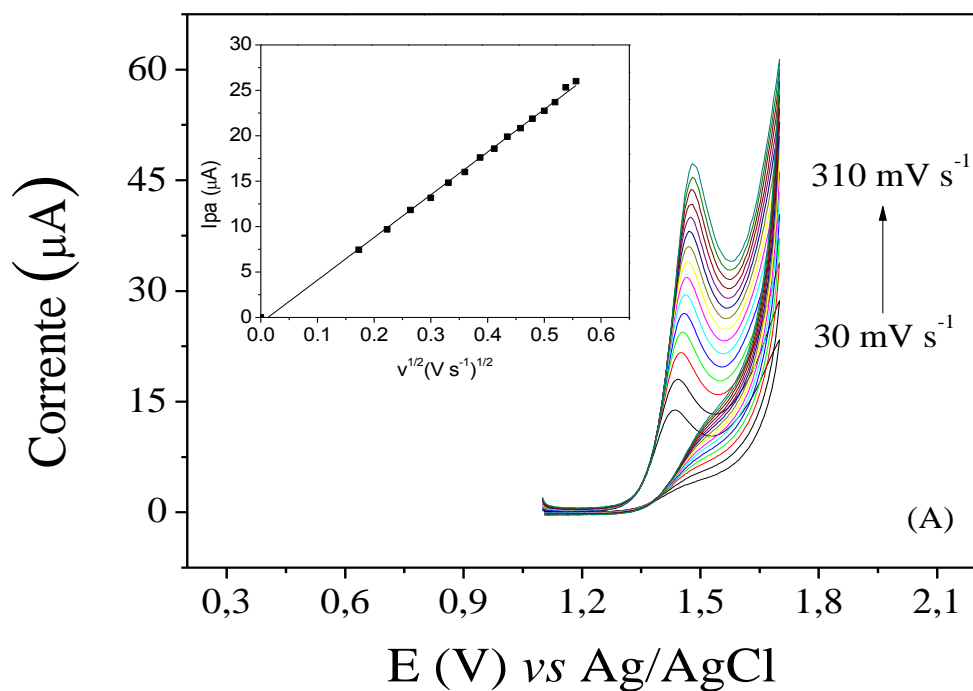
#### **1. 4. 3- Estudos da velocidade de varredura e da sua influencia no processo de oxidação da AMT**

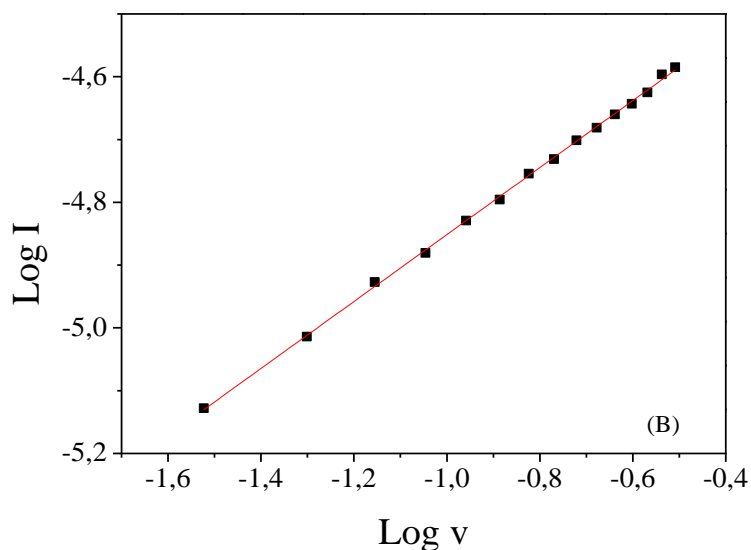
O estudo do efeito da velocidade de varredura no comportamento voltamétrico do antidepressivo AMT, foi realizado utilizando como eletrodo de trabalho o EDDB, na presença do eletrólito suporte ácido sulfúrico 0,10 mol L<sup>-1</sup>, com o objetivo identificar se o transporte de massa é realizado por processo de difusão ou de adsorção da AMT na superfície do EDDB pré-tratado catodicamente.

Para tanto, na Figura 1.7 A são apresentados os voltamogramas de AMT em concentração de 0,22 mmol L<sup>-1</sup> em diferentes velocidades de varredura (30 a 310 mV s<sup>-1</sup>). Neste estudo é possível constatar que o potencial de oxidação da AMT desloca para valores mais positivos com o aumento da velocidade de varredura, indicando características de um processo irreversível. Pode-se notar também que a intensidade de pico anódico varia linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura (inserido na Figura 1.7 A), descrita pela equação  $I_{pa} = -5,9 \times 10^{-7} + 4,7 \times 10^{-5} v^{1/2}$  ( $r = 0,996$ ), indicando que o processo de oxidação é controlado por difusão das espécies à superfície do EDDB.

Além disso, foi observada a dependência linear do logaritmo da intensidade de corrente anódica pelo logaritmo da velocidade de varredura, Figura 1. 7 B, com um coeficiente angular de 0,53, um valor muito próximo do estimado pela literatura (0,50) para sistemas controlados por difusão.<sup>87</sup>

**Figura 1. 7.** (A) Voltamogramas cíclicos obtidos empregando EDDB pré-tratado catodicamente em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  contendo  $\text{AMT}$   $0,22 \text{ mmol L}^{-1}$  em diferentes velocidades de varredura, de  $30$  a  $310 \text{ mV s}^{-1}$ . Inserido: dependência da linear da corrente anódica com  $v^{1/2}$ . (B) Dependência do log da corrente anódica com  $\log v$  para  $\text{AMT}$ .



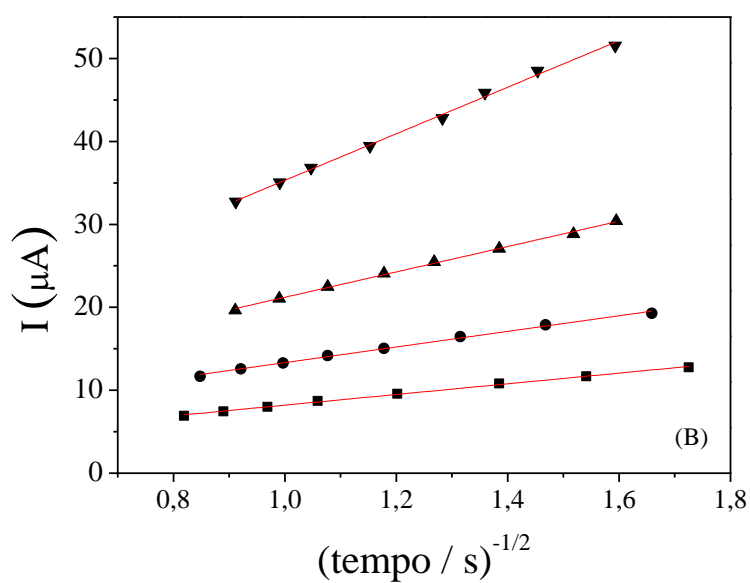
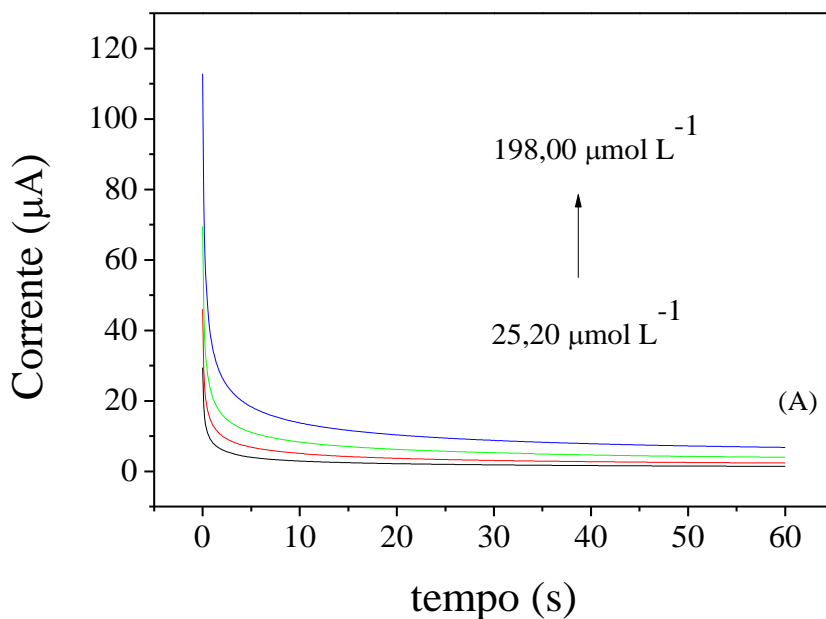


Em outro estudo, o coeficiente de difusão da AMT foi determinado experimentalmente, empregando-se a técnica de cronoamperometria, em um tempo de 60 s e fixando um potencial de 1,35 V. Neste experimento variou-se a concentração de AMT de 25,20 a 198,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  como apresentado na Figura 1. 8 A. Para esse cálculo foi utilizada a equação de Cottrell (Eq. 1) <sup>84</sup>

$$I = \frac{nFAC_oD_o^{1/2}}{\pi^{1/2}t^{1/2}} \quad (\text{Eq. 1})$$

onde  $n$  (número de elétrons) = 1 (calculado anteriormente),  $F$  é a constante de Faraday (96500 C),  $A$  é a área efetiva do eletrodo (0,085  $\text{cm}^2$ ),  $D_o$  é o coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ) e  $C_o$  é a concentração ( $\text{mol cm}^{-3}$ ). Foram construídos gráficos de  $I$  ( $\mu\text{A}$ ) vs  $t^{-1/2}$  ( $\text{s}^{-1/2}$ ) para as diferentes concentrações de AMT (Figura 1. 8 B), cujo coeficiente angular de cada equação de reta foi utilizado para o cálculo do coeficiente de difusão, encontrando-se coeficiente de difusão médio para AMT de  $4,14 \times 10^{-5} \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ .

**Figura 1. 8.** (A) Cronoamperograma de  $I_{pa}$  ( $\mu A$ ) vs tempo (s) empregando EDDB pré-tratado catódicamente em solução de  $H_2SO_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  contendo AMT em diferentes concentrações ( $25,20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $198,20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ );  $t = 60 \text{ s}$  e  $E_a = 1,35 \text{ V}$ . (B) Correlação de  $I_{pa}$  ( $\mu A$ ) vs  $t^{-1/2}$  obtidos dos cronoamperogramas variando concentrações de  $25,20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $198,20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de AMT.



#### 1. 4. 4- Escolha da técnica analítica e validação do método proposto para determinação de AMT

Para a determinação de AMT e suas figuras de mérito, foram empregadas duas técnicas de pulso, as de voltametria de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (VOQ). A influência dos parâmetros da VPD sobre a intensidade de corrente e potencial de oxidação da AMT foi investigada, sendo eles, o tempo de modulação ( $t$ ): 5 – 95 ms, a velocidade de varredura ( $v$ ): 20 – 130 mV s<sup>-1</sup> e a amplitude de pulso ( $a$ ): 30 – 130 mV. Os valores selecionados foram:  $t = 5$  ms,  $v = 70$  mV s<sup>-1</sup> e  $a = 120$  mV.

Para a técnica de VOQ, os parâmetros e respectivas faixas investigadas foram: frequência ( $f$ ): 10 – 200 Hz, amplitude ( $a$ ): 10 – 100 mV e incremento de varredura ( $\Delta E$ ): 1 – 7 mV. Os valores selecionados foram:  $f = 120$  Hz,  $a = 40$  mV e  $\Delta E = 4$  mV. Esses estudos foram realizados em solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,10 mol L<sup>-1</sup> contendo AMT numa concentração de 30,00  $\mu$ mol L<sup>-1</sup>.

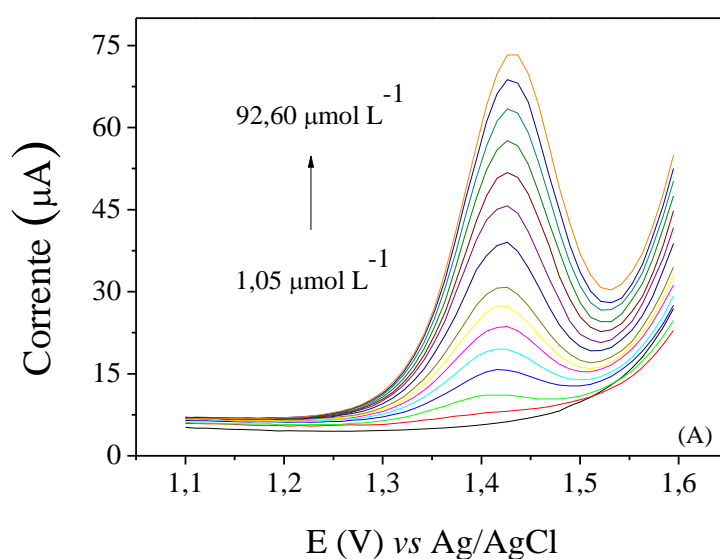
Os parâmetros experimentais otimizados foram utilizados para a construção das curvas analíticas empregando o EDDB pré-tratado catodicamente. As figuras de mérito do desempenho analítico para ambas as técnicas VPD e VOQ estão reunidos na Tabela 1.1. Por meio da análise da tabela pode-se notar que os melhores resultados em termos de sensibilidade e limite de detecção foram obtidos empregando a VPD, justificando a escolha desta técnica para determinação de AMT.

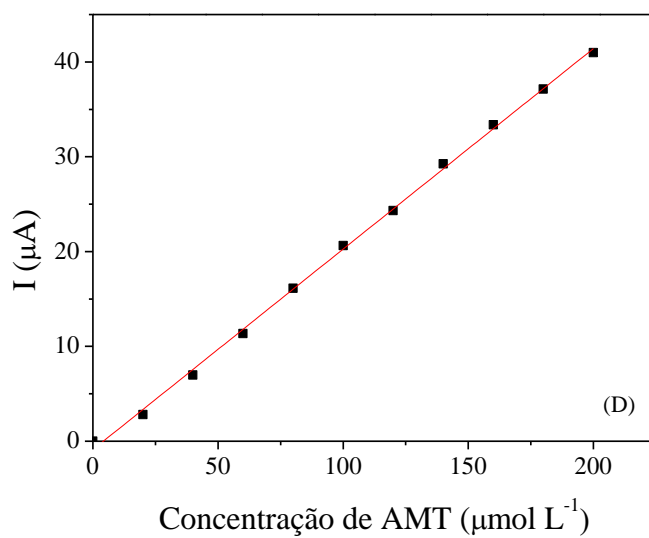
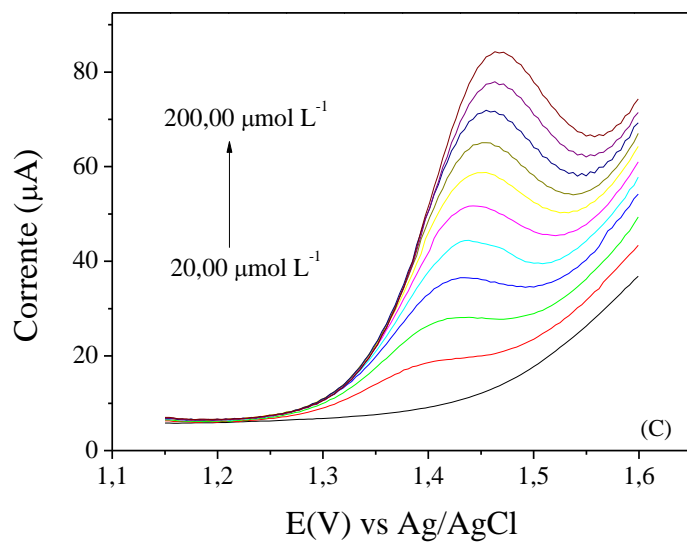
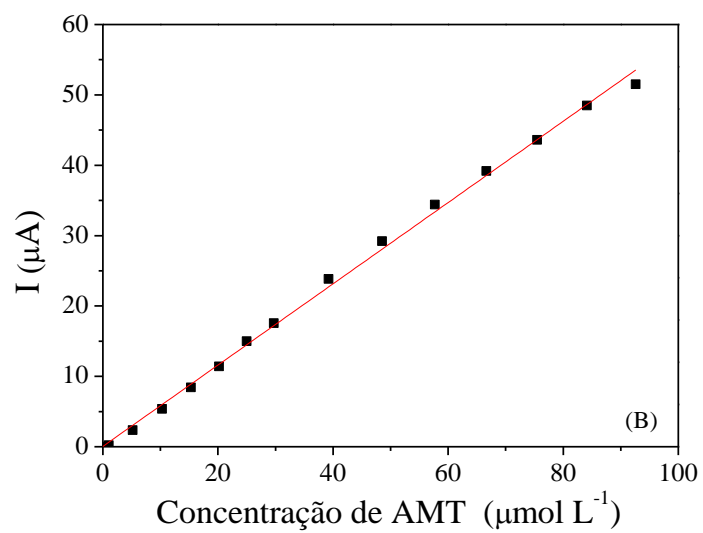
**Tabela 1.1.** Parâmetros analíticos para a determinação voltamétrica de AMT por VPD e VOQ, usando EDDB pré-tratado catodicamente.

	VPD	VOQ
Faixa Linear ( $\mu$ mol L <sup>-1</sup> )	1,05 – 92,60	20,00 – 200,00
Sensibilidade ( $\mu$ A mol <sup>-1</sup> L)	0,57	0,21
Coeficiente de correlação ( $r$ )	0,998	0,998
Limite de detecção ( $\mu$ mol L <sup>-1</sup> )	0,52	12,40

Na Figura 1.9 A é apresentado os voltamogramas de pulso diferencial obtidos por sucessivas adições de AMT em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Observa-se linearidade na faixa de concentração de  $1,05$  a  $92,60 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , descrita pela equação  $I_{pa} = 0,57 c + 5,01 \times 10^{-8}$  ( $r = 0,998$ ), onde  $I_{pa}$  é a corrente anódica em  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e  $c$  a concentração de AMT (Figura 1.9 B). Os valores calculados de limite de detecção ( $3 \text{ Sb}/m$ ) e limite de quantificação ( $10 \text{ Sb}/m$ ) foram  $0,52 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $1,75 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  respectivamente, de acordo com as recomendações da IUPAC,<sup>88</sup> onde  $Sb$  é o desvio padrão de 10 leituras do branco e  $m$  é o coeficiente angular (sensibilidade) da curva analítica. Os voltamogramas de onda quadrada também obtidos por adições sucessivas de AMT em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  são mostrados na Figura 1.9 C. Para esta técnica, a faixa linear foi de  $20,00$  a  $200,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  com equação  $I_{pa} = 0,21 c - 8,85 \times 10^{-7}$  ( $r = 0,998$ ), como mostra a Figura 1.9 D.

**Figura 1.9.** (A) Voltamograma de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ), variando a concentração de AMT em  $1,05 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $92,60 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Tempo de modulação  $5 \text{ ms}$ ; Velocidade de varredura  $70 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $120 \text{ mV}$ . (B) Correlação de  $I_{pa}$  vs  $[\text{AMT}]$ , LD de  $0,52 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $Sb/N = 3$ ) (C) Voltamograma de onda quadrada empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ), variando a concentração de AMT em  $20,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $200,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Frequência  $120 \text{ Hz}$ ; Incremento de varredura  $4 \text{ mV}$ ; Amplitude de pulso  $40 \text{ mV}$ . (D) Correlação de  $I_{pa}$  vs  $[\text{AMT}]$ , LD de  $12,40 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $Sb/N = 3$ ).





Em comparação com outros trabalhos apresentados na literatura, na Tabela 1.2 estão reunidos alguns parâmetros analíticos obtidos a partir de métodos eletroanalíticos desenvolvidos para determinação de AMT. Observa-se que em comparação com os referenciados, o método proposto apresenta satisfatório limite de detecção e simplicidade por não requerer modificação do eletrodo.

**Tabela 1.2.** Comparação do método proposto com outros métodos eletroquímicos reportados na literatura.

Técnica/sensor voltamétrico	Curva de calibração ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	LD ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Aplicação em amostras	Referência
FIA com detecção potenciométrica/ Eletrodos de filme de AMT e fosfomolibdato de AMT em PVC	50,0-10000	Não informado	Formulação farmacêutica	14
Voltametria/EPC modificado com poli (N-vinilimidazol)	1-100	Não informado	Formulação farmacêutica	18
Voltametria/ grafite modificado com poliuretano	14,9-87,40	Não informado	Não aplicado em amostras reais	16
Voltametria/sensor composto por grafite/SiO <sub>2</sub> /Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /Nb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /D NA	10,00-80,00	0,12	Formulações farmacêuticas	19
Voltametria/ EPNTC	0,0-30,00	1,61	Formulações farmacêuticas	21
Voltametria/ EDDB	1,05-92,60	0,52	Formulações	Este

LD= limite de detecção; FIA= Análise de injeção em fluxo; EPNTC= Eletrodo de pasta de nanotubos de carbono.

Posteriormente a precisão intra e inter-dia do método foi avaliada através de repetições de análises ( $n = 6$ ), em solução de AMT de três diferentes concentrações, cujos valores encontram-se dentro da faixa linear da curva analítica, abrangendo valores baixos ( $5,20 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), valores médios ( $48,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e valores altos ( $84,10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Na Tabela 1.3 pode ser observado os resultados obtidos da precisão intra-dia e inter-dia para todas essas concentrações. Nota-se que o desvio padrão relativo para as medidas intra-dia variou de 0,25 até 0,86 %, enquanto a precisão inter-dia obteve uma variação de 1,07 até 2,85 %.<sup>89</sup>

**Tabela 1.3.** Precisão e exatidão do método para a determinação de amitriptilina (AMT) utilizando EDDB com PTC.

Parâmetro	Dia	Concentrações ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )		
Concentração nominal		5,20	48,50	84,10
Concentração analisada ( $n=6$ )	1	5,10	48,60	82,90
	2	5,12	48,30	83,10
Precisão (desvio padrão relativo, %)	1	0,80	0,25	0,50
	2	0,86	0,33	0,51
Exatidão (Erro relativo, %)	1	-1,92	0,21	-1,43
	2	-1,54	-0,41	-1,19
Entre dias ( $n= 2$ )				
Concentração analisada		5,10	48,45	83,00
Precisão (desvio padrão relativo, %)		2,85	2,18	1,07
Exatidão (Erro relativo, %)		-1,92	-0,10	-1,30

Foram avaliados como possíveis interferentes os excipientes usualmente presentes nas formulações farmacêuticas comerciais (estereato de magnésio, fosfato de cálcio, dióxido de silício, talco, dióxido de titânio e lactose monoidratada) contendo como princípio ativo a AMT. Nenhum destes excipientes avaliados

apresentou eletroatividade no EDDB na janela de potencial de trabalho, mesmo em concentrações três vezes maiores que a AMT, revelando a seletividade do método para aplicação em formulação farmacêutica contendo AMT.

#### **1. 4. 5- Aplicação do método em formulações farmacêuticas**

Na Tabela 1. 4 foram apresentados os resultados obtidos na análise de diferentes amostras empregando o método proposto em comparação ao método espectrofotométrico descrito pela Farmacopéia Brasileira. Neste estudo método proposto foi aplicado em cinco medicamentos de diferentes procedências comerciais (I a V). Os resultados obtidos entre os métodos foram comparados por meio do teste *t* pareado ao nível de confiança de 95%. O valor *t* calculado (2,67) foi menor que o valor tabelado (2,77) mostrando não haver diferenças entre o método proposto e o método de referência, o que confirma a exatidão da aplicação do método em formulações farmacêuticas visando à determinação de AMT. Ademais, a curva por espectrofotômetro foi de  $Abs = 0,045 c + 0,0198$  ( $r = 0,997$ ), obtendo uma menor detectabilidade quando comparado com a curva analítica voltamétrica.

**Tabela 1. 4.** Determinação de amitriptilina (AMT) em formulações farmacêuticas pelo método voltamétrico de pulso diferencial (VPD), usando EDDB com pré-tratamento catódico, e pelo método espectroscópico de referência.

Amostras	Quantidade declarada pelo fabricante (mg/comprimido)	Método VPD* (mg/comprimido)	Método de referência* (mg/comprimido)	Er 1 (%)	Er 2 (%)
I	75	75,2±0,7	70,6±0,2	6,5	0,3
II	25	24,9±0,2	24,3±0,4	2,3	-0,5
III	25	25,1±0,3	23,3±0,1	7,9	0,4
IV	25	25,3±1,1	23,6±0,3	7,1	1,1
V	25	24,3±0,5	23,3±0,1	4,1	-2,8

valor de  $t$  calculado=2,67; valor de  $t$  tabelado 2,78, com 95% de confiança

Er<sub>1</sub> = sensor vs método referencia; Er<sub>2</sub> = sensor vs valor do rótulo

\* média aritmética de 3 medidas/amostra.

## CONCLUSÃO

A determinação de AMT utilizando EDDB com pré-tratamento catódico foi realizada com sucesso em medicamentos de dosagens diferentes. Foi constatada ausência de eletroatividade de AMT no EDDB em pH 7,0 tampão fosfato. No entanto, com emprego de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito suporte, observou-se significativo aumento na corrente de pico anódico e deslocamento do potencial de pico para valores menos positivos, confirmando o efeito do  $\text{H}_2\text{SO}_4$  na eletro-oxidação da AMT.

Além disso, em comparação com um eletrodo comercial de carbono vítreo, o EDDB apresentou um desempenho superior em relação a magnitude de corrente. Para tanto, o método de VPD desenvolvido apresentou baixo limite de detecção de  $0,52 \mu\text{mol L}^{-1}$ , satisfatória precisão intra e inter-dia e maior simplicidade quando comparado a outros métodos eletroanalíticos desenvolvidos para determinação de AMT. Além disso, utilizando o EDDB não há necessidade de limpeza ou renovação da superfície eletródica.

## Capítulo 2

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS HERBICIDAS DIURON, 2,4-D E  
TEBUTIURON COM ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM  
BORO APÓS ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA**

## 2. 1- Objetivo Geral

O Capítulo 2 tem como objetivo geral avaliar o desenvolvimento de um novo método eletroanalítico para determinação simultânea dos herbicidas DI, 2,4-D e TB em amostras de águas com EDDB pré-tratado catodicamente associado a pré-concentração por extração em fase sólida utilizando um polímero de polivinilimidazol (PVI) reticulado com trimetilpropano trimetacrilato como adsorvente

### 2. 1. 1- Objetivos específicos

® Estudar o perfil voltamétrico dos herbicidas individualmente por voltametria cíclica.

® Avaliar o tipo de pré-tratamento para determinação simultânea, estudo do efeito do eletrólito, da influência da velocidade de varredura no processo de oxidação e do coeficiente de difusão dos três herbicidas.

® Otimizar os parâmetros da técnica voltamétrica de pulso diferencial univariado e pela matriz de Doehlert e determinação das figuras de mérito com o EDDB.

® Avaliar a presença de interferentes.

® Avaliar os parâmetros de pré-concentração dos herbicidas empregado o polímero poli(vinilimidazol) como adsorvente e determinação das figuras de mérito com a inserção da extração em fase sólida.

® Avaliar da exatidão do método voltamétrico para o diuron, 2,4-D e tebutiuron usando como método de referência a cromatografia líquida de alta eficiência.

® Aplicar o método em amostras de água próximas a cultivos de cana-de-açúcar.

## 2. 2- PARTE EXPERIMENTAL

## 2. 2. 1- Reagentes e soluções

Os herbicidas diuron, 2,4-D, tebuthiuron, ametrin, hexazinona, imazetapir, glifosato, imazetapique, picoxistrabina e carbendazin foram cedidos pela Makhteshin Agan (98-100%) e as soluções estoques foram preparadas em álcool etílico absoluto (Synth). O ácido húmico (Sigma- Aldrich) foi dissolvido em uma solução de  $1,00 \text{ mol L}^{-1}$  de KOH. Ácido sulfúrico (Merck, 95-97%) e as outras soluções foram preparadas com água deionizada em sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Brasil) com resistividade superior a  $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ .

## 2. 2. 2- Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram realizadas por um potenciostato/galvanostato da Echo Chemie (PGSTAT101) em uma célula convencional de três eletrodos. O eletrodo de referência foi Ag/AgCl ( $\text{KCl } 3,00 \text{ mol L}^{-1}$ ), um espiral de fio de platina como eletrodo auxiliar e de trabalho o EDDB (8000 ppm de boro, área geométrica de  $0,24 \text{ cm}^2$ ; produzido pela Adamant, Suíça).

No início de cada dia de trabalho foi realizado o pré-tratamento eletroquímico do EDDB em uma solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,50 \text{ mol L}^{-1}$  constituído de pré-tratamento anódico  $0,5 \text{ A cm}^{-2}$  durante 30s e atódico  $-0,5 \text{ A cm}^{-2}$  durante 120s em um potenciostato MQPG-01 (Microquímica).

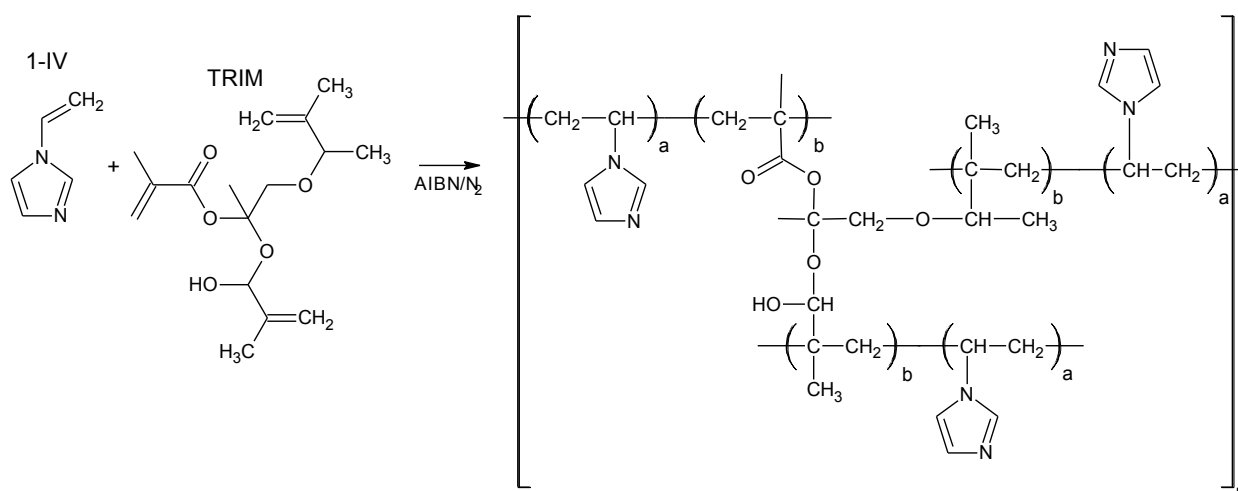
Para exatidão do método utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu LC-20AD/T LPGE KIT com um detector de arranjo de diodos (Tokyo, Japan), equipado com coluna CLC-ODS ( $250 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm id}$ , 5 mm de tamanho de partícula), pré-coluna Phenomenex ( $4,0 \text{ mm} \times 3,0 \text{ mm id}$ , 5 um de tamanho de partícula), um detector com arranjo de diodos operado em  $\lambda_{\text{max}}$  233 nm (2,4-D) e 254 nm (TB e DI) e injetou-se  $20,00 \mu\text{L}$ . A fase móvel foi adaptada da literatura com uma vazão de  $1,50 \text{ mL min}^{-1}$  que consiste em acetonitrila, água e ácido acético (50:49:1, v/v)<sup>91</sup>, operando por eluição isocrática.

### 2. 2. 3- Etapa de pré-concentração

Para a etapa de pré-concentração por extração em fase sólida foi utilizado um polímero proposto por Fonseca et al. , já explorado como adsorvente do herbicida TB em trabalhos desenvolvido no grupo de pesquisa coordenado por Tarley e colaboradores. Neste trabalho, Fonseca et al. sintetizaram polímeros de poli(vinilimidazol) reticulado com trimetilpropano trimetaacrilato (PVI).<sup>45</sup>

Nesse estudo, o polímero de PVI apresentou maior capacidade adsorviva para o herbicida TB ( $213,89 \text{ mg g}^{-1}$ ), além de uma alta área superficial, como mencionado na seção 1.2. Cabe salientar que o material já foi caracterizado por FT-IR, MEV, BET, TGA. Na síntese do polímero de PVI, utilizou-se o monômero funcional (1-vinilimidazol), agente reticulante (trimetilpropano trimetaacrilato/ TRIM) e um iniciador radicalar (2,2'- azo-bis-isobutironitrila/AIBN), como apresentado na proposta de síntese da Figura 2.1, evidenciada no trabalho de Fonseca et al.<sup>45</sup>

**Figura 2.1.** Proposta de mecanismo para a síntese do polímero de PVI.

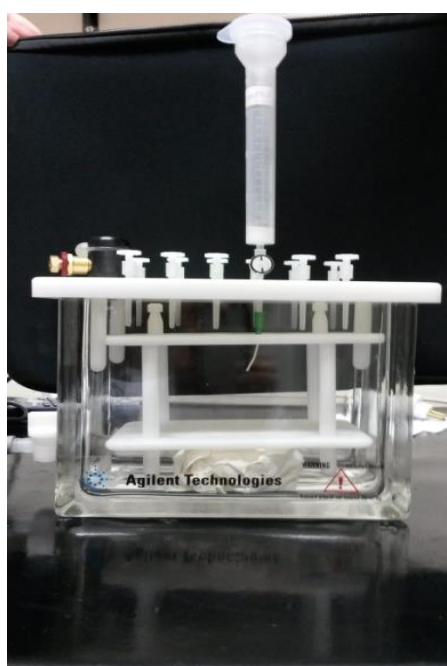


Fonte. Adaptado Fonseca *et al.* 2015.<sup>39</sup>

Assim sendo, para a etapa de pré-concentração foram utilizados 200 mg de polímero poli(vinilimidazol), PVI reticulado com trimetilpropano trimetaacrilato,<sup>45</sup> em um cartucho de extração em fase sólida (SPE) em um sistema *manifold*, como

ilustrado na Figura 2. 2. Nos estudos de pré-concentração foram percolados alíquotas de 100,00 mL dos herbicidas (pH 3,7) e eluídos em 5,00 mL de etanol. Posteriormente, o eluato foi evaporado em uma chapa de aquecimento a 40°C até a secura e recuperado em 10,00 mL de eletrólito suporte, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,10 mol L<sup>-1</sup>. As medidas voltamétricas foram realizadas sob condições otimizadas da técnica de voltametria de pulso diferencial em EDDB.

**Figura 2. 2.** Sistema *manifold* a vácuo para SPE na pré- concentração dos herbicidas DI, 2,4-D e TB.



Fonte: Arquivo pessoal

#### 2. 2. 4- Preparo de amostras

Para a aplicação em amostras reais, foram coletadas águas de lagos e poço artesiano em cidades próximas a cultivos de cana-de-açúcar em agosto de 2016. Essas amostras foram armazenadas em frascos de vidro âmbar em ácido sulfúrico 0,50 mol L<sup>-1</sup>. A água do lago I foi coletada na cidade de Tarumã/São Paulo. As amostras do lago II e a do poço artesiano foram coletadas na cidade de Assis/São Paulo. Após a coleta, as amostras foram filtradas em uma membrana de Nylon® (0,45 µm) e estocadas em freezer até as análises serem realizadas.

Para as determinações voltamétricas, uma alíquota de 100,00 mL das amostras foram ajustadas para o pH 3,7. Para tanto, essas amostras foram percoladas na coluna de SPE, posteriormente foram eluídas com 5,00 mL de etanol e evaporadas. Por fim, as amostras foram recuperadas em 10,00 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ .

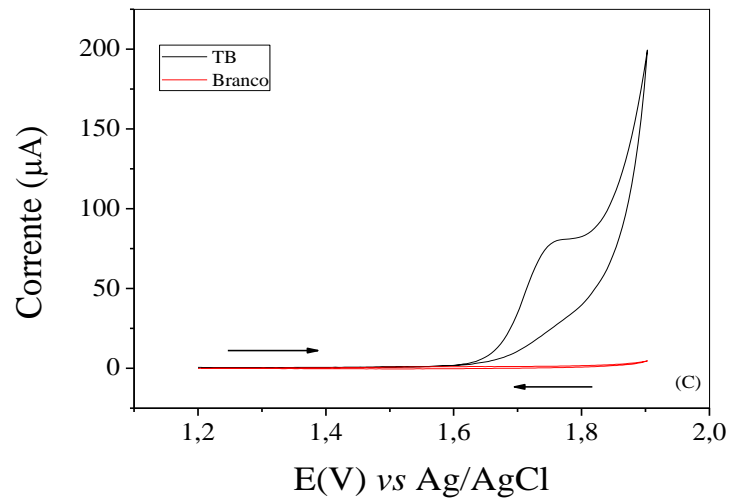
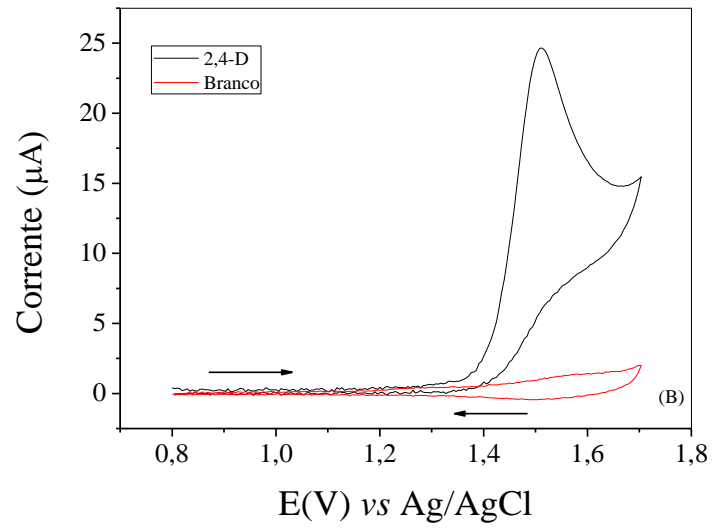
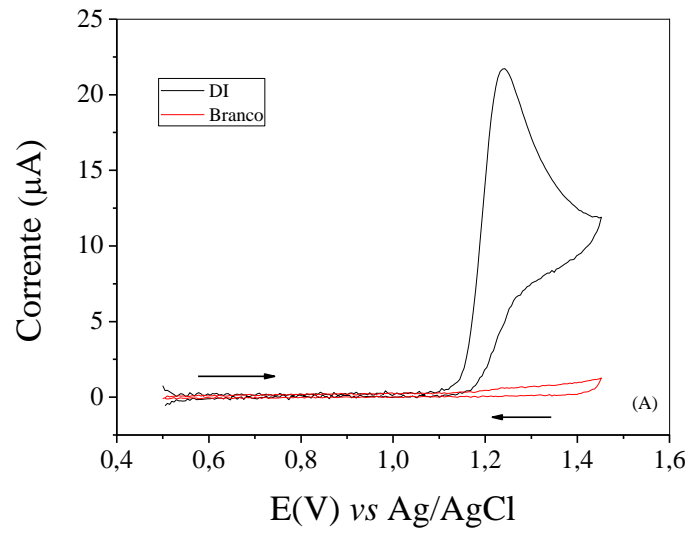
Para determinação dos herbicidas por HPLC, 5,00 mL das amostras, foram filtrados em membrana Nylon® de 0,45  $\mu\text{m}$  e 20,00  $\mu\text{L}$  do filtrado foram injetados no sistema cromatográfico, cuja separação foi realizada no modo isocrático utilizando fase móvel acetonitrila, água e ácido acético (50:49:1, v/v) e a detecção nos comprimentos de onda de 233 e 254 nm.

## 2. 3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2. 3. 1- Estudos do comportamento eletroquímico dos herbicidas sobre o EDDB

No sentido de verificar a presença de processos de oxidação e redução dos herbicidas, foram realizados experimentos preliminares de voltametria cíclica sobre a superfície do EDDB em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . Pode-se observar, por meio da Figura 2. 3 (A, B e C), a presença de um pico de oxidação nos potenciais de 1,25, 1,50 e 1,72 V, respectivamente, para DI, 2,4-D e TB e a ausência de picos de redução, mostrando que o processo de oxidação é irreversível. Em face da diferença acentuada entre potenciais de oxidação dos herbicidas, pode-se inferir que é possível efetuar a determinação simultânea dos herbicidas com o emprego do EDDB, conforme será apresentado na secção 2.3.2.

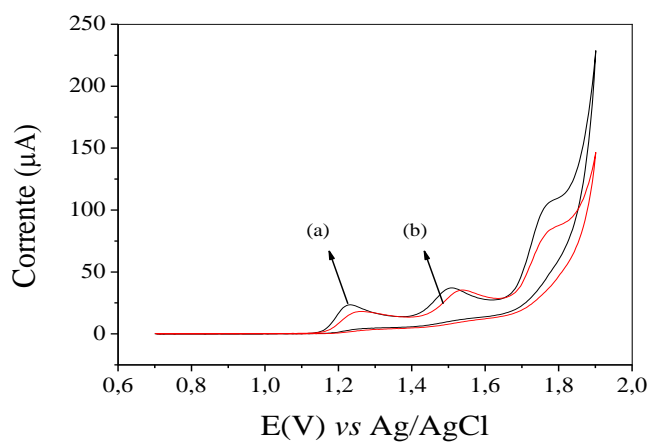
**Figura 2. 3.** Voltamogramas cíclicos obtidos empregando o EDDB (área geométrica = 0,24  $\text{cm}^2$ ) com pré-tratamento catódico ( $-0,5 \text{ A cm}^{-2}$ )  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ , velocidade de varredura de 50  $\text{mV s}^{-1}$ . (A) em solução de DI 200,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (B) 2,4-D 200,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (C) TB 400,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .



### 2. 3. 2- Estudos do efeito do pré-tratamento anódico e catódico sobre o comportamento eletroquímico do EDDB

O desempenho eletroquímico do EDDB é extremamente dependente da terminação superficial da superfície do eletrodo (em oxigênio ou hidrogênio) e assim, optou-se por realizar estudos com diferentes pré-tratamentos (anódico ou catódico), para se obter uma melhor resposta analítica e reprodutibilidade do EDDB para os herbicidas DI, 2,4-D e TB. Na Figura 2. 4 são apresentados voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de diamante dopado com boro, com pré-tratamento anódico (PTA: no qual foi aplicada uma corrente de 120 mA durante 30 s) ou pré-tratamento catódico ( PTC: aplicada uma corrente de -120 mA durante um tempo de 120 s).

**Figura 2. 4.** (A) Voltamogramas cíclicos obtidos empregando o EDDB (área geométrica = 0,24 cm<sup>2</sup>) com diferentes pré tratamentos (a) catódico e (b) anódico em soluções de DI 200,00 μmol L<sup>-1</sup>, 2,4 -D 200,00 μmol L<sup>-1</sup> e TB 400,00 μmol L<sup>-1</sup>. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,10 mol L<sup>-1</sup>, velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>.

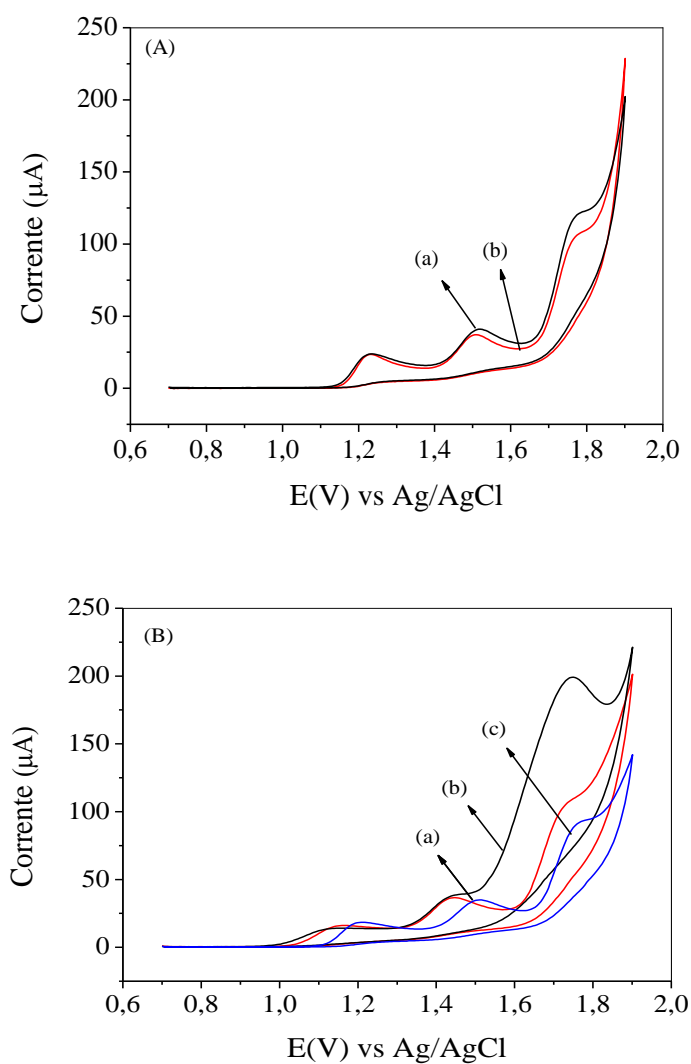


De acordo com resultados apresentados na Figura 2. 4, observou-se que na a determinação simultânea dos herbicidas com o pré-tratamento catódico sob a superfície EDDB (Fig. 2.4(a)), nota-se um perfil voltamétrico melhor definido. Sulfredini *et al.*<sup>71</sup> relataram que o pré-tratamento catódico facilita a interação das espécies eletroquímicas com a superfície, assegurando assim alta condutividade. Nas medidas realizadas após o pré-tratamento anódico (Fig. 2.4(b)) observa-se uma diminuição da intensidade de corrente para o DI, 2,4-D e TB.

### 2. 3. 3- Efeitos do eletrólito e sua concentração na oxidação dos herbicidas

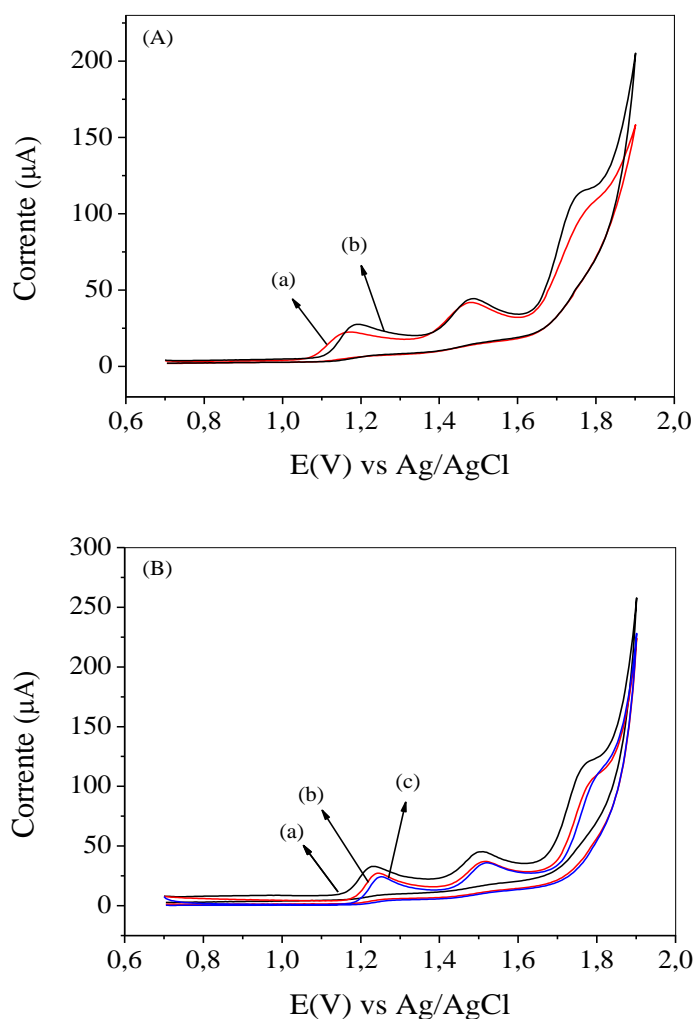
Para avaliar o efeito de diferentes eletrólitos foram realizados ensaios com ácido sulfúrico, ácido perclórico, nitrato de sódio, tampão acetato/ácido acético e tampão BR em concentração de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . Nota-se nas Figuras 2.5. A e B o perfil voltamétrico obtido para cada eletrólito na determinação simultânea dos herbicidas DI, 2,4-D e TB.

**Figura 2. 5.** Voltamogramas cíclicos obtidos empregando o EDDB (área geométrica =  $0,24 \text{ cm}^2$ ) com pré-tratamento catódico em solução DI  $200,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , 2,4 -D  $200,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e TB  $400,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  na presença de eletrólitos em concentrações iguais de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . (A) ácido sulfúrico (a), ácido perclórico (b). (B) nitrato de sódio (a), tampão acetato/ácido acético(b), tampão BR (c).



De acordo com os voltamogramas apresentados nas Figuras 2. 5 (A e B), verificou-se que a presença do ácido sulfúrico sobre o EDDB proporcionou melhores respostas em relação aos outros eletrólitos em termos de magnitude de corrente, bem como melhor definição de picos de oxidação na determinação simultânea dos herbicidas. Sendo assim, o efeito da concentração de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  foi investigado para o desempenho voltamétrico da determinação simultânea dos herbicidas, variando a concentração de 0,001 a 0,50 mol  $\text{L}^{-1}$  sobre o EDDB, conforme apresentado na Figura 2. 6 (A e B).

**Figura 2. 6.** Voltamogramas cíclicos obtidos empregando o EDDB (área geométrica = 0,24  $\text{cm}^2$ ) com pré-tratamento catódico em solução DI 200,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 2,4 -D 200,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e TB 400,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  variando as concentrações de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . (A) 0,001 mol  $\text{L}^{-1}$  (a), 0,01 mol  $\text{L}^{-1}$  (b). (B) 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$  (a), 0,30 mol  $\text{L}^{-1}$  (b) 0,50 mol  $\text{L}^{-1}$  (c); velocidade de varredura 50  $\text{mV s}^{-1}$ .



Como observado, os voltamogramas cíclicos para a oxidação simultânea dos herbicidas DI, 2,4-D e TB em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  sobre o EDDB apresentaram melhores respostas em relação a outras concentrações, sendo constatado que houve um aumento da intensidade de corrente e um perfil voltamétrico mais bem definido.

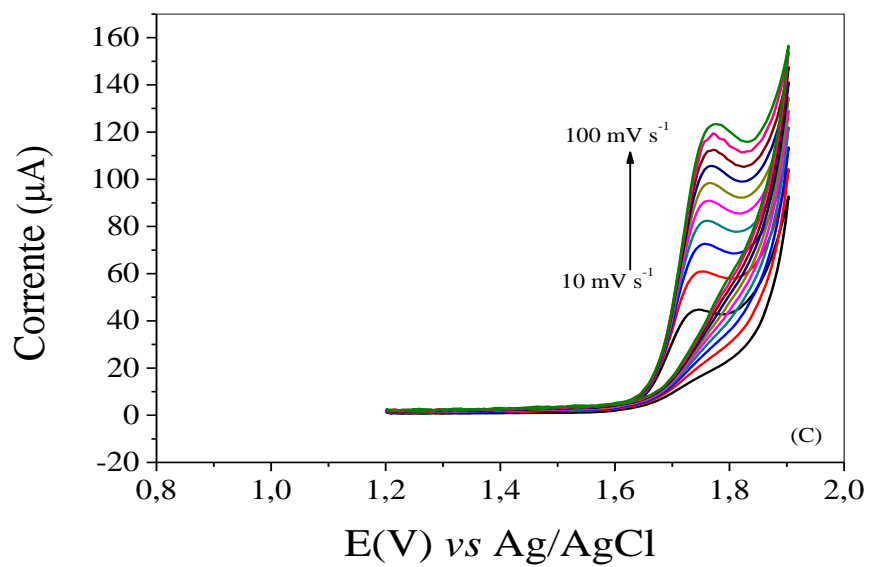
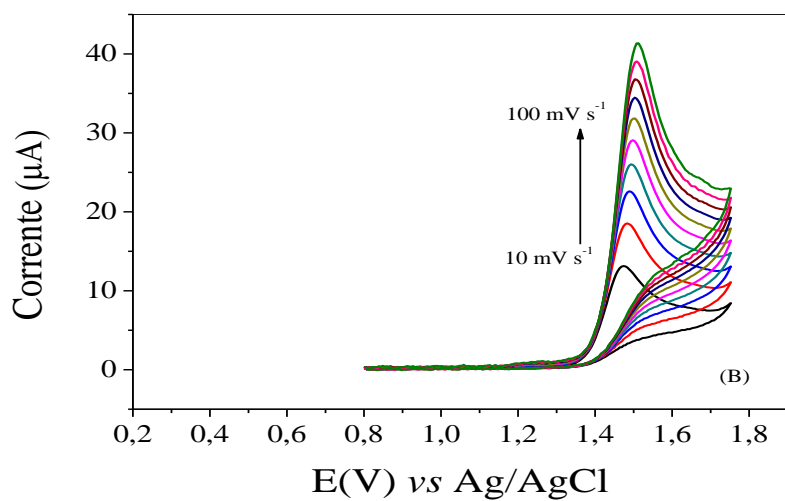
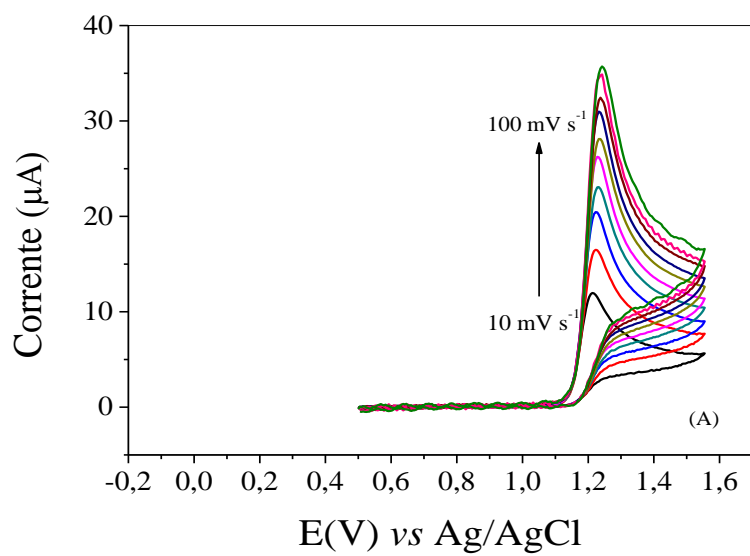
### 2. 3. 4- Efeitos da velocidade de varredura na oxidação dos herbicidas

O estudo da velocidade de varredura é utilizado para identificar se o transporte de massa é realizado por processo de difusão ou adsorção da espécie na superfície eletródica. Ele é realizado por meio da correlação existente entre a corrente de pico de oxidação e a raiz quadrada da velocidade da varredura.

Nas Figuras 2. 7 A, B e C são mostrados voltamogramas cíclicos obtidos para os herbicidas DI (A), 2,4-D (B) e TB (C), respectivamente, em uma faixa de velocidade de varredura de  $10$  a  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Nestes, são observados a correlação de pico de oxidação e a raiz da velocidade de varredura inserida nas 2. 7. Na Figura 2.7 A DI ( $I_{DI} = 7,67 \times 10^{-7} + 9,78 \times 10^{-5} v^{1/2} (\text{V s}^{-1})^{1/2}$ ;  $r = 0,998$ ); para o 2,4-D ( $I_{2,4-D} = 4,20 \times 10^{-7} + 9,71 \times 10^{-5} v^{1/2} (\text{V s}^{-1})^{1/2}$ ;  $r = 0,999$ ) Figura 2. 7 B ; e TB ( $I_{TB} = 1,28 \times 10^{-6} + 1,72 \times 10^{-4} v^{1/2} (\text{V s}^{-1})^{1/2}$ ;  $r = 0,998$ ) Figura 2. 7 C, que pela linearidade é confirmado que o transporte de massa ocorre por difusão das espécies.

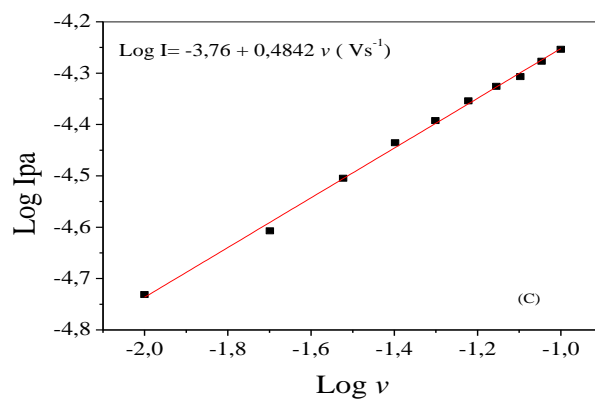
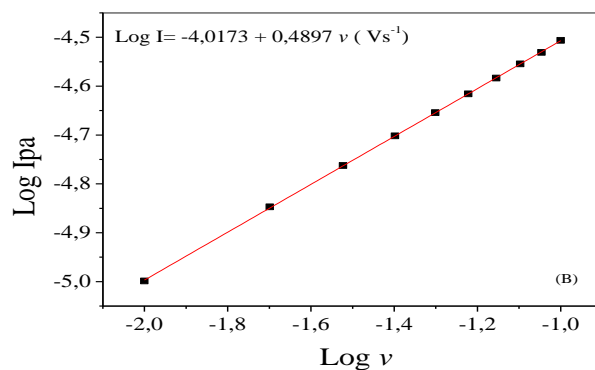
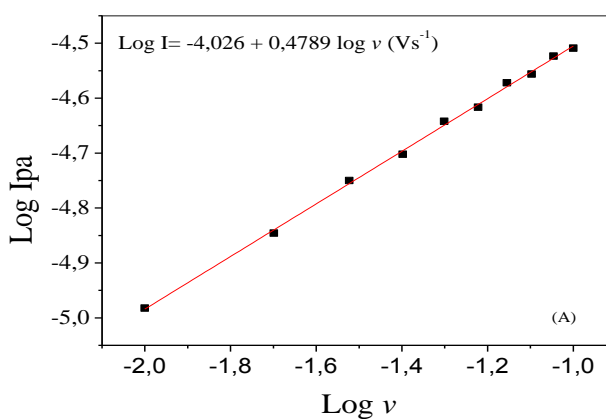
Ao observar os voltamogramas realizados com os herbicidas, pode-se notar que o potencial de oxidação do analito desloca-se para valores de potenciais mais positivos com o aumento da velocidade de varredura, este deslocamento é típico de sistemas totalmente irreversíveis.

**Figura 2.7.** Voltamogramas cíclicos obtidos empregando EDDB pré-tratado catodicamente em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  contendo (A) DI  $200,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  (B) 2,4 -D  $200,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  (C) TB  $400,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  em diferentes velocidades de varredura, de  $10$  a  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . (Gráfico inserido) Dependência da linear da corrente anódica com  $v^{1/2}$ .



Para confirmar o processo de difusão, pode-se observar nas Figuras 2. 8 (A, B e C) a dependência do logaritmo da intensidade de corrente anódica pelo logaritmo da velocidade de varredura. Os coeficientes angulares para os herbicidas DI (A), 2,4-D (B) e TB (C) foram próximos de 0,5, corroborando com o valor estimado na literatura para sistema controlado pela difusão das espécies.<sup>87</sup>

**Figura 2. 8.** Dependência do Log da corrente anódica com Log  $v$  (A) DI (B) 2,4-D (C) TB.



### 2. 3. 5- Determinações do coeficiente de difusão de diuron, 2,4-D e tebutiuron

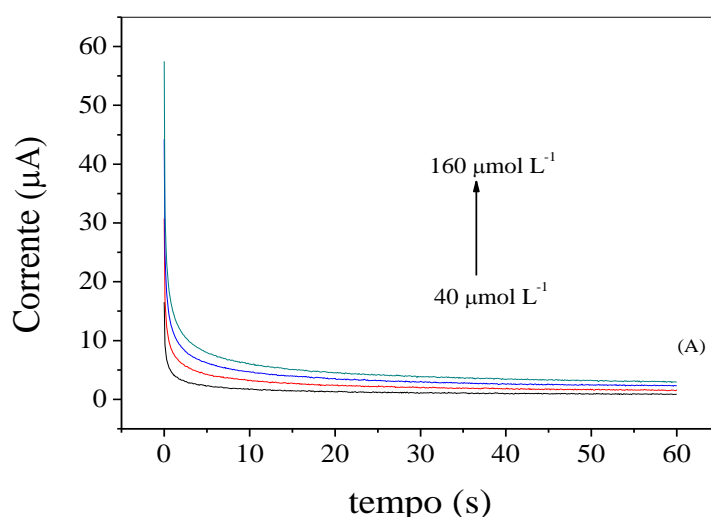
A técnica de cronoamperometria foi empregada para a determinação do coeficiente de difusão dos herbicidas DI, 2,4-D e TB. Neste estudo, em tempos de 60s, os potenciais de oxidação foram fixados em 1,24 V (DI), 1,49 V (2,4-D) e 1,74 V (TB), variando a concentração dos analitos de 40,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  a 160,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , conforme verificado nos amperogramas das Figuras 9.

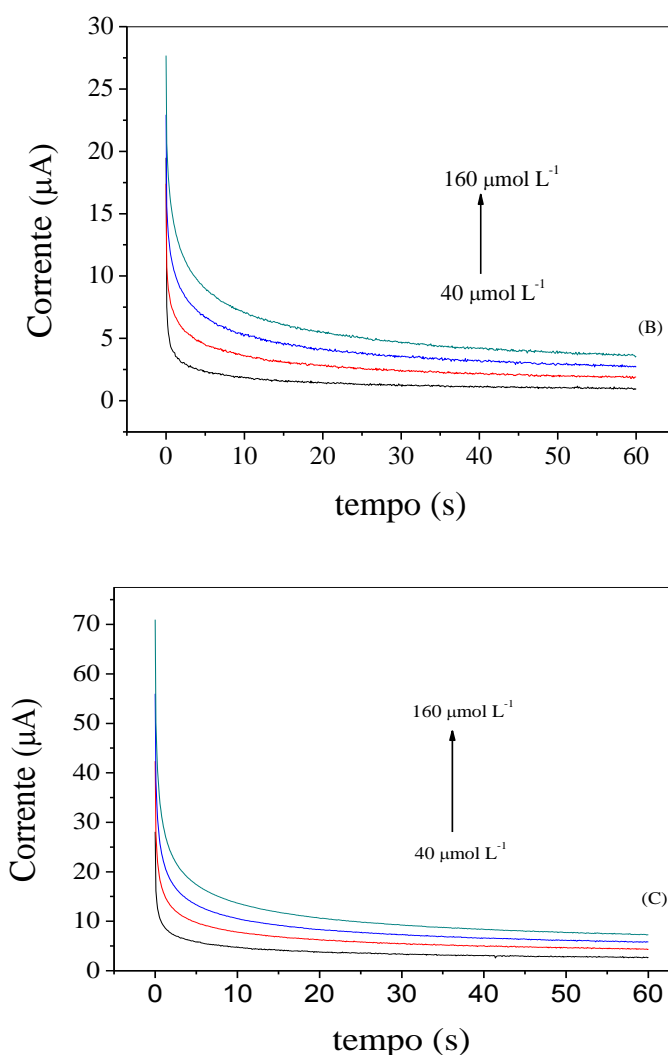
Para o analito eletroativo com coeficiente de difusão  $D$ , a corrente observada para a reação eletroquímica na condição limite de transporte de massa é descrita pela equação de Cottrell (1):

$$I = \frac{nFAC_o D_o^{1/2}}{\pi^{1/2} t^{1/2}} \quad (1)$$

em que,  $n = 2$ ,  $F$  é a constante de Faraday (96500 C),  $A$  é a área efetiva do eletrodo ( $\text{cm}^2$ ),  $D_o$  é o coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ) e  $C_o$  é a concentração ( $\text{mol cm}^{-3}$ ).

**Figura 2. 9.** Cronoamperograma de  $I_{pa}$  ( $\mu\text{A}$ ) vs tempo (s) empregando EDDB pré-tratado catodicamente em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1  $\text{mol L}^{-1}$  contendo DI(A); 2,4-D (B); TB(C) em diferentes concentrações (40  $\mu\text{mol L}^{-1}$  a 160  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ).



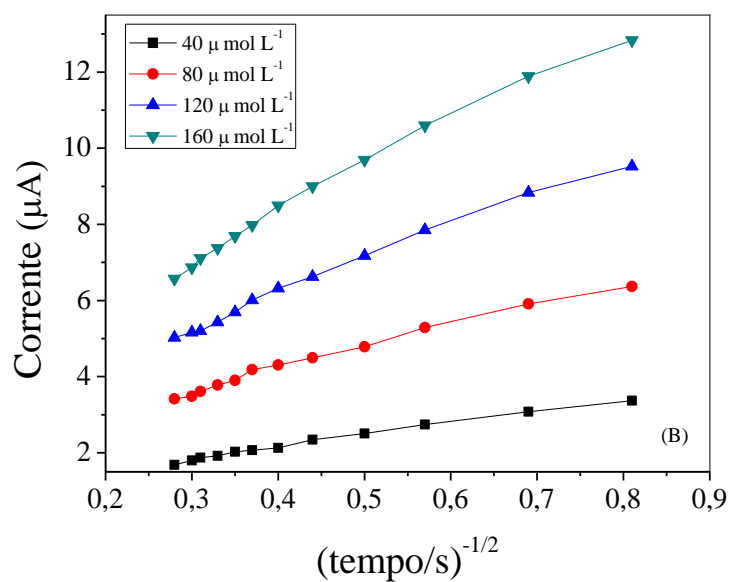
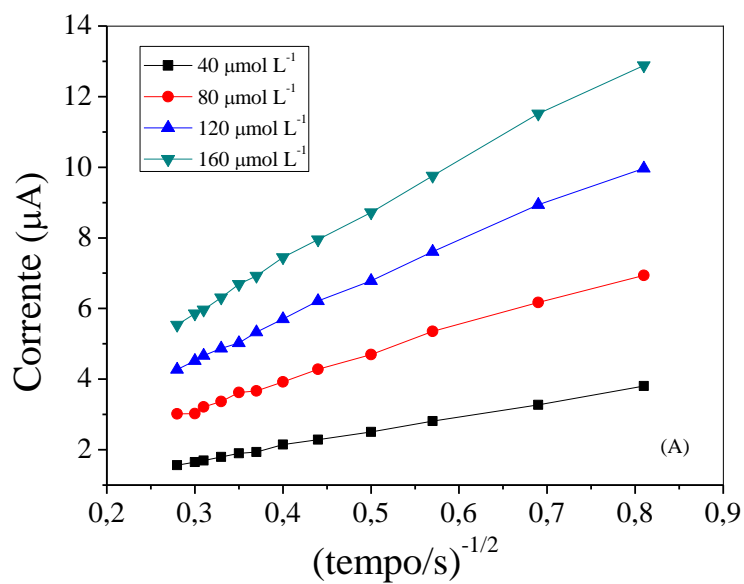


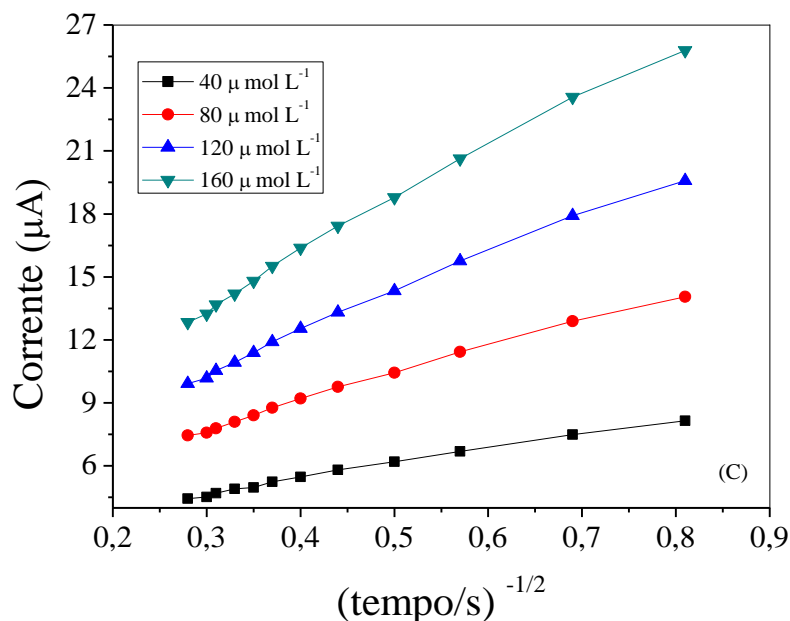
Para o cálculo do número de elétron, empregou-se o voltamograma obtido para os herbicidas em solução de ácido sulfúrico (Figura 3 A, B e C) e a equação  $E_p - E_{p/2} = 47,7/\alpha n$ ,<sup>84</sup> onde  $E_p$  e  $E_{p/2}$  é o potencial de oxidação e o potencial de meia onda, respectivamente,  $\alpha$  é o coeficiente de transferência (0,5 para sistemas irreversíveis) e  $n$  é o número de elétrons transferidos. Calculou-se o número de elétrons transferidos no processo de oxidação dos herbicidas sobre o EDDB pré-tratado catódicamente. Os valores obtidos de  $n$  foram 1,95, 190, 1,91 para DI, 2,4-D e TB, respectivamente.

Com os estudos realizados (Fig. 2. 8) foram construídos gráficos lineares de  $I$  (µA) vs  $t^{-1/2}$  (s<sup>-1/2</sup>) em diferentes concentrações, cujo coeficiente angular foi utilizado

para o cálculo dos coeficientes de difusão de cada herbicida, como demonstrado por meio das Figuras 2. 10 (A, B e C).

**Figura 2. 10.** Gráficos de  $I_{pa}$  ( $\mu A$ ) vs  $t^{-1/2}$  obtidos dos cronoamperogramas de DI(A); 2,4-D (B);TB (C).





Os gráficos de  $I$  ( $\mu\text{A}$ ) vs  $t^{-1/2}$  ( $\text{s}^{-1/2}$ ) para cada herbicida, possibilitou tirar informações empregando a equação de Cottrell mencionada anteriormente. Portanto, os valores obtidos de coeficiente difusional para DI, 2,4-D e TB, foram  $1,02 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ,  $9,6 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ,  $3,10 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ , respectivamente. Não existem valores de  $D_0$  para os herbicidas 2,4-D e TB na literatura, entretanto, no trabalho de Mugadza *et al*,<sup>48</sup> utilizando o ECV modificado com níquel tetraamino- fitalocianina, encontram-se valores de  $D_0$  para o DI de  $6,43 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ .

### 2. 3. 6- Otimização das condições voltamétricas e curva analítica

A otimização das técnicas voltamétricas é de extrema importância para se obter resultados mais satisfatórios em termos de sensibilidade e, por consequência menores limites de detecção e quantificação. Inicialmente, um estudo univariado acerca dos parâmetros das técnicas de VPD e VOQ foi realizado com intuito de estimar qual das referidas técnicas apresenta melhor desempenho analítico para determinação simultânea dos herbicidas.

Para VPD, os parâmetros e os níveis estudados foram: tempo de modulação ( $t$ ): 2 – 40 ms, a velocidade de varredura ( $v$ ): 40 – 120  $\text{mV s}^{-1}$  e a amplitude de pulso ( $a$ ): 30 – 140 mV. Esses estudos foram realizados em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,10  $\text{mol L}^{-1}$  contendo 50,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de DI e 2,4-D e 150  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de TB em uma faixa de

potencial de 0,9 a 1,85 V. Os valores selecionados foram:  $t = 2$  ms,  $v = 80$  mV s<sup>-1</sup> e  $a = 100$  mV. Para a VOQ, os parâmetros e os níveis estudados foram: frequência ( $f$ ): 20 – 140 Hz, amplitude ( $a$ ): 10 – 80 mV e incremento de varredura ( $\Delta E$ ): 1 – 6 mV. Os valores selecionados foram:  $f = 100$  Hz,  $a = 40$  mV e  $\Delta E = 4$  mV.

Os parâmetros experimentais otimizados univariadamente foram utilizados como comparação das técnicas voltamétricas e os experimentos por VPD obtiveram resultados mais satisfatórios quando comparado com VOQ. Neste estudo, a VPD apresentou intensidades de correntes maiores quando se comparado a VOQ.

Para tanto, os parâmetros da VPD ainda foram estudados com a otimização multivariada, que tem como função avaliar simultaneamente todos os fatores selecionados levando em consideração também suas interações. No nosso grupo de pesquisa, essa ferramenta é bastante utilizada para otimizar técnicas voltamétricas. Entre os estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa, podem-se destacar metodologias desenvolvidas para a determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol,<sup>91</sup> ácido úrico e PAR,<sup>92</sup> entre outros.<sup>93</sup>

Desta forma a otimização final dos parâmetros de VPD foi realizada mediante o uso da matriz de Doehlert,<sup>94</sup> como mostrado na Tabela 2. 1. Esta matriz é composta por 13 ensaios diferentes, sendo o ponto central (melhores condições da triagem experimental) o primeiro ensaio realizado. Adotou-se a desejabilidade individual ( $D_i$ ) como resposta para a matriz de Doehlert.

De um modo geral, esta ferramenta consiste em primeiramente converter as diversas respostas  $y_i$  ( $i = 1, 2, \dots, m$ ) em funções de desejabilidade individuais ( $d_i$ ) que varia de  $0 \leq d_i \leq 1$ . A condição  $d_i=1$  é atribuída à resposta desejada e  $d_i=0$  para a resposta que estiver fora da região aceitável. A função de desejabilidade individual é calculada pela equação 2 para o caso de se desejar a maximização das respostas estudadas.

$$d_i = \left( \frac{y_i - L}{H - L} \right) \quad (2)$$

onde,  $y_i$  é a resposta obtida pelo experimento, L e H significam a maior e a menor resposta, respectivamente, observada no conjunto de respostas consideradas.

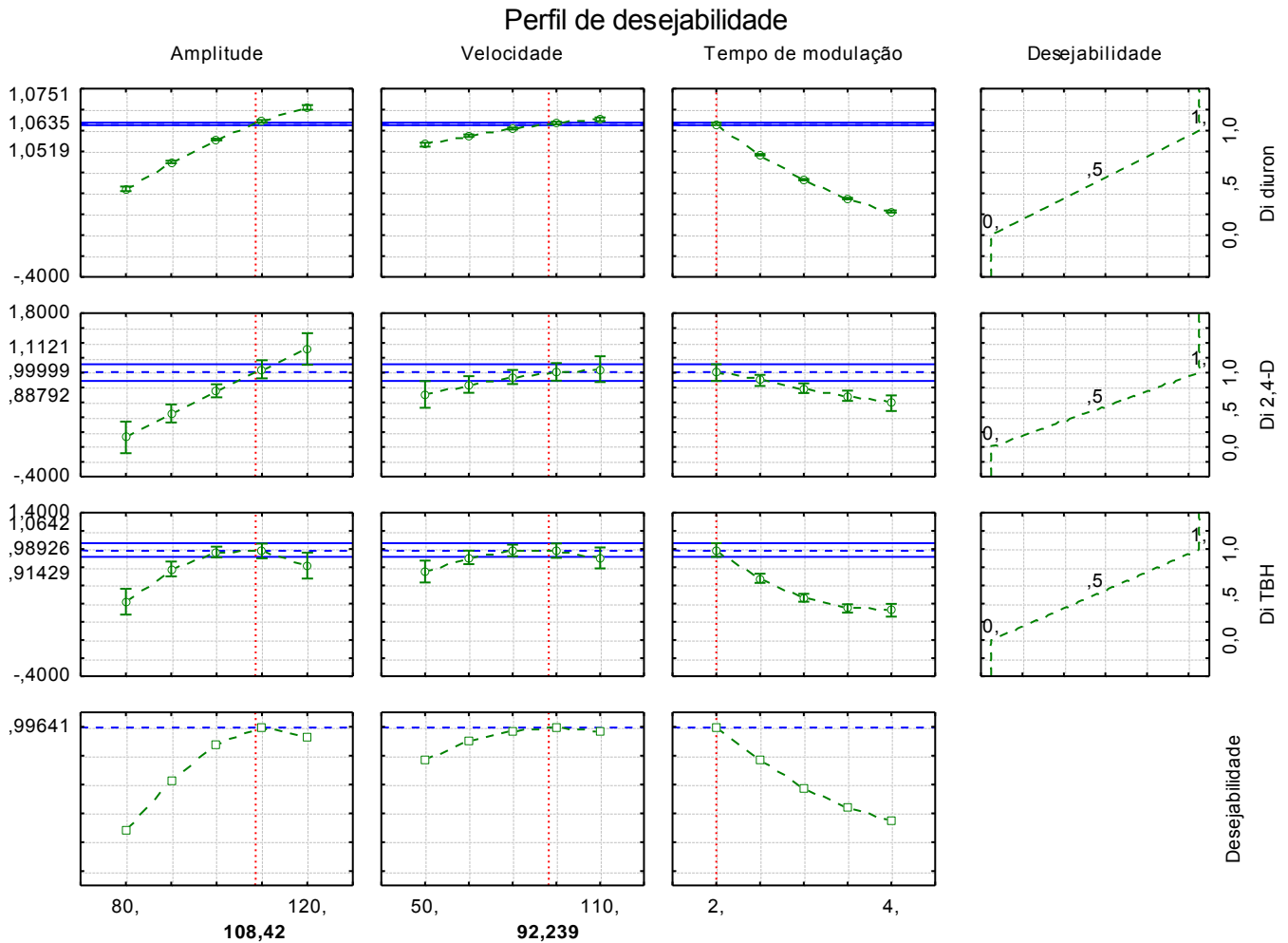
**Tabela 2. 1.** Matriz de Doehlert utilizada para otimização das variáveis da técnica de voltametria de pulso diferencial.

Ensaio	amplitude (mV)	Velocidade de varredura (mV s <sup>-1</sup> )	Tempo de modulação (ms)	Di diuron	Di 2,4-D	Di tebutiuron
1	0 (100)	0 (80)	0 (3)	0,39	0,56	0,53
1	0 (100)	0 (80)	0 (3)	0,38	0,53	0,52
1	0 (100)	0 (80)	0 (3)	0,38	0,51	0,55
2	1 (120)	0 (80)	0 (3)	0,60	1	0,37
3	0,5 (110)	0,866 (110)	0 (3)	0,56	0,86	0,15
4	0,5 (110)	0,289 (90)	0,817 (4)	0,24	0,62	0,38
5	-1 (80)	0 (80)	0 (3)	0	0	0
6	-0,5 (90)	-0,866 (50)	0 (3)	0,13	0,06	0,62
7	-0,5 (90)	-0,289 (70)	-0,817 (2)	0,62	0,32	0,81
8	0,5 (110)	-0,866 (50)	0 (3)	0,36	0,54	0,28
9	0,5 (110)	-0,289 (70)	-0,817 (2)	1	0,93	0,89
10	-0,5 (90)	0,866 (110)	0 (3)	0,28	0,38	0,11
11	0 (100)	0,577 (100)	-0,817 (2)	0,94	0,77	1
12	-0,5 (90)	0,289 (90)	0,817 (4)	0,09	0,19	0,25
13	0 (100)	-0,577 (60)	0,817 (4)	0,05	0,25	0,48

\* Os primeiros números representados são os valores codificados da matriz de Doehlert e os números entre parênteses são os valores reais das variáveis,

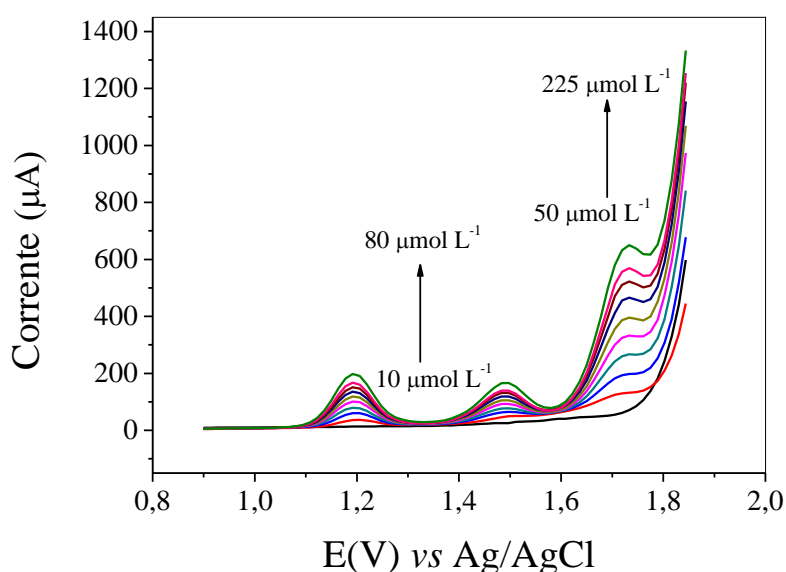
Desta forma, obteve-se por meio do programa STATISTICAL (Versão 7.0) os melhores parâmetros encontrados para a técnica de voltametria de pulso diferencial, como apresentado no diagrama de resposta, Figura 2. 11. As melhores condições encontradas para a técnica de VPD foram amplitude de pulso de 108,4 mV, velocidade de varredura de 92,4 mV s<sup>-1</sup> e tempo de modulação 2 ms.

**Figura 2. 11.** Diagrama de desejabilidade das respostas obtidas no planejamento fatorial no intervalo de confiança de 95%.



A construção das curvas analíticas foram realizadas nas condições otimizadas da técnica de pulso diferencial, variando as concentrações de 10,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  a 80,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para DI e 2,4-D e de 50,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  a 225,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de TB, como apresentado na Figura 2. 12.

**Figura 2. 12.** Voltamogramas de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ), variando a concentração de DI e 2,4-D em  $10,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $80,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e TB de  $50,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $225,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Tempo de modulação 2 ms; Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,42 \text{ mV}$ .



Após a construção da curva analítica, por meio das Figuras 2. 13 (A, B e C), foram calculados os limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ) do método com as recomendações da IUPAC,<sup>88</sup> de acordo com as equações 3 e 4:

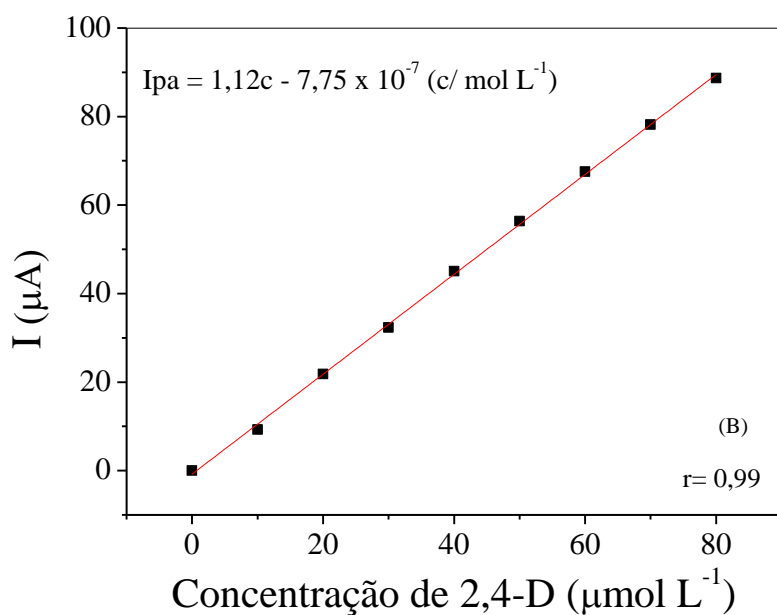
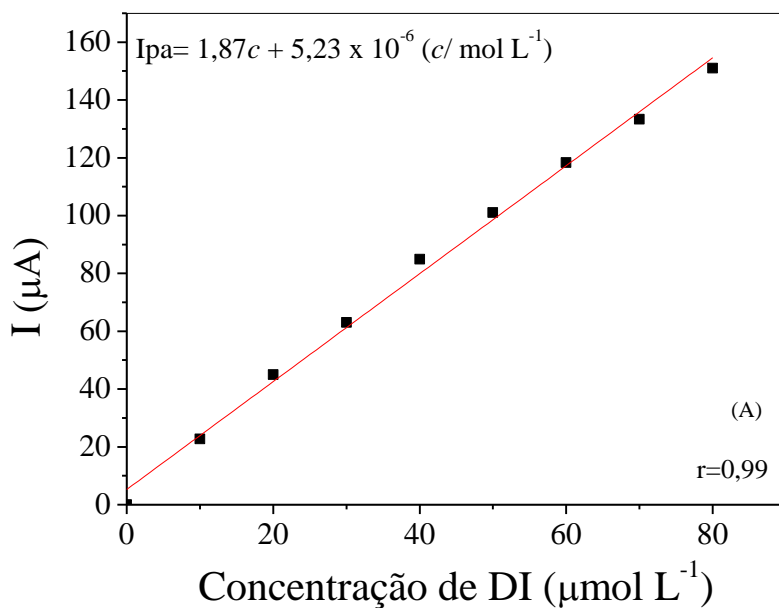
$$LD = \frac{3xs_b}{b} \quad (3)$$

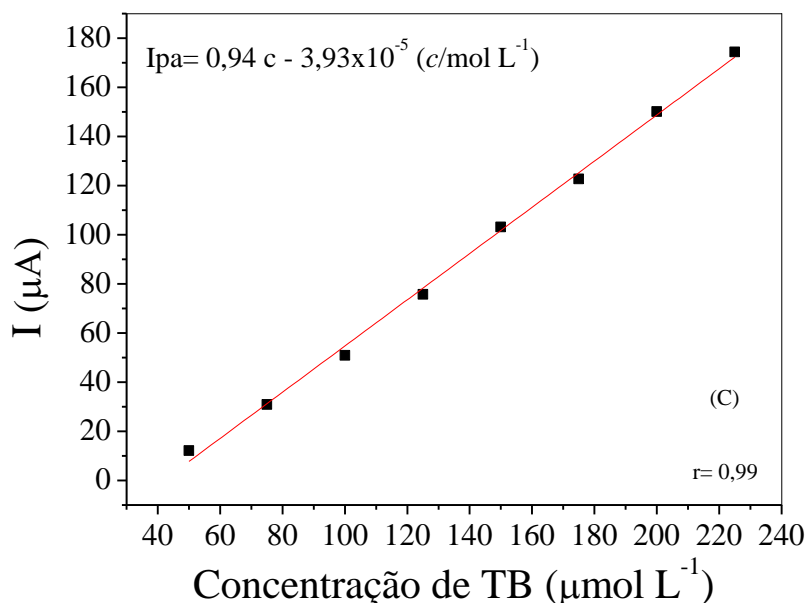
$$LQ = \frac{10xs_b}{b} \quad (4)$$

onde  $s_b$  é o desvio padrão do branco para 10 medidas e o  $b$  é o coeficiente angular da curva analítica. Portanto, foram obtidos os limites de detecção  $1,46 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $340,31 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) e quantificação de  $4,37 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  para o DI, assim como  $3,20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $707,32 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) e  $9,81$  para o 2,4-D, respectivamente. Para o TB os limites de

detecção e quantificação foram de  $13,64 \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $3114,14 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e  $26,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente.

**Figura 2. 13.** (A) Curva analítica para o DI; (B) 2,4-D; (C) TB. Tempo de modulação 2 ms; Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,42 \text{ mV}$ .  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ).





A precisão intra e interdia do método do sensor de EDDB foram avaliados a partir do desvio padrão relativo ( $N = 10$ ) para as concentrações de  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$  (menor concentração) e  $60,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  (maior concentração) para os herbicidas DI e 2,4-D em meio de ácido sulfúrico  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , como apresentado na Tabela 2. 2. Para o DI a precisão intradia variou de 0,18 a 1,76%, quando se avaliou a precisão interdias a precisão apresentada foi de 1,25 a 2,42%. Para o 2,4-D os valores obtidos foram de 0,24 a 1,56 % e de 0,71 a 2,38 %, nos estudos de precisão intra e interdias, respectivamente. Para o TB o estudo foi semelhante aos outros herbicidas, entretanto, foram utilizadas concentrações de menor e maior valor de 75,00 a 175,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente, rendendo valores de precisão de 0,16 a 2,16% (intradias) e 0,82 a 1,91% (inter-dias). Ademais, pode-se inferir que os valores de precisão para a determinação simultânea dos herbicidas apresentam adequada repetibilidade quando utilizado o EDDB.

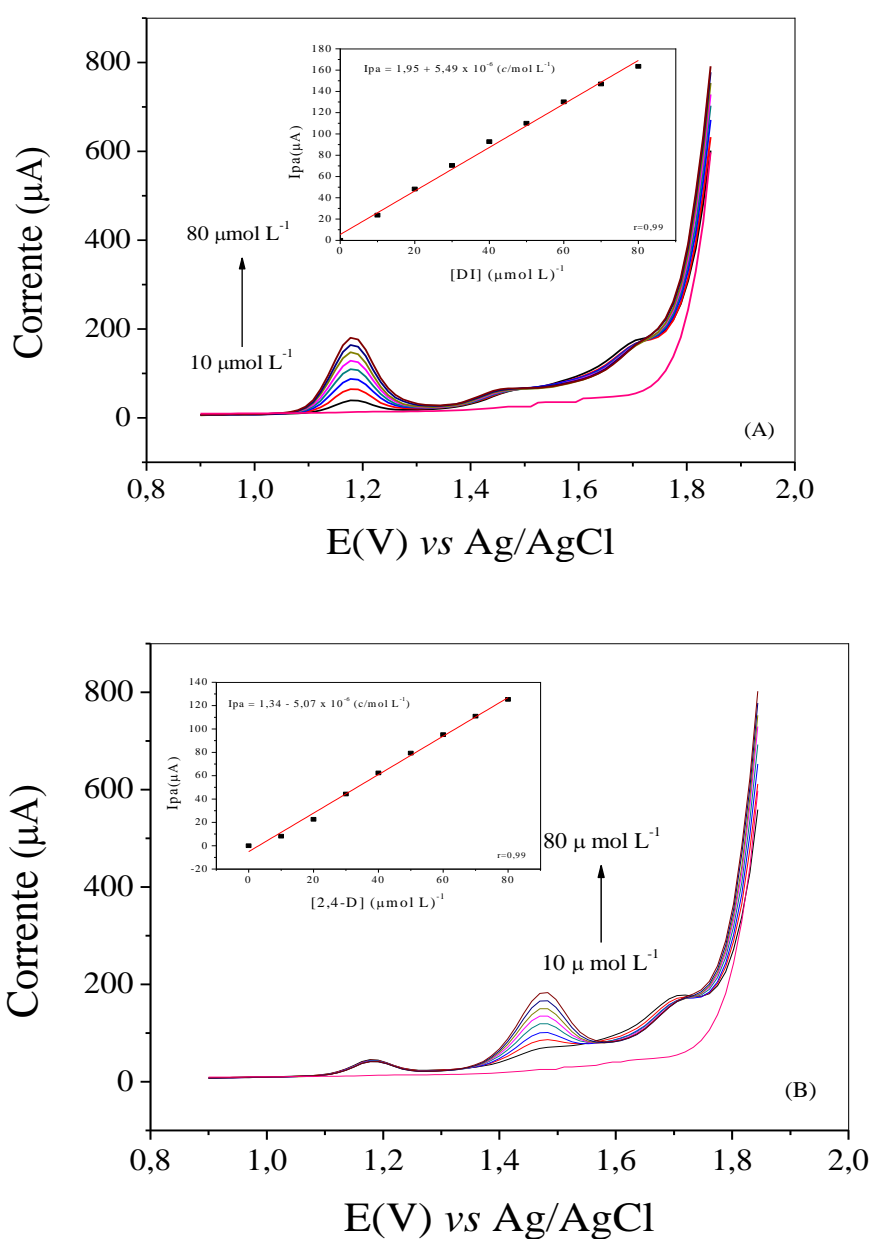
**Tabela 2. 2.** Precisão e exatidão do método para determinação dos herbicidas DI, 2,4-D e TB utilizando o EDDB.

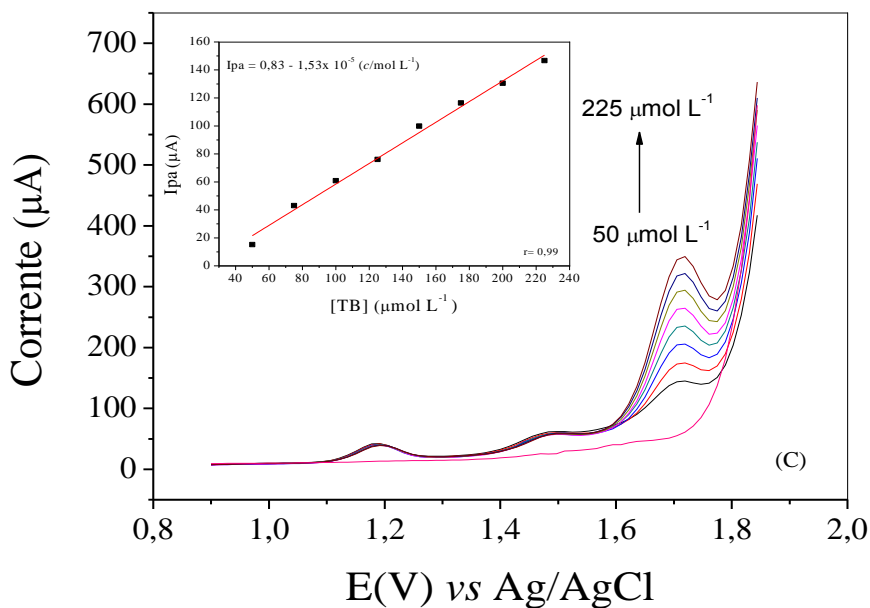
Parâmetro	Dia	Concentração Nominal ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )					
		Di		2,4-D		TB	
Concentração Nominal		20,00	60,00	20,00	60,00	75,00	175,00
Concentração Determinada (n=10)	1	20,63	59,30	20,63	62,13	75,30	176,25
	2	19,84	60,59	20,51	61,35	76,59	174,33
Precisão (desvio padrão relativo %)	1	1,06	0,86	0,97	0,64	2,16	1,11
	2	1,76	0,18	1,56	0,24	1,28	0,16
Exatidão (erro relativo %)	1	3,15	-1,16	3,15	3,55	0,40	0,71
	2	-0,80	0,98	2,55	2,25	2,12	-0,38
Entre Dias (n=2)							
Concentração Determinada		20,23	59,93	20,57	61,74	75,90	173,80
Precisão (desvio padrão relativo %)		2,42	1,25	2,38	0,71	1,91	0,82
Exatidão (erro relativo %)		1,15	-0,12	2,85	2,90	1,20	-0,68

A influência de diferentes concentrações dos herbicidas sobre a eficiência de separação dos picos de oxidação também foi analisada. A Figura 2.14 A mostra que concentrações crescentes de DI ( $10,00$  a  $80,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) não alteram o pico de oxidação do 2,4-D e do TB. Adicionalmente, a sensibilidade da curva analítica para DI nesta condição, não difere significativamente daquela apresentada na Figura 2.13(A). Cabe salientar que neste estudo as concentrações de 2,4 D e TB foram fixadas em  $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $50,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ , as quais apresentaram um desvio padrão relativo (DPR) de 7,6 e de 8,3%, respectivamente.

Na Figura 2.14 B a concentração de 2,4-D foi variada e fixou as concentrações de DI ( $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e TB ( $50,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), e apresentou DPR de 1,8% para o DI e 4,6% para o TB. Já na figura 2.14 C a concentração DI e 2,4-D foi fixada em  $10,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  e variou a concentração do herbicida TB de  $50,00$  a  $225,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ , sendo possível observar um DPR de 1,8% para o DI e 4,6% para o TB.

**Figura 2. 14.** Voltamogramas de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). (A) variando a concentração de DI em  $10,00$  a  $80,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e fixo  $10,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de 2,4-D e  $50,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de TB. (B) 2,4-D em  $10,00$  a  $80,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e fixo  $10,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de DI e  $50,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  TB. (C) variando a concentração de TB em  $50,00$  a  $225,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e fixo  $10,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de DI e 2,4-D. (gráfico inserido  $I_{pa}$  vs [Herbicidas]). Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,4 \text{ mV}$ ; tempos de modulação  $2 \text{ ms}$ .





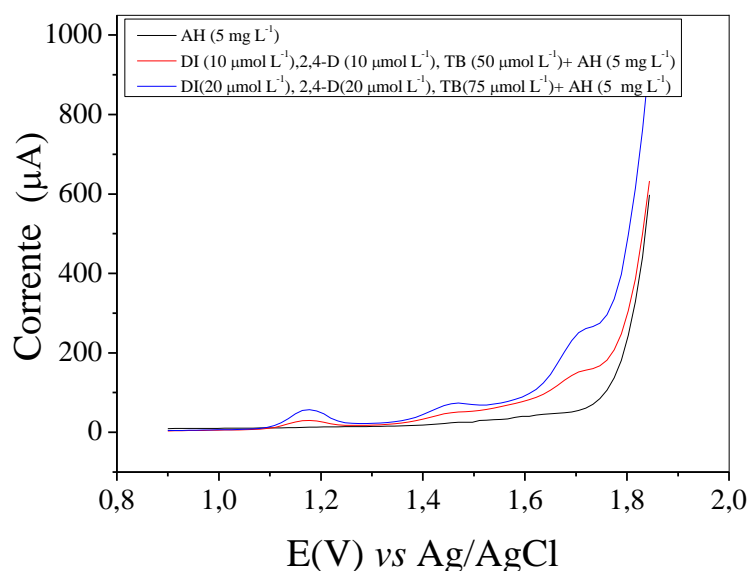
### 2. 3. 7- Estudos de Interferentes

Nas condições otimizadas da técnica de VPD, em ácido sulfúrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , foram realizados estudos de interferentes para avaliar o desempenho do método na presença de outros pesticidas. Dentre os pesticidas analisados (ametrin, hexazinona, imazetapir, glifosato, imazetapique e picoxistrabina), nenhum apresentou eletroatividade com o EDDB nas condições utilizadas no método na faixa de potencial de  $0,90$  a  $1,85 \text{ V}$ . Para esse estudo, as concentrações dos herbicidas DI, 2,4-D e TB foram de  $10,00$ ,  $10,00$  e  $50,00 \text{ µmol L}^{-1}$ , respectivamente, e os possíveis interferentes mencionados com uma concentração de  $50,00 \text{ µmol L}^{-1}$ . Entretanto, a presença destes herbicidas não alterou na determinação simultânea de DI, 2,4-D e TB.

O ácido húmico (AH) também foi avaliado como um possível interferente, pois o AH faz parte dos principais constituintes do húmus natural, que apesar de não terem uma estrutura definida, possuem uma predominância de grupos alifáticos.<sup>95</sup> Portanto, foi avaliado o AH em concentrações de  $1,00$  a  $5 \text{ mg L}^{-1}$ <sup>96</sup> na ausência e

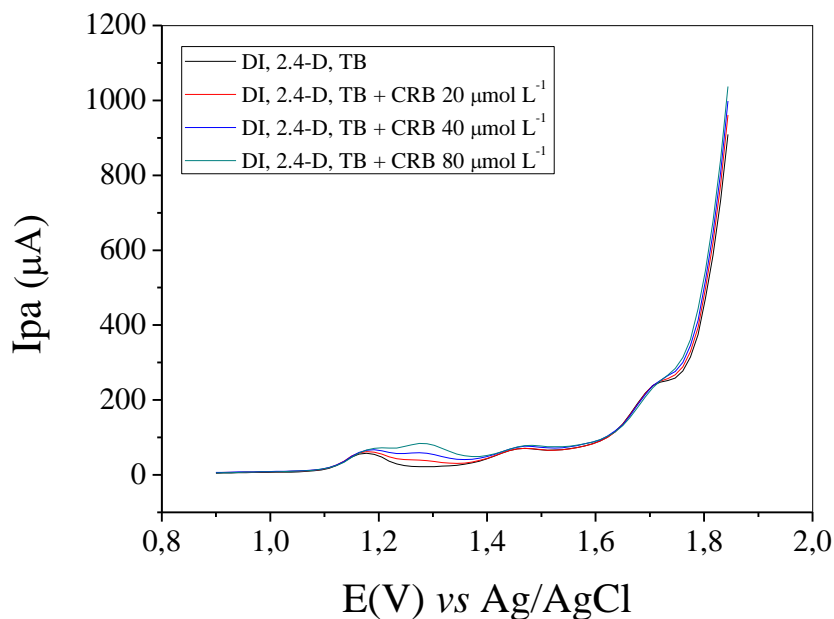
presença dos herbicidas, conforme apresentado na Figura 2. 15, e não foi observada nenhuma mudança na magnitude de corrente na determinação simultânea de DI, 2,4-D e TB.

**Figura 2. 15.** Voltamogramas de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ); Na presença de AH  $5 \text{ mg L}^{-1}$  e DI e 2,4-D ( $10,00$  e  $20,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ), TB  $50,00$  e  $75,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,4 \text{ mV}$ ; tempo de modulação  $2 \text{ ms}$ .



O estudo com carbenzadin (CRB), outro possível interferente foi realizado, e nota-se um pico de oxidação de  $1,27 \text{ V}$  nas condições otimizadas do método, interferindo no sinal anódico do DI de  $1,19 \text{ V}$ , o qual pode ser observado por meio da Figura 2. 16. O CRB é um fungicida pertencente à classe imidazol, entretanto, este pesticida tem um uso mais efetivo em cultivos cítricos, não sendo comumente utilizado com os herbicidas DI, 2,4-D e TB. <sup>97-100</sup>

**Figura 2. 16.** Voltamogramas de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ); variando a concentração de CRB de  $20,00$  a  $80,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e fixo  $20,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de DI e 2,4-D, TB  $75,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,4 \text{ mV}$ ; tempo de modulação  $2 \text{ ms}$ .



### 2. 3. 8- Estudos dos parâmetros de pré-concentração dos herbicidas e curva analítica.

Como exposto anteriormente, a técnica de SPE consiste no emprego da fase sólida inserida num cartucho em forma de seringa. Os analitos de interesse são percolados até preenchimento da coluna, no intuito de que fiquem retidos no sorvente ou eliminem possíveis interferentes presentes nas amostras. O fator de pré-concentração foi determinado como a relação entre a inclinação da curva de calibração com e sem pré-concentração.<sup>101</sup>

Utilizando cartuchos preenchidos com  $200 \text{ mg}$  de adsorvente PVI foram percolados  $100,00 \text{ mL}$  de uma mistura de DI, 2,4-D e TB sob uma vazão de eluição de  $2,00 \text{ mL min}^{-1}$ . O estudo do pH na adsorção do polímero (adsorvente) com os herbicidas é de extrema importância para a técnica de SPE, pois este estudo está correlacionado com o fator de pré-concentração do método. Neste sentido, a

influência do pH na adsorção dos herbicidas no polímero é mostrada por meio da Figura 2. 17.

Neste estudo, é possível observar que o herbicida DI possui adsorção de 100% em toda faixa de pH estudada. Por outro lado, para o herbicida TB, a porcentagem de adsorção em todos os níveis de pH é próximo de 60%. As moléculas de DI e TB possuem  $pK_a$  de 13,18 e 15,66, respectivamente, e estará na sua forma molecular, o que possibilita compreender que as interações entre o polímero e os analitos estarão acontecendo por forças intermoleculares de ligação de hidrogênio, forças de dipolo-dipolo ou dispersão de London com os resíduos do monômero vinilimidazol presente no polímero.<sup>102</sup>

A diferença de adsorção das moléculas dos herbicidas diuron e tebutiuron pode ser explicada tendo em vista a respectiva solubilidade em água. O diuron é levemente solúvel, pois apresenta um valor de  $\log K_{ow}$  de 2,68, o que remete a um caráter mais hidrofóbico. Já a molécula de tebutiuron possui um valor de  $\log K_{ow}$  de 1,79, sendo mais hidrofílico e, portanto, mais solúvel em água.<sup>103</sup>

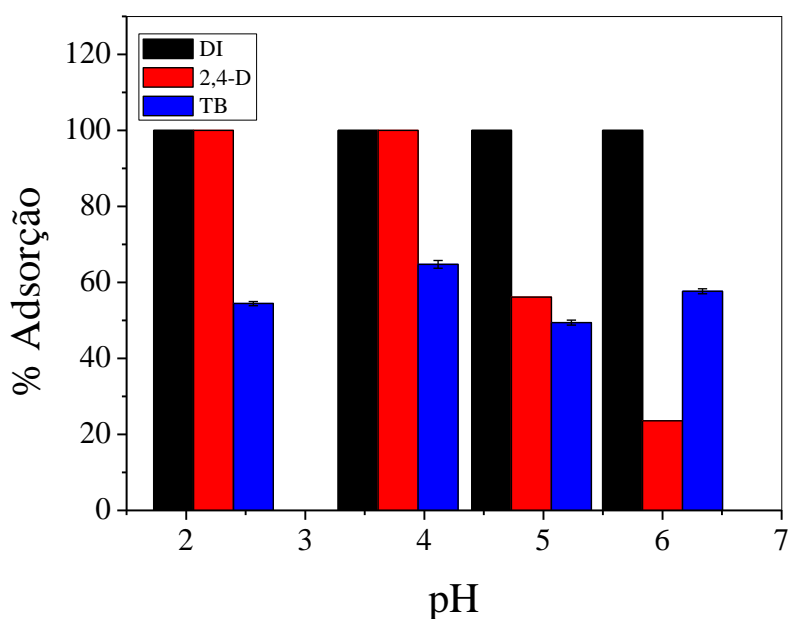
Em relação ao efeito do pH sobre a adsorção do herbicida 2,4-D, nota-se uma adsorção de 100 em meio ácido (pH 2,0 e 3,7). A molécula de 2,4-D apresenta um  $pK_a$  de 6,50<sup>102</sup> e na faixa de pH de 2,0 a 3,7, encontra-se na sua forma molecular, 100% e 90%, respectivamente, enquanto o polímero está carregado positivamente. Neste caso, a adsorção pode ser explicada devido à interação por forças intermoleculares com o nitrogênio não protonado de vinilimidazol, e não por forças eletrostáticas.

Para a faixa de pH de 5,0 e 6,0, observou-se uma diminuição acentuada na adsorção. Nestes valores de pH, o 2,4-D está com carga negativa, enquanto o polímero permanece carregado positivamente. Portanto, de acordo com os resultados obtidos pode-se confirmar que não há interação de carga entre o herbicida e o polímero e que de fato as forças intermoleculares são responsáveis pela interação. Sendo assim, o pH 3,7 foi escolhido como o melhor valor para adsorção dos herbicidas com o polímero.

Quanto ao solvente de eluição, metanol e etanol proporcionaram bons resultados de dessorção para os herbicidas DI, 2,4-D e TB, respectivamente. No entanto, o etanol foi escolhido para a eluição dos analitos por ser um solvente menos tóxico em comparação ao metanol. Além disso, também foi testado o ácido

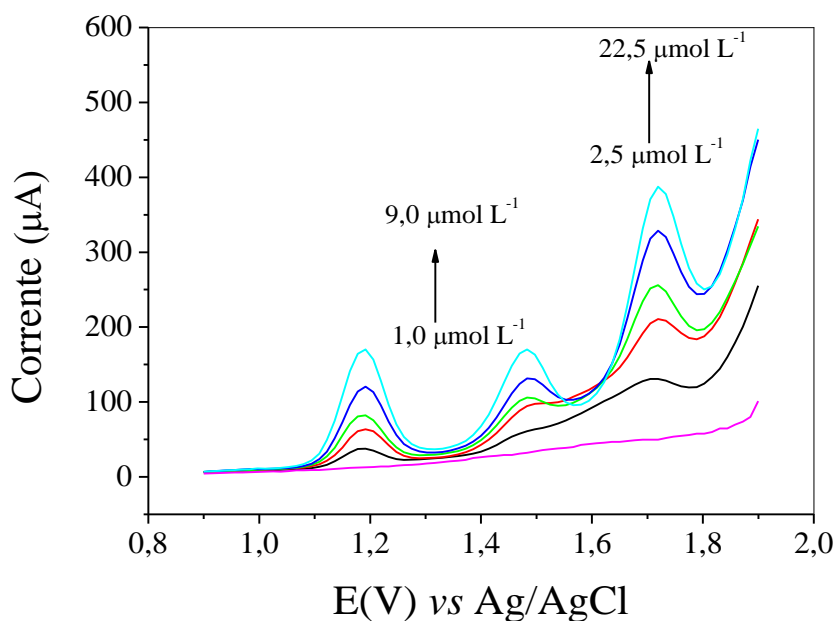
sulfúrico ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) como solvente de eluição. Entretanto, ele não proporcionou boa recuperação para os herbicidas. Diferentes volumes de etanol (3,00, 5,00 e 8,00 mL) foram também avaliados e verificou-se que 5,0 mL foram suficientes para eluição completa dos herbicidas.

**Figura 2. 17.** Efeito do pH na retenção dos herbicidas no polímero.



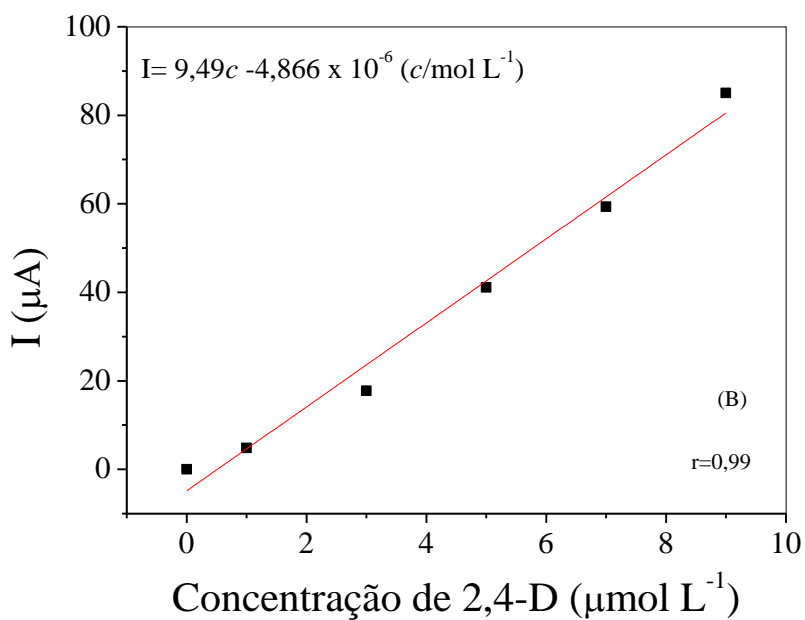
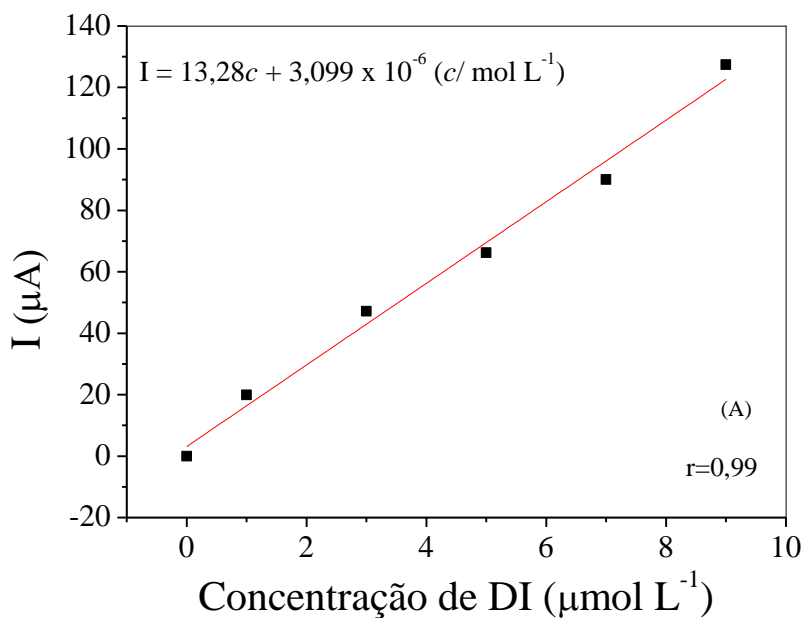
O pH 3,7 de adsorção foi definido para a realização de uma nova curva analítica simultânea para os herbicidas com a etapa de pré-concentração (EDDB/PVI). Nas condições otimizadas da técnica de VPD, com concentrações de  $1,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $9,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  para DI e 2,4-D, e para o TB uma faixa linear  $2,50 \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $22,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ , como observado na Figura 2. 18.

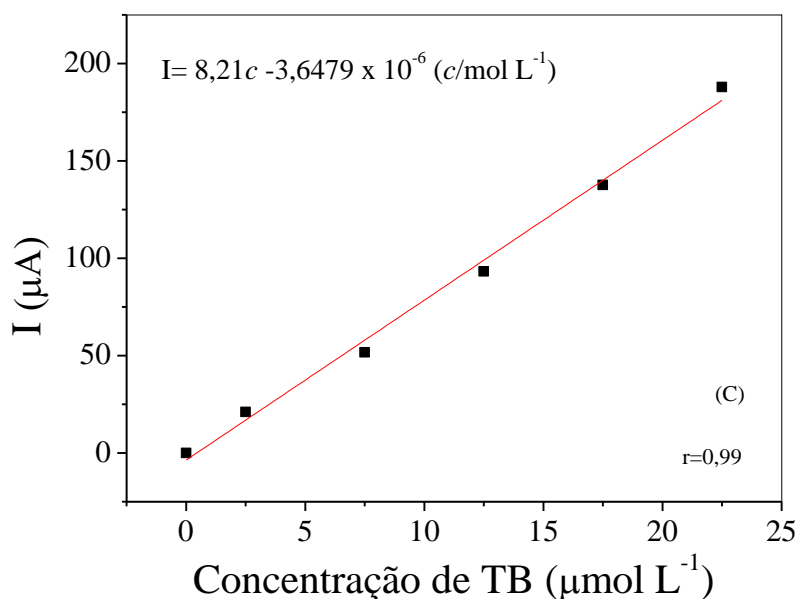
**Figura 2. 18.** Voltamogramas de Pulso Diferencial empregando EDDB com pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ), variando a concentração de DI e 2,4-D em  $1,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $9,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e TB de  $2,50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $22,50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Tempo de modulação 2 ms; Velocidade de varredura  $92,39 \text{ mV s}^{-1}$ ; Amplitude de pulso  $108,42 \text{ mV}$ ; tempo de modulação 2 ms.



Sendo assim, por meio das Figuras 2. 19 (A, B e C), foram calculados os limites de detecção e quantificação do método de acordo com as recomendações da IUPAC.<sup>88</sup> Foram obtidos novos limites de detecção e quantificação, bem como  $0,035 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $8,15 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) e  $0,11 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  para o DI, assim como  $0,12 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $26,52 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) e  $0,42$  para o 2,4-D, respectivamente. Para o TB os limites de detecção e quantificação foram de  $0,34 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $77,62 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) e  $1,20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente.

**Figura 2. 19.** (A) Curva analítica para DI; (B) 2,4-D; (C) TB. Tempo de modulação 2 ms; Velocidade de varredura 92,39 mV s<sup>-1</sup>; Amplitude de pulso 108,42 mV; tempo de modulação 4 ms. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,10 mol L<sup>-1</sup>).





Com esses resultados de limite de detecção e quantificação, é possível afirmar que o EDDB associado à etapa de pré-concentração com adsorvente PVI (EDDB/PVI) aumentou a detectabilidade do método, obtendo menores limites de detecção, possibilitando análise em amostras reais, dentro do limite permitido por organizações ambientais, mencionado anteriormente. Portanto, por meio da Tabela 2.3 foi realizada uma comparação com outros métodos voltamétricos apresentado na literatura. Nota-se que a metodologia proposta neste trabalho rendeu excelente limite de detecção para os herbicidas com relação a outros trabalhos. Ainda, é importante mencionar que os outros trabalhos não apresentam determinações simultâneas dos herbicidas (DI, 2,4-D e TB) empregando sensores voltamétricos.

Além do mais, é interessante citar que a associação da SPE utilizando o PVI como adsorvente, com posterior leitura por EDDB pré-tratado catodicamente, apresentou um fator de pré-concentração (relação entre a inclinação das curvas com e sem pré-concentração) de 7,10 para o DI, 8,47 no caso do 2,4-D e 8,73 para o herbicida TB.

**Tabela 2. 3.** Comparação do método proposto com outros métodos eletroquímicos reportados na literatura em  $\mu\text{mol L}^{-1}$

Sensor Voltamétrico	Analito	Limite de detecção ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Referencia
EPC modificado com complexo mimetizador da enzima P450	DI	6,14	40
EPC modificado com complexo mimetizador da enzima P450	DI	20,00	41
ECV modificado com tetraamino-fitalocianina de Niquel polimerizado	DI	0,33	42
Tetraamino-fitalocianina de Ferro (II) com nanotubos de carbono suspensos na superfície de ECV	DI	0,26	43
Eletrodo composto de pasta de grafite/poliuretano	2,4-D	0,79	44
EPC modificado com complexo mimetizador da enzima P450	2,4-D	2,10	45
Sílica gel suspensos em EPC	2,4-D	0,45	46
Eletrodo de mercúrio	2,4-D	0,22	47
EPC modificado com polímeros modificamente impresso (MIP)	2,4-D	70,0	48
EPC	TB	0,90	49
EDDB/PVI	DI	0,035	Este Trabalho
	2,4-D	0,12	
	TB	0,34	

EPC- Eletrodo de pasta de carbono; ECV- Eletrodo de carbono vítreo;

Posteriormente foi realizada a precisão intra e entre-dia da SPE (N = 4) com leitura subsequente com EDDB em solução de ácido sulfúrico  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , neste sentido encontra-se concentrações de  $3,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  (concentração mais baixa) e  $7,00$  (maior concentração) para os herbicidas DI e 2,4-D, como relatado na Tabela 2. 4. Para o DI a precisão intra-dia variou de 0,55 a 4,17%; A precisão entre dias variou de 1,67 a 2,62%. O 2,4-D mostrou resultados de 1,26 a 3,86% e 2,26 a 3,47% para a precisão intra e entre-dia, respectivamente. Para a TB, a precisão intra e entre-dia

foi calculada variando as concentrações de 7,50 e de 17,50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com resultados de 1,21 a 4,12% e 2,43 a 3,32%, respectivamente.

**Tabela 2.4.** Precisão e exatidão do método para determinação dos herbicidas DI, 2,4-D e TB utilizando o EDDB com a etapa SPE.

Parâmetro	Dia	Concentração Nominal ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )					
		Di		2.4-D		TB	
Concentração Nominal		3,00	7,00	3,00	7,00	7,50	17,50
Concentração Determinada (n=4)	1	2,97	7,19	2,95	6,95	7,51	17,84
	2	3,14	7,07	2,86	7,17	7,47	17,54
Precisão (desvio padrão relativo %)	1	4,17	0,55	3,86	1,26	4,12	1,89
	2	3,44	1,75	1,85	1,69	1,21	2,45
	1	-1,00	2,71	-1,67	-0,71	0,13	1,94
Exatidão (erro relativo %)	2	4,66	1,00	-4,66	2,42	-0,4	0,23
Entre Dias (n=2)							
Concentração Determinada		3,05	7,09	2,91	7,07	7,51	17,71
Precisão (desvio padrão relativo %)		2,62	1,67	3,47	2,26	3,32	2,43
Exatidão (erro relativo %)		1,66	1,29	-3,00	1,00	0,13	1,20

Mediante as figuras de mérito do método apresentadas, o EDDB acoplado com a SPE com adsorvente de PVI, possibilitou a aplicação do método em amostras de água, de lagos e poço do interior de São Paulo. Na Tabela 2.5 estão expressos os valores de porcentagem de recuperação, de 96-104% para os herbicidas, além de apresentar baixos valores de desvio padrão, indicando a aplicabilidade livre de interferência. Além disso, a exatidão do método foi ainda avaliada por comparação à técnica cromatográfica, como uma técnica de referência. Os resultados evidenciados no método eletroquímico proposto foram compatíveis estatisticamente (teste t de Student pareado, com nível de confiança de 95%,  $t_{\text{calculado}} = -1,72$  menor que  $t_{\text{tabelado}} = 2,11$ ) com os do sistema cromatográfico.

**Tabela 2.5.** Determinação de DI, 2,4-D e TB em amostras de água de poço e rios por sensor voltamétrico (EDDB) acoplado com SPE utilizando como adsorvente PVI e método de referência (HPLC).

Amostra	Herbicida	Concentração adicionada ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Concentração determinada ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Recuperação	Concentração determinada HPLC	Recuperação	Er(%)
Água de poço/Assis	DI	4,30	$4,35 \pm 0,11$	101	$4,40 \pm 0,17$	102	-1,13
		6,43	$6,54 \pm 0,01$	102	$6,26 \pm 0,02$	97	4,47
	2,4-D	4,52	$4,35 \pm 0,04$	96	$4,55 \pm 0,09$	101	-4,39
		6,78	$6,56 \pm 0,34$	97	$6,81 \pm 0,017$	100	-3,67
	TB	4,38	$4,41 \pm 0,20$	101	$4,53 \pm 0,07$	103	-2,64
		6,57	$6,60 \pm 0,13$	100	$6,63 \pm 0,07$	101	-0,45
Água de Assis	DI	4,30	$4,46 \pm 0,49$	104	$4,35 \pm 0,03$	101	2,52
		6,43	$6,49 \pm 0,22$	101	$6,48 \pm 0,09$	101	0,15
	2,4-D	4,52	$4,34 \pm 0,10$	96	$4,33 \pm 0,05$	96	0,23
		6,78	$6,66 \pm 0,10$	98	$6,45 \pm 0,24$	95	3,25
	TB	4,38	$4,28 \pm 0,90$	98	$4,48 \pm 0,11$	102	-4,46
		6,57	$6,49 \pm 0,90$	99	$6,75 \pm 0,04$	103	-3,85
Água de Tarumã	DI	4,30	$4,17 \pm 0,04$	97	$4,33 \pm 0,02$	101	-3,69

	6,43	6,40 ± 0,24	100	6,51 ± 0,18	101	-1,68
2,4-D	4,52	4,36 ± 0,04	96	4,37 ± 0,17	97	-0,22
	6,78	6,51 ± 0,11	96	6,43 ± 0,04	95	1,24
TB	4,38	4,22 ± 0,12	96	4,43 ± 0,19	101	-4,74
	6,57	6,49 ± 0,17	99	6,80 ± 0,06	103	-4,55

---

## Conclusão

Neste capítulo foi proposto o desenvolvimento de um novo método eletroanalítico para a determinação simultânea dos herbicidas DI, 2,4-D e TB em amostras de águas por VPD utilizando EDDDB pré-tratado catodicamente e associado a uma etapa de pré-concentração por extração em fase sólida.

É importante salientar que o extrator em fase sólida (polivinilimidazol reticulado com trimetacrilato de trimetilolpropano) foi de suma importância para se obter um melhor desempenho analítico, além do mais, apresentou alta estabilidade em relação aos ciclos de pré-concentração e eluição, uma vez que apenas uma coluna foi utilizada em todo o trabalho.

A precisão do método foi satisfatória após o procedimento da extração em fase sólida e a exatidão foi comprovada por comparação com a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Ademais, a detectabilidade do método proposto foi maior do que os outros trabalhos na literatura para determinação individual dos herbicidas.

Por fim, a associação do procedimento de SPE com técnicas eletroanalíticas, embora pouco explorada, mostra uma ferramenta promissora para a obtenção de métodos simples, precisos e livres de interferência para determinação de herbicidas em amostras de águas.

## REFERÊNCIAS

1. David, D. J.; Tritschler, L.; , Guilloux, J. P.; , Gardier, A. M.; Sanchez, C.; R. Gaillard, R.; *L'Encéphale* **2016**, *42*, 1S12.
2. Silva, J. R.; a; Vargema D, S.;; Sousa, M. C; Pinto, I. B.; *Ensaio Cienc., Cienc. Biol. Agrar. Saúde* **2014**, *18*, 3.
3. Silva, F. C.; Moreno, F. C. B.; Bender, P. F. M.; Carvalho, C. D. B.; *Revista Brasileira de Cancerologia* **2008**, *54*, 345.
4. Burian, I.; , Lelli, L.; , Giardinelli, L.; , Lazzeretti, L.; Ugolini, V.; Ricca, V.; *Mood disorders and treatment* **2016**, 475.
5. Moreno, R. A.;, Moreno, D. H.; Soares, M. B. M.; *Rev. Bras. Psiquiatr.* **2009**, *21*, 24.
6. Silveira, G.; Tarley, C. R. T.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 1653.
7. *The United States Pharmacopeia - The National Formulary - USP 24, NF - 19, 2000*, p. 122-123.
8. Farmacopéia Brasileira, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 5º edição, Brasília, **2010**, pp. 806.
9. 4. Fahimeh Zare, F.; Ghaedi, M.; Daneshfar, A.; *Microchim Acta* **2015**. 182.1902.
10. Misiuk, W.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2000**, *22*, 189.
11. Mohamed, G. G.; El-Dien, F. A. T. N.; Mohamed, N. A.; *Spectrochim. Acta, Part A* **2007**, *68*, 1244.
12. Greenway, G. M.; Dolman, S. J. L.; *Analyst* **1999**, *124*, 759.
13. Ghani, N. T. A.; El-Nashar, R.; Bioumy, A. A.; *J. Pharm. Sci.* **2004**, *29*, 195.
14. El-Nashar, R. M.; Ghani, N. T. A.; Bioumy, A. A.; *Microchem. J.* **2004**, *78*, 107.
15. Ivandini, T. A.; Sarada, B. V.; Terashima, C.; Rao, T. N.; D.A. Tryk, D.A.; Ishiguro, H.; Kubota, Y.; Fujishima, A.; *J. Electroanal. Chem.* **2002**, *521*, 117.
16. Toledo, R. A.; Mazo, L. H.; Santos, M. C.; Honório, K. M.; Silva, A. B. F.; Cavalheiro, E. T. G.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 456.
17. Ferancová, A.; Korgová, E.; Buzinkaiová, T.; Kutner, W.; Stepanek, I.; Ján Labuda, J.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *447*, 47.
18. Biryol, I.; Uslu, B.; Kuçukyavuz, Z.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1996**, *15*, 371.
19. Marco, J. P.; Borges, K. B.; Tarley, C. R. T, Ribeiro, E. S.; Pereira, A. C.; *J. Electroanal. Chem.* **2013**, *704*, 159.

20. RezayatiZad, Z.; Davarani, S. S. H.; Taheri, A. R.; Bide, Y.; *Biosensors and Bioelectronics* **2016**, *86*, 616.
21. Duarte, E. H.; Santos, W. P.; Hudari, F. F.; Neto, J. L. B.; Sartori, E. R.; Dall'Antonia, L. H.; Pereira, A.C.; Tarley, C. R. T.; *Talanta* **2014**, *127*, 26.
22. Eisele, A. P. P.; Clausen, D. N.; Tarley, C. R. T.; Dall'Antonia, L. H.; Sartori, E. R.; *Electroanalysis* **2013**, *25*, 1734.
23. Lourencão, B. C.; Medeiros, R. A.; Rocha-Filho, R. C.; Mazo, L. H.; Fatibello-Filho, O.; *Talanta* **2009**, *78*, 748.
24. Santos, M. C. G.; Tarley, C. R. T.; Dall'Antonia, L. H.; Sartori, E. R.; *Sens. Actuators, B.* **2013**, *188*, 263.
25. Rodrigues, J. A.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 1242.
26. Bortoletto, A. B.; Alcarde, A. R.; *Food Control* **2015**, *54*, 1.
27. Filik, H.; Çekiç, S. D.; Cloud point extraction of pesticides residues, in: M. Stoytcheva (Ed.), Ed. Intech. Agricultural and Biological Sciences — Pesticides in the Modern World — Trends in Pesticides Analysis **2011**, 247.
28. Brondi, S. H. G.; Lanças, F. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* 2005, *16*, 650.
29. Sharma, P.; Sablok, K.; Bhalla, V.; Suri, C. R.; *Biosens. Bioelectron.* **2011**, *26*, 4209.
30. Hamilton, D. J.; Ambrus, A.; Dieterle, R. M.; Felsot, A. S.; Harris, C. A.; Holland, P. T.; Katayama, A.; Kurihara, N.; Linders, J.; Unsworth, J.; Wong, S. S.; *Pure Appl. Chem.* **2003**, *75*, 1123.
31. CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE), RESOLUÇÃO Nº 357 **2005**, 58.
32. Han, D.; Jia, W.; Liang, H.; *J. Environ. Sci.* **2010**, *22*, 237.
33. Canadian Council of Ministers of the Environment. <<http://sts.ccme.ca/en/index.html>>Acessado em março de 2017.
34. Brondi, S. H. G.; Lanças, F. M.; *J. Liq. Chromatogr. R. T.* **2004**, *27*, 1.
35. Bicalho, S. T. T.; Langenbach, T.; Rodrigues, R. R.; Correia, F. V.; Hagler, A. V.; Matallo, M. B.; Luchini, L. C.; *Geoderma* **2010**, *158*, 392.
36. Omid, F.; Behbahani, M.; Abandansari, H. S.; Sedighi, A.; Shahtaheri, S. J.; *J. Environ. Health. Sci. Eng.* **2014**, *12*, 137.
37. Lanças, F.M. Extração em fase sólida (SPE). São Carlos: RiMa, 2004.
38. D'Archivio, A. A.; Fanelli, M.; Mazzeo, P.; Ruggieri, F.; *Talanta* **2007**, *71*, 25.

39. Morais, E. H. C.; Begnini, F. R.; Jardim, I. C. S. F.; *Sci. Chromatographica* **2013**, 2, 146.
40. Queiroz, S. C. N.; Melo, L. F. C.; Jardim, I. C. S. F.; *J. Chromatogr. A* **2002**, 948, 171.
41. Colina, C.; Baez, M. E.; Pefia, A.; Romero, E.; Dios, G.; Sanchez-Rasero F.; *Sci. Total Environment*, **1994**, 153, 1.
42. Hennion, M.; Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography, **1999**, 856, 3.
43. Augusto, F.; Hantao, L.W.; Mogollón, N.G.S.; Braga, S.C.G.N.; *Trend. Anal. Chem.* **2013**, 43, 14.
44. Panic, V.V.; Madzarevic, Z.P.; Volkov-Husovic, T.; Velickovic, S.J.; *Chem. Eng. J.* **2013**, 217, 192.
45. Fonseca, R. J.; Segatelli, M. G.; Borges, K. B.; Tarley, C. R. T.; *React. Funct. Polym.* **2015**, 93,1.
46. Wong, A.; Lanza, M. R. V.; Sotomayor, M. P.T.; *J.Electroanal. Chem.* **2013**, 690, 83.
47. Wong, A.; Lanza, M. R. V.; Sotomayor, M. P.T.; *J.Electroanal. Chem.* **2013**, 690, 83.
48. Mugadza, T.; Nyokong. T.; *Talanta* **2010**, 81, 1373.
49. Mugadza, T.; Nyokong. T.; *Electrochim. Acta* **2010**, 55, 2606.
50. De Andrade, F. R.; Toledo, R. A.; Vaz, C. M. P.; *Int. J. L. Electrochem.* **2014**, 9.
51. Wong, A.; Sotomayor, M. P.T.; *Sensor Actuat B* **2013**, 181, 332.
52. Prado, A. G. S.; Barcelos, H. T.; Moura, A. O, Nunes, A. R.; Gil, E. S.; *Int. J. Electrochem. Sci.* **2007**, 7, 8929.
53. Maleki, N.; Safavi, A.;Shahbaazi, H. R.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, 530, 69.
54. Wang, Z.; Kang, J.; Liu, X.; Ma, Y.; *Indian. J. Chem.* **2006**, 45, 1848.
55. Assis, A. P.; Okumura, L. L.; Saczk, A. A.; Oliveira, M. F.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2014**, 1, 27.
56. Vitor Baranauskas; *Ciência hoje* 2000, 27, 161.
57. Einaga, Y.; Foord, J. S.; Swain, G. M.; *Mater. Res. Soc.* **2014**, 39, 525.
58. De Barros, R. C. M.; Ribeiro, M. C.; An-Sumodjo, P. T.; da Silva Julião, M. S. S.; Serrano, S. H. P.; *Quim. Nova* **2005**, 28, 317.
59. Peckova, K.; Musilova, J.; Barek, J.; *Anal. Chem.* **2009**, 39, 1.

60. Azevedo, A. F.; Ferreira, N. G.; *Quim. Nova* **2006**, 1, 129.
61. Kraft, A.; *J. Electrochem. Sci.*, **2007**, 2, 355.
62. Salazar-Banda, G. R.; Andrade, L. S.; Nascente, P. A. P.; Pizani, P. S.; Rocha-Filho, R. C.; Avaca, L. A.; *Electrochim. Acta* **2006**, 51, 4612.
63. Oliveira, S. C. B.; Oliveira-Brett, A. M.; *Electrochim. Acta* **2010**, 55, 4599.
64. Sartori, E. R.; Medeiros, R. A.; Rocha-Filho, R. C.; Fatibello-filho, O.; *J. Brazilian Chem. Soc.* **2009**, 20, 360.
65. Mattos, G. J.; Scremin, J.; Salamanca-Neto, C. A. R.; Sartori, E. R.; *Electroanalysis* **2013**, 25, 1734.
66. Lourencao, B.; Medeiros, R. A.; Fatibello-Filho, O.; *J. Electroanal. Chem.* **2015**, 754, 154.
67. Svorc, L.; Rievaj, M.; Bustin, D.; *Sensor. Actuat. B* **2013**, 181, 294.
68. Pedrosa, V. A.; Codognoto, L.; Machado, S. A.S.; Avaca, L. A.; *J. Electroanal. Chem.* **2004**, 573, 11.
69. - Alfaro, M. A. Q.; Ferro, S.; Martínez-Huitle, C. A.; Vong, Y. M.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2006**, 17, 227.
70. Compton, R. G.; Foord, J. S.; Marken, F.; *Electroanalysis* **2003**, 15, 1349.
71. Suffredini, H. B.; Pedrosa, V. A.; Codognoto, L.; Machado, S. A. S.; Rocha-Filho, R. C.; Avaca, L. A.; *Electrochim. Acta* **2004**, 49, 4021.
72. Oliveira, S. C. B.; Oliveira-Brett, A. M.; *J. Electroanal. Chem.* **2010**, 648, 60.
73. Brocenschi, R. F.; Hammer, P.; Deslouis, C.; Rocha-Filho, R. C.; *Anal. Chem.* **2016**, 88, 5363.
74. Granger, M. C.; Swain, G. M.; *J. Electrochem. Soc.* **1999**, 146, 4551.
75. Lourencao, B.; Medeiros, R. A.; Romeu C. Rocha-Filho, R. C.; Mazo, L H.; Fatibello-Filho, O.; *Talanta* **2009**, 78, 748.
76. Pereira, G. F.; , Andrade, L. S.; , Rocha-Filho, R. C.; Bocchi, N.; Biaggio, S. R.; *Electrochim. Acta* **2012**, 82, 3.
77. Sartori, E. R.; Medeiros, R. A.; Rocha-Filho, R. C.; Fatibello-Filho, O.; *Talanta* **2010**, 81, 1418.
78. Moraes, J. T.; Eisele A. P .P.; Salamanca-Neto, C, A. R.; Scremin, J.; Sartori, E. R.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2016**, 27, 1264.

79. Mansano, G. R.; Eisele, A. P. P.; Dall'Antonia, L. H.; Afonso, S.; Sortori, E. R.; *J. Electroanal. Chem.* **2015**, 738, 188.
80. Eisele, A. P. P.; Sartori, E. R.; *Anal. Methods* **2015**, 7, 8697.
81. Duo, I.; Levy-Clement, C.; Fujishima, A.; Comninellis, C.; *J. Appl. Electrochem.* **2004**, 34, 935.
82. Santos, M. C. G.; Tarley, C. R. T.; Dall'Antonia, L. H.; Sartori, E. R.; *Sens. Actuators, B* **2013**, 188, 263.
83. Grigoryants, V. M.; Anisimov, O. A.; Molin, Y. N.; *J. Struct. Chem.* **1982**, 23, 327.
84. Bard, A. J.; Faulkner, L. R.; *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed.; John Wiley & Sons: New York, 2001.
85. Li, C.; *Colloids Surf. B* **2007**, 55, 77.
86. Jurva, U.; Wikström, H.V.; Weidolf, L.; Bruins, A. P.; *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2003**, 17, 800.
87. D. K. Gosser, *Cyclic Voltammetry*, VCH, New York 1994.
88. Long, G. L., Winefordner, J.D. *Anal. Chem.* **1983**, 55, 712.
89. Marco, J. P.; Borges, K. B.; Tarley, C. R. T.; Emerson Schwingel Ribeiro, E. S.; Pereira, A. C.; *Sens. Actuators, B.* **2013**, 177, 251.
90. Connick, W. J.; Simoneaux, J. M.; *J. Agric. Food Chem.* **1982**, 30, 258.
91. Duarte, E. H.; Kubota, L.T.; Tarley, C. R. T.; *Electroanalysis* **2012**, 24, 2291.
92. Hudari, F. F.; Duarte, E. H.; Pereira, A. C.; Dall'antonia, L.H.; Kubota, L. T.; Tarley, C. R. T.; *J. Electroanal. Chem.* **2013**, 696, 52.
93. Gorla F. A.; Duarte, E. H.; Sartori, E. R.; Tarley, C. R. T.; *Microchem. J.* **2016**, 124, 65.
94. Ferreira, S. L. C.; Santos, W. N. L.; Quintella, C. M.; Neto, B. B.; Bosquesendra, J. M.; *Talanta* **2004**, 63, 1061.
95. Crespilho, F. N.; Rezende, M. O. O.; *Quim. Nova* **2004**, 27, 964.
96. Diniz, K. M.; Tarley, C. R. T.; *Microchem. J.* **2015**, 123, 185.
97. Yao, Y.; Wen, Y.; Zhang, L.; Wang, Z.; Zhang, H.; Xu, J.; *Anal. Chem. Acta* **2014**, 831, 38.
98. Pourreza, N.; Rastegarzadeh, S.; Larki, A.; *Talanta* **2015**, 134, 24.
99. Razzino, C. A.; Sgobbi, L. F.; Canevari, T. C.; Cancino, J.; Machado, S. A. S.; *Food Chem.* **2015**, 170, 360.

100. Khare, N. G.; Dar, R. A.; Srivastava, A. K.; *Electroanalysis* **2015**, 27, 1915.
101. Jardim, I. C. S. F.; *Sci. Chromatograp.***2010**, 2, 13.
102. <https://chemicalize.com/#/calculation>, (acessado em março de 2017)
103. Scheel, G. L.; Tarley, C. R. T. *Microchemic. J.*, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.007>.

## CONSIDERAÇÕES GERAIS

No capítulo 1, a utilização do eletrodo de diamante dopado com boro, mostrou-se eficiente na determinação do antidepressivo tricíclico amitriptilina em meio de ácido sulfúrico, conferindo maiores picos anódicos quando comparado com o eletrodo convencional de carbono vítreo. Além do mais, este método apresentou melhor detectabilidade perante outros trabalhos reportados na literatura, destacando a simplicidade no manuseio do eletrodo. Ademais, foi aplicado com sucesso em formulações farmacêuticas comerciais de diferentes dosagens e marcas.

No capítulo 2, destaca-se a inserção da extração em fase sólida com posterior leitura do eletrodo de diamante dopado com boro pré tratado catódicamente. Pode-se destacar a excelente separação dos picos na determinação simultânea dos herbicidas diuron, 2,4-D e tebutiuron. Além disso, obteve um satisfatório fator de pré-concentração, o que possibilitou uma maior sensibilidade do método, apresentando limites de detecção superiores aos outros trabalhos na literatura, além do ineditismo na determinação simultânea destes três herbicidas. Ademais, o método se mostrou eficiente quando aplicado em amostras ambientais (águas).

Por fim, conclui-se que o eletrodo de diamante dopado com boro explorado nesta tese, figura-se como promissor e eficiente na determinação de fármacos e herbicidas, para determinação de compostos em amostras farmacêuticas, além de herbicidas em amostras ambientais.