

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

GUARAPUAVA

2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE,
UNICENTRO-PR**

**DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA
ELETROANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DE
PESTICIDA GLIFOSATO EM AMOSTRAS
AMBIENTAIS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

SIMONE CARLA DOS SANTOS

GUARAPUAVA – PR

2012

SIMONE CARLA DOS SANTOS

**DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA ELETROANALÍTICA
PARA A DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS**

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual do Centro-Oeste, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Química, área de concentração
em Química Aplicada, para a obtenção do
título de Mestre.

Prof(a). Dr(a). Karin Cristiane Justi (Orientadora)

Dr(a). Andressa Galli (Co-orientadora)

GUARAPUAVA - PR

2012

237d Santos, Simone Carla dos
§ Desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para a determinação
de pesticida glifosato em amostras ambientais / Simone Carla dos Santos. --
Guarapuava, 2012
xx, 74 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste,
Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química
Aplicada, 2012

Orientadora: Karin Cristiane Justi

Co-orientadora: Andressa Galli

Banca examinadora: Edgard Moreira Ganzarolli, Vitor de Cinque Almeida

Bibliografia

1. Química aplicada. 2. Eletrodo de mercúrio. 3. Voltametria de onda
quadrada. 4. Complexo Cu (II) - glifosato. I. Título. II. Programa de Pós-
Graduação em Química Aplicada .

CDD 543

SIMONE CARLA DOS SANTOS

**DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA ELETROANALÍTICA
PARA A DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS**

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual do Centro-Oeste, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Química, área de concentração
em Química Aplicada, para a obtenção do
título de Mestre.

Aprovada em 19 de abril de 2012.

Prof(a). Dr. Edgard Moreira Ganzarolli

Prof(a). Dr. Vitor de Cinque Almeida

Prof(a). Dr(a). Karin Cristiane Justi
(Orientadora)

Dr(a). Andressa Galli
(Co-orientadora)

GUARAPUAVA - PR

2012

Dedico este trabalho aos meus pais: Ari
Salmória dos Santos e Noivete Dalacort dos Santos.
"Vocês dois são o meu grande orgulho e eu quero que
tudo o que eu faça, em toda a minha vida, seja prova de
que o pouco que vocês acham que fizeram por mim, na
verdade foi muito mais do que qualquer filha no mundo
poderia querer. Vocês me deram simplesmente tudo e
vão estar eternamente em tudo o que eu fizer".

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre me acompanhou ao longo desta caminhada, guiando todos os meus passos.

Ao programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, pela oportunidade de realizar o curso.

À orientadora Profa. Dra Karin Cristiane Justi pelo auxílio, dedicação, paciência, apoio, amizade e principalmente pela especial atenção dada nas revisões e sugestões para a conclusão deste trabalho.

À co-orientadora e super amiga Profa. Dra Andressa Galli pelo tempo dedicado nas correções dos trabalhos, em especial à dissertação. Por sua competência e sua valiosa participação neste trabalho, pela amizade que ficará para sempre do lado esquerdo do peito.

À grande amiga Luciane Miranda pelo apoio, força, dedicação, auxílio e companhia em todos os momentos desta jornada. Sua amizade será inesquecível.

A todos os professores do mestrado que de alguma forma contribuíram para minha formação, em especial a Profa. Dra. Maria Lurdes Felsner pelo auxílio na conclusão da dissertação, que, com muito carinho, dedicou seu tempo a mais esta conquista em minha vida.

Em especial aos meus pais Ari e Noivete e aos meus irmãos Francielly e Régis que, com orgulho, dedicaram muito amor, carinho, força, compreensão e apoio para mais uma realização profissional em minha vida. Obrigada pelas orações que fizeram nas minhas idas e vindas de Guarapuava, em especial a minha avó Iracema.

Ao meu cunhado Leandro Milanez, que, com dedicação me auxiliou na busca e coleta da amostra de água para análise de quantificação do pesticida glifosato.

A todos os meus familiares pelo incentivo e apoio.

Ao meu noivo Gilberto (Beto) pela compreensão, dedicação, companheirismo, incentivo e carinho ao longo destes anos.

Aos amigos que conheci que, de uma maneira ou outra, me ajudaram e proporcionaram momentos de descontração.

As amigas de cinema: Eryza Castro, Vanessa Egéa, Luciane Miranda e, já citada, Andressa Galli.

A todos os colegas do departamento de Química.

As meninas da secretaria da Pós-Graduação pelo atendimento, em especial a Neusa.

À Fundação Araucária pela concessão da bolsa de estudos (protocolo nº 18.704).

A todos que, embora não citados, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	i
Lista de Tabelas.....	vi
Resumo.....	iii
Abstract.....	x
1. Introdução	1
2. Objetivos.....	3
2.1. Objetivo Geral.....	3
2.2. Objetivos Específicos.....	3
3. Revisão Bibliográfica.....	4
3.1. Glifosato.....	4
3.1.1. Modo de ação.....	6
3.1.2. Degradação.....	7
3.1.3. Toxicidade.....	9
3.2. Metodologias analíticas para a determinação do glifosato.....	9
3.3. Fundamentos teóricos da técnica eletroanalítica.....	13
3.3.1. Voltametria de onda quadrada (SWV).....	14
4. Materiais e Métodos.....	17
4.1. Instrumentação.....	17
4.2. Células voltamétricas.....	17

4.3. Reagentes.....	18
4.4. Amostras.....	19
4.5. Metodologia.....	21
4.5.1. Voltametria cíclica.....	21
4.5.2. Voltametria de onda quadrada.....	22
4.5.2.1. Estudo do eletrólito suporte.....	22
4.5.2.2. Estudo da concentração de Cu (II).....	23
4.5.2.3. Parâmetros eletroanalíticos.....	24
4.5.2.3.1. Estudo univariado.....	24
4.5.2.3.2. Determinação da curva de calibração para o glifosato.....	25
4.5.2.3.3. Repetibilidade e reprodutibilidade do método.....	25
4.5.2.3.4. Estudo de linearidade.....	26
4.5.2.3.5. Estudo de recuperação de glifosato.....	27
4.5.2.3.6. Quantificação de glifosato em amostras de água.....	27
4.5.2.3.7. Análise do interferente orgânico.....	28
5. Resultados e Discussão	29
5.1. Estudo do eletrólito suporte.....	29
5.2. Estudo da concentração de Cu (II).....	33
5.3. Estudo do complexo de Cu (II) – glifosato por meio da voltametria cíclica.....	35
5.4. Estudo do tempo de deposição.....	47
5.5. Estudo univariado: Otimização dos parâmetros da técnica de SWV.....	51

5.5.1. Efeito da frequência de aplicação de pulso de potencial (f).....	51
5.5.2. Efeito da amplitude de pulso de potencial (a).....	59
5.5.3. Efeito do incremento de varredura (ΔE_s).....	64
5.6. Curva de calibração para o glifosato.....	69
5.7. Estudo de repetibilidade e reprodutibilidade.....	73
5.8. Recuperação do glifosato em eletrólito puro e em amostra de água naturais.....	74
5.8.1. Recuperação do glifosato em eletrólito puro de laboratório.....	74
5.8.2. Recuperação de glifosato em amostras de água naturais.....	77
5.9. Quantificação de glifosato em amostras de água do riacho.....	79
5.10. Estudo de interferente.....	81
5.10.1. Análise de interferente ácido húmico com o Cu (II).....	83
5.10.2. Análise de interferente ácido húmico com o complexo Cu (II) – glifosato.....	84
5.10.3. Medida de pH após as análises.....	85
6. Conclusões	86
7. Referências Bibliográficas	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do glifosato.....	4
Figura 2. Dissociação do glifosato de acordo com seu comportamento zwitteriônico.....	6
Figura 3. Sexto estágio da etapa que envolve a transferência do enolpiruvil de PEP para S3P.....	7
Figura 4. Rota de degradação microbiológica do glifosato.....	8
Figura 5. Estrutura molecular do complexo Cu (II) – glifosato.....	11
Figura 6. Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.....	15
Figura 7. Variação da corrente faradaica (i_f) e corrente capacitiva (i_c) com o tempo na voltametria de onda quadrada.....	15
Figura 8. Voltamograma esquemático da medida da corrente voltametria de onda quadrada onde (1) representa um processo redox de um sistema reversível e (2) de um sistema irreversível.....	16
Figura 9. Representação esquemática dos três eletrodos em uma célula polarográfica....	18
Figura 10. Lago situado no campus CEDETEG da UNICENTRO - Guarapuava/PR.....	20
Figura 11. Riacho Santa Clara – Candói – PR.....	21
Figura 12. Voltamogramas obtidos por SWV em diferentes valores de pH em meio de tampão fosfato, onde □ Tampão fosfato ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$), □ Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), □ glifosato ($9,08 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), □ glifosato ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e □ glifosato ($2,93 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), onde os valores de pH foram: (a) 5,0; (b) 6,0; (c) 7,0; (d) 8,0, com $t_d = 120\text{s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$	30
Figura 13. Voltamogramas obtidos por SWV em diferentes valores de pH em meio de NaNO_3 , onde □ NaNO_3 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$), □ Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), □ glifosato ($9,08 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), □ glifosato ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e □ glifosato ($2,93 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), onde os valores de pH foram: (a) 5,0; (b) 6,0; (c) 7,0; (d) 8,0, com $t_d = 120\text{s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$	31
Figura 14. Voltamogramas obtidos por SWV em diferentes valores de pH em meio de NaNO_2 , onde □ NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$), □ Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), □ glifosato ($9,08 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), □ glifosato ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e □ glifosato ($2,93 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), onde os valores de pH foram: (a) 4,5; (b) 5,5; (c) 6,5; (d) 7,5; (e) 8,5 e (f) 9,5, com $t_d = 120\text{s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$	32

Figura 15. Voltamogramas obtidos por SWV em diferentes valores de pH em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$), Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e glifosato ($2,93 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) onde, \square pH 6,5, \square pH 7,5, \square pH 8,5, \square pH 9,5, com $t_d = 120\text{s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$ 33

Figura 16. Voltamogramas obtidos por SWV para diferentes concentrações de Cu em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, glifosato ($1,96 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e adições consecutivas de Cu (II) onde, em (a) $-\text{Cu}$ ($5,24 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu}$ ($1,05 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu}$ ($1,57 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) $-\text{Cu}$ ($2,09 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu}$ ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e $-\text{Cu}$ ($3,14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e em (b) $-\text{Cu}$ ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu}$ ($3,14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu}$ ($5,21 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu}$ ($1,54 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e $-\text{Cu}$ ($3,27 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), com $t_d = 120\text{s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$ 34

Figura 17. Voltamogramas cíclicos do complexo $\text{Cu (II)} - \text{glifosato}$ utilizando HMDE, em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e glifosato ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), onde: $-\text{15 mV s}^{-1}$, $-\text{25 mV s}^{-1}$, $-\text{50 mV s}^{-1}$, $-\text{75 mV s}^{-1}$, $-\text{100 mV s}^{-1}$, $-\text{150 mV s}^{-1}$, $-\text{200 mV s}^{-1}$, $-\text{250 mV s}^{-1}$, $-\text{300 mV s}^{-1}$, $-\text{400 mV s}^{-1}$, $-\text{500 mV s}^{-1}$ 35

Figura 18. Dependência da intensidade de corrente de pico em função velocidade de varredura (15, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400 e 500 mV s^{-1}) para o complexo $\text{Cu (II)} - \text{glifosato}$ utilizando HMDE. Resultados obtidos em triplicata..... 36

Figura 19. Curva de calibração para a intensidade de corrente de pico em função da velocidade de varredura para o complexo $\text{Cu (II)} - \text{glifosato}$, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade..... 39

Figura 20. Dependência da intensidade da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura (15, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400 e 500 mV s^{-1}) para o complexo $\text{Cu (II)} - \text{glifosato}$ utilizando HMDE..... 40

Figura 21. Curva de calibração para a intensidade de corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para o complexo $\text{Cu (II)} - \text{glifosato}$, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade..... 43

Figura 22. Dependência do logaritmo da intensidade da corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura para o complexo $\text{Cu (II)} - \text{glifosato}$ 44

Figura 23. Curva de calibração para a intensidade de corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura para o complexo $\text{Cu (II)} - \text{glifosato}$, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade..... 46

Figura 24. Voltamograma do complexo Cu (II) – glifosato, obtidos por SWV em HMDE, com diferentes valores de tempo de deposição em meio de NaNO ₂ (0,10 mol L ⁻¹) pH 6,5, Cu (II) (2,61 x 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹) e glifosato (2,35 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹). Os tempos de deposição estudados foram: (a) □ 50, □ 60, □ 70, □ 80, □ 90, □ 100, □ 110, □ 120 s e em (a') □ 120, □ 130, □ 140, □ 150 s, com, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$	47
Figura 25. Curva linearizada (em triplicata) apresentando os valores da intensidade de corrente de pico do complexo Cu (II) – glifosato obtido por SWV em HMDE em função do tempo de deposição de 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 e 150 s.....	48
Figura 26. Curva de calibração para a intensidade de corrente de pico em função do tempo de deposição para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.....	50
Figura 27. Voltamogramas referentes à variação da frequência de onda quadrada para o complexo Cu (II) – glifosato, obtidos por SWV em meio de NaNO ₂ (0,10 mol L ⁻¹) pH 6,5, Cu (II) (2,61 x 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹) e glifosato (2,35 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹). Frequências: (a) (□) 30, (□) 50, (□) 70, (□) 90, (□) 100 s ⁻¹ e em (a') (□) 100, (□) 110, (□) 120, (□) 140 s ⁻¹ , com, $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$	52 52
Figura 28. Dependência da corrente de pico com a frequência para o complexo Cu (II) – glifosato obtido por SWV.....	55
Figura 29. Curva de calibração para a intensidade de corrente de pico em função da frequência de aplicação dos pulsos para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade...	56
Figura 30. Dependência da corrente de pico com a raiz da frequência para o complexo Cu (II) - glifosato sobre HMDE.....	59
Figura 31. Curva de calibração para a intensidade de corrente de pico em função da raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.....	59
Figura 32. Voltamogramas do complexo Cu (II) – glifosato, obtido por SWV em HMDE com diferentes valores de amplitude de pulso de potencial em meio de NaNO ₂ (0,10 mol L ⁻¹) pH 6,5, Cu (II) (2,61 x 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹) e glifosato (2,35 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹). Os valores da amplitude estudados foram: (a) (□) 10, (□) 20, (□) 30, (□) 40, (□) 50, (□) 60, (□) 70, (□) 80 mV, com, $t_d = 120 \text{ s}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$	60 61
Figura 33. Dependência da corrente de pico com variação de amplitude da onda quadrada para o complexo Cu (II) – glifosato obtido por SWV.....	63
Figura 34. Curva de calibração para a intensidade de corrente de pico em função da amplitude de pulsos para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e	

predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.....

Figura 35. Voltamograma do complexo Cu (II) – glifosato, obtido por SWV em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e glifosato ($2,35 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), para diferentes valores de incremento de varredura: (a) (□) 2, (□) 3, (□) 4, (□) 5, (□) 6, (□) 7, (□) 8, (□) 9, (□) 10 mV, com, $t_d = 120 \text{ s}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 2 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$

Figura 36. Efeito da variação do incremento de varredura para o complexo Cu (II) – glifosato obtido por SWV.....

Figura 37. Curva de calibração para a intensidade de corrente de pico em função do incremento de varredura para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.....

Figura 38. Voltamogramas de onda quadrada para o complexo Cu (II) – glifosato em diferentes concentrações em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, – Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$). Concentração: – $3,93 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, – $7,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, – $1,18 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, – $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, – $2,35 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, – $3,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$

Figura 39. Dependência da corrente de pico com a concentração para o complexo Cu (II) – glifosato.....

Figura 40. Curva de calibração para a intensidade de corrente de pico em função da concentração de glifosato adicionada para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.....

Figura 41. Voltamogramas de onda quadrada da recuperação do glifosato em água de eletrólito puro de laboratório obtido por SWV em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5 contaminado com $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de glifosato. Foi adicionado – Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e diferentes concentrações de glifosato: – $3,93 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, – $7,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, – $1,18 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, – $1,57 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e – $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$

Figura 42. Curva de recuperação aparente do glifosato em eletrólito puro de laboratório obtido por SWV.....

Figura 43. Voltamogramas de onda quadrada da recuperação do glifosato em água do lago em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5 contaminado artificialmente com $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de glifosato, – Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e diferentes concentrações de glifosato onde, – $3,93 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, – $7,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, – $1,18 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, – $1,57 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e – $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$

Figura 44. Curva de recuperação aparente do glifosato em água do lago obtido por SWV.....

Figura 45. Voltamogramas de onda quadrada para a quantificação do glifosato da água do riacho em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e diferentes concentrações de glifosato onde, $3,93 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $7,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1,18 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $1,57 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$ 80
81

Figura 46. Curva de recuperação aparente para a quantificação do glifosato em amostra de água do riacho.....

Figura 47. Voltamogramas de onda quadrada para o complexo de Cu (II) com a matéria orgânica presente na água do lago em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5 e diferentes concentrações de Cu (II) onde: Cu (II) ($5,24 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$), Cu (II) ($1,05 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), Cu (II) ($1,57 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), Cu (II) ($2,09 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), Cu (II) ($5,21 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), Cu (II) ($7,80 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), Cu (II) ($1,04 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e Cu (II) ($1,29 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ 82

Figura 48. Voltamogramas de onda quadrada para o complexo de Cu (II) com o AH em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($5,21 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), onde a concentração de AH variou de: $4,79 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, $9,58 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, $1,44 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1,91 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $2,393 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $3,34 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $4,29 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $5,24 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ 83

Figura 49. Voltamograma de onda quadrada para o complexo de Cu (II) - glifosato com adições de AH em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), glifosato ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Concentração de AH: $4,79 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, $9,58 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, $1,44 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1,91 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $2,39 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{varredura}} = -0,9 \text{ V}$ 84

LISTA DE TABELAS	
	5
	19
Tabela 1. Propriedades físico-químicas do Glifosfato.....	22
Tabela 2. Reagentes utilizados e suas respectivas concentrações.....	24
Tabela 3. Eletrólitos utilizados nas análises e seus respectivos valores de pH.....	25
Tabela 4. Concentrações de Cu (II) estudadas.....	25
Tabela 5. Fatores e valores avaliados no estudo univariado de otimização eletroanalítica.....	37
Tabela 6. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e velocidade de varredura para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.....	38
Tabela 7. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e velocidade de varredura do complexo Cu (II) – glifosato.....	41
Tabela 8. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.....	41
Tabela 9. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura do complexo Cu (II) – glifosato. `.....	45
Tabela 10. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e logaritmo da velocidade de varredura para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.....	45
Tabela 11. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e o logaritmo da velocidade de varredura do complexo Cu (II) – glifosato.....	49
Tabela 12. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e logaritmo da velocidade de varredura para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.....	
Tabela 13. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e o tempo de deposição do complexo Cu (II) – glifosato.....	53
Tabela 14. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e frequência de aplicação dos pulsos para o complexo	

Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.....	54
Tabela 15. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a frequência de aplicação dos pulsos do complexo Cu (II) – glifosato.....	57
Tabela 16. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.....	58
Tabela 17. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos do complexo Cu (II) – glifosato.....	62
Tabela 18. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e amplitude de pulsos para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.....	62
Tabela 19. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a amplitude de pulsos do complexo Cu (II) – glifosato.....	67
Tabela 20. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e incremento de varredura para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.....	67
Tabela 21. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e o incremento de varredura do complexo Cu (II) – glifosato.....	71
Tabela 22. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e concentração de glifosato adicionada para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.....	71
Tabela 23. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e concentração de glifosato adicionada para o complexo Cu (II) – glifosato.....	73
Tabela 24. LD e LQ das curvas analíticas pelo método de adição padrão com seus respectivos valores de desvio padrão.....	76
Tabela 25. Ensaio de recuperação do glifosato em eletrólito puro de laboratório por SWV em HMDE.....	78
Tabela 26. Ensaio de recuperação do glifosato em água do lago sobre SWV em HMDE.....	85
Tabela 27. Resultado do estudo de pH após as análises.....	

RESUMO

Simone Carla dos Santos. DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS.

Este trabalho descreve o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para a determinação do pesticida glifosato em amostras ambientais. Os resultados obtidos por voltametria de onda quadrada (SWV) em NaNO_2 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5) sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE), mostram que o glifosato não possui resposta eletroativa. Desta forma, a eletroatividade do glifosato foi obtida por meio da complexação com íon Cu^{2+} . O complexo Cu (II) – glifosato formado apresentou apenas um pico de redução em $-0,1 \text{ V}$ com características quase reversíveis e processo controlado pela difusão das espécies na superfície do eletrodo. Os parâmetros voltamétricos e experimentais envolvidos na redução eletroquímica foram otimizados, e as melhores respostas foram: eletrólito suporte NaNO_2 de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 6,5, concentração de Cu (II) de $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, tempo de pré-concentração 120 s. Os parâmetros da SWV foram frequência = 100 s^{-1} , amplitude = 50 mV e incremento de varredura = 6 mV . Após a otimização do sistema, foram construídas curvas analíticas e o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) obtidos foram $22,04 \mu\text{g L}^{-1} \pm 0,42$ e $73,46 \mu\text{g L}^{-1} \pm 1,41$, respectivamente. Os testes de recuperação apresentam valores de $100,27\% \pm 1,96$ em eletrólito e $99,12 \pm 2,14$ em amostra de água. Adicionalmente, a metodologia desenvolvida foi aplicada para determinação de glifosato em amostras de água coletadas no riacho da Fazenda Santa Clara, pertencente ao município de Cândói/PR, apresentando o valor de $311,09 \mu\text{g L}^{-1}$ de glifosato.

Realizou-se um estudo de interferência com ácido húmico e verificou-se que ocorreu um complexo entre o Cu (II) e o ácido húmico, deslocando o potencial para regiões mais negativas. A presença do ácido húmico com o complexo Cu (II) – glifosato provoca um aumento na intensidade da corrente provocando também uma aumento na largura do

potencial. Apesar da interferência verificada, os percentuais de recuperação nas amostras investigadas foram superiores a 99 %, sendo assim, o glifosato pode ser quantificado em amostras de água pelo método proposto.

Palavras-Chaves: eletrodo de mercúrio, voltametria de onda quadrada, complexo Cu (II) - glifosato.

ABSTRACT

Simone Carla dos Santos. DEVELOPMENT OF AN ELECTROANALYTICAL METHODOLOGY FOR DETERMINATION OF GLYPHOSATE IN ENVIRONMENTAL SAMPLES.

This paper describes the development of an electroanalytical methodology for the determination of the pesticide glyphosate in environmental samples. The results obtained by square wave voltametry (SWV) in NaNO_2 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5) about hanging mercury drop electrode (HMDE) showed that glyphosate has not electroactive response. Thus, the electroactivity of glyphosate was obtained by complexation with Cu^{2+} ions. The complex formed Cu (II) – glyphosate showed only a reduction peak at $-0,1 \text{ V}$ with almost reversible process controlled by diffusion of the species on the electrode surface. The voltammetric and experimental parameters involved in the electrochemical reduction were optimized and the best responses were: NaNO_2 supporting electrolyte of $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ at pH 6,5, concentration of Cu (II) of $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, pre-concentration time 120 sec. The parameters were SWV frequency = 100 sec^{-1} , amplitude = 50 mV and increase of sweep = 6mV. After the system optimization, calibration curves were constructed and the detection limit (LD) and quantification limit (LQ) obtained were $22,04 \mu\text{g L}^{-1} \pm 0,42$ and $73,46 \mu\text{g L}^{-1} \pm 1,41$, respectively. The recovery tests showed values of $100,27\% \pm 1,96$ in electrolyte and $99,12\% \pm 2,14$ in water. Additionally, the methodology was applied for determination of glyphosate in water sample collected in the creek from the Santa Clara, in the municipality of Candói/PR, with a value of $311,09 \mu\text{g L}^{-1}$ glyphosate.

Interference study was performed from the humic acid and it was found that there was a complex between the Cu (II) and humic acid, shifting the potential for negative regions. The presence of humic acid with the complex Cu (II) – glyphosate causes an increase in the current intensity also led to an increase in the width of the potential. Although the interference

seen, the percentage recovery in the sample examined were above 99% so the glyphosate can be measured in samples of water by the proposed method.

Key words: mercury electrode, square wave voltammetry, the complex Cu (II) – glyphosate.

1. INTRODUÇÃO

Com o aumento da população ocorre também uma demanda dos produtos alimentícios, e por este fato, os pesticidas têm sido utilizados para impedir danos às plantações. Os pesticidas são moléculas desenvolvidas para aumentar o rendimento de diferentes atividades agrícolas sendo responsáveis pelo controle de pragas e de doenças que afetam a produção, o armazenamento, o processamento e o transporte de diversos produtos [1].

Os pesticidas compreendem uma grande variedade de substâncias químicas, contendo diferentes grupos funcionais tais como: carbamatos, organoclorados, piretróides, organofosforados, triazinas, clorofenóis, derivados de amônio quaternário, dentre outras, cada um contendo seu diferente modo de ação, biotransformação e eliminação [1]. Sua utilização indiscriminada acarreta uma contaminação ambiental difícil de ser combatida, posto que estas moléculas são desenvolvidas para serem estáveis no meio ambiente [2]. Os pesticidas podem ser classificados por suas diferentes funções, sendo os mais conhecidos: herbicidas (substâncias que interferem com os constituintes morfológicos ou sistemas bioquímicos de plantas, provocando efeitos morfológicos ou fisiológicos, podendo levá-las à morte parcial ou total), fungicidas (produtos utilizados no controle de fungos fitopatogênicos, e podem ser classificados em inorgânicos e orgânicos) e inseticidas (compostos químicos ou biológicos, letais aos insetos em baixas concentrações, podendo ser classificados como inorgânicos, orgânicos sintéticos, orgânicos naturais e biológicos) [3, 4].

Em 1939, Paul Müller [5], descobriu que o Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT) era um inseticida muito eficaz, sendo muito utilizado após a Segunda Guerra Mundial no combate de mosquitos vetores de malária, tifo e febre amarela. Contudo, na década de 70 o uso do DDT foi banido em vários países, no Brasil somente em 2009 ele teve sua fabricação, importação, exportação e comercialização e uso proibidos [6], isto porque, descobriu-se que o DDT oferece grandes riscos para biodiversidade. No entanto, o DDT continua sendo usado em algumas nações no combate à malária e à outras doenças tropicais, na eliminação de mosquitos e outros insetos transmissores [5].

O uso intenso e indiscriminado de pesticidas pode levar à degradação dos recursos naturais, em alguns casos de forma irreversível, ocasionando desequilíbrios biológicos e ecológicos. Na maioria das vezes, os produtos químicos utilizados no controle das pragas permanecem nas plantas e no ar afetando outros insetos, diferentes daqueles para os quais os produtos químicos foram desenvolvidos [7]. Adicionalmente, estes compostos são arrastados para as águas de rios, lagos e mananciais levando à contaminação de lençóis freáticos e, conseqüentemente, de todo o ecossistema.

O Brasil é um dos países que mais utiliza pesticida, correspondendo cerca de 6 % do mercado mundial [8]. Dentre todos os pesticidas, a classe mais utilizada no Brasil, no ano de 2007, foi a dos herbicidas, representando 44,1 % do total de pesticidas utilizados no mundo. Em 2009, a revista *Agroanalysis* [9] divulgou dados do uso de defensivos agrícolas no Brasil destacando que os inseticidas e os herbicidas que tiveram um crescimento de 12,4% e 12,2%, respectivamente, de taxa anual entre 1999 a 2008.

O herbicida glifosato representa 60% do mercado mundial de herbicidas, contabilizando um total de US\$ 1,2 bilhão/ano com vendas do produto [10]. A contaminação do glifosato não se restringe apenas na água e no solo, mas sim, na ingestão da água e dos alimentos produzidos no solo contaminado. Este fator também pode ocorrer com freqüência durante o processo de pulverização do pesticida feito pelo homem causando alergias, disfunções no fígado, alterações neurológicas e em alguns casos até câncer [1]. Portanto, devido à demanda de consumo deste herbicida, bem como sua toxicidade e a persistência de seus produtos de degradação no meio ambiente. O desenvolvimento de metodologias analíticas torna-se importante e necessária.

A busca por metodologias de análise precisas e de baixo custo na determinação de pesticidas e de compostos correlatos é um dos objetivos que tem se tornado bastante comum a grupos de pesquisas de todo o mundo. Esta necessidade implica no desenvolvimento de técnicas de análise adequadas e de alta eficiência, portanto, muito mais acessível tanto aos interessados na aplicação de pesticidas quanto aos órgãos de controle. Assim, as técnicas eletroanalíticas representam uma excelente opção para a determinação de pesticidas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Desenvolver uma metodologia eletroanalítica utilizando voltametria de onda quadrada (SWV), aliada ao eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE), para a determinação do pesticida glifosato em águas da região de Guarapuava/PR.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a eletroatividade do glifosato sobre o eletrodo de gota pendente de mercúrio na forma de complexo com Cu (II).
- Desenvolver e otimizar uma metodologia analítica para o processo de redução do pesticida glifosato utilizando eletrodo de gota pendente de mercúrio, aliado à técnicas eletroanalíticas de análise.
- Realizar um estudo de interferente a fim de se verificar a influência na sensibilidade e seletividade da técnica.
- Aplicar a metodologia desenvolvida em amostras naturais.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Glifosato

O glifosato, N-(fosfonometil) glicina ($C_3H_8NO_5P$), pertence ao grupo dos organofosforados e à classe dos herbicidas. Trata-se de um herbicida sistêmico (absorção pela raiz), pós-emergente (aplicado após a germinação), e não seletivo. O glifosato é utilizado para o controle de plantas de folhas largas, em culturas de ameixa, café, cacau, maçã, pêra, soja, milho, pastagens, dentre outras.

A Figura 1 apresenta a estrutura química do glifosato e suas propriedades físico-químicas estão relacionadas na Tabela 1.

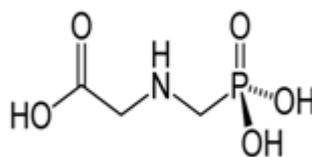


Figura 1. Fórmula estrutural do glifosato

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do Glifosfato [11].

Propriedades	
Massa Molar	169,1 g mol ⁻¹
Aparência	Sólido cristalino
Densidade	0,5 g cm ⁻³
Ponto de fusão	200°C
Solubilidade em água	12 g L ⁻¹ (25°C)
Solubilidade em solvente orgânico	Insolúvel
Acidez (pK _a)	<2.0, 2.32, 5.86, 10.86
Compostos relacionados	Ciliatina (ácido (2-aminoetil)- fosfônico) Glicina (ácido 2-amino-acético)

As constantes de dissociação indicam o grau de dissociação deste herbicida em função do pH, conforme pode ser observado na Figura 2 [11].

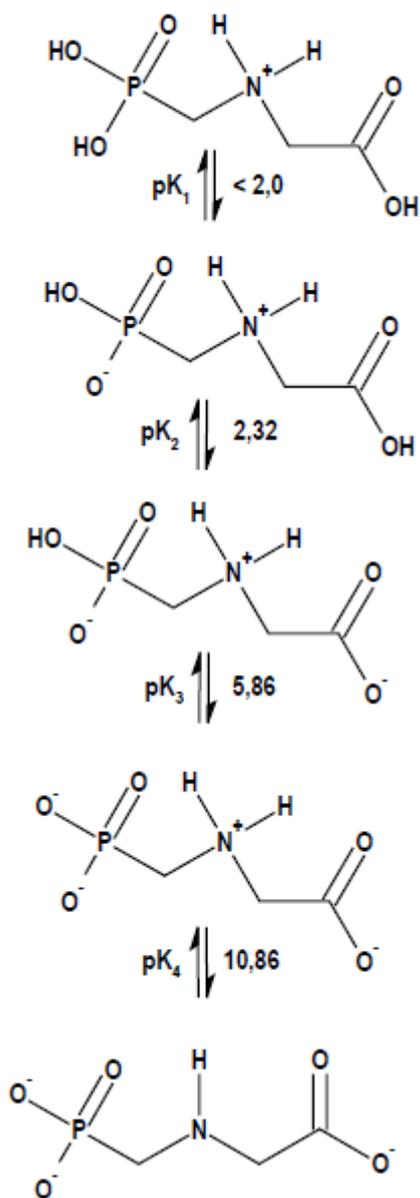


Figura 2. Dissociação do glifosato de acordo com seu comportamento zwitteriônico.

3.1.1. Modo de ação

O glifosato atua na inibição da enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintetase (EPSPS), pertencente à rota do ácido shikímico que está ligado ao metabolismo primário e secundário das plantas, e esta enzima sintetiza os aminoácidos aromáticos: fenilalanina,

tirosina e triptofano, os quais são necessários para o crescimento das plantas. Sem essa enzima, as plantas são incapazes de produzir outras proteínas essenciais para o crescimento, ficando amareladas e morrendo após alguns dias ou semanas. Em condições normais, na planta, a catálise da reação do fosfoenolpiruvato (PEP) para o shikimato-3-fosfato (S3P) forma o 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato (EPSP) e fosfato inorgânico (Pi). A reação está representada na Figura 3 [12].

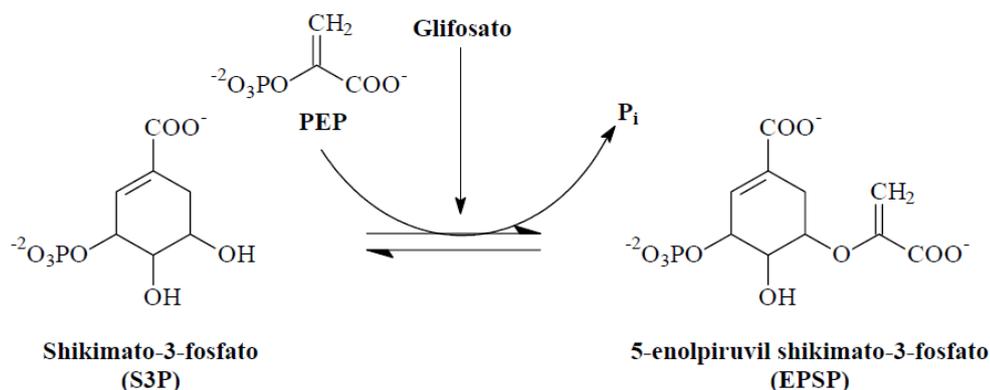


Figura 3. Sexto estágio da etapa que envolve a transferência do enolpiruvil de PEP para S3P.

3.1.2. Degradação

No ambiente, a rápida e completa degradação do glifosato é essencialmente microbiana e pode ocorrer tanto no solo como na água [11, 13, 14]. Estudos indicam que a meia vida do glifosato nas águas naturais em condições de laboratório está entre 7 e 10 semanas. Em suspensão de solo o glifosato degrada rapidamente num período de 28 dias [11]. Em água destilada e em água ultra-pura de laboratório, o glifosato apresenta boa estabilidade [11,14].

O glifosato possui duas principais rotas de degradação microbiológica conforme mostrado na Figura 4 [15]. A primeira consiste na clivagem da ligação fósforo-carbono por ação da bactéria *Agrobacterium radiobacter* ou da *Enterobacter aerogenes* (enzima C-P liase)

produzindo a sarcosina [16, 17] como um metabólito intermediário. A segunda rota consiste na clivagem oxidativa da ligação carbono-nitrogênio produzindo o ácido aminometilfosfônico (AMPA) [17, 18] como metabólito principal.

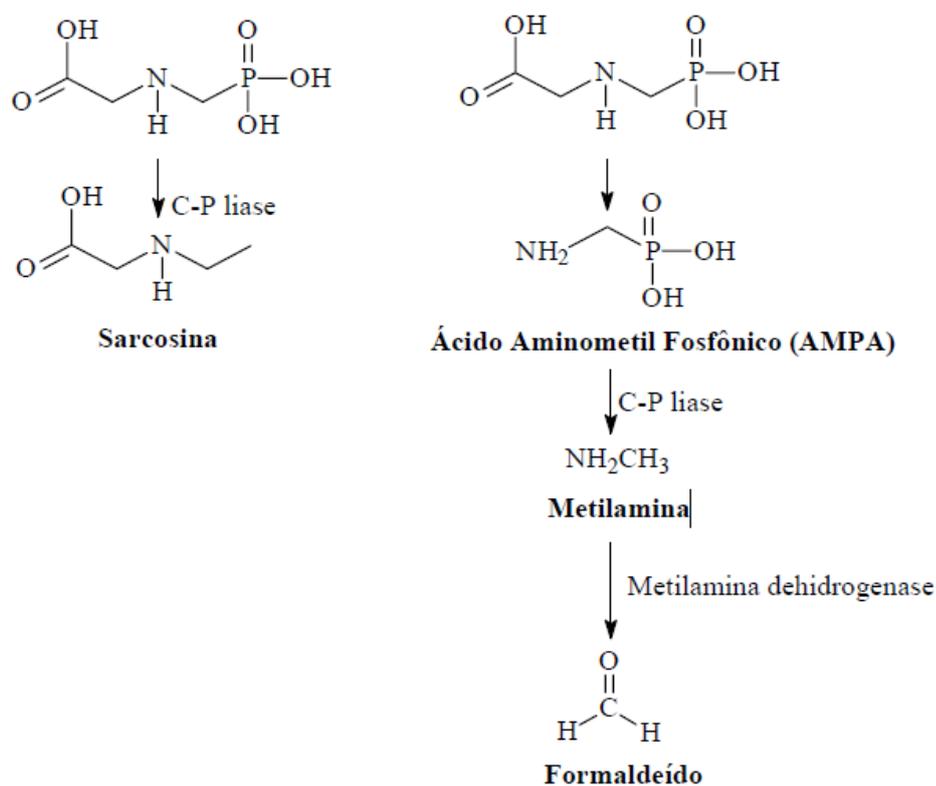


Figura 4. Rota de degradação microbiológica do glifosato.

O AMPA é o principal produto da degradação do glifosato e é muito mais persistente que o glifosato. Estudos indicam que o tempo de meia-vida estimado no solo esteja entre 119 e 958 dias [11,14]. Segundo o Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor (IDEC), é provável que, associando-se os resíduos de glifosato mais os resíduos de AMPA, a quantidade de glifosato total (princípio ativo mais AMPA) nos alimentos à base de soja, por exemplo, atinja níveis prejudiciais à saúde humana. Em testes realizados em ratos, o AMPA causou redução de peso em machos em todas as doses testadas e excessivas divisões celulares na mucosa da bexiga urinária em ambos os sexos [19].

3.1.3. Toxicidade

De acordo com o Ministério da Saúde, o valor máximo permitido (VMP) de resíduo do herbicida glifosato em água potável é de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ [20]. Já a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) estabeleceu o limite de $700 \mu\text{g L}^{-1}$ de glifosato em água potável como limite máximo permitido [12].

As vias de exposição para a intoxicação com o uso do glifosato são: respiratória, digestiva, dérmica e mucosa. Dessa forma, a utilização do glifosato na agricultura pode levar a efeitos nocivos tanto para os animais quanto para os seres humanos. Estudos laboratoriais realizados em ratos detectaram efeitos adversos. Entre estes, incluem-se toxicidade de ratos em médio prazo (lesões em glândulas salivares), toxicidade em longo prazo (inflamações nas mucosas do estômago e excessiva divisão celular no trato urinário), efeitos reprodutivos (redução dos espermatozoides), e carcinogenicidade (maior frequência de tumores no fígado de ratos e câncer de tiróide em ratas) [10].

Apesar de o glifosato ser classificado como levemente perigoso, seu efeito no organismo humano é cumulativo e o tempo de contato do produto é que define a intensidade de intoxicação. Os sintomas causados pela intoxicação em seres humanos são: irritações na pele e nos olhos, edema pulmonar, queda de pressão sanguínea, náuseas e tonturas, perda de líquido gastrointestinal, vômito, desmaios, dor abdominal, alergias, danos no sistema renal e redução dos glóbulos vermelhos no sangue [21].

3.2. Metodologias analíticas para a determinação do glifosato

Vários métodos têm sido utilizados para quantificar o pesticida glifosato, dentre elas pode-se citar a espectrofotometria, eletroforese, cromatografia em fase gasosa, cromatografia em fase líquida de alta eficiência, cromatografia em camada delgada, cromatografia de troca iônica e voltametria [22]. Estes métodos, relacionados à análise de uma grande variedade de amostras ambientais, são muito importantes em função de sua facilidade em efetuar as

separações, identificar e quantificar as espécies presentes na amostra por meio da utilização de detectores específicos a cada de tipo de amostra.

No entanto, a utilização de alguns métodos citados, dentre eles, os métodos cromatográficos, requerem algumas etapas de preparação da amostra antes de ser analisada, eliminando assim os interferentes e, principalmente, a contaminação da coluna cromatográfica, que pode levar a alteração de resultados. Esta etapa de preparação da amostra, em muitos casos, é complexa e demorada, aumentando o tempo de análise e elevando os custos operacionais [3].

Para realizar a determinação do glifosato em uma determinada amostra, a metodologia deve atender alguns aspectos importantes, tais como, velocidade analítica, custo da análise, seletividade, sensibilidade dentre outras.

Assim, a maior parte dos trabalhos encontrados na literatura são realizados por métodos tradicionais de análise, tais como os cromatográficos.

Queiroz et al. [22] submeteram uma simulação de chuva através de um aparelho instalado em um lisímetro (material de acrílico de 8mm de espessura e de 1m² de base que contém amostra de solo isolada no fundo, não permitindo trocas com o solo), ficando este a um metro de profundidade do próprio solo agrícola para realizar uma estudo do transporte do glifosato por uma escoamento superficial o qual se dá por três furos que e estão localizados na parede do lisímetro e por lixiviação que ocorre por um furo próximo a base. Neste estudo, os autores utilizaram a técnica de cromatografia de troca iônica e encontraram valores de limite de detecção de 0,10 mg L⁻¹ e limite de quantificação de 0,25 mg L⁻¹.

Junior [17] desenvolveu uma metodologia para determinar o herbicida glifosato e seu principal produto de degradação o ácido aminometilfosfônico (AMPA) em amostras de água e soja através da técnica de cromatografia líquida de fase reversa acoplada à espectrometria de massas com ionização por electrospray (LC-ESI/MS/MS) operada e em modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM). O limite de detecção encontrado para o glifosato foi de 0,09 mg Kg⁻¹ e o limite de quantificação foi de 0,30 mg Kg⁻¹ e para o AMPA o limite de detecção e quantificação foram de 0,10 e 0,34 mg Kg⁻¹, respectivamente.

Dentro deste contexto, as técnicas eletroanalíticas que compreendem um conjunto de técnicas voltamétricas de análise, surgem como alternativas para a detecção e quantificação de poluentes ambientais justificando-se por algumas vantagens em comparação às técnicas cromatográficas na determinação de pesticidas, como menor custo e, processo mais rápido, sendo que a principal vantagem é a possibilidade de realizar uma análise direta da amostra, sem uma etapa preliminar de separação ou de pré-tratamento [23,24].

Dentre as diversas técnicas eletroanalíticas, destaca-se a voltametria de onda quadrada (SWV), a qual tem sido utilizada com sucesso na determinação de pesticidas, caracterizando-se como um dos métodos mais sensíveis que possibilita uma avaliação do comportamento redox do sistema utilizando-se critérios de diagnósticos específicos [11].

Contudo, o herbicida glifosato não apresenta resposta eletroquímica, ou seja, é inativo voltametricamente [25], uma vez que não apresenta grupos químicos que possam ser reduzidos. Desta forma, uma alternativa é coordenar grupos funcionais do glifosato (amino, carboxilato e fosfonato) com íons metálicos, em especial com os de transição [25], em pH próximo de neutro, onde ambos os grupos carboxilato e fosfonato estarão desprotonados. Sendo assim, ele pode ser detectado na forma de um complexo metálico, como por exemplo, o complexo Cu (II) – glifosato, onde ocorre a redução eletroquímica do metal [12].

A Figura 5 mostra a estrutura molecular do complexo Cu (II) - glifosato onde o metal sofrerá redução nas análises voltamétricas [25].

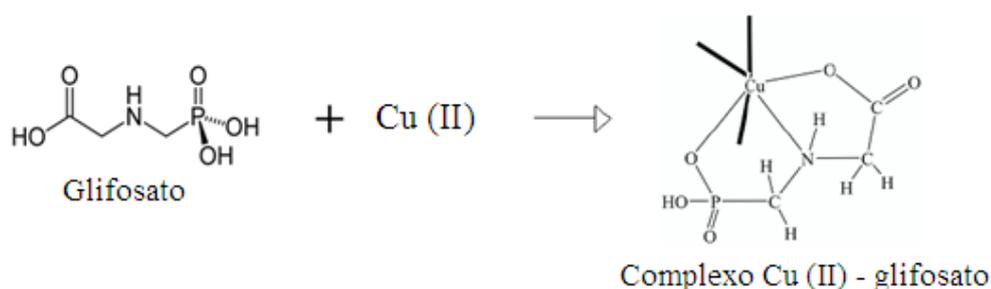


Figura 5. Estrutura molecular do complexo Cu (II) - glifosato.

Alguns trabalhos destacam o crescente uso de técnicas eletroquímicas na determinação do herbicida glifosato. Garcia et. al. [26] desenvolveu um procedimento analítico para determinar glifosato em água de superfície utilizando a voltametria cíclica, com pulso diferencial e de redissolução anódica com pulso diferencial utilizando um eletrodo de cobre. Foram realizados estudos com o glifosato em estado normal e com o glifosato já derivatizado. Os limites de detecção e de quantificação obtidos para o glifosato foram de $59 \mu\text{g L}^{-1}$ e $196 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente e para o glifosato já derivatizado o limite de detecção foi de $41 \mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de quantificação foi de $136 \mu\text{g L}^{-1}$.

Teófilo et. al. [11] desenvolveu uma metodologia para determinar glifosato em água, solo e vegetais, utilizando voltametria de onda quadrada (SWV) e voltametria de pulso diferencial (DPV). A molécula do glifosato foi derivatizada com nitrito de sódio e ácido clorídrico, resultando na introdução de um grupo N-nitroso no grupo amino secundário da molécula do glifosato, sendo este reduzido e, portanto, podendo ser determinado polarograficamente. O limite de detecção encontrado para a SWV foi de $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de quantificação foi de $60 \mu\text{g L}^{-1}$, já para a DPV os limites de detecção e quantificação foram de $22,0$ e $53,8 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Coutinho e Mazo [12] estudaram a complexação, em solução aquosa, entre glifosato e o íon Cu (II) por meio de técnicas eletroanalíticas e espectroscópicas. As técnicas utilizadas foram voltametria cíclica, curvas de polarização, espectroscopia de impedância eletroquímica, voltametria hidrodinâmica. Foi desenvolvida também uma metodologia eletroanalítica de glifosato em amostras ambientais e/ou alimentos utilizando detecção coulométrica com (micro) eletrodo de cobre aliada a cromatografia líquida. Na aplicação de cromatografia de interação hidrofílica com detecção coulométrica para a determinação de glifosato em suco de frutas o limite de detecção encontrado foi de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de quantificação foi de $330 \mu\text{g L}^{-1}$. Para a determinação de glifosato e AMPA em água, utilizando cromatografia por troca aniônica aliada a detecção coulométrica com eletrodo de cobre o limite de detecção encontrado para o AMPA foi $240 \mu\text{g L}^{-1}$ e para o glifosato o limite de detecção foi de $38 \mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de quantificação foi de $129 \mu\text{g L}^{-1}$. A fim de melhorar este limite de detecção foi estudada uma pré-concentração de amostras de água, por meio de cartuchos de extração em fase sólida (SPE) contendo fase estacionária em troca iônica forte (SAX) tendo como um novo limite de detecção o valor de $1,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e limite de quantificação de $6,3 \mu\text{g L}^{-1}$. Foi

desenvolvido e validado também um método para analisar glifosato em amostras de soja utilizando cromatografia de interação hidrofílica aliada a detecção coulométrica com eletrodo de cobre encontrando um limite de detecção de $53,4 \mu\text{g L}^{-1}$ e limite de quantificação de $177 \mu\text{g L}^{-1}$.

Pela descrição dos trabalhos mencionados pode-se verificar a escassez de informações sobre a utilização de técnicas eletroanalíticas para a quantificação de glifosato, portanto, estas técnicas oferecem uma série de vantagens frente às técnicas convencionais de análise. Desta forma, este fato serve de incentivo para o desenvolvimento de uma metodologia adequada para este fim.

3.3. Fundamentos teóricos da técnica eletroanalítica

As técnicas voltamétricas vêm sendo amplamente utilizadas em diversas áreas devido à capacidade de obter informações sobre as propriedades intrínsecas das substâncias. As aplicações destas técnicas são bastante utilizadas para estudo de processos de oxidação e redução em vários meios, mecanismos de transferência de elétrons, adsorção em superfícies [27, 28] entre outras. A voltametria cíclica (VC) é a principal técnica eletroquímica para diagnóstico de mecanismos de reações, porém, proporcionam altos limites de detecção, o que explica o baixo nível de utilização da técnica na detecção de compostos [28]. Para determinação de compostos, utilizam-se as técnicas de pulso que são muito mais sensíveis do que a voltametria cíclica.

A técnica de pulso diferencial é aquela em que a medida da corrente elétrica varia em função do tempo de aplicação de um determinado pulso de potencial. Uma das técnicas de pulso mais rápidas e sensíveis é a voltametria de onda quadrada, onde se obtém limites de detecção comparáveis aos das técnicas cromatográficas [29]. Além disso, a análise de parâmetros característicos desta técnica permite a avaliação cinética e mecanística do processo eletródico em estudo.

3.3.1. Voltametria de onda quadrada (SWV)

No ano de 1952, Barker [30] desenvolveu a polarografia de onda quadrada aplicando pulso de potencial em um eletrodo gotejante de mercúrio onde obteve grande sucesso na análise de traços devido à facilidade de apresentar a corrente em forma de pico simétrico, juntamente com a habilidade de medir as correntes faradaicas em um determinado tempo, em que as correntes capacitivas eram negligenciáveis. Contudo, esta técnica apresentava ruídos provenientes do capilar de mercúrio.

Ramaley e Krause [31, 32], na década de 60, com base nos trabalhos de Barker, desenvolveram uma teoria para a SWV utilizando eletrodos estacionários, eliminando, assim, o ruído proveniente do capilar gotejante de mercúrio. A partir deste estudo, foi estabelecida a voltametria de onda quadrada como técnica para análises de traços, com a vantagem de substituir o eletrodo gotejante de mercúrio por uma gota suspensa ou por um eletrodo sólido. Entretanto, a velocidade de varredura era baixa devido a saltos de pequena amplitude, provocando assim, uma perda de sensibilidade e consequentemente, limitando sua aplicação.

No ano de 1977, Christie, Turner e Osteryoug [33] analisaram estas limitações e desenvolveram o modelo atual da SWV onde as varreduras de corrente em função dos pulsos de potenciais aplicados são feitas a velocidades maiores. Assim, a técnica de voltametria de onda quadrada é a combinação de uma modulação de onda quadrada de grande amplitude com uma rampa de potenciais em forma de “escada”.

Desta forma, define-se a SWV como sendo uma técnica voltamétrica de pulso, onde a forma do pico de corrente resultante é proveniente da sobreposição de pulsos de potencial de altura a (amplitude de pulsos), a uma escada de potenciais de largura ΔE_s (incremento de varredura de potenciais) e duração $2t$ (período), como mostra a Figura 6. As medidas de corrente são feitas no final dos pulsos diretos e reversos e o sinal obtido, após derivação, é dado como uma intensidade da corrente resultante, apresentando excelente sensibilidade e alta rejeição a correntes capacitivas [34, 35]. A corrente capacitiva cai mais rapidamente do que a corrente faradaica em função do tempo, fazendo-se a medida da corrente nos últimos milissegundos da duração da gota, sobressaindo assim a corrente faradaica (Figura 7). O pico voltamétrico resultante apresenta posição, largura e altura características do tipo de sistema

redox avaliado [35, 36]. Na Figura 8 estão representados os voltamogramas teóricos correspondentes a um sistema totalmente irreversível (1) e a um sistema reversível (2).

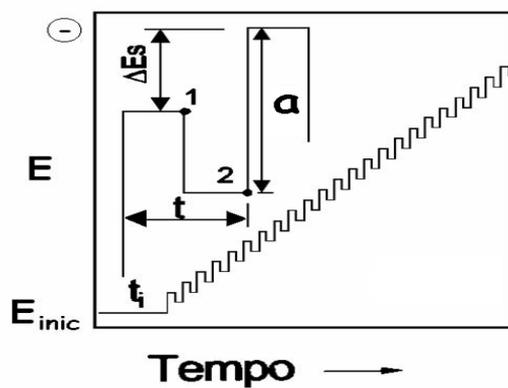


Figura 6. Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.

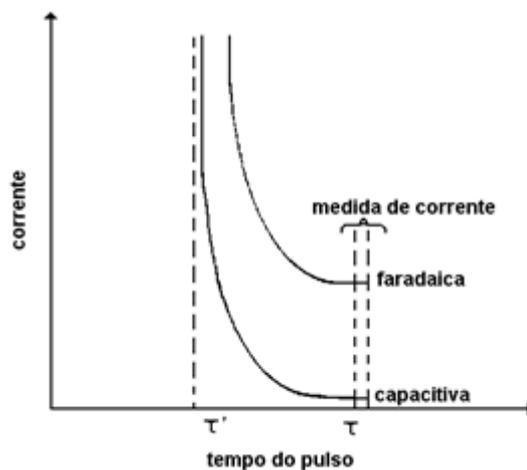


Figura 7. Variação da corrente faradaica (i_f) e corrente capacitiva (i_c) com o tempo na voltametria de onda quadrada.

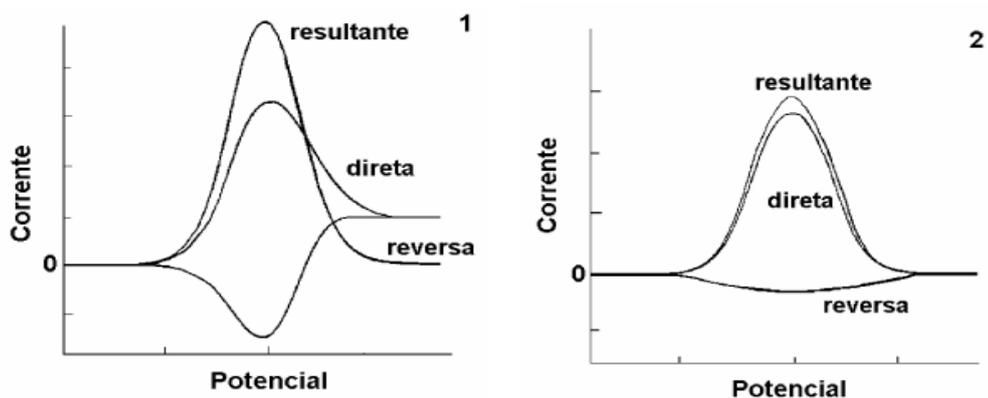


Figura 8. Voltamograma esquemático da medida da corrente voltametria de onda quadrada onde (1) representa um processo redox de um sistema reversível e (2) de um sistema irreversível.

Uma das principais vantagens da SWV é quando se utiliza o eletrodo de gota pendente de mercúrio, pois durante uma única gota de mercúrio ele promove uma varredura completa de potencial reduzindo assim, o tempo da realização do experimento. A velocidade da análise realizada pela SWV é dada em função do incremento de varredura de potencial e a frequência de aplicação dos pulsos de potencial [29].

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Instrumentação

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato voltamétrico 757 VA Computrace operando com um eletrodo de mercúrio de gota pendente (do inglês hanging mercury drop - HMDE) como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl 3,0 mol L⁻¹ e como eletrodos auxiliar, um fio de platina. A manipulação dos dados, o armazenamento e a saída para visualização dos resultados foi controlado pelo “software” VA Computrace, instalado a um microcomputador conectado ao VA Computrace por meio de uma interface. Foi utilizado um sistema de purificação de água milli-Q, modelo *Human UP 900, Gen Pure*. As amostras de águas naturais foram filtradas em uma bomba a vácuo, modelo 131B, *Prismatec*. Para ajustar os valores de pH das soluções utilizou o pH-metro, modelo pHs – 3B, *Labmeter*. Os reagentes foram pesados em uma balança analítica, modelo Ay 220, *Shimadzu*. Para medir soluções em volumes utilizou a micropipeta de marca *Brand*.

4.2. Células voltamétricas

Em todos os experimentos realizados utilizou-se uma célula de vidro com uma tampa de nylon contendo orifícios para o encaixe do eletrodo de trabalho, eletrodo de referência, eletrodo auxiliar, entrada de N₂ e agitador conforme Figura 9.

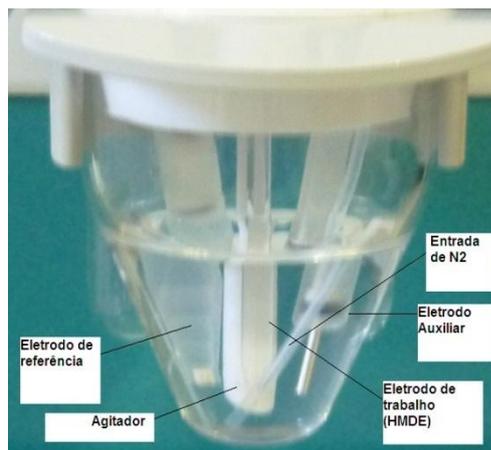


Figura 9. Representação esquemática dos três eletrodos em uma célula polarográfica.

4.3. Reagentes

Os reagentes utilizados para o desenvolvimento da metodologia foram de grau analítico (PA). A Tabela 2 mostra os reagentes utilizados e suas respectivas concentrações. As vidrarias e materiais utilizados passaram por procedimento de limpeza com solução de banho ácido, HNO_3 10% (v/v) para assegurar a ausência de qualquer resíduo e, posteriormente, lavadas com água ultra-pura.

Tabela 2. Reagentes utilizados e suas respectivas concentrações.

Reagentes	Concentrações	Procedência
Solução estoque de glifosato 99,2%	$5,91 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	Sigma-Aldrich
Nitrito de Sódio	$0,10 \text{ mol L}^{-1}$	Biotec
Nitrato de Sódio	$0,10 \text{ mol L}^{-1}$	Synth
Tampão Fosfato	$0,10 \text{ mol L}^{-1}$	Vetec
Cobre (II)	$7,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	Biotec
Ácido Húmico (AH)	$7,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	Sigma - Aldrich
Ácido Nítrico	$0,10 \text{ mol L}^{-1}$	Synth
Hidróxido de Sódio	$0,10 \text{ mol L}^{-1}$	Biotec
Solução Tampão pH 4,01		Hanna
Solução Tampão pH 7,01		Hanna

Obs: O nitrito de sódio foi preparado diariamente devido à sua fácil oxidação [11].

4.4. Amostras

As amostras de águas naturais foram coletadas em áreas da margem de um lago situado no campus CEDETEG da UNICENTRO (Figura 10), dentro da cidade de Guarapuava, no Paraná. As amostras foram armazenadas em recipientes de vidro, os quais foram previamente descontaminados por meio de banho em ácido nítrico 10% (v/v) e enxaguados com água ultra-pura e, então, ambientalizados com a água do lago. As amostras foram filtradas com membrana de celulose $0,45 \mu\text{m}$, utilizando-se uma bomba de vácuo e as

medidas eletroquímicas foram realizadas diretamente nas amostras coletadas e imediatamente após a coleta.

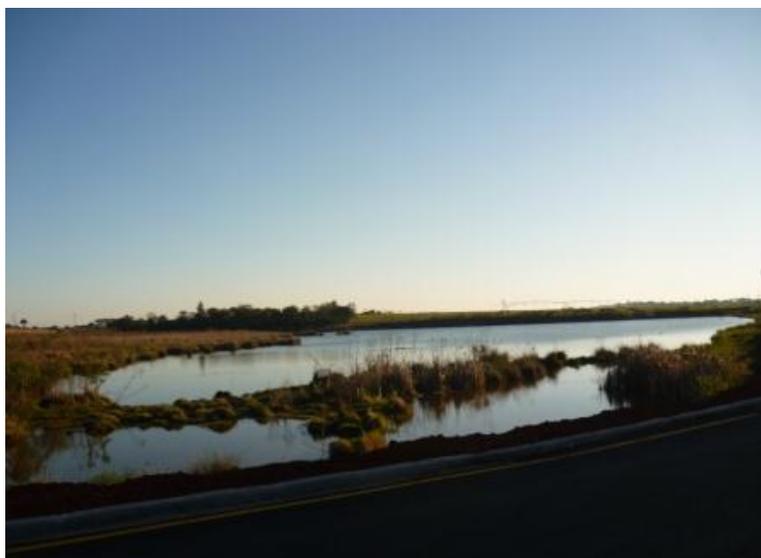


Figura 10. Lago situado no campus CEDETEG da UNICENTRO - Guarapuava/PR.

Foram coletadas também, amostras de águas em áreas da margem do riacho Santa Clara, pertencente à Fazenda Santa Clara do município de Candói no Paraná (Figura 11), dois dias após a aplicação do herbicida glifosato em áreas próximas ao riacho. As amostras foram armazenadas em frascos plásticos, destinados apenas para a coleta das amostras, descontaminados e ambientalizados com a água do riacho. Os recipientes foram envolvidos com papel alumínio e transportados em uma caixa de isopor com gelo para resfriamento da amostra. As amostras foram filtradas com filtro quantitativo de membrana de celulose 0,45 μm , utilizando-se de uma bomba a vácuo e mantidas nos mesmos recipientes, os quais foram lavados com água ultra-pura e ambientalizados novamente. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas e mantidas sob refrigeração, a uma temperatura de 4 °C por um prazo máximo de dois dias para a realização dos experimentos. As medidas foram realizadas diretamente nas amostras sem a necessidade de diluição.



Figura 11. Riacho Santa Clara – Candói – PR.

4.5. Metodologia

Em todas as determinações as soluções foram purgadas com gás N_2 por 8 minutos, para que todo o oxigênio presente fosse eliminado, pois, a presença do O_2 nas soluções torna a corrente de fundo muito alta, mascarando assim, a corrente produzida pela espécie eletroativa.

Todos os voltamogramas foram registrados em um intervalo de potencial 0,105 a -0,4 V em relação ao eletrodo de referência Ag / AgCl em KCl 3,0 mol L^{-1} .

4.5.1. Voltametria Cíclica

Inicialmente utilizou-se a técnica de voltametria cíclica a fim de verificar e reversibilidade do sistema. Alguns critérios desta técnica foram utilizados para especulações do comportamento do complexo Cu (II) – glifosato por meio de um estudo de velocidade de varredura. Na determinação do glifosato por meio de voltametria cíclica foi adicionado 15 mL de $NaNO_2$ (0,10 mol L^{-1}) pH 6,5, 50 μL de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7}$ mol L^{-1}) e 80 μL ($3,13 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}) de glifosato. Os experimentos caracterizaram-se pela variação da velocidade de varredura no intervalo de 15 a 500 mV s^{-1} . As análises foram realizadas em triplicata.

4.5.2. Voltametria de onda quadrada

A técnica de voltametria de onda quadrada foi utilizada para os estudos da reação de redução eletroquímica do complexo Cu (II) - glifosato e aplicada no desenvolvimento de uma nova metodologia para quantificação do herbicida em amostras de águas naturais, bem como na análise de possíveis interferentes.

4.5.2.1. Estudo do eletrólito suporte

Inicialmente foi realizado estudo para definir qual eletrólito suporte fornece melhor resposta eletroquímica para a redução do pico do complexo Cu (II) - glifosato. Este estudo foi realizado em diferentes valores de pH. O pH das soluções foram ajustados por meio do pHmetro com soluções de ácido nítrico e hidróxido de sódio. A calibração do aparelho foi realizada diariamente com solução tampão pH = 4,01 e solução tampão pH = 7,01.

A Tabela 3 mostra os eletrólitos utilizados para a análise com seus respectivos valores de pH avaliados.

Tabela 3. Eletrólitos utilizados nas análises e seus respectivos valores de pH.

Eletrólitos	Fórmula	Valores de pH
Tampão Fosfato	($\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$)	5,0 ; 6,0 ; 7,0 ; 8,0
Nitrato de Sódio	NaNO_3	5,0 ; 6,0 ; 7,0 ; 8,0
Nitrito de Sódio	NaNO_2	4,5 ; 5,5 ; 6,5 ; 7,5 ; 8,5 ; 9,5

O tampão fosfato foi feito a partir de solução estoque de fosfato ácido de sódio anidro (NaH_2PO_4) 1/15M e solução estoque de fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4) 1/15M.

Os valores de pH das soluções de nitrato de sódio e nitrito de sódio foram ajustados com hidróxido de sódio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido nítrico $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, conforme necessário.

As análises foram realizadas utilizando-se 15 mL de cada eletrólito de suporte em seu respectivo valor de pH, 50 μL ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) de solução de Cu (II) e 3 adições de glifosato, cada uma contendo 25 μL ($9,08 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$).

4.5.2.2. Estudo da concentração de Cu (II)

Para uma melhor resposta eletroquímica foi realizado um estudo da melhor concentração de Cu (II) a fim de promover a complexação com o glifosato. Para a realização desta análise foi utilizado o padrão de Cu (II) na concentração estoque de 5 mg L^{-1} ($7,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e as demais concentrações (Tabela 4) foram obtidas a partir desta. Neste estudo utilizou-se 15 mL de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 6,5 e uma adição de glifosato contendo 50 μL ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$).

Tabela 4. Concentrações de Cu (II) estudadas.

Volume (μL) de Cu (II)	Concentração (mol L^{-1})
10	$5,24 \times 10^{-8}$
20	$1,05 \times 10^{-7}$
30	$1,57 \times 10^{-7}$
40	$2,09 \times 10^{-7}$
50	$2,61 \times 10^{-7}$
60	$3,14 \times 10^{-7}$
100	$5,21 \times 10^{-7}$
300	$1,54 \times 10^{-6}$
650	$3,27 \times 10^{-6}$

4.5.2.3. Parâmetros eletroanalíticos

4.5.2.3.1. Estudo univariado

Foi realizado um estudo univariado (Tabela 5) para a otimização da metodologia eletroanalítica do glifosato com o eletrodo de mercúrio. As medidas caracterizaram-se pelo estudo da variação da frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), do incremento de varredura (ΔE_s), da amplitude dos pulsos (a) e do tempo de deposição (t_d) das espécies na superfície da gota de mercúrio. Para realizar os estudos anteriormente citados foi adicionados 15 mL de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, 50 μL de solução de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e 60 μL de glifosato ($2,35 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) na cela eletroquímica. As análises foram realizadas em triplicata.

Tabela 5. Fatores e valores avaliados no estudo univariado de otimização eletroanalítica.

Fatores	Valores
Frequência (s^{-1})	30, 50, 70, 90, 100, 110, 130, 140
Incremento (mV)	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10
Amplitude (mV)	10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80
Tempo de deposição (s)	50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150

4.5.2.3.2. Determinação da curva de calibração para o glifosato

Estabelecidas as melhores condições para a determinação eletroanalítica do glifosato, foram construídas várias curvas analíticas pelo método de adição de padrão e determinados os limites de detecção (LD - representa a menor concentração da substância analisada que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental) e quantificação (LQ - representa a menor concentração da substância analisada que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental) respectivamente [37]. As adições realizadas na curva analítica pelo método de adição padrão foram, 15 mL de $NaNO_2$ ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 6,5; 50 μL de solução de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) uma adição de 10 μL de glifosato e outras adições totalizando 20, 30, 50, 60, 90 μL ($3,93 \times 10^{-7}$; $7,85 \times 10^{-7}$; $1,18 \times 10^{-6}$; $1,96 \times 10^{-6}$; $2,35 \times 10^{-6}$ e $3,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente) de glifosato. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

4.5.2.3.3. Repetibilidade e reprodutibilidade do método.

Foram realizados ensaios para avaliar a repetibilidade e reprodutibilidade do método, encontrando o desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV). Para a determinação de repetibilidade e reprodutibilidade foi utilizado 15 mL de

NaNO₂ (0,10 mol L⁻¹) em pH 6,5; 50µL de solução de Cu (II) (2,61 x 10⁻⁷ mol L⁻¹) e 90 µL (3,52 x 10⁻⁶ mol L⁻¹) de glifosato. As medidas foram realizadas em triplicata.

4.5.2.3.4. Estudo de linearidade

A linearidade do método analítico para a determinação do glifosato foi avaliada através da análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados, onde foram calculados os resíduos e o coeficiente de correlação linear (r). Um método utilizado para avaliar a linearidade é a realização da análise de variância para regressão [38]. A análise de regressão é uma metodologia que utiliza a relação entre duas ou mais variáveis quantitativas (ou qualitativas), de tal forma, que uma variável pode ser prognosticada a partir da outra, ou outras. Para gerar as curvas de calibração por adição de padrão foi aplicada uma análise de variância (ANOVA) correspondente à regressão linear ordinária aos dados de picos de corrente catódica e concentração das soluções de padrão adicionadas no nível de 95% de confiança. Para testar a significância dos coeficientes da calibração (intercepto e sensibilidade do método) e a linearidade da mesma foi aplicado um *teste-t* e foram construídos intervalos de confiança e de predição no nível de 95 % de confiança. Toda a análise estatística foi realizada usando o Statistica and Statistica Industrial System [Statsoft, Inc. (1995), Tulsa, USA].

Em todas as determinações realizadas em triplicata fez-se um estudo da regressão linear.

4.5.2.3.5. Estudo de recuperação de glifosato

Foram realizadas medidas de recuperação do glifosato em eletrólito puro de laboratório e em amostras de águas coletadas em lago da Universidade Estadual Do Centro-Oeste – UNICENTRO, campus CEDETEG, Guarapuava/PR.

Os ensaios de recuperação para o herbicida glifosato tanto em eletrólito puro como em amostras naturais foram realizados fortificando-se estas amostras com $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de glifosato. Foram adicionados na cela eletroquímica 15 mL de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 6,5; 50 μL de solução de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), e adições consecutivas de 10 μL de glifosato ($3,93 \times 10^{-7}$; $7,85 \times 10^{-7}$; $1,18 \times 10^{-6}$; $1,57 \times 10^{-6}$ e $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente). As recuperações foram realizadas em triplicata, tanto no eletrólito puro de laboratório como na água do lago.

4.5.2.3.6. Quantificação de glifosato em amostras de água

Assim, com a metodologia otimizada, foi realizado um estudo de quantificação do glifosato em amostras de águas naturais. Foram coletadas amostras em um riacho na Fazenda Santa Clara do município de Cândói/PR. Próximo ao riacho encontra-se uma plantação de soja onde ocorreu a aplicação do glifosato dois dias antes da coleta das amostras.

Nesta análise foram utilizados 15 mL de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 6,5; 50 μL de solução de Cu (II) ($2,618 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e adições consecutivas de 10 μL de glifosato ($3,93 \times 10^{-7}$; $7,85 \times 10^{-7}$; $1,18 \times 10^{-6}$; $1,57 \times 10^{-6}$ e $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente).

4.5.2.3.7. Análise do interferente orgânico

Para a determinação de interferente foram realizados experimentos a fim de comprovar se o Cu (II) complexa ou não com a matéria orgânica presente na água do lago, utilizando-se o ácido húmico como sonda. Para isso preparou-se uma solução de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 6,5 com a água do lago e, em seguida, foram adicionados 15 mL desta solução na cela eletroquímica e alíquotas de Cu (II). A quantidade de solução de Cu (II) adicionada variou de 10 a 250 μL ($5,24 \times 10^{-8}$ a $1,29 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Adicionalmente, foram realizados estudos para verificar a interferência na presença de ácido húmico (AH) tanto para o Cu (II) quanto para o complexo Cu (II) – glifosato. Para os cálculos considerou-se a massa molecular do AH sendo como $5539,95 \text{ g mol}^{-1}$ [33, 34]. A análise do interferente AH com o Cu (II) foi realizada em 15 mL de eletrólito de suporte em água pura, juntamente com uma solução de 100 μL de Cu (II) ($5,21 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e AH nas concentrações de $4,79 \times 10^{-8}$ a $5,24 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Já para a análise do interferente AH com o complexo Cu (II) – glifosato foram utilizados 15 mL de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 6,5; 50 μL de solução de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), adição de 50 μL ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) de glifosato e variou-se as concentrações de AH de $4,79 \times 10^{-8}$ a $2,39 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como citado anteriormente, o glifosato não possui resposta eletroativa em eletrodo de mercúrio. Desta forma, em todos os estudos realizados, o herbicida foi complexado com o metal Cu (II) para que fosse possível obter resposta eletroanalítica.

A intensidade de corrente de pico para o Cu (II) ocorre em potencial de 0,01 V e para o complexo Cu (II) – glifosato apresenta-se em potencial de -0,1 V.

5.1. Estudo do eletrólito suporte

O primeiro estudo realizado foi à escolha do eletrólito suporte, sendo testados: tampão fosfato 0,10 mol L⁻¹, nitrato de sódio 0,10 mol L⁻¹ e nitrito de sódio a 0,10 mol L⁻¹, como se pode observar nas Figuras 14, 15 e 16, respectivamente. Variaram-se também os valores da concentração hidrogeniônica do meio, para os eletrólitos citados anteriormente, conforme Tabela 3. Observou-se que não ocorreu a formação do complexo Cu (II) - glifosato na presença do tampão fosfato, pois não foi observada a formação de pico na faixa de potencial de trabalho para o complexo. No entanto, pode-se notar que houve deslocamento da intensidade de corrente de pico para valores mais altos de pH, conforme a Figura 12. Para o eletrólito NaNO₃ nos valores de pH 6,0, 7,0 e 8,0, notou-se a formação do complexo Cu (II) – glifosato, de acordo com a Figura 13. Contudo, a resposta ficou comprometida, apresentando baixa resolução para o pico do complexo formado. Para as determinações com eletrólito NaNO₂ (Figura 14) observou-se a formação do complexo Cu (II) – glifosato, apresentado resposta bem definida. Na Figura 15 observa-se os melhores resultados de intensidade de corrente de pico relacionado com os de valores de pH do eletrólito NaNO₂.

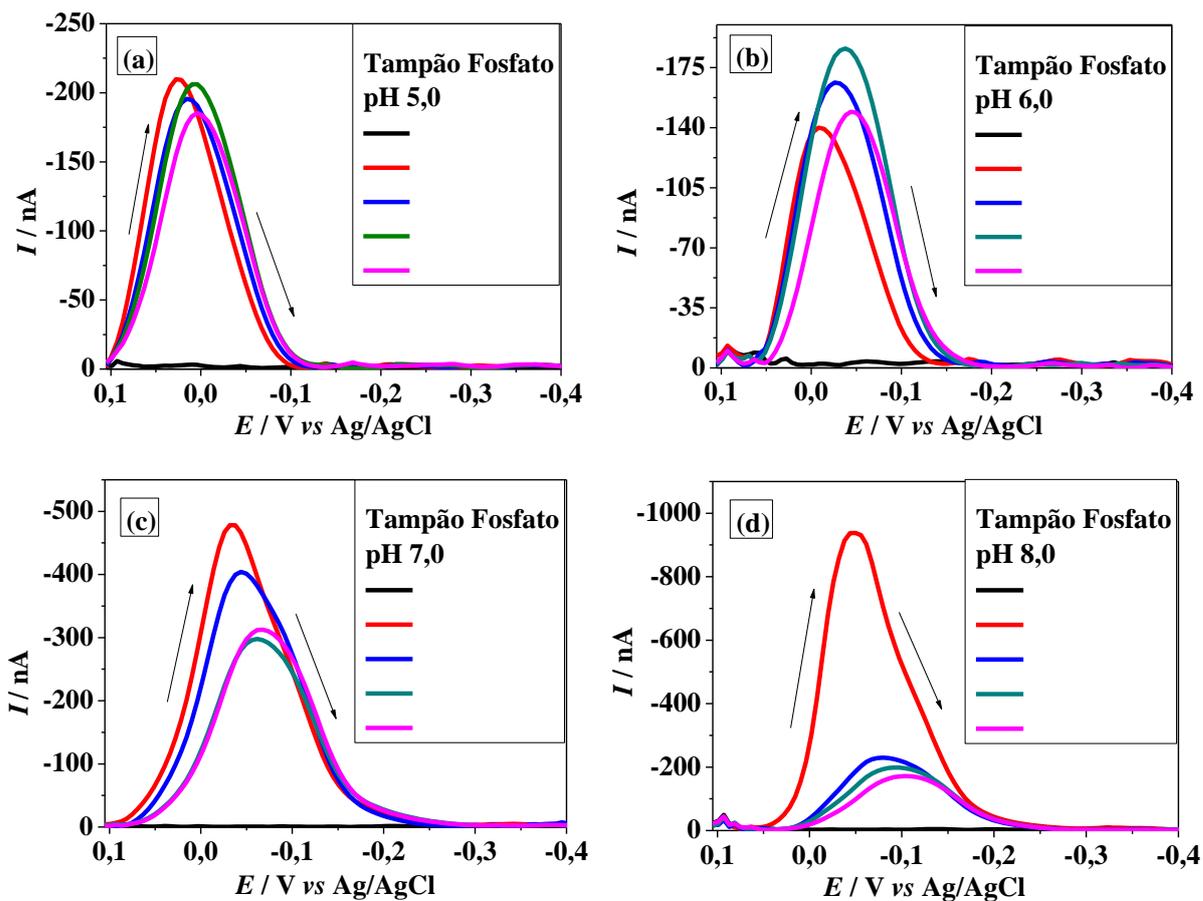


Figura 12. Voltamogramas obtidos por SWV em diferentes valores de pH em meio de tampão fosfato, onde □ Tampão fosfato ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$), □ Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), □ glifosato ($9,08 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), □ glifosato ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e □ glifosato ($2,93 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), onde os valores de pH foram: (a) 5,0; (b) 6,0; (c) 7,0; (d) 8,0, com $t_d = 120\text{s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

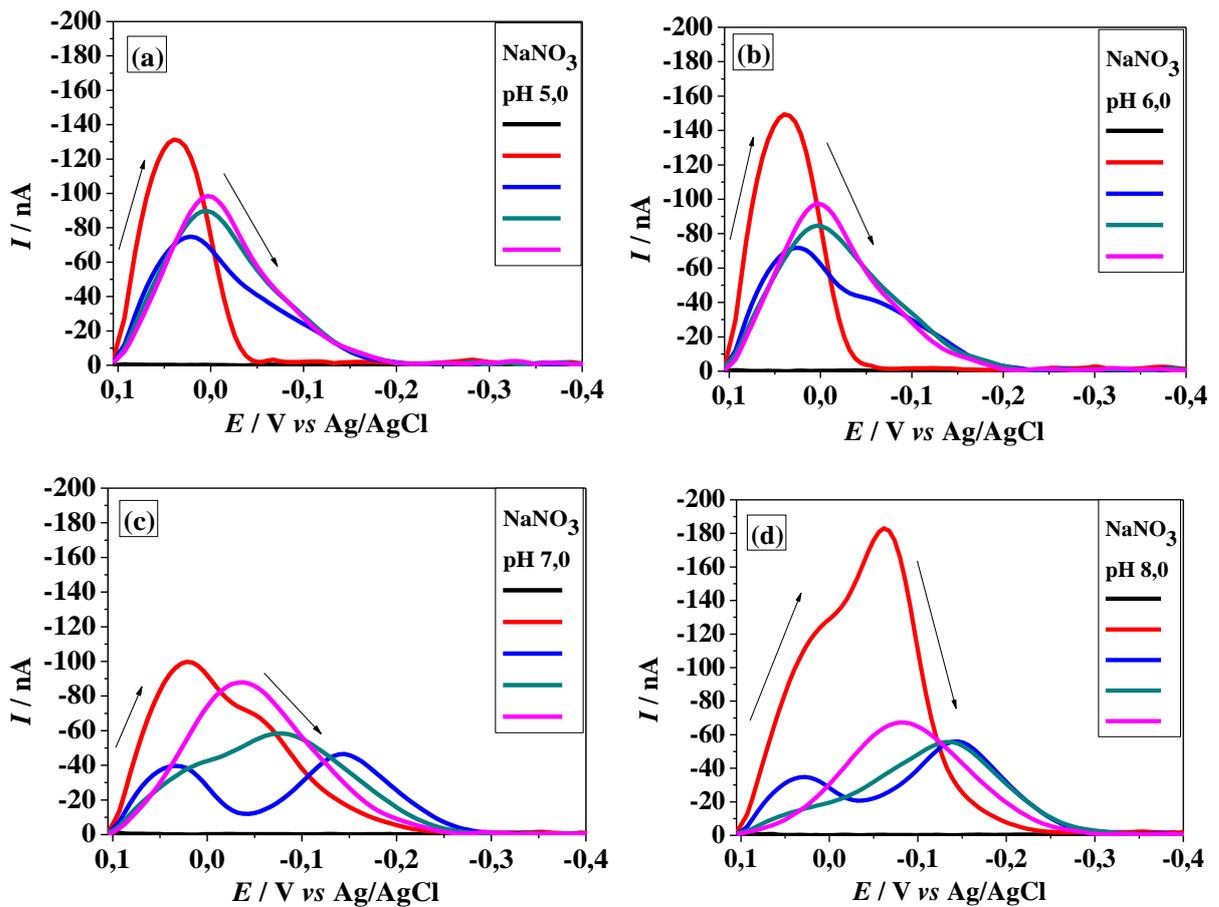


Figura 13. Voltamogramas obtidos por SWV em diferentes valores de pH em meio de NaNO_3 , onde \square NaNO_3 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$), \square Cu(II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), \square glifosato ($9,08 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), \square glifosato ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e \square glifosato ($2,93 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), onde os valores de pH foram: (a) 5,0; (b) 6,0; (c) 7,0; (d) 8,0, com $t_d = 120\text{s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

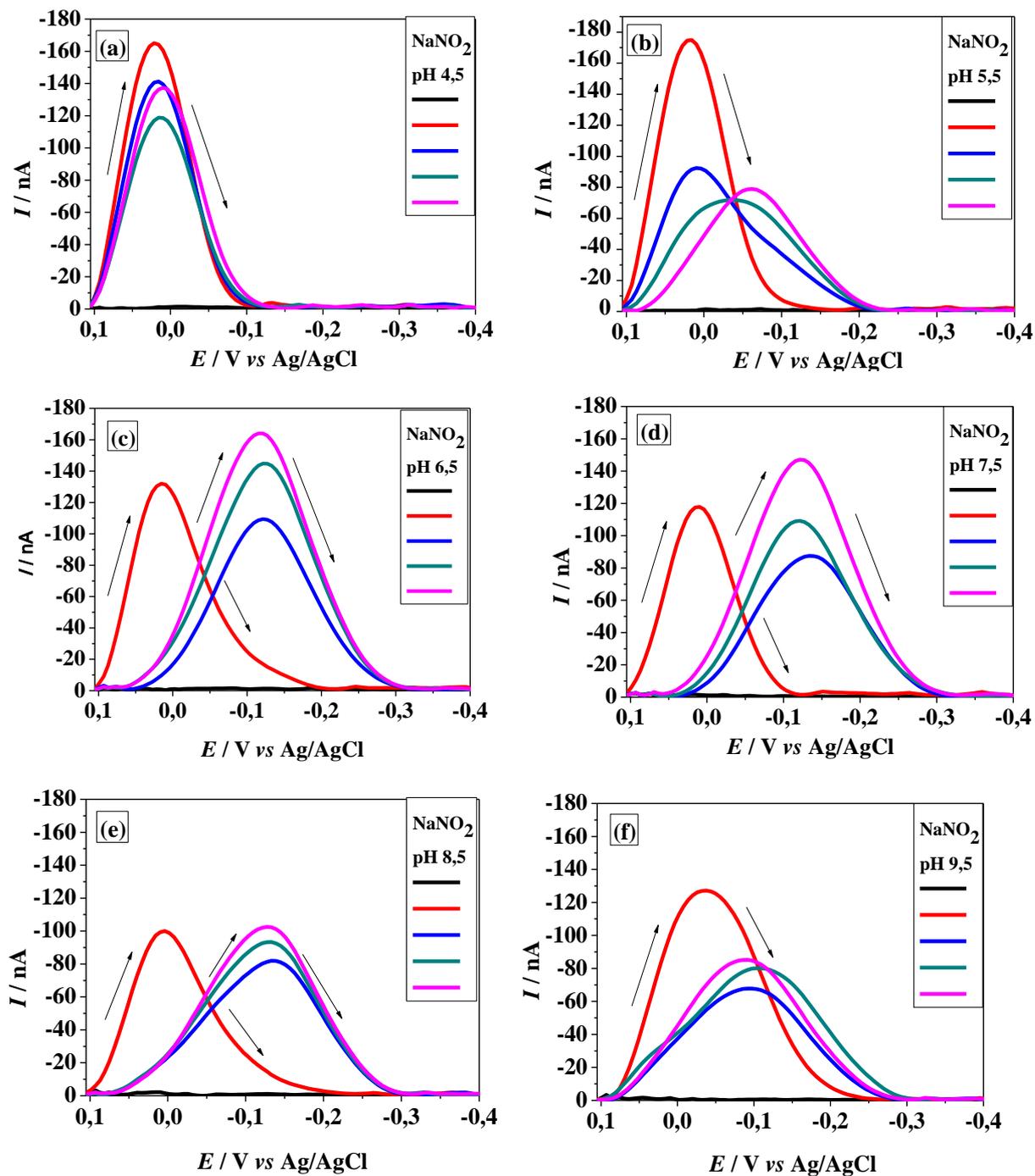


Figura 14. Voltamogramas obtidos por SWV em diferentes valores de pH em meio de NaNO₂, onde □ NaNO₂ (0,10 mol L⁻¹), □ Cu (II) (2,61 x 10⁻⁷ mol L⁻¹), □ glifosato (9,08 x 10⁻⁷ mol L⁻¹), □ glifosato (1,96 x 10⁻⁶ mol L⁻¹) e □ glifosato (2,93 x 10⁻⁶ mol L⁻¹), onde os valores de pH foram: (a) 4,5; (b) 5,5; (c) 6,5; (d) 7,5; (e) 8,5 e (f) 9,5, com $t_d = 120\text{s}$, $a = 50\text{ mV}$, $f = 100\text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6\text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9\text{ V}$.

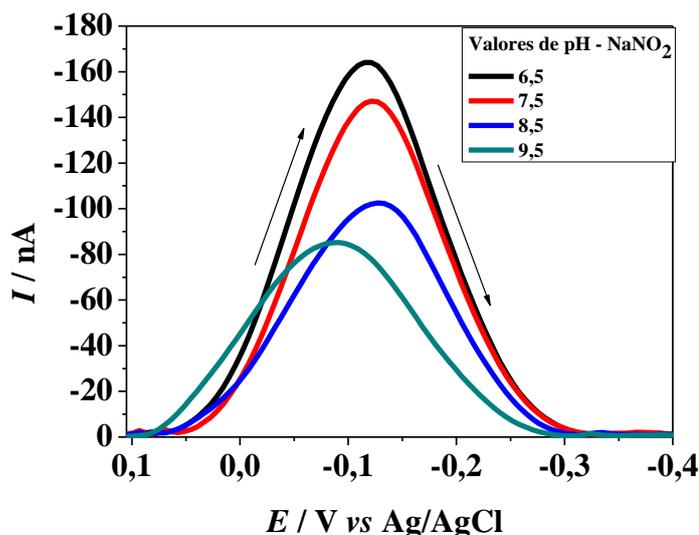


Figura 15. Voltamogramas obtidos por SWV em diferentes valores de pH em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$), Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e glifosato ($2,93 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) onde, □ pH 6,5, □ pH 7,5, □ pH 8,5, □ pH 9,5, com $t_d = 120\text{s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

De acordo com os resultados dos voltamogramas mostrados nas Figuras 12, 13, 14 e 15, a melhor resposta de intensidade de corrente de pico para o complexo Cu (II) – glifosato, foi obtida com o eletrólito NaNO_2 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 6,5. Portanto, este resultado foi o escolhido para o desenvolvimento da metodologia analítica.

5.2. Estudo da concentração do Cu (II)

Na sequência, foi realizado um estudo mantendo-se fixa a concentração do glifosato e variando-se a concentração do Cu (II) , podendo assim, determinar a melhor resposta eletroquímica da formação do complexo Cu (II) – glifosato (Figura 16).

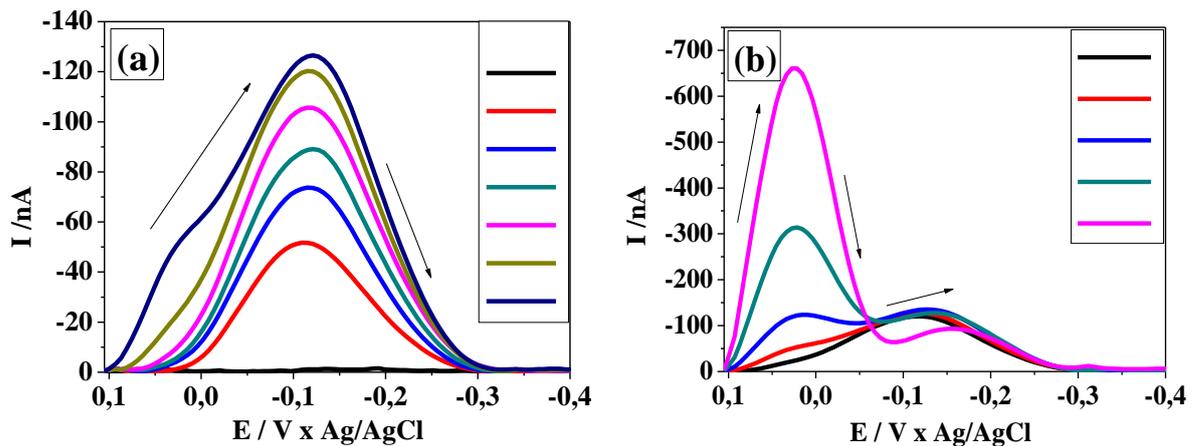


Figura 16. Voltamogramas obtidos por SWV para diferentes concentrações de Cu em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, glifosato ($1,96 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e adições consecutivas de Cu (II) onde, em (a) — Cu ($5,24 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$), — Cu ($1,05 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), — Cu ($1,57 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) — Cu ($2,09 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), — Cu ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e — Cu ($3,14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e em (b) — Cu ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), — Cu ($3,14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), — Cu ($5,21 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), — Cu ($1,54 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e — Cu ($3,27 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), com $t_d = 120\text{s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

Observa-se na Figura 16 (a) que, a adição de Cu (II) na concentração de ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) proporcionou uma intensidade de corrente de pico maior, apresentando boa resolução na formação do complexo Cu (II) – glifosato. Em contrapartida, para concentrações maiores, começou a surgir uma intensidade de corrente de pico do Cu^{2+} juntamente com o complexo Cu - glifosato, ou seja, a quantidade de Cu (II) estava em excesso, o que fez com que ocorresse uma sobreposição de picos (Cu (II) e complexo Cu (II) – glifosato). Assim, a concentração de Cu (II) escolhida para o desenvolvimento da metodologia foi de $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

5.3. Estudo do complexo Cu (II) - glifosato por meio de voltametria cíclica

A técnica de voltametria cíclica foi utilizada a fim de investigar o comportamento eletroquímico do complexo Cu (II)-glifosato. A partir dos resultados obtidos foi possível avaliar o grau de reversibilidade da reação de redução do complexo. Os experimentos caracterizaram-se pela variação da velocidade de varredura no intervalo de 15 a 500 mV s^{-1} onde $t_d = 120\text{s}$.

Os voltamogramas cíclicos do complexo Cu (II) - glifosato em função da velocidade de varredura podem ser observados na Figura 17.

Pode-se observar que o complexo apresenta um único pico de redução com características de processo quase-reversível, pois há presença de pico de oxidação no sentido inverso, sendo que o valor da corrente de pico inverso não aumenta proporcionalmente com o valor da corrente de pico de redução do complexo.

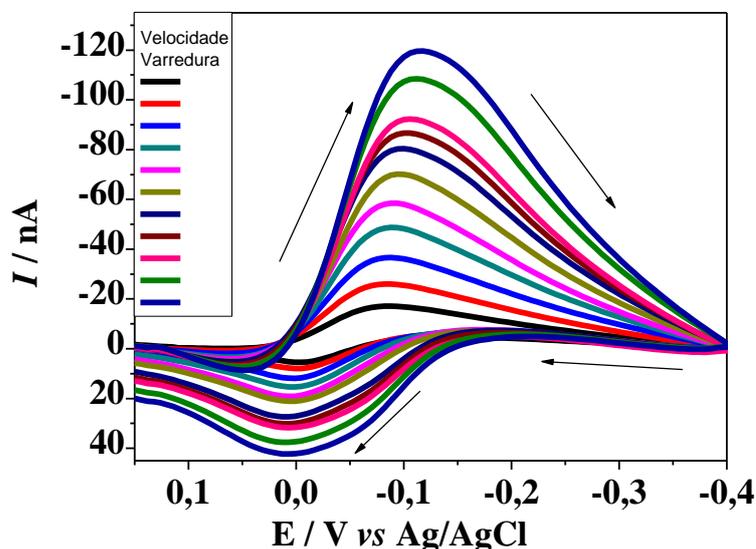


Figura 17. Voltamogramas cíclicos do complexo Cu (II) – glifosato utilizando HMDE, em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e glifosato ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), onde: -15 mV s^{-1} , -25 mV s^{-1} , -50 mV s^{-1} , -75 mV s^{-1} , -100 mV s^{-1} , -150 mV s^{-1} , -200 mV s^{-1} , -250 mV s^{-1} , -300 mV s^{-1} , -400 mV s^{-1} , -500 mV s^{-1} .

Na Figura 18 pode-se observar a variação da velocidade de varredura em função da intensidade da corrente de pico em um gráfico de linearidade.

A intensidade de corrente de pico não varia linearmente com a velocidade de varredura, no intervalo de 15 a 500 mV s^{-1} , como mostra a Figura 18. Este comportamento é um indicativo de que o processo é controlado pela difusão e não pela adsorção das espécies à superfície do eletrodo [1].

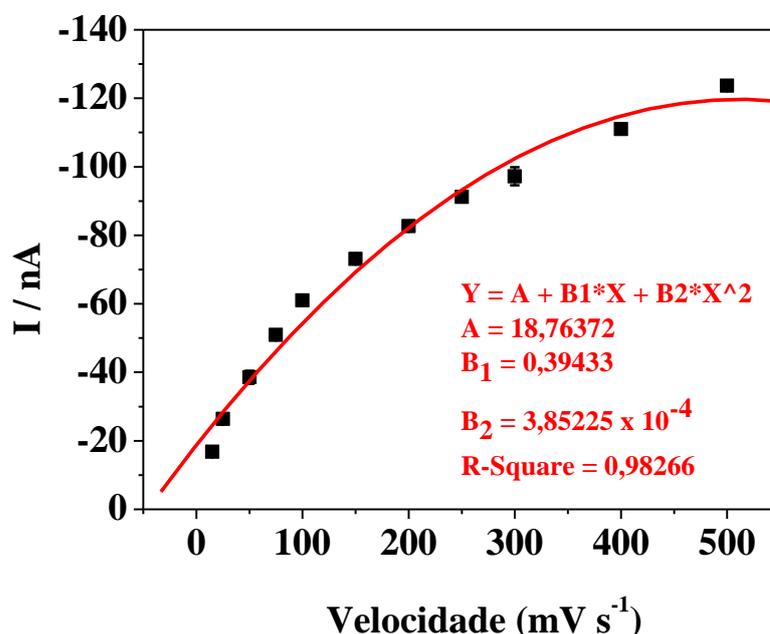


Figura 18. Dependência da intensidade de corrente de pico em função velocidade de varredura (15, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400 e 500 mV s^{-1}) para o complexo Cu (II) - glifosato utilizando HMDE. Resultados obtidos em triplicata.

Pode-se observar que o erro relacionado com os dados obtidos da intensidade da corrente de pico para as três análises realizadas não é significativo.

Adicionalmente, foram construídas curvas de linearização da intensidade de corrente de pico em função da velocidade de varredura. Para ajustar os dados de intensidade de corrente de pico à velocidade de varredura gerando curvas de linearização, utilizou-se a regressão linear ordinária no nível de 95% de confiança e os resultados da análise de variância

(ANOVA) são apresentados na Tabela 6. Foram realizados 11 níveis de velocidades de varredura para testar a linearidade do método eletroanalítico desenvolvido.

Tabela 6. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e velocidade de varredura para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F _{obs}	Valor de p
Regressão	1	33414	33414	360,46 ^a	0,000
Resíduo	31	2874	93		
(Falta de Ajuste)	9	2845	316	240,15 ^b	0,000
(Erro puro)	22	29	1		
Total	32	36288		R ² = 92,1%	
				R ² _{ajust} = 91,8%	

^a significativo: $F_{reg} > F_{crit(0,05;1,16)} = 4,17$; ^b significativo: $F_{ajust} > F_{crit(0,05;4,12)} = 2,34$

Os resultados da ANOVA (Tabela 6) mostraram que a análise de regressão envolvendo as variáveis, intensidade de corrente de pico e velocidade de varredura é significativa no nível de 95% de confiança. Esta apresentou uma porcentagem de variação explicada (R²) igual a 92,1% indicando que somente 7,9% da variação nos valores pode ser atribuída aos resíduos. Em vista destes resultados, foi verificada a significância dos coeficientes da curva de linearização (intercepto e sensibilidade do procedimento) pela aplicação de um teste-t sobre cada coeficiente e pela construção de intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança. Os resultados desta análise são apresentados na Tabela 7, bem como a equação da reta correspondente.

Tabela 7. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e velocidade de varredura do complexo Cu (II) – glifosato.

Equação da Reta	Coefficientes \pm E.P.	t_{obs}	Valor de p
Intensidade de corrente de pico catódica (nA) = 31,11 + 0,2 velocidade de varredura (mV s ⁻¹)	31,11 \pm 2,66	11,71	0,000
	0,21 \pm 0,01	18,99	0,000

De acordo com a Tabela 7, foi observado que os erros-padrão foram bem inferiores aos valores encontrados para os coeficientes e os valores de $p < 0,05$ sugerem que os dois coeficientes testados são significativos no nível de 95% de confiança e devem ser inseridos no modelo da curva da velocidade de varredura.

A curva da velocidade de varredura obtida pela aplicação de regressão linear foi analisada estatisticamente para verificar se o modelo escolhido era apropriado (Tabela 6). Para tal foi aplicado um teste para verificar se havia falta de ajuste de acordo com Barros *et al.* [39]. Este teste indica se o modelo linear é ou não apropriado para o ajuste de uma curva de calibração aos dados experimentais. Este é normalmente avaliado pelo F_{ajust} obtido pela análise de variância aplicada para a regressão linear.

As curvas de linearização construídas para investigar se o método desenvolvido apresentava linearidade mostraram valores do F_{ajust} significativos no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), sugerindo que o modelo linear não é adequado para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a variação da velocidade de varredura (Tabela 6). Desta forma, a curva de linearização não pode ser considerada linear na faixa de velocidade investigada, como pode ser observado na Figura 19.

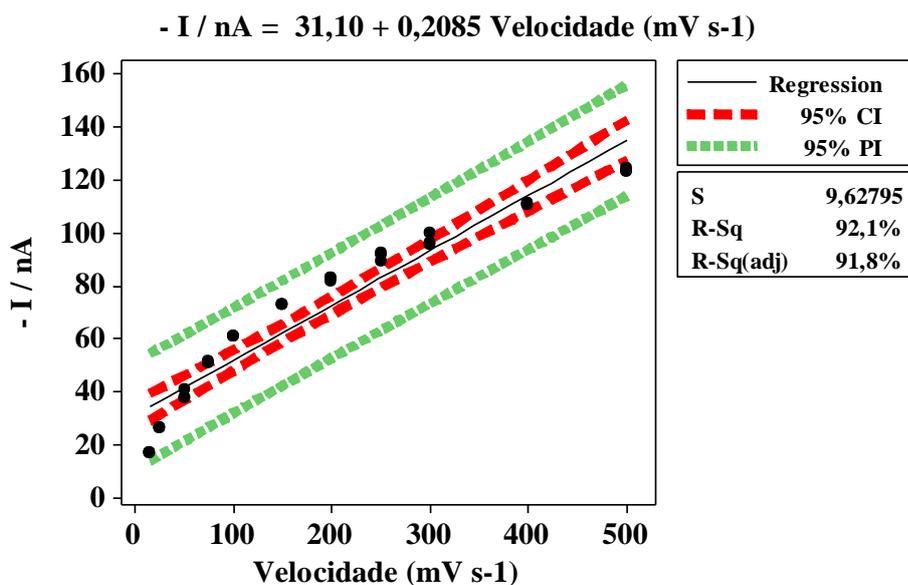


Figura 19. Curva de linearização para a intensidade de corrente de pico em função da velocidade de varredura para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.

Já a relação da intensidade de corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura no intervalo de 15 a 500 mV s^{-1} para o complexo Cu (II) – glifosato apresentou comportamento linear, como mostrado na Figura 20. Este comportamento confirma que o processo é controlado pela difusão das espécies à superfície eletródica.

Observa-se no gráfico da Figura 20 que o coeficiente linear obtido é diferente de zero, isto se deve provavelmente em função da complexidade do sistema, que é controlado pela difusão das espécies e também a influência da corrente capacitiva.

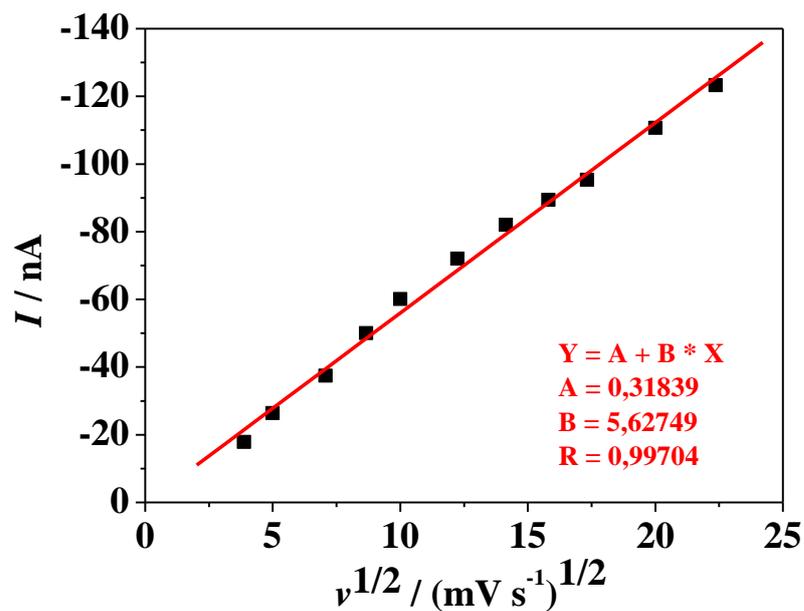


Figura 20. Dependência da intensidade da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura (15, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400 e 500 $mV s^{-1}$) para o complexo Cu (II) - glifosato utilizando HMDE.

Para ajustar os dados de corrente de pico à raiz quadrada da velocidade de varredura gerando curvas de linearização, utilizou-se a regressão linear ordinária no nível de 95% de confiança e os resultados da análise de variância (ANOVA) são apresentados na Tabela 8. Foram realizados 11 níveis de velocidades de varredura para testar a linearidade do método eletroanalítico desenvolvido.

Tabela 8. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F _{obs}	Valor de p
Regressão	1	35980	35980	2627,27 ^a	0,000
Resíduo	31	308	10		
(Falta de Ajuste)	9	279	31	23,52 ^b	0,000
(Erro puro)	22	29	1		
Total	32	36288		R ² = 99,2% R ² _{ajust} = 99,1%	

^a significativo: $F_{reg} > F_{crit(0,05;1,16)} = 4,17$; ^b significativo: $F_{ajust} > F_{crit(0,05;4,12)} = 2,34$

Os resultados da ANOVA (Tabela 8) mostraram que a análise de regressão envolvendo as variáveis, intensidade de corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura é significativa no nível de 95% de confiança. A porcentagem de variação explicada (R^2) foi igual a 99,2% indicando que somente 0,8% da variação nos valores pode ser atribuída aos resíduos. Em seguida, foi verificada a significância dos coeficientes da curva de linearização (intercepto e sensibilidade do procedimento) pela aplicação de um teste-t sobre cada coeficiente e pela construção de intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança. Os resultados desta análise são apresentados na Tabela 9, bem como a equação da reta correspondente.

Tabela 9. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura do complexo Cu (II) – glifosato.

Equação da Reta	Coefficientes ± E.P.	t _{obs}	Valor de p
Intensidade de corrente de pico catódica (nA) = - 0,26 + 5,68 raiz quadrada da velocidade de varredura (mV s ⁻¹) ^{1/2}	0,26 ± 1,29	0,20	0,840
	5,68 ± 0,09	60,23	0,000

De acordo com a Tabela 9, foi observado que somente o coeficiente referente à inclinação da curva de linearização, neste caso, raiz quadrada da velocidade, é significativo no nível de 95% (pois $p < 0,05$). Em vista disso, somente este deve ser inserido no modelo da curva da intensidade de corrente de pico em relação à raiz quadrada da velocidade de varredura.

A curva da raiz quadrada da velocidade de varredura obtida pela aplicação de regressão linear foi analisada estatisticamente para verificar se o modelo escolhido era apropriado (Tabela 8). Novamente foi aplicado teste para verificar se havia falta de ajuste, de acordo com Barros Neto *et al.*[39].

Neste estudo, as curvas de linearização construídas para investigar se o método desenvolvido apresentava linearidade mostraram valores do F_{ajust} significativos no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), sugerindo que o modelo linear não é adequado para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a variação da raiz quadrada da velocidade de varredura (Tabela 8). Desta forma, a curva de linearização não pode ser considerada linear na faixa da raiz quadrada da velocidade investigada, como pode ser observado na Figura 21.

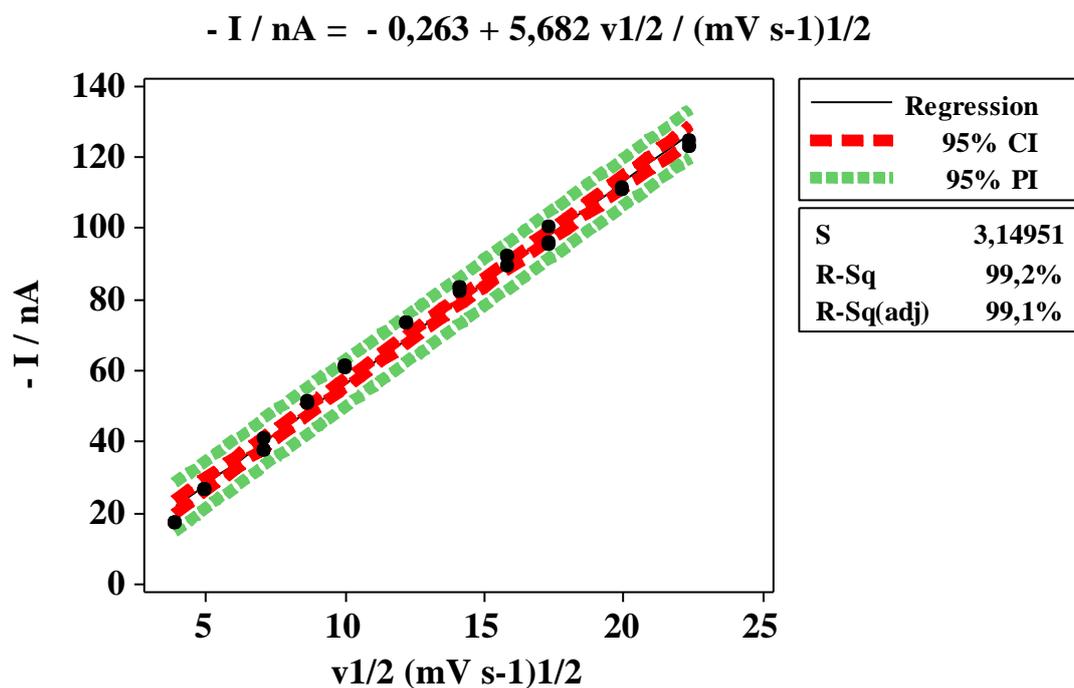


Figura 21. Curva de linearização para a intensidade de corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.

O gráfico de logaritmo da intensidade de corrente em função do logaritmo da velocidade de varredura (Figura 22) apresentou comportamento linear com inclinação de 0,55. Este valor está próximo do previsto pela literatura (0,5) para sistemas controlados pela difusão das espécies [40].

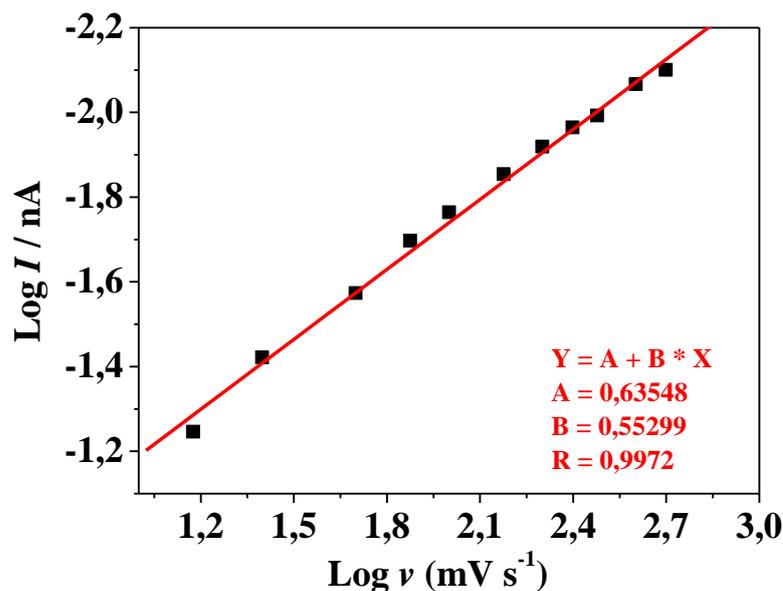


Figura 22. Dependência do logaritmo da intensidade da corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura para o complexo Cu (II) – glifosato.

Curvas de linearização da intensidade de corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura foram construídas e, para ajustar os dados e gerar as curvas de linearização, utilizou-se a regressão linear ordinária no nível de 95% de confiança. Os resultados da análise de variância (ANOVA) são apresentados na Tabela 10, onde foram testados 11 níveis de velocidades de varredura para testar a linearidade do método eletroanalítico desenvolvido.

Tabela 10. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e logaritmo da velocidade de varredura para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F _{obs}	Valor de p
Regressão	1	2,21	2,21	2166,70 ^a	0,000
Resíduo	31	0,03	0,00		
(Falta de Ajuste)	9	0,03	0,00	54,63 ^b	0,000
(Erro puro)	22	0,00	0,00		
Total	32	2,25		R ² = 98,6% R ² _{ajust} = 98,5%	

^a significativo: $F_{reg} > F_{crit(0,05;1,16)} = 4,17$; ^b significativo: $F_{ajust} > F_{crit(0,05;4,12)} = 2,34$

Os resultados da ANOVA (Tabela 10) mostraram que a análise de regressão envolvendo as variáveis, intensidade de corrente de pico e logaritmo da velocidade de varredura é significativa no nível de 95% de confiança. Esta apresentou uma porcentagem de variação explicada (R²) igual a 98,6% indicando que somente 1,4% da variação nos valores pode ser atribuída aos resíduos. Sendo assim, foi verificada a significância dos coeficientes da curva de linearização (intercepto e sensibilidade do procedimento) pela aplicação de um teste-*t* sobre cada coeficiente e pela construção de intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança. Os resultados desta análise são apresentados na Tabela 11, bem como a equação da reta correspondente.

Tabela 11. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de *t*_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e o logaritmo da velocidade de varredura do complexo Cu (II) – glifosato.

Equação da Reta	Coefficientes ± E.P.	t _{obs}	Valor de p
Intensidade de corrente de pico catódica (nA) = 0,64 + 0,55 logaritmo da velocidade de varredura (mV s ⁻¹)	0,64 ± 0,03	25,64	0,000
	0,55 ± 0,01	46,55	0,000

De acordo com a Tabela 11, foi observado que os erros-padrão foram bem inferiores aos valores encontrados para os coeficientes e os valores de $p < 0,05$ sugerem que os dois coeficientes testados são significativos no nível de 95% de confiança e devendo estes serem inseridos no modelo da curva da velocidade de varredura.

A curva da velocidade de varredura obtida pela aplicação de regressão linear foi analisada estatisticamente para verificar se o modelo escolhido era apropriado (Tabela 10). Foi aplicado teste para verificar se havia falta de ajuste de acordo com Barros Neto *et al.*[39].

As curvas de linearização construídas para investigar se o método desenvolvido apresentava linearidade mostraram valores do F_{ajust} significativos no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), sugerindo que o modelo não linear é adequado para a relação entre a intensidade de corrente de pico e o logaritmo da velocidade de varredura (Tabela 10). Desta forma, a curva de linearização não pode ser considerada linear na faixa de velocidade investigada, como pode ser observado na Figura 23.

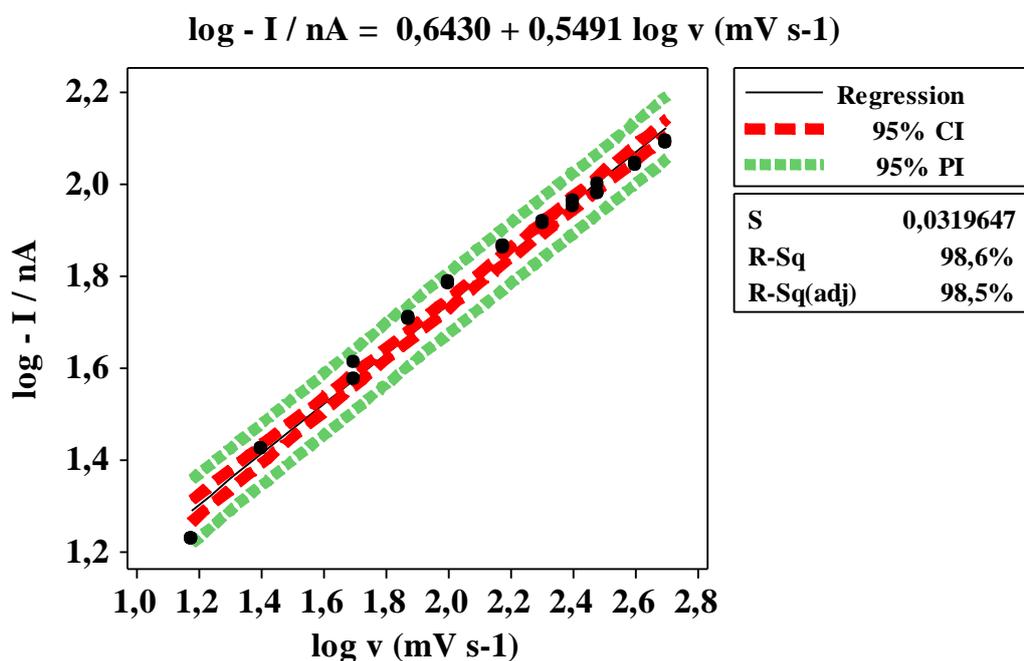


Figura 23. Curva de linearização para a intensidade de corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.

5.4. Estudo do tempo de deposição

Foi realizado um estudo de tempo de deposição, a fim de verificar o melhor tempo de pré-concentração do complexo Cu (II) – glifosato na superfície do HMDE (Figura 24). A Figura 25 apresenta o comportamento da intensidade de corrente de pico em função do tempo de pré-concentração. As medidas foram feitas em triplicata. Pode-ser observar que para tempos acima de 120 s houve decréscimo nos valores de corrente de pico, indicando, possivelmente a saturação da gota de mercúrio. Dessa forma, o tempo escolhido para o desenvolvimento da metodologia analítica foi o de 120 s.

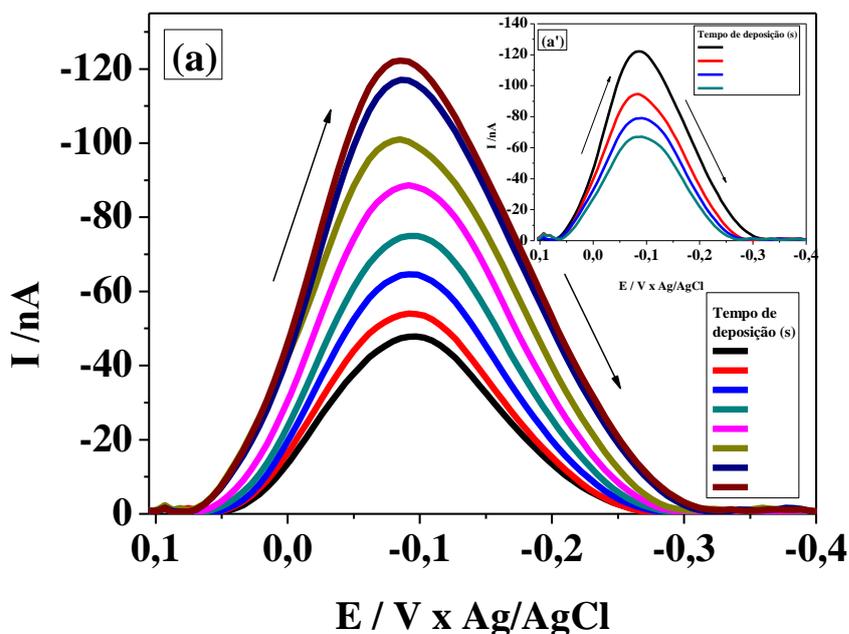


Figura 24. Voltamograma do complexo Cu (II) – glifosato, obtidos por SWV em HMDE, com diferentes valores de tempo de deposição em meio de $NaNO_2$ ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e glifosato ($2,35 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Os tempos de deposição estudados foram: (a) □ 50, □ 60, □ 70, □ 80, □ 90, □ 100, □ 110, □ 120 s e em (a') □ 120, □ 130, □ 140, □ 150 s, com, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

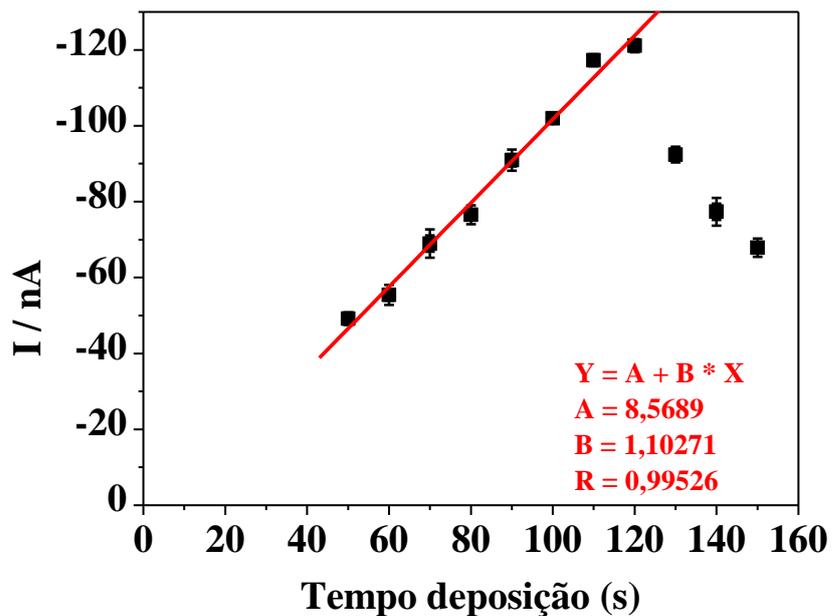


Figura 25. Curva linearizada (em triplicata) apresentando os valores da intensidade de corrente de pico do complexo Cu (II) – glifosato obtido por SWV em HMDE em função do tempo de deposição de 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 e 150 s.

Na seqüência, foram construídas curvas de linearização da intensidade de corrente de pico em função do tempo de deposição e para ajustar os dados utilizou-se a regressão linear ordinária no nível de 95% de confiança. Foram realizados 8 níveis de tempo de deposição para testar a linearidade do método eletroanalítico desenvolvido e os resultados da análise de variância (ANOVA) são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e logaritmo da velocidade de varredura para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F _{obs}	Valor de p
Regressão	1	15321	15321	1431,53 ^a	0,000
Resíduo	22	235	11		
(Falta de Ajuste)	6	146	24	4,37 ^b	0,008
(Erro puro)	16	89	6		
Total	23	15557		R ² = 98,5% R ² _{ajust} = 98,4%	

^a significativo: $F_{reg} > F_{crit(0,05;1,16)} = 4,30$; ^b significativo: $F_{ajust} > F_{crit(0,05;4,12)} = 2,74$

Os resultados da ANOVA (Tabela 12) mostraram que a análise de regressão envolvendo as variáveis, intensidade de corrente de pico e tempo de deposição é significativa no nível de 95% de confiança. Esta apresentou uma porcentagem de variação explicada (R²) igual a 98,5% indicando que somente 1,5% da variação nos valores pode ser atribuída aos resíduos. A significância dos coeficientes da curva de linearização (intercepto e sensibilidade do procedimento) foi verificada pela aplicação do teste-t sobre cada coeficiente e pela construção de intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança. Os resultados desta análise são apresentados na Tabela 13, bem como a equação da reta correspondente.

Tabela 13. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e o tempo de deposição do complexo Cu (II) – glifosato.

Equação da Reta	Coefficientes ± E.P.	t _{obs}	Valor de p
Intensidade de corrente de pico catódica (nA) = - 8,57 + 1,10 tempo de deposição (s)	8,57 ± 2,57	3,34	0,003
	1,10 ± 0,03	37,84	0,000

De acordo com a Tabela 13, foi observado que os erros-padrão foram inferiores aos valores encontrados para os coeficientes e os valores de $p < 0,05$ sugerem que os dois coeficientes testados são significativos no nível de 95% de confiança e devendo estes serem inseridos no modelo da curva do tempo de deposição.

A curva do tempo de deposição obtida pela aplicação de regressão linear foi analisada estatisticamente para verificar se havia falta de ajuste e se o modelo escolhido era apropriado (Tabela 12).

As curvas de linearização mostraram valores do F_{ajust} significativos no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), sugerindo que o modelo linear não é adequado para a relação entre a intensidade de corrente de pico e o tempo de deposição (Tabela 12). Desta forma, a curva de linearização não pode ser considerada linear na faixa de velocidade investigada, como pode ser observado na Figura 26.

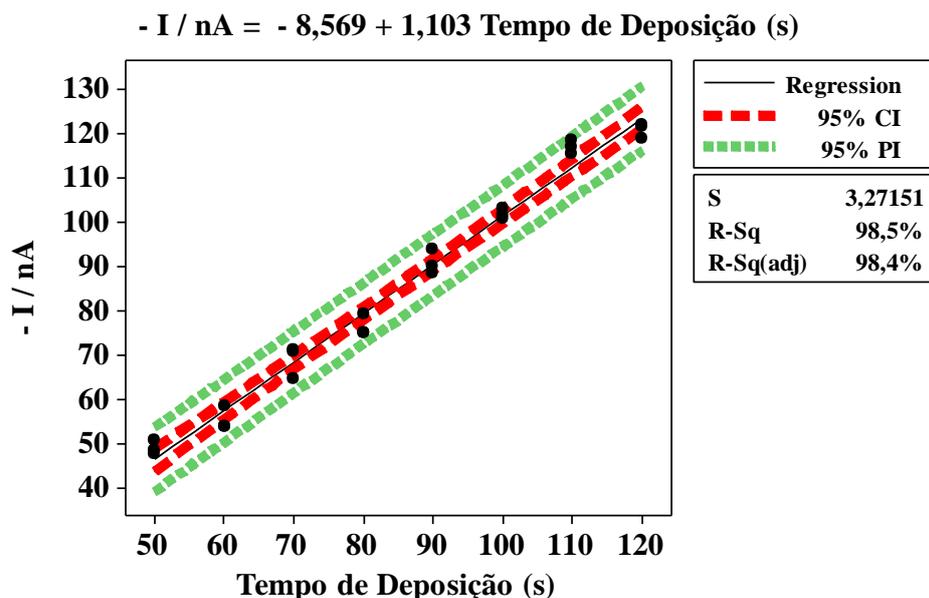


Figura 26. Curva de linearização para a intensidade de corrente de pico em função do tempo de deposição para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.

5.5. Estudo univariado: Otimização dos parâmetros da técnica de SWV

5.5.1. Efeito da frequência de aplicação de pulsos de potencial (f)

A frequência da onda quadrada é um dos mais importantes parâmetros na voltametria de onda quadrada, pois é ela que determina a intensidade dos sinais e conseqüentemente a sensibilidade do método. Seu aumento melhora significativamente as respostas analíticas e ainda fornece informações sobre o comportamento redox do analito de interesse [41]. O estudo da frequência de aplicação de pulsos de potencial foi realizado para a determinação do complexo de Cu (II) – glifosato. A Figura 27 mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos para o complexo em função da variação da frequência. Observa-se que com aumento no valor da frequência ocorre um aumento proporcional na intensidade de corrente de pico até um valor de 100 s^{-1} . No entanto, para frequências acima de 100 s^{-1} nota-se um decréscimo nos valores de intensidade do sinal, por este motivo a frequência de trabalho escolhida foi a de 100 s^{-1} , onde se obtém um voltamograma bem definido, com maior corrente de pico.

Segundo a teoria proposta por Osteryoung e O'Dea [29] para sistemas totalmente irreversíveis e controlados pela adsorção das espécies, a intensidade de corrente varia linearmente com a frequência de aplicação dos pulsos. Contudo, de acordo com a Figura 28, a intensidade de corrente de pico em função da variação da frequência da onda quadrada para o complexo Cu (II) – glifosato não varia linearmente com frequência até 100 s^{-1} , contudo, valores maiores que 100 s^{-1} a intensidade de corrente de pico tem um decaimento. Este fato indica que o processo de redução do complexo sobre o HMDE não é irreversível e nem controlado pela adsorção das espécies à superfície eletródica. Este fato confirma o que foi observado no estudo do processo redox para o complexo Cu (II) - glifosato utilizando a voltametria cíclica.

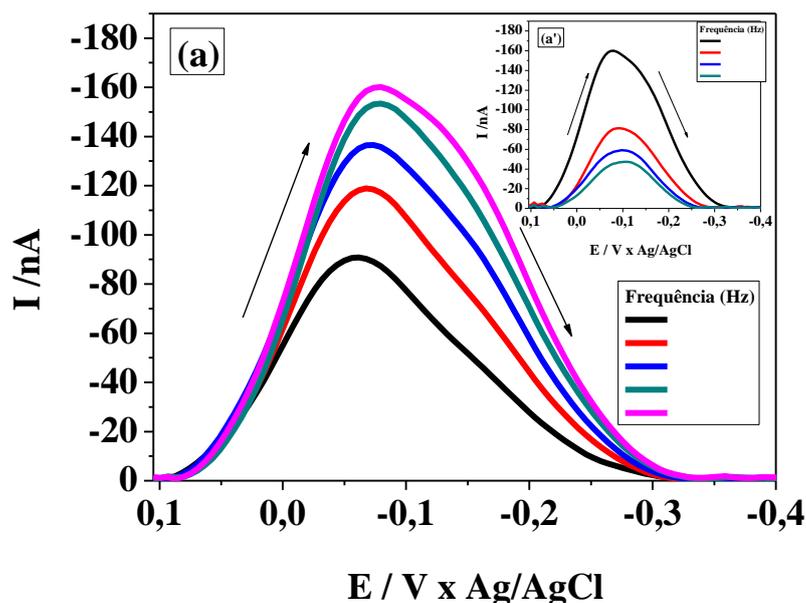


Figura 27. Voltamogramas referentes à variação da frequência de onda quadrada para o complexo Cu (II) – glifosato, obtidos por SWV em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e glifosato ($2,35 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Frequências: (a) (□) 30, (□) 50, (□) 70, (□) 90, (□) 100 s^{-1} e em (a') (□) 100, (□) 110, (□) 120, (□) 140 s^{-1} , com, $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

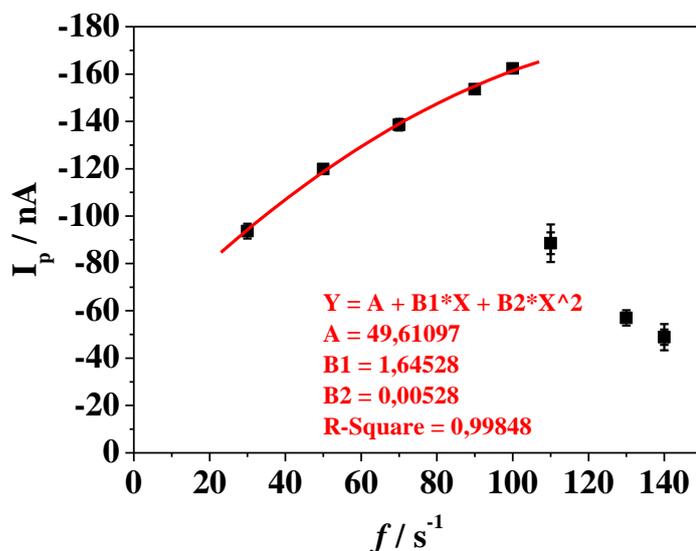


Figura 28. Dependência da corrente de pico com a frequência para o complexo Cu (II) – glifosato obtido por SWV.

Curvas de linearização da intensidade de corrente de pico em função da frequência de aplicação dos pulsos foram construídas e testadas pelo método de regressão linear no nível de 95% de confiança. Foram realizados 5 níveis de frequência de aplicação de pulsos para testar a linearidade do método eletroanalítico desenvolvido e os resultados da análise de variância (ANOVA) são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e frequência de aplicação dos pulsos para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F _{obs}	Valor de p
Regressão	1	8979,1	8979,1	699,36 ^a	0,000
Resíduo	13	166,9	12,8		
(Falta de Ajuste)	3	116,6	38,9	7,73 ^b	0,006
(Erro puro)	10	50,3	5,0		
Total	14	9146,0		R ² = 98,2% R ² _{ajust} = 98,0%	

^a significativo: $F_{reg} > F_{crit(0,05;1,16)} = 4,67$; ^b significativo: $F_{ajust} > F_{crit(0,05;4,12)} = 3,71$

Os resultados da ANOVA (Tabela 14) mostraram que a análise de regressão envolvendo as variáveis, intensidade de corrente de pico e a frequência de aplicação de pulsos é significativa no nível de 95% de confiança. A porcentagem de variação explicada (R²) foi igual a 98,2% indicando que somente 1,8% da variação nos valores pode ser atribuída aos resíduos. A significância dos coeficientes da curva de linearização foi avaliada pela aplicação do teste-t sobre cada coeficiente e pela construção de intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança. Os resultados desta análise são apresentados na Tabela 15, bem como a equação da reta correspondente.

Tabela 15. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a frequência de aplicação dos pulsos do complexo Cu (II) – glifosato.

Equação da Reta	Coefficientes \pm E.P.	t_{obs}	Valor de p
Intensidade de corrente de pico catódica (nA) = 68,7 + 0,96 frequência de aplicação dos pulsos (s ⁻¹)	68,66 \pm 2,63	26,16	0,000
	0,96 \pm 0,04	26,45	0,000

De acordo com a Tabela 15, foi observado que os erros-padrão foram bem inferiores aos valores encontrados para os coeficientes e os valores de $p < 0,05$ sugerem que os dois coeficientes testados são significativos no nível de 95% de confiança e devendo estes serem inseridos no modelo da curva da frequência de aplicação dos pulsos.

A curva da frequência de aplicação dos pulsos obtida pela aplicação de regressão linear foi analisada estatisticamente para verificar se o modelo escolhido era apropriado (Tabela 14), nela foi aplicado um teste para verificar se havia falta de ajuste indicando se o modelo linear é ou não apropriado para o ajuste de uma curva de linearização aos dados experimentais. Este é normalmente avaliado pelo F_{ajust} obtido pela análise de variância aplicada para a regressão linear.

As curvas de linearização mostraram valores do F_{ajust} significativos no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), sugerindo que o modelo linear não é adequado para a relação entre a intensidade de corrente de pico e frequência de aplicação de pulsos (Tabela 14). Desta forma, a curva de linearização não pode ser considerada linear na faixa da frequência de aplicação dos pulsos, como pode ser observado na Figura 29.

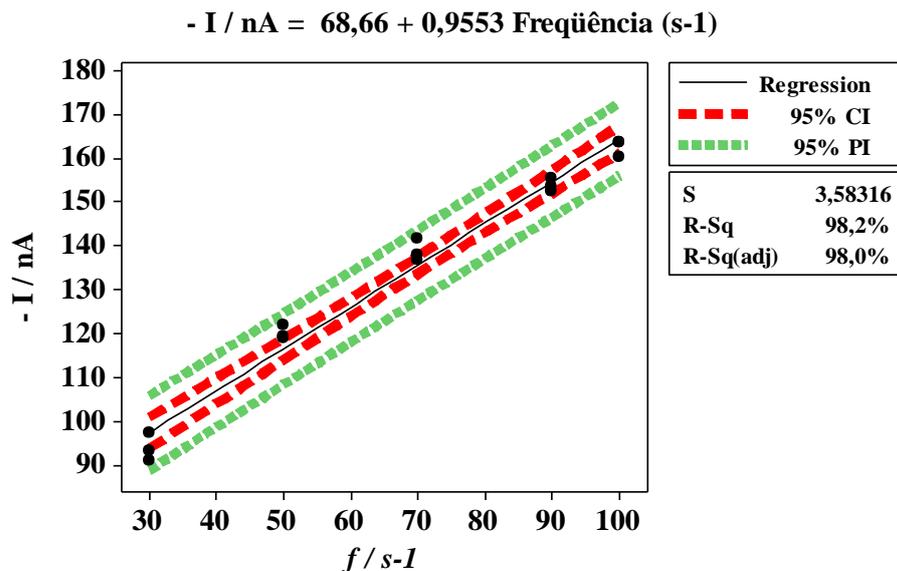


Figura 29. Curva de linearização para a intensidade de corrente de pico em função da frequência de aplicação dos pulsos para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.

Na Figura 30 pode-se observar que a intensidade de corrente de pico varia linearmente com raiz quadrada da frequência para o complexo Cu (II) - glifosato, indicando que o sistema é controlado por transporte de massa, envolvendo difusão da espécie eletroativa à superfície do eletrodo [1].

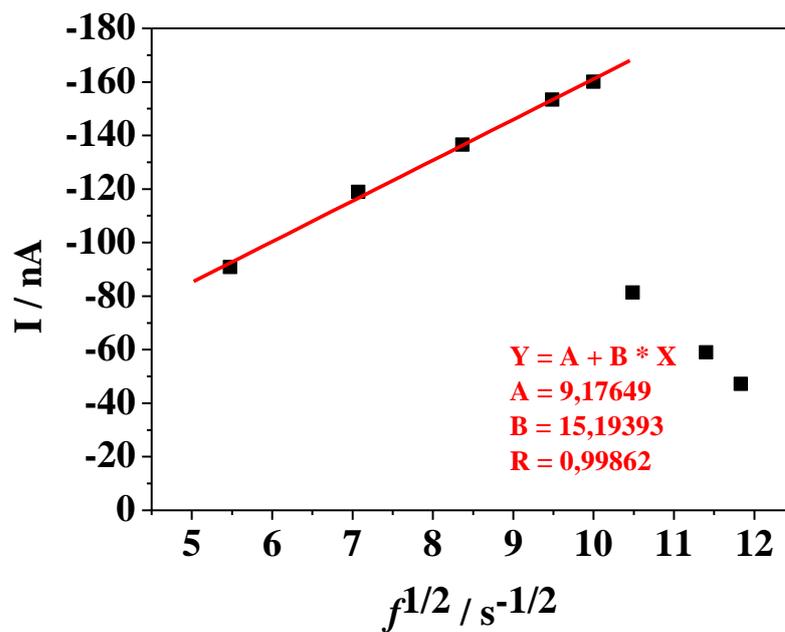


Figura 30. Dependência da corrente de pico com a raiz quadrada da frequência para o complexo Cu (II) - glifosato sobre HMDE.

Para ajustar os dados de corrente de pico à raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos gerando curvas de linearização, utilizou-se a regressão linear ordinária no nível de 95% de confiança e os resultados da análise de variância (ANOVA) são apresentados na Tabela 16. Foram realizados 5 níveis de frequência de aplicação de pulsos para testar a linearidade do método eletroanalítico desenvolvido.

Tabela 16. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F _{obs}	Valor de p
Regressão	1	9082,5	9082,5	1858,92 ^a	0,000
Resíduo	13	63,5	4,9		
(Falta de Ajuste)	3	13,2	4,4	0,88 ^b	0,485
(Erro puro)	10	50,3	5,0		
Total	14	9146,0		R ² = 99,3% R ² _{ajust} = 99,3%	

^a significativo: $F_{reg} > F_{crit(0,05;1,16)} = 4,67$; ^b significativo: $F_{ajust} > F_{crit(0,05;4,12)} = 3,71$

Os resultados da ANOVA (Tabela 16) mostraram que a análise de regressão envolvendo as variáveis, intensidade de corrente de pico e a raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos é significativa no nível de 95% de confiança. Esta apresentou uma porcentagem de variação explicada (R^2) igual a 99,3% indicando que somente 0,7% da variação nos valores pode ser atribuída aos resíduos. Em seguida, foi verificada a significância dos coeficientes da curva de linearização pela aplicação de um teste-t sobre cada coeficiente e pela construção de intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança. Os resultados desta análise são apresentados na Tabela 17, bem como a equação da reta correspondente.

Tabela 17. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos do complexo Cu (II) – glifosato.

Equação da Reta	Coefficientes \pm E.P.	t_{obs}	Valor de p
Intensidade de corrente de pico catódica (nA) = 12,8 + 15,0 raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos ($s^{-1/2}$)	68,66 \pm 2,63	26,16	0,000
	0,96 \pm 0,04	26,45	0,000

De acordo com a Tabela 17, foi observado que os erros-padrão foram bem inferiores aos valores encontrados para os coeficientes e os valores de $p < 0,05$ sugerem que os dois coeficientes testados são significativos no nível de 95% de confiança e devendo estes serem inseridos no modelo da curva da raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos.

As curvas de linearização construídas para investigar se o método desenvolvido apresentava linearidade mostraram valores do F_{ajust} significativos no nível de 95% de confiança ($p > 0,05$), sugerindo que o modelo linear é adequado para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a raiz quadrada da frequência de aplicação de pulsos (Tabela 16). Desta forma, a curva de linearização pode ser considerada linear na faixa da raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos, como pode ser observado na Figura 31.

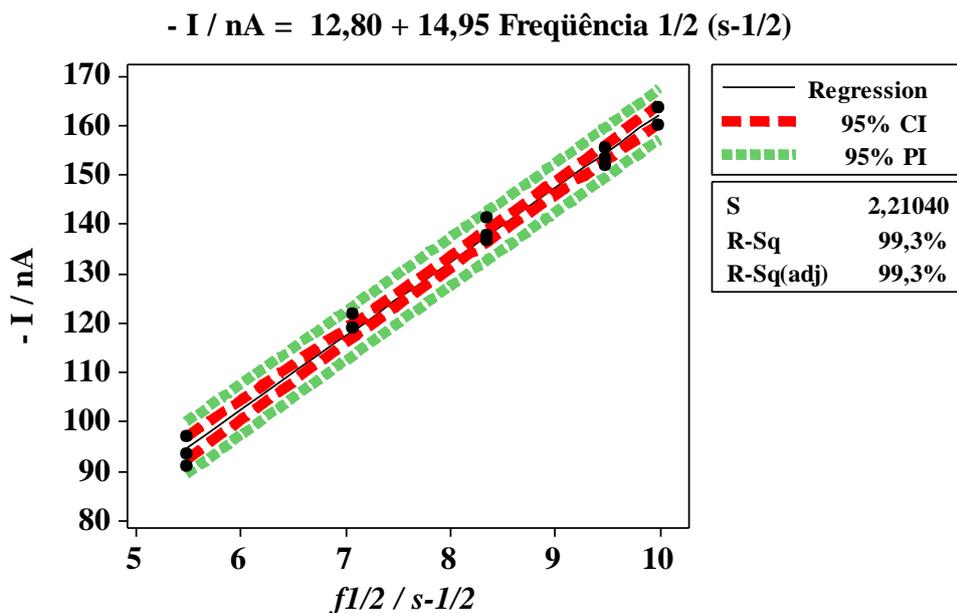


Figura 31. Curva de linearização para a intensidade de corrente de pico em função da raiz quadrada da frequência de aplicação dos pulsos para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.

A frequência de aplicação de pulso de potencial que apresentou melhor sinal analítico e perfil voltamétrico foi de 100 s^{-1} , portanto esta foi escolhida para o desenvolvimento da metodologia analítica.

5.5.2. Efeito da amplitude de pulsos de potencial (*a*)

A sensibilidade analítica na voltametria de onda quadrada sofre grande influência com a variação da amplitude da onda. Por isso a amplitude do pulso é um dos parâmetros avaliados nos estudos com voltametria de onda quadrada.

Na Figura 32 estão representados os voltamogramas obtidos para o complexo Cu (II) – glifosato em função da amplitude da onda quadrada. Observa-se que para valores de amplitude até 50 mV o aumento da intensidade de corrente é linear, contudo, amplitudes

maiores parecem não atuar de modo significativo na sensibilidade do método (Figura 33). Em função disto optou-se em trabalhar com amplitude da onda quadrada de 50 mV. Em relação aos potenciais de pico, não houve mudanças significativas como é previsto para sistemas reversíveis e/ou quase-reversíveis [28].

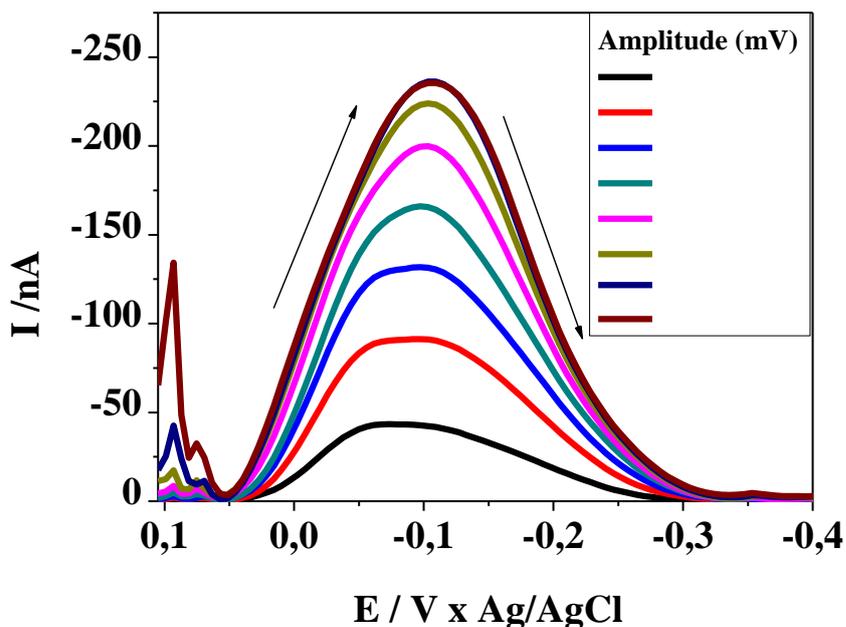


Figura 32. Voltamogramas do complexo Cu (II) – glifosato, obtido por SWV em HMDE com diferentes valores de amplitude de pulso de potencial em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e glifosato ($2,35 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Os valores da amplitude estudados foram: (a) (□) 10, (□) 20, (□) 30, (□) 40, (□) 50, (□) 60, (□) 70, (□) 80 mV, com, $t_d = 120 \text{ s}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

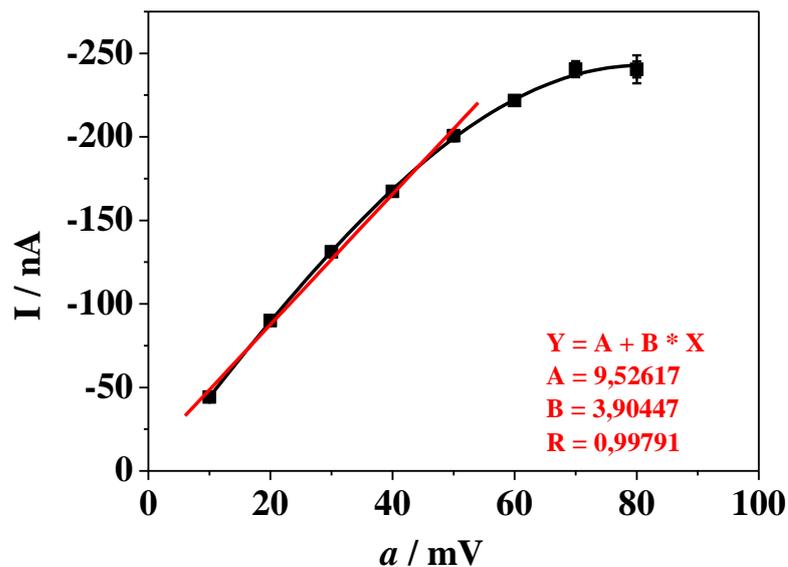


Figura 33. Dependência da corrente de pico com variação de amplitude da onda quadrada para o complexo Cu (II) – glifosato obtido por SWV.

Foram construídas curvas de linearização da intensidade de corrente de pico em função da amplitude de pulsos e para ajustar os dados experimentais, utilizou-se a regressão linear ordinária no nível de 95% de confiança. Os resultados da análise de variância (ANOVA) são apresentados na Tabela 18. Foram realizados 5 níveis de amplitude de pulsos para testar a linearidade do método eletroanalítico desenvolvido.

Tabela 18. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e amplitude de pulsos para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F _{obs}	Valor de p
Regressão	1	45735	45735	2572,70 ^a	0,000
Resíduo	13	231	18		
(Falta de Ajuste)	3	192	64	16,12 ^b	0,000
(Erro puro)	10	40	4		
Total	14	45966		R ² = 99,5% R ² _{ajust} = 99,5%	

^a significativo: $F_{reg} > F_{crit(0,05;1,16)} = 4,67$; ^b significativo: $F_{ajust} > F_{crit(0,05;4,12)} = 3,71$

Os resultados da ANOVA (Tabela 18) mostraram que a análise de regressão envolvendo as variáveis, intensidade de corrente de pico e amplitude de pulsos é significativa no nível de 95% de confiança. Esta apresentou uma porcentagem de variação explicada (R²) igual a 99,5% indicando que somente 0,5% da variação nos valores pode ser atribuída aos resíduos. Foi verificada a significância dos coeficientes da curva de linearização pela aplicação do teste-t sobre cada coeficiente e pela construção de intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança. Os resultados desta análise são apresentados na Tabela 19, bem como a equação da reta correspondente.

Tabela 19. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a amplitude de pulsos do complexo Cu (II) – glifosato.

Equação da Reta	Coefficientes ± E.P.	t _{obs}	Valor de p
Intensidade de corrente de pico catódica (nA) = 9,53 + 3,90 amplitude de pulsos (mV)	9,53 ± 2,55	3,73	0,003
	3,90 ± 0,08	50,72	0,000

De acordo com a Tabela 19, foi observado que os erros-padrão foram inferiores aos valores encontrados para os coeficientes e os valores de $p < 0,05$ sugerem que os dois coeficientes testados são significativos no nível de 95% de confiança e devendo estes serem inseridos no modelo da curva da amplitude de pulsos.

As curvas de linearização construídas para investigar se o método desenvolvido apresentava linearidade mostraram valores do F_{ajust} significativos no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), sugerindo que o modelo linear não é adequado para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a amplitude de pulsos (Tabela 18). Desta forma, a curva de linearização não pode ser considerada linear na faixa da amplitude de pulsos, como pode ser observado na Figura 34.

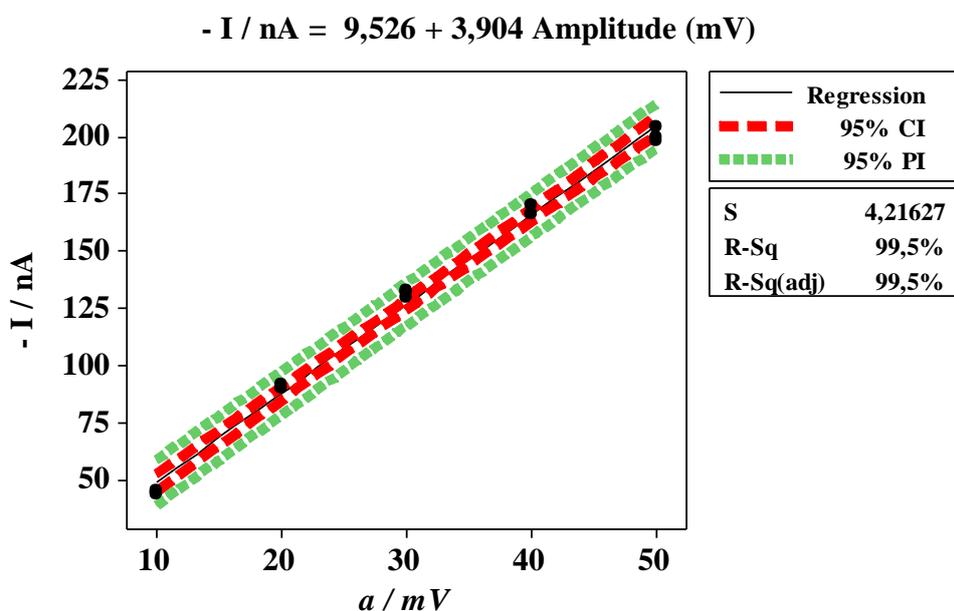


Figura 34. Curva de linearização para a intensidade de corrente de pico em função da amplitude de pulsos para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.

A amplitude de pulso de potencial que apresentou melhor sinal analítico e perfil voltamétrico foi de 50 mV, portanto este foi escolhido para o desenvolvimento da metodologia analítica.

5.5.3. Efeito do incremento de varredura (ΔE_s)

O incremento de varredura de potencial na voltametria de onda quadrada, pré-determina o modo pelo qual o potencial é aplicado, caracterizando-se como sendo a diferença da altura entre um degrau ao outro da rampa de potencial que mede a corrente na SWV. A velocidade efetiva na SWV é o resultado do produto da frequência dos pulsos de potencial pelo incremento de varredura do potencial ($v = f \cdot \Delta E_s$). Desse modo, um incremento de varredura maior pode aumentar o sinal obtido e assim, melhorar a sensibilidade do método. Entretanto, incrementos maiores podem causar alargamentos nos picos obtidos e assim, a resolução do voltamograma pode ficar comprometida. Assim, este é um parâmetro importante que também deve ser avaliado [1, 3].

Os voltamogramas de onda quadrada obtidos em função da variação do incremento de varredura estão apresentados na Figura 35. Observa-se que com o aumento do incremento de varredura ocorre um aumento na intensidade de corrente. Na Figura 36 apresenta a dependência do potencial e da intensidade de corrente de pico em função da variação do incremento de varredura. Nota-se que para incrementos maiores de 6 mV a intensidade de corrente não sofre aumento muito significativo para propósitos analíticos. Isso é possível, pois, em incrementos de varreduras maiores a cinética de difusão das espécies eletroativas é mais lenta, sendo assim, a quantidade de espécies que chegam à superfície do eletrodo para reagir é menor, diminuindo a intensidade de corrente de pico. Desta forma, optou-se em trabalhar com incremento de varredura de 6 mV.

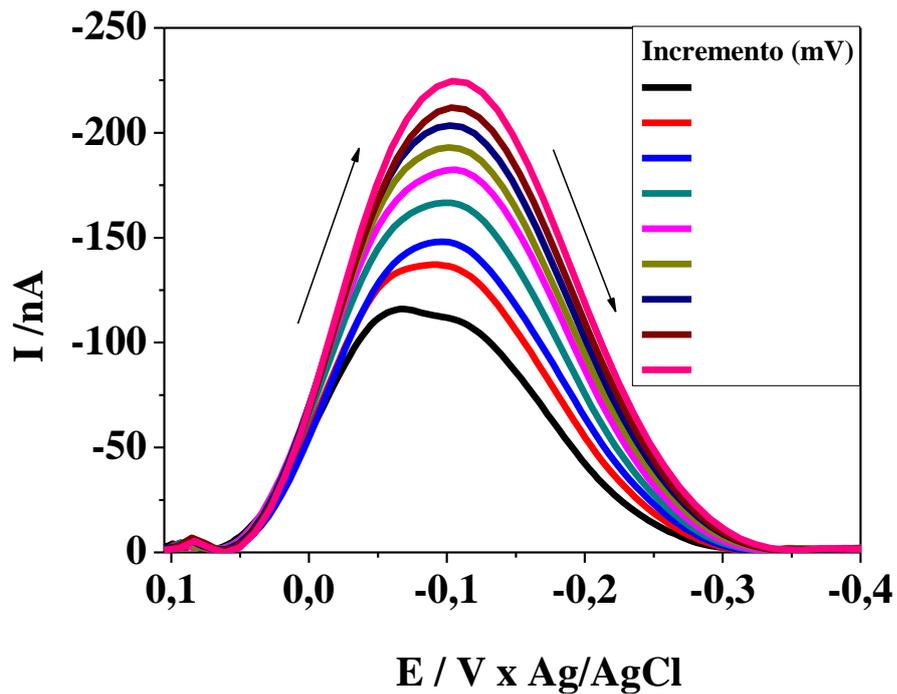


Figura 35. Voltamograma do complexo Cu (II) – glifosato, obtido por SWV em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e glifosato ($2,35 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), para diferentes valores de incremento de varredura: (a) (□) 2, (□) 3, (□) 4, (□) 5, (□) 6, (□) 7, (□) 8, (□) 9, (□) 10 mV, com, $t_d = 120 \text{ s}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 2 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

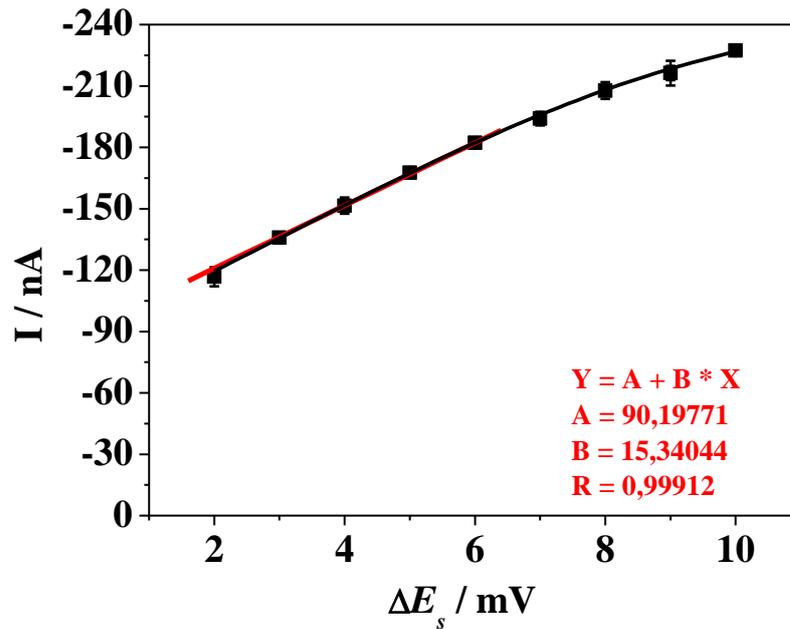


Figura 36. Efeito da variação do incremento de varredura para o complexo Cu (II) – glifosato obtido por SWV.

Para ajustar os dados de corrente de pico ao incremento de varredura e construir curvas de linearização, utilizou-se a regressão linear ordinária no nível de 95% de confiança e os resultados da análise de variância (ANOVA) são apresentados na Tabela 20. Foram realizados 5 níveis de incremento de varredura para testar a linearidade do método eletroanalítico desenvolvido.

Tabela 20. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e incremento de varredura para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F _{obs}	Valor de p
Regressão	1	7940,6	7940,6	991,35 ^a	0,000
Resíduo	13	104,1	8,0		
(Falta de Ajuste)	3	18,4	6,1	0,71 ^b	0,566
(Erro puro)	10	85,8	8,6		
Total	14	8044,7		R ² = 98,7% R ² _{ajust} = 98,6%	

^a significativo: $F_{reg} > F_{crit(0,05;1,16)} = 4,67$; ^b significativo: $F_{ajust} > F_{crit(0,05;4,12)} = 3,71$

Os resultados da ANOVA (Tabela 20) mostraram que a análise de regressão envolvendo as variáveis, intensidade de corrente de pico e o incremento de varredura é significativa no nível de 95% de confiança. A porcentagem de variação explicada (R^2) foi de 98,7% indicando que somente 1,3% da variação nos valores pode ser atribuída aos resíduos. Foi aplicado *teste-t* sobre cada coeficiente e pela construção de intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança e os resultados desta análise são apresentados na Tabela 21, bem como a equação da reta correspondente.

Tabela 21. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e o incremento de varredura do complexo Cu (II) – glifosato.

Equação da Reta	Coefficientes ± E.P.	t _{obs}	Valor de p
Intensidade de corrente de pico catódica (nA) = 9,53 + 3,90 amplitude de pulsos (mV)	85,70 ± 2,19	39,09	0,000
	16,27 ± 0,52	31,49	0,000

De acordo com a Tabela 21, foi observado que os erros-padrão foram bem inferiores aos valores encontrados para os coeficientes e os valores de $p < 0,05$ sugerem que os dois coeficientes testados são significativos no nível de 95% de confiança e devendo estes serem inseridos no modelo da curva da amplitude de pulsos.

A curva do incremento de varredura obtida pela aplicação de regressão linear foi analisada estatisticamente para verificar se o modelo escolhido era apropriado (Tabela 20).

O estudo mostrou valores de F_{ajust} significativos no nível de 95% de confiança ($p > 0,05$), sugerindo que o modelo linear é adequado para a relação entre a intensidade de corrente de pico e o incremento de varredura (Tabela 20). Desta forma, a curva de linearização pode ser considerada linear na faixa da amplitude de pulsos, como pode ser observado na Figura 37.

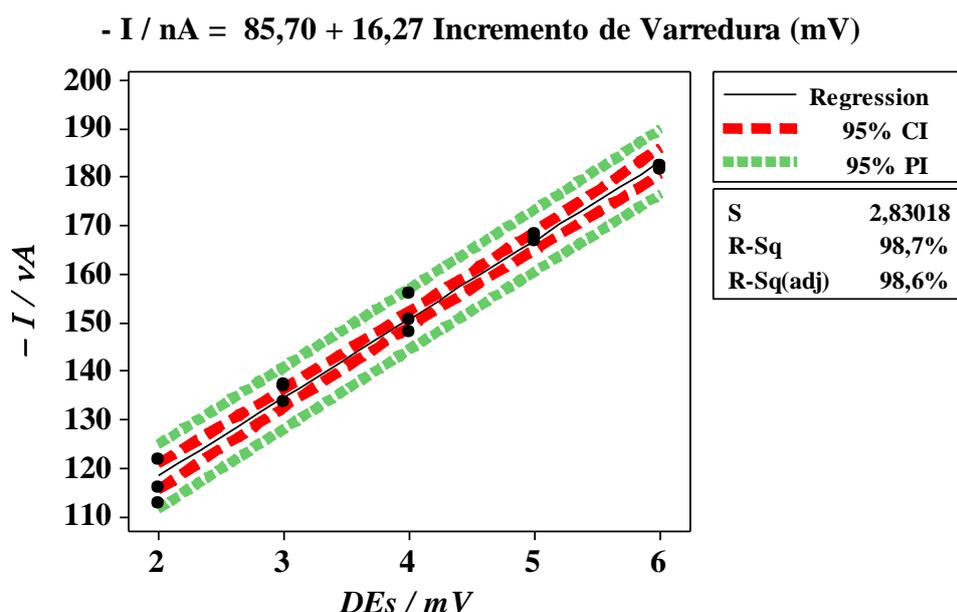


Figura 37. Curva de linearização para a intensidade de corrente de pico em função do incremento de varredura para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.

5.6. Curva de calibração para o glifosato

Estabelecidas as melhores condições para a determinação do pico de redução do complexo Cu (II) – glifosato em termos de pH (6,5), frequência da onda quadrada (100 s^{-1}), incremento de varredura (6 mV) e amplitude da onda quadrada (50 mV), foi feita a determinação da curva de trabalho pelo método de adição padrão, utilizando a voltametria de onda quadrada.

A curva de trabalho foi construída pela adição de glifosato padrão ao eletrólito (NaNO_2 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{pH} = 6,5$) e solução de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e, os voltamogramas de onda quadrada obtidos para a concentração de glifosato são apresentados na Figura 38. Observa-se que a corrente de pico aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração e que não ocorre deslocamento de potencial de pico.

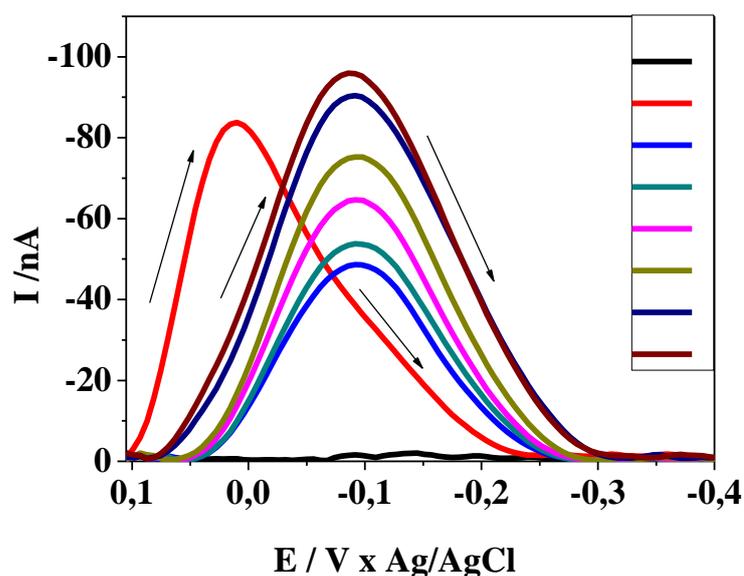


Figura 38. Voltamogramas de onda quadrada para o complexo Cu (II) – glifosato em diferentes concentrações em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$). Concentração: $3,93 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $7,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1,18 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $2,35 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $3,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

A curva de trabalho pode ser observada na Figura 39. O intervalo de concentração estudado foi de $3,93 \times 10^{-7}$ a $3,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Neste intervalo obteve-se uma sensibilidade de $15,718 \text{ A / mol L}^{-1}$ e coeficiente de correlação de 0,994.

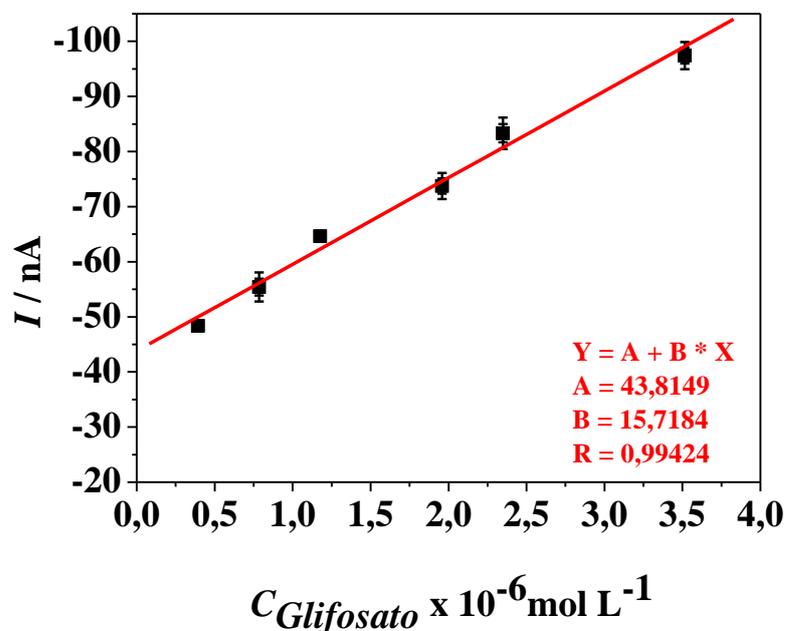


Figura 39. Dependência da corrente de pico com a concentração para o complexo Cu (II) – glifosato.

Adicionalmente, foram construídas curvas de calibração por adição de padrão relacionando as intensidades de corrente de pico em função das concentrações de glifosato adicionadas. Para ajustar os dados de corrente de pico à concentração de glifosato adicionada e gerar curvas de calibração, utilizou-se a regressão linear ordinária no nível de 95% de confiança e os resultados da análise de variância (ANOVA) são apresentados na Tabela 22. Foram realizados 6 níveis de adições de glifosato para testar a linearidade do método eletroanalítico desenvolvido.

Tabela 22. Análise de Variância para a regressão linear simples entre as variáveis de intensidade de corrente de pico e concentração de glifosato adicionada para o complexo Cu (II) - glifosato no nível de 95% de confiança.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F _{obs}	Valor de p
Regressão	1	4896,0	4896,0	705,63 ^a	0,000
Resíduo	16	111,0	6,9		
(Falta de Ajuste)	4	56,9	14,2	3,15 ^b	0,055
(Erro puro)	12	54,1	4,5		
Total	17	5007,0		R ² = 97,8% R ² _{ajust} = 97,6%	

^a significativo: $F_{reg} > F_{crit(0,05;1,16)} = 4,49$; ^b significativo: $F_{ajust} > F_{crit(0,05;4,12)} = 3,26$

Os resultados da ANOVA (Tabela 22) mostraram que a análise de regressão envolvendo as variáveis, intensidade de corrente de pico e concentração de glifosato adicionada é significativa no nível de 95% de confiança. Esta apresentou uma porcentagem de variação explicada (R²) igual a 97,8% indicando que somente 2,2% da variação nos valores pode ser atribuída aos resíduos. O teste-t foi aplicado sobre cada coeficiente e pela construção de intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança. Os resultados desta análise são apresentados na Tabela 23, bem como a equação da reta correspondente.

Tabela 23. Equação da reta, erros-padrão dos coeficientes e valor de t_{obs} no nível de 95% de confiança para a relação entre a intensidade de corrente de pico e concentração de glifosato adicionada para o complexo Cu (II) – glifosato.

Equação da Reta	Coefficientes ± E.P.	t _{obs}	Valor de p
Intensidade de corrente de pico catódica (nA) = 43,8 + 15,7 concentração de glifosato adicionada (x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹)	43,82 ± 1,18	37,12	0,000
	15,72 ± 0,59	26,56	0,000

De acordo com a Tabela 23, foi observado que os erros-padrão foram bem inferiores aos valores encontrados para os coeficientes e os valores de $p < 0,05$ sugerem que os dois coeficientes testados são significativos no nível de 95% de confiança e devendo estes serem inseridos no modelo da curva da concentração de glifosato adicionada.

O método desenvolvido apresentou valores do F_{ajust} significativos no nível de 95% de confiança ($p > 0,05$), sugerindo que o modelo linear é adequado para a relação entre a intensidade de corrente de pico e a concentração de glifosato adicionada (Tabela 22). Desta forma, a curva de calibração pode ser considerada linear na faixa da concentração de glifosato adicionada, como pode ser observado na Figura 40.

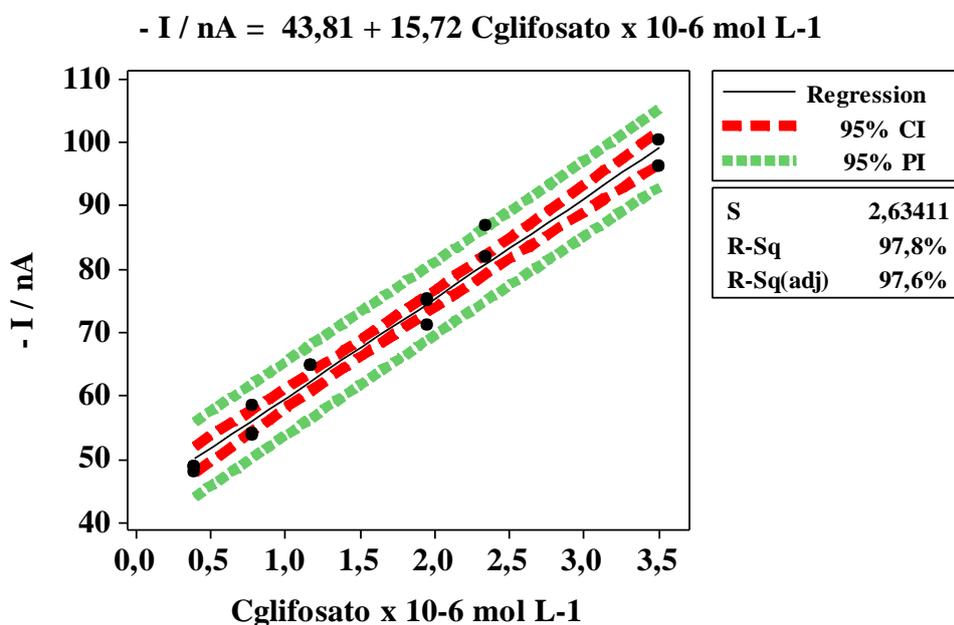


Figura 40. Curva de calibração para a intensidade de corrente de pico em função da concentração de glifosato adicionada para o complexo Cu (II) – glifosato, e, intervalos de confiança e predição no nível de 95% de confiança para o experimento de linearidade.

As adições de padrão de glifosato foram feitas em triplicata e a curva analítica foi construída por meio da média das intensidades de correntes de pico em relação à concentração de glifosato. A Tabela 24 mostra os limites de detecção ($LD = 3.S_B/B$) e os limites de

quantificação ($LQ = 10.S_B/B$) obtidos com seus respectivos valores desvio padrão. Foi realizado um estudo de dez medidas do branco onde foi obtido um desvio, S_B , de 0,68 nA.

Tabela 24. LD e LQ das curvas analíticas pelo método de adição padrão com seus respectivos valores de desvio padrão.

	Mol L ⁻¹	µg L ⁻¹
L.D.	$1,30 \times 10^{-7} \pm 2,51 \times 10^{-9}$	$22,04 \pm 0,42$
L.Q.	$4,38 \times 10^{-7} \pm 5,02 \times 10^{-9}$	$73,46 \pm 1,41$

5.7. Estudo de repetibilidade e reprodutibilidade

Para os experimentos de repetibilidade e da reprodutibilidade do complexo Cu (II) - glifosato foi utilizada a fórmula do coeficiente de variação ou desvio padrão relativo a seguir:

$$RSD(\%) \text{ ou } CV(\%) = S/X \times 100$$

onde S é o desvio padrão e X é a média das medidas da repetibilidade e da reprodutibilidade.

As medidas de repetibilidade para o complexo Cu (II) - glifosato foram realizadas em uma série de seis medidas ($n = 6$) nas mesmas condições experimentais e no mesmo dia, com concentrações de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, 50 µL de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e 90 µL de glifosato ($3,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) onde, o CV foi de $1,52\% \pm 1,56$. Já as medidas de reprodutibilidade do complexo Cu (II) - glifosato foram realizadas em dias diferentes e em diferentes soluções com concentrações de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, 50 µL de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e 90 µL de glifosato ($3,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) onde, o CV foi de $2,16\% \pm 2,19$. Estes resultados são considerados ótimos, pois, os coeficientes de variação em função do nível de concentração de pesticida presente nas amostras nesta concentração podem variar em até 16% [42].

5.8. Recuperações de glifosato em eletrólito puro e em amostra de água naturais

Após a obtenção da curva de trabalho foram realizados testes de recuperação em água pura e em amostra de água naturais. As medidas foram feitas em triplicata para cada amostra.

5.8.1. Recuperação do glifosato em eletrólito puro de laboratório

Para as medidas de recuperação do glifosato em eletrólito puro de laboratório foi preparada uma solução de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5 e fortificada com $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de glifosato. Para a determinação, foram utilizados 15 mL da solução de NaNO_2 contaminada artificialmente, 50 μL de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e adições sucessivas de glifosato na concentração de $3,93 \times 10^{-7}$ a $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Na Figura 41 estão apresentados os voltamogramas de onda quadrada registrados para a amostra contaminada artificialmente e para as adições de padrão de glifosato, e a Figura 42 mostra a curva de recuperação aparente.

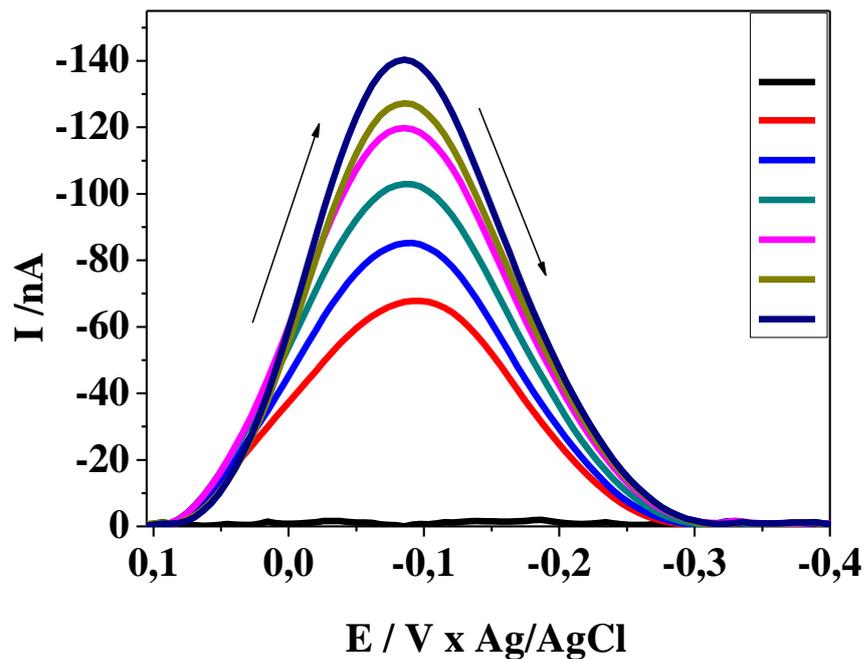


Figura 41. Voltamogramas de onda quadrada da recuperação do glifosato em água de eletrólito puro de laboratório obtido por SWV em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5 contaminado com $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de glifosato. Foi adicionado Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e diferentes concentrações de glifosato: $3,93 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $7,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1,18 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $1,57 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

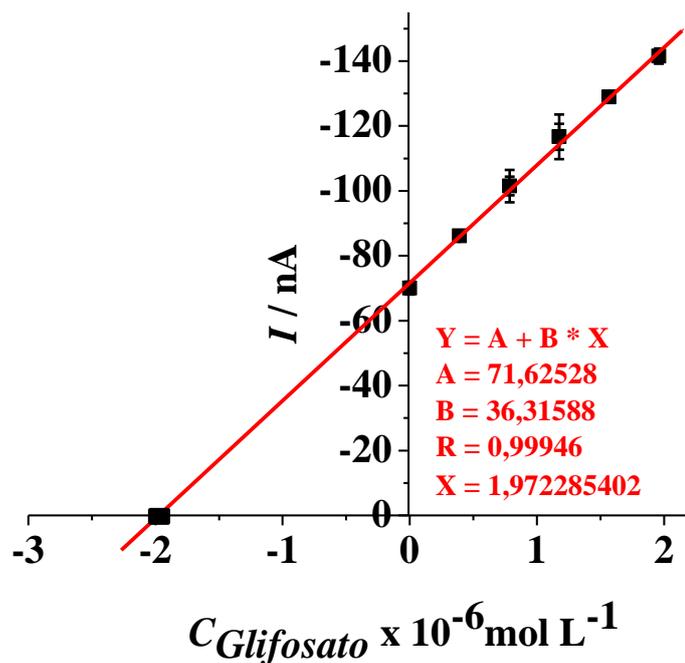


Figura 42. Curva de recuperação aparente do glifosato em eletrólito puro de laboratório obtido por SWV.

Na Tabela 25 encontram-se os dados do valor adicionado para a contaminação da amostra, o volume recuperado e o desvio padrão da recuperação do glifosato em eletrólito puro sobre SWV em HMDE.

Tabela 25. Ensaio de recuperação do glifosato em eletrólito puro de laboratório por SWV em HMDE.

$C_{\text{glifosato}} \text{ adicionado (mol L}^{-1}\text{)}$	$C_{\text{glifosato}} \text{ recuperado (mol L}^{-1}\text{)}$	% recuperada
$1,96 \times 10^{-6} \pm 2,72 \times 10^{-16}$	$1,96 \times 10^{-6} \pm 0,04$	$100,27 \pm 1,96$

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 25, observa-se que a recuperação do glifosato para o eletrólito puro de laboratório ficou em torno de $100,27\% \pm 1,96$. A porcentagem obtida está dentro da faixa considerada ótima para aplicações analíticas (80 a 110 %) [41].

5.8.2. Recuperação de glifosato em amostras de água naturais

As amostras de água naturais foram coletadas no lago da Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO, no campus CEDETEG, na cidade de Guarapuava – PR. As amostras foram utilizadas no preparo do eletrólito NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5 e fortificadas com $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de glifosato. Para as determinações foram utilizados 15 mL da solução de NaNO_2 contaminada artificialmente, 50 μL de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e sucessivas adições de glifosato. Na Figura 43 estão apresentados os voltamogramas de onda quadrada registrados para a amostra contaminada artificialmente, onde foram realizadas adições padrão de glifosato para sua devida recuperação. Pode-se observar que houve um deslocamento do potencial do complexo Cu (II) – glifosato devido à presença de interferentes nas amostras de água naturais e, na sequência, a Figura 44 mostra a curva de recuperação aparente.

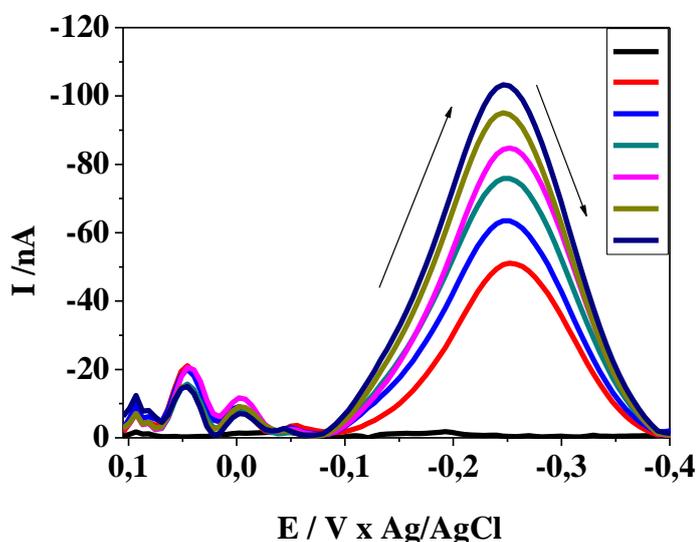


Figura 43. Voltamogramas de onda quadrada da recuperação do glifosato em água do lago em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5 contaminado artificialmente com $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de glifosato, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e diferentes concentrações de glifosato onde, $3,93 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $7,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1,18 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $1,57 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

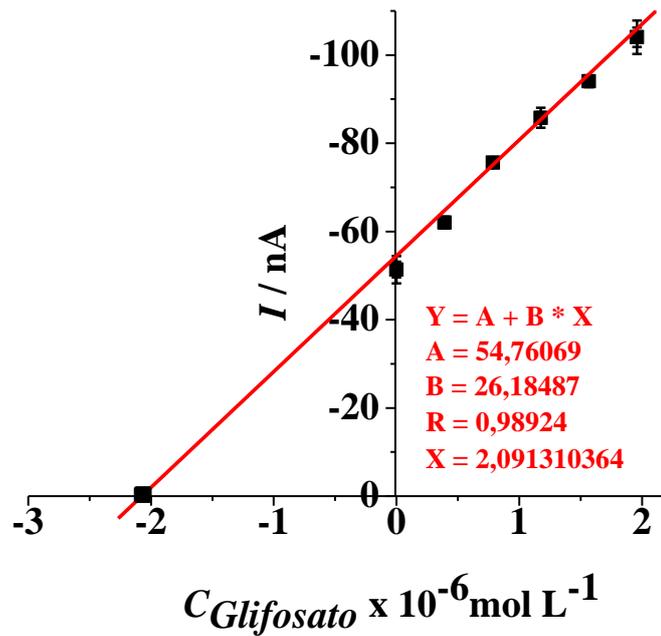


Figura 44. Curva de recuperação aparente do glifosato em água do lago obtido por SWV.

A Tabela 26 apresenta o resultado do estudo de recuperação do glifosato em água do lago sobre SWV em HMDE.

Tabela 26. Ensaio de recuperação do glifosato em água do lago sobre SWV em HMDE.

$C_{\text{glifosato}} \text{ adicionado (mol L}^{-1}\text{)}$	$C_{\text{glifosato}} \text{ recuperado (mol L}^{-1}\text{)}$	% recuperada
$1,96 \times 10^{-6} \pm 2,72 \times 10^{-16}$	$1,94 \times 10^{-6} \pm 0,04$	$99,12 \pm 2,14$

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 26, observa-se que a recuperação do glifosato para a água do lago ficou em torno de $99,12 \% \pm 2,14$. Este resultado é satisfatório, uma vez que, para análise de aplicação analítica, a recuperação deve estar na faixa de 80 a 110% [42].

Analisando a Figura 43 observa-se que, na faixa de potencial de trabalho do Cu (II), há a presença de resposta eletroquímica, por meio da presença de picos com intensidades de

correntes menores e em potenciais próximos a 0,15 V e 0,0 V, respectivamente. Desta forma, pode-se supor que o Cu (II) pode estar se complexando com a matéria orgânica presente em grande quantidade na água do lago. Contudo, este comportamento não comprometeu a resposta eletroquímica de redução do complexo Cu (II) – glifosato, uma vez que praticamente não houve efeito de matriz, pois as influências de vários componentes presentes na amostra não apresentaram efeitos consideráveis nas medidas. Adicionalmente, de acordo com os resultados obtidos, a metodologia desenvolvida possibilitou realizar testes de recuperação em amostras de águas naturais sem a necessidade de um tratamento ou separação da amostra, obtendo assim boa porcentagem de recuperação. Desta forma, pode-se comprovar a eficiência do método, possibilitando sua utilização em amostras complexas.

5.9. Quantificação de glifosato em amostras de água do riacho

A amostra de água para a realização das medidas de quantificação de glifosato foi coletada no interior do município de Candói – PR, mais precisamente no riacho Santa Clara pertencente na Fazenda Santa Clara. Para a realização da análise foram utilizados 15 mL de NaNO₂ (0,10 mol L⁻¹) pH 6,5, 50 µL de Cu (II) (2,61 x 10⁻⁷ mol L⁻¹) com sucessivas adições de glifosato na faixa entre 3,93 x 10⁻⁷ a 1,96 x 10⁻⁶ mol L⁻¹. Na Figura 45 estão apresentados os voltamogramas de onda quadrada registrados para a quantificação do glifosato e a Figura 46 mostra a curva de recuperação aparente.

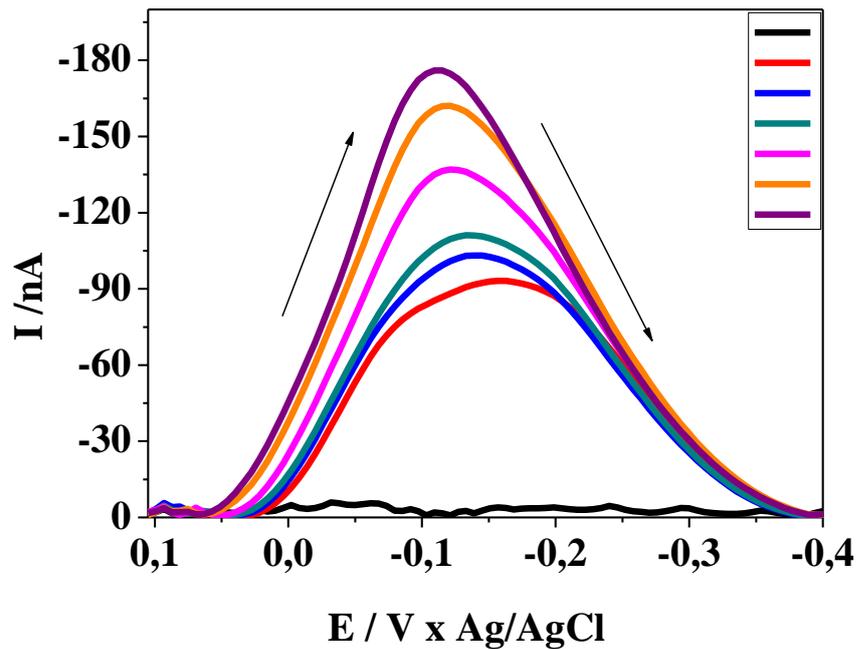


Figura 45. Voltamogramas de onda quadrada para a quantificação do glifosato da água do riacho em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e diferentes concentrações de glifosato onde, $3,93 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $7,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1,18 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $1,57 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

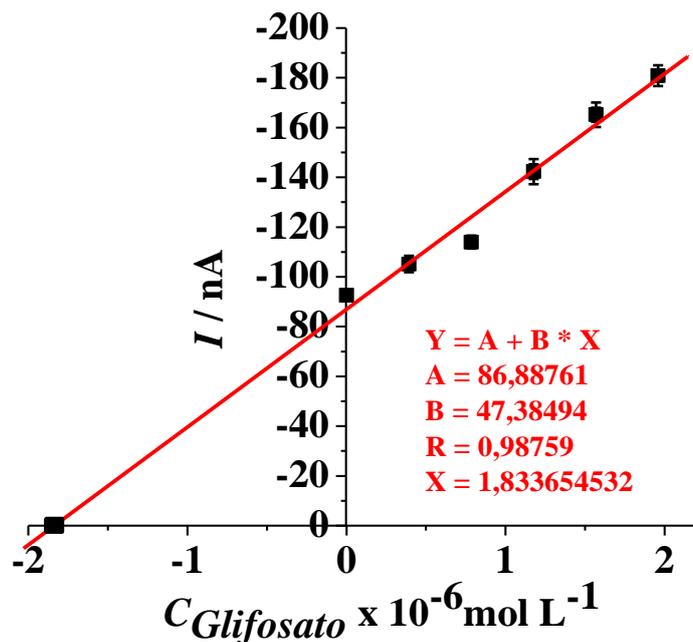


Figura 46. Curva de recuperação aparente para a quantificação do glifosato na amostra de água do riacho.

A concentração de glifosato encontrada na amostra de água do riacho foi de $1,84 \times 10^{-6} \pm 1,40 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, equivalente a $311,02 \pm 23,72 \mu\text{g L}^{-1}$. O resultado está dentro do limite permitido pelo Ministério da Saúde por meio da Portaria 518 de 25 de Março de 2004 [20], onde regulamenta que o valor máximo permitido (VMP) de resíduo do herbicida glifosato em água é de $500 \mu\text{g L}^{-1}$, visando estabelecer a qualidade da água para o consumo humano e o seu padrão de potabilidade.

5.10. Estudo de interferente

Foram realizados estudos de possíveis interferentes, presentes nas amostras de águas. Verificou-se a possível interação de Cu (II) com a matéria orgânica presente nas amostras. Para isso, preparou-se a solução do NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5 com a água do lago sendo adicionados 15 mL desta solução na cela eletroquímica e, posteriormente, foram adicionados

alíquotas de Cu (II). A quantidade de Cu (II) adicionado variou de 25 a 550 μL ($1,31 \times 10^{-7}$ à $2,78 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), de acordo com a Figura 47.

Como pode ser observada (Figura 47), a intensidade de corrente de pico do Cu (II) surge a partir de uma concentração de $1,57 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Assim, sugere-se que, a partir desta concentração toda a matéria orgânica é consumida pelo Cu (II) o que faz com que ele fique em excesso sendo determinado por meio de voltamogramas.

Para comprovar a formação do complexo do Cu (II) com a matéria orgânica, foi realizada uma análise de interferentes com ácido húmico (AH), tanto para o Cu (II) quanto para o complexo Cu (II) – glifosato.

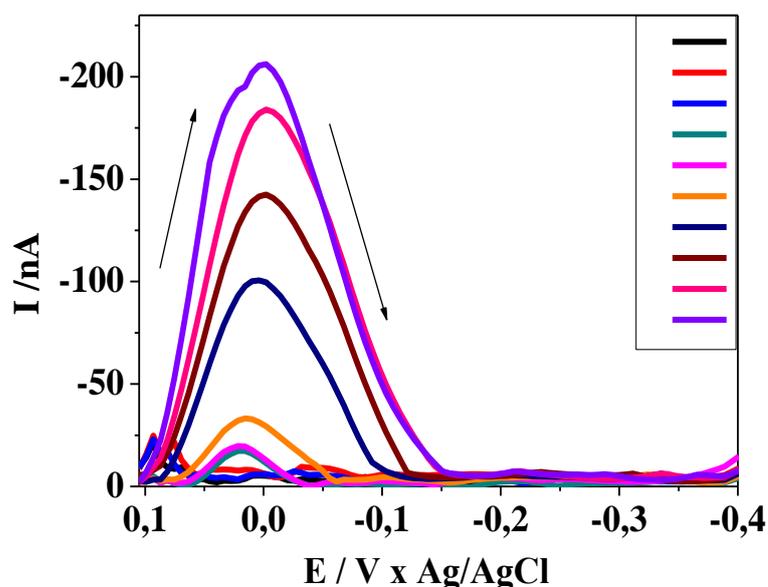


Figura 47. Voltamogramas de onda quadrada para o complexo de Cu (II) com a matéria orgânica presente na água do lago em meio de $-\text{NaNO}_2$ ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5 e diferentes concentrações de Cu (II) onde: $-\text{Cu (II)}$ ($5,24 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu (II)}$ ($1,05 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu (II)}$ ($1,57 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu (II)}$ ($2,09 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu (II)}$ ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu (II)}$ ($5,21 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu (II)}$ ($7,80 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), $-\text{Cu (II)}$ ($1,04 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e $-\text{Cu (II)}$ ($1,29 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$.

5.10.1. Análise de interferente ácido húmico com o Cu (II)

A análise do interferente AH com o Cu (II) foi realizada com 15 mL de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, 50 μL de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), variando-se a concentração AH em uma faixa de $4,79 \times 10^{-8}$ a $5,24 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ como mostra a Figura 48.

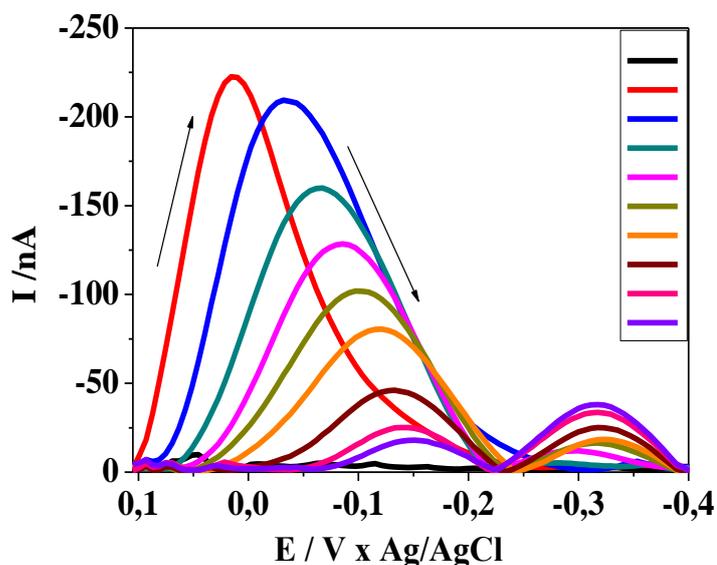


Figura 48. Voltamogramas de onda quadrada para o complexo de Cu (II) com o AH em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($5,21 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), onde a concentração de AH variou de: $4,79 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, $9,58 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, $1,44 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1,91 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $2,393 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $3,34 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $4,29 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $5,24 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$.

Verificou-se que, com as adições de AH, ocorreu uma diminuição na intensidade de corrente de pico de Cu (II). Assim, a adição de AH na concentração de $5,24 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ diminuiu a intensidade de corrente de pico do Cu (II) em 91,95% da corrente inicial, ocorrendo o surgimento de um pico no potencial -0,3V, provavelmente, relativo a um complexo formado entre o Cu (II) e o AH.

5.10.2. Análise de interferente ácido húmico com o complexo de Cu (II) – glifosato

Para a análise do interferente AH com o complexo Cu (II) – glifosato foi realizada com 15 mL de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, 50 μL de Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e uma adição de $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de glifosato e variou-se a quantidade de AH de $4,78 \times 10^{-8}$ à $2,38 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de acordo com a Figura 49.

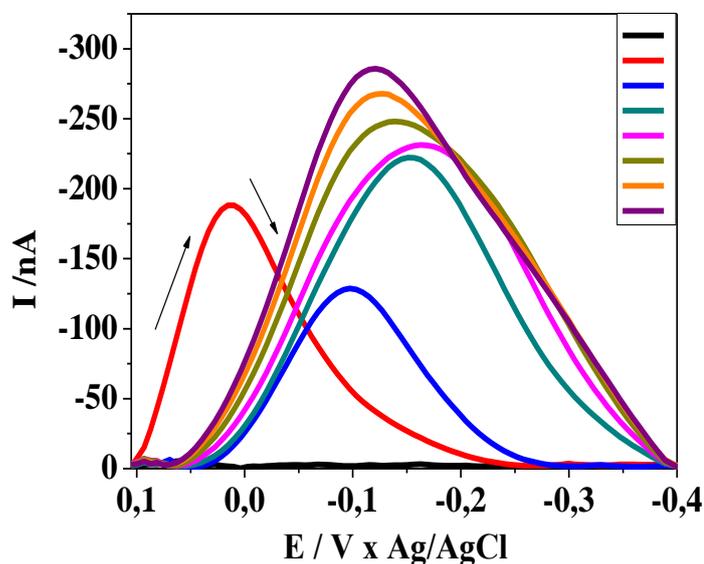


Figura 49. Voltamograma de onda quadrada para o complexo de Cu (II) - glifosato com adições de AH em meio de NaNO_2 ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH 6,5, Cu (II) ($2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), glifosato ($1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Concentração de AH: $4,79 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, $9,58 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, $1,44 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1,91 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $2,39 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, com $t_d = 120 \text{ s}$, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$.

Verificou-se que, conforme o aumento da concentração do AH na cela eletroquímica, houve aumento da intensidade de corrente de pico do complexo Cu (II) - glifosato provocando um leve deslocamento de potencial de pico, resultando também em um alargamento do pico, devido ao efeito de matriz.

5.11. Medida de pH após as análises

Foi realizado um estudo da variação da concentração hidrogeniônica do meio a fim de verificar se após as análises houve ou não diferença no valor do pH das soluções. A Tabela 27 expõe os resultados das medidas.

Tabela 27 – Resultado do estudo de pH após as análises.

Análises	pH medido após análises
Curva analítica do complexo Cu (II) - glifosato	6,48
Recuperação do glifosato em água pura de laboratório	6,47
Recuperação do glifosato em água do lago	6,47
Quantificação de glifosato na água do riacho	6,46

Analisando a Tabela 28, observa-se que praticamente não houve alteração do pH medido antes da análise (pH 6,5) e após as análises, este resultado comprova que não houve comprometimento de alterações na escala de potencial do glifosato.

6. CONCLUSÕES

Como o glifosato não apresenta características eletroativas frente ao eletrodo de gota pendente de mercúrio, o potencial deste pesticida foi determinado por meio da complexação com o metal Cu (II), eliminando, assim, etapas de derivatização, as quais aumentam o tempo das análises. A metodologia desenvolvida por meio da voltametria de onda quadrada apresentou resultados satisfatórios, sendo eficiente, rápida e de baixo custo em relação às técnicas cromatográficas. Os valores de LD e LQ foram $22,04 \mu\text{g L}^{-1}$ e $73,46 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente, sendo inferiores ao limite máximo de resíduos determinado pelo Ministério da Saúde que é de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ e, tornando este método viável para quantificação de glifosato em amostras de águas naturais. Adicionalmente, medidas de recuperação apresentaram bons resultados do glifosato em eletrólito puro de laboratório, bem como em amostras naturais, com percentuais superiores a 99 %. Assim, pode-se afirmar que a metodologia eletroanalítica proposta mostrou-se eficiente e acessível para a determinação do pesticida glifosato.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] PACHECO, L. C. M. “**Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de resíduos de pesticidas em amostras de alimentos e de águas naturais**”. Novembro 2010. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.
- [2] UNNEVER, J.; PINGALI, P. L.; ZILBERMAND, D. “Changing pesticide policies: Introduction”. *Food Policy*, v.22, n.2, p.105-106, April 1997.
- [3] GALLI, A. “**Estudos analíticos e mecanísticos do comportamento eletroquímico do herbicida pendimethalin**”. Agosto 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências - Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, SP.
- [4] DOMINGUES, M. R.; BERNARDI, M. R.; ONO, E. Y. S.; ONO, M. A. “Agrotóxicos: risco à saúde do trabalhador rural”. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. Londrina, v. 25, n.1, p.45-54, Jan./Dez. 2004.
- [5] MCCAULEY, L. A. et. al. "Studying health outcomes in farmworker populations exposed to pesticides". *Environmental health perspectives*, v.114, n.6, p.953-960, February 2006.
- [6] Lei Nº 11.936, de 14 de maio de 2009. Presidência de República, Casa Civil.
- [7] RIAL-OTERO, R.; GASPAR, E. M.; MOURA, I. and CAPELO, J. L. “Chromatographic-based methods for pesticide determination in honey: An overview”. *Talanta*, v.71, n.2, p.503-514, February 2007.
- [8] BARBOSA, L. C. A. “**Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**”. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2004. 215p.
- [9] **REVISTA AGROANALYSIS** – A Revista de Agronegócios da FGV. Rio de Janeiro, v.29, n.8, Agosto 2009.
- [10] JUNIOR, O. P. A.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M. end RIBEIRO, M. L. “Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação”. *Química Nova*, v.25, n.4, p.589-593, Julho 2002.
- [11] TEÓFILO, R. F.; DA SILVA, G. A.; REIS, E. L.; REIS, C.; PAIVA, J. F. S.; KUBOTA, L. T. “Glyphosate determination in soil, water and vegetables by DPV optimized by experimental design”. *Portugaliae Electrochimica Acta*, v.26, p. 325-337, 2008.
- [12] COUTINHO, C. F. B. end MAZO, L. H. “**Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação do herbicida glifosato**”. Dezembro 2008. Tese (Doutorado em Ciências - Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, SP.
- [13] SPRANKLE, P.; MEGGITT, W. F. and PENNER, D. “Adsorption, mobility, and microbial degradation of glyphosate in the soil”. *Weed Science*, v.23, n.3, p.229-234, May 1975.

- [14] MUIR, D.C.G. “Dissipation and transformations in water and sediment”. **Environmental chemistry of herbicides**. Boca Raton, CRC press, v.2, p.1-87, 1991.
- [15] GIESY, J.P.; DOBSON, S., SOLOMON, K. R. “Ecotoxicological Risk Assessment for Roundup Herbicide”. **Reviews of Environmental Contamination & Toxicology** v.167, p.35-120, 2000.
- [16] AMARANTE-JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M. and RIBEIRO, M. L. “Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação”. **Química Nova**, v.25, n.4, p.589-593, 2002.
- [17] MARTINS-JUNIOR, H. A. “**Estudo de determinação de resíduos de glifosato e ácido aminometilfosfônico (AMPA) em amostras de soja e água usando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem com ionização por electrospray (LC-ESI/MS/MS)**”. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- [18] JACOB, G. S.; GARROW, J. R.; HALLAS, L. E.; KIMACK, N. M.; KISHORE, G. M. and SCHAEFER, J. “Metabolism of glyphosate in *Pseudomonas* sp. strain LBr”. **Applied Environmental Microbiology**, v.54, n.12, p.2953-2958, December 1988.
- [19] FREITAS, R. S. “O glifosato nosso de cada dia nos dai hoje...”. **Revista ECO**, v.21, p.116, 2006.
- [20] Portaria 518, **Ministério da Saúde**, 2004.
- [21] GARCIA, A. F. “**Determinação voltamétrica de resíduos do herbicida Glifosato em águas naturais utilizando eletrodo de cobre**”. Agosto 2006. Dissertação (Mestrado de Ciências Exatas) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.
- [22] QUEIROZ, G. M. P.; SILVA, M. R.; BIANCO, R. J. F.; PINHEIRO, A.; KAUFMANN, V. “Transporte de glifosato pelo escoamento superficial e por lixiviação em um solo agrícola”. **Química Nova**, v. 34, n.2, p.190-195, Julho 2011.
- [23] GALLI A.; DE SOUZA D.; GARBELLINI G.S.; COUTINHO C.F.B.; MAZO L.H.; AVACA L.A. and MACHADO S.A.S. “Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos”. **Química Nova**, v.29, n.1, p.105-112, Jan/Fev 2006.
- [24] TEÓFILO R.F.; REIS E.L.; REIS,C.; SILVA G.A. and KUBOTA L. T. “Experimental design employed to square wave voltammetry response optimization for the glyphosate determination”. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.15, n.6, p.865-871, Nov/Dec 2004.
- [25] COUTINHO C.F.B. and MAZO L.H. “Estudo voltamétrico e espectrofotométrico do complexo Cu(II)-glifosato”. **Pesticidas**, v.17, p.123-129, Jan/Dez 2007.
- [26] GARCIA, A. F.; ROLLEMBERG, M. C. “**Determinação voltamétrica do herbicida glifosato em águas naturais utilizando eletrodo de cobre**”. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p.1592-1596, Mar/Jul 2007.

- [27] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. “**Principles of Instrumental Analysis**”. Philadelphia, Saunders College Publishing, 5.ed, 1998. 917p.
- [28] PEDROSA, V. A. “**Estudo das potencialidades e aplicações do eletrodo de Diamante nas determinações eletroanalíticas de pesticidas e compostos correlatos**”. Abril 2005. Tese (Doutorado em Ciências - Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, SP.
- [29] SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. “Voltametria de Onda Quadrada. Primeira Parte: Aspectos Teóricos”. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p.81-89, Jan/Fev 2003.
- [30] BARKER, G. C.; JENKINS, I. L. “Square-Wave Polarography”. *Analyst*, v. 77, p.685-696, 1952.
- [31] RAMALEY, L.; KRAUSE Jr., M. S. “Theory of square wave voltammetry”. **Analytical Chemistry**, v.41, n.11, p.1362-1365, September 1969.
- [32] RAMALEY, L.; KRAUSE JUNIOR, M. S. “Analytical Application of Square Wave Voltammetry”. **Analytical Chemistry**, v.41, n.11, p.1365-1369, September 1969.
- [33] CHRISTIE, J. H.; TURNER, J. A.; OSTERYOUNG, R. A. “Square wave voltammetry at the dropping mercury electrode: experimental”. **Analytical Chemistry**, v.49, n.13, p.1904-1908, November 1977.
- [34] OSTERYOUNG, J. G. and OSTERYOUNG, R. A. “Square wave voltammetry”. **Analytical Chemistry**, v.57, n.1, p.101A-110A, 1985.
- [35] SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TODEDO, R. A.; PEDROSA, V. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A. and MACHADO, S. A. S. “Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações”. **Química Nova**, v.27, n.5, p.790-797, Set/Out 2004.
- [36] O'DEA, J.; WOJCIECHOWSKI, M.; OSTERYOUNG, J. and AOKI, K. “Square wave voltammetry at electrodes having a small dimension”. **Analytical Chemistry**, v.57, n.4, p.954-955, April 1985.
- [37] RIBANI, M.; BOTILLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. and MELO, L. F. C. “Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos”. **Química Nova**, v.27, n.5, p.771-780, Set/Out 2004.
- [38] DOQ – CGCRE – 008. INMETRO - **Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial**. “Orientação sobre validação de métodos analíticos”. Revisão 03, Fevereiro 2010.
- [39] NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. “**Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**”. Editora Bookman, 2010. 414p.
- [40] GOSSER JR, K. D. **Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms**. New York, VCH, 1993. 97p.

[41] SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S. “Estudo eletroanalítico do herbicida paraquat em soluções aquosas por voltametria de onda quadrada utilizando ultramicroeletrodos”. **Química Nova**, v.26, n.5, p.644-647, Fevereiro 2003.

[42] BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. “Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão”. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v.13, p.129-145, Jan/Dez 2003.