Ermelinda Manuela Pinto de Jesus Garrido
Licenciada em Química (UP)

ESTUDO DA OXIDAÇÃO ELECTROQUÍMICA DE HERBICIDAS USADOS NAS CULTURAS DE ARROZ. DOSEAMENTO EM PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS

Universidade do Porto
Porto, 2000

Ermelinda Manuela Pinto de Jesus Garrido

Licenciada em Química (UP)

ESTUDO DA OXIDAÇÃO ELECTROQUÍMICA DE HERBICIDAS USADOS NAS CULTURAS DE ARROZ. DOSEAMENTO EM PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS

Dissertação de candidatura ao grau de Doutor apresentada
à Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

Universidade do Porto

Porto

2000

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto agradeço o ter-me aceite como estudante de Doutoramento.

Ao Instituto Superior de Engenharia do Porto agradeço o ter-me aceite como membro do seu corpo docente e pelas facilidades concedidas para a realização deste trabalho.

Ao programa PRODEP pela concessão da Bolsa de Doutoramento.

À Prof. Dra. Ana Maria Oliveira Brett expresso os meus agradecimentos pela orientação de todo o trabalho que realizei, o seu contributo para a minha preparação científica e a disponibilidade e amizade sempre manifestadas.

Ao Prof. Dr. José Luís Fontes da Costa Lima, meu orientador, agradeço os ensinamentos e a compreensão que me tem dispensado e que muito tem contribuído para a minha preparação pedagógica e científica. Agradeço por fim o modo amigo e paciente como sempre me tratou.

À Prof. Dra. Cristina Matos o meu reconhecimento pela co-orientação do trabalho realizado e pela amizade, incentivo e compreensão que sempre demonstrou.

À Prof. Dra. Fernanda Borges a ajuda imprescindível na área da Química Orgânica e o apoio amigo sempre demonstrado.

A todos os que trabalham, no Laboratório de Química-Física, quero agradecer a simpatia e o apoio que sempre me proporcionaram.

Ao Departamento de Química Orgânica pela cedência de espaço e equipamento necessário para realizar parte deste trabalho.

À Carla Guimarães, Rita, Cristina Almeida, Carla Matos e Ivone, pela amizade e pelos bons momentos que juntas tivemos.

Agradeço a todos os outros meus Amigos, a atenção e o estímulo que foram manifestando ao longo da realização deste trabalho.

Aos meus Pais e Irmão desejo expressar a minha mais profunda gratidão pelo seu incondicional amor, apoio e carinho. Ao Manuel agradeço por TUDO.

INDÍCE

RESUMO i

ABSTRACT ii

RÉSUMÉ iii

GLOSSÁRIO iv

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1 INTRODUÇÂO I-2

1.2 PESTICIDAS NAS CULTURAS DO ARROZ I-3

1.2.1 Dissipação I-5

1.2.2 Degradação I-6

1.2.3 Toxicidade I-7

1.2.4 Produtos fitofarmacêuticos I-8

1.3 ESTUDOS DE PESTICIDAS POR MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS I-9

1.3.1 Voltametria cíclica I-10

1.3.2 Voltametria de impulso diferencial I-13

1.3.3 Voltametria de onda quadrada I-15

1.3.4 Determinação de pesticidas I-16

1.3.4.1 Eléctrodos de mercúrio I-17

1) Determinação de triazinas I-17

2) Determinação de pesticidas contendo o grupo nitro I-18

3) Determinação de pesticidas do grupo organofosforados I-24

4) Determinação dos pesticidas do grupo organoclorados I-25

5) Determinação dos pesticidas do grupo das sulfonilureias I-28

6) Determinação de pesticidas contendo o grupo do amónio quaternário I-30

7) Determinação de pesticidas do grupo dos carbamatos e tiocarbamatos I-31

1.3.4.2 Elétrodos sólidos I-31

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

2.1 INTRODUÇÃO II-2

2.2 ELÉCTRODOS E CÉLULA ELECTROQUÍMICA II-2

2.3 PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES DE ELECTRÓLITO II-5

2.4 EQUIPAMENTO II-7

2.5 MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS II-9

2.5.1 Preparação de padrões II-9

2.5.2 Preparação de soluções deuteradas de propanil e acetanilida II-11

2.5.3 Preparação de amostras de produtos comerciais II-12

2.5.4 Parâmetros voltamétricos II-15

2.6 MÉTODOS ANALÍTICOS DE COMPARAÇÃO II-17

2.6.1 Preparação de soluções e da amostra II-17

1) Determinação da bentazona pelo método de comparação II-17

2) Determinação do molinato pelo método de comparação II-18

2.6.2 Parâmetros cromatográficos II-18

2.7 PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES DE PROPANIL E ACETANILIDA PARA ESTUDOS ESPECTRÓSCÓPICOS DE NMR II-19

2.8 PREPARAÇÃO DE COMPOSTOS II-19

2.8.1 Derivados do oxadiazão II-19

1) Preparação de Oxa1 e Oxa2 por hidrólise alcalina do oxadiazão II-19

2) Hidrólise alcalina de Oxa1 II-30

2.8.2 Síntese das amidas II-30

1) Síntese da acetanilida II-30

2) Síntese da N,N- Difenilacetamida II-32

2.8.3 Hidrólise do propanil II-32

1) Temperatura ambiente II-32

2) Sob refluxo II-33

CAPÍTULO 3

OXIDAÇÃO ELECTROQUÍMICA DA BENTAZONA E DO MCPA

3.1 INTRODUÇÃO III-2

3.2. ESTUDO ELECTROQUÍMICO DA BENTAZONA E DO MCPA III-5

3.2.1. Influência do pH III-5

3.2.2 Influência da força iónica III-8

3.2.3 Voltametria cíclica III-10

3.2.4 Voltametria de onda quadrada III-14

3.2.5 Tratamento electroquímico do eléctrodo de carbono vítreo III-17

3.3 DETERMINAÇÃO ELECTROANALÍTICA DA BENTAZONA E DO MCPA III-19

3.3.1 Calibração III-19

3.3.2 Estudo da interferência do MCPA no sinal voltamétrico da bentazona III-23

3.3.3. Doseamento da bentazona em produtos fitofarmacêuticos III-25

3.4 CONCLUSÕES III-27

CAPÍTULO 4

OXIDAÇÃO ELECTROQUÍMICA DO MOLINATO, TIOBENCARBE, MEFENACETO E BENSULFURÃO-METILO

4.1 INTRODUÇÃO IV-2

4.2 ESTUDO ELECTROQUÍMICO DO MOLINATO, TIOBENCARBE, MEFENACETO E BENSULFURÃO-METILO IV-5

4.2.1 Influência do pH IV-5

4.2.2 Influência da força iónica IV-11

4.2.3 Voltametria cíclica IV-14

4.2.4 Voltametria de onda quadrada IV-19

4.3 DETERMINAÇÃO ELECTROANALÍTICA DO MOLINATO, TIOBENCARBE, MEFENACETO E BENSULFURÃO-METILO IV-23

4.3.1 Calibração IV-23

4.3.2 Doseamento dos herbicidas estudados em produtos fitofarmacêuticos IV-27
4.3.2.1 Doseamento do molinato em produtos fitofarmacêuticos IV-28
4.3.2.2 Doseamento do bensulfurão-metilo em produtos fitofarmacêuticos IV-30
4.4 CONCLUSÕES IV-31

CAPÍTULO 5

OXIDAÇÃO ELECTROQUÍMICA DO OXADIAZÃO

5.1 INTRODUÇÃO V-2
5.2 ESTUDO ELECTROQUÍMICO DO OXADIAZÃO V-3
5.3 ESTUDO DA REACÇÃO DE HIDRÓLISE DO OXADIAZÃO EM SOLUÇÃO V-7
5.4 ESTUDO ELECTROQUÍMICO DOS PRODUTOS DE HIDRÓLISE DO OXADIAZÃO: OXA1 e OXA2 V-9
5.4.1 Voltametria cíclica V-9
5.4.2 Voltametria de onda quadrada V-12
5.4.3 Estudo electroquímico da reacção de hidrólise de Oxa1 V-14
5.5 DETERMINAÇÃO ELECTROANALÍTICA DO OXADIAZÃO V-15
5.5.1 Calibração V-15
5.5.2 Doseamento do oxadiazão em produtos fitofarmacêuticos V-17
5.6 CONCLUSÕES V-18

CAPÍTULO 6

OXIDAÇÃO ELECTROQUÍMICA DO PROPANIL e *N*-FENILAMIDAS

6.1 INTRODUÇÃO VI-2
6.2.ESTUDO ELECTROQUÍMICO DO PROPANIL E DE *N*-FENILAMIDAS VI-4
6.2.1.Influência do pH VI-4
6.2.2 Voltametria cíclica VI-10
6.2.3 Voltametria de onda quadrada VI-12

6.3 ESTUDO DA ESTABILIDADE E COMPORTAMENTO QUÍMICO DO PROPANIL, EM SOLUÇÕES ÁCIDAS E ALCALINAS VI-16
6.3.1 Estudo da estabilidade química do propanil VI-16
6.3.2 Estudos de NMR de soluções de propanil e acetanilida a diferentes valores de pH VI-16
6.4 ESTUDO ELECTROQUÍMICO DO PROPANIL EM SOLUÇÕES DEUTERADAS VI-19
6.5 DETERMINAÇÃO ELECTROANALÍTICA DO PROPANIL VI-26
6.5.1 Calibração VI-26
6.5.2 Doseamento do propanil em produtos fitofarmacêuticos VI-27
6.5.3 Estudo da interferência electroquímica da 3,4-dicloroanilina para análise da (bio)degradação do propanil em amostras ambientais VI-28
6.6.CONCLUSÕES VI-29

CAPÍTULO 7

CONCLUSÕES GERAIS VII-1

CAPÍTULO 8

BIBLIOGRAFIA VIII-1

RESUMO

O objectivo deste trabalho foi o estudo do mecanismo de oxidação electroquímica de um grupo de oito herbicidas usados nas culturas de arroz e o desenvolvimento de metodologias electroanalíticas para o doseamento destes compostos em produtos fitofarmacêuticos comercializados em Portugal.

A escolha dos herbicidas foi efectuada de acordo com o calendário agrícola das culturas de arroz onde os herbicidas são aplicados isoladamente ou em grupos. Os herbicidas estudados foram: i) bentazona e MCPA, ii) molinato, tiobencarbe, mefenaceto e bensulfurão-metil, iii) propanil e iv) oxadiazão.

O estudo electroquímico de cada um dos herbicidas permitiu obter dados relativos aos processos de adsorção, de difusão, à reversibilidade da reacção de transferência de electrão, a identificação de reacções homogéneas acopladas que ocorrem à superfície do eléctrodo de trabalho, e, finalmente, estabelecer os mecanismos das reacções de eléctrodo. Foi estudada a influência do pH no mecanismo da oxidação de cada um dos herbicidas. A identificação de reacções homogéneas acopladas e a caracterização dos produtos formados foi confirmada por TLC, e espectroscopias de NMR e IR.

Para esclarecer o mecanismo da reacção de eléctrodo do propanil foi feito o estudo electroquímico das *N*-fenilamidas: acetanilida, difenilacetamida e fenacetina, incluindo o estudo do mecanismo de oxidação do propanil e da acetanilida, em soluções deuteradas.

ABSTRACT

The objective of this work was the study of the electrochemical oxidation mechanism of a group of eight herbicides used in rice cultures and the development of electroanalytical methodologies for the quantification of these compounds in phytopharmaceutical products commercialised in Portugal.

The choice of the herbicides was made taking into account the agricultural calendar for rice cultures where the herbicides are used separately or in groups. The herbicides studied were: i) bentazon and MCPA, ii) molinate, thiobencarb, mefenacet and bensulfuron-methyl, iii) propanil and iv) oxadiazon.

The electrochemical study of each herbicide gave data concerning the adsorption and diffusion processes, the rate of the electron transfer reaction, the identification of the coupled homogeneous reactions that occur on the electrode surface and mechanism of the electrode reactions. The influence of pH on the oxidation mechanism of each herbicide was studied. The identification of coupled homogeneous reactions and the characterisation of the products formed was confirmed by TLC and by NMR and IR spectroscopy.

In order to clarify the mechanism of the electrode reaction for propanil the electrochemical study of the *N*-phenylamides: acetanilide, diphenylacetamide e phenacetin was carried out, as well as a study of the oxidation of propanil and acetanilide in deuterated solution.

RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail est l'étude de l'oxydation électrochimique d'un groupe de huit herbicides utilisés dans les cultures de riz et le développement des méthodes électroanalytiques pour le dosage de ces composés dans les produits phytopharmaceutiques commercialisés au Portugal.

Le choix des herbicides a été effectué suivant le calendrier agricole des cultures de riz où ils sont appliqués isolément ou en groupe. Les herbicides étudiés sont: i) bentazone et MCPA, ii) molinate, thiobencarbe, mefenacete et bensufuron-metyl, iii) oxadiazon et iv) propanyle.

L'étude électrochimique de chacun des herbicides a permis d'obtenir des données relatives aux processus d'absorption, de diffusion, de réversibilité de réaction de transfert des électrons, d'identification des réactions homogènes accouplées qui se déroulent à la surface des électrodes de travail et, finalement, d'établir les mécanismes des réactions des électrodes. L'influence du pH sur le mécanisme d'oxydation a été étudié pour chacun des herbicides. L'identification des réactions homogènes accouplées et la caractérisation des produits formés ont été confirmées par TLC, RMN et IR.

L'étude électrochimique des N-phénylamides (acétanilide, diphénylacétamide, phénacétine) et l'étude du mécanisme d'oxydation du propanile et de l'acétanilide en solution deutérée ont été réalisées pour éclaircir le mécanisme des réactions des électrodes du propanile.

GLOSSÁRIO

A	área do eléctrodo
AdsV	voltametria de redissolução com adsorção
AOAC	Association of Oficial Analytical Chemistry
Ag/AgCl	eléctrodo de referência prata/cloreto de prata
BR	tampão Britton-Robinson
c	concentração
CC	cromatografia em coluna
ChE	colinesterase
CV	voltametria cíclica
D	coeficiente de difusão
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
DME	eléctrodo gotejante de mercúrio
DPV	voltametria de impulso diferencial
E	potencial de eléctrodo
E_f	potencial final
E_i	potencial inicial
$E_{máx}$	potencial máximo
E_{min}	potencial mínimo
E_p	potencial de pico
$E_{p,a}$	potencial de pico anódico
$E_{p,c}$	potencial de pico catódico
$E_{p/2}$	potencial a meia altura de pico
$E^{\theta'}$	potencial formal
$E_{1/2}$	potencial de meia onda
ECD	detector de captura electrónica
EI-MS	espectrometria de massa de impacto electrónico
EPA	Environmental Protection Agency
e.s	electrólito de suporte
Fe(III)TPPCl	tetrafenilporfirina de ferro
FTIR	infravermelho com transformada de Fourrier
GC	cromatografia de fase gasosa
HMDE	eléctrodo de mercúrio de gota suspensa

HPLC	cromatografia liquida de alta resolução
I	corrente eléctrica
I_f-I_b	diferença entre a corrente directa e a inversa
I_p	corrente de pico
$I_{p,a}$	corrente de pico anódico
$I_{p,c}$	corrente de pico catódico
I_t	corrente total
IR	infravermelho
Kps	constante de solubilidade
LC	cromatografia de fase líquida
LD_{50}	dose Letal para 50% dos ratos
LSV	voltametria de varrimento linear
MFE	eléctrodo de carbono vítreo com filme de mercúrio
MS	espectofotometria de massa
n	número de electrões
NMR	ressonância magnética nuclear
p.f	ponto de fusão
PTFE	politetrafluoroetileno
PTLC	cromatografia preparativa de camada fina
PVA	polímero de acetato de polivinilo
SCE	eléctrodo dos calomelanos
SMDE	eléctrodo de gota estática de mercúrio
SPE	extracção em fase sólida
SWV	voltametria de onda quadrada
TMS	tetrametilsilano
TLC	cromatografia de camada fina
USA	Estados Unidos da América
UV	ultravioleta
EU	União Europeia
v	velocidade de varrimento
w	frequência
WHO	World Health Organization
μ	força iónica
ι	período de repetição do impulso

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO

Os pesticidas são compostos mais ou menos tóxicos, que são introduzidos no meio ambiente e que tem efeitos nocivos a curto e longo prazo [1]. Os produtos resultantes da sua possível degradação ou metabolismo, originam resíduos que se podem infiltrar e espalhar no ambiente, sendo particularmente frequente encontrar vestígios em águas superficiais ou lençóis freáticos, no solo e até em produtos agrícolas e agro-alimentares. Assim podem penetrar na cadeia alimentar, com todas as consequências que daí advêm, nomeadamente a bioacumulação. Os diversos tipos de pesticidas podem ser classificados, de acordo com a sua acção biológica, em insecticidas, herbicidas, fungicidas, acaricidas, moluscicidas, nematodicidas e rodenticidas.

Os pesticidas são habitualmente usados no combate às denominadas pragas, que são definidas como qualquer planta, fungo, insecto ou qualquer outro ser vivo que possa causar dano ao homem [2]. Sendo assim, não é de estranhar a grande variedade de pesticidas existentes bem como na maior parte dos casos a especificidade para cada tipo de cultura.

Os riscos para o meio ambiente, resultantes da aplicação de pesticidas, são dependentes das suas propriedades físicas e químicas, de processos de dissipação e degradação e de outros factores como o grau de toxicidade, a quantidade de pesticida aplicada, a formulação utilizada, método e tempo de aplicação e a extensão do seu uso.

Estudos realizados em 1989 [3], estimaram que o consumo de pesticidas no Mundo, medidos em função das vendas de substâncias activas dos produtos fitofarmacêuticos, era de aproximadamente 2,8 biliões de Kg por ano. Desde então, tem havido um aumento exponencial do uso destes produtos.

Atendendo à dimensão territorial, Portugal, relativamente a outros países é um dos grandes consumidores de pesticidas na Europa. Embora exista alguma controvérsia em torno destes dados, pela dificuldade em obter informações credíveis e coerentes neste domínio, a análise comparativa do consumo de pesticidas em Portugal e nos outros países da União Europeia (EU), atribui a Portugal um lugar de destaque, comparando-se com países como a França e a Itália [4].

Em resultado do consumo elevado e à semelhança do que acontece noutros países, tem havido em Portugal alguma preocupação no sentido de limitar a utilização dos pesticidas, procurando optimizar-se os seus efeitos positivos e eliminar ou reduzir os efeitos perniciosos. Para isso, a legislação referente a pesticidas, tem vindo a ser continuamente ajustada. Esforços comuns no sentido de estender medidas oficiais adequadas ao controlo e fiscalização de pesticidas, têm sido preconizadas por todos os Estados membros da EU. É, no entanto necessário controlar e exigir o cumprimento das leis, procurando em simultâneo, elaborar estratégias que permitam uma melhor utilização destas substâncias com o mínimo de riscos para os operadores e para o equilíbrio da Natureza. Assim, têm-se verificado um aumento do interesse do Estado Português relativamente aos pesticidas de interesse agrícola no que se refere à defesa das culturas e respectivos produtos, tendo este criado grupos técnico-científicos tais como a Comissão Reguladora de Produtos Químicos e Farmacêuticos e o Laboratório de Fitofarmacologia, responsáveis por homologar e conceder autorização de venda de qualquer produto fitofarmacêutico [4].

1.2 PESTICIDAS NAS CULTURAS DE ARROZ

O arroz, um dos cereais mais populares do Mundo, sendo cultivado de modo extensivo propicia a utilização de grandes quantidades de pesticidas. O seu cultivo em meio aquático facilita o desenvolvimento de ervas daninhas, provocando quebras de produção muito significativas que, com facilidade, chegam a atingir os 50%. O recurso a herbicidas eficazes no controlo das principais infestantes dos arrozais, tornou possível evitar quebras de produção tão elevadas [5].

A cultura do arroz em Portugal ocupava em 1992, uma área que variava entre os 30 e os 35 mil hectares e distribuía-se fundamentalmente nos vales dos rios Vouga, Mondego, Tejo, Sado e Guadiana, com uma produção média de 4500 Kg/ha [5]. Neste trabalho de acordo com o calendário agrícola das culturas de arroz e da fase de aplicação de cada herbicida (Fig.1.1), escolheu-se, para os estudos electroquímicos os seguintes grupos de aplicação: i) bentazona e MCPA, ii) molinato, tiobencarbe, mefenaceto e bensulfurão-metilo, iii) oxadiazão, iv) propanil [6].

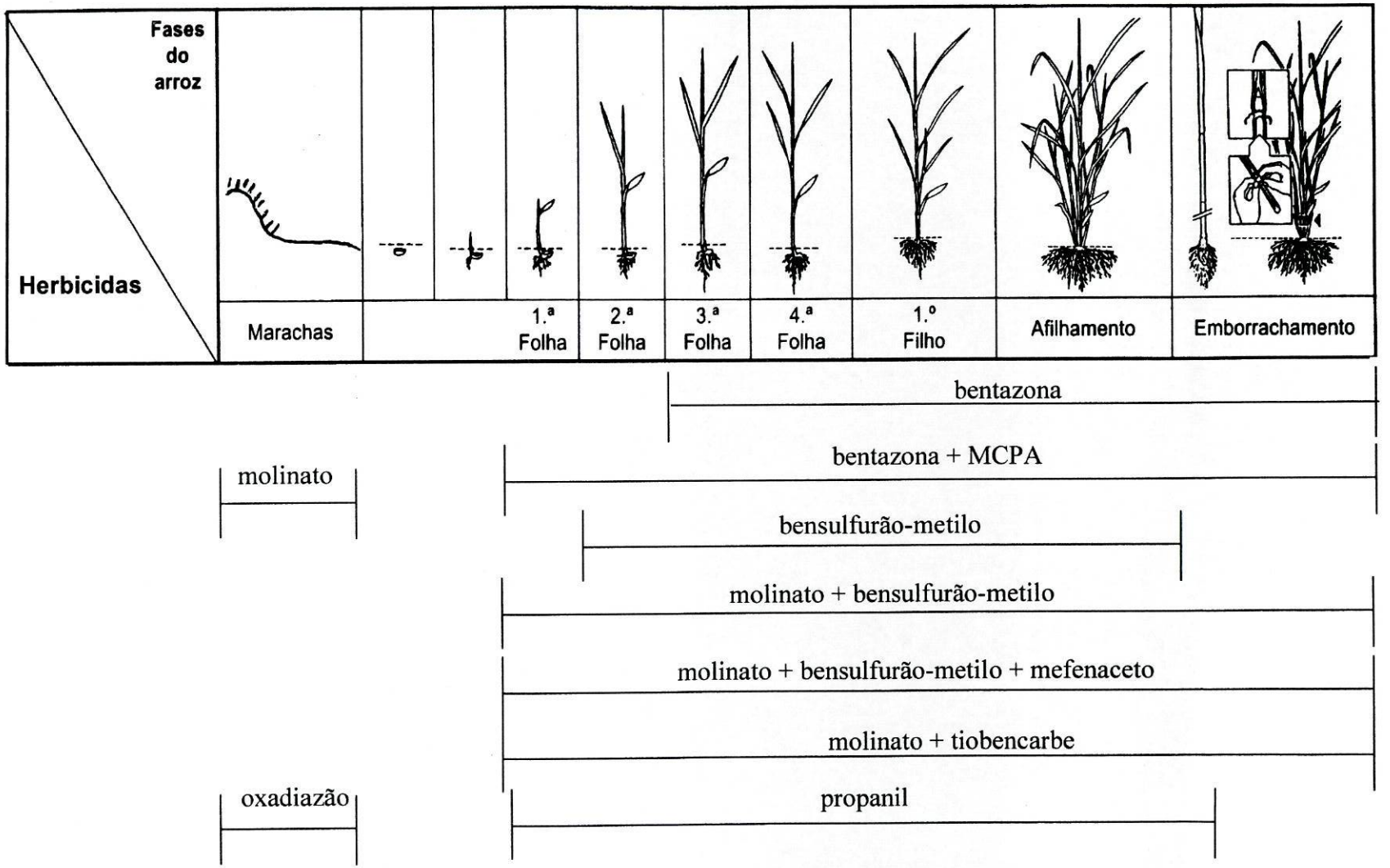


Fig. 1.1 Calendário de tratamento do arroz. Definindo-se *marachas,* como divisórias que separam os canteiros de arroz, *afilhamento*, nascimento de outros pés na mesma planta, *emborrachamento,* altura em que começa a formação da espiga.

1.2.1 Dissipação

Imediatamente após a sua aplicação, os pesticidas tendem a redistribuir-se pelo ambiente. As formulações de pesticidas aplicadas geralmente por meio aéreo sob a forma de spray, transferem-se da atmosfera para os campos de arroz onde se dissolvem na água. A seguir os pesticidas volatilizam-se para a atmosfera ou são adsorvidos reversivelmente pelo solo e sedimentos. Podem ainda ser bioconcentrados nos seres vivos.

O transporte fisico de pesticidas é uma consequência directa das suas propriedades fisicas [7], sendo determinante a solubilidade em água e a pressão de vapor. O facto das formulações de pesticidas serem constituídas não só por substâncias activas mas também por ingredientes inertes, como por exemplo, tensioactivos e agentes emulsionantes, dificulta por vezes, a sua transferência para o meio aquoso, uma vez que o pesticida se pode apresentar sob a forma de micelas. Dependendo da temperatura e do pH do meio são habitualmente necessários vários dias até se obterem concentrações máximas de pesticidas na água.

Posteriormente o pesticida transfere-se para a atmosfera por processos de evaporação, dependendo da pressão de vapor e da solubilidade.

Os pesticidas após dissolução em água, ligam-se reversivelmente aos sedimentos por adsorção. Dos vários constituintes do solo como areias, lodo, argila e matéria orgânica, esta ultima é de longe considerada a mais importante no processo de adsorção dos pesticidas ao solo.

Os pesticidas aplicados nas culturas de arroz podem ser acumulados (bioconcentrados) nas plantas e animais aquáticos. Este processo é avaliado através do valor do coeficiente de partição (P), em que o valor de log P é designado pelo K_{ow} (constante de partição do herbicida entre n-octanol e a água) [1]. Como estes compostos são geralmente aplicados uma vez por ano, a bioconcentração tem um máximo correspondente ao máximo de concentração na água, mas depois diminui eventualmente para níveis muito baixos [7].

Na Tabela 1.1 resumem-se as propriedades fisico-químicas correspondentes aos herbicidas que foram estudados. Do valor da constante de Henry, pode concluir-se que à excepção do molinato, tiobencarbe e oxadiazão, todos os outros herbicidas permanecem em solução á temperatura ambiente sendo a quantidade volatilizada insignificante. O pequeno valor de

K_{oc} (constante de equilíbrio da distribuição do pesticida entre o sedimento e a água) do MCPA e da bentazona, indica uma fraca ligação ao solo e fácil mobilidade através deste [7].

Tabela 1.1 Propriedades físico-químicas dos herbicidas estudados [1].

Pesticida	**Solubilidade em água (mgL^{-1})**	**Pressão de vapor (mPa)**	**Constante de Henry (H)[a] ($atm\ mol^{-1}\ m^3$)**	**Adsorção K_{oc} (25 °C)**	**Bioacumulação K_{ow} (log P)**
Bentazona	570 (pH 7 e 20°C)	0,17 (20°C)	$7,1x10^{-10}$	30	O,77 (pH 5) O,46 (pH 7)
MCPA	734 (25°C)	$2,3x10^{-2}$	$6,2x10^{-11}$	10	2,75 (pH 1 e 25°C)
Molinato	88 (20°C)	746 (25°C)	$1,6x10^{-5}$	190	2,88
Tiobencarbe	30 (20°C)	2,9 (23°C)	$2,5x10^{-7}$	900	3,42
Mefenaceto	4 (20°C)	$6,4x10^{-4}$ (20°C)	$4,7x10^{-10}$	Não disponível	3,23
Bensulfurão-metilo	12 (pH6; 25°C) 2,9 (pH5; 25°C) 1200 (pH7;25°C)	$2,8x10^{-9}$ (25°C)	$9,4x10^{-17}$	310(pH 7) 2000(pH 5)	2,75 (pH15 e 30°C) O,62 (pH7 e 30°C)
Oxadiazão	1,0 (25°C)	0,1 (25°C)	$3,4x10^{-7}$	3200	4,91 (20°C)
Propanil	130 (20°C)	0,02	$3,3x10^{-10}$	200	3,30 (20°C)

(a) Valores calculados através da expressão
H=[pressão(atm) x Peso Molecular ($gmol^{-1}$]/solubilidade (gm^{-3}) [1]

1.2.2 Degradação

Além da dissipação dos pesticidas, estes compostos são também susceptíveis de degradação química e bioquímica [7]. A biodegradação é o resultado da capacidade que os organismos vivos tais como plantas, animais e microorganismos têm de realizar nos compostos, processos bioquímicos de oxidação, redução e hidrólise.

No entanto, a degradação pode também ocorrer devido a fenómenos químicos. De facto no caso das culturas de arroz, os pesticidas são aplicados numa das épocas do ano de maior intensidade de luz solar, podendo portanto a fotodegradação ser considerada um dos principais processos de degradação

destes compostos [7]. A fotodegradação directa é resultado da absorção pelo pesticida dos raios ultra-violeta que pode originar uma reacção química. A fotodegradação indirecta é o resultado da absorção de raios ultravioleta por outros compostos, como por exemplo o peróxido de hidrogénio ou a clorofila, que em seguida reagem com os pesticidas. O pesticida tiobencarbe é um exemplo de um composto que sofre fotodegradação indirecta, uma vez que este não absorve significativamente energia correspondente à radiação ultravioleta (UV), mas é susceptível ao ataque de oxidantes que ocorrem naturalmente na água sob a acção da luz solar.

1.2.3 Toxicidade

A toxicidade dos pesticidas é medida através do valor de LD_{50} (dose de pesticida admnistrada de que resulta na morte de 50% da totalidade dos animais testados), que de acordo com os critérios da EPA (Environmental Protection Agency of USA), os classifica em grupos distintos de toxicidade dependendo da via de introdução no organismo: oral, dérmica ou inalação (Tabela 1.2) [1].

De acordo com estes critérios, a Tabela 1.3 apresenta as classificações relativas à toxicidade dos herbicidas estudados.

Tabela 1.2 Classificação de toxicidade de acordo com a EPA [1].

Classificação	**Classe**	**LD_{50} para os ratos (mg/Kg)**		
		Oral	**Dérmica**	**Inalação**
Extremamente tóxico	1	≤ 50	≤ 200	<0,2
Muito tóxico	2	5-500	200-2000	0,2-2,0
Moderadamente tóxico	3	500-5000	2000-20000	2,0-20
Pouco tóxico	4	> 5000	> 20000	> 20

Tabela 1.3 Classe de toxicidade, de acordo com a EPA, dos herbicidas estudados.

Nome comum	**Classe toxicidade**		
	Oral	Dérmica	Inalação
Bentazona	3	3	3
MCPA	3	3	3
Molinato	2	3	2
Tiobencarbe	3	3	2
Mefenaceto	4	3	1
Bensulfurão-metilo	4	3	3
Oxadiazão	4	3	3
Propanil	3	3	2

1.2.4 Produtos fitofarmacêuticos

Os produtos fitofarmacêuticos, usados fundamentalmente para protecção de culturas e produtos agrícolas, são uma combinação de diversos ingredientes, nomeadamente substâncias activas, ingredientes inertes e substâncias sinergéticas [3]. Existem no mercado muitas formulações fitofarmacêuticas similares, que têm em comum a substância activa mas que diferem na composição dos restantes componentes.

Os compostos inertes usados nas formulações são assim designados não porque são inactivos, mas porque não têm qualquer efeito no combate à praga. De facto, podem ser bastante activos do ponto de vista biológico e são muitas vezes tóxicos. Apesar de existir para algumas centenas destes compostos alguma informação da sua toxicidade, na maioria dos casos as formulações omitem o tipo de composto inerte utilizado, o que torna difícil o seu controlo e o estudo da sua toxicidade.

As substâncias sinergéticas são adicionadas aos produtos comerciais para aumentar o efeito das substâncias activas, especialmente quando estas são extremamente caras.

Com tão grande número de formulações existentes no mercado, torna-se quase impossível conhecer os efeitos nocivos de cada um dos produtos comerciais, uma vez que quase todos os testes de toxicidade são feitos relativamente ao ingrediente activo isolado e não sobre a mistura final. Há, no entanto, quem preconize que a avaliação das características tóxicas de todas as substâncias constituintes do produto comercial seria suficiente para ter uma ideia do efeito nocivo total do produto final [3]. Na maior parte dos casos porém, a combinação cria um efeito sinergético, sendo o produto resultante muitas vezes mais tóxico que o que seria de esperar pela soma das características tóxicas de cada constituinte.

1.3 ESTUDOS DE PESTICIDAS POR MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS

Nestes últimos anos, o número de publicações na área da análise de pesticidas e dos seus produtos de degradação aumentou significativamente [8]. De facto, verificaram-se avanços importantes no que diz respeito ao desenvolvimento de metodologias capazes, de dosear estes compostos nas mais diversas matrizes. A maior parte destes métodos impõem preparação prévia da amostra, recorrendo a extracções líquido-líquido ou sólido-líquido, purificação da amostra e pré-concentração.

Os métodos mais usados na determinação de pesticidas, são aqueles que envolvem técnicas de separação, cromatografia de fase gasosa (GC) e cromatografia de fase líquida (LC) [8].

Os métodos electroquímicos, são habitualmente uma alternativa na análise qualitativa e quantitativa destes compostos. As técnicas electroquímicos podem ser agrupadas essencialmente em duas grandes categorias: a potenciometria, em que se faz a medição do potencial a uma intensidade de corrente nula e a voltametria em que se aplica um potencial e se mede seguidamente o valor da intensidade de corrente. De entre todas as técnicas voltamétricas disponíveis, utilizamos neste trabalho a voltametria cíclica (CV), a voltametria de impulso diferencial (DPV) e a voltametria de onda

quadrada (SWV). Algumas considerações teóricas sobre estas técnicas apresentam-se de seguida.

1.3.1 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica [9,10] é normalmente escolhida para se estudar electroquimicamente um sistema pela primeira vez. Rapidamente se traça um voltamograma, a partir do qual é possível recolher informação quanto aos potenciais em que ocorrem os processos de transferência de electrão e é, detectada a existência de reacções químicas acopladas e identificados os fenómenos de adsorção [9,10].

Quando se utiliza a voltametria cíclica, o potencial varia linearmente entre os valores E_i (potencial inicial) e E_f (potencial final), a uma velocidade de varrimento constante v (Fig. 1.2). Ao ser atingido o valor E_{max}, a direcção do varrimento é invertida para E_{min} e depois invertida para E_{max} e assim sucessivamente.

A voltametria cíclica pode ser usada para uma diversidade de aplicações, como a determinação das constantes de velocidade, o número de electrões tranferidos numa reacção, o estudo da reversibilidade da reacção redox, etc [9].

Nas reacções reversíveis, ou seja, naquelas com velocidade de reacção de eléctrodo rápida relativamente à escala de tempo do varrimento de potencial, o produto inicial de oxidação ou redução é respectivamente reduzido ou oxidado no varrimento inverso [9].

O voltamograma cíclico característico de um processo reversível está representado na Fig.1.3 apresentando basicamente quatro parâmetros importantes: o potencial de pico anódico ($E_{p,a}$) e catódico ($E_{p,c}$), a corrente de pico anódica ($I_{p,a}$) e catódica ($I_{p,c}$).

Na Tabela 1.4 apresentam-se as condições necessárias para que um sistema electroquímico apresente comportamento reversível

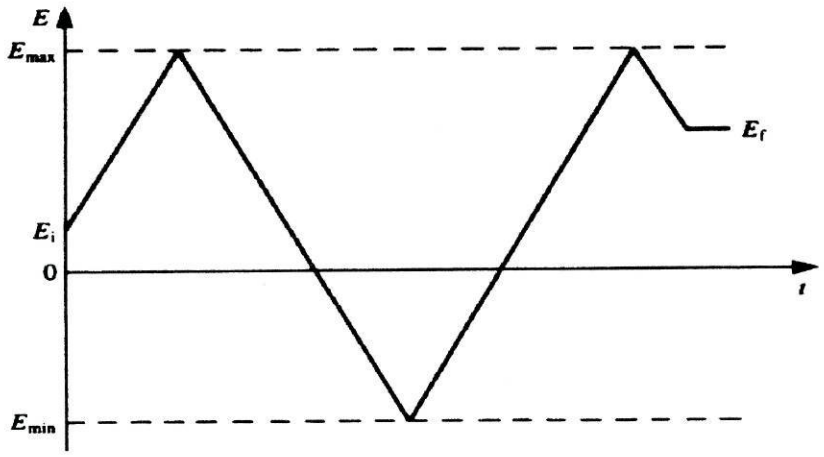


Fig.1.2 Esquema de aplicação de potenciais, com o tempo, em voltametria cíclica sendo E_i - potencial inicial, E_f - potencial final, $E_{máx}$ - potencial máximo, E_{min} - potencial mínimo. O sentido do varrimento inicial pode ser positivo ou negativo (adaptada da ref [9]).

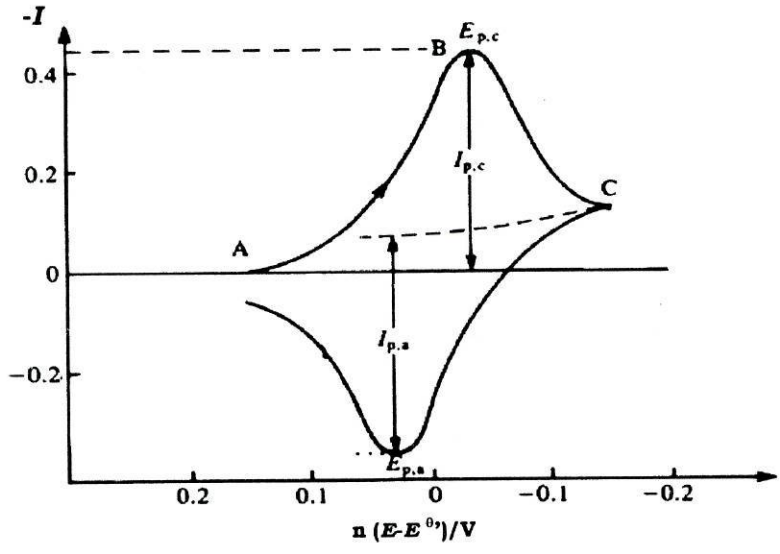


Fig. 1.3 Voltamograma cíclico para uma reacção reversível: (---) corresponde à situação da queda de corrente observada depois do varrimento inverso (adaptada da ref.[9]).

Tabela 1.4 Critérios para diagnosticar processos de transferência de carga reversíveis [10].

E_p é independente de v
$E_{p,a} - E_{p,c} = 57,0/n$ (mV) e é independente de v
$\lvert E_p - E_{p/2} \rvert = 56,6/n$ (mV)
$I_p \propto v^{1/2}$
$\lvert I_{p,a}/I_{p,c} \rvert = 1$

$E_{p/2}$ (potencial a meia altura), n (n° de electrões)

Da tabela anterior podemos verificar, que um dos critérios para a reversibilidade é que $I_{p,c}$ seja igual à $I_{p,a}$. Contudo, um aumento da velocidade de varrimento pode conduzir a uma diminuição da corrente de pico catódica e o sistema pode parecer irreversível. Neste caso, a extensão de irreversibilidade aumenta com o aumento da velocidade de varrimento, verificando-se ao mesmo tempo, uma diminuição da corrente de pico relativamente ao caso reversível e uma separação crescente entre os picos anódicos e catódicos (Fig.1.4).

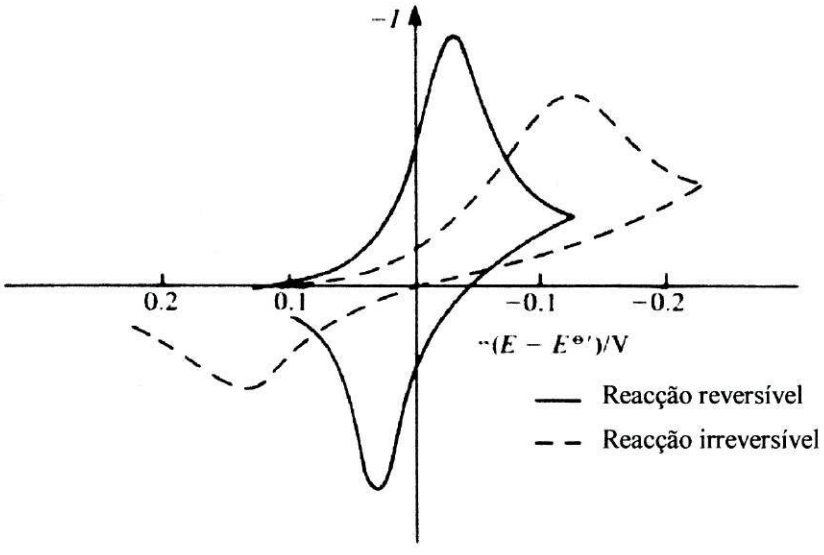


Fig. 1.4 Efeito do aumento da irreversibilidade na forma dos voltamogramas cíclicos (adaptada da ref [9]).

Num processo de eléctrodo irreversível, a separação dos picos pode ser tão grande que muitas vezes não se observa corrente no varrimento do potencial inverso. Na Tabela 1.5 resumem-se as condições características de um processo irreversível.

Tabela 1.5 Critérios para diagnosticar processos de transferência de carga irreversíveis [10].

Não existe corrente no varrimento inverso
E_p desloca-se na direcção catódica $30/\alpha n_\alpha$ (mV) para um aumento de 10 vezes de v
$\lvert E_p - E_{p/2} \rvert = 48/\alpha n\alpha$ (mV)
$I_p \propto v^{1/2}$

1.3.2 Voltametria de impulso diferencial

A voltametria de impulso diferencial foi desenvolvida inicialmente para o eléctrodo de gota de mercúrio [9,11], tendo como objectivo sincronizar os impulsos com o crescimento da gota, reduzindo deste modo a contribuição da corrente capacitiva fazendo a amostragem da corrente no fim do tempo da vida da gota. Este tipo de amostragem tem a vantagem de aumentar a sensibilidade e possibilitar melhores características no sinal analítico [9].

Na voltametria de impulso diferencial, faz-se a sobreposição de impulsos curtos (10 - 100 mV) e constantes a uma rampa de potencial (Fig.1.5), sendo a intensidade de corrente representada pela diferença entre a corrente obtida antes da aplicação do impulso, I(1), e a corrente obtida na parte final da aplicação deste, I(2). O voltamograma, ou seja, a curva de ΔI vs. E, apresenta um pico cuja altura é directamente proporcional à concentração da espécie a analisar. O potencial de pico E_p, pode ser aproximadamente identificado com o potencial de meia onda, $E_{1/2}$. Com o

aumento da irreversibilidade, verifica-se um afastamento de E_p em relação a $E_{1/2}$ ao mesmo tempo que aumenta a largura do pico e a sua altura diminui.

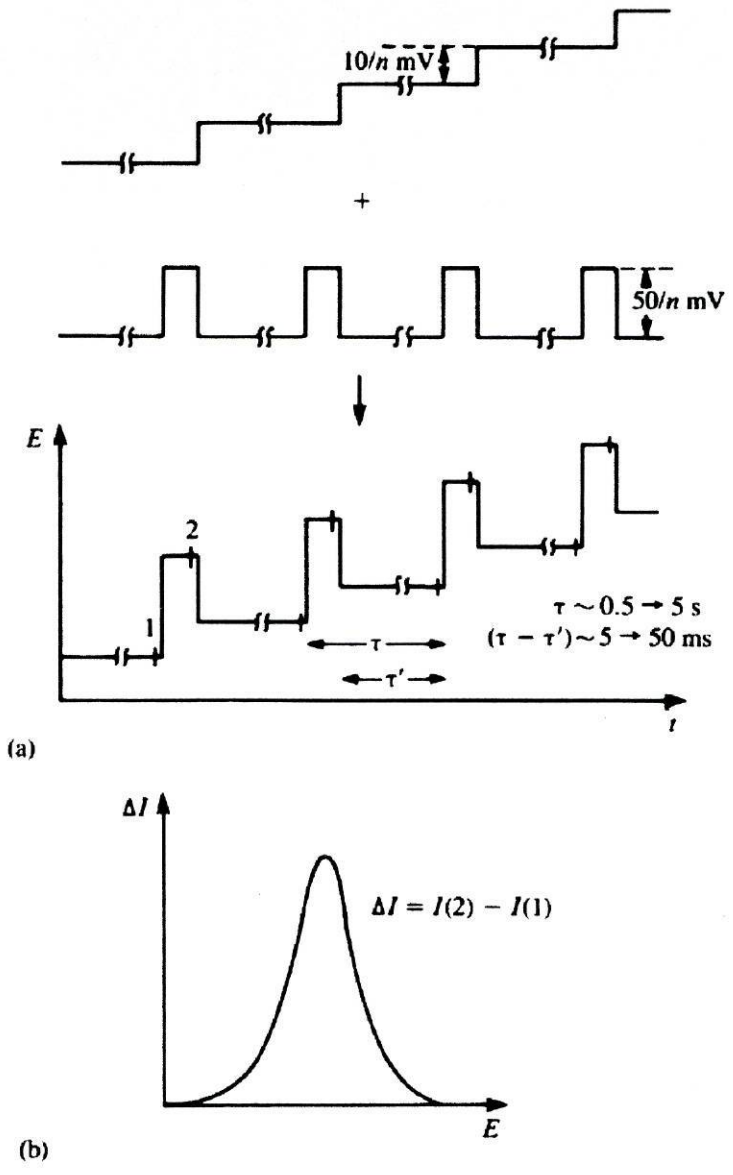


Fig. 1.5 Voltametria de impulso diferencial. a) Esquema de aplicação de potenciais, sendo τ o período de repetição do impulso e $\tau - \tau'$ o tempo de duração do impulso: b) Perfil voltamétrico ΔI vs. E esquemático (adaptado da ref [9]).

1.3.3 Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada foi concebida por Barker em 1952 [12], mas foi pouco usada nesse tempo devido à dificuldade com electrónica de controlo. Mais tarde, Ramely e Krause [13,14] desenvolveram os aspectos teóricos e apresentaram algumas aplicações desta técnica no eléctrodo de mercúrio de gota suspensa. Com os progressos atingidos na instrumentação, esta viria a tornar-se numa das técnicas electroanalíticas mais importantes [9,15].

A voltametria de onda quadrada é uma técnica diferencial em que se faz a justaposição de uma onda quadrada, de frequência relativamente elevada, a uma rampa de potencial (Fig. 1.6).

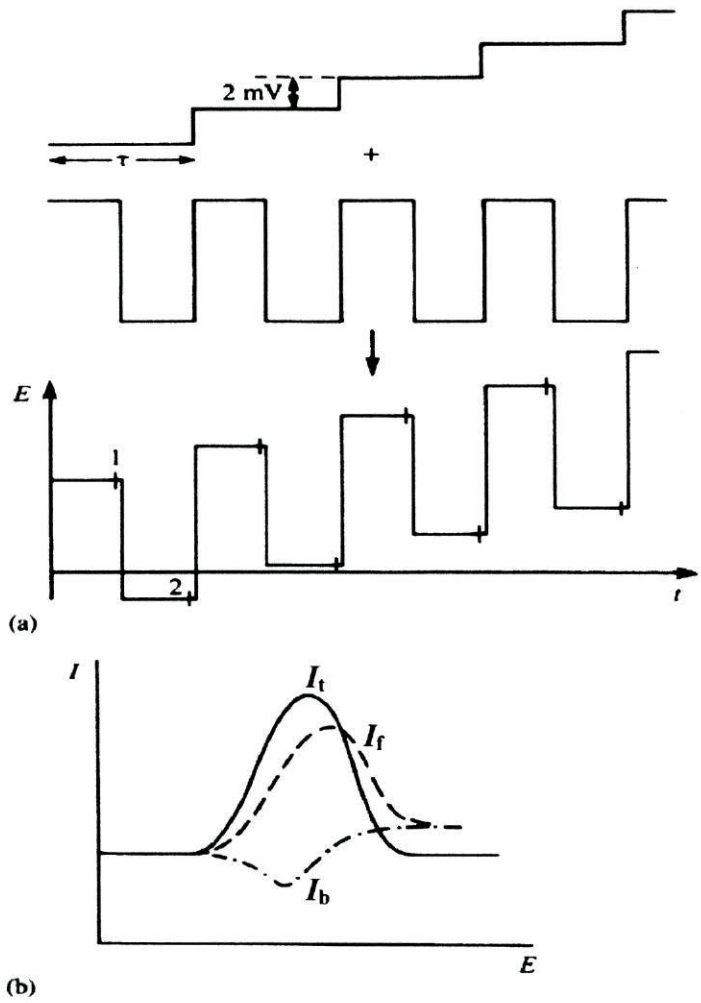


Fig. 1.6 Voltametria de onda quadrada. a) Esquema de aplicação de potenciais: soma de uma escada e de uma onda quadrada, b) Perfil voltamétrico de *I* vs. *E* (adaptado da ref [9]).

A corrente total (I_t) corresponde à diferença entre a corrente observada no final do impulso directo (I_f) e a corrente observada no final do impulso inverso (I_b), obtendo-se para I_t um valor efectivo igual à soma das duas correntes, o que justifica o facto de ser uma das técnicas voltamétricas mais sensíveis.

Relativamente à voltametria de impulso diferencial, a voltametria de onda quadrada tem como principal vantagem uma maior rapidez de análise. De facto, enquanto que a voltametria de impulso diferencial funciona com velocidades de varrimento efectivas de 1-10 mVs^{-1}, a voltametria de onda quadrada pode alcançar velocidades de varrimento de 1 Vs^{-1}. Além disso esta técnica possibilita a realização de determinações sem necessidade de remoção do oxigénio da solução.

Assim as características da voltametria de onda quadrada, nomeadamente a rapidez e a sensibilidade, tornam este método particularmente útil.

1.3.4 Determinação de pesticidas

No desenvolvimento de métodos electroanalíticos para a determinação de pesticidas, é de primordial importância a escolha do material do eléctrodo, tendo em vista a zona de potencial que é necessário utilizar para a detecção destes compostos.

O eléctrodo de mercúrio, tem em soluções aquosas um intervalo útil de trabalho de +0,3 a -2,8 V relativamente ao eléctrodo de calomelanos (SCE) [16]. Deste modo estes eléctrodos são especialmente usados em estudos de redução, uma vez que na zona anódica só pode ser utilizado até +0,3 V vs. SCE.

Relativamente aos eléctrodos sólidos, existe uma variedade de materiais que podem ser usados: platina, ouro, carbono, níquel etc. No entanto, o eléctrodo de carbono vítreo, devido às suas propriedades electrocatalíticas, é frequentemente o mais utilizado para monitorizar reacções de oxidação electroquímica, particularmente em sistemas de fluxo como por exemplo a cromatografia de fase líquida.

O intervalo de actividade electroquímica do eléctrodo de carbono vítreo é dependente do electrólito suporte e do estado da sua superfície. No entanto, é

comum observar-se um intervalo de trabalho de cerca de 3 V, direccionado na maior parte das vezes, para a zona de oxidação [17].

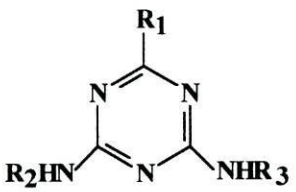
1.3.4.1. Eléctrodos de mercúrio

Durante muito tempo o eléctrodo de gota de mercúrio foi o mais usado, primeiro sob a forma de eléctrodo gotejante de mercúrio (DME), actualmente sob a forma de eléctrodo de mercúrio de gota estática (SMDE) e eléctrodo de mercúrio de gota suspensa (HMDE).

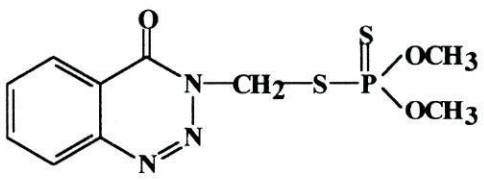
Existem na literatura vários exemplos do uso de eléctrodos de mercúrio no estudo do comportamento electroquímico de pesticidas e seu doseamento em diferentes matrizes, nomeadamente no solo, água e produtos agrícolas.

1) Determinação de triazinas

Compostos derivados das triazinas são muito usados na agricultura como herbicidas. Existem essencialmente dois grupos, as *s*-triazinas e as triazinas assimétricas (Fig.1.7).



a)



b)

R_1 = Cl; OCH_3; SCH_3

R_2 e **R_3** = Grupos alquílicos (1 a 4 átomos de carbono)

Fig. 1.7 Estrutura de triazinas a) *s*-triazinas, b) triazina assimétrica (gutião).

As *s*-triazinas são compostos aromáticos heterocíclicos com fórmula de estrutura representada genericamente na Fig. 1.7a. As propriedades das *s*-triazinas são influenciadas essencialmente pelo substituinte representado por R_1 [18, 19].

Nestes compostos, os átomos de carbono e de azoto alternam regularmente no anel heterocíclico. Resultados obtidos por coulometria e polarografia de varrimento linear, demonstraram que a reacção de redução das *s*-triazinas se dá na ligação -C=N- do anel heterocíclico [18,20].

No caso do gutião (triazina assimétrica) provou-se, por coulometria, polarografia de varrimento linear e polarografia de impulso diferencial, que a redução ocorre na ligação -N=N- do anel heterocíclico [21].

A determinação de triazinas ou de qualquer outro pesticida, requer habitualmente, preparação prévia de amostra, envolvendo extracções com solventes orgânicos. As conhecidas dificuldades do uso de solventes orgânicos em electroanálise e a baixa solubilidade dos pesticidas em água, levou à procura de condições alternativas. Deste modo foi realizado um estudo polarográfico da simazina em soluções água-óleo e em soluções micelares [22].

Por vezes é necessário proceder ao doseamento de pesticidas em amostras mais concentradas, como por exemplo, produtos fitofarmacêuticos. Neste caso, não é condicionante o limite de detecção da técnica mas é determinante a simplicidade, selectividade, rapidez e economia de reagentes e de tempo. Um exemplo deste tipo de aplicação, refere-se à determinação do metamitrão, por DPV, num produto comercial "*Goltix*" [23].

Na Tabela 1.6 apresentam-se resumidamente trabalhos existentes na literatura referentes à quantificação de triazinas. Para fins analíticos as técnicas DPV e AdSV são as mais utilizadas.

2) Determinação de pesticidas contendo o grupo nitro

Os pesticidas com grupos nitro são bastante eficientes, mas têm propriedades muito tóxicas sendo muito importante a sua quantificação em amostras ambientais.

O mecanismo de redução, de compostos aromáticos contendo o grupo nitro com consequente formação de hidroxilaminas ou correspondentes aminas, é hoje um processo bem conhecido [31,32].

Tabela 1.6 Determinação com eléctrodos de mercúrio de pesticidas do grupo das triazinas.

Pesticida	Limite de detecção	Eléctrólito suporte	Potencial/V	Eléctrodo	Técnica	Ref	Aplicação
Ametrina[a]	—			DME	DPV	[18]	*Águas residuais
	0,2 μgL^{-1}		-1,02	HMDE	AdSV	[24]	*Águas residuais
Atrazina[a]	—			DME	DPV	[18]	*Águas residuais
	$8x10^{-8}$ $molL^{-1}$	HCl/NaOH	-0,93 vs SCE	DME	DPV	[25]	*Sem aplicação
	0,96 μgL^{-1}	(pH=2,2)	-0,83, -0,94 vs SCE	SMDE	AdSV	[26]	*Água
Desmetrina[a]	0,15 μgL^{-1}	BR (pH=4,0)	-1,08 vs SCE	SMDE	AdSV	[26]	*Água
Gutião[b]	$6x10^{-8}$ $molL^{-1}$	BR (pH=4,3)	-0,75, -1,15 vs SCE	DME	DPV	[21]	*Sem aplicação
	$1x10^{-7}$ $molL^{-1}$	BR (pH 5,0-5,5)	-0,15, -0,40 vs Ag/AgCl	SMDE	DPV	[27]	*Amostras sintéticas de água de um rio e de um lago e água potável
	$2x10^{-9}$ $molL^{-1}$	BR (pH 5,0-5,5)	-0,15, -0,40 vs Ag/AgCl	SMDE	AdSV	[27]	*Amostras sintéticas de água de um rio e de um lago e água potável
	0,5 mgL^{-1}		-0,64	DME	AdSV	[24]	*Água residual
	1,5 mgL^{-1}		-0,71	HMDE	AdSV	[24]	*Água residual
Isometiozina[b]	0,04 μgg^{-1}	BR (pH=1,90)	-0,52, –0,93 vs Ag/AgCl	DME		[28]	*Solo
	0,02 μgg^{-1}	BR (pH=2)	-0,49, -0,95 –1,05 Ag/AgCl	DME	DPV	[29]	*Solo
Metamitrão[b]	0,5 μgL^{-1}	AcH/Ac^- (pH=4,6)	-0,67 e -1,24 vs Ag/AgCl	HMDE	AdSV	[23]	*Amostras comerciais
	0,4 μgKg^{-1}		-0,45	HMDE	AdSV	[24]	*Solo
Metoprotrina[a]	$2x10^{-9}$ $molL^{-1}$	$HClO_4$ 0,1 $molL^{-1}$	-0,87 vs Ag/AgCl	HMDE	AdSV	[19]	*Amostras sintéticas de água de irrigação e água potável
	0,16 μgL^{-1}	BR (pH=4,0)	-1,06 vs SCE	HMDE	AdSV	[26]	*Água

Continuação

Pesticida	Limite de detecção	Electrólito suporte	Potencial/V	Eléctrodo	Técnica	Ref	Aplicação
Prometrina[a]	$8x10^{-8}$ molL^{-1}	HCl/NaOH (pH=2)	-0,98 vs SCE	DME	DPV	[25]	*Sem aplicação
	$9x10^{-9}$ molL^{-1}	$HClO_4$ 0,1 molL^{-1}	-0,88 vs Ag/AgCl	HMDE	AdSV	[30]	*Solo e água
	0,35 μgL^{-1}	BR (pH=4,0)	-1,07 vs SCE	SMDE	AdSV	[26]	*Água
Simazina[a]	—			DME	DPV	[18]	*Águas residuais
	$2,2x10^{-7}$molL^{-1}	BR (pH=2)	-0,95 vs SCE	DME	DPV	[22]	*Amostras sintéticas de águas de irrigação
	$8x10^{-8}$ molL^{-1}	HCl/NaOH (pH=2)	-0,95 vs SCE	DME	DPV	[25]	*Sem aplicação
	4 μgL^{-1}		-0,75	HMDE	AdSV	[24]	*Sem aplicação
Simetrina[a]	$2,0x10^{-9}$molL^{-1}			DME	AdSV	[27]	*Amostras sintéticas de água de um rio e de um lago e água potável
	$1x10^{-7}$ molL^{-1}			SMDE	DPV	[27]	*Amostras sintéticas de água de um rio e de um lago e água potável
	0,4 μgL^{-1}		-1,05	DME	AdSV	[24]	*Água residual
Terbutrina[a]	$5x10^{-10}$ molL^{-1}	$HClO_4$ 0,1 molL^{-1}	-0,92 vs Ag/AgCl	HMDE	AdSV	[19]	*Amostras sintéticas de água superficial e água potável
	0,36 μgL^{-1}	BR (pH=4,0)	-1,06 vs SCE	SMDE	AdSV	[26]	*Água
Tetrabutilazina[a]	0,12 μgL^{-1}	BR (pH=2,5)	-0,87, -0,96 vs SCE	SMDE	AdSV	[26]	Água

a-triazina simétrica, *b*-triazina assimétrica

Dentro deste conjunto de pesticidas podem considerar-se essencialmente quatro grupos: nitrorganofosforados, derivados dos nitrofenois, derivados da dinitroanilina e nitrorganoclorados.

O desenvolvimento de métodos sensíveis e selectivos para o doseamento de pesticidas, tem sido o grande objectivo de numerosos trabalhos efectuados nesta área. No entanto e tal como já foi referido é também importante a determinação dos metabolitos resultantes da degradação destes compostos.

Neste contexto, será de referir o trabalho em que foi feita a determinação do paratião na presença de dois dos seus metabolitos, o paraoxão e o p-nitrofenol [33]. O paratião e p-nitrofenol apresentam potenciais de redução diferentes, respectivamente de –0,39 V e –0,68 V vs SCE, não sendo portanto interferentes. No que diz respeito ao paratião e paraoxão, só foi possível efectuar a sua determinação conjunta recorrendo ao comportamento adsorptivo do primeiro pesticida.

Ainda com o objectivo da determinação simultânea do paratião e seus principais metabolitos, foram realizados estudos sobre o comportamento electroquímico de uma mistura de paratião, paraoxão e p-nitrofenol [34]. Foi concluido que o paratião e p-nitrofenol não são interferentes entre si. Neste caso, a quantificação conjunta do paratião e paraoxão foi possível devido à selectividade da reacção de hidrólise alcalina destes dois compostos sob condições experimentais controladas.

Mais tarde, surgiu um outro trabalho em que a determinação de misturas de paratião e paraoxão foi baseada no facto do catião Pd (II) catalisar somente a reacção de hidrólise do paratião [35].

Tal como as triazinas, alguns dos pesticidas contendo grupos nitro são adsorvidos à superfície do eléctrodo de mercúrio, sendo por isso, grande o número de trabalhos que utilizam a técnica AdSV para o doseamento deste grupo de pesticidas, em amostras contendo quantidades vestigiais.

Na Tabela 1.7 estão referidos resumidamente os trabalhos existentes na literatura para quantificação deste grupo de compostos, utilizando o eléctrodo de mercúrio.

Tabela 1.7 Determinação com eléctrodos de mercúrio de pesticidas que contêm o grupo nitro.

Pesticida	Limite de detecção	Eléctrólito suporte	Potencial/V	Eléctrodo	Técnica	Ref	Aplicação
Benflurolina[a]	0,1-2,8 ngmL^{-1}			HMDE	AdSV	[36]	*Amostras sintéticas de solos
Bromofenoxima[b]	0,1-2,8 ngmL^{-1}			HMDE	AdSV	[36]	*Amostras sintéticas de solos
CDT[b]	2,6 μgL^{-1}	BR (pH=6,1)	-0,17, -0,25 vs SCE	DME	DPV	[32]	*Sem aplicação
Clorotião[a]	5,0x10^{-9} molL^{-1}	AcH/Ac$^-$ (pH=4)	-0,3 vs SCE	DME	DPV	[37]	*Sem aplicação
Dinobutona[c]	0,6 μgL^{-1}		-0,46	HMDE	AdSV	[24]	*Água residual
	16,5 μgL^{-1}	BR (pH=6,1)	-0,2, -0,42 vs SCE	DME	DPV	[32]	*Sem aplicação
	1,9x10^{-9} molL^{-1}	BR (pH=6,1)	-0,42 vs SCE	SMDE	AdSV	[38]	*Amostras sintéticas de água de um rio
Dinosebe[c]	4,6x10^{-10} molL^{-1}	BR (pH=5,0)	-0,21, -0,36 vsAg/AgCl	HMDE	AdSV	[39]	*Sem aplicação
	3,6x10^{-10} molL^{-1}			HMDE	AdSV	[40]	*Amostras sintéticas de sumo de maçã
DNOK[b]	0,1 μgL^{-1}	BR (pH=6,1)	-0,3, -0,5 vs SCE	HMDE	AdSV	[24]	*Água residual
	1,5 μgL^{-1}	BR (pH=6,1)	-0,3, -0,5 vs SCE	DME	DPV	[32]	*Sem aplicação
	4,9x10^{-10} molL^{-1}	BR (pH=6,1)	-0,3, -0,44 vs SCE	SMDE	AdSV	[38]	*Amostras sintéticas de água de um rio

Continuação

Pesticida	Limite de detecção	Eléctrólito suporte	Potencial/V	Eléctrodo	Técnica	Ref	Aplicação
Fluroglicofen-etilo[b]	0,1-2,8 $ngmL^{-1}$			HMDE	AdSV	[36]	*Amostras sintéticas de solos
Paraoxão[a]	$1,0x10^{-8}molL^{-1}$ $1,1x10\text{-}7\ molL^{-1}$	BR(pH=3)	-0,15 vs SCE	DME DME	DPV DPV	[34] [35]	*Sem aplicação *Sem aplicação
Paratião[a]	$1,0x10^{-8}molL^{-1}$ $1,7x10^{-7}\ molL^{-1}$	BR(pH=3)	-0,15 vs SCE	DME DME	DPV DPV	[34] [35]	*Sem aplicação *Sem aplicação
PCNB[b]	$1,0x10^{-8}\ molL^{-1}$			DME	DPV	[34]	*Sem aplicação
Pendimetalina[a]	0,1-2,8 $ngmL^{-1}$			HMDE	AdSV	[36]	*Amostras sintéticas de solos
Fenitrotiona[c]	5,4 μgL^{-1}	BR(pH=6,1)	-0,47, -0,83 vs SCE	DME	DPV	[32]	*Sem aplicação
Triflurolina[a]	0,1-2,8 $ngmL^{-1}$			HMDE	AdSV	[36]	*Amostras sintéticas de solos

a - grupo das nitroanilinas; *b* - grupo de pesticidas que contêm o radical nitrofenil, *c*-grupo dos nitrofenois

3) Determinação de pesticidas do grupo organofosforados

Os pesticidas desta família podem-se dividir essencialmente em seis grupos, representados esquematicamente na Fig.1.8.

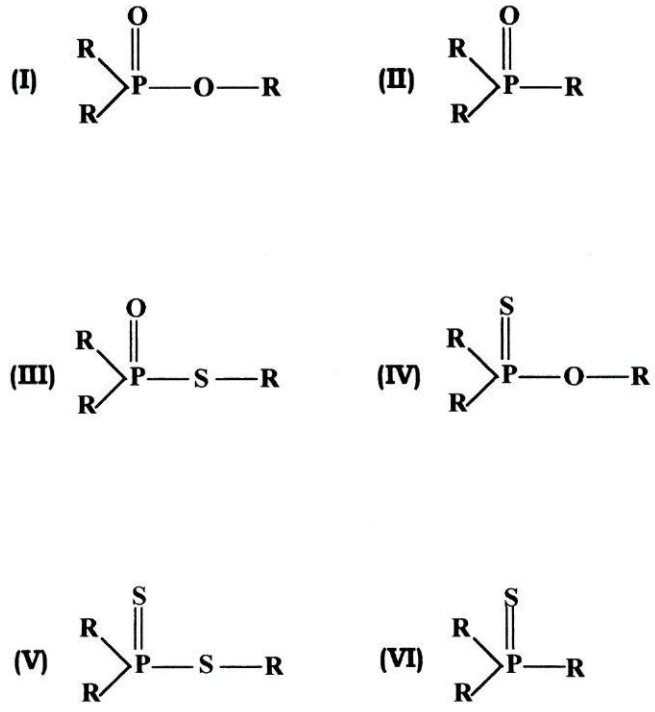


Fig.1.8 Estruturas dos seis grupos de pesticidas organofosforados.

Sabe-se que a actividade electroquímica de um composto está intimamente relacionada com a sua estrutura química. O estudo do comportamento oscilopolarográfico de um conjunto de ésteres organofosfóricos vem mais uma vez provar este facto [41].

Num outro trabalho verificou-se que os pesticidas pertencentes ao grupo (I) com ligações C=C, Fig.1.9, de que são exemplos o diclorvos, dicrotofos, clorofenvinfos, crotoxifos, são electroactivos em eléctrodos de mercúrio [42,43].

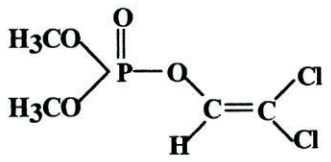


Fig.1.9 Estrutura de um dos pesticidas (diclorvos) do grupo I de organofosforados, contendo a ligação C=C.

Relativamente a pesticidas electroquimicamente inactivos, recorre-se muitas vezes à sua determinação indirecta, ou seja, à realização de reacções de degradação ou derivatização que originam produtos electroactivos. Exemplo disso é a determinação indirecta de um pesticida do grupo dos organofosforados, o glifosato, em águas naturais, após formação de um derivado nitroso, electroactivo em eléctrodo de mercúrio [44].

O estudo electroquímico de reacções de degradação de pesticidas pode também ser utilizado para monitorização da dissipação dos pesticidas no meio ambiente, como é o caso do estudo do menazão e dos seus produtos de hidrólise em eléctrodos de mercúrio [45].

A Tabela 1.8 resume os trabalhos existentes na literatura, que usam a técnica DPV para a quantificação analítica de pesticidas organofosforados em diferentes amostras.

4) Determinação dos pesticidas do grupo organoclorados

Os pesticidas pertencentes a este grupo são bem conhecidos pela sua toxicidade devido á sua capacidade de bioacumulação.

Estudos de electrólise, coulometria e polarografia de varrimento linear foram consistentes com o mecanismo de reacção que passa por uma quebra de ligação no átomo de cloro [46].

O comportamento electroquímico de alguns pesticidas pertencentes a este grupo (dieldrina, heptacloro, endosulfão e endosulfão-sulfato), que têm em comum o cicloalceno apresentado na Fig.1.10 foi largamente estudado [47-51].

Tabela 1.8 Determinação com eléctrodos de mercúrio de pesticidas do grupo dos organofosforados, utilizando a técnica de impulso diferencial.

Pesticida	Limite de detecção	Electrólito	Potencial/V	Eléctrodo	Ref	Aplicação
Clorofenvinfos	$1,0x10^{-9}$ $molL^{-1}$	BR (pH=4)	-1,08 vs Ag/AgCl	DME	[43]	*Amostras sintéticas de solos, trigo e formulações
Crotoxifos	$1,1x10^{-9}$ $molL^{-1}$	BR (pH=4)	-0,92 vs Ag/AgCl	DME	[43]	*Amostras sintéticas de solos, trigo e formulações
Diclorvos	$1,2x10^{-8}$ $molL^{-1}$	BR (pH=2)	-0,90 vs Ag/AgCl	DME	[42]	*Formulações
Dicrotofos	$1,2x10^{-9}$ $molL^{-1}$	BR (pH=4)	-1,05 vs Ag/AgCl	DME	[43]	*Amostras sintéticas de solos, trigo e formulações
Glifosato		HCl 0,1 N		DME	[44]	*Águas naturais
Menazão	$1,7x10^{-7}$ $molL^{-1}$	BR (pH=4,3)		DME	[45]	*Sem aplicação
Monocrotofos	$1,0x10^{-8}$ $molL^{-1}$	BR (pH=2)	-1,05 vs Ag/AgCl	DME	[42]	*Formulações
Fosfamidão	$1,2x10^{-8}$ $molL^{-1}$	BR (pH=2)	-0,95 vs Ag/AgCl	DME	[42]	*Formulações

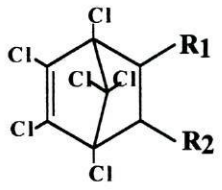


Fig.1.10 Estrutura comum à dieldrina, heptacloro e endosulfão.

Pelas razões apontadas anteriormente para as triazinas, todos estes trabalhos foram realizados em meio micelar. Foi estudada a variação do comportamento electroquímico de soluções destes pesticidas, com adição de diferentes tensioactivos, tendo-se obtido uma melhor razão, sinal/ruído, quando se adiciona uma mistura de Hyamine (tensioactivo catiónico) e Triton X-405 (tensioactivo neutro).

Do grupo de pesticidas referido, o heptacloro e o endosulfão-sulfato, dada a diferença de potenciais observada (cerca de 0,18 V vs Ag/AgCl), não são interferentes entre si. Para os restantes pesticidas, controlando experimentalmente a sua velocidade de hidrólise, foi possível a determinação conjunta em misturas de, endosulfão:dieldrina, endosulfão-sulfato:dieldrina e endosulfão:endosulfão-sulfato.

Tendo em conta que a adição de tensioactivos à solução, pode melhorar a razão sinal/ruído, foi estudada a variação do comportamento adsortivo do alacloro e dos seus produtos de reacção electroquímica, na presença de diferentes tensioactivos [46]. Verificou-se que estes compostos são adsorvidos à superfície do eléctrodo de mercúrio, em detrimento dos pesticidas e/ou produtos de reacção. Dado que na reacção de redução deste grupo de pesticidas, se forma num primeiro passo uma espécie carregada negativamente, a adsorção de um tensioactivo catiónico na superfície do eléctrodo, irá exercer um efeito electrostático atractivo da espécie formada, favorecendo assim a reacção de redução do alacloro. Por outro lado a adsorção de um tensioactivo neutro previne a adsorção dos pesticidas ou dos produtos formados, exercendo um efeito inibidor. No que diz respeito a tensioactivos aniónicos, estes são completamente desadsorvidos aquando da aplicação de um potencial negativo para redução do pesticida, não tendo assim qualquer efeito no processo de eléctrodo.

A análise em conjunto dos pesticidas organoclorados, p,p'-DDT e dieldrina com o mesmo comportamento electroquímico, foi possível

adicionando Fe(II) a soluções destes compostos [52]. Foi verificado que só no caso da dieldrina se formava um complexo metálico, também este electroactivo em eléctrodo de mercúrio, mas com potencial distinto do p,p'-DDT. A interacção selectiva de Fe(II) pode ser explicada, pelo facto da dieldrina conter na sua estrutura química um grupo epóxido e uma ligação C=C , ausentes no p,p´-DDT.

Na Tabela 1.9 apresenta-se o resumo dos trabalhos existentes para a determinação de pesticidas organoclorados. Num destes trabalho [53], foi correlacionada a estrutura química de um conjunto de pesticidas organoclorados com os respectivos limites de detecção. Verificou-se que para compostos contendo o grupo aromático se obtém valores de limites de detecção mais baixos.

5) Determinação dos pesticidas do grupo das sulfonilureias

As sulfonilureias fazem parte do grupo de herbicidas menos perigosos, devido à sua baixa toxicidade para os mamíferos, pela sua selectividade relativamente às infestantes e pela baixa dosagem habitualmente aplicada [54].

A sua estrutura química é composta por três partes distintas: um grupo arilo, uma ponte sulfonilureia e um anel heterocíclico contendo azoto. Um exemplo de um herbicida da família das sulfonilureias, é o clorosulfurão, cuja fórmula de estrutura está representada na Fig.1.11.

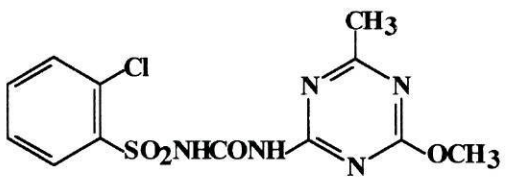


Fig.1.11 Estrutura do clorosulfurão.

Existem muito poucos trabalhos que usam métodos electroquímicos para a determinação das sulfonilureias. Apenas podemos referir um trabalho que usa a técnica de impulso diferencial para determinação do clorosulfurão, metasulfurão-metilo, DPX-M6316 e clorimurão-etilo [54]

Tabela 1.9 Determinação com eléctrodos de mercúrio de pesticidas do grupo dos organoclorados, utilizando a técnica de impulso diferencial.

Pesticida	Limite de detecção	Electrólito	Potencial	Eléctrodo	Ref	Aplicação
Alacloro	$1,0x10^{-7}$ molL^{-1}	Meio micelar, em tampão fosfato (pH=7)	-1,30 vs SCE	SMDE	[46]	*Sem aplicação
p,p'-DDT	___	TBAB[a] 1molL^{-1}	-0,63 vs Ag/AgCl	DME	[53]	*Amostras sintéticas de água
o,p'-DDT	___	TBAB[a] 1molL^{-1}	-0,83 vs Ag/AgCl	DME	[53]	*Amostras sintéticas de água
Dieldrina	$2,9x10^{-7}$ molL^{-1}	Meio micelar, em tampão fosfato (pH=7)	-0,91 vs Ag/AgCl	DME	[47]	*Sem aplicação
	$3,6x10^{-7}$ molL^{-1}			DME	[49]	*Maçãs
	$3,6x10^{-7}$ molL^{-1}			DME	[50]	*Sem aplicação
	___	TBAB 1molL^{-1}	-1,77 vs Ag/AgCl	DME	[53]	*Amostras sintéticas de água
Endosulfão	$2,9x10^{-7}$ molL^{-1}	Meio micelar, em tampão fosfato (pH=7)	-0,83 vs Ag/AgCl	DME	[47]	*Sem aplicação
	$3,0x10^{-7}$ molL^{-1}			DME	[50]	*Sem aplicação
	$3,0x10^{-7}$ molL^{-1}			DME	[49]	*Maçãs
Endosulfão-sulfato	$2,7x10^{-7}$ molL^{-1}	Meio micelar, em tampão fosfato (pH=7)	-0,92 vs Ag/AgCl	DME	[47]	*Sem aplicação
	$2,0x10^{-7}$ molL^{-1}			DME	[49]	*Maçãs
	$2,0x10^{-7}$ molL^{-1}			DME	[50]	*Sem aplicação
Endrina	___	TBAB[a] 1molL^{-1}	-1,73 vs Ag/AgCl	DME	[53]	*Amostras sintéticas de água
α-HCH	___	TBAB[a] 1molL^{-1}	-1,83 vs Ag/AgCl	DME	[53]	*Amostras sintéticas de água
β-HCH	___	TBAB[a] 1molL^{-1}	-1,90 vs Ag/AgCl	DME	[53]	*Amostras sintéticas de água
γ-HCH	___	TBAB[a] 1molL^{-1}	-1,23 vs Ag/AgCl	DME	[53]	*Amostras sintéticas de água
Heptacloro	$1,0x10^{-7}$ molL^{-1}	Meio micelar, em tampão fosfato (pH=7)	-1,10 vs Ag/AgCl	DME	[50]	*Sem aplicação
	$2,2x10^{-7}$ molL^{-1}			DME	[49]	*Maçãs

a) TBAB solução de 0,1molL^{-1} de brometo de tetrabutilamónio, dissolvido numa solução com 40% etanol, 20% de dimetilformamida e 40% água

6) Determinação de pesticidas contendo o grupo do amónio quaternário

Os pesticidas da família dos sais de amónio quaternário foram intitulados "viologénios", V_L. A sua fórmula de estrutura está representada na Fig. 1.12.

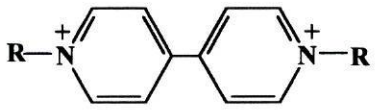


Fig. 1.12 Estrutura dos Viologénios.

Estudos polarográficos foram realizados e proposto o mecanismo de redução em eléctrodo de mercúrio (eq 1.1) [55-58]:

$$V_L^{2+} \overset{+e}{\rightleftharpoons} V_L^{\cdot +} \overset{+e}{\rightleftharpoons} V_L \qquad \text{(eq 1.1)}$$

Verificou-se que não só aparecem os dois picos correspondentes aos dois passos de transferência electrónica, mas também aparecem outros dois, correspondentes à redução dos catiões V_L^{2+} e V_L^{+} adsorvidos na superfície do eléctrodo.

Nem todos os pesticidas desta família são electroactivos. A condição necessária mas não suficiente, para que estes compostos sejam electroactivos em eléctrodos de mercúrio, é a coplanaridade dos dois anéis heterocíclicos, dado que deste modo se facilita a formação do catião radicalar. Sabendo que a actividade biológica destes compostos é medida pela extensão da formação deste catião, parece provável que a redução electroquímica destes herbicidas em eléctrodos de mercúrio, possa ser usada como modelo para monitorizar os processos que ocorrem nas plantas [57].

Deste grupo de pesticidas, o paraquato e o diquato, são os mais usados como herbicidas selectivos de contacto. Estes dois compostos são usualmente chamados de "metilviologénios", devido ao facto de quando reduzidos darem origem a um radical estável de cor violeta ou azul, podendo assim ser usados como indicadores, por exemplo, de titulações volumétricas de oxidação/redução. Os trabalhos existentes na literatura para quantificação destes pesticidas estão referidos na Tabela 1.10.

7) Determinação de pesticidas do grupo dos carbamatos e tiocarbamatos

Os complexos metálicos dos ditiocarbamatos são muito usados como pesticidas. Através de estudos polarográficos, foi possível determinar para alguns destes compostos, a razão estequiométrica do complexo metal ditiocarbamato e estudar cinéticamente a sua decomposição em meio ácido [61].

Tal como se referiu e pelas razões já apontadas anteriormente, as metodologias electroquímicas desenvolvidas para determinação de alguns pesticidas, necessitam num primeiro passo de uma prévia reacção de hidrólise ou de derivatização. Mais um exemplo deste caso é a reacção de nitração seguida de hidrólise do carbaril, neste trabalho, utilizaram-se outras técnicas como NMR e TLC para caracterização dos produtos formados [62].

Ainda devido ao facto do carbaril não ser electroactivo em eléctrodos de mercúrio, foi desenvolvida uma outra metodologia, que se baseia na sua determinação indirecta por prévia reacção de oxidação coulométrica [63].

Os trabalhos encontrados na literatura, referentes à determinação electroquímica de carbamatos e tiocarbamatos em eléctrodos de mercúrio estão apresentados na Tabela 1.11.

1.3.4.2 Eléctrodos sólidos

São poucos os trabalhos que utilizam eléctrodos sólidos, para estudar o comportamento electroquímico de pesticidas directamente na sua superfície.

Os materiais mais usados na construção de eléctrodos sólidos são o carbono, platina, ouro e prata. De entre os eléctrodos de carbono (fibras de

Tabela 1.10 Determinação com eléctrodos de mercúrio, de pesticidas do grupo dos sais quaternários de amónio.

Pesticida	Limite de detecção	Electrólito	Potencial/V	Eléctrodo	Técnica	Ref	Aplicação
Diquato	1 μgg^{-1}	H_2SO_4/NaOH (pH=5,6)	-0,59 vs Ag/AgCl	SMDE	SWV	[58]	*Batatas
Paraquato	1 μgg^{-1}	NaCl 0,05 M	-0,50 vs Ag/AgCl	SMDE	SWV	[58]	*Batatas
	$5,1x10^{-8}$ $molL^{-1}$	BR (pH=2,0)	-0,93 vs SCE	DME	DPV	[59]	*Formulações
	0,05 μgL^{-1}	NH_4Cl (pH=8)	-0,69 vs SCE	DME	DPV	[60]	*Urina e soro

Tabela 1.11 Determinação com eléctrodos de mercúrio de pesticidas do grupo dos tiocarbamatos e carbamatos.

Pesticida	Limite de detecção	Eléctrodo	Técnica	Ref	Aplicação
Carbaril	0,41 mgL^{-1}	HMDE	DPV	[63]	*Água natural
	0,47 $mgKg^{-1}$	HMDE	DPV	[63]	*Solo
	5 μgL^{-1}	HMDE	AdSV	[63]	*Água natural
	7μgKg^{-1}	HMDE	AdSV	[63]	*Solo
Tirame	10^{-8} $molL^{-1}$	DME	AdSV	[64]	*Sem aplicação

carbono, carbono negro, várias formas de grafite e pasta de carbono) o mais frequente é o de carbono vítreo [9].

Utilizando eléctrodos de carbono vítreo, foi estudada a oxidação de treze carbamatos, encontrando apenas quatro, pirimicarbo, metiocarbo, aminocarbo e zetrame com actividade electroquímica. Neste trabalho a variação dos potenciais de pico com o pH da solução e a análise dos voltamogramas, permitiram estabelecer um mecanismo de reacção que envolve a formação de um radical catiónico. Atendendo aos potenciais de oxidação, foi proposta uma metodologia analítica para a quantificação de aminocarbo e zetrame, usando a voltametria de impulso diferencial, sendo o limite de detecção estimado de 30 μgL^{-1} [65].

Mais tarde, num outro trabalho e aplicando também a voltametria de impulso diferencial, foi estudado o mecanismo de oxidação electroquimica de outros quatro pesticidas da família dos carbamatos, o fenurão, diurão, clorotolurão e fluometurão. Os autores concluíram igualmente, que na oxidação destes compostos se forma um radical que pode posteriormente dimerizar [66].

Posteriormente a voltametria de impulso diferencial foi também utilizada para o doseamento de outros dois carbamatos, carbaril e carbofurão, em formulações fitofarmacêuticas, após ocorrência de hidrólise alcalina com formação de derivados fenólicos [67].

A oxidação de dois carbamatos, o profam e cloroprofam e nove ureias , o molinurão, linurão, clorobromurão, metabromurão, fenurão, diurão, clorotolurão e cloroxurão foi estudada em eléctrodos de carbono vítreo. Foi feita a quantificação destes herbicidas num sistema de injecção em fluxo contínuo, utilizando o detector amperométrico de jacto impingente (wall-jet) com e sem separação por HPLC [68].

Num outro trabalho, a determinação de seis carbamatos foi realizada por prévia reacção de hidrólise destes compostos, usando igualmente a técnica de HPLC com detector amperométrico, sendo também neste caso o eléctrodo de trabalho, de carbono vítreo [69].

Usando eléctrodos de platina, foi possível determinar o sulfometurão-metilo por redução, após derivatização [70].

A superfície dos eléctrodos sólidos convencionais tem tido recentemente uma ampla aplicação como suporte para a preparação de eléctrodos modificados. A preparação destes novos eléctrodos tem por objectivo aumentar a sensibilidade e selectividade, catalizar reacções que não ocorrem directamente na superfície dos eléctrodos sólidos, ou ainda contribuir para a ocorrência de fenómenos de adsorção, facilitando a pré-concentração dos compostos que se visam determinar [9,71].

Uma compilação dos trabalhos desenvolvidos que utilizam eléctrodos modificados quimicamente para a análise de pesticidas está apresentada na Tabela 1.12.

Para estudar o comportamento electroquímico de herbicidas e reguladores de crescimento pertencente à família de compostos quaternários de amónio, foi preparado um eléctrodo, intercalando um polímero de troca iónica entre a superfície de carbono e uma membrana de diálise [72].

Compósitos de grafite e politetrafluoroetileno foram preparados e usados na construção de eléctrodos modificados. Estudos por voltametria linear, da oxidação de herbicidas da família dos carbamatos (tirame e disulfirame), usando estes eléctrodos, confirmaram as vantagens da sua utilização e permitiram dosear os herbicidas em amostras de morangos contaminados [73]. Com os mesmos eléctrodos foi possível desenvolver um sistema de fluxo recorrendo à amperometria como técnica de detecção [74].

Para determinar o paraquato em águas fluviais, foi utilizado um eléctrodo composto por pasta de grafite e resina Amberlite XAD-2, conseguindo-se limites de detecção de 0,10 $\mu g\ mL^{-1}$ [75].

As vantagens e características de eléctrodos de carbono vítreo com filme de mercúrio (MFE) são bem conhecidas na determinação de metais, no entanto encontram-se muito menor número de trabalhos, para a determinação de compostos orgânicos. Duas aplicações usando este tipo de eléctrodos são, a determinação de triazinas em amostras ambientais, utilizando a técnica de HPLC com detector electroquímico [19] e o doseamento do dinoseb em amostras contaminadas de sumo de maçã, utilizando voltametria de redissolução [76].

Existe ainda um grande número de trabalhos na área dos biosensores, em que se modifica primeiro a superfície do eléctrodo químicamente e em

Tabela 1.12 Determinação de pesticidas com eléctrodos modificados quimicamente.

Pesticida	Limite de detecção	Electrólito	Potencial/V	Eléctrodo	Técnica	Ref	Aplicação
Atrazina *Prometrina* *Simazina*		KCl (pH=2,2)	-0,8 vs SCE	Eléctrodo de carbono com filme de mercúrio	DPV	[19]	
Pesticidas da família dos compostos de amónio				Polímero de troca iónica imobilizado entre a superfície do eléctrodo de carbono vítreo e uma membrana de diálise	CV SQW	[72]	
Dinosebe	$1,1x10^{-10}$ $molL^{-1}$	Tampão acetato (pH=5)	-0,2 Ag/AgCl	Eléctrodo de carbono vítreo com filme de mercúrio	AdsV	[76]	*Sumo de maçã contaminado
Tirame	$5,4x10^{-8}$ $molL^{-1}$		-0,7 vs SCE		LSV	[73]	*Morangos contaminados
	$4,3x10^{-8}$ $molL^{-1}$	Tampão fosfato (pH=3,4)	+1,0 vs Ag/AgCl	Eléctrodo composto por uma mistura de grafite e PTFE	Amperometria	[74]	*Água
Disulfirame	$2,0x10^{-8}$ $molL^{-1}$		-0,7 vs SCE		LSV	[73]	*Morangos contaminados
	$2,0x10^{-8}$ $molL^{-1}$		+1,0 vs Ag/AgCl		Amperometria	[74]	*Água
Paraquato	0,1μg/L	Tampão fosfato (pH=7)	-0,7, -0,9 vs Ag/AgCl	Eléctrodo composto por grafite e resina Amberlite XAD-2	AdsV	[75]	

PTFE- Poli(tetrafuoroetileno); Fe(III)TPPCl-5,10,15,20-tetrafenilporfirina de ferro

seguida se imobiliza um material biológico, específico para a detecção do pesticida [77,78].

Os biosensores electroquímicos dividem-se essencialmente em três grupos: imunosensores, sensores celulares e sensores enzimáticos.

Os imunosensores são baseados na reacção anticorpo (AC)-antigénio (AG). A sua constituição é baseada na imobilização do anticorpo ou do hapteno do antigénio [78], na superfície do eléctrodo. Existem no entanto poucos trabalhos relativos ao desenvolvimento de imunosensores para doseamento de pesticidas, isto porque usualmente a interacção antigénio-anticorpo não pode ser convertida num sinal eléctrico quantificável e além disso é necessário regenerar frequentemente a superfície do eléctrodo [77].

No que diz respeito a sensores celulares, numa maioria aplicam-se na determinação de herbicidas cuja acção é inibir a transferência de electrões no processo de fotossíntese ou inibir a fosforilação [78].

No entanto foi o desenvolvimento de técnicas de imobilização de enzimas, ou seja, construção de sensores enzimáticos, que contribuiu substancialmente para o crescimento da aplicação de biosensores na determinação vestigial de pesticidas nos vários tipos de amostras. Os biosensores baseados na imobilização de colinesterase (ChE), têm sido os mais usados na detecção de pesticidas [78].

Na análise ambiental, o principal objectivo deste tipo de biosensores é a sua utilização *in situ*. No entanto, a complexidade das matrizes a analisar e a reduzida selectividade destes sensores, são factores que explicam a dificuldade da sua aplicação no controlo ambiental [77].

Na Tabela 1.13 são referidos os trabalhos existentes na literatura, cujo objectivo foi desenvolver biosensores electroquímicos.

Tabela 1.13 Determinação de pesticidas do grupo dos carbamatos e organofosfatos, com biosensores electroquímicos.

Limite de detecção	Electrólito	Potencial/V	Eléctrodo	Técnica	Ref	Aplicação
0,3 – 80 mgL^{-1}	Tampão fosfato (pH=7,3)	+0,4 vs Ag/AgCl	Eléctrodo composto por pasta de carbono e ftalocianina de cobalto e com enzima colinesterase imobilizada	Amperometria	[79]	
0,30 - 11 $nmolL^{-1}$	Tampão fosfato (pH=7,3)	+0,2 vs Ag/AgCl		Amperometria	[80]	
Entre 1,0 x 10-7 e 4,0 x 10-7 $molL^{-1}$	Tampão fosfato (pH=7,0)	+0,2 vs Ag/AgCl	Eléctrodo de platina com imobilização da enzima colinesterase	Amperometria	[81]	*Àgua e frutos
2,2 - 22 μgL^{-1}	Tampão fosfato (pH=7,0)	+0,7 vs Ag/AgCl	Eléctrodo composto por pó de grafite, resina epoxi e enzima colinesterase imobilização da enzima colinesterase	Amperometria	[82]	*Água
Entre 0,01 - 0,05 μgL^{-1}		+0,4 vs Ag/AgCl	Eléctrodo de platina isolado com tubo PTFE e modificado por PVA-SbQ(8%) com enzima colisnetrerase imobilizada	Amperometria	[83]	*Água

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

2.1 INTRODUÇÃO

Neste capítulo, faz-se uma descrição detalhada, dos materiais e métodos comuns aos diferentes trabalhos descritos na dissertação, podendo dividir-se essencialmente em três partes.

A primeira parte é referente ao procedimento geral dos métodos electroquímicos desenvolvidos para detecção e quando possível doseamento em produtos fitofarmacêuticos de herbicidas tais como: bentazona, MCPA, molinato, tiobencarbe, mefenaceto, bensulfurão-metilo, propanil e o oxadiazão.

A segunda parte descreve os métodos de comparação existentes na literatura e usados neste trabalho para avaliação da exatidão, relativa aos métodos electroquímicos desenvolvidos para doseamento destes pesticidas em produtos fitofarmacêuticos.

Na terceira e última parte, e dado ter sido observada uma reacção química em solução do oxadiazão, apresenta-se o procedimento experimental da hidrólise alcalina deste herbicida bem como a caracterização dos produtos formados o Oxa1 e Oxa2. Na tentativa de esclarecer o mecanismo de oxidação do propanil descreve-se também a síntese da difenilacetamida e acetanilida, compostos que tal como o propanil pertencem ao grupo das *N*-fenilamidas. Por fim apresentam-se as condições experimentais necessárias para hidrólise do propanil.

2.2 ELÉCTRODOS E CÉLULA ELECTROQUÍMICA

A célula electroquímica usada para as determinações voltamétricas (Fig. 2.1), montada num suporte da Metrohm modelo 663VA, era de vidro, de um só compartimento e continha três eléctrodos da marca Metrohm: i) eléctrodo de trabalho de carbono vítreo de diâmetro 3mm (6.1204.000); ii) eléctrodo de referência de Ag/AgCl (6.0728.000) e iii) eléctrodo auxiliar de carbono vítreo de diâmetro 2mm (6.1247.000).

A limpeza mecânica da superfície do eléctrodo de trabalho foi efectuada realizando um polimento desta, numa superfície abrasiva da marca Metrohm (6.2820.010), primeiro com água e alumina de 0,3 μm de tamanho de

partícula e em seguida apenas com água. Por fim a superfície do eléctrodo foi lavada com água desionizada e seca.

Fig. 2.1 Célula electroquímica.

Depois da limpeza mecânica o eléctrodo de carbono vítreo foi condicionado electroquímicamente. O condicionamento do eléctrodo foi realizado no início de cada calibração não sendo contudo suficiente para os herbicidas, molinato, tiobencarbe, bensulfurão-metilo e mefenaceto em que foi necessário condicionar o eléctrodo antes de cada varrimento.

A Tabela 2.1 resume as condições experimentais do condicionamento do eléctrodo para cada conjunto de pesticidas, cuja possibilidade de doseamento se estudou.

Tabela 2.1 Condições experimentais do condicionamento electroquímico do eléctrodo de carbono vítreo, para cada grupo de herbicidas estudado.

Grupo de herbicidas	**Potencial negativo /tempo de aplicação**	**Potencial positivo /tempo de aplicação**	**Electrólito usado**
Bentazona MCPA	-1,0 V / 60 s	+1,0 V / 60 s	Tampão CH_3COOH/CH_3COONa pH=3,4 [a]
Molinato Tiobencarbe, Bensulfurom-methyl, Mefenaceto	-1,5 V / 1 s	———	*Tampão Universal pH=1,9 [b]
Oxadiazão e produtos de hidrólise Oxa1 e Oxa2	-1,5 V / 30 s	+1,6 V / 30 s	Tampão KCl /NaOH pH=12,8 [a]
Propanil e amidas N-substituídas	-1,1 V / 60 s	+1,0 V / 60 s	Tampão Universal* pH=8,0 [b]

(a) ver Tabela 2.2, (b)ver Tabela 2.3, *Tampão universal também designado por tampão Britton-Robinson

Relativamente a medições voltamétricas em soluções deuteradas, utilizou-se uma mini-célula electroquímica da marca Cypress [CL008] de volume máximo de 0,5 mL, que permitia efectuar leituras sobre pequenos volumes de solução. Era constituída por três eléctrodos da mesma marca: i) microeléctrodo de trabalho de carbono vítreo de diâmetro 10 μm (EE017); ii) eléctrodo de referência de Ag/AgCl (EE008) e iii) eléctrodo auxiliar de platina (EE011).

Neste caso a limpeza mecânica do microeléctrodo de carbono vítreo foi feita por polimento numa superfície abrasiva (Kemet, PSU8 type) previamente pulverizada com spray Kemet (1μm). Depois de polido o eléctrodo foi limpo com água desionizada.

2.3 PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES DE ELECTRÓLITO

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de qualidade p.a ou semelhante e com água de elevada pureza, obtida a partir de sistemas Milipore Mili-Q (condutividade< 0,1 μScm^{-1}).

Para o estudo dos herbicidas, bentazona, MCPA e oxadiazão, usaram-se soluções tamponadas de electrólito suporte preparadas de acordo com a Tabela 2.2 [84].

Tabela 2.2 Soluções de electrólito suporte.

Soluções tampão (diluições para 100,0 mL)			**pH**
0,2 $molL^{-1}$ KCl (25,0 mL)	+	0,2 $molL^{-1}$ HCl (42,5 mL)	1,2
0,2 $molL^{-1}$ KCl (25,0 mL	+	0,2 $molL^{-1}$ HCl (6,5 mL)	2,0
0,2 $molL^{-1}$ CH_3COONa (3,7 mL)	+	0,2 $molL^{-1}$ CH_3COOH (46,3 mL)	3,4
0,2 $molL^{-1}$ CH_3COONa (13,2 mL)	+	0,2 $molL^{-1}$ CH_3COOH (36,8 mL)	4,5
0,2 $molL^{-1}$ CH_3COONa (41,2 mL)	+	0,2 $molL^{-1}$ CH_3COOH (8,8 mL)	5,4
0,2 $molL^{-1}$ Na_2HPO_4 (30,5 mL)	+	0,2 $molL^{-1}$ NaH_2PO_4 (19,5 mL)	6,9
0,2 $molL^{-1}$ Na_2HPO_4 (47,4 mL)	+	0,2 $molL^{-1}$ NaH_2PO_4 (2,7 mL)	8,1
0,2 $molL^{-1}$ $Na_2B_4O_7$ (50,0 mL)	+	0,2 $molL^{-1}$ NaOH (3,0 mL)	9,3
0,2 $molL^{-1}$ KCl (25,0 mL)	+	0,2 $molL^{-1}$ NaOH (6,0 mL)	12,1
0,2 $molL^{-1}$ KCl (25,0 mL)	+	0,2 $molL^{-1}$ NaOH (42,0 mL)	12,8

Para os restantes herbicidas usou-se o tampão Britton-Robinson de força iónica 0,3 $molL^{-1}$ [85] que foi preparado por adição de NaOH 0,80 $molL^{-1}$ e KNO_3 1,34 $molL^{-1}$ a 25,00 mL de uma solução ácida (ácido acético 0,16 $molL^{-1}$ + ácido fosfórico 0,16 $molL^{-1}$ + ácido bórico 0,16 $molL^{-1}$), seguida de diluição para 100,00 mL (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 Preparação de elétrólitos de suporte do tampão universal [85].

25,00 mL da mistura ácida	**+**	
V_{NaOH} (mL)	**V_{KCl} (mL)**	**pH**
0,00	21,14	1,90
0,05	21,02	1,95
1,00	20,89	2,02
1,50	20,89	2,11
2,00	20,59	2,18
2,50	20,42	2,27
3,00	20,23	2,40
3,50	20,03	2,53
4,00	19,82	2,74
4,50	19,60	3,04
5,00	19,35	3,38
5,50	19,07	3,81
6,00	18,78	4,06
6,50	18,48	4,27
7,00	18,18	4,43
7,50	17,87	4,58
8,00	17,57	4,76
8,50	17,25	4,90
9,00	16,93	5,11
9,50	16,58	5,30
10,00	16,18	5,57
10,50	15,69	5,79
11,00	15,14	6,10
11,50	14,58	6,28
12,00	14,00	6,46
12,50	13,41	6,66
13,00	12,83	6,79
13,50	12,25	7,00
14,00	11,68	7,17
14,50	11,13	7,47
15,00	10,63	7,75
15,50	10,23	8,19
16,00	9,89	8,46
16,50	9,57	8,73
17,00	9,26	8,90
17,50	8,95	9,04
18,00	8,64	9,25
18,50	8,32	9,48
19,00	8,00	9,63
19,50	7,65	9,94
20,50	6,58	10,65
21,00	5,88	10,89
21,50	5,16	11,17
22,00	4,45	11,26
22,50	3,74	11,42
23,00	3,06	11,53
23,50	2,39	11,66
24,00	1,73	11,71
24,50	1,10	11,86
25,00	0,47	11,91

2.4 EQUIPAMENTO

As determinações voltamétricas foram efectuadas num potenciostato da marca Ecochimie/Autolab, Netherlands, modelo PSTAT 10 com um sistema de aquisição e tratamento de dados GPES3, acoplado a um sistema de eléctrodos da marca Metrohm, modelo 663VA (Fig.2.2).

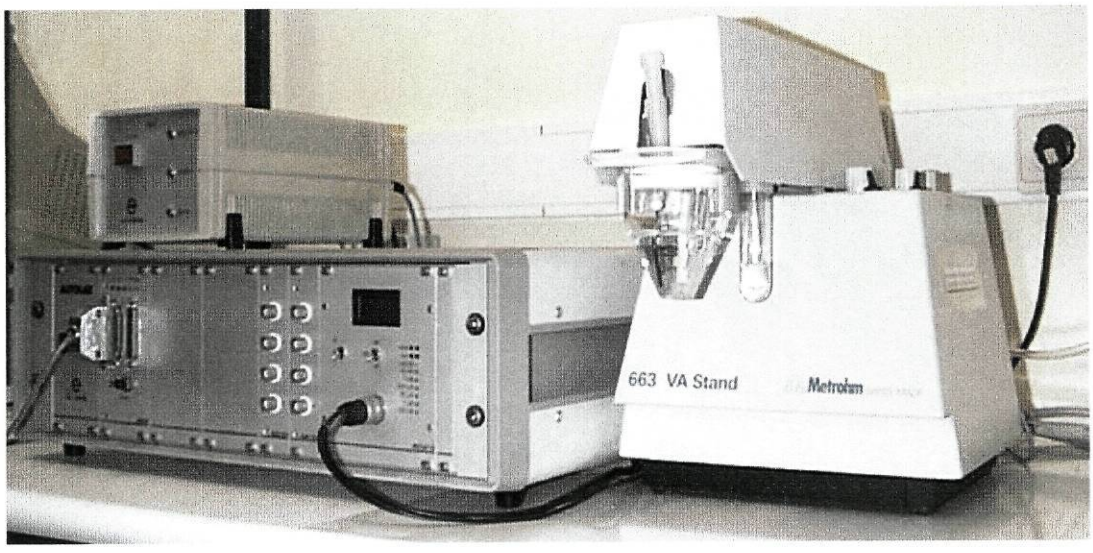


Fig.2.2 Equipamento usado nas medições voltamétricas.

No caso de medições em soluções deuteradas o sistema de detecção que continha a célula electroquímica encontrava-se protegido por uma gaiola de Faraday da marca Cypress.

As medições de pH foram realizadas num potenciómetro da marca Metrohm modelo E520, usando um eléctrodo de vidro combinado da mesma marca (6.0202.0009).

Para facilitar a dissolução dos compostos, usou-se um banho ultra-sons (50 Hz) da marca P-selecta.

No método de comparação usado na determinação da bentazona, proposto pela AOAC [86], usou-se um cromatógrafo de fase líquida de marca Sykan System modelo A1210, com um sistema de tratamento de dados Data Station P200-P, versão 2.2.6 e equipado com uma bomba isocrática, um volume de injecção de 20 μL e um detector espectrofotométrico UV, de comprimento de onda variável. A coluna usada foi da marca Technopack C18 (10μm) de dimensão 250 x 2 mm.

Na determinação do molinato pelo método proposto pela AOAC [87], usou-se um cromatógrafo de fase gasosa de marca Chrompack modelo CP9000 equipado com detector de ionização de chama. A coluna de empacotamento da marca Chrompack foi uma OV-17 de 3% de silicone, 60-80 mesh e de dimensões 1,8m x 4 mm SS.

Na determinação dos pontos de fusão foi usado um microscópio de Kofler da marca Precision.

Para traçar os espectros de infravermelho recorreu-se a um espectómetro FTIR, marca ATI Mattson modelo Genesis. Utilizaram-se pastilhas de brometo de potássio (Uvasol, Merck) contendo aproximadamente 1% de amostra. Somente foram registadas as bandas de adsorção mais significativas.

As determinações que envolvem o uso de NMR foram realizadas à temperatura ambiente, num espectómetro de marca Brucker modelo AMX300 de 300,13 e 75,47 MHz e usou-se como solvente o dimetilsulfóxido. Na elucidação estrutural de alguns compostos obtiveram-se dados de ^{13}C de sequência DEPT (Distortionless Enchancement by Polarization Transfer), os valores de δ obtidos por este método estão incluídos nos dados de ^{13}C dos compostos (valores de δ sublinhados). Os desvios químicos expressos em δ (ppm), eram relativos ao tetrametilsilano (TMS) usado como referência interna.

Os espectros de massa (EI-MS) foram realizados num aparelho da marca VG Autospec .

Na cromatografia de camada fina (TLC) foram usadas placas pré-revestidas de gele de silica 60 F254 (Merck) e tinham uma espessura de 0,2 mm. Os eluentes usados foram éter de petróleo/éter etílico (5:5 v/v), clorofórmio/metanol (8:2 v/v), tetracloreto de carbono, acetona e éter etílico /acetato de etilo (5:5 v/v). As manchas eram visualizadas através de detecção na região de UV a 254 nm e em vapor de iodo. A purificação dos compostos foi feita por cromatografia em coluna (CC) usando como fase estacionária gele de silica 60 (0,2-0,5 mm, Merck)) e como eluente uma mistura de éter de petróleo/éter etílico (7:3 v/v).

Na cromatografia preparativa de camada fina (PTLC) usaram-se placas cromatográficas preparadas com gele de silica F254 (Merck) e como eluente uma mistura de éter de petróleo/éter etílico (5:5 v/v) e tetracloreto de carbono.

Os solventes foram evaporados com auxilio de pressão reduzida, usando um evaporador rotativo da marca Bucki.

2.5 MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS

2.5.1 Preparação de padrões

As soluções padrão de pesticida foram preparadas por pesagem rigorosa da substância pura e dissolução no solvente mais adequado, de acordo com a sua solubilidade. Na Tabela 2.4 apresentam-se os solventes seleccionados bem como as concentrações das soluções padrão de concentração mais elevada para cada um dos herbicidas.

Tabela 2.4 Concentração das soluções padrão para cada herbicida.

Herbicida	**Solvente**	**Concentração ($molL^{-1}$)**
Bentazona	Etanol	$9{,}30 \times 10^{-3}$
MCPA	Etanol	$9{,}85 \times 10^{-3}$
Molinato	Acetonitrilo	$5{,}22 \times 10^{-2}$
Tiobencarbe	Acetonitrilo	$1{,}20 \times 10^{-2}$
Bensulfurão-metilo	Acetonitrilo	$5{,}17 \times 10^{-3}$
Mefenaceto	Acetonitrilo	$5{,}67 \times 10^{-3}$
Oxadiazão	Etanol	$7{,}11 \times 10^{-3}$
Propanil	Etanol	$1{,}24 \times 10^{-2}$
Fenacetin	Etanol	$1{,}00 \times 10^{-2}$
Acetanilida	Etanol	$1{,}02 \times 10^{-2}$
Difenilacetamida	Etanol	$1{,}04 \times 10^{-2}$

As soluções usadas para os estudos voltamétricos foram preparadas na célula electroquímica por diluição da respectiva solução padrão. À excepção do oxadiazão em que a uma mistura de 25,00 mL de electrólito de KCl/NaOH com pH=12,8 (Tabela 2.2) e 10,00 mL de etanol, foi adicionado 5,00 mL de solução padrão concentrada, sendo a concentração da solução resultante de 9×10^{-4} $molL^{-1}$. Para hidrólise completa deste herbicida, esta solução foi deixada em repouso durante 2 horas e 30 minutos à temperatura ambiente e em

seguida foram preparadas as soluções necessárias para os estudos voltamétricos.

A Tabela 2.5 resume as diferentes concentrações de soluções de herbicida usados em cada técnica voltamétrica e o pH da solução final.

Tabela 2.5 Concentrações das soluções de herbicidas usadas em cada uma das técnicas.

Substância	**Técnica**	**Concentração molL^{-1}**	**pH**	**% v/v de solvente orgânico**
Bentazona	DPV	$2x10^{-5}$	[1,2-12,8][a]	_____
	CV	$1x10^{-4}$	3,4	
	SWV	$2x10^{-5}$	3,4	
MCPA	DPV	$1x10^{-4}$	[1,2-12,8][a]	_____
	CV	$6x10^{-4}$	3,4	
	SWV	$6x10^{-4}$	3,4	
Molinato	DPV	$9x10^{-4}$	[1,9-11,9][b]	_____
	CV	$2x10^{-3}$	1,9	
	SWV	$1x10^{-3}$	1,9	
Tiobencarbe	DPV	$5x10^{-4}$	[1,9-11,9][b]	16% de acetonitrilo
	CV	$4x10^{-4}$	1,9	
	SWV	$4x10^{-4}$	1,9	
Mefenaceto	DPV	$4x10^{-5}$	[1,9-11,9][b]	_____
	CV	$7x10^{-5}$	1,9	
	SWV	$7x10^{-5}$	1,9	
Bensulfurão-metilo	DPV	_____	_____	_____
	CV	$2x10^{-4}$	12,1[b]	
	SWV	$9x10^{-5}$	12,1[b]	46% de acetonitrilo
Propanil	DPV	$2x10^{-4}$	[1,9-11,9][b]	_____
	CV	$1x10^{-3}$	8,0	
	SWV	$5x10^{-4}$	8,0	
Fenacetina *Acetanilida* *Difenilacetamida*	DPV	$2x10^{-4}$	[1,9-11,9][b]	_____
	SWV	$2x10^{-3}$	8,0	
Produtos de hidrólise do oxadiazão *Oxa1 e Oxa2*	CV	*Oxa1*- $1x10^{-4}$ *Oxa2*- $2x10^{-4}$	12,8[a]	29% de etanol
	SWV	*Oxa1*- $1x10^{-4}$ *Oxa2*- $2x10^{-4}$	12,8[a]	

[a] ver Tabela 2.2, [b] ver Tabela 2.3

A adição, de solventes orgânicos teve como objectivo garantir a dissolução completa dos herbicidas.

Todas as soluções foram guardadas ao abrigo da luz e no frigorífico.

Para o estudo da reacção de hidrólise de Oxa1 (um dos produtos da reacção de hidrólise alcalina do oxadiazão) por voltametria de onda quadrada, pesou-se rigorosamente 0,0421 mg de Oxa1 puro e dissolveu-se numa mistura de 25,00 mL de eletrólito KCl/NaOH com pH=12,8 e 20,00 mL de etanol.

Na Tabela 2.6 está representado o intervalo de concentrações, das soluções usadas para estabelecer as curvas de calibração.

Tabela 2.6 Intervalo de concentração das soluções de herbicidas usadas para efectuar curvas de calibração.

Substância	**Intervalo de concentrações ($molL^{-1}$)**
Bentazona	$[1,5 - 2,3x10^{-5}]$
MCPA	$[1,6 - 4,7x10^{-5}]$
Molinato	$[5,0 - 9,0x10^{-4}]$
Tiobencarbe	$[0,4 - 4,4x10^{-4}]$
Mefenaceto	$[2,0 - 5,4x10^{-5}]$
Bensulfurão-metilo	$[0,3 - 1,6x10^{-4}]$
Oxadiazão	$[1,3 - 2,7x10^{-4}]$
Propanil	$[2,4 - 6,1x10^{-4}]$

2.5.2 Preparação de soluções deuteradas de propanil e acetanilida

Para estudo em soluções deuteradas, do comportamente electroquímico do propanil em soluções fortemente ácidas e fortemente alcalinas, pesaram-se rigorosamente 0,033 g deste herbicida e dissolveram-se em 1230 μL de etanol e 770 μL de água deuterada. Em seguida adicionaram-se respectivamente 500 μL da solução resultante, para dois gobelés de 5 mL. Posteriormente, a um deles adicionou-se uma gota de DCl, ao outro uma gota de NaOD.

Repetiu-se o mesmo procedimento analítico para o estudo da acetanilida, sendo neste caso a massa pesada de 0,019g.

2.5.3 Preparação das amostras de produtos comerciais

Tal como já se referiu no Capítulo 1 a bentazona, MCPA, molinato, tiobencarbe, mefenaceto, bensulfurão-metilo, oxadiazão e propanil são substâncias activas de produtos comerciais usados no tratamento das culturas de arroz. Na Tabela 2.7 estão indicadas as amostras de origem comercial analisadas e, para cada uma delas, refere-se o tipo de formulação e o teor de substância activa fornecido pelo fabricante [88].

Tabela 2.7 Constituição e tipo de formulação dos produtos comerciais analisados.

Produto comercial	**Substância activa**	**Tipo de Formulação**	**Teores de substância(s) Activa(s)**
Basagran	Bentazona (B)	emulsão	480 gL^{-1} (B)
Quitt	Bentazona (B)+MCPA (M)	emulsão	400 gL^{-1} (B) + 60 gL^{-1} (M)
Ordram	Molinato (Mo)	granulado	7,5%(p/p) (Mo)
Viktor	Molinato(Mo)+Bensulfurão (Be)	granulado	8%(p/p) (Mo) + 0,08%(p/p) (Be)
Rancho LM	Molinato (Mo)+Mefenaceto (Me) +Bensulfurão (Be)	granulado	3,75%(p/p) (Mo) + 1,25% (p/p) (Me) + 0,083%(p/p) (Be)
Ronstar	Oxadiazão (O)	emulsão	250 gL^{-1} (O)
Ronstar G	Oxadiazão (O)	granulado	2%(p/p) (O)
Propariz	Propanil (P)	emulsão	360 gL^{-1} (P)
Stam	Propanil (P)	emulsão	360 gL^{-1} (P)

A) produtos comerciais que contêm bentazona

A bentazona, nos produtos comerciais, apresenta-se sob a forma de sal de sódio, enquanto que a substância primária usada para a preparação dos padrões foi a forma ácida da bentazona. Sendo assim, após pesagem rigorosa de 0,5 e 0,6 g de "*Basagran*" e de "*Quitt*" respectivamente, foram adicionadas umas gotas de ácido acético glacial até obter a precipitação completa da bentazona na forma ácida. Em seguida dissolveu-se o precipitado e diluiu-se em etanol até 100,0 mL.

Para o doseamento, pipetou-se uma quantidade rigorosa da solução anterior e adicionou-se a 25,00 mL de solução de electrólito de CH_3COOH/CH_3COONa com pH=3,4 (tabela 2.2), de modo a obter uma concentração dentro dos valores escolhidos para a curva de calibração.

B) Produtos comerciais que contêm molinato, tiobencarbe, bensulfurão-metilo e mefenaceto

A determinação do molinato foi realizada nas amostras de produto comercial "*Ordram*"e "*Viktor*" (Tabela 2.7). Para isso pesaram-se rigorosamente 0,9 g de amostra e trituraram-se até obter um pó fino. Posteriormente fez-se uma extracção sólido-liquído, adicionando-se 50,00 mL de acetonitrilo e introduzindo-se num banho de ultra-sons durante 15 minutos.

Em seguida pipetou-se uma quantidade rigorosa de solução sobrenadante e adicionou-se a 25,00 mL da solução tampão de Britton-Robinson (pH=1,9), de modo a obter uma solução de concentração no intervalo dos valores usados para a curva de calibração.

A determinação do bensulfurão-metilo foi realizada em amostras de produto comercial "*Viktor*" e "*Rancho LM*" (Tabela 2.7). Verificou-se que para extracção completa deste herbicida numa amostra de produto granulado de cerca de 3 g, era necessário um volume de acetonitrilo igual ou superior a 20 mL. Sendo assim pesaram-se rigorosamente 2,9 g de produto e adicionaram-se 20,00 mL de acetonitrilo, introduziu-se em seguida num banho de ultra-sons durante 20 minutos, tendo o cuidado de manter a temperatura do banho sempre inferior a 20°C, para evitar degradação do bensulfurão-metilo. Para evitar um envenenamento rápido da superfície do

eléctrodo de trabalho centrifugou-se a mistura, em seguida pipetou-se uma quantidade rigorosa de solução sobrenadante e adicionou-se a 25,00 mL de solução tampão de Britton-Robinson (pH=11,9), contendo 42 % v/v de acetonitrilo, de modo a obter uma solução de concentração no intervalo dos valores usados para a curva de calibração (Tabela 2.6).

C) Produtos comerciais que contêm oxadiazão

Para o doseamento do oxadiazão em formulações de nome comercial "*Ronstar*", pesaram-se rigorosamente 0,5 g do composto e dissolveram-se em 50,00 mL de etanol. Em seguida pipetaram-se 5,00 mL desta solução e adicionaram-se a uma mistura de 25,00 mL de electrólito KCl/NaOH (pH=12,8) e 10,00 mL de etanol. Para hidrólise completa deste herbicida, deixou-se esta solução à temperatura ambiente durante 2 horas e 30 minutos.

Do granulado "*Ronstar GR*" pesaram-se rigorosamente 3,0 g de amostra e dissolveram-se em 25,00 mL de etanol com ajuda de um banho de ultra-sons. Em seguida centrifugou-se e decantou-se a solução sobrenadante. Mediu-se 7,0 mL desta solução, adicionou-se a uma mistura de 25,00 mL de electrólito KCl/NaOH (pH=12,8) e 10,00 mL de etanol e deixou-se à temperatura ambiente durante 2 horas e 30 minutos.

Em seguida cada uma das soluções preparadas foi diluída em electrólito contendo 30 % v/v de etanol, de modo a obter uma concentração dentro dos valores escolhidos para a curva de calibração (Tabela 2.6).

D) *Produtos comerciais que contêm propanil*

O "*Propariz*" e "*Stam*" foram os produtos usados no doseamento do propanil, para isso de cada um deles pesaram-se rigorosamente 0,4 g de produto e dissolveram-se em 50,00 mL de etanol. Pipetou-se uma quantidade rigorosa desta solução e adicionou-se na célula electroquímica a 25,00 mL de solução tampão de Britton-Robinson (pH=8,0), de modo a obter uma solução de concentração dentro dos valores escolhidos para a curva de calibração (Tabela 2.6).

2.5.4 Parâmetros voltamétricos

Os parâmetros voltamétricos foram optimizados para cada uma das técnicas usadas e encontram-se resumidos nas Tabelas 2.8, 2.9 e 2.10.

Na voltametria de impulso diferencial para todos os herbicidas estudados foi usada uma velocidade de varrimento de 5 mVs^{-1}, uma amplitude de 50 mV e uma largura de impulso 70 ms.

Tabela 2.8 Intervalo de potencial utilizado em voltametria de impulso diferencial.

Substância	Intervalo de potencial/V
Bentazona	0,0 a +1,1
MCPA	0,0 a +1,6
Molinato	+1,2 a +1,8
Tiobencarbe	+0,4 a +2,0
Mefenaceto	+1,0 a +1,9
Propanil	0,0 a +1,5
Fenacetin	0,0 a +1,5
Acetanilida	0,0 a +1,5
Difenilacetamida	0,0 a +1,5

Tabela 2.9 Intervalo de potencial e velocidades de varrimento utilizadas em voltametria cíclica.

Substância		Intervalo de potencial/V	Valores para a velocidade de varrimento mVs^{-1}
Bentazona		-1,0 a +1,6	20 a 200
MCPA		0,0 a +1,8	20 a 300
Molinato		0,0 a +2,0	20 a 500
Tiobencarbe		0,0 a +2,2	20 a 1000
Bensulfurão-metilo		0,0 a +1,4	100
Mefenaceto		0,0 a +2,0	20 a 300
Produtos de hidrólise do oxadiazão	*Oxa1*	0,0 a +1,2	50 a 250
	Oxa2	-0,4 a +1,2	50 a 300
Propanil		-0,2 a +1,7	20 a 2000

Na voltametria de onda quadrada, para todos os herbicidas estudados, utilizou-se uma amplitude de impulso de 50 mV e incremento de potencial de 1 mV.

Tabela 2.10 Intervalo de potencial e frequências utilizadas em voltametria de onda quadrada.

Herbicida		**Intervalo de potenciais aplicado (V)**	**Intervalo de valores de frequência usados (Hz)**
Bentazona		0,0 a +1,0	10 a 100
MCPA		+0,9 a +1,9	20 a 140
Molinato		+0,4 a +1,9	20 a 200
Tiobencarbe		+0,4 a +2,0	40 a 200
Bensulfurão-methyl		0,0 a +1,1	50 a 120
Mefenaceto		+0,9 a +1,9	20 a 140
Produtos de hidrólise do oxadiazão	Oxa 1	0,0 a +1,2	20 a 150
	Oxa 2	-0,4 a +1,2	20 a 140
Propanil e amidas substituidas		0,0 a +1,5	20 a 200[a]

(a) Relativo somente ao estudo do propanil. Para o estudo do comportamento electoquímico por voltametria de onda quadrada, da acetanilida, fenacetina e difenilacetamida usou-se sempre uma frequência de 50 Hz

As calibrações de todos os herbicidas, foram realizadas sempre a uma frequência de 50 Hz.

Relativamente aos estudos em soluções deuteradas de propanil e acetanilida, usando um microeléctrodo de carbono vítreo, apresentam-se a seguir, Tabela 2.11 os parâmetros usados para os estudos por voltametria de impulso diferencial, voltametria de onda quadrada e voltametria cíclica.

Tabela 2.11 Parâmetros utilizados para soluções deuteradas de propanil e acetanilida.

Técnica	Parâmetros usados
DPV	Velocidade de varrimento: $5mVs^{-1}$ Largura de impulso:70 ms Amplitude:50 mV
SWV	Frequência:10 Hz Incremento de potencial:5 mV Amplitude: 50 mV Velocidade de varrimento : 50 mVs^{-1}
CV	Velocidade de varrimento: $100mVs^{-1}$

2.6 MÉTODOS ANALÍTICOS DE COMPARAÇÃO

2.6.1 Preparação de soluções e da amostra

1) Determinação da bentazona pelo método de comparação

Na determinação da bentazona pelo método de comparação [86], em que se usa como técnica o HPLC com detecção UV, começou-se por preparar o eluente do seguinte modo: pesaram-se rigorosamente 20,4g de acetato de sódio tri-hidratado que se dissolveram em 2000 mL de água. O pH da solução foi ajustado a 6,0, adicionando-se algumas gotas de ácido acético glacial. A um volume de 1200 ml desta solução adicionaram-se 800 mL de metanol (Lichrosolv) e em seguida homogeneizou-se, filtrou-se e desgaseificou-se a solução.

A solução padrão de bentazona usada na análise cromatográfica foi preparada por pesagem rigorosa de cerca de 65 mg de bentazona que se dissolveu em 4 mL de metanol. À solução resultante adicionaram-se 6 mL de uma solução de acetato de sódio 0,075 $molL^{-1}$ e perfez-se o volume até 100,0 mL com eluente.

Na preparação das amostras comerciais "*Basagran*" e "*Quitt*" pesaram-se rigorosamente cerca de 65 mg de cada amostra que se dissolveu em 100,0 mL de eluente.

2) Determinação do molinato pelo método de comparação

Na determinação do molinato pelo método de comparação [87], o solvente usado na preparação das soluções consistia numa mistura de sulfureto de carbono, clorofórmio e metanol (Lichrosolv) nas proporções de 80:15:5 (v/v/v).

A solução de padrão interno de cicloato foi preparada, pesando-se rigorosamente 0,14 g de cicloato e dissolvendo-se em 50,00 mL de solução de solvente.

Na preparação da solução padrão de molinato, pesaram-se rigorosamente 0,05 g de molinato e dissolveram-se em 12,50 mL de solução de padrão interno.

Para a preparação de amostra, pesaram-se rigorosamente 0,7 g de amostra, adicionaram-se 12,50 mL de solução de padrão interno e introduziu-se num banho de ultra-sons durante 30 minutos. Na análise cromatográfica fez-se a injecção da solução sobrenadante.

2.6.2 Parâmetros cromatográficos

Na Tabela 2.12 estão descritas as condições de análise cromatográfica para a bentazona e o molinato.

Tabela 2.12 Condições de análise cromatográfica para a determinação da bentazona e do molinato.

Herbicida	**Nome comercial da amostra**	**Técnica**	**Coluna**	**Condições de análise**
Bentazona	Basagrane Quitt	HPLC	Techopack C18 Φ =10μm (150x3,9 mm)	Fluxo=1,0 $mLmin^{-1}$ λ (nm) =340 nm 1AUFS
Molinato	Ordrame Viktor	GLC	OV-17 3% de silicone, 60-80 mesh (1,8mx4mm)	Temp. injecção= 225 °C Temp. detector= 250 °C Temp. coluna= 170 °C Fluxo de azoto= 30-35 $mLmin^{-1}$ Fluxo de hidrogénio= 25-30$mLmin^{-1}$ Fluxo de ar= 200-300 $mLmin^{-1}$

2.7 PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES DE PROPANIL E ACETANILIDA PARA ESTUDOS ESPECTROSCÓPICOS DE NMR

Dissolveram-se, 0,044g de propanil em 1230 μL de etanol e em seguida completou-se até ao volume de 2,00 mL com água deuterada.

Para três tubos de NMR pipetaram-se respectivamente 0,5 mL das soluções anteriormente preparadas. A um dos tubos adicionou-se 1 gota de NaOD 40% a outro adicionou-se 1 gota de DCl 20%, mantendo-se o terceiro inalterado. Traçaram-se imediatamente espectros de NMR ^{1}H e ^{13}C. Repetiu-se a análise ao fim de 3 horas.

Repetiu-se o mesmo procedimento analítico para a acetanilida, sendo neste caso a massa pesada de 0,020 g.

2.8 PREPARAÇÃO DE COMPOSTOS

2.8.1 Derivados do oxadiazão

1) Preparação de Oxa1 e Oxa2 por hidrólise alcalina do Oxadiazão

Para um balão de fundo redondo, contendo uma barra magnética pesaram-se 500 mg de oxadiazão e dissolveram-se numa solução de 80 mL de etanol e 50 mL de electrólito de KCl/NaOH com pH=12,8. A reacção foi seguida por TLC, atendendo ao desaparecimento da mancha do oxadiazão (usando como eluente éter de petróleo/éter etílico (5:5 v/v). Uma toma de 25,00 mL foi retirada para se proceder a estudos por voltametria.

A restante solução foi neutralizada com HCl (15%) e em seguida fez-se extracção com éter etílico (3 x 100 mL). A fase orgânica foi lavada com água, seca (Na_2SO_4) e evaporada sob pressão reduzida.

O produto obtido, um sólido amarelado (rendimento cerca de 80%) foi primeiro purificado por cromatografia em coluna, usando como eluente éter de petróleo/éter etílico (7:3). Os dois compostos formados foram isolados e purificados, por cromatografia preparativa em placa, usando como eluente éter de petróleo/éter etílico (5:5 v/v). Obtiveram-se dois sólidos brancos cristalinos.

As análises efectuadas por infravermelho, NMR e MS mostraram, que se tratava de 1-trimetil-2-(2,4-dicloro-5-isopropoxifenil)-2-etoxicarbonilhidrazina designado por Oxa1 (rendimento cerca de 62%) e de 1-trimetilacetil-2-(2,4-di cloro-5-isopropoxyfenil)hidrazina designado por Oxa2 (rendimento cerca de 33%). Relativamente a Oxa1 obteve-se uma mistura de diasteoisómeros.

Indicam-se de seguida, os pontos de fusão, dados espectrais e respectivos espectros correspondentes ao Oxadiazão, Oxa1 e Oxa2.

Dados espectrais

Oxadiazão

p.f 85-87 °C . **IR** υmax: 2979, 1784 (C=O), 1620(C=C), 1487, 1427, 1331, 1248, 1124, 1039, 945, 872, 748 **^{1}H NMR** δ: 7.85 (1H, *s*, C<u>H</u>Ar), 7.59 (1H, *s*, C<u>H</u>Ar), 4.67 (1H, *m*, OC<u>H</u>$(CH_3)_2$), 1.30 (15H, *brs*, CH$(C\underline{H}_3)_2$, C$(C\underline{H}_3)_3$); (Fig.2.3). **^{13}C NMR** δ: 162.6, 152.4, 151.8, 131.6, <u>130.6</u>, 124.5, 122.3, <u>115.9</u>, <u>72.3</u>, 32.4, <u>26.6</u>, <u>21.5</u>; (Fig.2.4). Relativamente aos dados obtidos através do espectro de infravermelho e ponto de fusão, verificou-se serem idênticos aos apresentados na literatura [89, 90, 91].

1-trimetillacetil-2-(2,4-dicloro-5-isopropoxifenil)-2-etoxicarbonilhidrazina (Oxa1)

p.f 88-91 °C. **IR** υmax: 3485 (N-H), 2977, 1739 (NH-C=O), 1691(C=O), 1560, 1479, 1398, 1375, 1329, 1277, 1238, 1188, 1138, 1105, 1066, 1018, 962, 750, 659. **EI-MS *m/z* (%):** 394 (M+ 4, 7)$^{+\cdot}$, 393 (M+ 3, 8) $^{+\cdot}$, 392 (M+ 2, 42) $^{+\cdot}$, 391 (M+ 1, 17) $^{+\cdot}$, 390 (M, 57) $^{+\cdot}$, 358 (7), 357 (21), 356 (21), 355 (84), 349 (7),

348 (17), 347 (12), 346 (24), 322 (12), 321 (12), 320 (11), 319 (23), 318 (86), 280 (10), 279 (9), 278 (61), 277 (16), 276 (87), 237 (7), 236 (6), 235 (37), 234 (11), 233 (65), 207 (9), 206 (5), 205 (37), 204 (9), 203 (65), 195 (16), 194 (46), 193 (80), 192 (70), 191 (100), 85 (38), 57 (70); (Fig.2.5). **^{1}H NMR** δ: 10.50 (1H, *s*, NH, exchanged with D_2O), 10.41 (1H, *s*, NH, exchanged with D_2O), 7.63 (2H, *s*, CHAr), 7.28, 7.24 (2H, *s*, CHAr), 4.45 (2H, *m*, $CH(CH_3)_2$), 4.11 (4H, *q*, OCH_2CH_3), 1.29, 1,27 (12H, *d*, J=6, $CH(CH_3)_2$), 1.14 (24H, *brs*, $C(CH_3)_3$, OCH_2CH_3); (Fig.2.6). **^{13}C NMR** δ: 177.4, 151.9, 139.1, 129.9, 122.6, 121.8, 114.2, 71.8, 62.2, 37.5, 26.8, 21.4, 14.3; (Fig.2.7).

1-trimetillacetil-2-(2,4-dicloro-5-isopropoxifenil)hidrazina (Oxa2)

p.f 98-103 °C. **IR** υmax: 3336, 3226 (N-H), 2974, 1664 (C=O), 1593, 1535, 1481 (C-CAr), 1394, 1275, 1180, 1180, 1107, 856, 744, 704. **EI-MS *m/z* (%):** 322 (M+ 4, 8) $^{+\cdot}$, 321 (M+ 3, 7) $^{+\cdot}$, 320 (M+ 2, 49) $^{+\cdot}$, 319 (M+ 1, 14) $^{+\cdot}$, 318 (M, 64) $^{+\cdot}$, 280 (5), 279 (4), 278 (21), 277 (6), 276 (31), 196 (7), 195 (6), 194 (39), 193 (17), 192 (56), 191 (19), 149 (12), 85 (21), 57 (100); (Fig.2.8).**^{1}H NMR** δ: 9.69 (1H, *d*, J=3, NH, exchanged with D_2O), 7.47 (1H, *d*, J=3, NH, exchanged with D_2O), 7,35 (1H, *s*, CHAr), 6,34 (1H, *s*, CHAr), 4,40 (1H, *m*, $CH(CH_3)_2$), 1,27 (6H, *d*, J=6, $CH(CH_3)_2$), 1,19 (9H, *brs*, $C(CH_3)_3$); (Fig.2.9). **^{13}C NMR** δ: 176,9, 152,4, 145,1, 129,4, 111,4, 108,6, 99,7, 71,3, 37,5, 27,2, 21,6 (Fig.3.0).

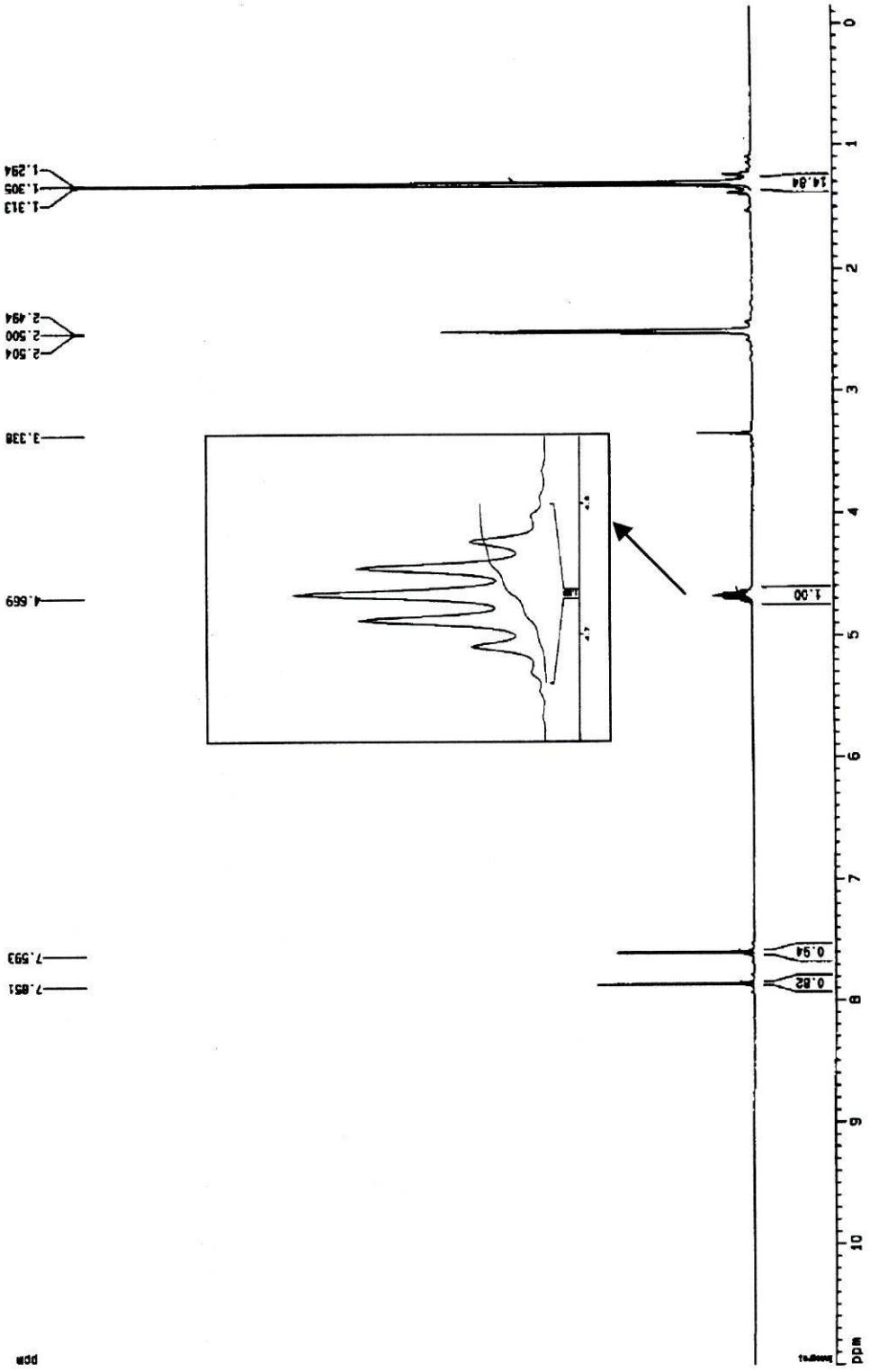


Fig.2.3 Espectro de ^{1}H NMR, do oxadiazão

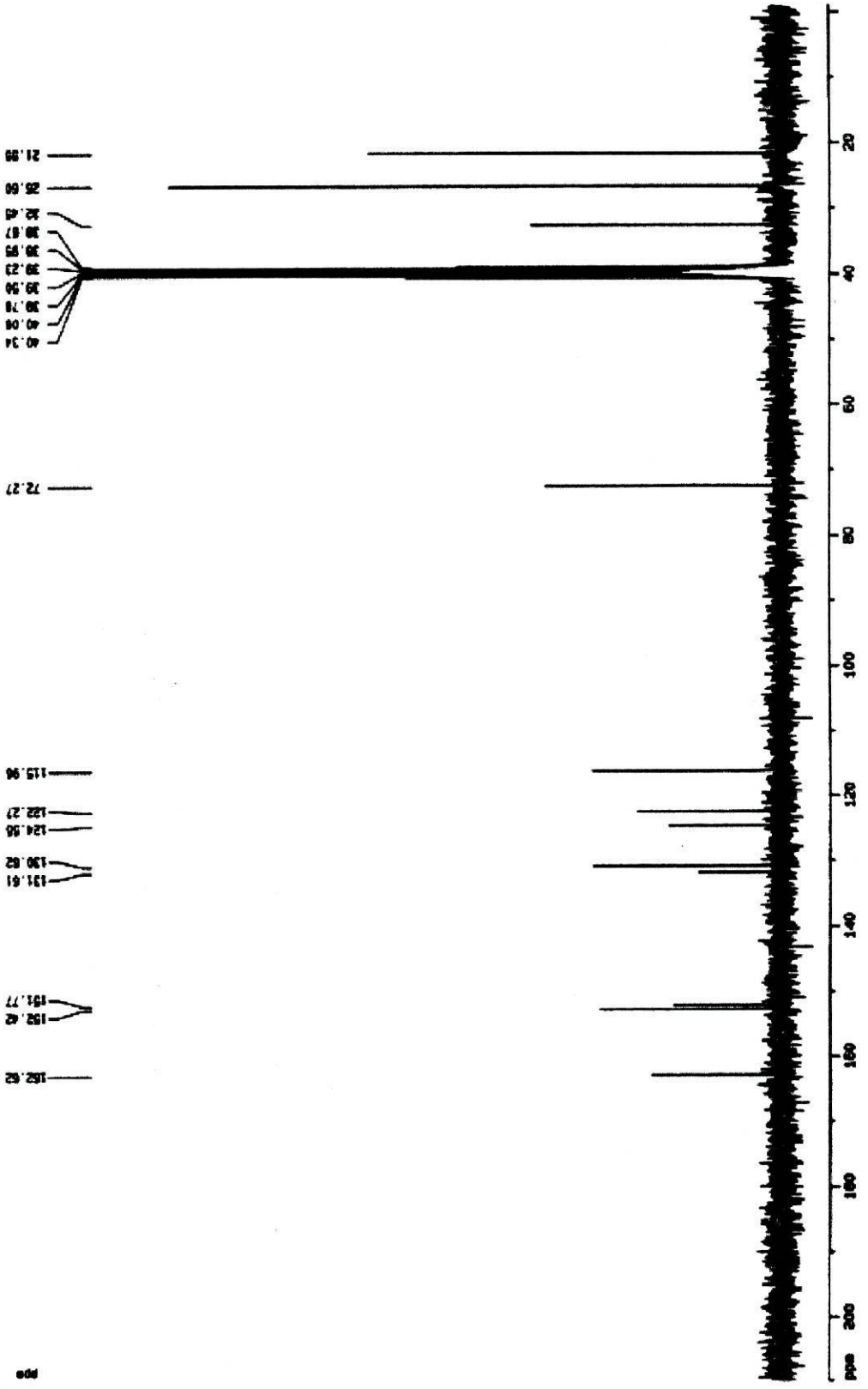


Fig. 2.4 Espectro de ^{13}C NMR, do oxadiazão

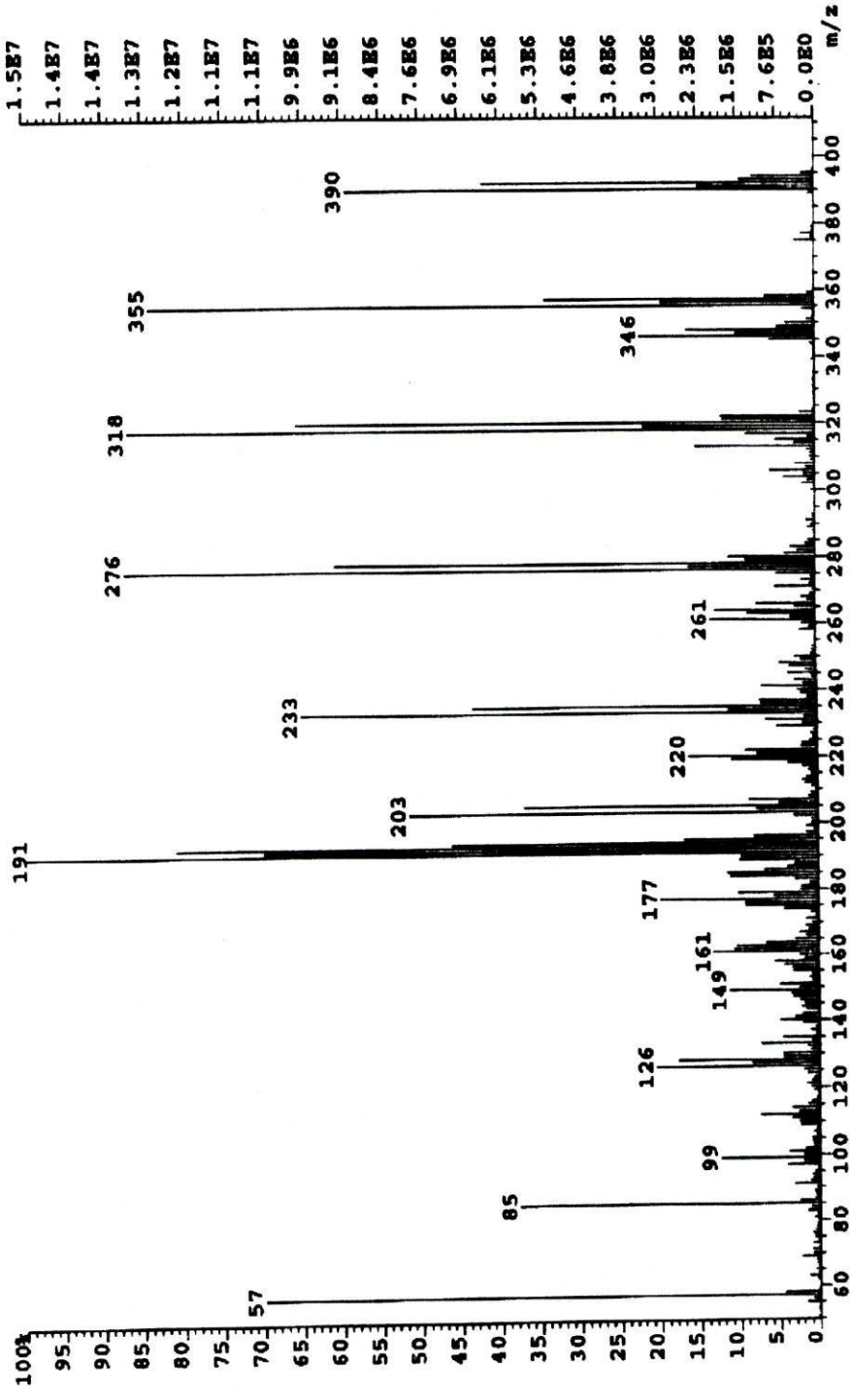


Fig. 2.5 Espectro de massa do Oxa1

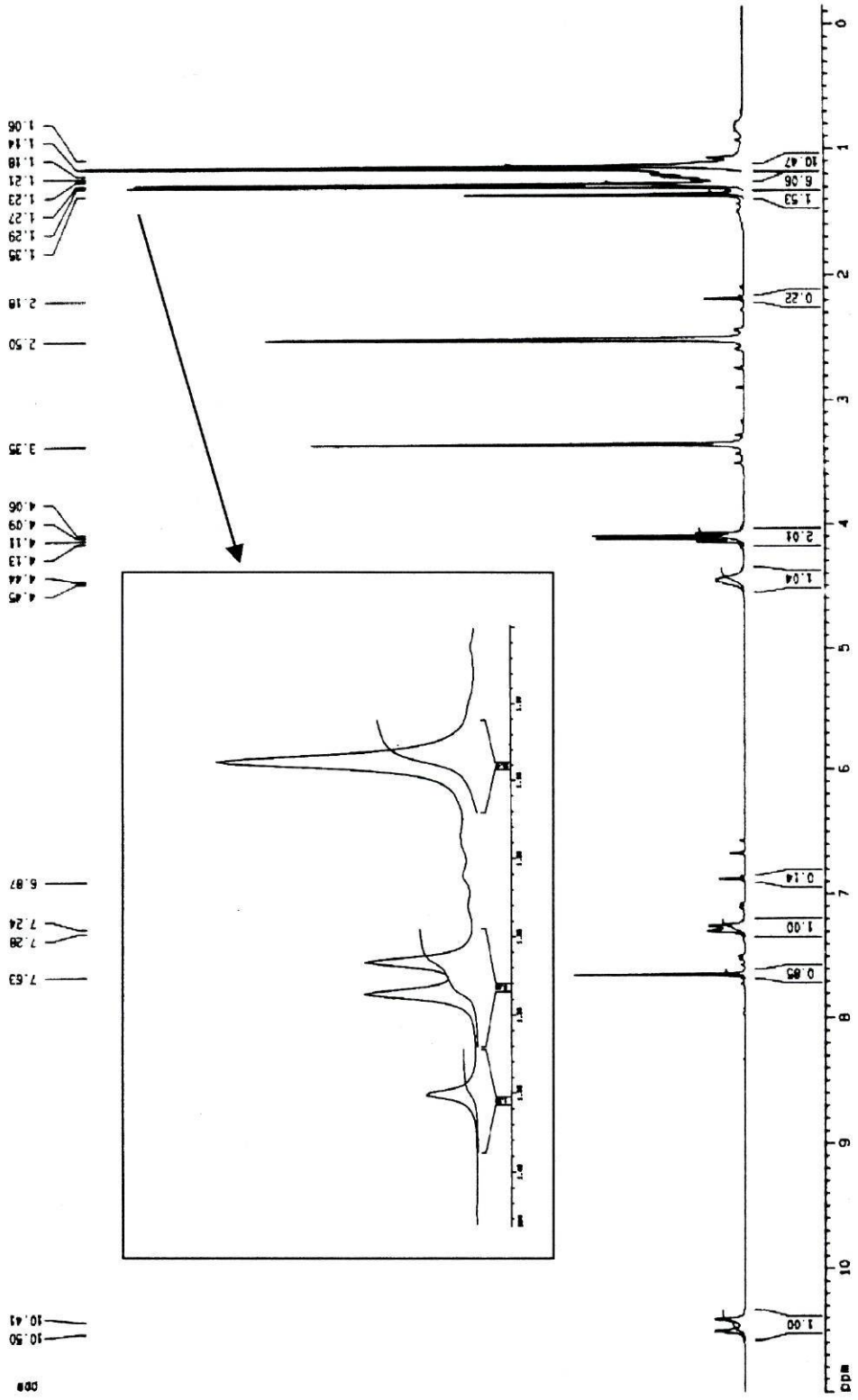


Fig.2.6 Espectro de 1H NMR, do Oxa 1

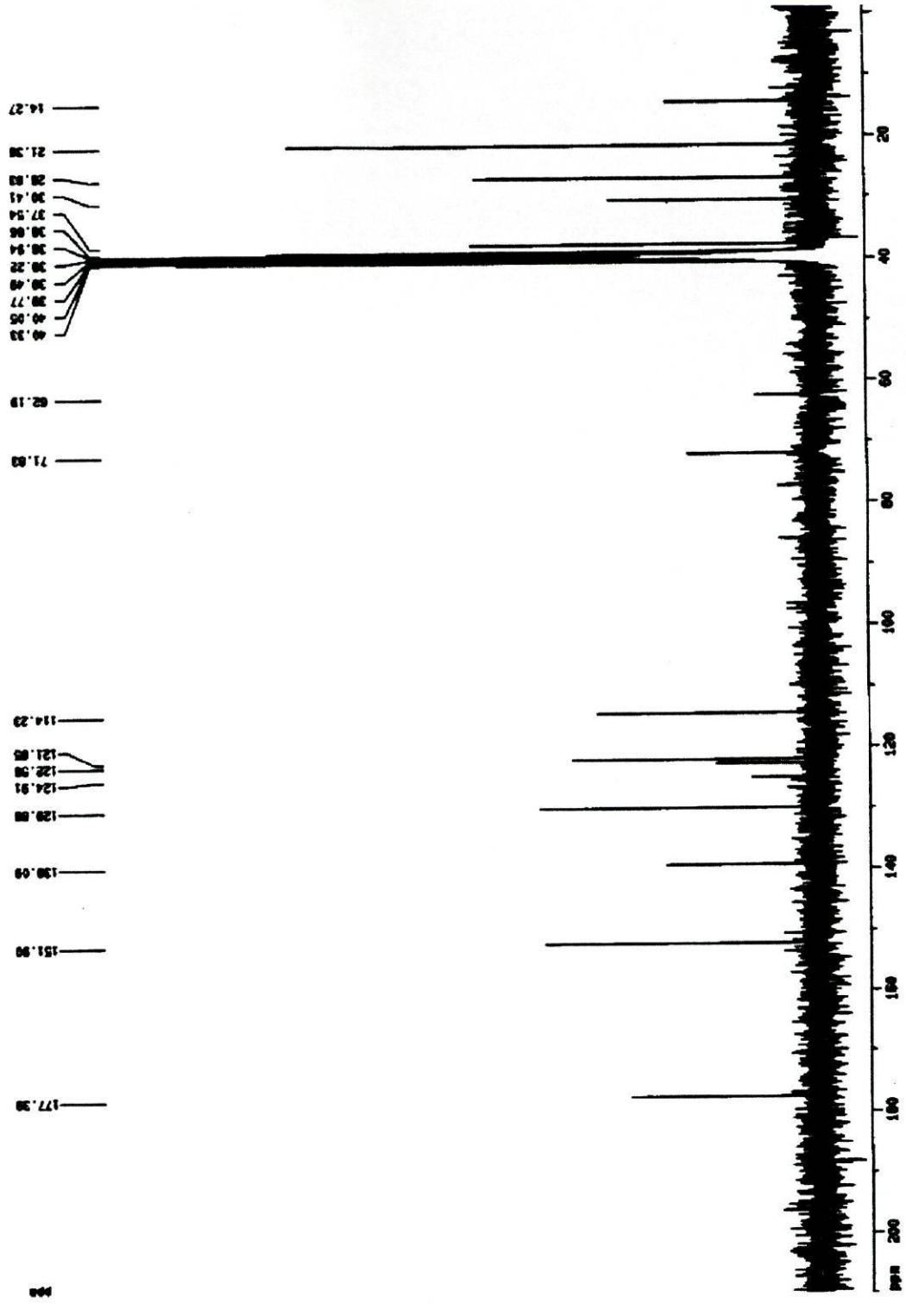


Fig. 2.7 Espectro de ^{13}C NMR, do Oxa 1

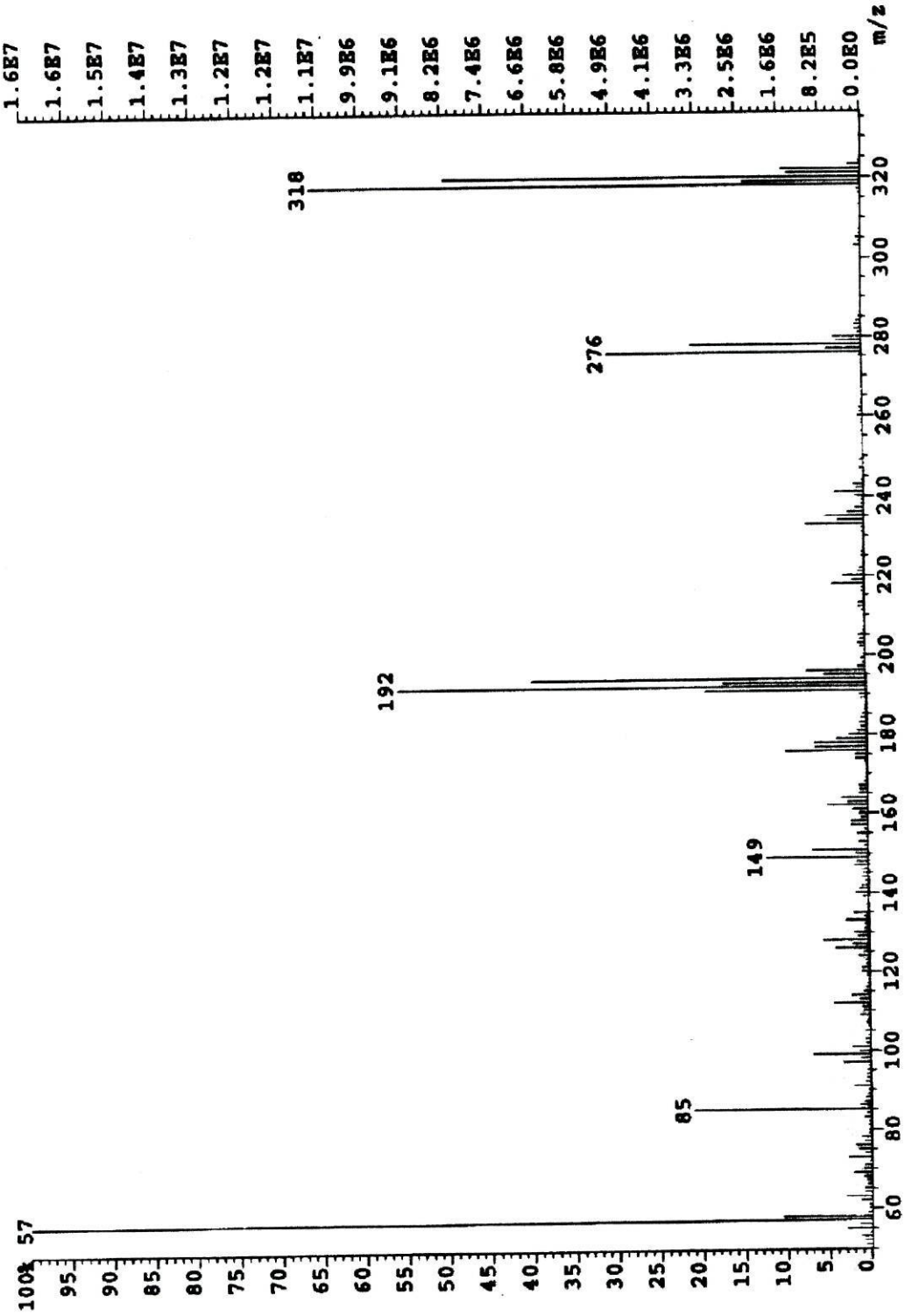


Fig.2.8 Espectro de massa do Oxa2

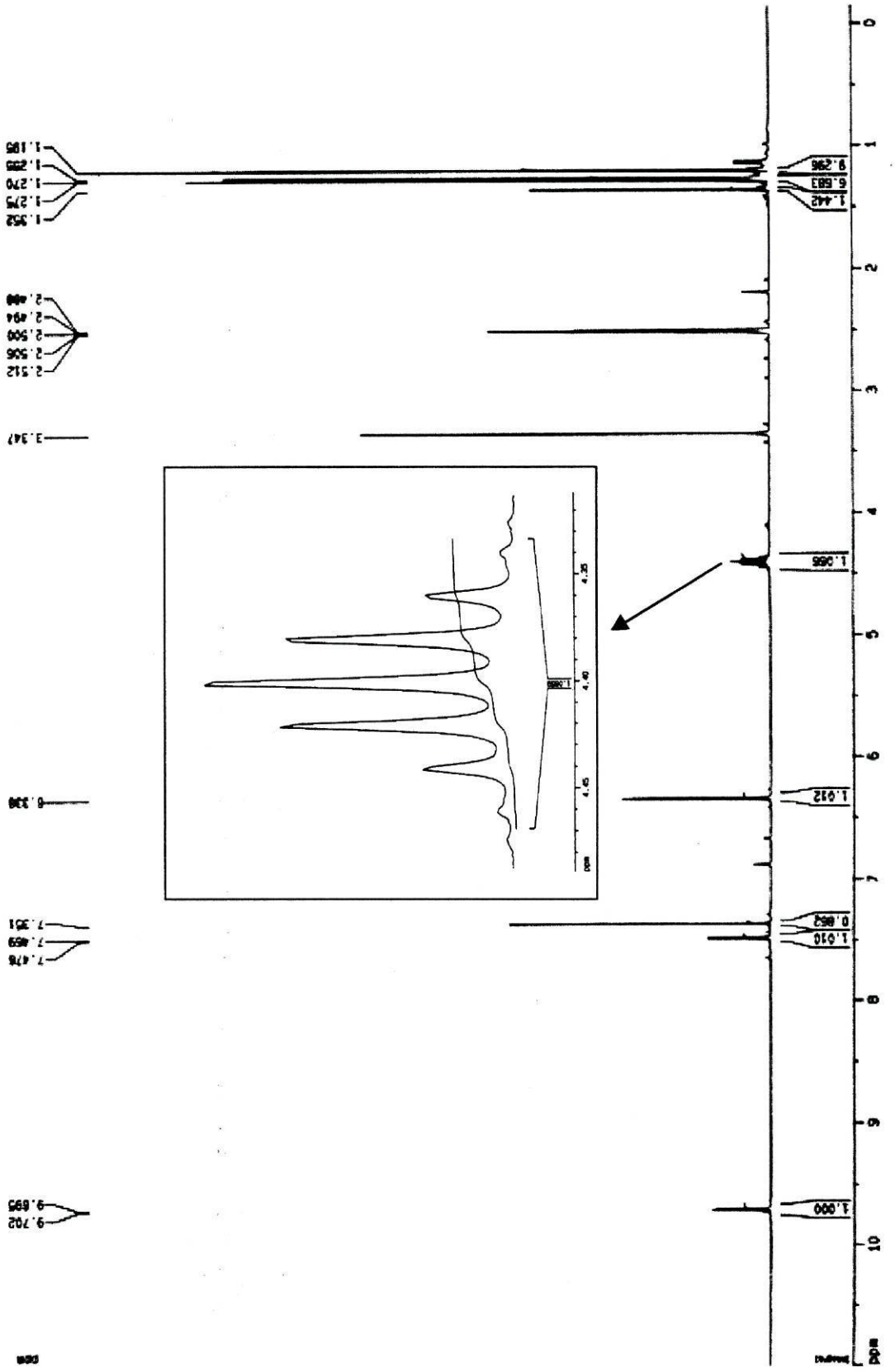


Fig.2.9 Espectro de ^{1}H NMR, do Oxa 2

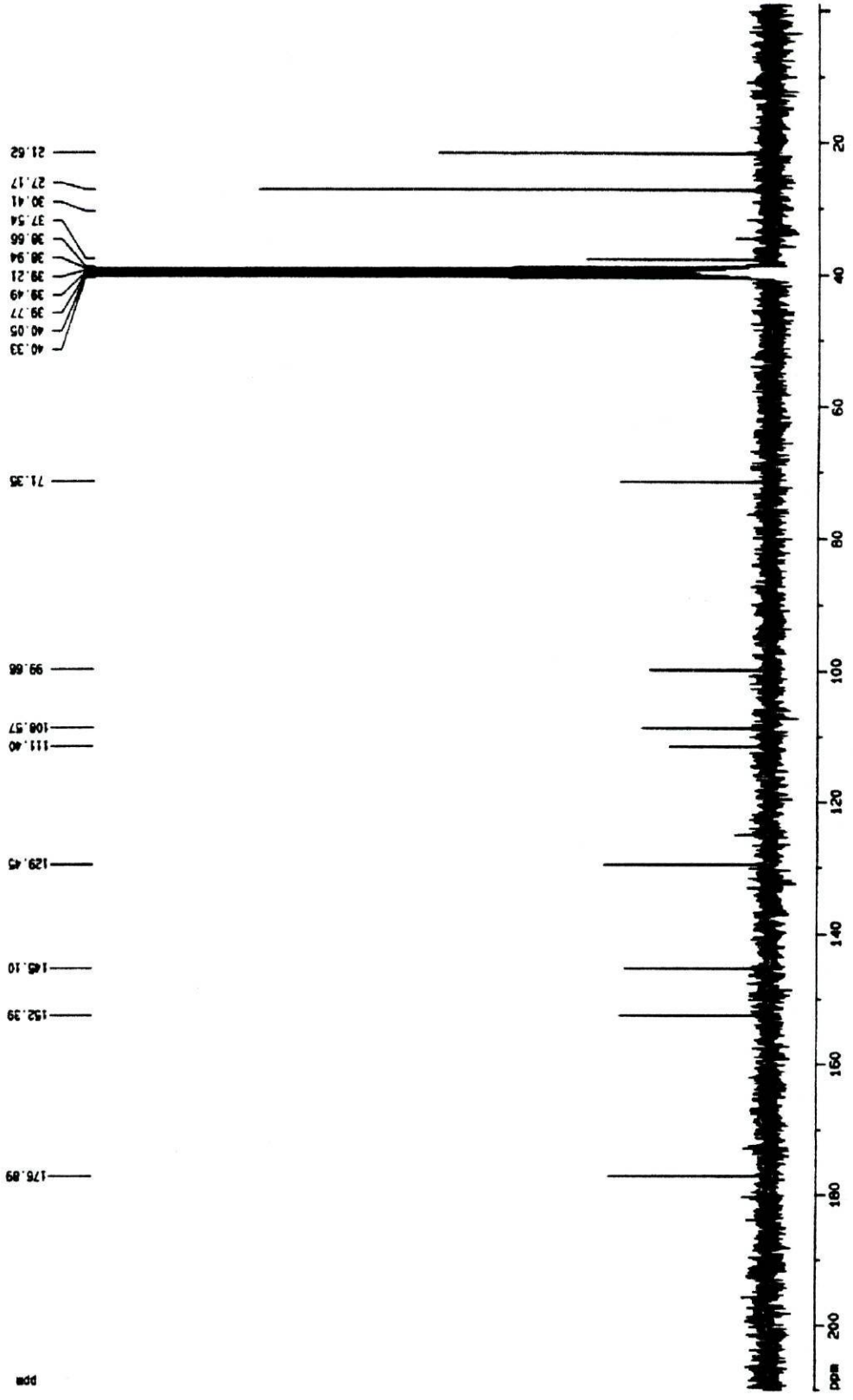


Fig. 2.10 Espectro de ^{13}C NMR, do Oxa2

2) Hidrólise alcalina de Oxa1

Para um balão de fundo redondo contendo uma barra magnética, pesou-se 75,4 mg de oxa 1 puro e dissolveram-se numa mistura de 20 mL de etanol e 25 mL de electrólito de KCl/NaOH com pH=12,8. A reacção de hidrólise alcalina desta solução à temperatura ambiente e sob agitação foi seguida por TLC. Ao fim de 5 horas, uma toma desta solução foi retirada para estudos electroquímicos (ver discussão de resultados). A restante solução foi neutralizada com HCl (15%) e em seguida fez-se extracção com éter etílico (3 x 100 mL). A fase orgânica foi lavada com água, seca (Na_2SO_4) e por último o solvente foi removido sob pressão reduzida. O produto obtido, um sólido amarelo, foi analisado por NMR, tendo-se obtido as seguintes dados espectrais:

^{1}H NMR δ: 10,50 (1H, *s*, N<u>H</u>, Oxa_1), 10,41 (1H, *s*, N<u>H</u>, Oxa_1), 9,70 (1H, *d*, J=2, N<u>H</u>, Oxa_2) 7,47 (1H, d*s*, J=2, N<u>H</u>, Oxa_2), 7,63 (2H, *s*, C<u>H</u>Ar, Oxa_1), 7,35 (1H, *s*, C<u>H</u>Ar, Oxa_2), 7,26 (2H, *s*, C<u>H</u>Ar, Oxa_1), 6,34 (2H, *s*, C<u>H</u>Ar, Oxa_2),4.08 (4H, *q*, O<u>CH_2</u>CH_3, Oxa_1; (Fig.2.11).

2.8.2 Síntese das amidas

1) Síntese da acetanilida [92]

A uma mistura de 2,3 mL de anilina e 2,3 mL de anidrido acético, mantida sob agitação, adicionou-se o conteúdo de uma microespátula de zinco em pó e deixou-se a solução em refluxo durante 30 minutos. A mistura foi filtrada a quente e adicionada lentamente a 100 mL de água fria. Após arrefecimento num banho de gelo, para cristalização completa do produto formado, filtrou-se a solução e o sólido branco obtido (rendimento cerca de 87%) foi lavado várias vezes com água desionizada. O ponto de fusão e o espectro de infravermelho permitiram identificar a acetanilida com os dados descritos na literatura para este composto [93-95].

p.f 113-116 °C. **IV** υmax: 3291, 3257 (N-H), 1661 (C=O), 1603 (C=C), 1551, 1492, 1434, 1365, 1318, 1257, 759, 692.

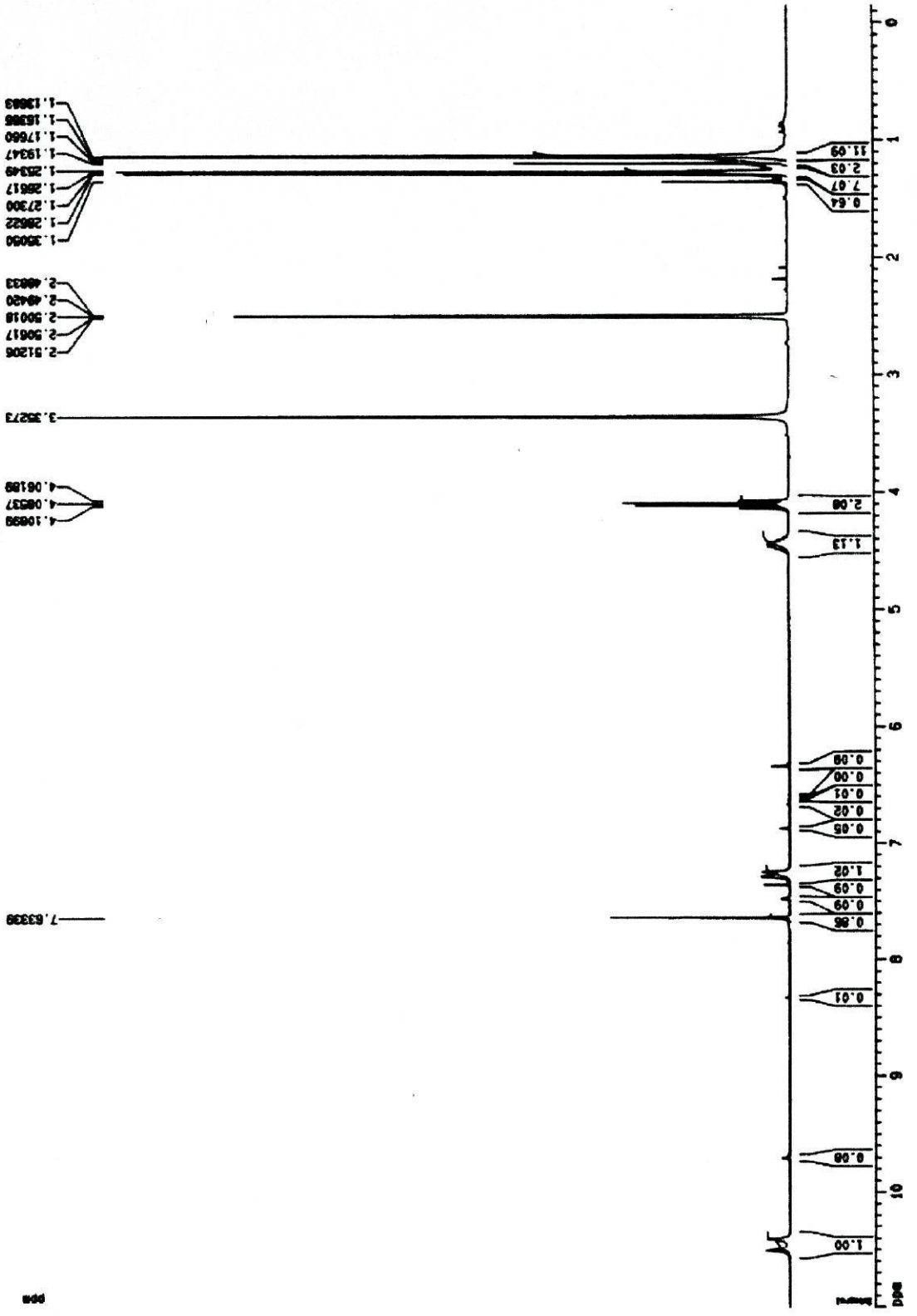


Fig.2.11 Espectro de ^{1}H NMR da mistura de Oxa1 e Oxa2

2) Síntese da N,N-difenilacetamida

A uma mistura de 4,2 g de difenilamina e 7,2 mL de anidrido acético, mantida sob agitação adicionou-se o conteúdo de uma microespátula de zinco em pó e deixou-se a solução em refluxo durante 1 hora.

A reacção foi controlada por cromatografia de camada fina (TLC), usando como eluente éter de petróleo/éter etílico (5:5 v/v). Observou-se a presença do reagente de partida (difenilamina, Rf=0,91), bem como a formação de um novo produto (Rf=0,78). Após 1 hora de reacção verificou-se o desaparecimento completo da mancha correspondente à difenilamina.

A mistura foi filtrada a quente e adicionada lentamente a 100 mL de água fria. Após arrefecimento num banho de gelo, para cristalização completa do produto formado, filtrou-se a solução e o sólido branco obtido (rendimento cerca de 79%) foi lavado várias vezes com água desionizada. O ponto de fusão e o espectro de infravermelho permitiram identificar a difenilacetamida com os dados descritos na literatura para este composto [93-95]. A seguir se indica o p.f experimental e apresentam-se os dados espectrais.

p.f 98-100 °C. **IR** υmax: 2939, 1670 (C=O), 1598 (C=C), 1493, 1372, 1316, 768, 695, 591 **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 308.1 K), δ = 2.05 (s, 3 H, CH_3), 7.25-7.35 (m, 10H, 2 x C_6H_5). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 308.1 K), δ = 23.7 (s, 3 H, CH_3), 126.3-128.1, 129.3, 143.1 (2 x C_6H_5), 170.3 (C-grupo amida).

2.8.3 Hidrólise do propanil

Para efectuar os estudos de estabilidade do propanil, estudou-se à temperatura ambiente e em refluxo, a reacção de hidrólise deste herbicida.

1) *Temperatura ambiente*

Prepararam-se duas soluções obtidas por dissolução de 0,2 g de propanil em 20 mL de etanol e 50 mL de electrólito de pH=1,9 ou pH=11,9, respectivamente. Deixaram-se as soluções sob agitação durante um dia e uma

noite à temperatura ambiente e controlou-se a reacção por TLC, usando como eluentes tetracloreto de carbono, acetona, éter etílico/acetato de etilo (5:5 v/v) e éter de petróleo/éter etílico (5:5 v/v).

A seguir fizeram-se extracções com éter etílico (3x100 mL) e tetracloreto de carbono (3x 100 mL). A fase orgânica resultante foi lavada com água e seca (Na_2SO_4) e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. A composição do resíduo foi estudada por TLC.

2) Sob refluxo

Dissolveram-se 0,014 g de propanil em 20 mL de etanol e 50 mL de uma solução tampão Britton-Robinson (pH=11,9). Deixou-se a solução em refluxo durante 5 horas. A reacção foi controlada por TLC usando como eluente o tetracloreto de carbono. Observou-se formação de um novo produto (Rf = 0,12).

Em seguida procedeu-se a extracções com tetracloreto de carbono (3x50 mL). Juntaram-se as fases orgânicas, lavou-se a solução resultante com água e secou-se com sulfato de sódio. Por último o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto resultante foi purificado por cromatografia preparativa (PTLC) usando como eluente o tetracloreto de carbono. Após caracterização estrutural por NMR e IR e comparação com os dados existentes na literatura [92-94], o composto foi identificado como sendo 3,4-dicloroanilina (rendimento cerca de 69 %). Indica-se a seguir o ponto de fusão experimental e apresentam-se os dados espectrais.

p.f 70-73 °C. **IR** υmax: 3465, 3394 (N-H), 2924, 1592 (C=C), 1522, 1469, 1376, 808, **^{1}H NMR** ($CDCl_3$) δ:3.72 (s broad, 2H, NH_2), 6.49 (dd, 1H, J=8.6 and 2.6 Hz, H-6), 6.74 (d, 1H, J=2.6 Hz, H-2), 7.16 (d, 1 H, J=8.6 Hz, H-5). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$), δ:114.5 (C-6), 116.3 (C-2), 120.9 (C-4), 130.6 (C-5), 132.5 (C-3), 146.0 (C-1).

CAPÍTULO 3

OXIDAÇÃO ELECTROQUÍMICA DA BENTAZONA E DO MCPA

3.1. INTRODUÇÃO

O objectivo do trabalho descrito neste Capítulo foi estudar o comportamento electroquímico da Bentazona (2,2-dióxido de 3-isopropil-2,1,3-benzotiadiazin-4-ona) e do MCPA (ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético) em eléctrodos de carbono vítreo e de investigar a possibilidade de usar técnicas voltamétricas para dosear estes herbicidas em formulações fitofarmacêuticas.

A bentazona e o MCPA são herbicidas de aplicação pós-emergência da planta do arroz e das ervas daninhas. São aplicados em conjunto ou isoladamente na mesma fase do crescimento da planta do arroz.

Os produtos comercializados em Portugal para tratamento das culturas de arroz e que contêm bentazona são o *Basagran*, em que este herbicida aparece como única substância activa e o *Quitt* onde existe conjuntamente com o MCPA. Nestes produtos a bentazona surge na forma química de sal sódico.

O tempo de semi-vida em água para a bentazona é inferior a 24 horas e para o MCPA é de aproximadamente 17 dias [1, 96] devido à fotodegradação. Quer a bentazona quer o MCPA são herbicidas selectivos. Relativamente à bentazona a sua selectividade deve-se à capacidade que a erva daninha tem de a metabolizar. A bentazona inibe o processo da fotossíntese e o MCPA o crescimento celular das infestantes [1].

As estruturas químicas dos dois compostos estão representadas na Fig. 3.1. Na Tabela 3.1 apresenta-se as propriedades físicas e químicas mais importantes destes herbicidas [1].

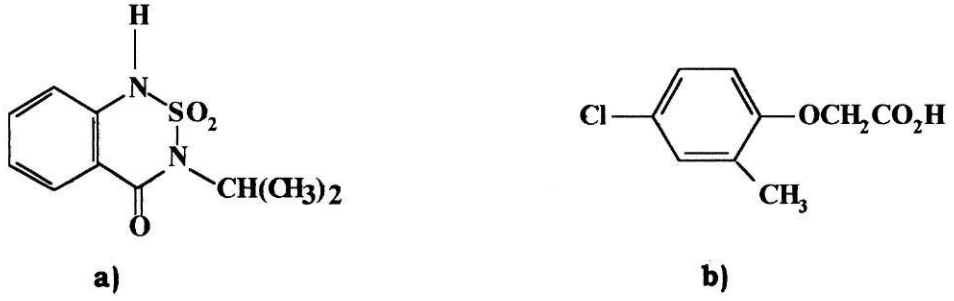


Fig. 3.1 Estruturas a) bentazona, b) MCPA.

Tabela 3.1 Propriedades físicas e químicas da bentazona e do MCPA.

Nome	***Massa Molecular*** ***($gmol^{-1}$)***	***Solubilidade em água*** ***(mgL^{-1})***	***Pressão de Vapor*** ***(mPa)***	***pKa***
Bentazona	240,3	570 (pH 7, 20 °C)	0,17 (20 °C)	3,2
MCPA	200,6	734 (pH 7, 20 °C)	0,023 (20 °C)	3,1

Tal como já se referiu anteriormente estes compostos são solúveis em água, podendo facilmente poluir as águas de lagos e rios adjacentes às culturas de arroz.

Devido à polaridade das suas moléculas, à baixa volatilidade e baixa estabilidade térmica, a determinação destes compostos por cromatografia em fase gasosa (GLC), fica na maior parte das vezes condicionada à necessidade de derivatização dos respectivos herbicidas. Muitos trabalhos descritos na literatura usam a cromatografia de fase gasosa para doseamento da bentazona e do MCPA, apresentando este método, como principal vantagem, o baixo limite de detecção [97-114].

Relativamente à cromatografia em fase líquida (LC), dada a baixa sensibilidade da maior parte dos detectores utilizados, é em geral necessário o recurso a técnicas de pré-concentração da amostra. A extracção líquido-líquido é uma das técnicas usadas [114, 115], embora apresente alguns problemas, pois é morosa, podem formar-se emulsões, envolve geralmente grandes volumes de solventes orgânicos (normalmente poluentes) e pode ocorrer perda significativa de amostra. Com o intuito de minimizar estes problemas, pode ser usada extracção e pré-concentração por cromatografia em fase sólida (SPE). Vários trabalhos existentes na literatura utilizam esta

técnica para pré-concentração de amostras contendo quantidades vestigiais de bentazona e MCPA [113, 116-123].

A cromatografia em camada fina (TLC) é também uma técnica de separação e de purificação destes herbicidas em amostras ambientais, sendo particularmente importante no estudo de produtos de degradação [124-126].

Apesar da inegável importância que o HPLC, tem actualmente no doseamento de pesticidas, é de salientar o facto de dar origem a grandes volumes de resíduos de solventes orgânicos, poluentes do meio ambiente. De modo a minimizar este problema, um dos trabalhos existente na literatura, em que se faz o doseamento da bentazona, recorre-se a um sistema micro-HPLC que em vez de usar as colunas tubulares normais de empacotamento, vulgares em HPLC, utiliza colunas tipo *"narrow bore"* frequentes em GLC. Para além de aumentar a eficiência da separação cromatográfica reduz também o consumo de solventes orgânicos [127].

Os imunoensaios são provavelmente a técnica de eleição no doseamento de herbicidas quando estes são relativamente solúveis em água e não são voláteis, como é o caso da bentazona e do MCPA, uma vez que possibilitam a obtenção de tempos de análise reduzidos e baixos custos [128-131].

Nos trabalhos existentes na literatura que usam técnicas electroquímicas para a detecção da bentazona e do MCPA, dois deles usam a polarografia [132, 133] e um utiliza um detector amperométrico para doseamento da bentazona [134].

Apesar de existirem actualmente na literatura numerosos trabalhos que recorrem a técnicas cada vez mais sensíveis, importantes quando pretendemos dosear quantidades vestigiais, verifica-se existir um vazio no que diz respeito ao doseamento destes compostos em concentrações mais elevadas, nomeadamente em produtos fitofarmacêuticos. De facto, a grande maioria das técnicas de detecção descritas na literatura, não podem ser directamente aplicáveis à análise de formulações concentradas [135]. O problema reside principalmente no facto de durante a produção das formulações contendo bentazona surgirem contaminação por produtos, tais como, sais orgânicos que contêm o grupo aromático e que por isso apresentem comportamentos semelhantes, nomeadamente a nível de espectros de absorvância etc. Um outro problema associado refere-se ao facto de em alguns casos ter de se recorrer à extracção prévia com solventes orgânicos. Neste caso, existe sempre

a possibilidade de certas impurezas serem co-extraídas e assim originarem problemas de quantificação.

Deste modo e tanto quanto é possível avaliar o único trabalho publicado para a determinação da bentazona em formulações fitofarmacêuticas, utiliza a técnica de HPLC com detector UV [135].

3.2 ESTUDO ELECTROQUÍMICO DA BENTAZONA E DO MCPA

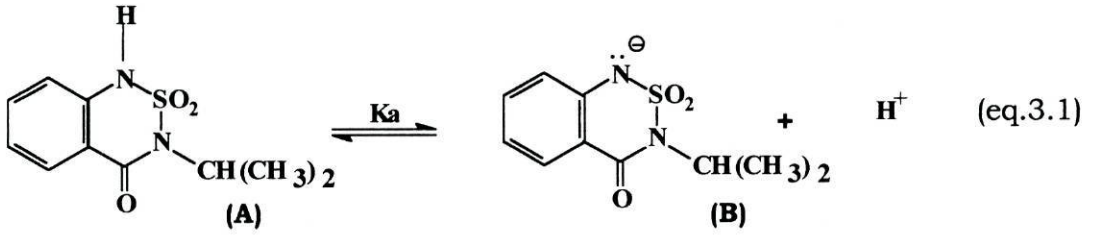
3.2.1 Influência do pH

O comportamento electroquímico da bentazona e do MCPA com a variação do pH foi estudado num intervalo de valores de pH compreendido entre 1,2 e 12,8 unidades [84], usando voltametria de impulso diferencial com uma velocidade de varrimento de 5 mVs^{-1}.

No caso da bentazona, verifica-se que o processo de oxidação depende do pH. Na Fig. 3.2 estão representados os voltamogramas obtidos utilizando soluções de electrólito com diferentes valores de pH.

No gráfico de *E*p vs. pH (Fig. 3.3) observa-se que o potencial de pico é dependente do pH em meio fortemente ácido, tornando-se independente para valores de pH superiores a 3,2 unidades, sendo a intersecção das duas rectas (pH = 3,2) correspondente ao pK_a da bentazona.

Atendendo à equação da reacção (3.1) e ao valor de pKa pode concluir-se que para soluções fortemente ácidas predomina a espécie (A) e para valores de pH superiores a 3,2 unidades, a espécie aniónica (B) é predominante.



(eq.3.1)

O declive da relação de E_p vs. pH para valores de pH inferiores a 3,2 unidades corresponde a 40 mV/pH significando portanto que o mecanismo da reacção corresponde a uma transferência electrónica seguida de uma reacção

química, provavelmente uma dimerização, ocorrendo adsorção na superfície do eléctrodo dos produtos formados.

No gráfico de I_p vs. pH (Fig.3.3) é possível observar um máximo de corrente para pH = pK_a = 3,2 a partir do qual há um decrescimento da corrente até valores de pH de aproximadamente 9,4, para valores superiores de pH não ocorre oxidação.

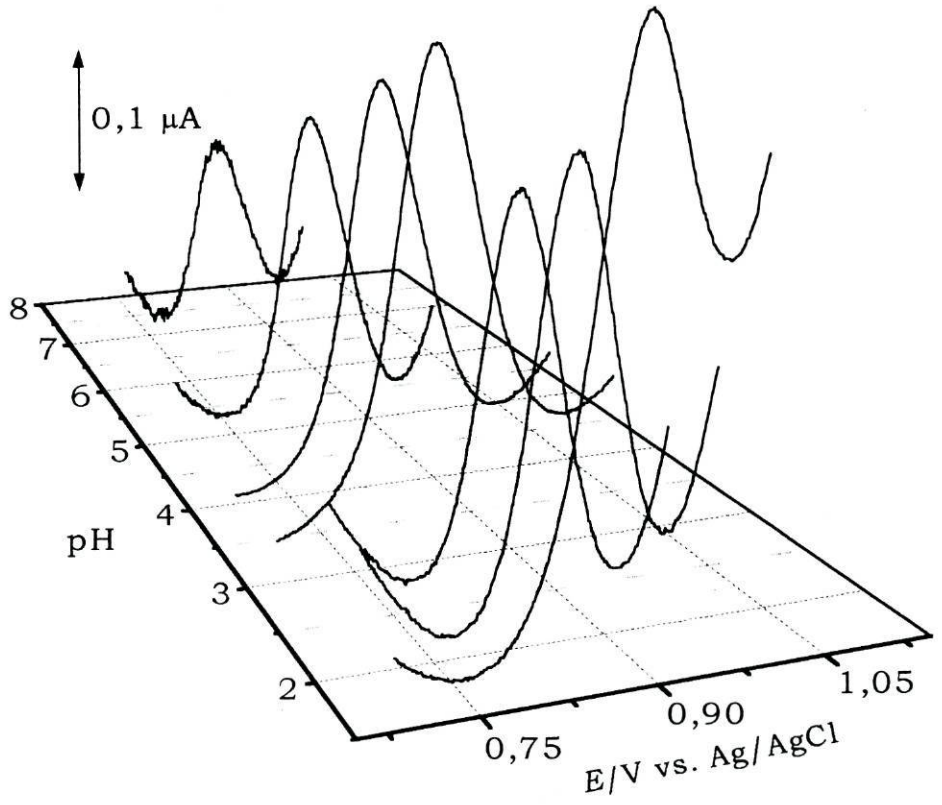


Fig. 3.2 Voltamogramas de impulso diferencial obtidos para uma solução de bentazona de concentração $2x10^{-5}$ $molL^{-1}$, em diferentes soluções de electrólito (Tabela 2.2). Velocidade de varrimento de 5 mVs^{-1} e amplitude de impulso 50 mV.

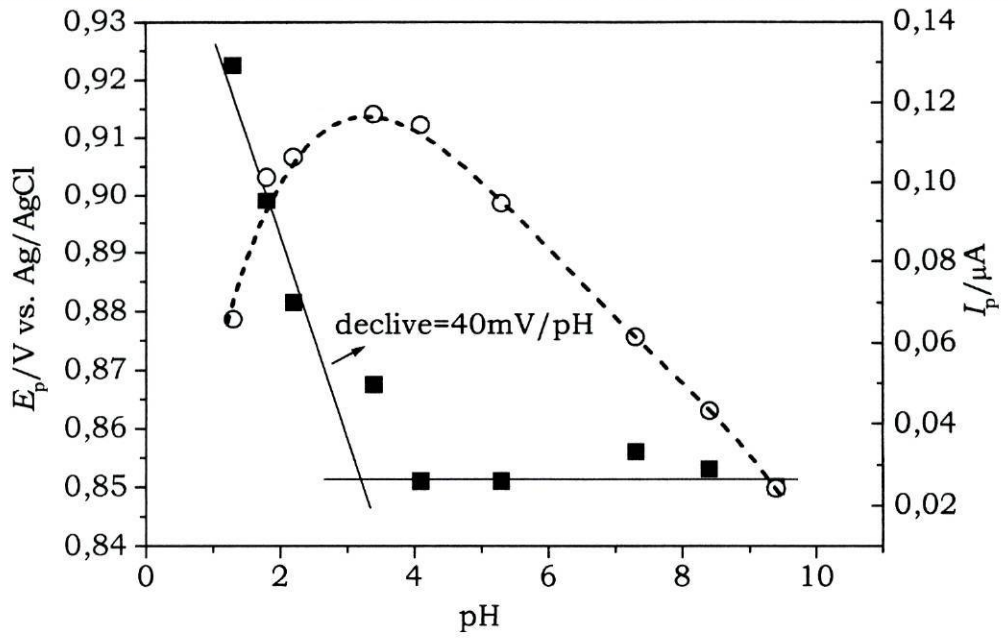


Fig. 3.3 Gráfico de (■) E_p vs. pH e (O) I_p vs. pH, de uma solução de bentazona de concentração $2x10^{-5}$ $molL^{-1}$.

Na avaliação do comportamento electroquímico do MCPA, verificou-se que a oxidação ocorre a +1,2 V vs Ag/AgCl (Fig. 3.4) e é praticamente independente do pH. Para valores de pH superiores a 9, observa-se um pico de baixa intensidade de corrente, sendo por isso mal definido.

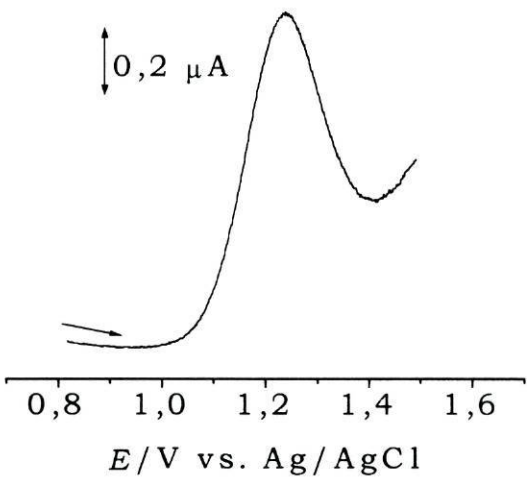


Fig. 3.4 Voltamograma de impulso diferencial de uma solução de MCPA de concentração $1x10^{-4}$ $molL^{-1}$ em tampão de CH_3COOH/CH_3COONa com pH=3,4 Velocidade de varrimento 5 mVs^{-1}, amplitude 50 mV .

No gráfico de I_p vs. pH obtém-se um máximo de corrente num intervalo entre pH=3 e pH=5. Optou-se por usar pH = 3,4 para os estudos seguintes, por ser o pH seleccionado para a bentazona.

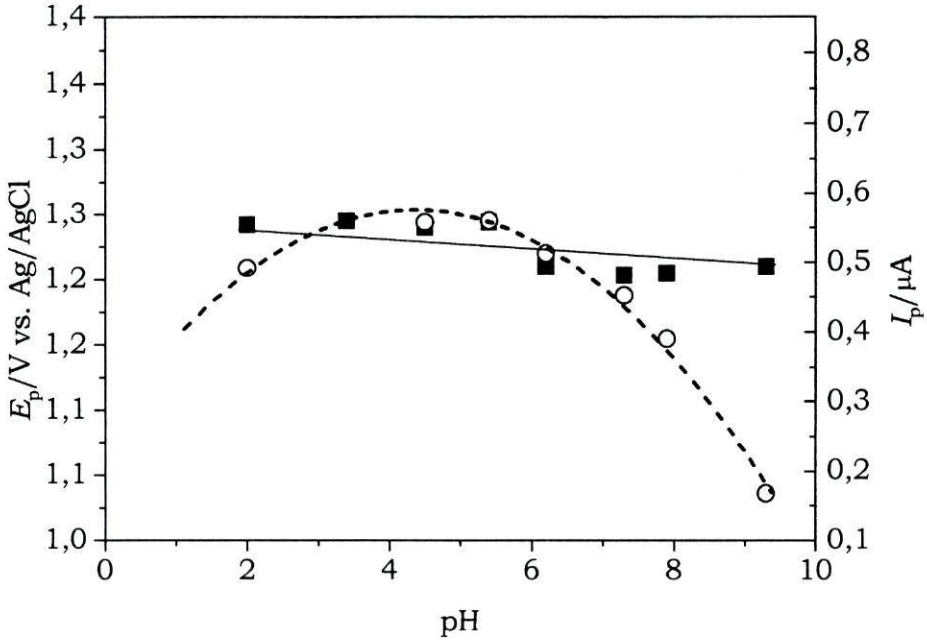


Fig. 3.5 Gráfico de (■) E_p vs. pH, e (O) I_p vs. pH de uma solução de MCPA de concentração $1x10^{-4}$ molL^{-1}.

3.2.2 Influência da força iónica

Estudou-se por voltametria de impulso diferencial o comportamento electroquímico da bentazona e do MCPA, com a variação da força iónica. Usaram-se soluções tampão de CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4 e força iónica cerca de 0,2, 0,08, 0,04 e 0,02 molL^{-1}. Observou-se (Fig. 3.6 e 3.7) aumento da corrente de pico com o aumento da força iónica e o potencial de pico desloca-se para valores de potenciais mais baixos. Para um valor de força iónica superior a 0,2 molL^{-1} obtém-se uma corrente de fundo muito elevada. Em estudos posteriores, usaram-se soluções de electrólito de pH = 3,4 e força iónica 0,2 molL^{-1}, dado que nestas condições observa-se uma maior razão sinal/ruído.

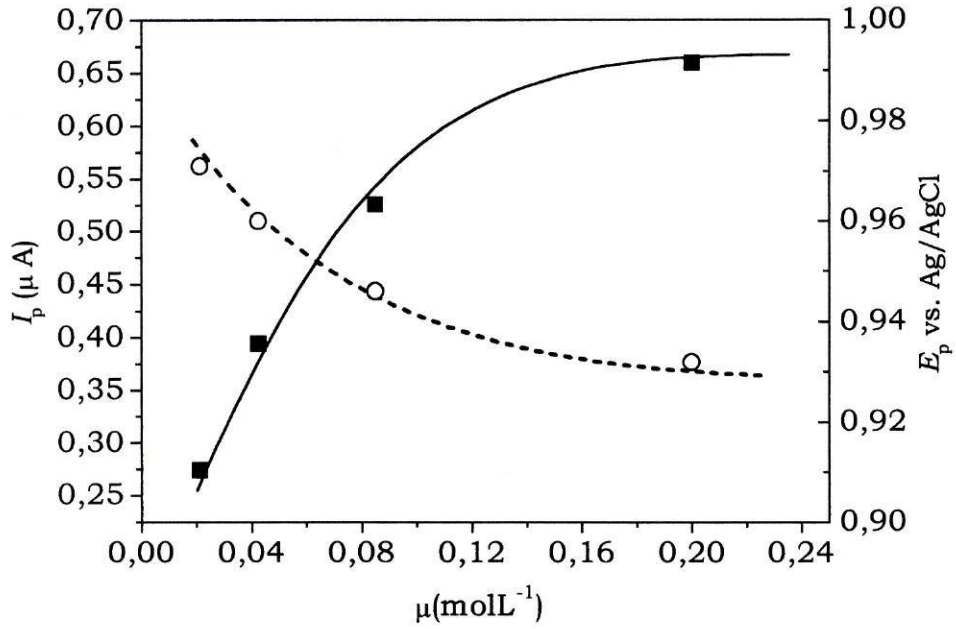


Fig.3.6 Gráfico de (■) E_p vs. μ e (O) I_p vs. μ para uma solução de bentazona de concentração 2x10^{-5} molL^{-1}, em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4.

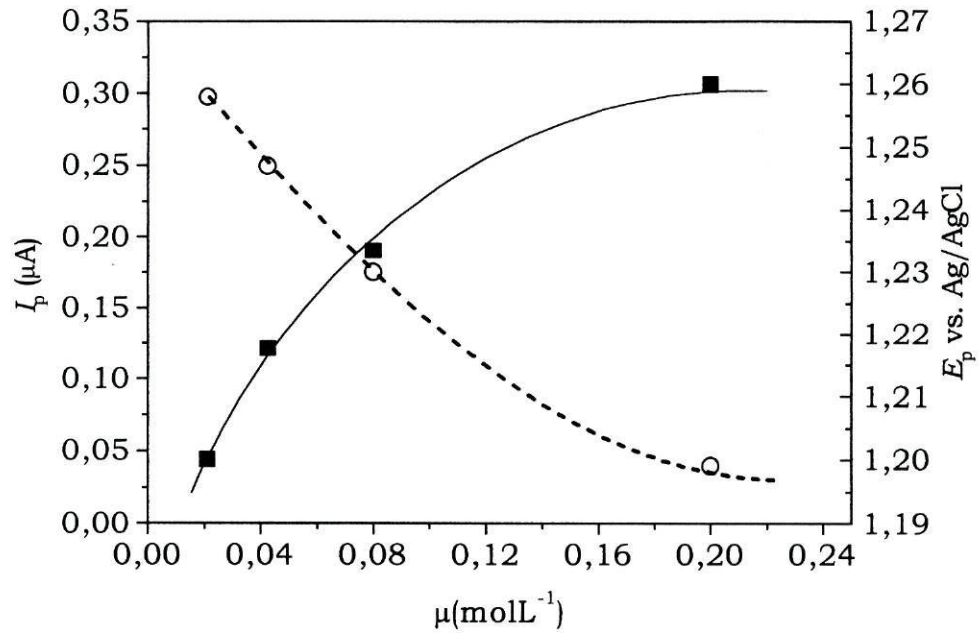


Fig.3.7 Gráfico de (■) *E*p vs. μ e (O) *I*p vs. μ para uma solução de MCPA de concentração 6x10^{-4} molL^{-1}, em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4.

3.2.3 Voltametria cíclica

Os voltamogramas cíclicos da bentazona e do MCPA foram determinados em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4 e força iónica cerca de 0,2 $molL^{-1}$, a velocidades de varrimento que oscilaram entre 20 mVs^{-1} e 300 mVs^{-1}.

As Tabelas 3.2 e 3.3 resumem os dados obtidos a partir dos voltamogramas cíclicos (Figs. 3.8 e 3.9).

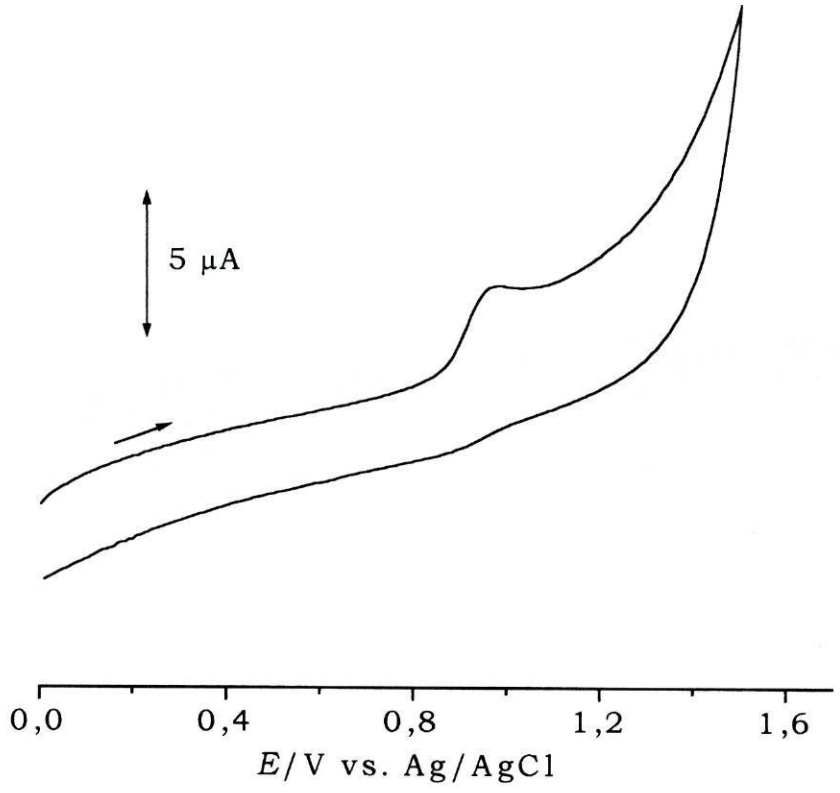


Fig.3.8 Voltamograma cíclico de uma solução de bentazona de concentração $1x10^{-4}$ $molL^{-1}$ em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4. Velocidade de varrimento 100 mVs^{-1}.

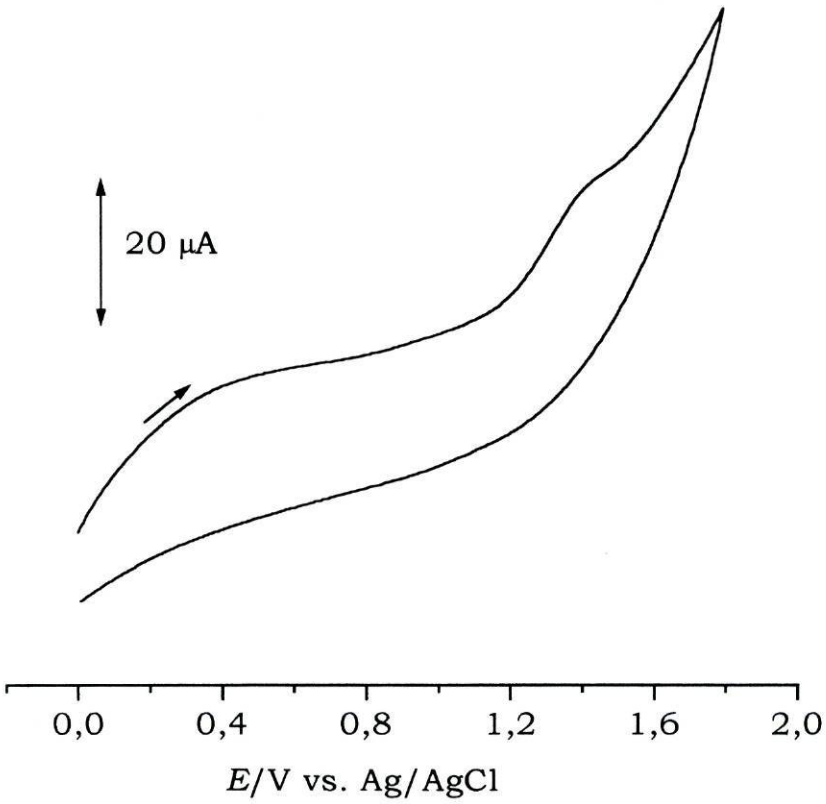


Fig.3.9 Voltamograma cíclico de uma solução de MCPA de concentração $6x10^{-4}$ $molL^{-1}$ em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4. Velocidade de varrimento 100 mVs^{-1}.

Tabela 3.2 Dados de voltametria cíclica para uma solução de bentazona de concentração $1x10^{-4}$ $molL^{-1}$, em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4 num eléctrodo de carbono vítreo.

v/Vs^{-1}	$I_p/\mu A$	E_p/V vs. Ag/AgCl	E_p-$E_{p/2}$
0,04	0,974	0,956	0,062
0,06	1,16	0,956	0,056
0,08	1,32	0,956	0,056
0,10	1,46	0,956	0,050
0,12	1,53	0,960	0,057
0,14	1,64	0,967	0,057
0,16	1,78	0,972	0,061
0,20	1,94	0,971	0,057

Tabela 3.3 Dados de voltametria cíclica para uma solução de MCPA de concentração $6x10^{-4}$ molL^{-1}, em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4, num eléctrodo de carbono vítreo.

v/Vs^{-1}	$I_p/\mu A$	E_p/V vs. Ag/AgCl	E_p-$E_{p/2}$
0,05	2,08	1,37	0,093
0,10	3,81	1,40	0,11
0,15	4,90	1,45	0,13
0,20	6,00	1,48	0,11
0,25	7,25	1,51	0,11
0,30	8,01	1,51	0,15

A oxidação electroquímica da bentazona ocorre a +0,96 V e do MCPA a +1,20 V vs Ag/AgCl deslocando-se ambos os picos para valores mais positivos com o aumento da velocidade de varrimento. E_p - $E_{p/2} \cong$ 0,06 V para a bentazona e E_p - $E_{p/2} \cong$ 0,11 V para o MCPA. Os resultados revelaram que a técnica é tanto mais sensível quanto maior a velocidade de varrimento, o que seria de esperar tendo em conta o comportamento adsorptivo de cada uma das espécies estudadas.

Os voltamogramas cíclicos mostram que os processos de oxidação correspondem a reacções irreversíveis, dado não se ter observado um pico quando o varrimento é realizado no sentido inverso.

A representação gráfica de I_p vs. $v^{½}$ (Fig. 3.10) é uma relação linear, indicando para ambos os casos que a oxidação é controlada por um processo de difusão.

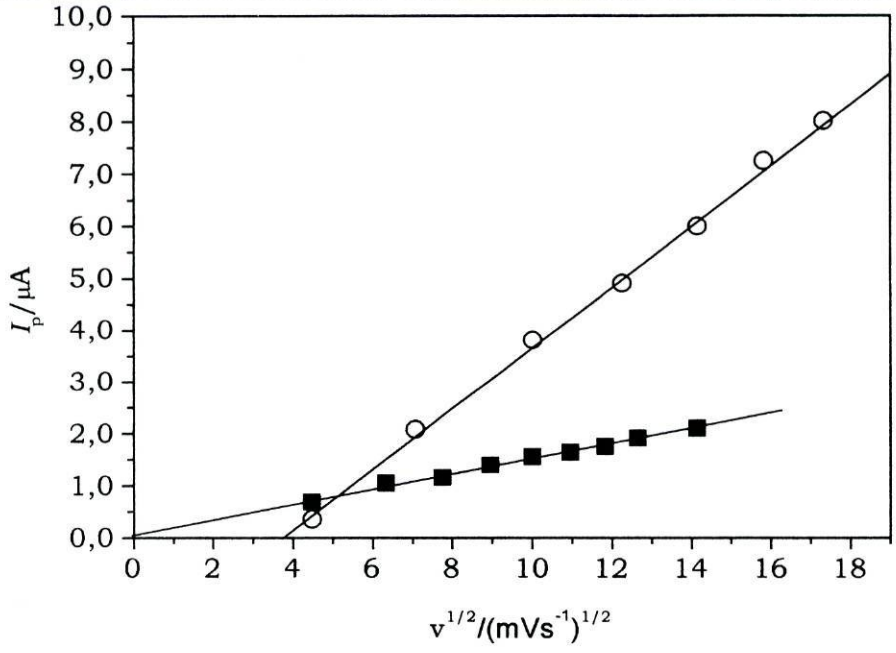


Fig.3.10 Gráfico de *I*p vs. $v^{1/2}$ (■) de uma solução de bentazona de concentração $1x10^{-4}$ $molL^{-1}$ e (O) de uma solução de MCPA de concentração $6x10^{-4}$ $molL^{-1}$, em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4.

Com o objectivo de determinar o número de electrões postos em jogo, foram efectuados, em condições semelhantes às dos herbicidas em estudo (tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH=3,4), voltamogramas cíclicos de ferrocianeto de potássio, composto cujo comportamento electroquímico em soluções aquosas está bem estabelecido na literatura [136].

Sabe-se que a oxidação electroquímica do ferrocianeto em eléctrodos de carbono vítreo, corresponde a um processo reversível com a transferência de 1 electrão por molécula. Deve-se notar porém que o conhecimento do valor do coeficiente de difusão de uma substância, neste caso do ferrocianeto, depende das condições do meio. Deste modo, foi calculado o seu valor pela determinação do coeficiente angular da recta de I_p vs. $v^{1/2}$ (Fig. 3.11), e substituição na equação:

$$D= [m/(2,69x10^5 \times n \times A \times c_{Fe})]^{1/2} ,$$

sendo m = coeficiente angular, n = 1, A = área do eléctrodo e c_{Fe} = concentração em solução do ferrocianeto de potássio. Obtendo-se o valor de D = $1x10^{-5}$ cm^2s^{-1}.

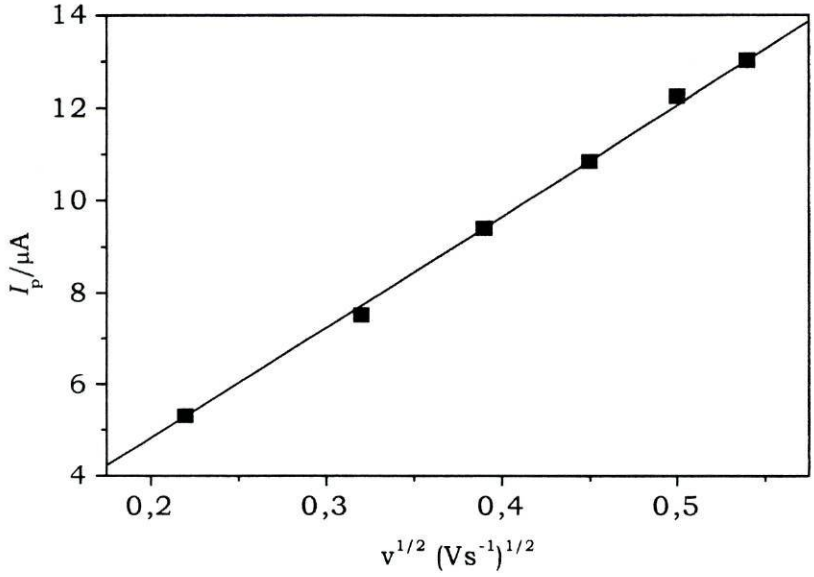


Fig.3.11 Gráfico de I_p vs. $v^{1/2}$ de uma solução de ferrocianeto de potássio de concentração $4x10^{-3}$ $molL^{-1}$ em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH=3,4.

Considerando que a bentazona e o MCPA possuem no electrólito utilizado, coeficientes de difusão idênticos ao do ferrocianeto e usando as equações correspondentes a um processo irreversível [136],

$E_p-E_{p/2}=0,048/\alpha n_\alpha$ e $I_p=2,99\times10^5 n(\alpha n_\alpha)^{1/2} A\, c\, D^{1/2} v^{1/2}$,

foi possível determinar o número de electrões envolvidos na reacção de eléctrodo como sendo igual a 1 para ambos os herbicidas.

3.2.4 Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada foi utilizada para estudar o comportamento da oxidação da bentazona e MCPA no eléctrodo de carbono vítreo ao pH e força iónica seleccionados anteriormente. O efeito da frequência da onda quadrada na intensidade de corrente de pico, para soluções de bentazona e de MCPA com concentrações de $2x10^{-5}$ e $6x10^{-4}$ $molL^{-1}$ respectivamente, foi avaliado para uma gama de frequências entre 10 Hz e 140 Hz.

As Figs. 3.12 e 3.13 mostram o voltamograma obtido para cada um dos herbicidas, onde a corrente total (I_t) é a diferença entre a corrente directa e a corrente inversa, ou seja, entre a corrente anódica e a corrente catódica (I_f-I_b).

No gráfico de I_p vs. $w^{1/2}$, obtém-se duas rectas, confirmando-se que para a bentazona e para o MCPA, os processos de eléctrodo são controlados por difusão (Fig. 3.14).

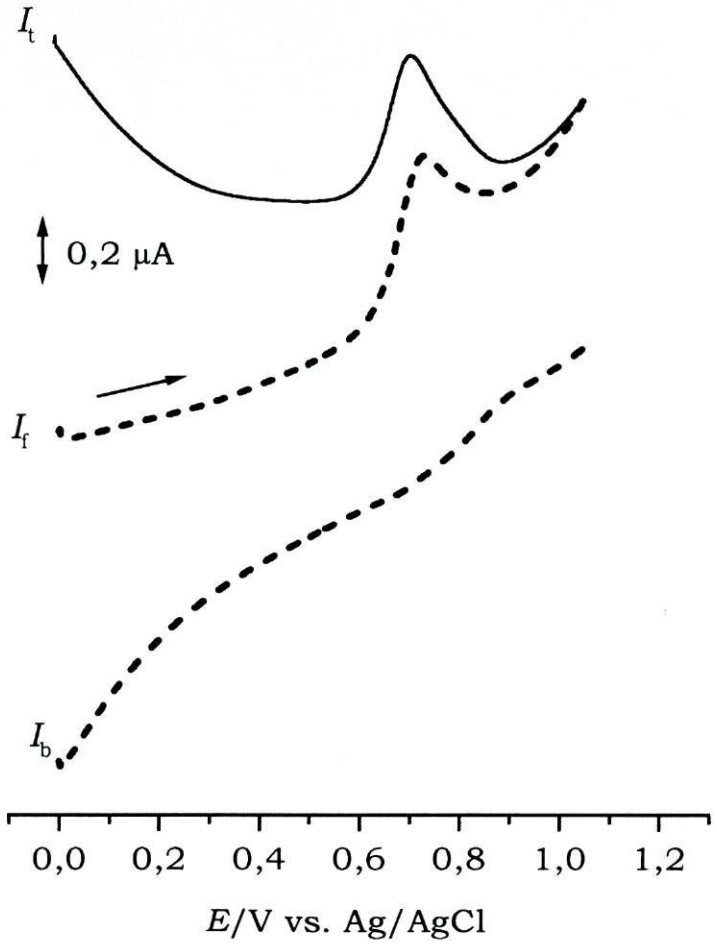


Fig.3.12 Voltamograma de onda quadrada de uma solução de bentazona de concentração $2x10^{-5}$ $molL^{-1}$ em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH=3,4. Corrente total (—), I_f e I_b (----). Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial 1 mV e velocidade de varrimento efectiva 50 mVs^{-1}.

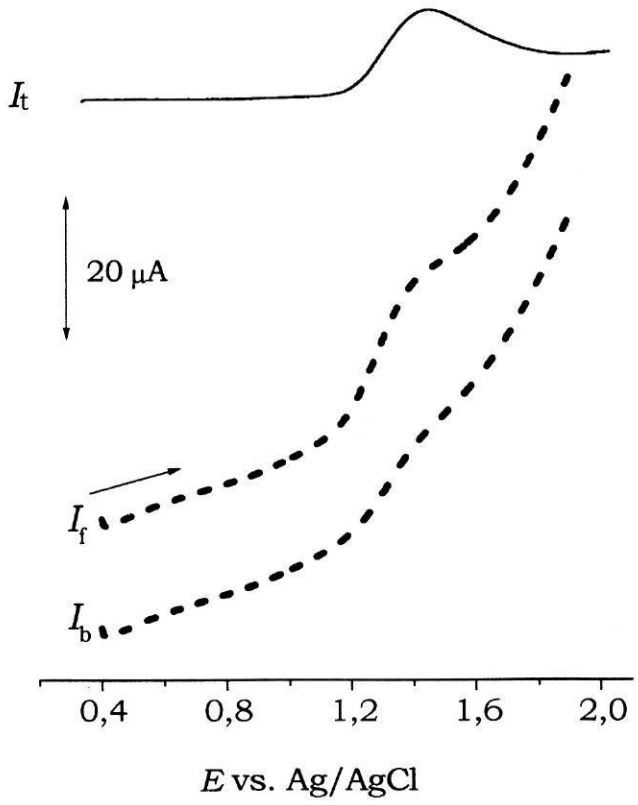


Fig.3.13 Voltamograma de onda quadrada de uma solução de MCPA de concentração $6x10^{-4}$ $molL^{-1}$, em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH=3,4. Corrente total (—), I_f e I_b (----). Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial 1 mV e velocidade de varrimento efectiva 50 mVs^{-1}.

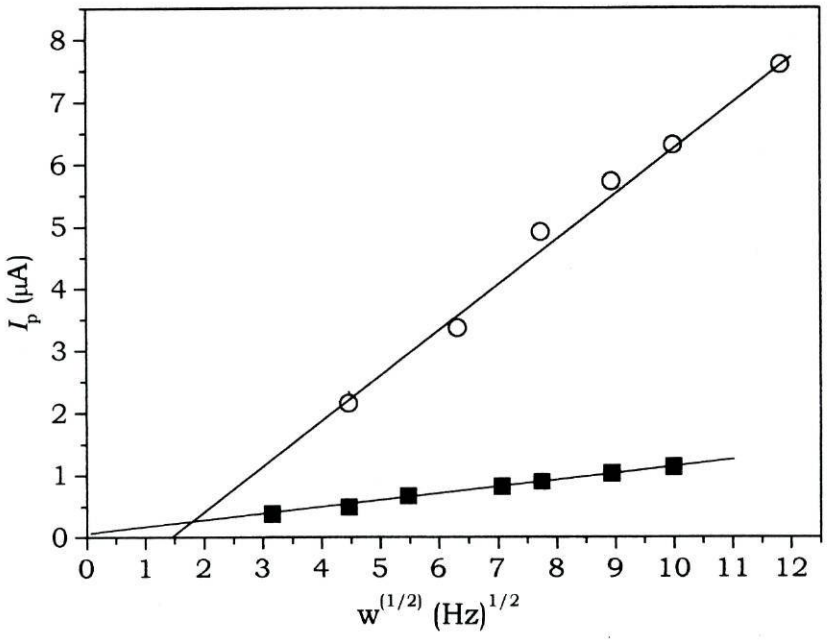


Fig.3.14 Relação de I_p vs. $w^{1/2}$ (■) para uma solução de bentazona de concentração $2x10^{-5}$ $molL^{-1}$, e (O) para uma solução de MCPA de concentração $6x10^{-4}$ $molL^{-1}$, em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH=3,4.

3.2.5 Tratamento electroquímico do eléctrodo de carbono vítreo

No estudo electroquímico destes compostos, verificou-se que sucessivos varrimentos, provocavam um decréscimo na intensidade de corrente de pico, sobretudo para a bentazona, o que significa que os produtos da oxidação adsorvem fortemente à superfície do eléctrodo. Deste modo, foi necessário proceder à optimização do tratamento electroquímico da superfície do eléctrodo de trabalho (Tabela 2.1).

Estabelecido o condicionamento do eléctrodo, fez-se um varrimento entre 0,0 e 1,8 V, para todas as soluções de electrólito usadas (Fig. 3.15), observando-se, uma menor corrente de fundo para valores de pH compreendidos entre 3,4 e 5,4. Neste intervalo de pH, a evolução do solvente ocorre para potenciais superiores a +1,5 V.

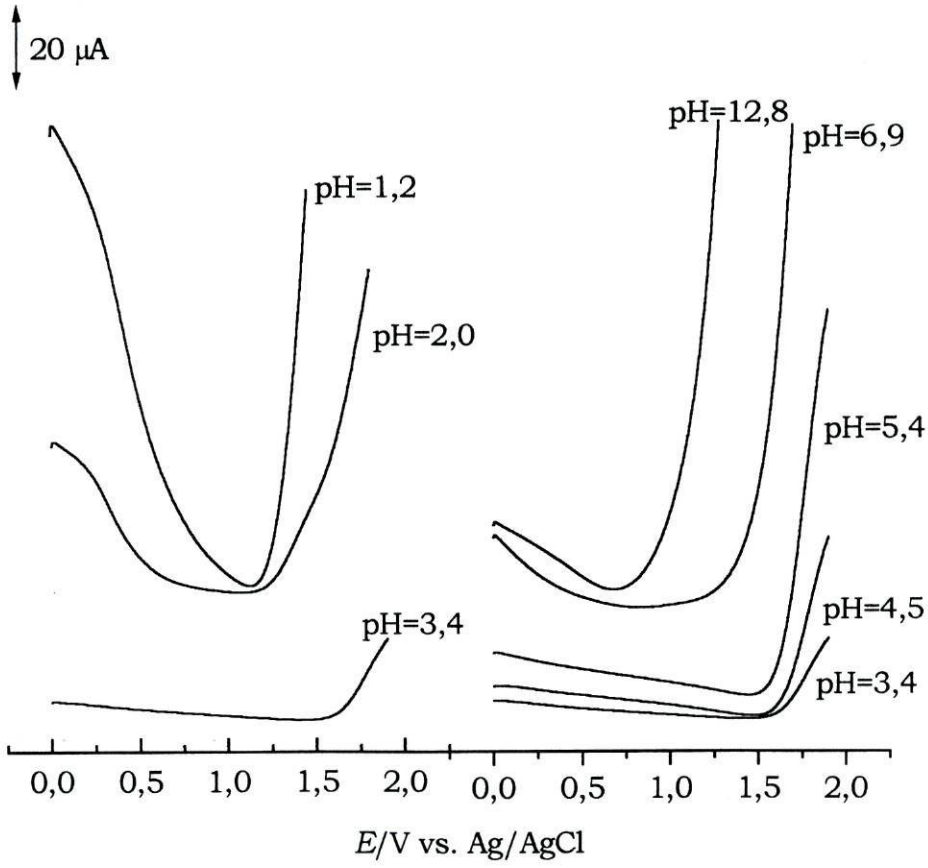


Fig. 3.15 Estudo da variação da linha de base para soluções de electrólito de pH(s) compreendidos entre 1,2 e 12,8 [Tabela 2.2], nas condições óptimas de doseamento da bentazona.

Este facto, aliado ao máximo de corrente obtido para pH=3,4 unidades, conduziu à selecção deste valor de pH para quantificação da bentazona e MCPA.

A evolução do solvente para valores superiores a +1,1 V em soluções tampão de KCl/HCl (pH=1,2 e pH=2,0) (Tabela 2.2), é justificada pelo facto de nestas condições, ocorrer a oxidação electroquímica do anião cloreto (equação 3.2).

$$Cl^- \longrightarrow \tfrac{1}{2}\, Cl_2 + 1e^- \qquad \text{(eq 3.2)}$$

Para soluções alcalinas, com o aumento do pH, verifica-se um deslocamento do potencial de evolução do solvente para valores de potenciais menos positivos. Este facto é devido à oxidação de OH^- presente em concentração crescente.

$$2\ OH^- \longrightarrow H_2O + \tfrac{1}{2}\ O_2 + 1e^- \qquad \text{(eq 3.3)}$$

3.3 DETERMINAÇÃO ELECTROANALÍTICA DA BENTAZONA E DO MCPA

3.3.1 Calibração

No desenvolvimento do método electroanalítico para a determinação da bentazona e do MCPA, concluiu-se que a voltametria de onda quadrada era a técnica mais sensível.

A forte adsorção dos produtos formados à superfície do eléctrodo durante a oxidação da bentazona, mesmo após tratamento electroquímico no início de cada calibração, não permite a obtenção duma relação linear I_p vs. concentração (Fig. 3.16a). Para resolver este problema, estudou-se o comportamento electroquímico deste herbicida na presença de diferentes percentagens de Triton, que em certos casos é utilizado como constituinte inerte das formulações fitofarmacêuticas [137].

Para percentagens de Triton inferiores a 1% ocorre adsorção, obtendo-se uma curvatura no gráfico I_p vs. concentração (Fig. 3.16 b). Para concentrações de Triton iguais ou superiores a 1% observa-se linearidade no gráfico I_p vs. concentração de bentazona (Fig. 3.16 c e d) diminuindo porém a intensidade de corrente de pico com o aumento da concentração de Triton.

Estes resultados permitem concluir que para concentrações baixas de Triton este não é adsorvido preferencialmente na superfície do eléctrodo de carbono vítreo, continuando a observar-se a adsorção dos produtos de reacção da bentazona. Aumentando fortemente a concentração do tensioactivo esta espécie começa a inibir o sinal da bentazona, verificando-se deste modo uma saturação do eléctrodo. Ao adicionar 1% de Triton ocorre a adsorção do tensioactivo na superfície do eléctrodo, impedindo a adsorção dos produtos da

reacção da bentazona, obtendo-se uma relação linear entre I_p e concentração, sem perdas significativas da amplitude de sinal.

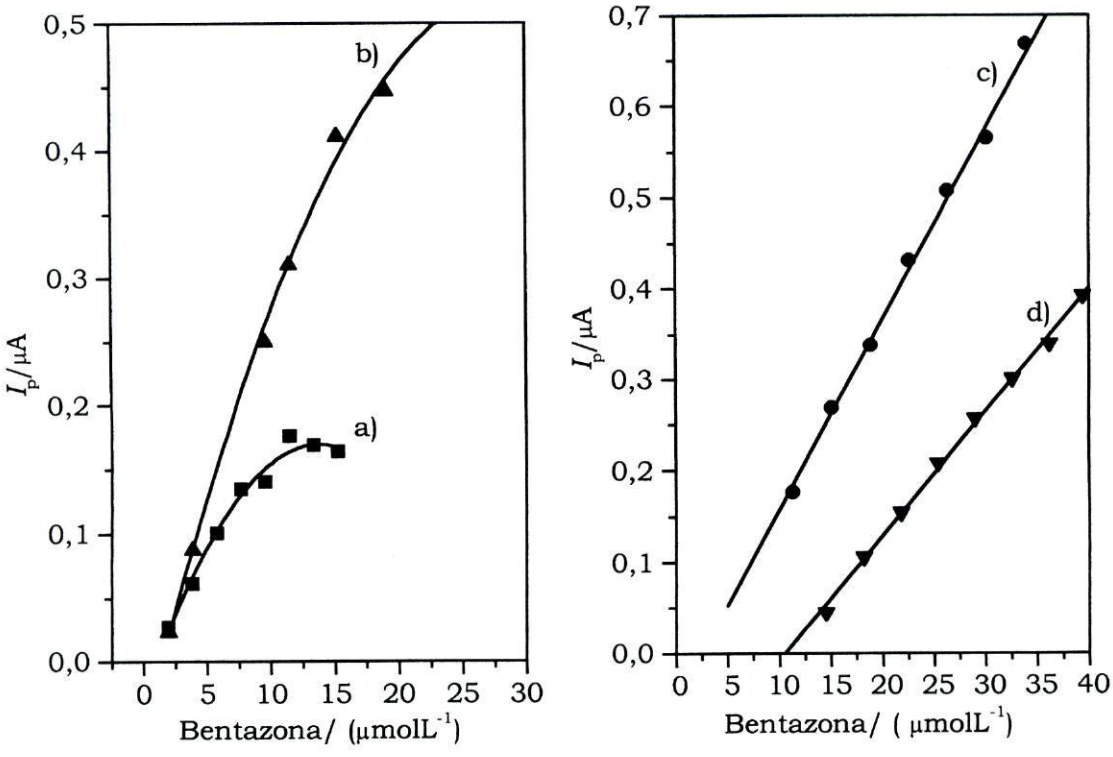


Fig. 3.16 Gráfico de I_p vs. concentração de bentazona para diferentes percentagens de Triton na solução a) sem adição de Triton, b) com adição de 0,1% Triton, c) com adição de 1% de Triton d) com adição de 5% de Triton. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH=3,4.

Nas condições óptimas de análise (pH=3,4, força iónica cerca de 0,2 molL^{-1}, tratamento electroquímico e mecânico antes de cada calibração, adição de 1% de Triton, frequência 50 Hz e incremento de potencial 1 mV), traçaram-se curvas de calibração no intervalo de concentrações para a bentazona entre 1,51x10^{-5} - 2,26x10^{-5} molL^{-1} e para o MCPA entre 1,57x10^{-6} - 4,70x10^{-5} molL^{-1}.

Os voltamogramas de onda quadrada obtidos correspondentes às calibrações respectivamente, de bentazona e MCPA, estão representados nas Figs. 3.17 e 3.18.

Obtiveram-se valores médios de coeficientes de correlação de 0,999 para as rectas de calibração da bentazona e de 0,996 para o MCPA.

Na Tabela 3.4 estão apresentados os valores médios e os erros associados respectivamente ao declive e ordenada na origem para cada um dos herbicidas, com um intervalo de confiança de 95 % [138].

Tabela 3.4 Declives e ordenadas na origem relativos às rectas de calibração para a bentazona e MCPA.

Herbicida	**Equação da recta (n=5)**	**Declive** $b \pm t\, s_b$/Amol^{-1}L	**Ordenada na origem** $a \pm t\, s_a$/A
Bentazona	**y**= 0,0134 **x** – 4,451 x 10^{-8}	0,013± 0,003	-4 x 10^{-8} ± 5 x 10^{-8}
MCPA	**y**= 0,00996 **x** + 6.661 x 10^{-8}	0,010± 0,001	7 x10^{-8} ± 9 x 10^{-8}

a-ordenada na origem; Sa-erro associado à ordenada na origem; b-declive; Sb-erro associado ao declive, n-número de soluções padrão

Nas condições experimentais referidas os limites de detecção obtidos são de 1,3x10^{-5} molL^{-1} e de 8,6x10^{-6} molL^{-1} respectivamente para a bentazona e MCPA. Estes valores foram determinados, calculando o valor da concentração correspondente a 3 x amplitude do ruído de fundo [139].

Estudou-se a repetibilidade de 6 medições de cada herbicida relativas a padrões de bentazona de concentração 1,53x10^{-5}, 1,91x10^{-5} e 2,30x10^{-5} molL^{-1}, obtendo-se coeficientes de variação de 1,8%, 2,6% e 0,9% respectivamente. No caso do MCPA para soluções padrão de concentração 7,87x10^{-6}, 1,57x10^{-5} e 2,74x10^{-5} molL^{-1}, obtiveram-se coeficientes de variação de 2,5%, 3,6% e 2,8% respectivamente.

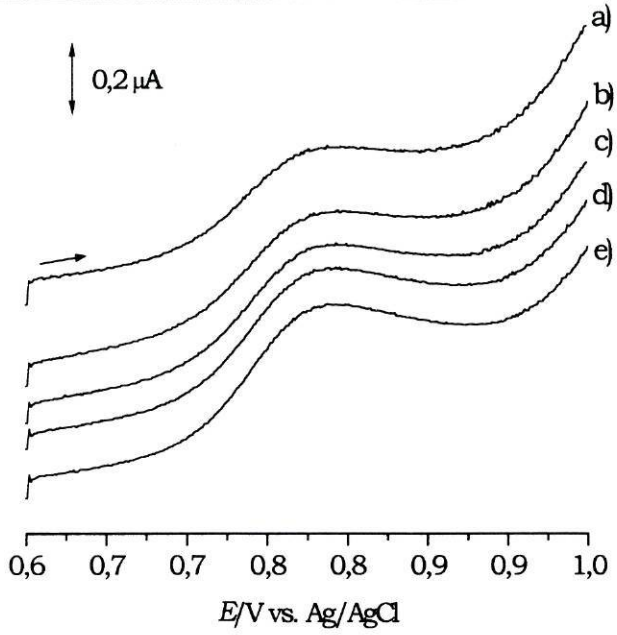


Fig.3.17 Voltamogramas de onda quadrada da bentazona em tampão CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4 a) $1,51x10^{-5}$, b) $1,70x10^{-5}$, c) $1,89x10^{-5}$ d) $2,07x10^{-5}$ e) $2,26x10^{-5}$ $molL^{-1}$. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial de 1 mV.

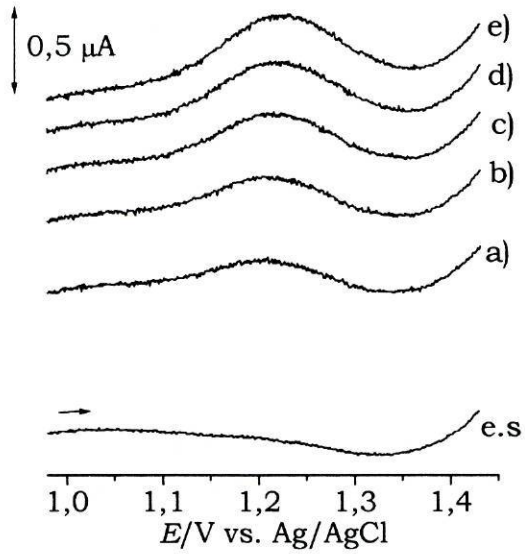


Fig.3.18 Voltamogramas de onda quadrada do MCPA em tampão acetato CH_3COOH/CH_3COONa com pH = 3,4 a) $1,57x10^{-5}$, b) $2,36x10^{-5}$, c) $3,14x10^{-5}$, d) $3,92x10^{-5}$, e) $4,70x10^{-5}$ $molL^{-1}$. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial de 1 mV.

3.3.2 Estudo da interferência do MCPA no sinal voltamétrico da bentazona

Existe um produto comercial *(Quitt)* em que a bentazona e o MCPA aparecem conjuntamente como substâncias activas (Tabela 2.7). Para avaliar a possibilidade de doseamento de cada um dos herbicidas na presença do outro, interessa estudar a interferência destes entre si.

Como se verificou anteriormente o máximo de amplitude de sinal para estes dois compostos obtém-se para pH = 3,4, sendo nestas condições o potencial de oxidação para a bentazona de +0,95 V e para o MCPA de +1,2 V vs Ag/AgCl. Apesar desta diferença de potenciais, a proporção das suas concentrações (7:1 p/p) na amostra comercial (*Quitt*) e a reduzida amplitude do sinal analítico fornecido pelo MCPA relativamente ao correspondente à bentazona, dificultam o doseamento simultâneo dos dois compostos. Para se conseguir obter um bom sinal analítico do MCPA, tem que se aumentar a concentração da amostra, aumentando-se assim também a concentração da bentazona, observando-se por isso uma má resolução dos dois picos de oxidação relativos aos dois herbicidas (Fig.3.19).

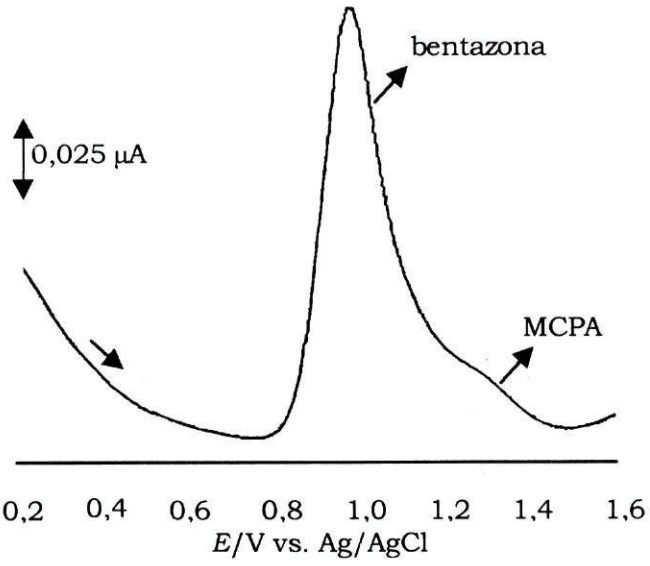


Fig.3.19 Voltamograma de onda quadrada de uma solução de amostra comercial Quitt, com concentração em bentazona de cerca de $3x10^{-4}$ $molL^{-1}$ e concentração em MCPA de cerca de $5x10^{-5}$ $molL^{-1}$, em tampão CH_3COOH/CH_3COONa $molL^{-1}$ com pH = 3,4. Frequência 50 Hz , amplitude de sinal 50 mV e incremento de potencial 1 mV.

Mesmo em soluções que contenham iguais concentrações de ambos os herbicidas, a determinação do MCPA na presença de bentazona é difícil, devido à forte adsorção dos produtos de oxidação da bentazona que provocam o envenenamento do eléctrodo.

Para prevenir esta adsorção, adicionou-se Triton a uma solução contendo as duas substâncias em concentrações equimolares, de modo a obter uma concentração final deste tensioactivo de 1% v/v. Observou-se que os voltamogramas só apresentam o pico correspondente à oxidação da bentazona (Fig. 3.20), inibindo assim o sinal do MCPA.

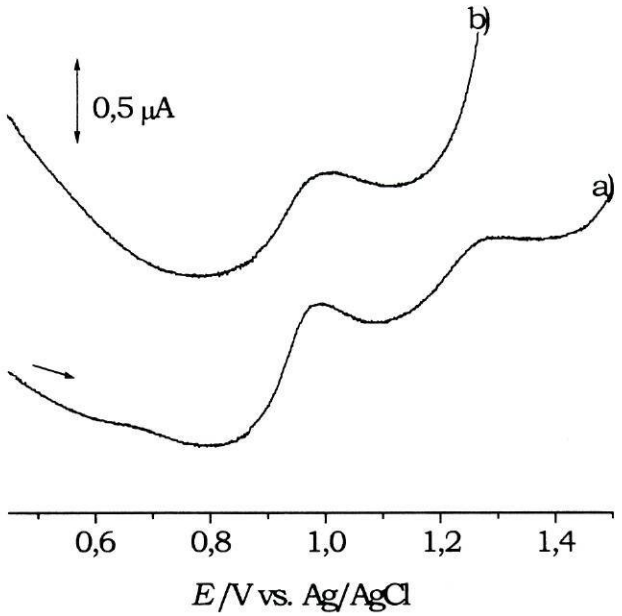


Fig. 3.20 Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de concentração equimolar (3,9 x 10^{-4} $molL^{-1}$) em bentazona e MCPA em solução tampão acetato 0,2 $molL^{-1}$ e pH = 3,4 a) sem adição de Triton e b) com adição de 1% de Triton.

Estes resultados permitem concluir que com a adição de Triton X-100 é inibida a adsorção dos produtos de reacção de oxidação da bentazona e é dificultada a reacção de oxidação do MCPA, cujo potencial é deslocado para valores mais positivos, não se observando assim a interferência do MCPA na resposta electroquímica da bentazona, para soluções contendo uma mistura destes dois herbicidas.

3.3.3 Doseamento da bentazona em produtos fitofarmacêuticos

Fez-se o doseamento da Bentazona em dois produtos comercializados em Portugal e usados nas culturas de arroz de nomes comerciais Basagran e Quitt. Relativamente ao Basagran, foi realizado o doseamento sobre duas amostras provenientes de fornecedores diferentes, designadas por amostras A e B. Fizeram-se 7 determinações independentes de cada uma das amostras.

A exatidão do método foi inicialmente avaliada determinando os respectivos índices de recuperação, obtendo-se um valor médio de 98%.

Posteriormente, compararam-se ainda os resultados obtidos por voltametria, com os obtidos pelo método da AOAC descrito na literatura, em que se utiliza a técnica de HPLC com detecção UV [86], para doseamento da bentazona em produtos fitofarmacêuticos, e que constitui tanto quanto foi possível avaliar, o único trabalho dedicado à determinação deste herbicida neste tipo de matriz. Na Fig.3.21 estão representados dois cromatogramas, do padrão e da amostra de bentazona, respectivamente.

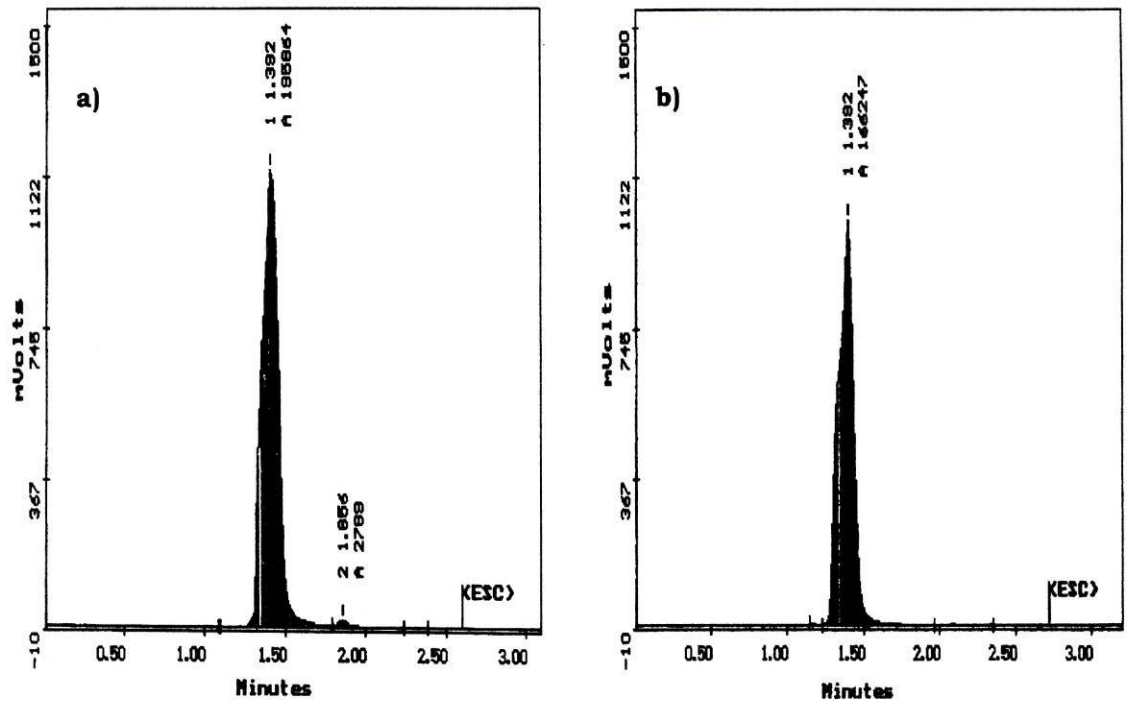


Fig. 3.21 HPLC de (a) uma solução padrão de bentazona de concentração $2{,}52 \times 10^{-3}$ molL^{-1} e b) solução da amostra comercial Quitt.

Os valores relativos à média da % p/p obtida pelo método electroanalítico desenvolvido e pelo método AOAC de comparação e os índices de recuperação estão na Tabela 3.5 indicando-se ainda os respectivos desvios padrão.

Tabela 3.5 Média dos resultados obtidos (%p/p) para 7 determinações de bentazona em produtos comerciais, usando o método voltamétrico e o método da AOAC; correspondentes desvios padrões e razões de recuperação.

Produto Comercial	**Método voltamétrico (*%p/p*)**	**Método da AOAC (*%p/p*)**	**Razão de recuperação (%)**
A de Basagran	41,76 ± 1,49	42,68 ± 0,64	99,3 ± 3,2
B de Basagran	40,90 ± 1,45	42,05 ± 0,74	97,7 ± 4,8
Quitt	36,38 ± 0,68	35,97 ± 0,32	98,6 ± 4,5

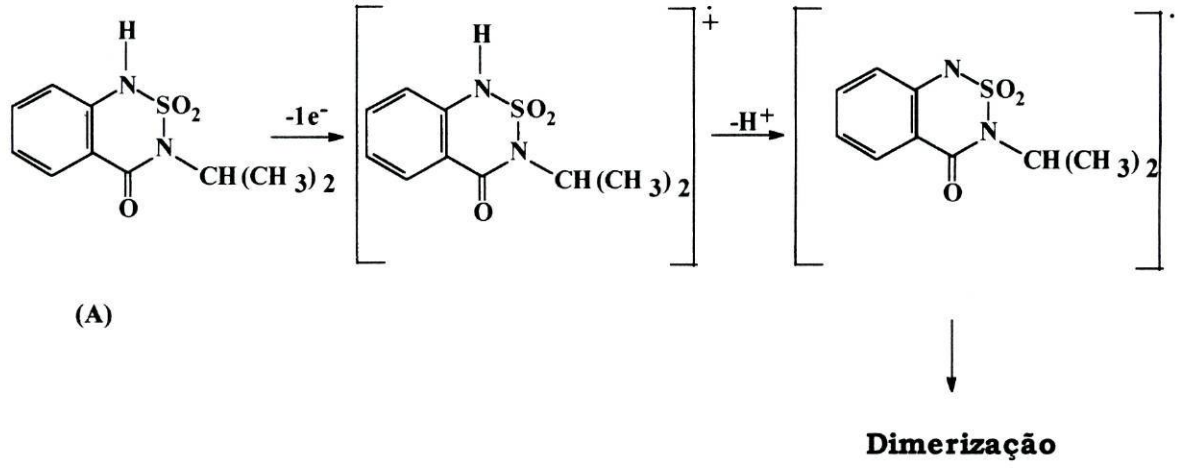
A comparação da média dos valores obtidos pelo método voltamétrico e pelo método da AOAC foi feita utilizando o teste t-student [138]. Verificou-se que para um nível de confiança de 95%, os valores de t-student calculados (1,16 para amostra A de Basagran, 1,44 para amostra B de Basagran e de 1,55 para Quitt) foram sempre inferiores aos respectivos valores tabelados (2,26 para a amostra A de Basagran, 2,31 para a amostra B de Basagran e 4,99 para Quitt), portanto poder-se-á concluir que os valores médios das concentrações obtidos pelo método voltamétrico e pelo método da AOAC são estatisticamente semelhantes.

Foram ainda calculados os erros relativos para ambos os métodos observando-se valores sempre inferiores a 2,4 %.

3.4. CONCLUSÕES

A bentazona e o MCPA são substâncias electroactivas em eléctrodos de carbono vítreo. Os seus processos de oxidação são irreversíveis e controlados por difusão.

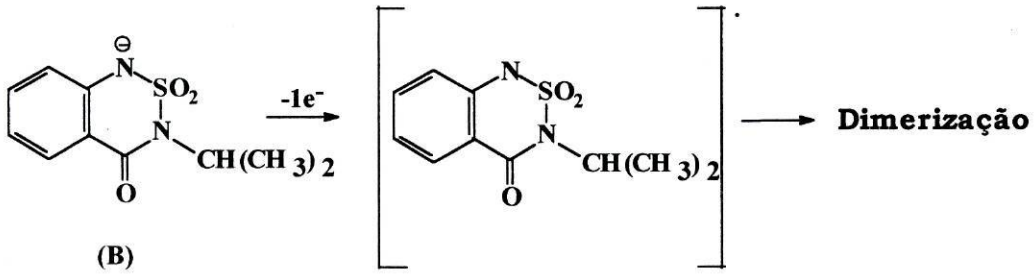
Relativamente à bentazona concluíu-se que, em soluções de pH < 3,2 unidades existe predominantemente em solução a espécie (A) e em soluções pH > 3,2 a espécie aniónica (B) (equação 3.1). Para valores de pH inferiores a 3,2 unidades a dependência do potencial de pico com o pH é de 40 mV/pH o que significa que o mecanismo da reacção corresponde a uma transferência electrónica seguida de uma reacção química, provavelmente uma dimerização, sendo o número de electrões envolvido igual a 1. De acordo com os resultados obtidos e com trabalhos existentes na literatura para compostos similares [140] propõe-se de seguida um possível mecanismo para a oxidação da forma ácida da bentazona (A) (Esquema 3.1). Neste caso o mecanismo corresponde, num primeiro passo, a uma transferência electrónica com formação de um radical catiónico, seguida da perda de um protão. Por ultimo a formação de um dímero resultante provavelmente do acoplamento carbono-carbono devido à estabilização do grupo fenilo por deslocalização electrónica ou também do acoplamento azoto-azoto.



Esquema 3.1 Mecanismo de oxidação da bentazona, em meio ácido.

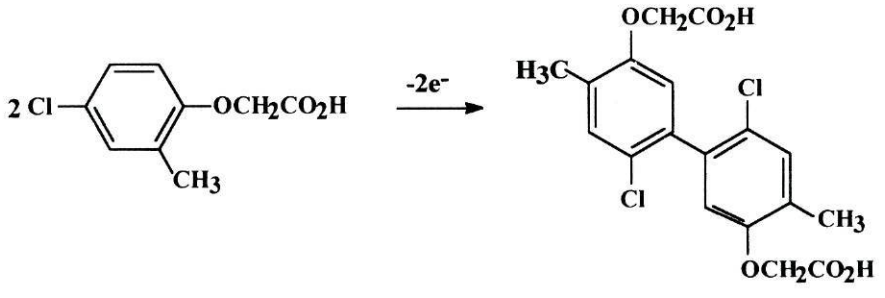
O deslocamento do potencial de pico com o pH para potenciais menos positivos pode ser explicado pelo aumento da densidade electrónica no átomo de azoto, facilitando assim a oxidação.

Para valores de pH inferiores a 3,2 unidades predomina a espécie aniónica (B) da bentazona (Esquema 3.2). A dimerização de radicais formados na oxidação de aniões de compostos orgânicos é uma das reacções electroquímicas mais bem estudadas [140]. Assim o mecanismo que se propõe para a oxidação a pH superiores ao pKa da bentazona (Esquema 3.2) é o seguinte:



Esquema 3.2 Mecanismo de oxidação da bentazona em meio alcalino.

O MCPA pertence ao grupo electroquímico de éteres fenólicos que são muito importantes para o estudo dos radicais catiónicos aromáticos. Devido ao efeito dador de electrões do grupo fenilo, os radicais catiónicos resultantes são estáveis. Os dados experimentais obtidos usando técnicas voltamétricas estão de acordo com o descrito na literatura [140], permitindo propôr o mecanismo a seguir apresentado, correspondente à oxidação do MCPA num eléctrodo de carbono vítreo (Esquema 3.3).



(entre outros isómeros)

Esquema 3.3 Mecanismo de oxidação do MCPA.

No doseamento da bentazona em produtos fitofarmacêuticos, foi necessário a adição de 1% de Triton X-100 à solução de electrólito, para diminuir a adsorção dos produtos de oxidação, permitindo assim obter uma relação linear entre Ip e a concentração de bentazona.

O método voltamétrico desenvolvido neste trabalho para doseamento da bentazona, constitui uma alternativa ao método da AOAC . Os erros relativos são inferiores a 2,5 %, as razões de recuperação próximas de 100% e os coeficientes de variação inferiores a 3,4 %.

CAPÍTULO 4

OXIDAÇÃO ELECTROQUÍMICA DO MOLINATO, TIOBENCARBE, MEFENACETO E BENSULFURÃO-METILO

4.1 INTRODUÇÃO

Os herbicidas clorados, foram durante décadas, muito utilizados nomeadamente em relvados, jardins, campos de arroz e campos de trigo.

Recentemente, o uso de compostos denominados de "herbicidas azotados" têm vindo a aumentar. De entre os herbicidas contendo o átomo de azoto estão incluídos os tiocarbamatos, ureias e benzonitrilos [141].

Neste capítulo refere-se o estudo do comportamento electroquímico de um grupo de herbicidas, o molinato, o tiobencarbe, mefenaceto e bensulfurão-metilo, que contêm o átomo de azoto e que são aplicados isolados ou em conjunto nas culturas de arroz. Apresenta-se ainda o desenvolvimento de métodos analíticos para dosear estes herbicidas em produtos fitofarmacêuticos.

O molinato é um tiocarbamato e é um herbicida selectivo sistemático, adsorvido pelas raízes das infestantes. Interfere na síntese dos lípidos e inibe a divisão celular impossibilitando assim a germinação, não sendo tóxico para a planta do arroz [1, 142].

O tiobencarbe também pertencente ao grupo dos tiocarbamatos é um herbicida selectivo e é adsorvido pela coleoptile, mesocotile, folhas e raízes. Inibe a síntese proteica, inibindo assim a germinação das sementes [1].

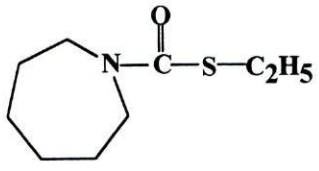
O mefenaceto é uma fenilacetamida e é um herbicida selectivo que inibe a divisão e crescimento celular. É preferencialmente usado misturado com outros herbicidas [1].

O bensulfurão-metilo é uma sulfonilureia que inibe a biosíntese de aminoácidos essenciais, valina e a isoleucina, impedindo por isso a divisão celular e o crescimento da planta. É um herbicida selectivo sistemático, adsorvido pelas raízes e folhas, com rápida translocação para os tecidos meristemáticos. A sua selectividade é devida à sua rápida metabolização na cultura.

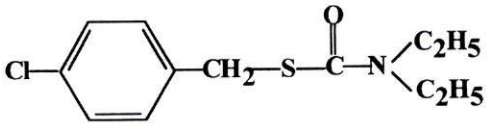
As estruturas dos quatro herbicidas, molinato (*N,N*-hexametilenotiocarbamato de *S*-etilo), tiobencarbe (*S*-4-clorobenzil-*N*-dietiltiocarbamato), mefenaceto [2-(2-benzotiazoliloxi)-*N*-metil-*N*-fenilacetamida] e bensulfurão-metilo [2-(4,6-dimetoxi-2-pirimidinil)aminocarbonilaminosulfonilmetilbenzoato de metilo], apresentam-se na Fig. 4.1. Na Tabela 4.1 resumem-se as suas propriedades físicas e químicas [1].

No que se refere ao controlo analítico destes pesticidas, as técnicas cromatográficas são as mais frequentemente usadas. No caso do molinato e tiobencarbe, pelo facto de serem compostos relativamente voláteis, a cromatografia gasosa (GC) tem maior aplicação no doseamento destes pesticidas em água, solo e produtos agrícolas [141, 143-151]. Os níveis de concentração possíveis de quantificar contribuem também para a selecção da técnica GC em vez de HPLC, existindo por isso muito poucos trabalhos envolvendo a cromatografia de fase liquida para doseamento do molinato e do tiobencarbe [152, 153].

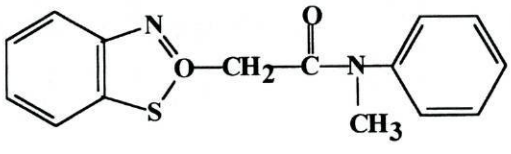
a)



b)



c)



d)

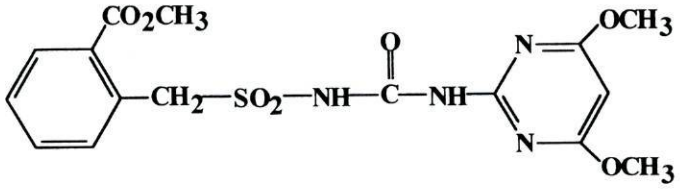


Fig.4.1 Estruturas do a) molinato, b) tiobencarbe, c) mefenaceto e d) bensulfurão-metilo.

Tabela 4.1 Propriedades físicas e químicas dos diferentes herbicidas

Nome do herbicida	**Massa molecular ($gmol^{-1}$)**	**Solubilidade em água (mgL^{-1})**	**Pressão de Vapor (mPa)**	**pKa**
Molinato	187,3	88	746	-----
Tiobencarbe	257,8	30 (20 °C)	2,93 (20 °C)	-----
Mefenaceto	298,4	4,0 (20 °C)	$6,4\ 10^{-4}$ (20 °C)	-----
Bensulfurão-metilo	410,4	2,9 (pH 5) 12 (pH 6) 120(pH 7)	$2,8x10^{-9}$	5,2

Existe um número reduzido de trabalhos utilizando os imunoensaios para a determinação do molinato e tiobencarbe [154-156].

Relativamente ao mefenaceto e tanto quanto é possível saber, existe na literatura um único trabalho relativo à determinação deste herbicida [157], o que pode provavelmente ser justificado pelo facto da sua aplicação estar muito restringida em termos demográficos, pois apenas Portugal e Espanha o comercializam de modo significativo.

Os herbicidas do grupo das sulfonilureias, de que faz parte o bensulfurão-metilo, têm um papel importante na agricultura pois são rápida e facilmente metabolizados pelas plantas, animais e solos. Devido à sua polaridade e instabilidade química a sua determinação analítica é particularmente complexa [158].

Sendo as sulfonilureias de uma maneira geral termolábeis, torna-se difícil a obtenção de espectros de massa representativos das moléculas não degradadas. Os iões observados são o resultado de uma termólise ao nível da fonte ou do sistema de introdução. Devem ser por isso tomadas precauções no modo de operar para se obterem espectros de massa deste grupo de

compostos [158]. Por outro lado, e atendendo, mais uma vez, às propriedades físico-químicas do bensulfurão-metilo os métodos baseados na cromatografia gasosa não podem ser usados no doseamento deste tipo de herbicidas, sendo a cromatografia líquida a alternativa mais frequente [159-161].

Como se referiu anteriormente os tiocarbamatos têm sido preferencialmente doseados por cromatografia gasosa e as sulfonilureias por cromatografia líquida. Um dos problemas da análise conjunta de pesticidas pertencentes a diferentes famílias, resulta das diferenças nas características físicas e químicas, o que impede, na maior parte das vezes, a utilização de uma metodologia comum. Daí existir todo o interesse em desenvolver um método electroquímico, que devido à sua selectividade, permita dosear simultaneamente herbicidas do grupo dos tiocarbamatos e das sulfonilureias, que coexistem nos produtos comerciais.

4.2. ESTUDO ELECTROQUÍMICO DO MOLINATO, TIOBENCARBE, MEFENACETO E BENSULFURÃO-METILO

4.2.1. Influência do pH

O estudo do comportamento electroquímico do molinato, tiobencarbe e mefenaceto utilizando voltametria de impulso diferencial, foi efectuado usando soluções de eléctrólito com uma larga gama de valores de pH, compreendida entre 1,2 e 12,8, cuja constituição se apresenta na Tabela 2.2. Verificou-se que qualquer um destes herbicidas não apresentavam picos de oxidação nestes electrólitos, mesmo para concentrações da ordem de 10^{-3} $molL^{-1}$. No entanto em soluções tampão de Britton-Robinson (Tabela 2.3), observou-se actividade electroquímica destes compostos.

As soluções tampão de Britton-Robinson apresentam uma larga zona de utilização, pois a evolução do solvente ocorre a potenciais positivos elevados. Assim foi possível o estudo da oxidação destes herbicidas, que ocorre a potenciais superiores a +1,5 V, pelo que em estudos posteriores, foram usadas soluções de Britton-Robinson.

Nas Figs. 4.2, 4.4 e 4.6 estão representados os voltamogramas de impulso diferencial, obtidos para o molinato, mefenaceto e tiobencarbe, em solução tampão de pH=1,9.

Relativamente ao molinato e mefenaceto verifica-se (Fig.4.3 e 4.5) que o potencial de pico se mantém constante e igual a +1,5 V vs Ag/AgCl, no intervalo de valores de pH entre 1,9 e 3,5 para o molinato e 1,9 e 5,0 para o mefenaceto. Para valores superiores de pH observa-se um pico de oxidação mal defenido, devido à baixa intensidade de corrente.

No caso do tiobencarbe (Fig.4.7) o potencial de pico, E_p, +1,7 V vs Ag/AgCl é independente do pH. Para soluções de pH superiores a 5,0, e na zona de potenciais compreendidos entre 1,4 e 1,7 V vs Ag/AgCl, as linhas de base apresentam um pico devido à oxidação do OH^-, sobrepondo-se assim ao pico de oxidação do tiobencarbe.

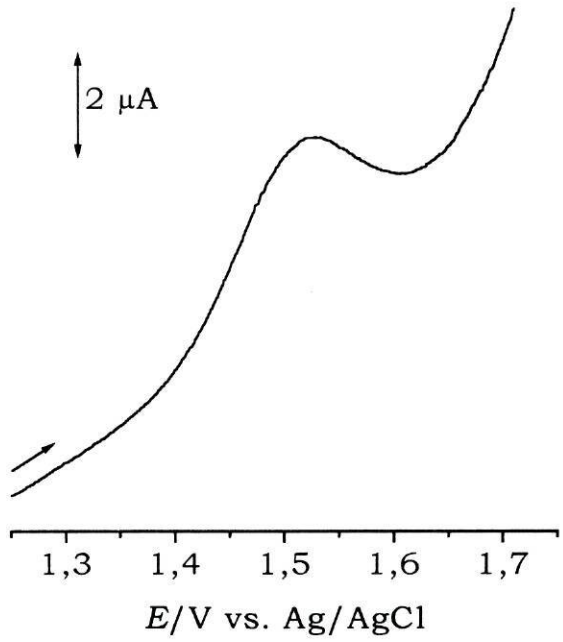


Fig.4.2 Voltamograma de impulso diferencial de uma solução de molinato de concentração 9×10^{-4} $molL^{-1}$ em tampão de Britton-Robinson com pH=1,9. Velocidade de varrimento 5 mVs^{-1}.

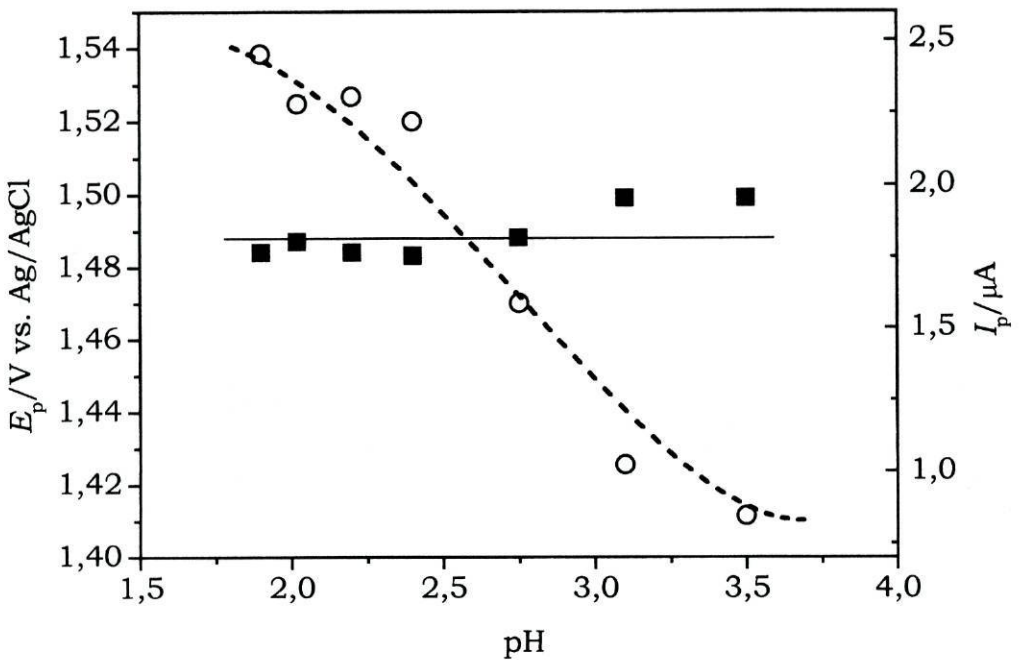


Fig. 4.3 Gráfico de (■) E_p vs. pH e (O) I_p vs. pH, para uma solução de molinato de concentração 9×10^{-4} molL^{-1}.

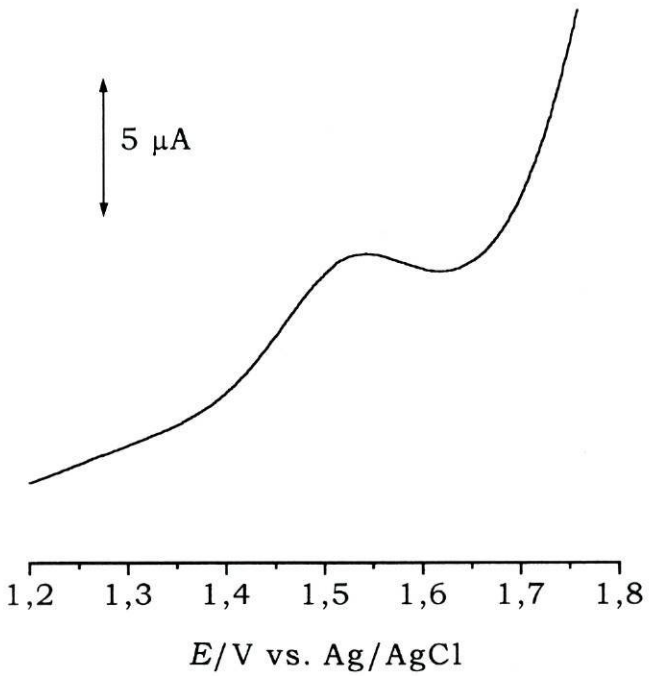


Fig. 4.4 Voltamograma de impulso diferencial de uma solução de mefenaceto de concentração 4×10^{-5} molL^{-1} em tampão de Britton-Robinson com pH=1,9. Velocidade de varrimento 5 mVs^{-1}.

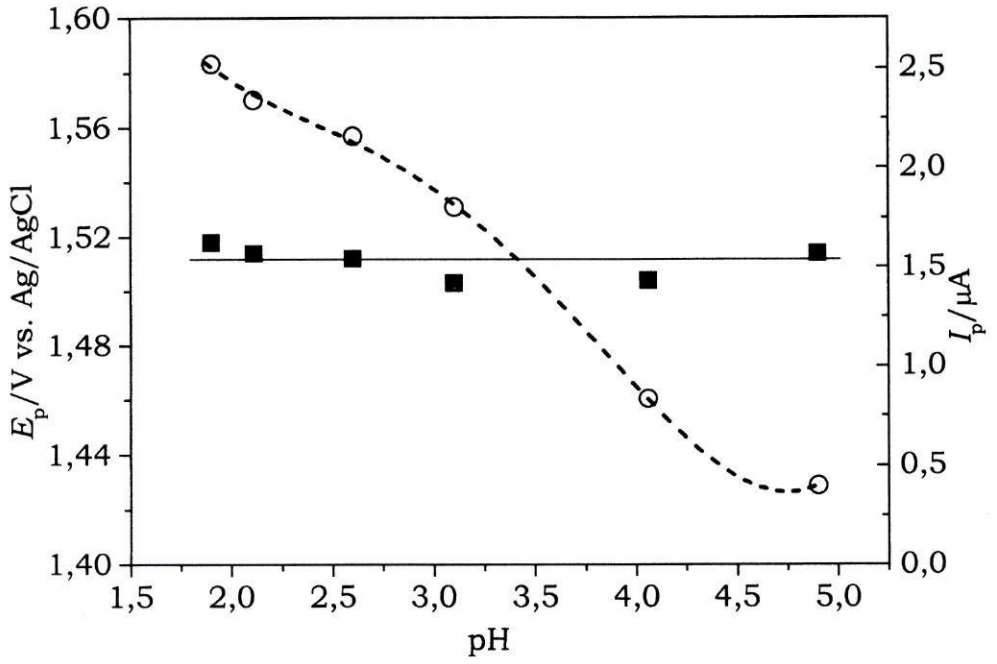


Fig.4.5 Gráfico de (■) E_p vs. pH e (O) I_p vs. pH, para uma solução de mefenaceto de concentração 4×10^{-5} molL^{-1}.

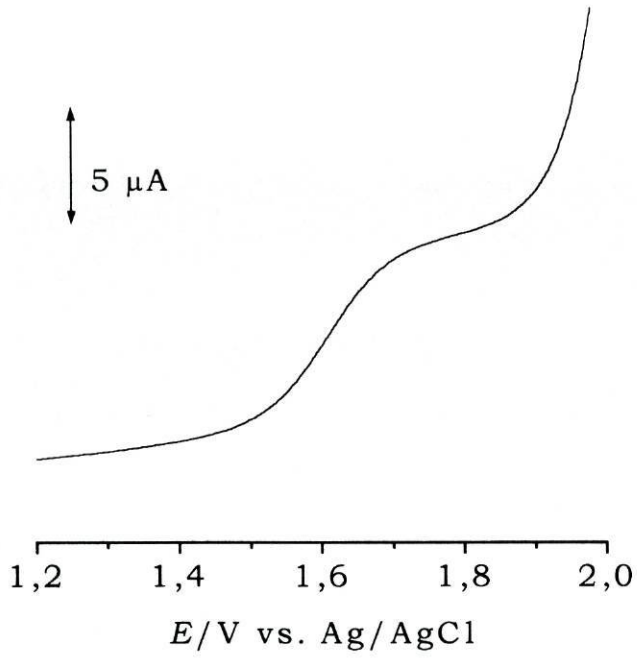


Fig. 4.6 Voltamograma de impulso diferencial de uma solução de tiobencarbe de concentração 5×10^{-4} molL^{-1} em tampão de Britton-Robinson com pH=1,9. Velocidade de varrimento 5 mVs^{-1}.

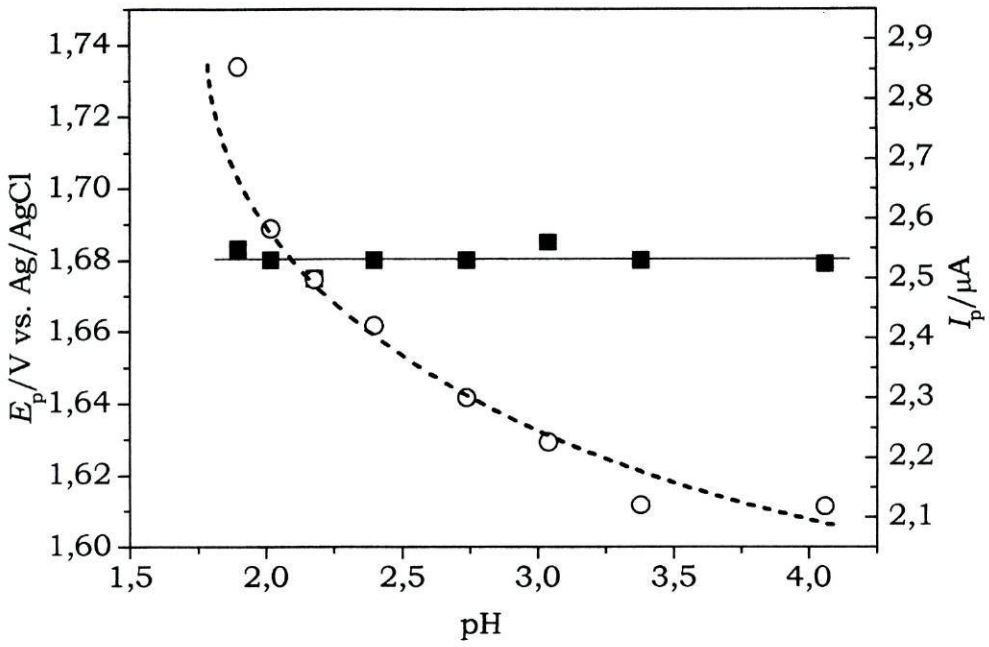


Fig.4.7 Gráfico de (■) E_p vs. pH e (O) I_p vs. pH, para uma solução de tiobencarbe de concentração 5×10^{-4} molL^{-1}.

Para o bensulfurão-metilo só foi possível obter uma boa definição do pico utilizando a voltametria de onda quadrada.

Na Fig.4.8 estão representados os voltamogramas de onda quadrada obtidos no estudo do comportamento electroquímico do bensulfurão-metilo com a variação do pH. Observa-se uma relação linear de E_p vs. pH com declive de 70 mV/pH (Fig. 4.9).

Da relação, intensidade de corrente de pico, I_p, com o pH verificou-se que todos os herbicidas apresentam um máximo de amplitude de corrente para soluções de pH=1,9 unidades. Deste modo, todos os estudos a seguir descritos foram efectuados para este valor de pH.

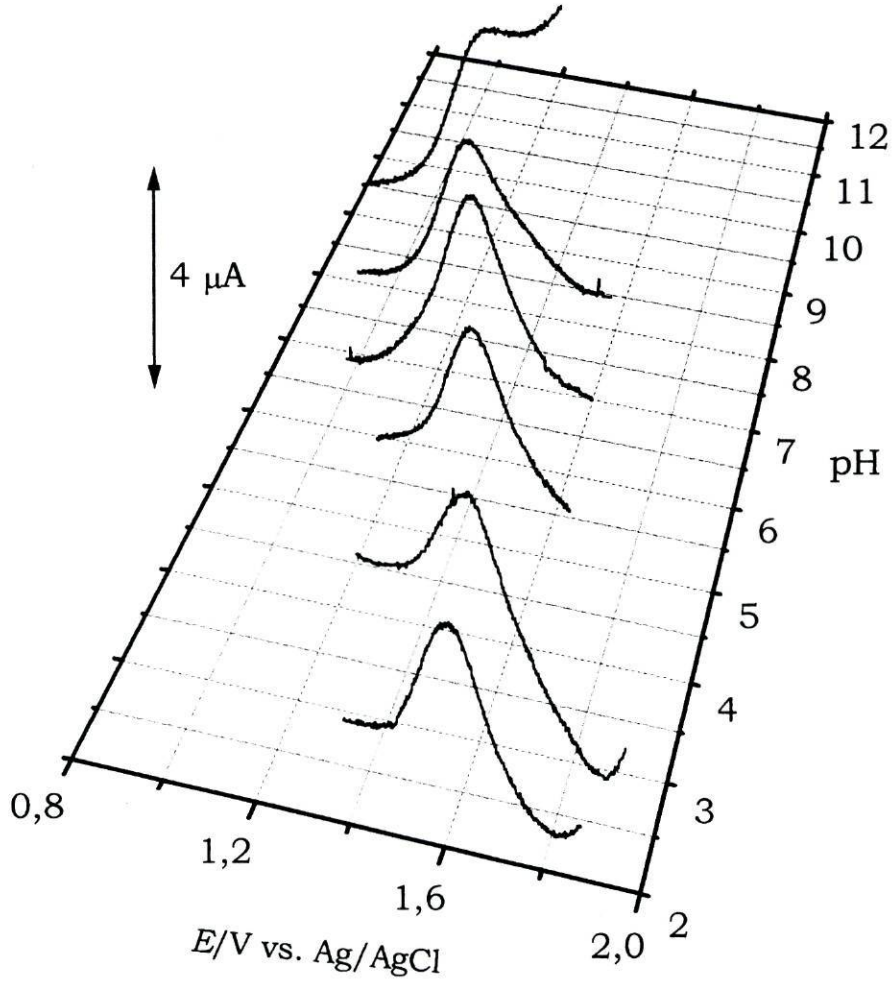


Fig.4.8 Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução de bensulfurão-metilo de concentração 9×10^{-5} molL^{-1}, em diferentes soluções de electrólito de Britton-Robinson (Tabela 2.3). Frequência 50 Hz, amplitude de impulso 50 mV e incremento de potencial de 1 mV.

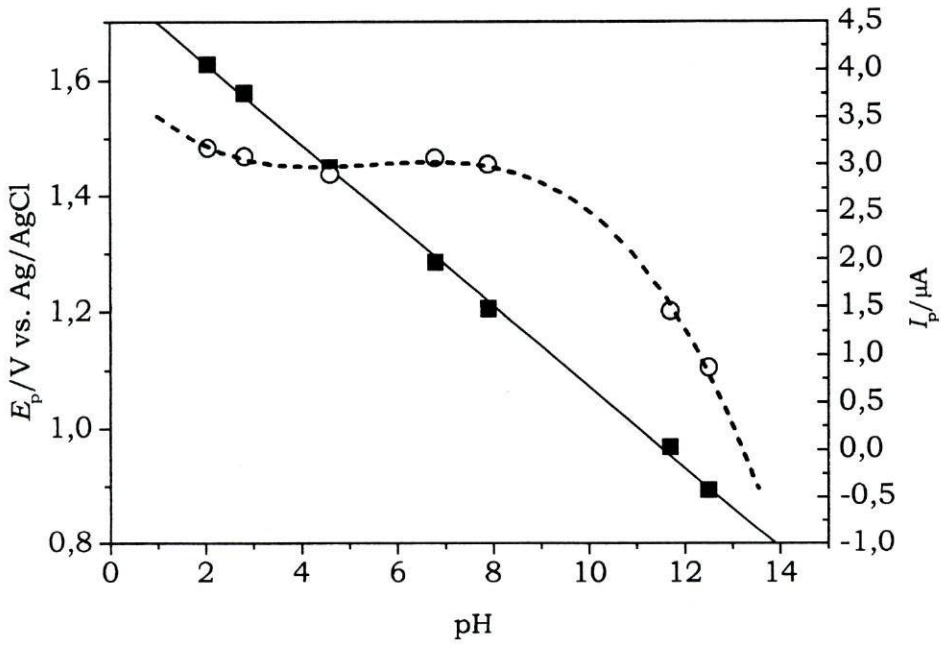


Fig.4.9 Gráfico de (■) E_p vs. pH e (O) I_p vs. pH, para uma solução de bensulfurão-metilo de concentração 9×10^{-5} molL^{-1}.

4.2.2 Influência da força iónica

Com o objectivo de determinar as condições óptimas de análise, estudou-se também o comportamento electroquímico do molinato, tiobencarbe, mefenaceto e bensulfurão-metilo, em função da variação da força iónica.

Para o molinato, tiobencarbe e mefenaceto a intensidade de corrente de pico aumenta até um valor de força iónica de 0,15 molL^{-1}, mantendo-se a corrente constante para valores superiores de força iónica (Figs. 4.10-4.12). A intensidade de corrente de pico do bensulfurão-metilo (Fig. 4.13) aumenta com a força iónica. Para valores de força iónica superiores a 0,3 molL^{-1} observa-se uma corrente de fundo muito elevada e consequentemente picos de oxidação mal resolvidos.

Nos gráficos de E_p vs. μ (Figs. 4.10-4.13) verifica-se para todos os herbicidas estudados que o potencial de pico se desloca para valores mais baixos com o aumento da força iónica. Fixou-se o valor de 0,3 molL^{-1} de força iónica, para estudos posteriores.

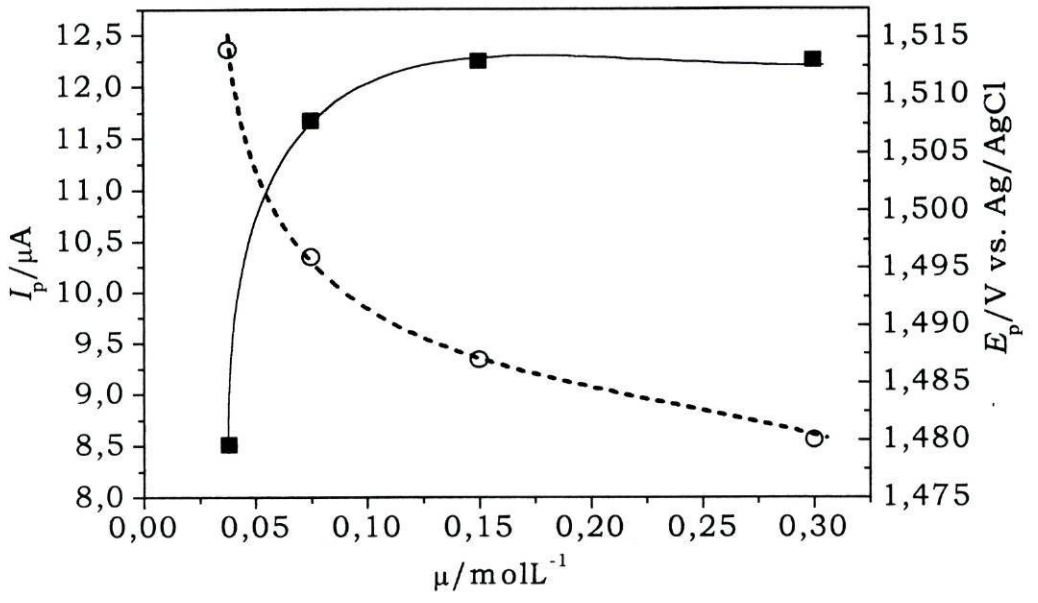


Fig. 4.10 Gráfico de (■) I_p vs. μ e (O) E_p vs. μ, para uma solução de molinato de concentração 1×10^{-3} molL^{-1} em tampão de Britton-Robinson com pH=1,9. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial 1mV.

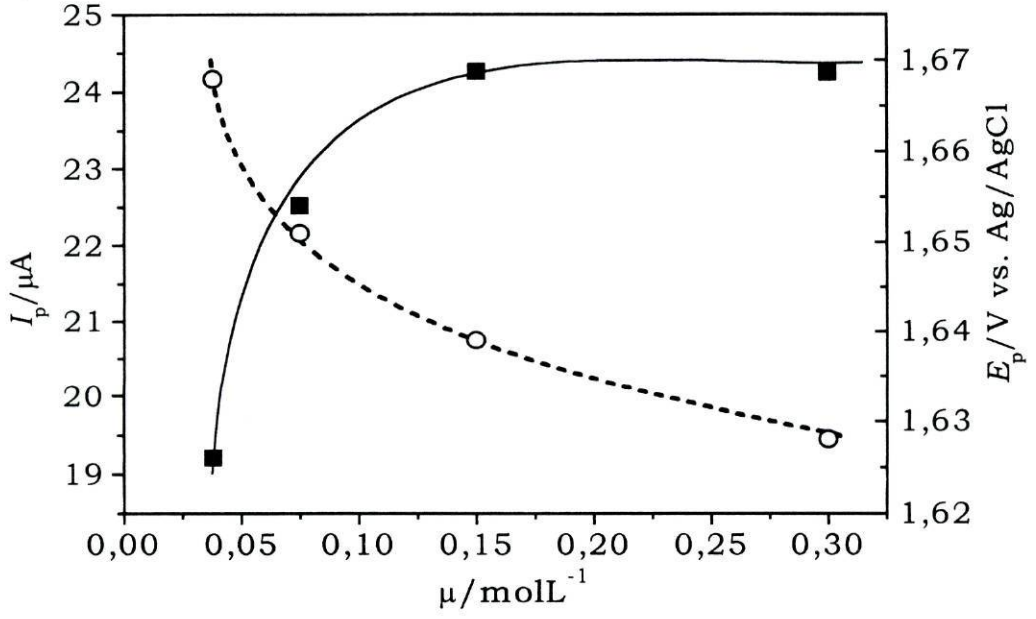


Fig. 4.11 Gráfico de (■) I_p vs. μ e (O) E_p vs. μ, para uma solução de tiobencarbe de concentração 4×10^{-4} molL^{-1} em tampão de Britton-Robinson com pH=1,9. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial 1 mV.

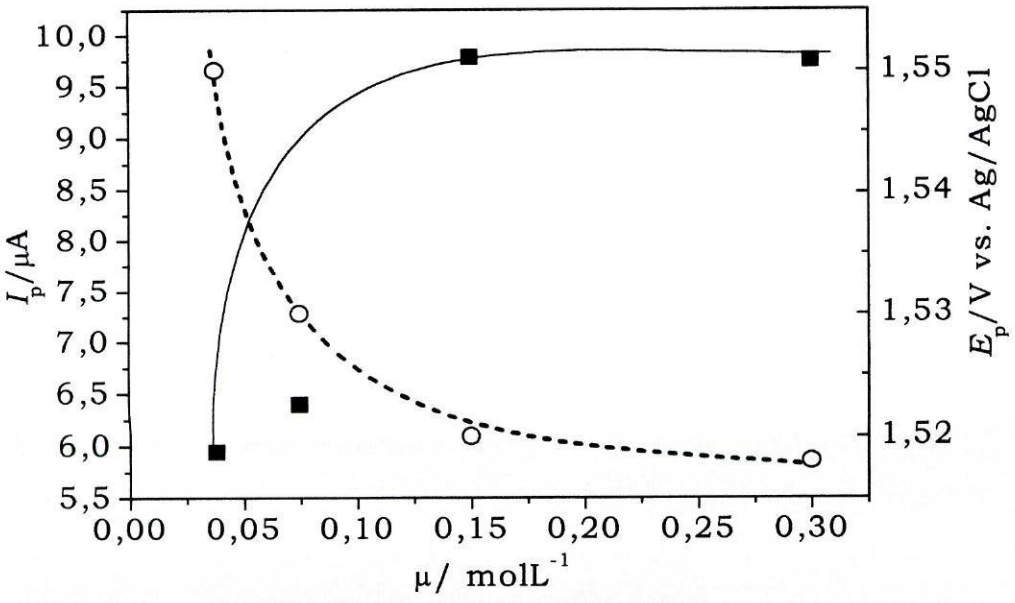


Fig. 4.12 Gráfico de (■) I_p vs. μ e (O) E_p vs. μ, para uma solução de mefenaceto de concentração 7×10^{-5} molL^{-1} em tampão de Britton-Robinson com pH=1,9. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial 1 mV.

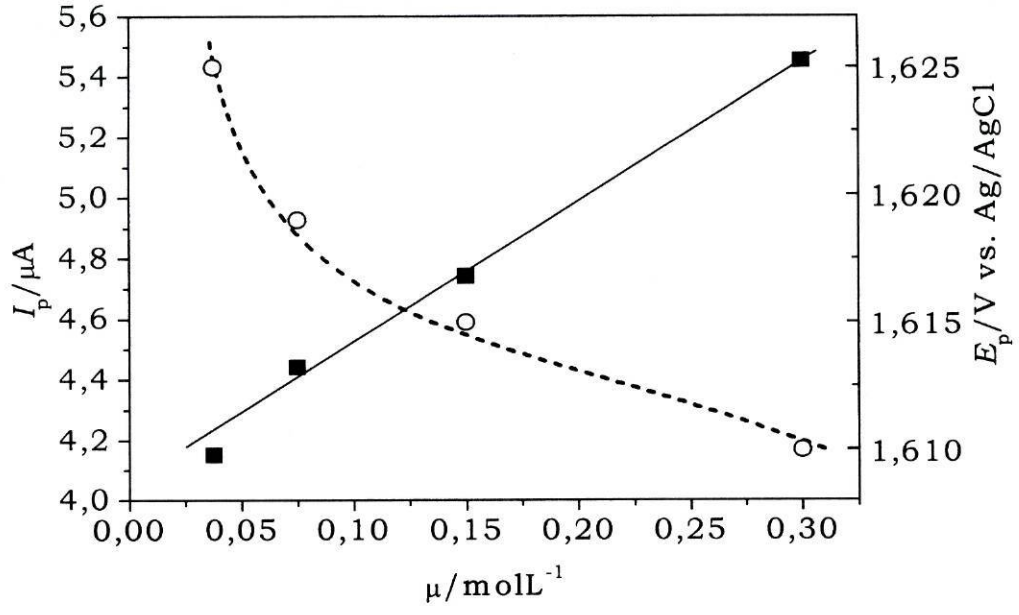


Fig. 4.13 Gráfico de (■) I_p vs. μ e (O) E_p vs. μ, para uma solução de bensulfurão-metilo de concentração 9×10^{-5} moL^{-1} em tampão de Britton-Robinson com pH=12,1. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial 1 mV.

4.2.3 Voltametria cíclica

O estudo por voltametria cíclica do molinato, tiobencarbe, mefenaceto e bensulfurão-metilo foi realizado para velocidades de varrimento entre 20 mVs^{-1} e 1000 mVs^{-1}.

As Figs. 4.14-4.16 apresentam os voltamogramas cíclicos para o molinato, tiobencarbe e mefenaceto obtidos em solução de Britton-Robinson de força iónica 0,30 $molL^{-1}$ e pH=1,9 e a Fig. 4.17 apresenta o voltamograma cíclico do bensulfurão-metilo, obtido igualmente em solução de Britton-Robinson de força iónica 0,3 $molL^{-1}$ mas a pH=12,1. Os voltamogramas mostram que a oxidação destes herbicidas corresponde a processos irreversíveis uma vez que não se observa pico catódico.

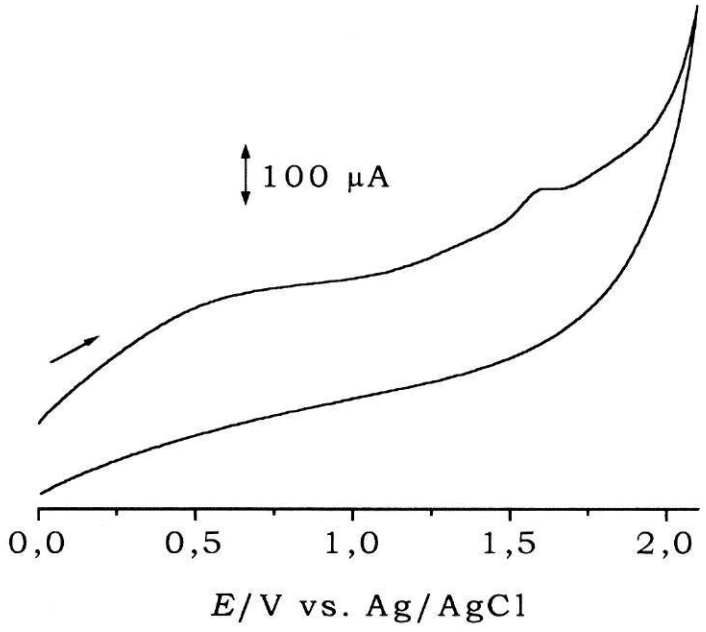


Fig.4.14 Voltamograma cíclico de uma solução de molinato de concentração 2×10^{-3} $molL^{-1}$, em tampão de Britton-Robinson 0,3 $molL^{-1}$ com pH=1,9. Velocidade de varrimento 100 mVs^{-1}.

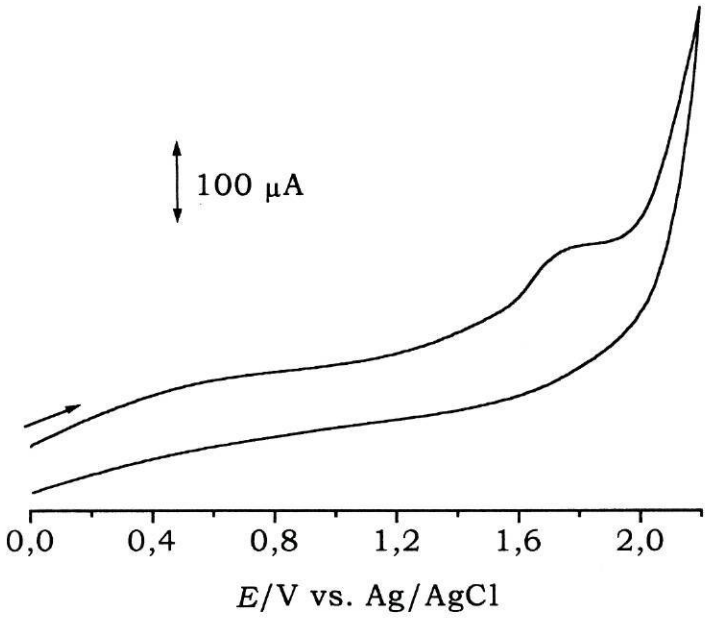


Fig.4.15 Voltamograma cíclico de uma solução de tiobencarbe de concentração 4×10^{-4} molL^{-1}, em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9. Velocidade de varrimento 100 mVs^{-1}.

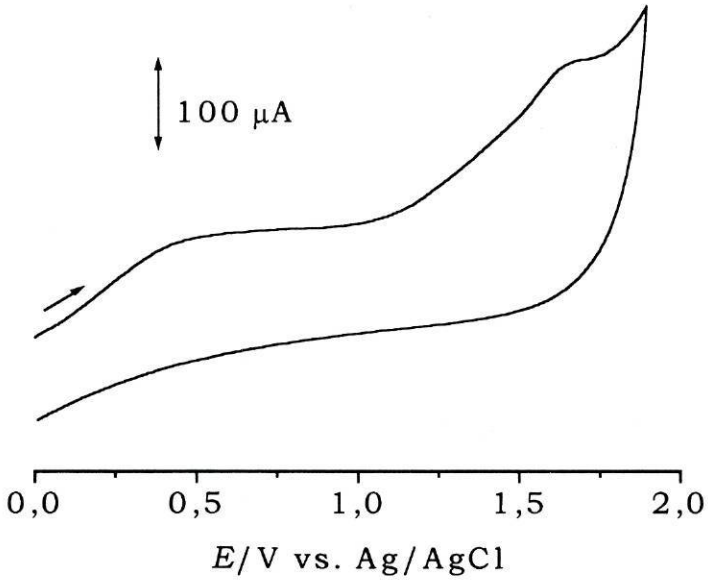


Fig.4.16 Voltamograma cíclico de uma solução de mefenaceto de concentração 7×10^{-5} molL^{-1}, em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9. Velocidade de varrimento 100 mVs^{-1}.

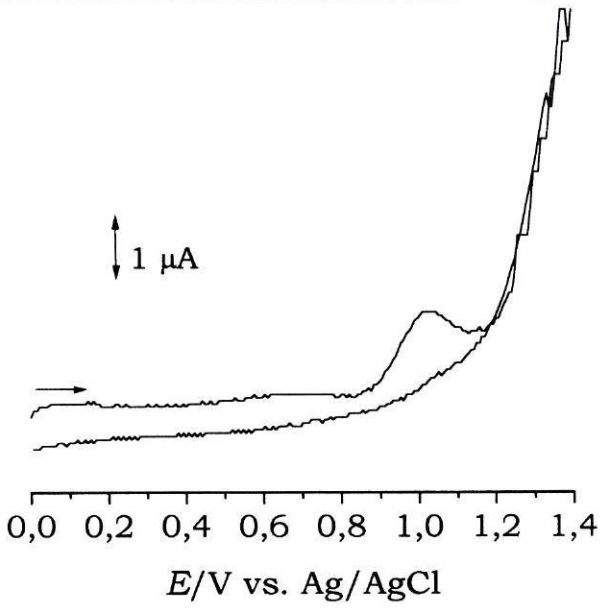


Fig.4.17 Voltamograma cíclico de uma solução de bensulfuron-metil de concentração 2×10^{-4} molL^{-1} em tampão de Britton-Robinson 0,30 molL^{-1} com pH=12,1. Velocidade de varrimento 100 mVs^{-1}.

Nas Tabelas 4.2-4.4, apresentam-se os valores de v, I_p, E_p e E_p-$E_{p/2}$ obtidos a partir dos voltamogramas cíclicos do molinato, mefenaceto e tiobencarbe. Não sendo apresentada uma tabela para o bensulfurão-metilo, dado que para este herbicida só foi possível uma boa definição de pico, para uma velocidade de varrrimento de 100 mVs^{-1}.

Tabela 4.2 Dados de voltametria cíclica para uma solução de molinato de concentração 2×10^{-3} molL^{-1}, em de tampão Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9.

v/Vs^{-1}	I_p/μA	E_p/V vs. Ag/AgCl	E_p-$E_{p/2}$
0,02	5,97	1,537	0,077
0,05	14,8	1,558	0,067
0,10	23,2	1,579	0,069
0,15	27,9	1,607	0,072
0,20	33,2	1,614	0,070
0,25	37,8	1,628	0,067
0,30	39,3	1,635	0,065
0,50	49,9	1,649	0,070

Tabela 4.3 Dados de voltametria cíclica para uma solução de tiobencarbe de concentração 4×10^{-4} molL^{-1}, em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9.

v/Vs^{-1}	I_p/μA	E_p/V vs. Ag/AgCl	E_p-$E_{p/2}$
0,10	25,6	1,727	0,084
0,15	31,8	1,755	0,077
0,20	36,3	1,769	0,108
0,25	41,2	1,769	0,101
0,30	45,1	1,776	0,115
0,50	59,7	1,797	0,101
1,0	85,9	1,832	0,100

Tabela 4.4 Dados de voltametria cíclica para uma solução de mefenaceto de concentração 7×10^{-5} molL^{-1}, em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9.

v/Vs^{-1}	I_p/μA	E_p/V vs. Ag/AgCl	E_p-$E_{p/2}$
0,10	20,8	1,635	0,12
0,15	31,6	1,642	0,11
0,20	35,7	1,664	0,12
0,25	39,6	1,664	0,12
0,30	48,8	1,671	0,12

Os gráficos de I_p vs. $v^{1/2}$ (Fig. 4.18) são relações lineares indicando deste modo que as reacções de eléctrodo são controladas por difusão.

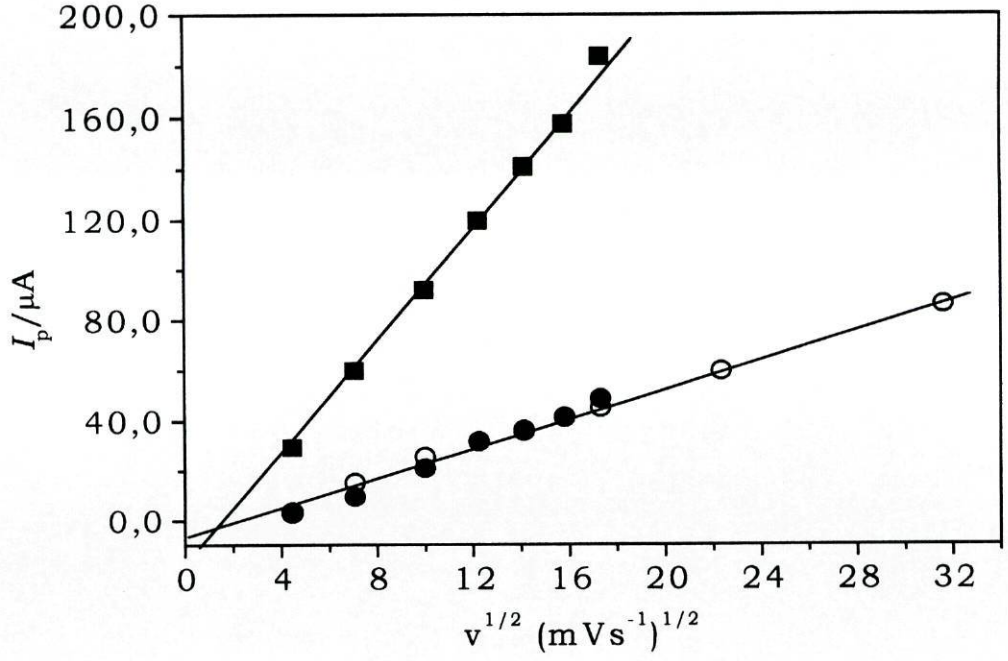


Fig. 4.18 Gráfico de I_p vs. $v^{1/2}$ (■) para uma solução de molinato de concentração 2×10^{-3} molL^{-1} (○) para uma solução de tiobencarbe de concentração 4×10^{-4} molL^{-1} (●) para uma solução de mefenaceto de concentração 7×10^{-5} molL^{-1}, em tampão de Britton-Robinson com pH=1,9.

Relativamente ao molinato e mefenaceto, determinou-se o número de electrões postos em jogo no processo de eléctrodo de acordo com o descrito para a bentazona. Do gráfico de I_p vs. $v^{1/2}$ (Fig. 4.19) para uma solução de ferrocianeto de potássio, calculou-se o coeficiente angular, para determinação do coeficiente de difusão. Assumindo novamente que neste electrólito suporte o coeficiente de difusão do molinato e mefenaceto é igual ao do ferrocianeto, $1{,}5\times10^{-5}$ cm^{2}s^{-1}, o resultado obtido foi de n=1 para o molinato, e n=2 para o mefenaceto.

No que diz respeito ao tiobencarbe e bensulfurão-metilo, para garantir a solubilidade destes compostos, foi necessário usar percentagens (v/v) elevadas de acetonitrilo, ou seja, utilizaram-se condições muito diferentes das usadas para determinação do coeficiente de difusão do ferrocianeto de potássio (sem

adição de acetonitrilo), deixando de ser válido o pressuposto da igualdade dos coeficientes de difusão admitidos anteriormente.

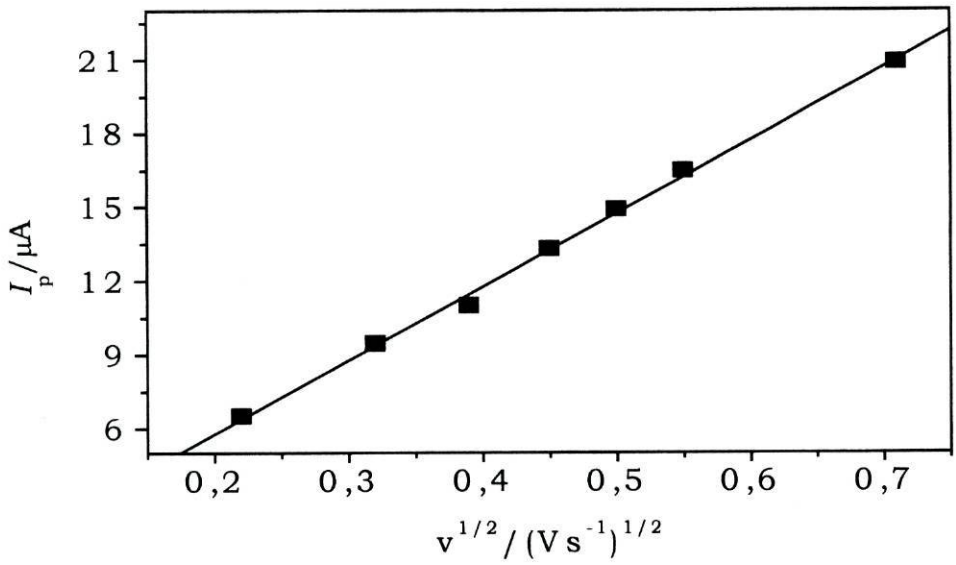


Fig.4.19 Gráfico de I_p vs. $v^{1/2}$ de uma solução de ferrocianeto de potássio de concentração $4x10^{-3}$ $molL^{-1}$ em tampão de Britton-Robinson com pH=1,9.

No caso do tiobencarbe, sendo este herbicida da mesma família do molinato (tiocarbamato) e tendo o mesmo comportamento electroquímico, poderá igualmente considerar-se que na reacção de eléctrodo estará envolvida a transferência de um electrão por molécula.

4.2.4 Voltametria de Onda Quadrada

O estudo por voltametria de onda quadrada, do comportamento electroquímico destes quatro herbicidas foi feito para diferentes frequências (20 a 200 Hz). Nas Figs.4.20-4.23 estão representados os voltamogramas obtidos para o molinato, tiobencarbe e mefenaceto a pH=1,9 e para o bensulfurão-metilo a pH=12,1. Observou-se para todos uma relação linear entre I_p vs. $w^{1/2}$ (Fig. 4.24).

Verificou-se sempre que a oxidação destes compostos corresponde a um processo irreversível e as reacções de eléctrodo são controladas por difusão.

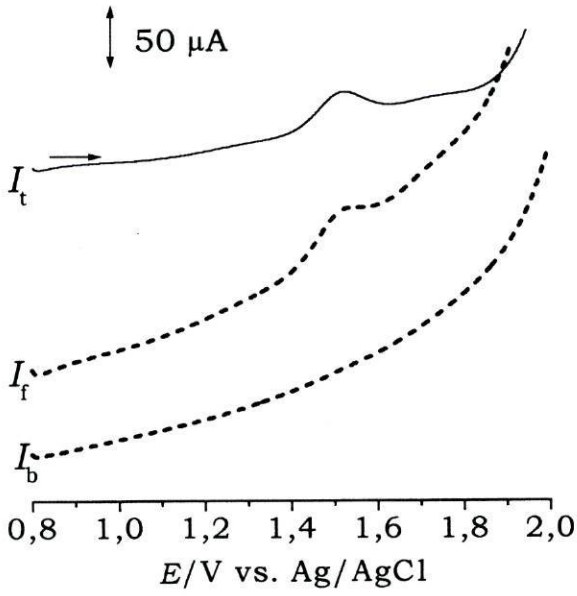


Fig.4.20 Voltamograma de onda quadrada de uma solução do molinato de concentração 1×10^{-3} molL^{-1}, em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9. I_t (—), I_f e I_b (---). Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial de 1 mV e uma velocidade de varrimento efectiva de 50 mVs^{-1}.

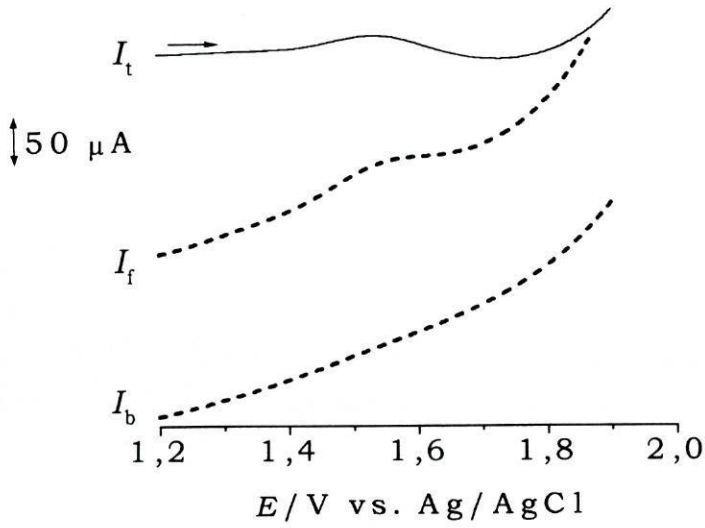


Fig.4.21 Voltamograma de onda quadrada de uma solução de tiobencarbe de concentração 4×10^{-4} molL^{-1} em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9. I_t (—), I_f e I_b (---). Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial de 1 mV e uma velocidade de varrimento efectiva de 50 mVs^{-1}.

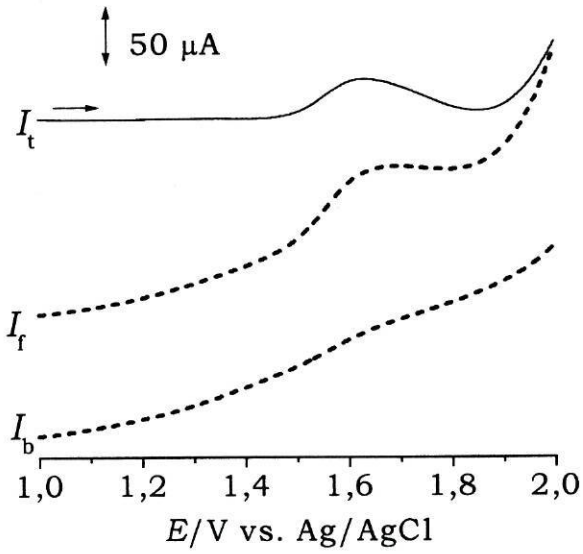


Fig.4.22 Voltamograma de onda quadrada de uma solução mefenaceto de concentração 7×10^{-5} molL^{-1} em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9. I_t (—), I_f e I_b (---). Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial de 1 mV e uma velocidade de varrimento efectiva de 50 mVs^{-1}.

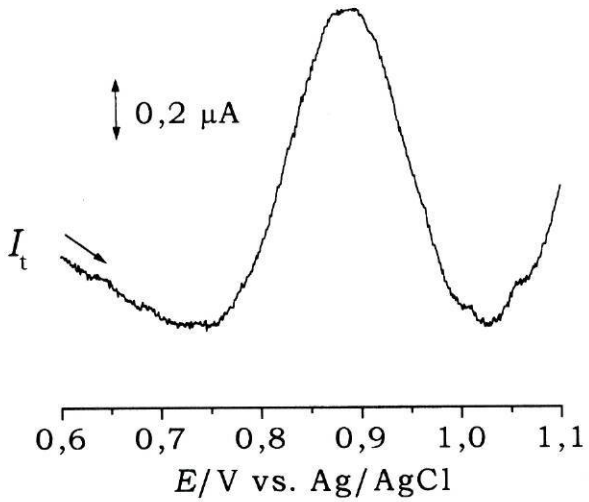


Fig.4.23 Voltamograma de onda quadrada de uma solução de bensulfurão-metilo de concentração 9×10^{-5} molL^{-1} em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=12,1. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial de 1 mV e uma velocidade de varrimento efectiva de 50 mVs^{-1}.

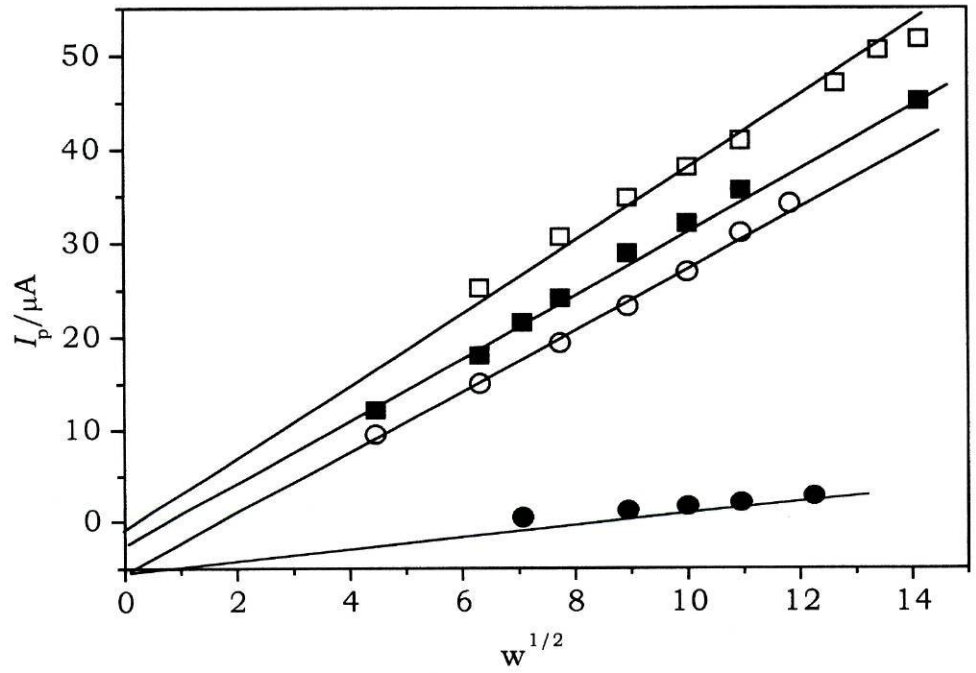


Fig. 4.24 Gráfico de I_p vs. $w^{1/2}$ (■) para uma solução de molinato de concentração 1×10^{-3} molL^{-1} (□) para uma solução de tiobencarbe de concentração 4×10^{-4} molL^{-1} (O) para uma solução de mefenaceto de concentração 7×10^{-5} molL^{-1}, em tampão de Britton-Robinson com pH=1,9 e (●) para uma solução de bensulfurão-metilo de concentração 9×10^{-5} molL^{-1}, em tampão de Britton-Robinson com pH=12,1.

Observou-se em varrimentos sucessivos, um envenenamento da superfície do eléctrodo pelo que se desenvolveu um tratamento electroquímico (descrito no Capítulo 2 Tabela 2.1) para optimizar a reprodutibilidade e a amplitude de sinal. Para uma solução de tiobencarbe, após condicionamento electroquímico do eléctrodo, verificou-se uma melhor definição do pico de oxidação e consequentemente uma maior reprodutibilidade (Fig. 4.25).

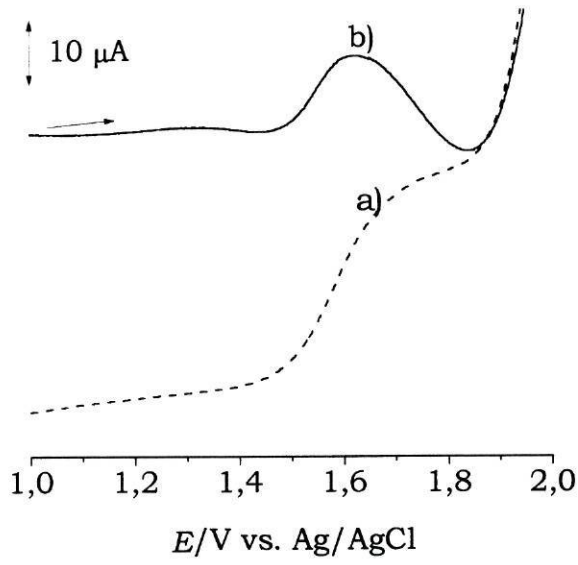


Fig.4.25 Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de tiobencarbe de concentração 4×10^{-4}molL^{-1} em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9 a) sem tratamento electoquímico e b) com tratamento electroquímico .

4.3 DETERMINAÇÃO ELECTROANALÍTICA DO MOLINATO, TIOBENCARBE, MEFENACETO E BENSULFURÃO-METILO.

4.3.1. Calibração

As condições óptimas de análise, ou seja, melhor razão sinal/ruído, destes herbicidas por voltametria de onda quadrada foram: frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial de 1 mV correspondendo à velocidade de varrimento efectiva de 50 mVs^{-1}, força iónica de 0,3 molL^{-1}, e pH=1,9 para o molinato, tiobencarbe e mefenaceto e pH=12,1 para o bensulfurão-metilo.

Estas condições foram utilizadas para estabelecer as rectas de calibração para cada uma das substâncias, tendo sido obtidos índices de correlação que oscilaram entre 0,995 e 0,997. No caso do bensulfurão-metilo utilizou-se o método de adição padrão, dada a interferência da matriz dos produtos fitofarmacêuticos no doseamento electroquímico deste herbicida. Nas Figs.4.26-4.29 estão representados os voltamogramas de onda quadrada obtidos na calibração, para cada um dos herbicidas estudados.

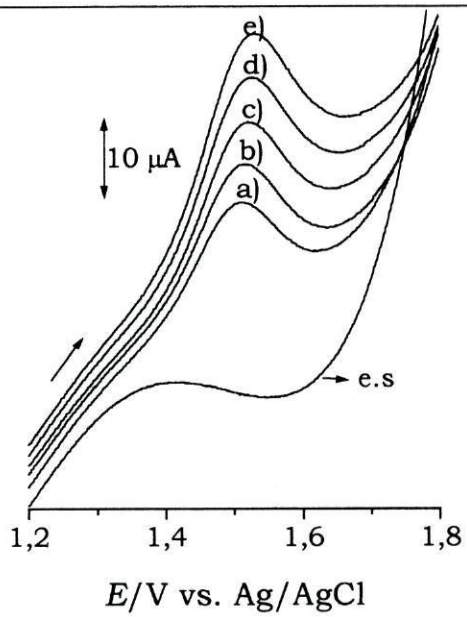


Fig.4.26 Voltamogramas de onda quadrada de molinato em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9: a) 4,96×10^{-4}, b) 5,98×10^{-4}, c) 7,00×10^{-4}, d) 8,01×10^{-4}, e) 9,02×10^{-4} molL^{-1}. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial 1 mV.

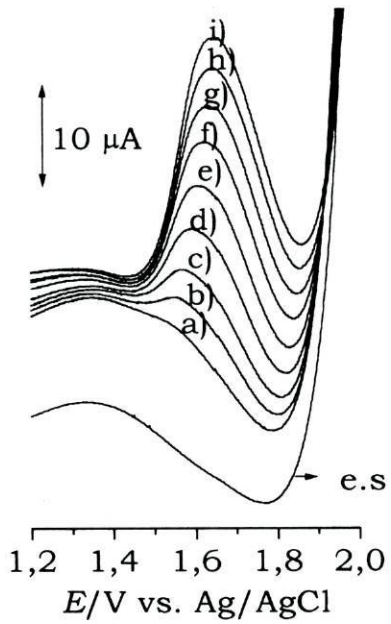


Fig.4.27 Voltamogramas de onda quadrada de tiobencarbe em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9 a) 3,70×10^{-5}, b) 7,38×10^{-5}, c) 1,10×10^{-4}, d) 1,71×10^{-4}, e) 2,30×10^{-4} f) 2,90×10^{-4}, g) 3,48×10^{-4}, h) 4,07×10^{-4}, i) 4,41×10^{-4} molL^{-1}. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial 1 mV.

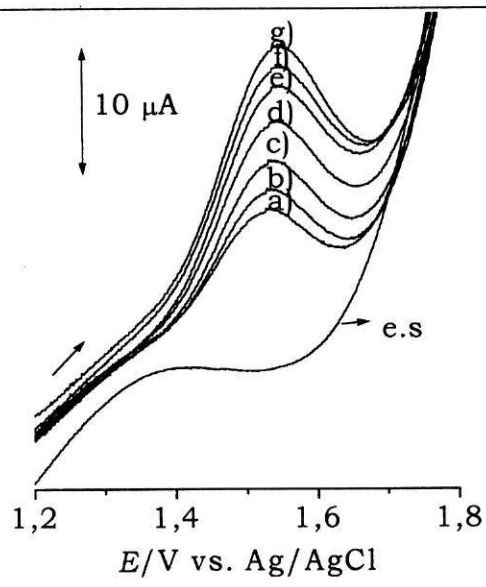


Fig.4.28 Voltamogramas de onda quadrada de mefenaceto em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=1,9, a) 2,03×10^{-5}, b) 2,60×10^{-5}, c) 3,16×10^{-5}, d) 3,72×10^{-5}, e) 4,28×10^{-5} 4,83×10^{-5}, g) 5,39×10^{-5} molL^{-1}. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial 1 mV.

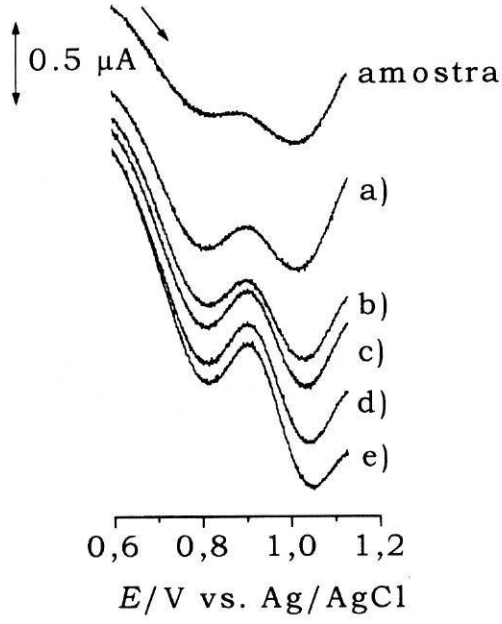


Fig.4.29 Voltamogramas de onda quadrada de bensulfurão-metilo em tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH=12,1 pelo método da adição padrão. As concentrações finais de bensulfurão-metilo após cada adição correspondem: a) 3,23×10^{-5}, b) 6,41×10^{-5}, c) 9,56×10^{-5}, d) 1,23×10^{-4}, e) 1,57×10^{-4} molL^{-1}. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial 1 mV.

Na Tabela 4.5 são apresentados os valores médios e os erros associados respectivamente ao declive e ordenada na origem para as rectas de calibração de cada um dos herbicidas, com um intervalo de confiança de 95 %.

Os limites de detecção para o molinato, tiobencarbe, mefenaceto e bensulfurão-metilo são respectivamente $8,7\times10^{-5}$, $3,0\times10^{-5}$, $9,9\times10^{-6}$ e $2,8\times10^{-5}$ $molL^{-1}$.

Tabela 4.5 Equações das rectas de calibração e respectivos declives e ordenadas na origem, do molinato, tiobencarbe, mefenaceto e bensulfurão-metilo.

Herbicida	**Equação da recta**	**Declive** $b \pm ts_b/A$ **mol^{-1}L**	**Ordenada na origem** $a \pm ts_a/A$
Molinato	$0,019x - 3,22\times10^{-7}$	$0,019 \pm 0,003$	$-3\times10^{-7} \pm 2\times10^{-6}$
Tiobencarbe	$0,050x - 8,45\times10^{-8}$	$0,050 \pm 0,003$	$-8\times10^{-8} \pm 8\times10^{-7}$
Mefenaceto	$0,22x + 1,26\times10^{-6}$	$0,0027 \pm 0,0006$	$1,2\times10^{-7} \pm 6\times10^{-8}$
Bensulfurão-metilo	$0,0027x + 1,18\times10^{-7}$	$0,22 \pm 0,02$	$1,3\times10^{-6} \pm 7,\times10^{-7}$

a-ordenada na origem; s_a-erro associado à ordenada na origem, b-declive; s_b-erro associado ao declive

Determinou-se a repetibilidade de 6 medições relativas de soluções padrão de três níveis de concentração para cada um do herbicidas. Na tabela 4.6 apresentam-se os valores dos coeficientes de variação, relativas a 6 medições de cada uma das soluções padrão utilizadas.

Tabela 4.6 Concentrações das soluções padrão e respectivos coeficientes de variação, relativos a 6 medições repetidas de cada uma das soluções padrão

Hercicida	Concentração $molL^{-1}$	Coeficiente de variação %
Molinato	$4{,}96x10^{-4}$	1,0
	$7{,}00x10^{-4}$	0,6
	$9{,}02x10^{-4}$	0,5
Tiobencarbe	$3{,}70x10^{-5}$	5,2
	$2{,}30x10^{-4}$	1,9
	$4{,}41x10^{-4}$	3,8
Mefenaceto	$1{,}13x10^{-5}$	3,6
	$3{,}38x10^{-5}$	1,1
	$5{,}61x10^{-5}$	1,4
Bensulfuron-methyl	$3{,}42x10^{-5}$	6,1
	$1{,}01x10^{-4}$	4,1
	$1{,}66x10^{-4}$	3,7

4.3.2. Doseamento dos herbicidas estudados em produtos fitofarmacêuticos

Como se pode observar nas Figs 4.2, 4.4 e 4.6 o molinato, tiobencarbe e mefenaceto são interferentes entre si por apresentar valores de potenciais de oxidação muito próximos.

Alguns destes herbicidas nunca aparecem isoladamente em produtos fitofarmacêuticos, o que impossibilita na maioria das vezes o seu doseamento. De facto, o tiobencarbe e o mefenaceto estão sempre associados com o molinato nas formulações usadas em Portugal, para o tratamento das culturas de arroz.

Um outro herbicida usado neste tipo de cultura, é o bensulfurão-metilo, que aparece nas amostras sempre em conjunto com o molinato e em alguns casos ainda com o mefenaceto. Verifica-se, também em soluções com valores

de pH ácido, que estes herbicidas interferem entre si (Figs 4.2, 4.6 e 4.8). No entanto verificou-se, que para o molinato e mefenaceto o potencial de pico não dependia significativamente do pH e que para valores superiores a 5 unidades, observava-se um pico de oxidação mal definido. Relativamente ao bensulfurão-metilo, verificou-se que o potencial do pico deslocava-se para potenciais cada vez menos positivos à medida que aumentava o pH. Deste modo, como em soluções fortemente básicas o pico deste ultimo herbicida aparece bem resolvido, torna-se então possível o seu doseamento.

Tal como já se referiu anteriormente, o molinato aparece comercialmente nas formulações para tratamento das culturas de arroz isoladamente ou associado a outros herbicidas, tais como o bensulfurão-metilo, tiobencarbe e o mefenaceto. Do que foi dito, poder-se-ia pensar que seria impossível o doseamento do molinato em amostras contendo bensulfurão-metilo, uma vez que ao pH óptimo para a determinação do molinato (pH=1,9) se verifica uma sobreposição dos respectivos picos de oxidação. Contudo, verificou-se ser possível o seu doseamento por conjugação de dois factores: a concentração (%p/p) na formulação ser numa proporção de 100:1 (molinato:bensulfurão-metilo) e a solubilidade do bensulfurão-metilo ser muito inferior à do molinato para o valor de pH utilizado (pH=1,9). Assim, ao efectuar a determinação usando concentrações baixas de molinato, é possível o doseamento sem que haja interferência do bensulfurão-metilo.

4.3.2.1 Doseamento do molinato em produtos fitofarmacêuticos

Nas condições optimizadas fez-se o doseamento do molinato em dois produtos comercializados em Portugal e usados nas culturas de arroz, o "*Ordram*" e "*Viktor*".

A exactidão do método foi inicialmente avaliada, determinando os respectivos índices de recuperação, obtendo-se um valor médio de cerca de 101%.

Compararam-se ainda os valores obtidos por voltametria com os obtidos pelo método da AOAC, que tanto quanto se julga é o único existente na literatura para doseamento deste herbicida em produtos fitofarmacêuticos. Este método é baseado na cromatografia de fase gasosa, com detector de ionização de chama [87].

Os cromatogramas obtidos para o molinato por este método, em que se usa como padrão interno o cicloato, estão representados na Fig.4.30.

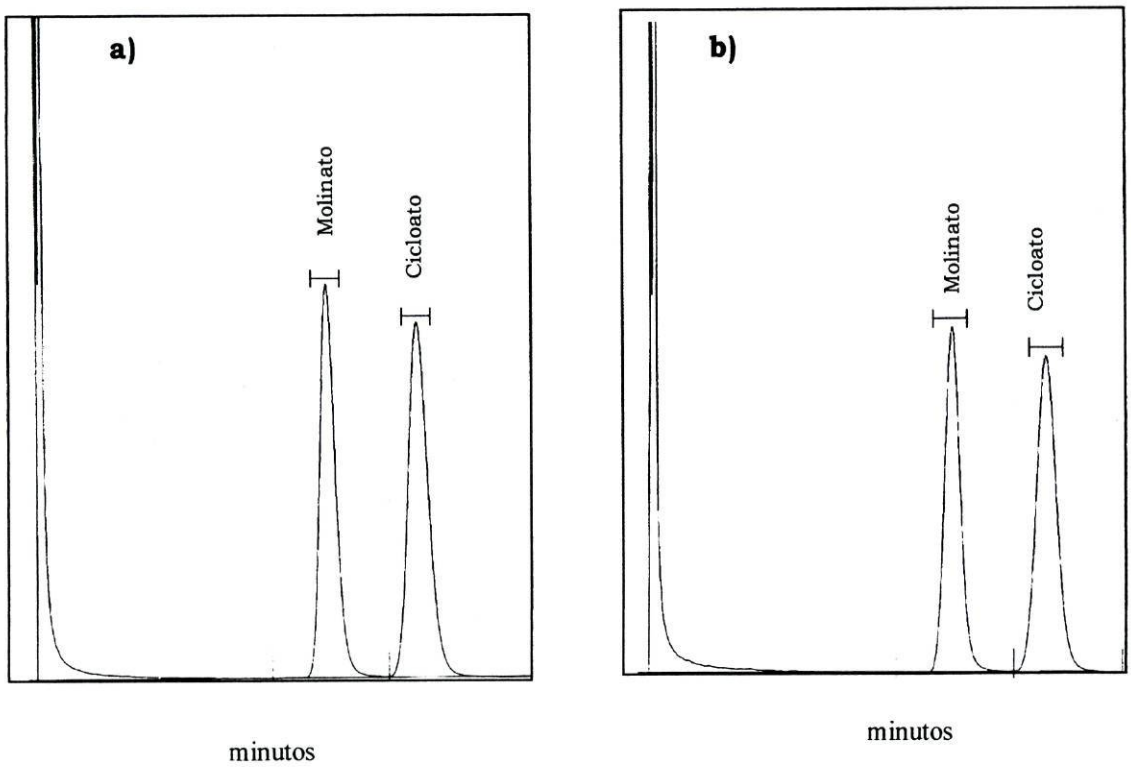


Fig.4.30 Cromatogramas obtidos na quantificação do molinato em amostras comerciais, pelo método da AOAC, **a)** para uma solução padrão de molinato de concentração 2,22 x 10^{-2} $molL^{-1}$ e **b)** para a amostra de nome comercial *Quitt.*

Assim comparou-se, o valor médio obtido pelo método voltamétrico com o valor médio obtido pelo método da AOAC (Tabela 4.7), relativos a 7 determinações independentes de cada método, sendo os desvios relativos inferiores a 2,3 %.

Aplicando o teste t-student [138] com um intervalo de confiança de 95%, o valor encontrado de t (2,19 para "*Ordram*" e 1,17 para "*Viktor*") foi sempre inferior ao valor tabelado (2,21 para o "*Ordram*" e 2,31 para "*Viktor*"). Consequentemente os valores médios relativos à concentração de molinato obtidos pelos dois métodos independentes, são estatisticamente iguais.

Tabela 4.7 Média dos resultados obtidos (%p/p) para 7 determinações independentes de cada amostra de produto fitofarmacêutico, contendo molinato, usando o método voltamétrico e o método da AOAC, respectivos desvios padrão e razões de recuperação.

Produto fitofarmacêutico	**Método voltamétrico %*p/p***	**Método cromatográfico %p/p**	**Recuperação %**
Ordram	7,45 ± 0,13	7,28 ± 0,12	101,4 ± 4,0
Viktor	7,92 ± 0,09	7,77 ± 0,03	101,2 ± 4,1

4.3.2.2 Doseamento do bensulfurão-metilo em produtos fitofarmacêuticos

O doseamento do bensulfurão-metilo nas formulações fitofarmacêuticas de nome comercial *"Rancho LM"* e *"Viktor"*, foi realizada em soluções de electrólito de pH = 12,1, usando-se o método da adição padrão, pois verificou-se que o declive da recta correspondente à calibração absoluta era diferente do declive da recta relativa ao método da adição padrão, o que provavelmente significa que a matriz da amostra interfere na determinação. Obtiveram-se coeficientes de variação inferiores a 8,6 %.

Na Tabela 4.8 apresentam-se os resultados obtidos no doseamento do bensulfurão-metilo correspondentes a 7 determinações independentes dos produtos comerciais existentes no mercado Português, para tratamento das culturas de arroz.

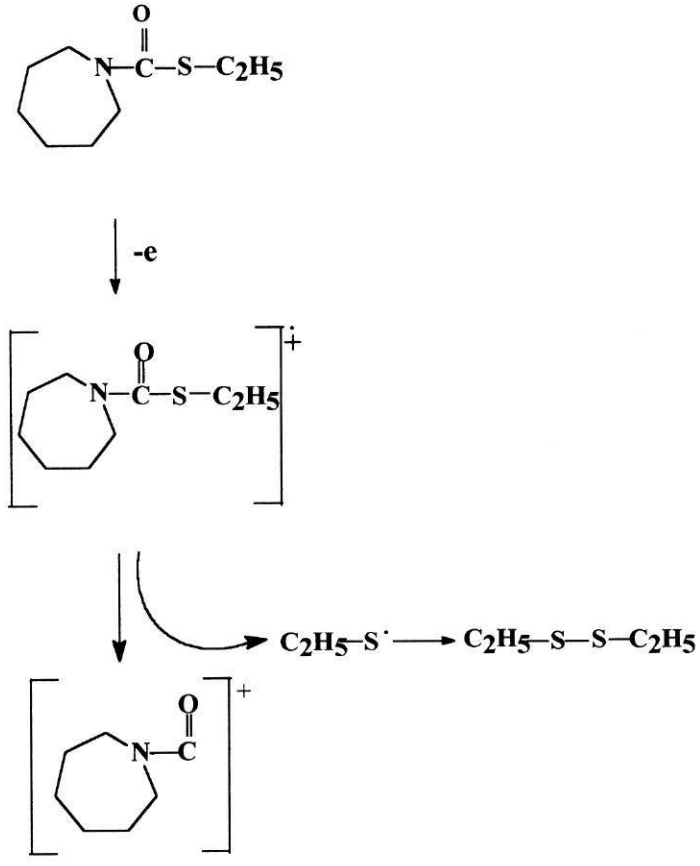
Tabela 4.8 Média dos resultados obtidos (%p/p) para 7 determinações de cada amostra de produto comercial, contendo bensulfurão-metilo, pelo método da adição padrão e por voltametria de onda quadrada e correspondentes desvios padrões.

Produto fitofarmacêutico	**%*p/p***
Rancho LM	0,070 ± 0,006
Viktor	0,083 ± 0,007

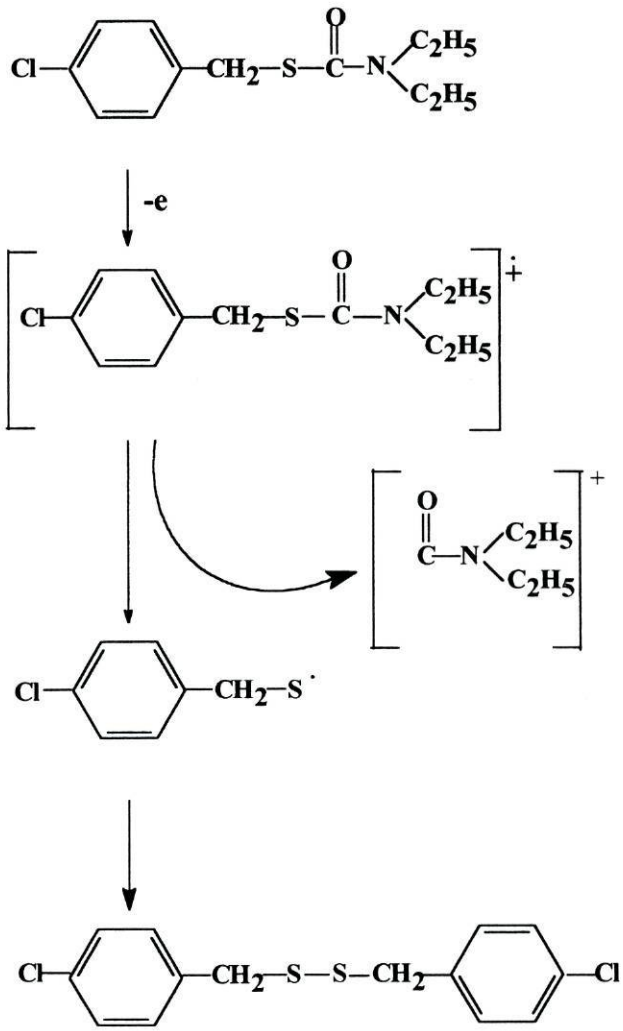
4.4 CONCLUSÕES

O molinato, tiobencarbe, mefenaceto e bensulfurão-metilo, são electroactivos e a sua oxidação em eléctrodos de carbono vítreo ocorre para valores elevados de potencial. Os seus processos são irreversíveis e controlados por difusão.

Os estudos electroanalíticos realizados permitiram o estudo do mecanismo de oxidação dos tiocarbamatos. Relativamente ao molinato e tiobencarbe, verificou-se que o número de electrões envolvidos corresponde a n=1 e o potencial de pico não depende do pH. Os resultados obtidos e o mecanismo proposto, estão de acordo com os trabalhos existentes na literatura relativos à oxidação anódica de tiocarbamatos [140, 162], em que o primeiro passo corresponde à transferência de um electrão, com formação de um intermediário radicalar catiónico seguido de uma dimerização (Esquema 4.1 e 4.2).

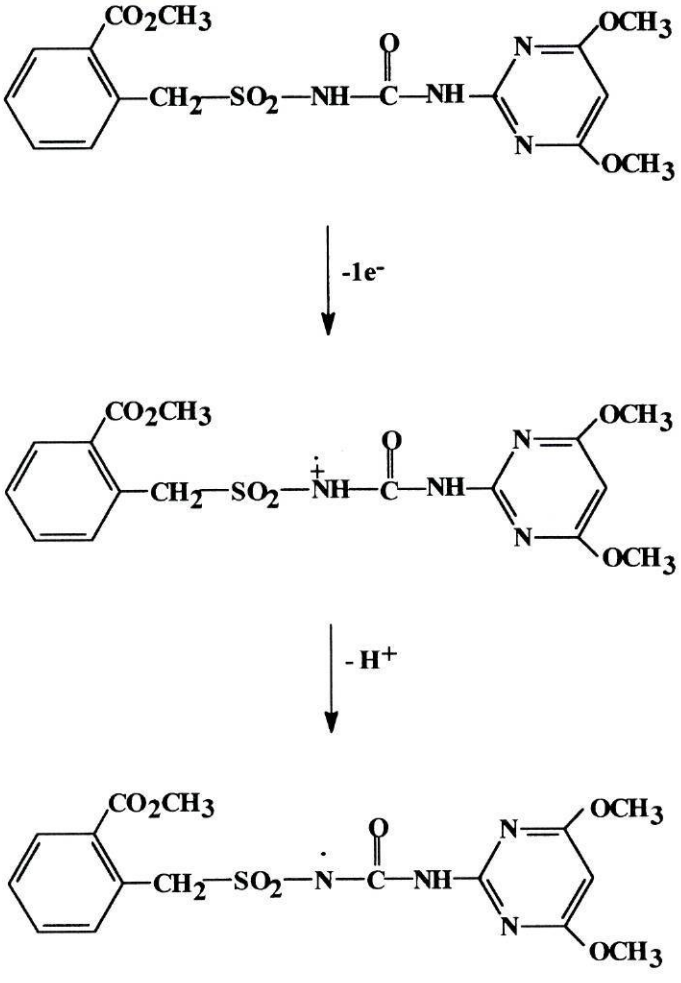


Esquema 4.1 Mecanismo de oxidação do molinato.



Esquema 4.2 Mecanismo de oxidação do tiobencarbe.

Relativamente ao bensulfurão-metilo observa-se uma variação do potencial de pico de 70 mV por unidade de pH, o que corresponde a um mecanismo de transferência 1 electrão e 1 protão. Uma proposta de mecanismo de oxidação para o bensulfurão-metilo está no Esquema 4.3.



Esquema 4.3 Mecanismo de oxidação do bensulfurão-metilo.

Relativamente ao mefenaceto, sendo um composto da família das fenilamidas, o seu comportamento electroquímico será discutido no capítulo 6, em que se estuda e elucida o mecanismo de oxidação de um conjunto de amidas *N*-substituidas.

O molinato, tiobencarbe e mefenaceto são interferentes entre si, dado que apresentam potenciais de oxidação entre +1,5 e +1,6 V vs Ag/AgCl.

Sendo herbicidas com características químicas e físicas tão distintas, o molinato pertencente à família dos tiocarbamatos e o bensulfurão-metilo pertencente à família das sulfonilureias, podem ser doseados simultaneamente por voltametria de onda quadrada.

Os estudos comparativos entre o método electroanalítico desenvolvido e o método existente na literatura para doseamento de tiocarbamatos em produtos comerciais, conduziram a erros relativos inferiores a 2,3%.

As razões de recuperação obtidos foram muito próximas de 100% e os coeficientes de variação inferiores a 1,7% e 8,6%, para o molinato e bensulfurão-metilo respectivamente.

CAPÍTULO 5

OXIDAÇÃO ELECTROQUÍMICA DO OXADIAZÃO

5.1 INTRODUÇÃO

A poluição ambiental devida ao uso de pesticidas organoclorados é um problema sério, devido às suas propriedades carcinogénicas e portanto ao risco daí decorrente para a saúde pública. A preocupação da Comunidade Europeia com o meio ambiente, nomeadamente na qualidade da água potável e da água superficial, levou à publicação de listas prioritárias de pesticidas extremamente poluentes. Nestas listas chamadas de "listas negras" estão incluídos alguns dos insecticidas organoclorados (OCIs-organochlorine insecticides) tais como por exemplo o DDT, aldrina, dieldrina e endrina [163]. No entanto grandes quantidades de herbicidas contendo na sua fórmula molecular o átomo de cloro (CCHs-organochlorine herbicides) de que o oxadiazão é exemplo, são actualmente muito usados nas culturas de arroz [164].

Neste capítulo apresentam-se os resultados obtidos no estudo electroquímico do oxadiazão e o seu doseamento em produtos comerciais portugueses.

O oxadiazão [5-*terc*-butil-3-(2,4-dicloro-5-isopropoxifenil)-1,3,4-oxadi azol -2(3H)-ona] é um herbicida cuja fórmula de estrutura está representada na Fig.5.1. A sua solubilidade é de 1,0 mgL^{-1} (25 °C) e pressão de vapor 0,1 mPa (25 °C) [1]. É um herbicida selectivo de contacto, muito usado nas culturas de arroz, que actua sobre as sementes e os propágulos das infestantes em germinação. Inibe a fotossíntese e é aplicado na fase de pré-emergência relativamente à planta do arroz [5].

O método mais frequente utilizado no doseamento do oxadiazão é a cromatografia de fase gasosa com detecção ECD [164], NPD [146, 165] e FID [146], sendo no entanto os detectores de espectrometria de massa, actualmente os mais usados na determinação dos diferentes resíduos deste pesticida [98, 146, 149, 150, 166].

A espectrometria de massa acoplada a GC tornou possível a determinação simultânea de 20 herbicidas, que de outra forma, devido às suas diferentes propriedades físicas e químicas, só seria possível utilizando 5 detectores diferentes. Infelizmente a técnica GC/MS envolve equipamento dispendioso além de não ser muito fácil de aplicar em análises de rotina [166].

Relativamente ao doseamento simultâneo do oxadiazão e seus metabolitos, usou-se a cromatografia gasosa para a determinação destes compostos no lúpulo verde e no lúpulo seco [165].

A adsorção, translocação e metabolismo do oxadiazão, foram intensivamente estudados na planta do arroz [167 e 168]. Foram identificados como principais metabolitos os correspondentes, alcoois (I e II), ácidos carboxílicos (III e IV), e éteres [V], cujas estruturas estão representadas na Fig.5.1. É ainda possível a ocorrência da quebra do anel heterocíclico, formando-se a fenilidrazina (VI).

Estudos relativos à degradação do oxadiazão no solo [169] confirmaram a presença dos mesmos metabolitos formados na planta do arroz, à excepção da fenilidrazina (VI). No entanto, foi verificada a formação deste último composto, como resultado da degradação *in vitro* do oxadiazão pelo fungo *Fusarium Solani* [170].

5.2. ESTUDO ELECTROQUÍMICO DO OXADIAZÃO

O estudo do comportamento electroquímico de uma solução de oxadiazão de concentração de 2×10^{-4} $molL^{-1}$ num eléctrodo de carbono vítreo, foi efectuado para um intervalo de pH entre 1,9 e 12,8 (Tabela 2.1 e 2.2), não se tendo observado qualquer electroactividade em soluções recentemente preparadas (Fig. 5.2a).

Contudo, quando o mesmo estudo foi efectuado em soluções não recém preparadas, ou seja, com intervalos de tempos após a sua preparação superiores a 10 minutos, observava-se, para valores de pH alcalinos (pH<10), um pico de oxidação a –0,1 V vs Ag/AgCl (Fig 5.2b). De acordo com este facto podemos afirmar numa primeira análise a existência de uma reacção do oxadiazão em soluções alcalinas.

Para optimização das condições de reacção, estudou-se numa primeira fase, a influência do pH. Como se verificou anteriormente que havia o aparecimento de um sinal, somente depois de ter decorrido algum tempo após a preparação da solução, fixou-se em 1 hora o período decorrente entre esta e a medição voltamétrica. Verificou-se o aparecimento de um pico de oxidação unicamente para pH alcalino ao potencial de –0,1 V e que a corrente de pico aumentava de intensidade à medida que se aumentava o pH (Fig. 5.3).

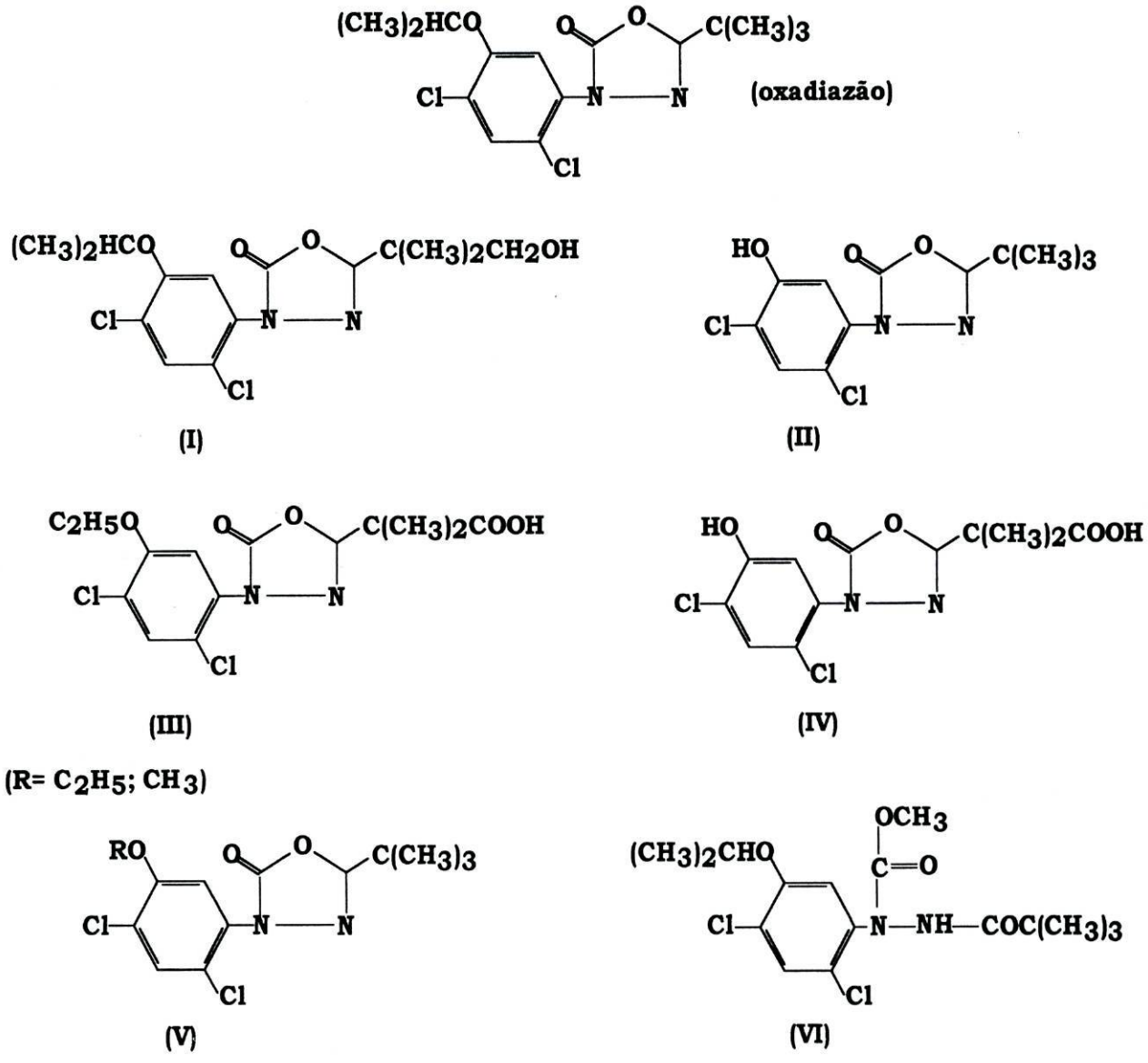


Fig.5.1 Estruturas do oxadiazão e dos seus principais metabolitos formados na planta do arroz e no solo.

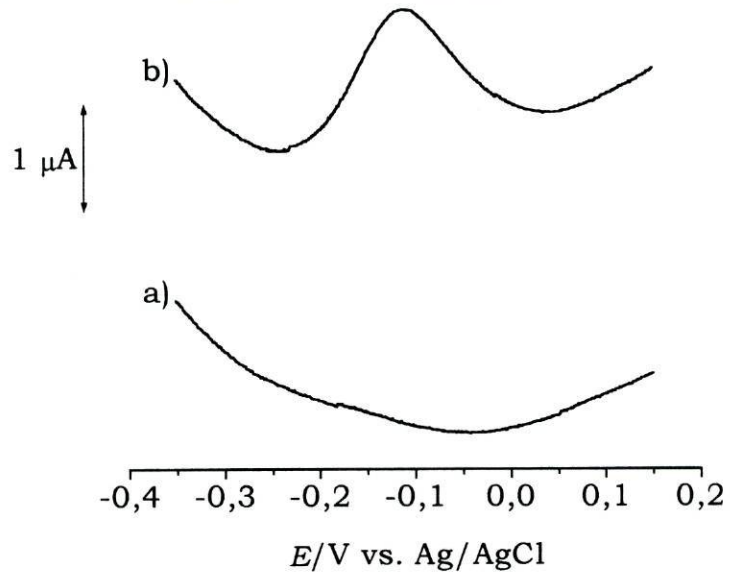


Fig.5.2 Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de oxadiazão de concentração 2,0x10^{-4} molL^{-1}, em tampão de KCl e NaOH com pH=12,8 e 30% v/v de etanol a) imediatamente após preparação da solução, b) 1 hora após preparação da solução. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial de 1 mV.

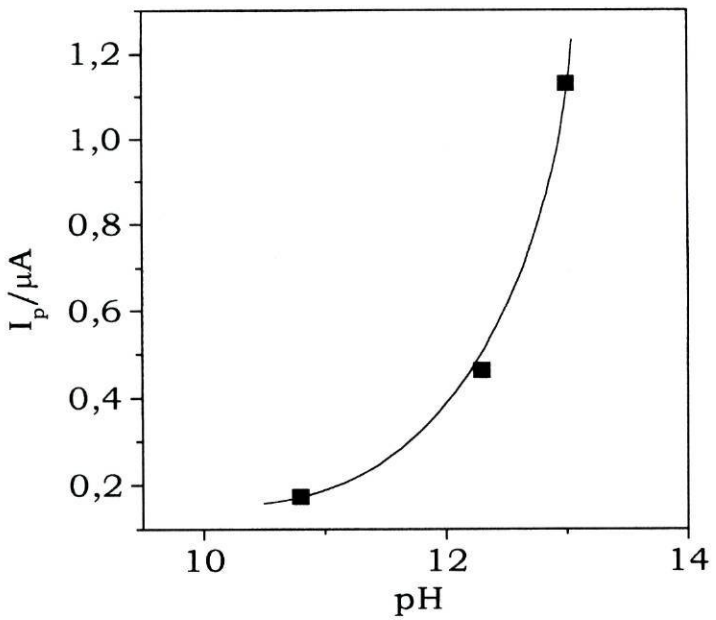


Fig.5.3 Gráfico I_p vs. pH para soluções de oxadiazão de concentração 2,0x10^{-4} molL^{-1} em tampão KCl e NaOH com pH=12,8 e 30 % v/v de etanol, após 1 hora de preparação das soluções.

Por conduzirem ao valor máximo de corrente todos os resultados dos estudos efectuados que a seguir se descrevem, foram obtidos em solução de electrólito de KCl/NaOH (pH=12,8) com 30% v/v de etanol.

A seguir, determinou-se o tempo necessário para se obter reacção completa. Como se pode observar na Fig. 5.4 alcança-se um valor máximo da intensidade de corrente ao fim de 130 minutos a partir do qual se mantém praticamente constante.

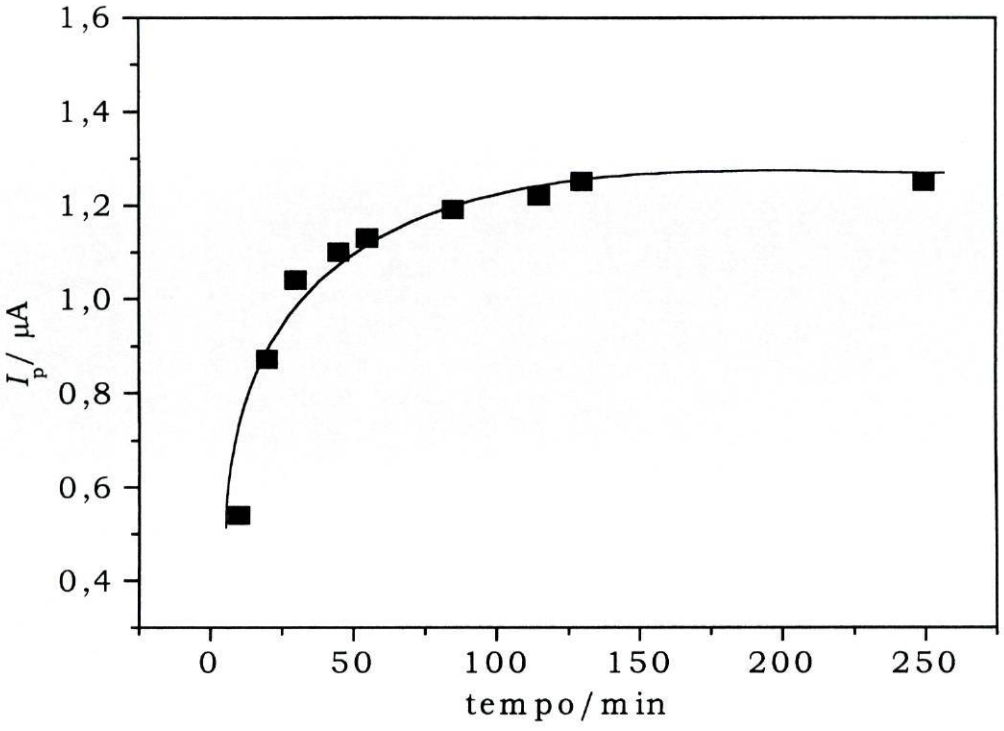


Fig.5.4 Gráfico de I_p vs. tempo para uma solução de oxadiazão de concentração 2,0 x 10^{-4} $molL^{-1}$, em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e 30 % v/v de etanol.

No entanto o voltamograma obtido para uma solução com uma concentração superior de oxadiazão e usando um tempo entre a preparação da solução e a medição voltamétrica de 2 horas e 10 minutos, mostrou o aparecimento de um segundo pico com menor valor de intensidade de corrente a + 0,6 V vs Ag/AgCl (Fig. 5.5).

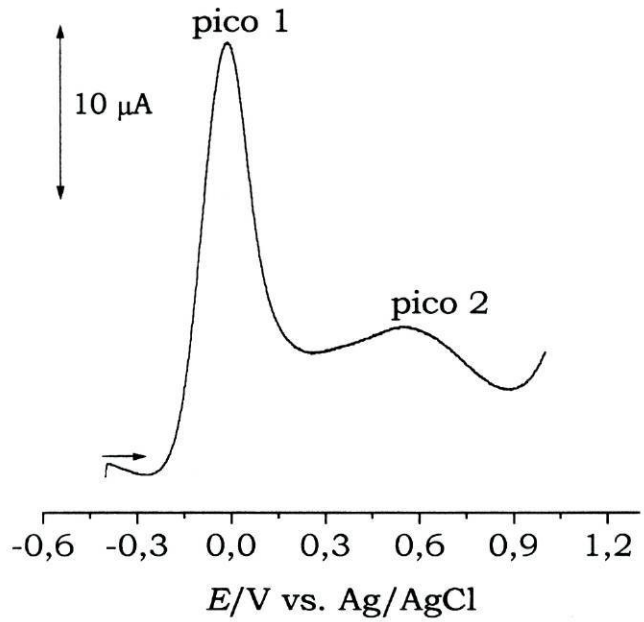


Fig.5.5 Voltamograma de onda quadrada de uma solução de oxadiazão de concentração inicial de 9,1 x 10^{-4} $molL^{-1}$ em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e 30% v/v de etanol, após 2 horas e 10 minutos da sua preparação.

Os resultados obtidos, permitem concluir que o oxadiazão não é electroactivo, mas em meio fortemente alcalino, reage dando origem a dois produtos electroactivos. A estabilidade química do oxadiazão em solução foi estudada por outros métodos e é descrita a seguir.

5.3 ESTUDO DA REACÇÃO DE HIDRÓLISE DO OXADIAZÃO EM SOLUÇÃO

A reacção de hidrólise do oxadiazão foi seguida por TLC, durante 2 horas e 30 minutos para uma solução de oxadiazão 9,1 x 10^{-4} $molL^{-1}$ em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e 30% v/v de etanol.

Durante a reacção além da presença do reagente de partida, o oxadiazão, (Rf = 0,96), observou-se a formação de dois novos compostos, que foram designados por Oxa1 (Rf = 0,57) e Oxa2 (Rf = 0,47). Após 2 horas e 30 minutos verificou-se o desaparecimento completo do reagente inicial.

Aumentou-se a escala da reacção para se poderem caracterizar os produtos formados (ver parte experimental). Após reacção completa uma toma de solução foi retirada e estudada por voltametria de onda quadrada, observando-se dois picos de oxidação aos potenciais de +0,6 e

–1,0 V vs Ag/AgCl de acordo com o comportamento electroquímico observado na Fig. 5.6a.

Depois de serem isolados e purificados por cromatografia preparativa em placa e caracterizados estruturalmente por IR, NMR e MS, os produtos formados foram identificados como sendo o 1-trimetilacetil-2-(2,4-dicloro-5-isopropoxifenil)-2-etoxicarbonilhidrazina (Oxa1) e 1-trimetilacetil-2-(2,4-dicloro-5-isopropoxifenil)hidrazina (Oxa2), cujas fórmulas de estrutura estão representadas na Fig.5.7.

Prepararam-se soluções de cada um destes produtos puros (parte experimental, Capítulo 2) e foi feito o estudo electroquímico. Os voltamogramas de onda quadrada permitiram identificar o pico 1 como o correspondente ao Oxa2 (Fig.5.6c) e o pico 2 ao Oxa1 (Fig.5.6b).

Os dois picos de oxidação (Fig. 5.6a) podem ser identificados como os produtos formados em solução por hidrólise alcalina do oxadiazão.

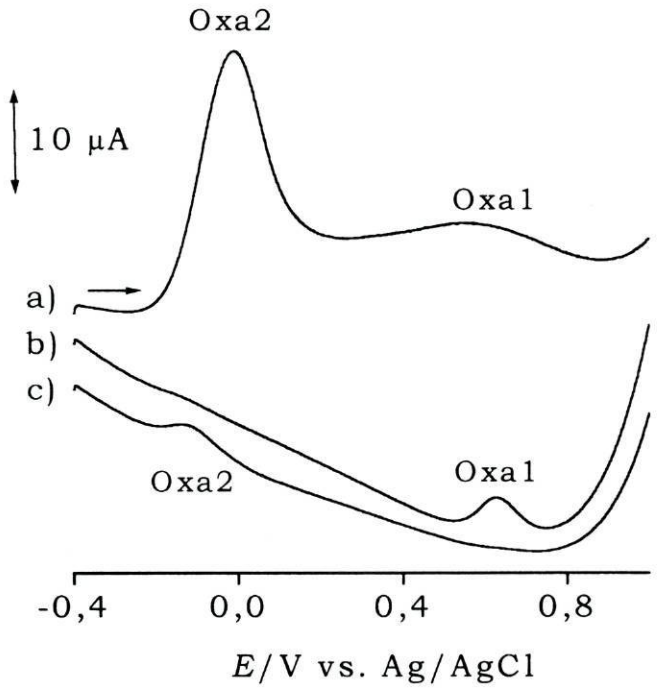
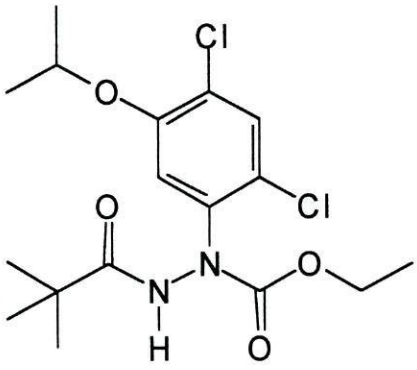
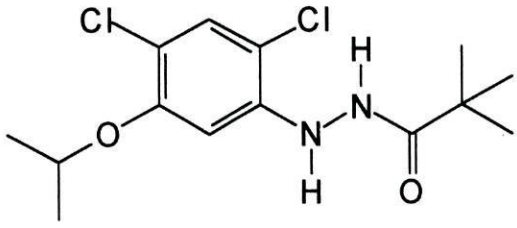


Fig.5.6 Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de oxadiazão de concentração inicial de 9,1 x 10^{-4} $molL^{-1}$ em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e com 30 % v/v de etanol a) após 2 horas e 30 minutos da sua preparação, b) solução de Oxa1 de concentração 4,5 x 10^{-4} $molL^{-1}$, c) solução de Oxa2 de concentração 1,3 x 10^{-4} $molL^{-1}$. Frequência 50 Hz, incremento de potencial de 1 mV e amplitude de potencial de 50 mV.



Oxa1



Oxa2

Fig. 5.7 Estrutura do Oxa1 e Oxa2.

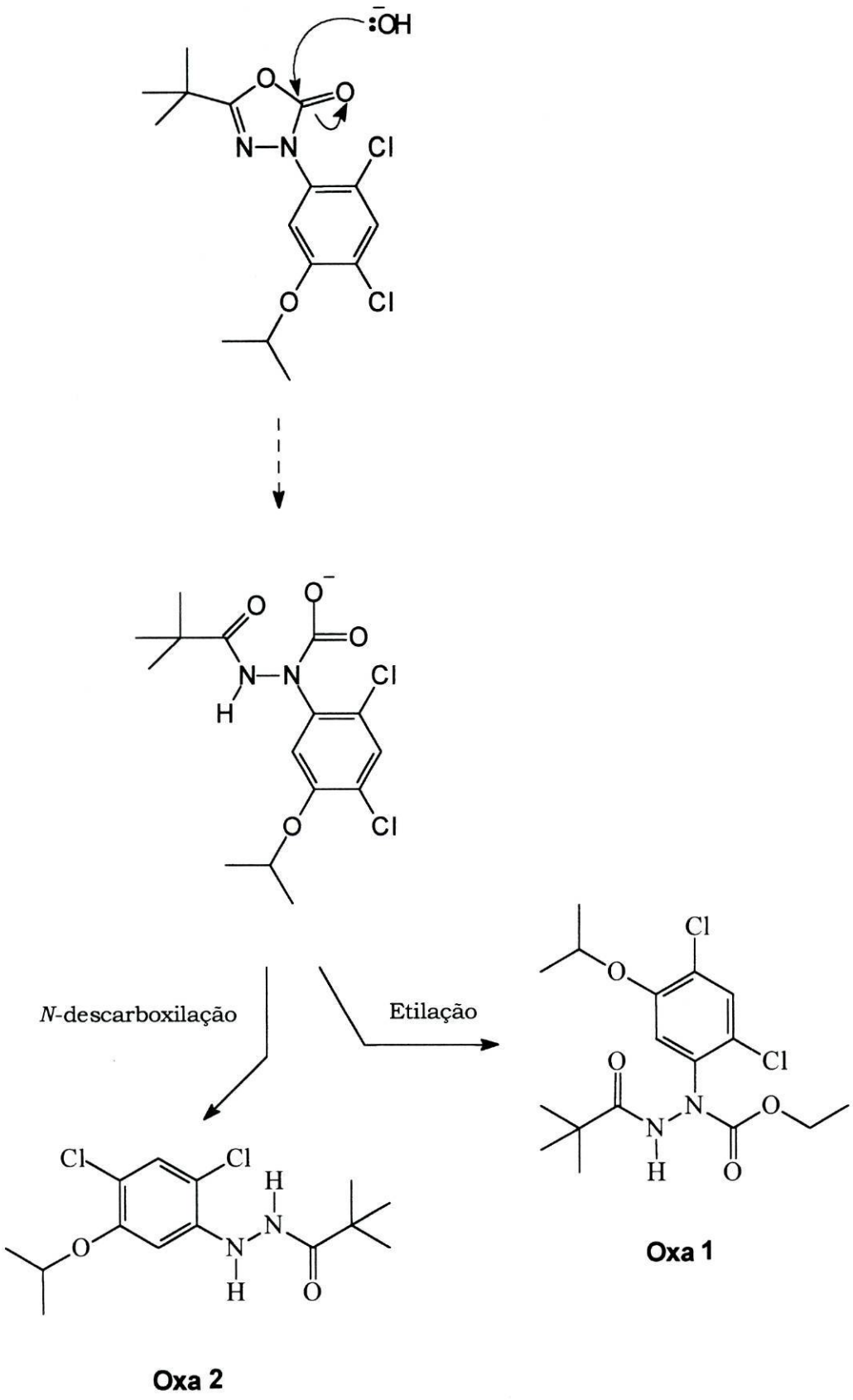
Pode concluir-se que o oxadiazão é um composto susceptível de hidrólise alcalina com abertura do anel heterocíclico e formação de compostos derivados da hidrazina. O mecanismo correspondente à reacção em solução homógenea e consistente com os dados obtidos está representado no Esquema 5.1 e envolve o ataque nucleófilico do anião hidróxido ao grupo carbonilo, dando origem a um intermediário tetraédrico, com formação, *in situ*, de um anião carboxílico que, após descarboxilação, origina o Oxa2.

5.4. ESTUDO ELECTROQUÍMICO DOS PRODUTOS DE HIDRÓLISE DO OXADIAZÃO: OXA1 E OXA2

5.4.1 Voltametria cíclica

Os voltamogramas cíclicos de Oxa1 e Oxa2 puros foram realizados para diferentes velocidades de varrimento (50-300 mVs^{-1}).

Na Fig. 5.8 estão os voltamogramas obtidos para a velocidade de varrimento de 100 mVs^{-1}, para o Oxa1 e Oxa2, respectivamente. Observa-se para ambos os casos que as reacções de eléctrodo são irreversíveis e da relação linear de I_p vs. $v^{1/2}$ (Fig.5.9) podemos concluir que o processo de eléctrodo para os dois compostos é controlado por difusão.



Esquema 5.1 Mecanismo de hidrólise alcalina do Oxadiazão.

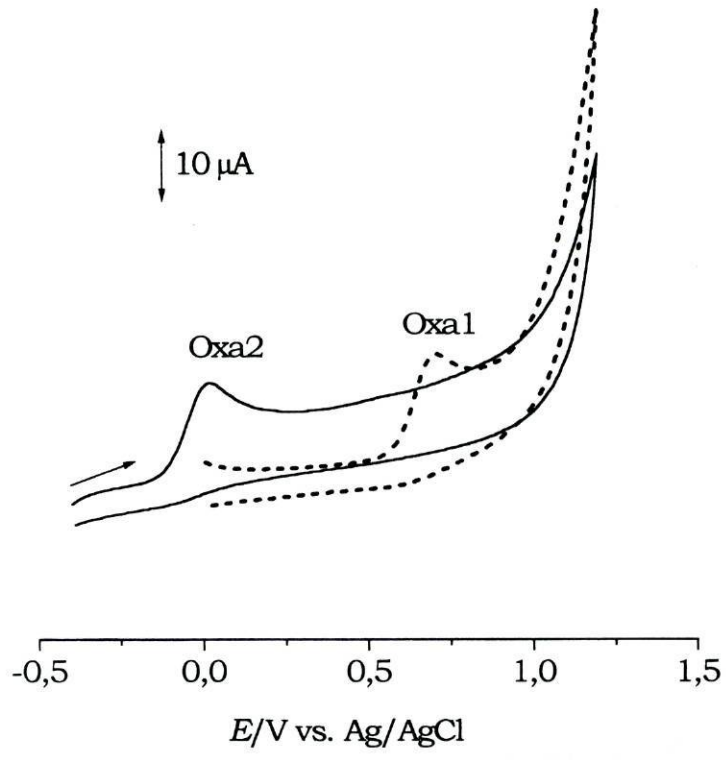


Fig. 5.8 Voltamogramas cíclicos de soluções de concentração $1{,}0\times10^{-4}$ e 2×10^{-4} molL^{-1} de Oxa1 e Oxa2 respectivamente, em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e 30 % v/v de etanol. Velocidade de varrimento 100 mVs^{-1}.

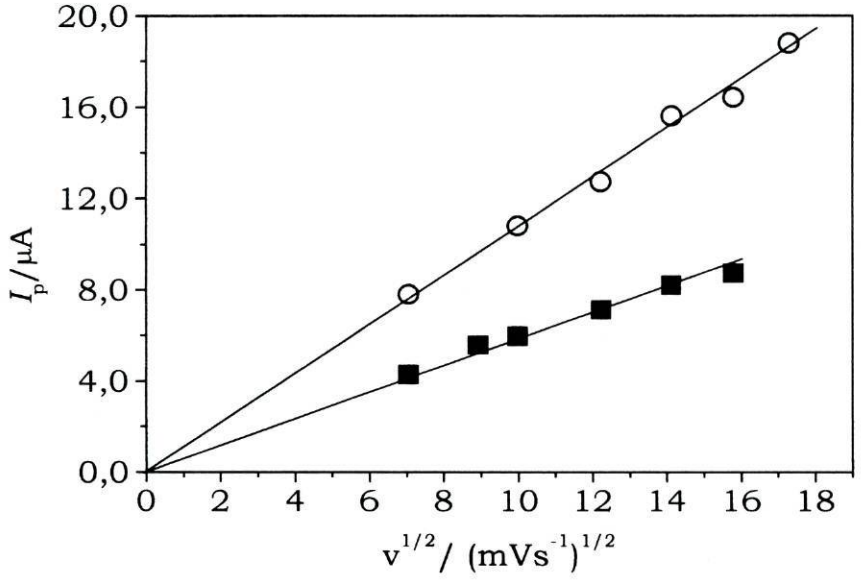


Fig. 5.9 Gráfico de I_p vs. $v^{1/2}$ para soluções de (■) Oxa1 e (O) Oxa2 de concentrações respectivamente de 1,0 x 10^{-4} molL^{-1} e 2,0 x 10^{-4} molL^{-1}, em solução de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1}com pH=12,8 e 30% v/v de etanol.

Também neste caso se efectuou um tratamento electroquímico adequado da superficie do eléctrodo de trabalho (Tabela 2.1), para permitir obter uma melhor reprodutibilidade dos resultados.

5.4.2. Voltametria de onda quadrada

Os estudos por voltametria de onda quadrada de Oxa1 e Oxa2, foram efectuados em soluções de tampão de KCl/NaOH com pH=12,8 e 30 % v/v de etanol, a diferentes frequências (20-150 Hz).

Os voltamogramas de onda quadrada obtidos para Oxa1 e Oxa2 estão representados respectivamente nas Figs.5.10 e 5.12. Obtém-se para ambos os casos uma relação linear de I_p vs. $w^{1/2}$ (Figs.5.11 e 5.13).

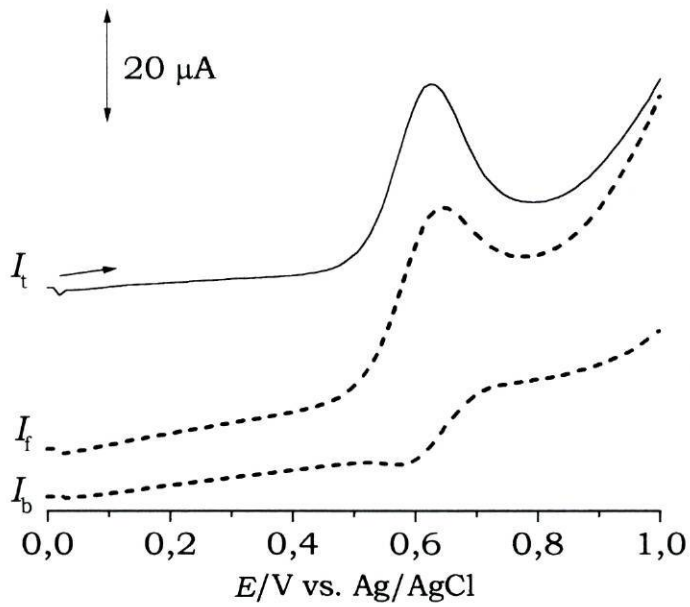


Fig.5.10 Voltamograma de onda quadrada de uma solução de Oxa1 de concentração 1,0 x 10^{-4} $molL^{-1}$, em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e 30 % v/v de etanol. Corrente total (—), I_f e I_b (----). Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial 1 mV e uma velocidade de varrimento efectiva de 50 mVs^{-1}.

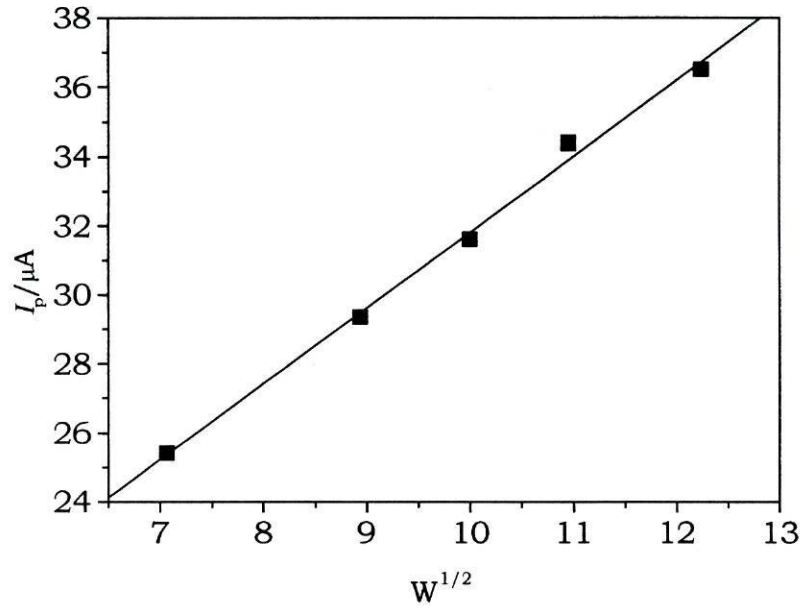


Fig.5.11 Gráfico de I_p vs. $w^{1/2}$, para uma solução de Oxa1 de concentração 1,0 x 10^{-4} $molL^{-1}$, em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e 30 % v/v de etanol.

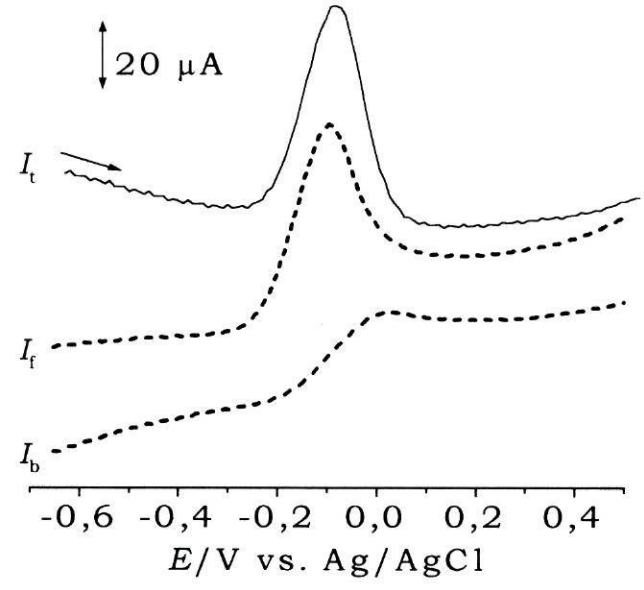


Fig.5.12 Voltamograma de onda quadrada de uma solução de Oxa2 de concentração 2,0 x 10^{-4} $molL^{-1}$, em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e 30 % v/v de etanol. Corrente total (—), I_f e I_b (----). Frequência 50 Hz, amplitude 50mV, incremento de potencial 1 mV e uma velocidade de varrimento efectiva de 50 mVs^{-1}.

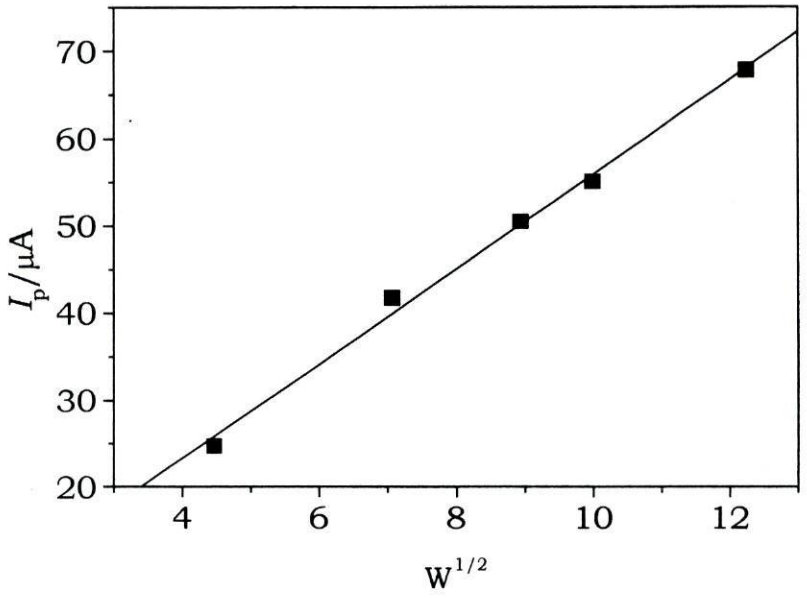


Fig.5.13 Gráfico de I_p vs. $w^{1/2}$, para uma solução de Oxa2 de concentração 2,0 x 10^{-4} $molL^{-1}$, em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e 30 % v/v de etanol.

5.4.3 Estudo electroquímico da reacção de hidrólise de Oxa1

Partindo-se de uma solução pura de Oxa1 obteve-se o pico de oxidação a +0,6 V. Contudo, este diminuí de intensidade com o tempo, dando origem a um segundo pico a –0,1 V correspondente a Oxa2. A Fig. 5.14 mostra que ao fim de 24 horas a razão de I_p(Oxa1)/I_p(Oxa2) tende para a unidade, ou seja os dois picos têm intensidades semelhantes, o que significa que o composto Oxa1 é instável em solução alcalina, convertendo-se em Oxa2 até se estabelecer um equilíbrio.

A reacção de hidrólise alcalina de Oxa1 foi também controlada por TLC e NMR tendo-se confirmado a presença equimolar na mistura de Oxa1 e Oxa2 após 24 horas.

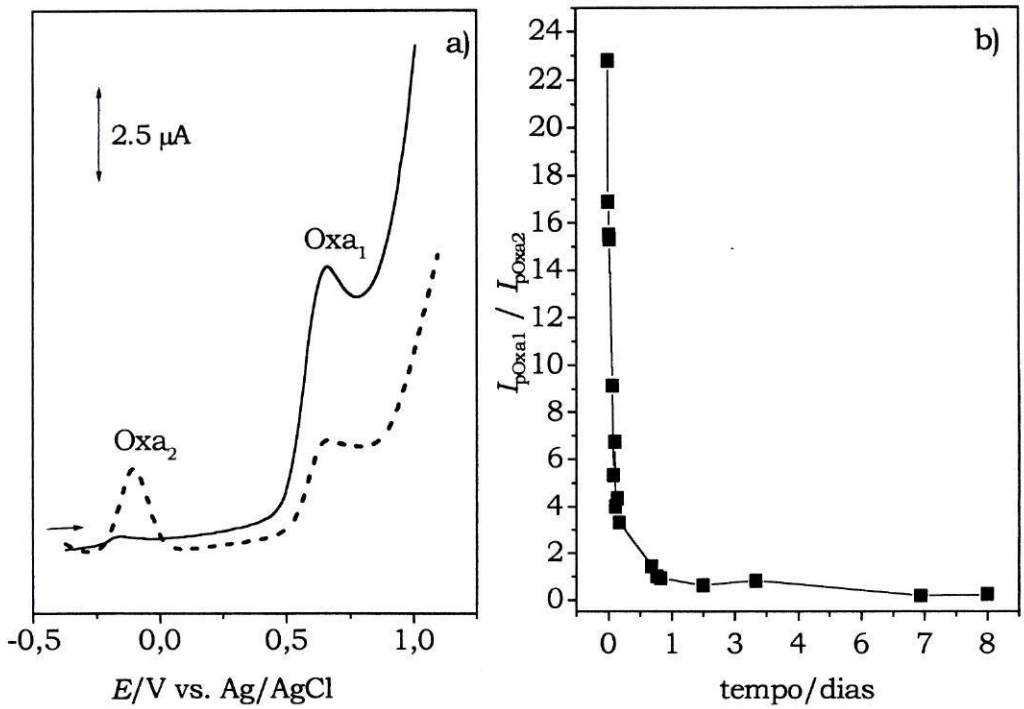


Fig. 5.14 Voltamogramas de onda quadrada de uma solução de Oxa1 de concentração 2.4×10^{-3} molL^{-1} em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e 30 % v/v de etanol. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial de 1 mV, a) (—) imediatamente após preparação da solução, (---) 24 horas após a sua preparação, b) Razão de I_{pOxa1}/I_{pOxa2} vs. tempo.

5.5 DETERMINAÇÃO ELECTROANALÍTICA DO OXADIAZÃO

5.5.1 Calibração

Devido ao facto do oxadiazão não ser electroactivo em eléctrodos de carbono vítreo, a determinação do oxadiazão em produtos fitofarmacêuticos, baseou-se na quantificação electroanalítica de um dos seus produtos de hidrólise em meio fortemente alcalino. Uma vez que o Oxa2, apresenta estabilidade química em solução alcalina, ao contrário do Oxa1, o doseamento

do oxadiazão em produtos fitofarmacêuticos baseou-se na quantificação electroanalítica do Oxa2 em meio fortemente alcalino.

Nas condições óptimas de análise, solução tampão com pH=12,8, frequência 50 Hz, incremento de potencial 1 mV e velocidade de varrimento efectiva de 50 mVs^{-1}, observou-se uma relação linear de *Ip* vs. concentração com um declive de 0,0089 ± 0,0009 $Amol^{-1}L$ e ordenada na origem de $-7{,}2x10^{-7} \pm 2x10^{-7}$ A (r = 0,998 e n = 5), para um intervalo de confiança de 95% [138].

O limite de detecção, para a determinação do oxadiazão é de $1x10^{-4}$ $molL^{-1}$

Na Fig. 5.15 estão representados os voltamogramas de onda quadrada correspondentes à calibração de Oxa2.

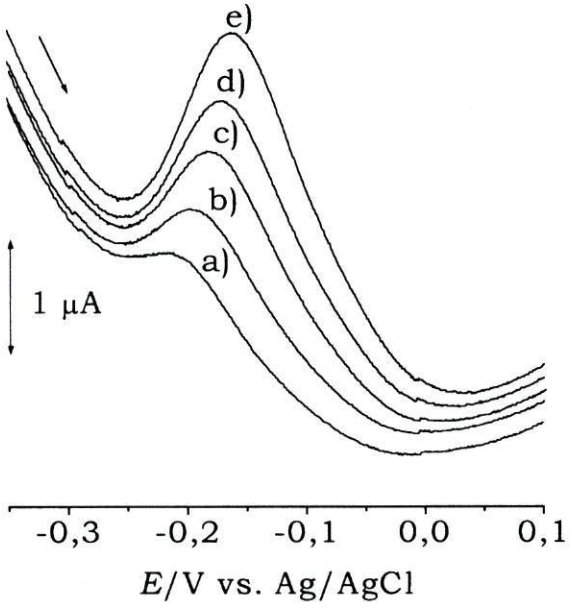


Fig. 5.15 Voltamogramas de onda quadrada em soluções de oxadiazão em tampão KCl/NaOH com pH=12,8 e 30% v/v de etanol a) $1{,}30x10^{-4}$, b) $1{,}70x10^{-4}$, c) $2{,}10x10^{-4}$, d) $2{,}43x10^{-4}$, e) $2{,}72x10^{-4}$ $molL^{-1}$. Frequência 50 Hz, incremento de potencial 1 mV e amplitude 50 mV.

A repetibilidade do sinal analítico foi avaliada através de 6 medições sucessivas de soluções padrão de oxadiazão de concentrações $1{,}30x10^{-4}$,

$2,10x10^{-4}$ e $2,43x10^{-4}$ $molL^{-1}$. Obtiveram-se coeficientes de variação de 2,0 % para as duas primeiras soluções e de 0,2 %, para a solução mais concentrada.

5.5.2. Doseamento do oxadiazão em produtos fitofarmacêuticos

Os produtos comerciais disponíveis no mercado português, que contêm oxadiazão, têm nome comercial "*Ronstar*" e "*Ronstar GR*". Na Tabela 5.1 estão os resultados obtidos relativos a 7 determinações independentes de cada produto comercial medidas em dias diferentes.

Tabela 5.1 Média dos resultados obtidos (%p/p) para 7 determinações independentes de cada amostra de produto comercial contendo oxadiazão, razões de recuperação e correspondentes desvios padrões.

Produto fitofarmacêutico	***%p/p***	**% Recuperação**
Ronstar	28,4 ± 0,8	100,3 ± 5,4
Ronstar GR	1,9 ± 0,2	101,1 ± 5,3

Tanto quanto se conhece, não existe na literatura nenhum procedimento para a determinação do oxadiazão em produtos comerciais. Assim a avaliação da exactidão foi realizada através da determinação dos índices de recuperação, tendo-se obtido, para as duas amostras analisadas, valores muito próximos de 100%.

A reprodutibilidade do método electroanalítico desenvolvido, foi avaliada através dos coeficientes de variação, tendo-se obtido valores inferiores a 7,7 %.

5.6. CONCLUSÕES

O oxadiazão não é um composto electroactivo em eléctrodos de carbono vítreo, contudo, sofre hidrólise em meio alcalino e os dois produtos formados, 1-trimetilacetil-2-(2,4-dicloro-5-isopropoxifenil)-2-etoxicarbonilhidrazina(Oxa1) e 1-trimetilacetil -2-(2,4-dicloro-5-isopropoxifenil)-hidrazina (Oxa2), são ambos electroactivos, apresentando picos de oxidação a +0,6 V e +0,1 V vs Ag/AgCl, respectivamente.

O Oxa2 e um análogo ao Oxa1 (o correspondente éster metílico), tinham já sido referidos na literatura, como metabolitos do oxadiazão das culturas de arroz [167-170].

Concluiu-se também que em soluções alcalinas o Oxa1 é quimicamente instável e o Oxa2 é estável.

Foi desenvolvido um método electroanalítico indirecto baseado no comportamento redox de Oxa 2, para quantificação do oxadiazão. Obtiveram-se para as duas amostras determinadas, coeficientes de variação inferiores a 7,7% e índices de recuperação muito próximos de 100%.

O método electroquímico desenvolvido além de permitir a quantificação indirecta do oxadiazão, permite ainda, quando associado a outras técnicas como IR, NMR e MS, o estudo do mecanismo da hidrólise alcalina deste composto.

CAPÍTULO 6

OXIDAÇÃO ELECTROQUÍMICA DO PROPANIL E N-FENILAMIDAS

6.1 INTRODUÇÃO

Os herbicidas da família das anilidas são eficazes no controlo das pragas de um variado número de culturas em todo o Mundo, incluindo o arroz, algodão, batata e milho. Algumas das propriedades mais importantes destes compostos, são a sua eficácia no combate às infestantes, selectividade e baixa toxicidade relativa aos mamíferos [1,171,172].

O propanil [*N*-(3,4-diclorofenil)propanamida], cuja fórmula de estrutura está representada na Fig. 6.1, é um composto pertencente a este grupo de herbicidas. A sua solubilidade em água é de 130 mgL^{-1} (20 °C) e a pressão de vapor é de 0,05 mPa (25 °C) [1].

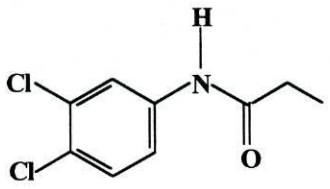


Fig. 6.1 Estrutura do propanil.

O propanil é um herbicida selectivo de contacto, sendo recomendada a sua aplicação pós-emergência das ervas daninhas [5].

O uso deste herbicida é incompatível com pesticidas do grupo dos carbamatos e organofosfatos, sendo o intervalo de segurança, ou seja, o intervalo de tempo necessário entre a sua aplicação e a dos carbamatos e organofosfatos de pelo menos duas semanas [173].

Contrariamente ao que sucede com a maioria dos produtos fitofarmacêuticos, nas formulações dos dois únicos produtos comercializados em Portugal que contêm propanil e usados nas culturas de arroz, este herbicida surge como única substância activa [88].

A degradação do propanil é usualmente atribuída à hidrólise química e/ou microbiológica e fotólise [1 e 174].

O propanil pode sofrer hidrólise em meio fortemente ácido (pH<4) e em meio fortemente alcalino (pH>9), dando origem à 3,4-dicloroanilina [Fig. 6.2) e ao ácido propiónico. O propanil apresenta estabilidade química para valores de pH compreendidos entre 4 e 9 (a 22 °C) [1].

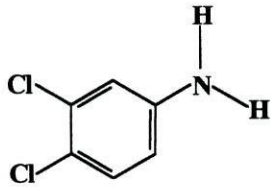


Fig. 6.2 Estrutura da 3,4-dicloroanilina (DCA).

Tal como o referido para os herbicidas até aqui estudados, uma das técnicas mais usadas para determinação do propanil é a cromatografia de fase gasosa com diferentes tipos de detectores [144, 147, 150, 175]. Também a cromatografia de fase líquida é muito usada, sendo a perda de sensibilidade e selectividade relativamente à cromatogarfia de fase gasosa, compensada pelo facto das amostras não serem submetidas a temperaturas elevadas e consequentemente a processos de degradação [152, 172, 176, 177].

Foi também desenvolvido um método electroquímico para a determinação do propanil, com um limite de detecção de cerca $8x10^{-5}$ $molL^{-1}$, baseado na construção de um sensor amperométrico. Neste trabalho o eléctrodo de carbono vítreo foi modificado com uma camada de porfirina e apresenta um tempo de vida de cerca de 7 semanas [178].

Neste capítulo descreve-se o estudo da oxidação electroquímica do propanil, composto pertencente estruturalmente à família das *N*-fenilamidas, num eléctrodo de carbono vítreo e o desenvolvimento de um método para a determinação deste herbicida em produtos comerciais.

No sentido de estudar a influência da natureza e posição dos substituintes no processo de oxidação das *N*-fenilamidas, efectuou-se também o estudo do comportamento electroquímico de um conjunto de amidas análogas ao propanil, nomeadamente a acetanilida (Fig.6.3 a), *N,N*-difenilacetamida (Fig.6.3 b) e fenacetina (Fig.6.3 c).

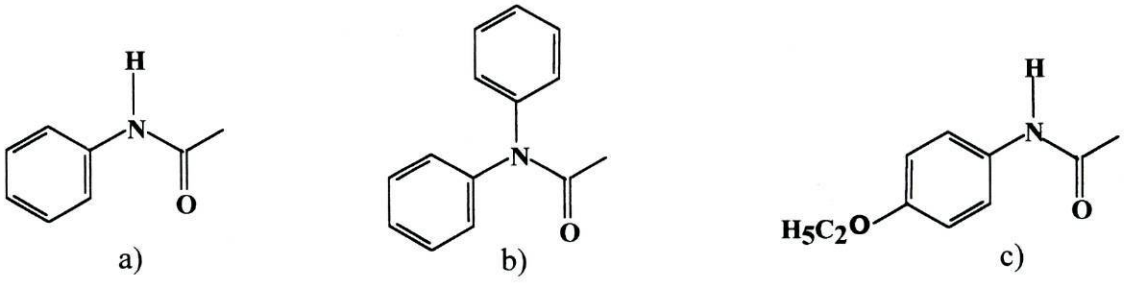


Fig. 6.3 Estrutura da a) acetanilida, b) *N,N*-difenilacetamida e c) fenacetina.

Foi ainda estudada a estabilidade química do propanil em diferentes condições de pH. A análise da composição química das soluções foi efectuada por TLC e NMR.

No sentido de obter mais informações acerca do mecanismo de oxidação de *N*-fenilamidas, efectuou-se o estudo electroquímico do propanil e acetanilida em soluções deuteradas. Neste caso foi necessário recorrer ao uso de microeléctrodos de carbono vítreo, dado estes permitirem a medição em soluções contendo baixas concentrações ou mesmo sem electrólito suporte.

Paralelamente realizaram-se estudos espectroscópicos, nomeadamente de ^{13}C NMR, de soluções deuteradas dos compostos acima mencionados.

6.2. ESTUDO ELECTROQUÍMICO DO PROPANIL E DE *N*-FENILAMIDAS.

6.2.1. Influência do pH

Estudou-se o comportamento electroquímico, do propanil, da acetanilida, da fenacetina e da *N,N*-difenilacetamida para um intervalo de pH entre 1,9 e 12,2 (Tabela 2.3).

Verificou-se que o propanil e a acetanilida, têm um comportamento electroquímico semelhante para a variação de pH (Fig. 6.4 e 6.5).

Para pH < 6 observa-se uma relação linear de E_p vs. pH com declive de 32 mV/pH (Fig.6.6 e 6.7) o que corresponde a um processo de eléctrodo de 2 electrões/1 protão. Para valores de pH compreendidos entre 6 e 9, o potencial de pico é independente do pH. Para soluções básicas, ou seja, com valores de pH > 10, observa-se novamente uma relação linear de E_p vs. pH com declive de 75 mV/pH.

Da variação de I_p vs. pH (Fig. 6.6 e 6.7), verifica-se um decréscimo da corrente de pico com o pH, seguida de um aumento para valores de pH básicos. O máximo de I_p, observa-se para pH=1,9.

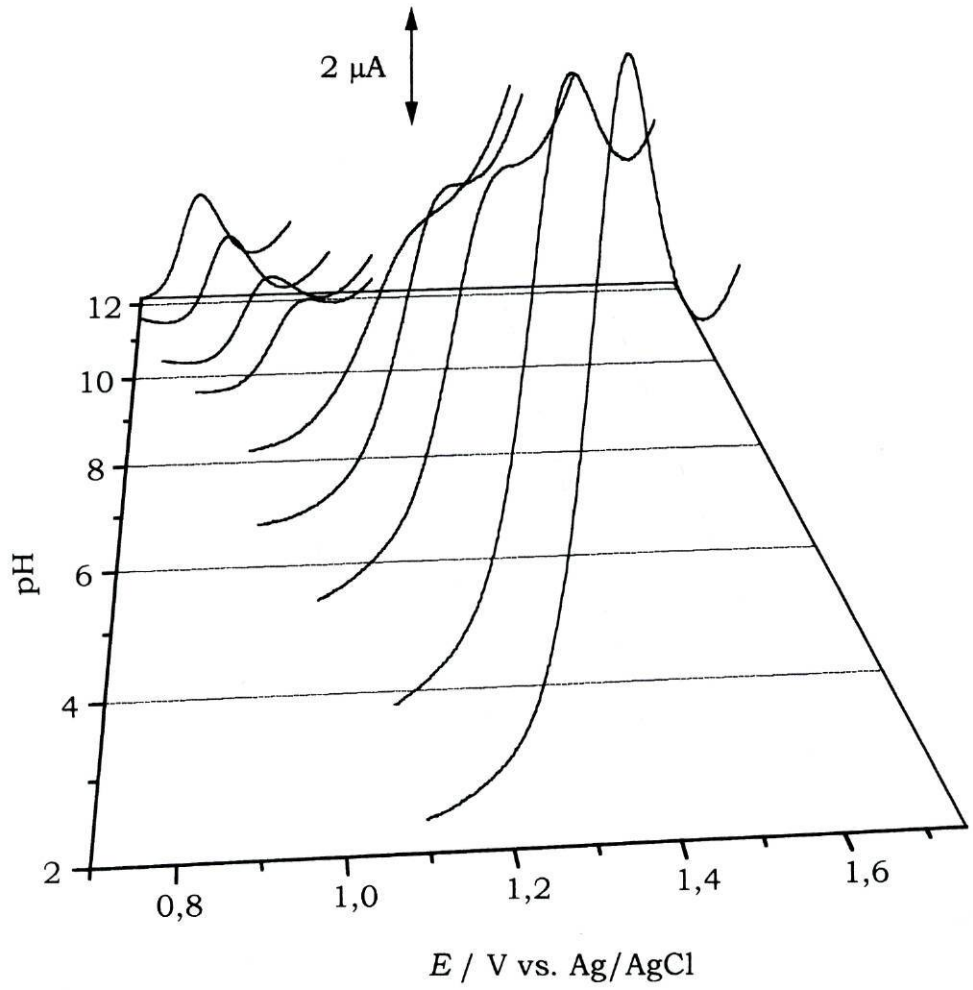


Fig. 6.4 Voltamogramas de impulso diferencial obtidos para uma solução de propanil de concentração $2x10^{-4}$ $molL^{-1}$, em diferentes soluções de electrólito (Tabela 2.3). Amplitude de impulso 50 mV e velocidade de varrimento 5 mVs^{-1}.

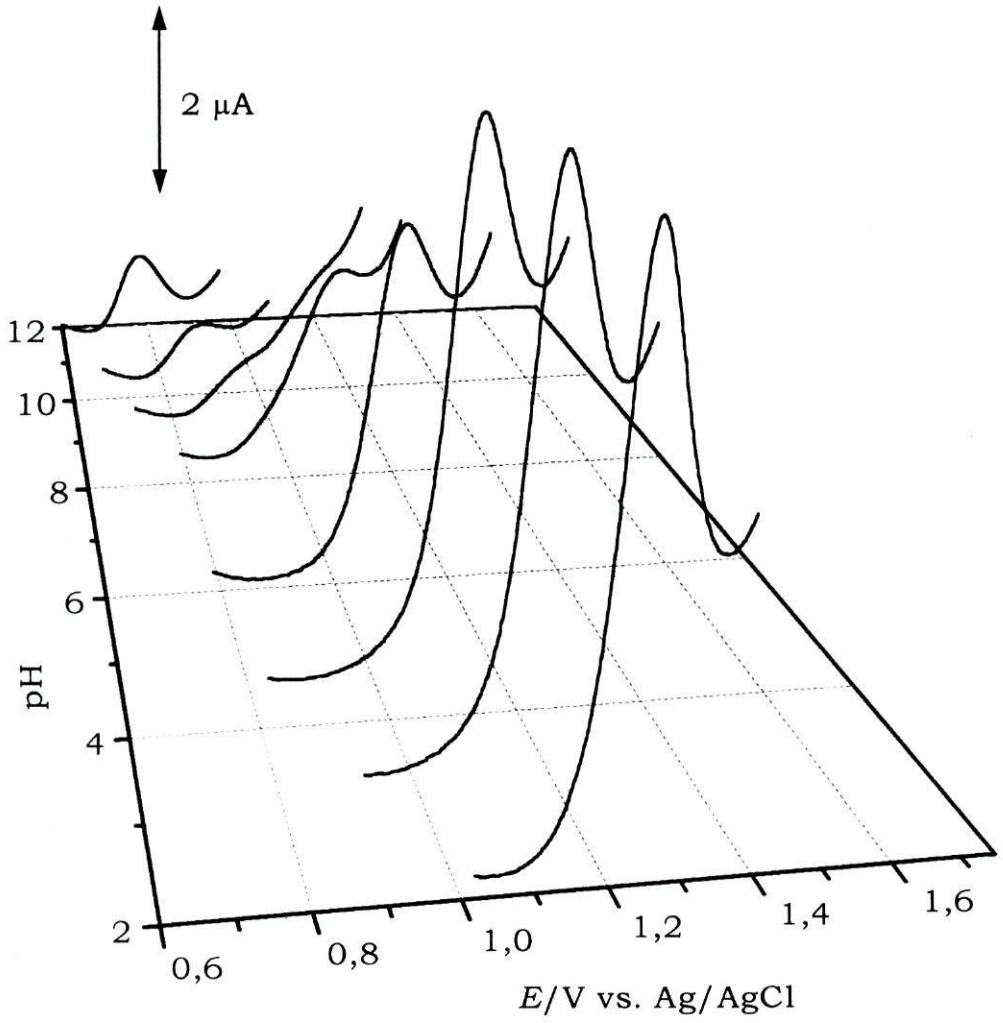


Fig. 6.5 Voltamogramas de impulso diferencial obtidos para uma solução de acetanilida de concentração $2x10^{-4}$ $molL^{-1}$, em diferentes soluções de electrólito (Tabela 2.3). Amplitude de impulso 50 mV e velocidade de varrimento 5 mVs^{-1}.

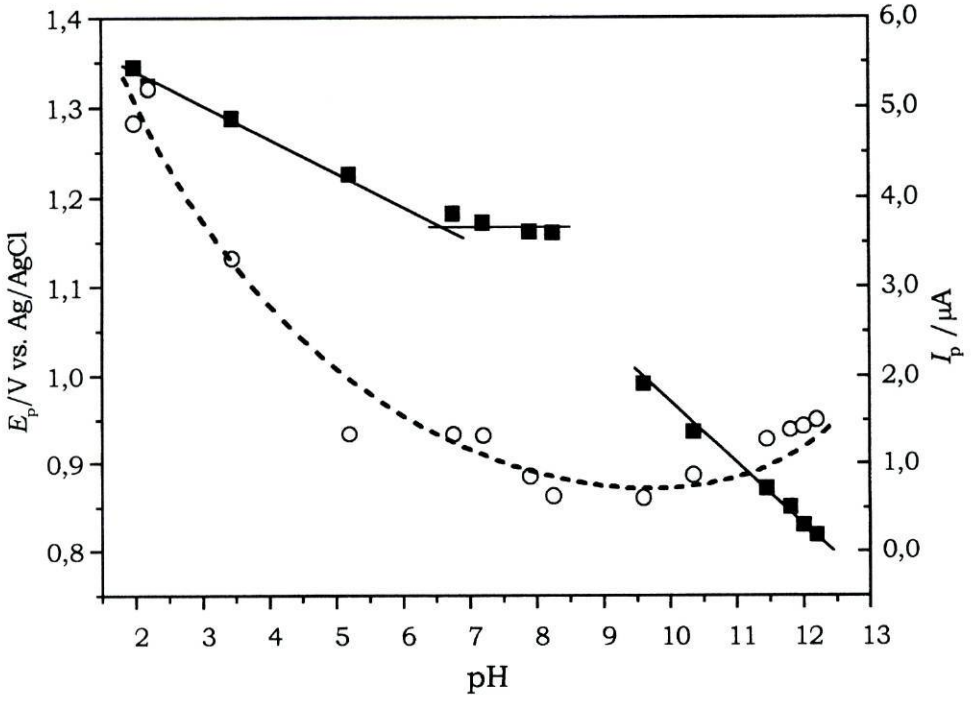


Fig. 6.6 Gráficos de (■) E_p vs. pH e (O) I_p vs. pH, de uma solução de propanil de concentração $2x10^{-4}$ $molL^{-1}$.

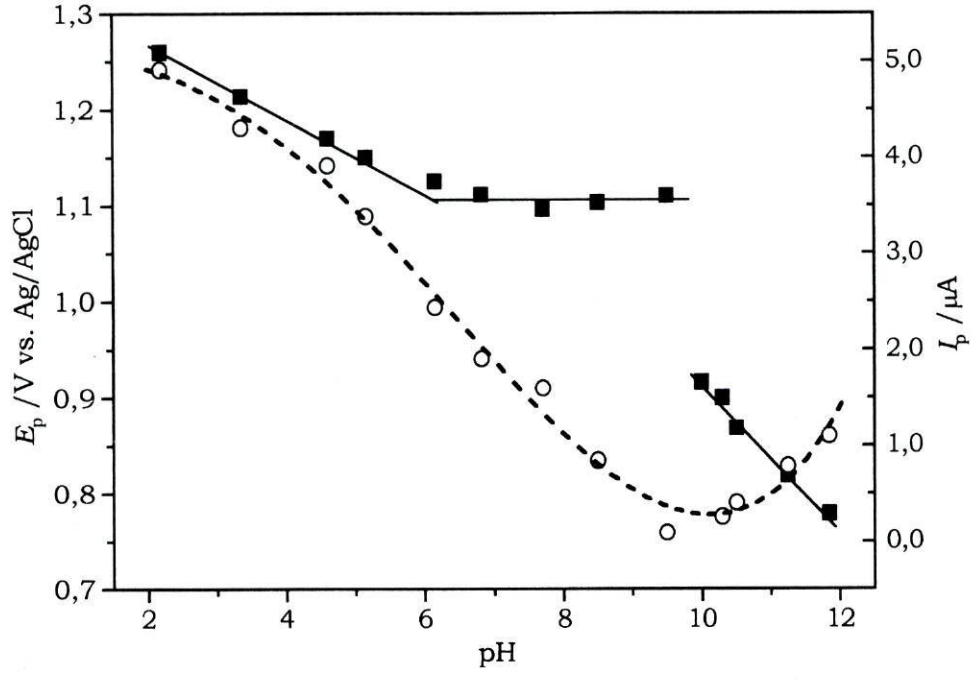


Fig. 6.7 Gráficos de (■) E_p vs. pH e (O) I_p vs. pH , de uma solução de acetanilida de concentração $2x10^{-4}$ $molL^{-1}$.

Os voltamogramas representados (Fig.6.8), permitem avaliar o comportamento electroquímico da fenacetina com o pH. Neste caso verifica-se uma relação linear de E_p vs. pH de declive 40 mV/pH e um máximo de corrente de pico para pH = 12,2 (Fig. 6.9).

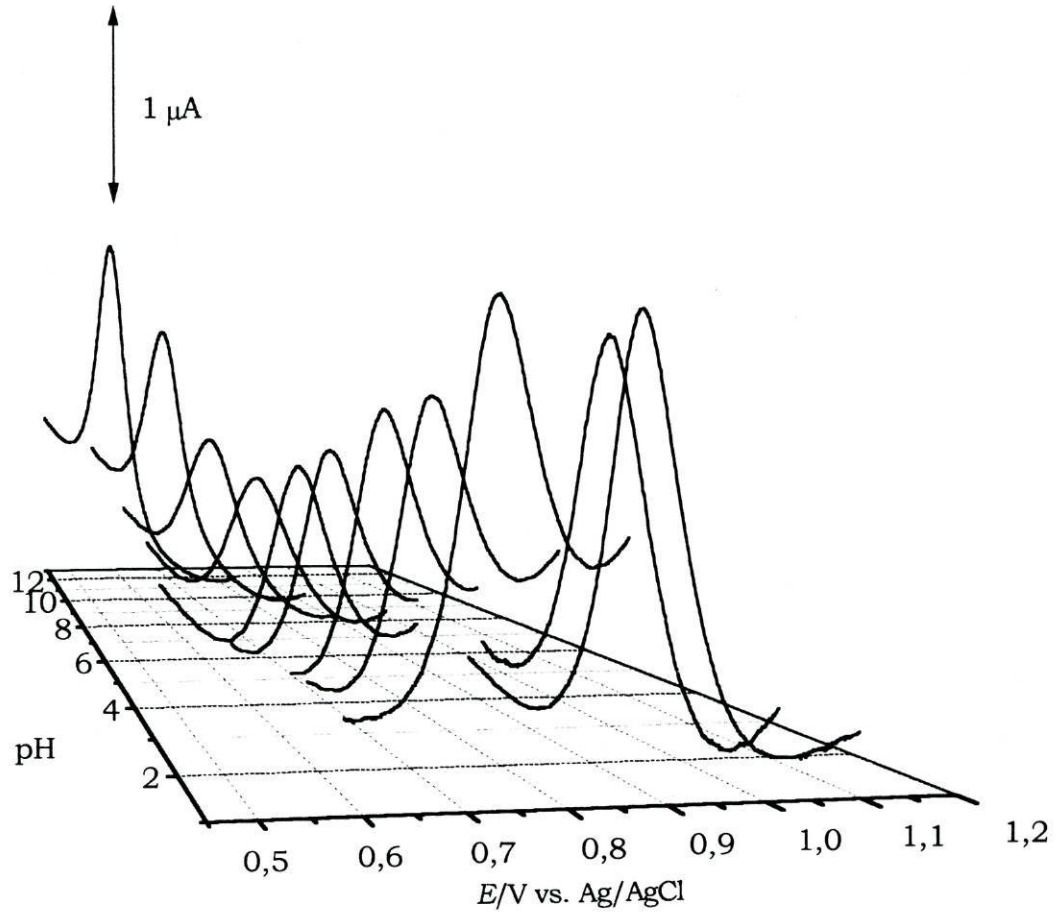


Fig.6.8 Voltamogramas de impulso diferencial obtidos para uma solução de fenacetina de concentração $2x10^{-4}$ $molL^{-1}$, em diferentes soluções de electrólito (Tabela 2.3). Amplitude de impulso 50 mV e velocidade de varrimento 5 mVs^{-1}.

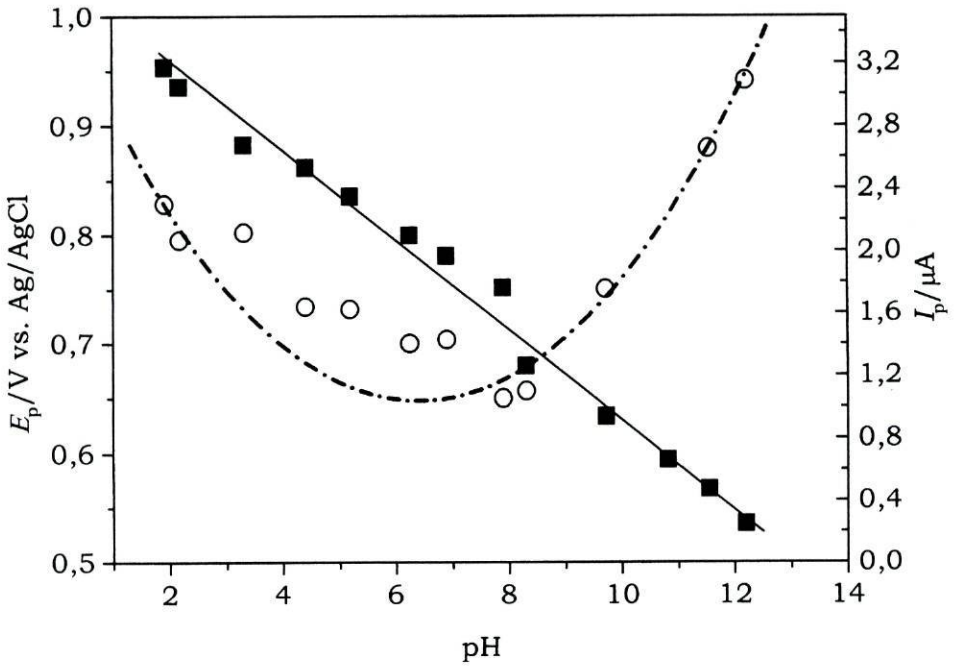


Fig. 6.9 Gráficos de (■) E_p vs. pH e (O) I_p vs. pH, de uma solução de fenacetina de concentração $2x10^{-4}$ $molL^{-1}$.

A oxidação electroquímica da *N,N*-difenilacetamida, ocorre para um potencial de pico constante de + 1,4 V vs Ag/AgCl (Fig. 6.10), para soluções de pH > 5,2. Observa-se um máximo de intensidade de corrente a pH = 9,7 (Fig. 6.11).

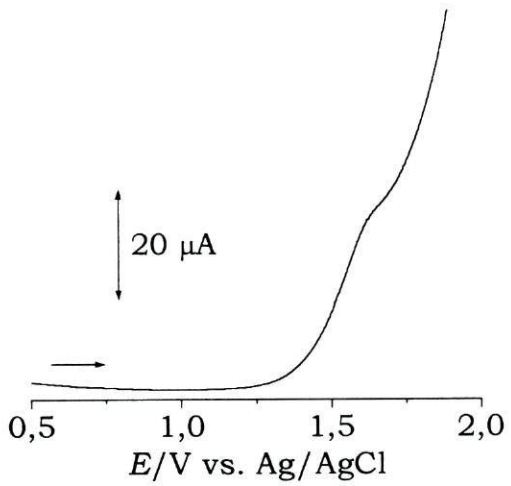


Fig. 6.10 Voltamograma de impulso diferencial obtido para uma solução de *N,N*-difenilacetamida de concentração $2x10^{-4}$ $molL^{-1}$, em tampão de Britton-Robinson 0,3 $molL^{-1}$ com pH = 8,3. Amplitude de impulso 50 mV e velocidade de varrimento 5 mVs^{-1}.

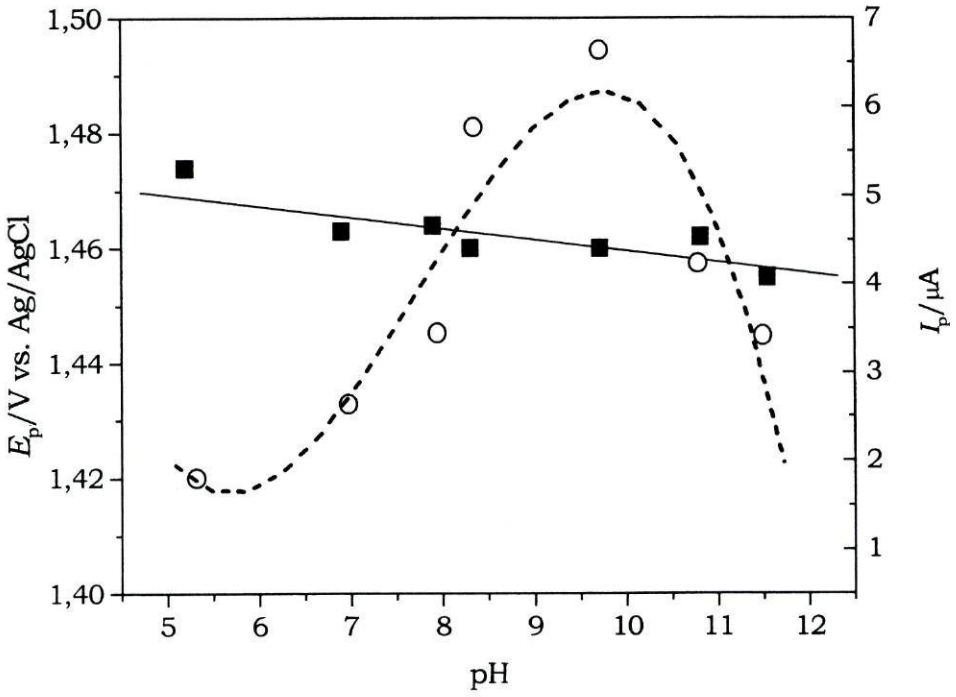


Fig. 6.11 Gráficos de (■) E_p vs. pH e (O) I_p vs. pH de uma solução de *N,N*-difenilacetamida de concentração $2x10^{-4}$ $molL^{-1}$.

Relativamente ao propanil e para soluções de electrólito ácidas (pH<7), verifica-se uma forte adsorção dos produtos formados na superfície do eléctrodo, resultando irreprodutibilidade nos resultados. Para valores de pH próximos de 7,5, obtém-se um bom compromisso entre reprodutibilidade e definição de pico, daí que os estudos a seguir descritos tenham sido efectuados para pH = 7,5.

6.2.2 Voltametria cíclica

Os voltamogramas cíclicos do propanil foram determinados em soluções tampão de Britton-Robinson, com pH = 7,5 e força iónica 0,3 $molL^{-1}$, para velocidades de varrimento entre 20 e 2000 mVs^{-1}. A Fig. 6.12 exemplifica um voltamograma de uma solução de propanil de concentração $1x10^{-3}$ $molL^{-1}$ e velocidade de varrimento de 100 mVs^{-1}. Como se pode verificar, a oxidação do propanil ocorre a um potencial próximo de +1,3 V vs Ag/AgCl e é um processo irreversível. Representando graficamente I_p vs. $v^{1/2}$ (Fig. 6.13) obtém-se uma relação linear, o que indica que a oxidação deste herbicida é controlada por difusão.

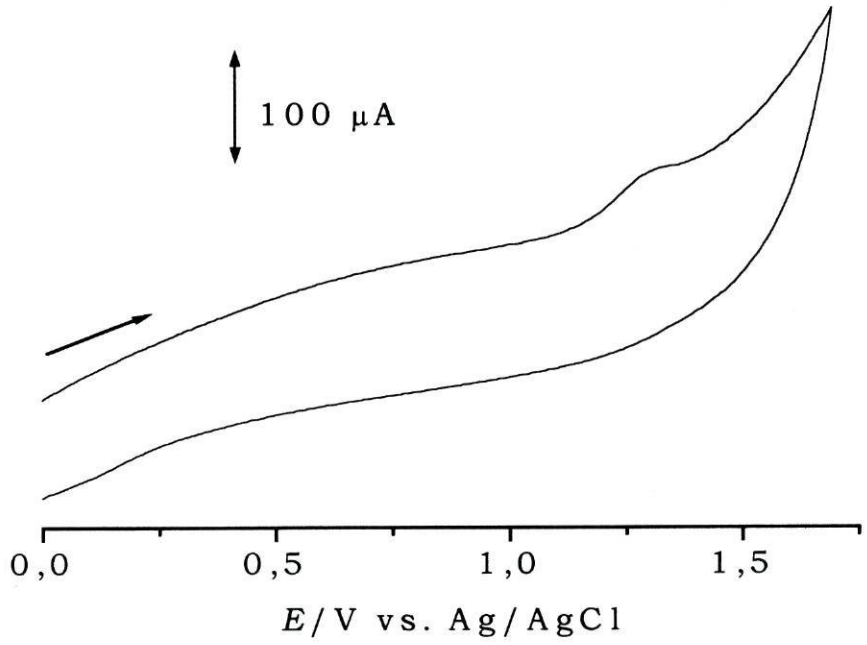


Fig. 6.12 Voltamograma cíclico de uma solução de propanil de concentração $1x10^{-3}$ $molL^{-1}$ em tampão de Britton-Robinson 0,3 $molL^{-1}$ com pH = 7,5. Velocidade de varrimento 100 mVs^{-1}.

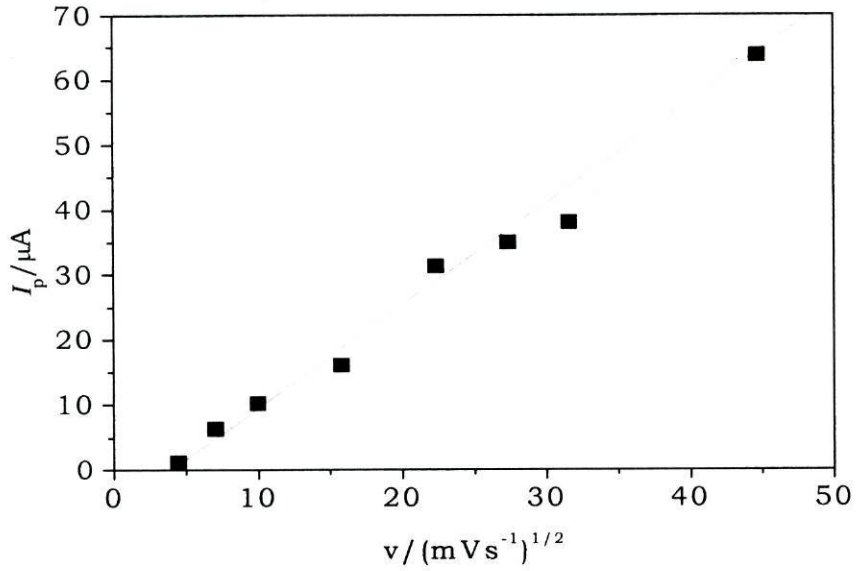


Fig.6.13 Gráfico de I_p vs. $v^{1/2}$ para uma solução de propanil de concentração $1x10^{-3}$ $molL^{-1}$ em tampão de Britton-Robinson 0,3 $molL^{-1}$ com pH = 7,5.

No estudo anterior da variação do potencial de pico com a variação do pH, efectuaram-se algumas considerações acerca do número de electrões postos em jogo na reacção de oxidação do propanil, quer em soluções ácidas, quer em soluções alcalinas. No sentido de confirmar e completar estes resultados, comparou-se nas mesmas condições de análise, o comportamento electroquímico do propanil com o do ferroceno, composto cujo processo de eléctrodo está descrito na literatura e o qual envolve a transferência de 1 electrão por molécula [179]. Assim, para soluções alcoólicas (30 % v/v) de concentração 6,5 x 10^{-4} $molL^{-1}$ em propanil e ferroceno respectivamente, fez-se a medição da intensidade de corrente para cada um dos compostos em soluções fortemente ácidas (pH = 2,2) e fortemente alcalinas (pH = 11,2).

Para as soluções ácidas obteve-se para o propanil um valor de I_p de 6,558x10^{-6} A e para o ferroceno de 1,262x10^{-5} A, enquanto que para a soluções básicas para o propanil obteve-se um valor de Ip de 5,036x10^{-6} A e para o ferroceno um valor de 4,884x10^{-6} A.

A partir da expressão

Ip (propanil)/ Ip(ferroceno)=n x Concentração (propanil)/ Concentração (ferroceno),

(n = nº de electrões em jogo no processo de eléctrodo do propanil)

calculou-se o número de electrões em jogo em meio ácido e em meio alcalino, tendo-se chegado a um valor de 2 electrões para pH = 2,2 e de 1 electrão para pH = 11,2. Estes resultados estão de acordo com os obtidos anteriormente por DPV, relativos ao estudo do comportamento electroquímico do propanil com a variação do pH.

6.2.3 Voltametria de onda quadrada

O comportamento electroquímico do propanil a pH = 7,5, estudado por voltametria de onda quadrada (Fig. 6.14), confirmou a irreversibilidade do processo de transferência de electrões.

O efeito da frequência da onda quadrada na intensidade de corrente de pico, para soluções de propanil de concentração 4,6x10^{-4} $molL^{-1}$, foi realizado numa gama de valores entre 20 Hz e 200 Hz. A Fig. 6.14 exemplifica um voltamograma obtido para a frequência de 60 Hz.

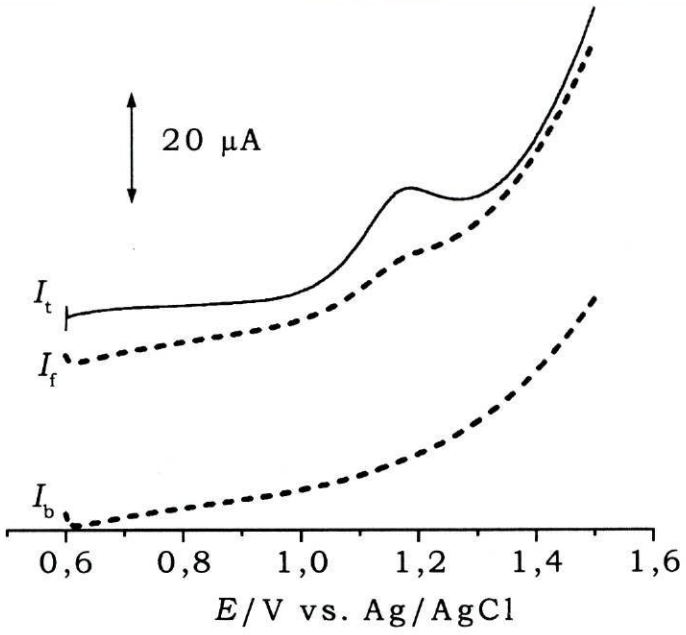


Fig. 6.14 Voltamograma de onda quadrada de uma solução de propanil de concentração 4,6x10^{-4} molL^{-1}, em solução tampão de Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH = 7,5. I_t (—), I_f e I_b(---). Frequência 60 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial 1 mV e velocidade de varrimento efectiva de 60 mVs^{-1}.

O gráfico I_p vs. w$^{1/2}$ (Fig. 6.15) mostra que o processo de eléctrodo é irreversível e controlado por difusão.

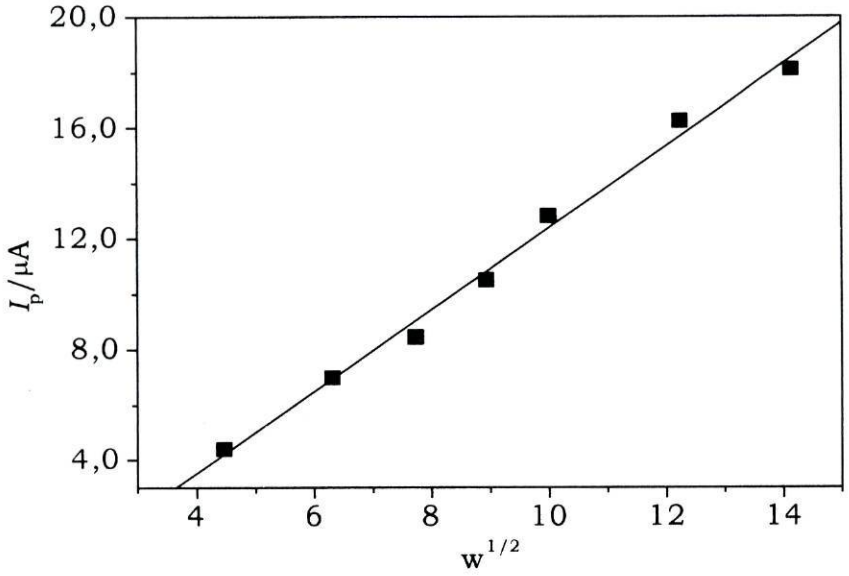


Fig.6.15 Gráfico de I_p vs. w $^{1/2}$ para uma solução de propanil de concentração 4,6x10^{-4} molL^{-1}, em tampão Britton-Robinson 0,3 molL^{-1} com pH = 7,5.

Como já se referiu anteriormente, o processo de eléctrodo de um composto está directamente relacionado com a sua estrutura química. No sentido de estudar a influência da natureza dos substituintes no processo de oxidação de *N*-fenilamidas, estudou-se, por voltametria de onda quadrada, o comportamento electroquímico de amidas análogas ao propanil [acetanilida, fenacetina e *N,N*-difenilacetamida (Fig.6.3)], em condições optimizadas, isto é, boa definição do sinal analítico (pH = 7,5 e soluções de concentração 1,7 x 10^{-3} $molL^{-1}$).

Verificou-se (Fig 6.16) que o propanil e a acetanilida são oxidados para valores de potencial de +1,27 V e +1,24 V respectivamente, enquanto a fenacetina tem um potencial de oxidação muito inferior (+0,87 V) e a *N,N*-difenilacetamida muito superior (+1,50 V).

Apesar da diferença da estrutura química entre o propanil e a acetanilida (Figs. 6.1 e 6.3), obtiveram-se, como se referiu anteriormente, valores de potenciais de oxidação semelhantes. Embora o propanil tenha grupos atraídores de electrões (-Cl) no anel aromático, os quais exercem um efeito indutivo (-I), não parece influenciar directamente a oxidação no átomo de azoto, o que pode ser devido ao facto do efeito indutivo diminuir com a distância ao centro de oxidação.

O valor inferior do potencial de pico da fenacetina, relativamente ao do propanil e à da acetanilida, é explicado pelo facto do grupo $-OCH_2CH_3$ no anel aromático da fenacetina ter um efeito indutivo (+I) e um efeito de ressonância (+M) dadores de electrões, os quais se propagam através do anel aromático, sendo de referir que o efeito de ressonância se propaga a pontos afastados da molécula sem perda de intensidade, aumentando assim a densidade electrónica no átomo de azoto e consequentemente facilitando a sua oxidação electroquímica.

A *N,N*-difenilacetamida apresenta o átomo de azoto dissubstituído por dois grupos estericamente volumosos, dificultando assim a oxidação electroquímica, daí que o valor de potencial de oxidação deste composto seja superior ao das *N*-fenilamidas anteriormente referidas.

Em conclusão, a oxidação de *N*-fenilamidas depende da natureza dos grupos substituintes, em posição e tipo, existentes no átomo de azoto da amida. A reacção de oxidação é favorecida quando existem grupos dadores de electrões, os quais aumentam a densidade eléctrónica no átomo de azoto.

As amidas dissubstituidas no átomo de azoto com grupos estericamente volumosos, são dificilmente oxidadas em eléctrodos de carbono vítreo.

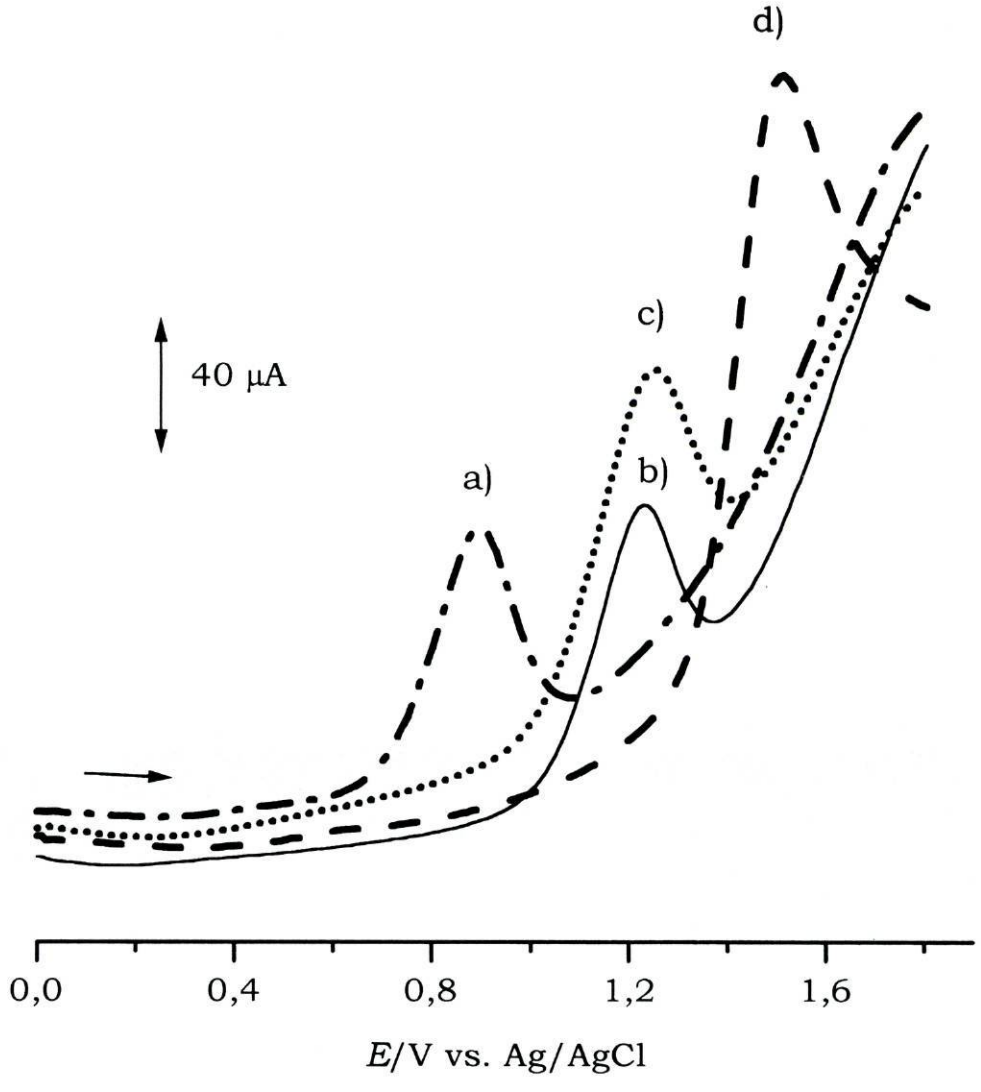


Fig. 6.16 Voltamogramas de onda quadrada de soluções de concentração de $1{,}7 \times 10^{-3}$ molL^{-1}:a) fenacetina (-·-·-), b) propanil (–), c) acetanilida (····), d) *N,N*-difenilacetamida (---), em tampão de Britton-Robinson com pH = 7,5. Frequência 50 Hz, incremento de potencial 1 mV, amplitude de impulso 50 mV.

6.3 ESTUDO DA ESTABILIDADE E COMPORTAMENTO QUÍMICO DO PROPANIL, EM SOLUÇÕES ÁCIDAS E ALCALINAS

6.3.1 Estudo da estabilidade química do propanil

O propanil pode quimicamente ser hidrólisado em meio fortemente ácido (pH < 4) e fortemente alcalino (pH < 9), dando origem à 3,4-dicloroanilina e o ácido propiónico [1].

O estudo da estabilidade química do propanil, foi efectuado em soluções de composição idêntica à utilizada em estudos electroquímicos e em condições drásticas de pH (pH = 1,9 e pH = 11,9). A evolução da reacção foi efectuada por TLC à temperatura ambiente e ao longo de um dia, não se tendo detectado a formação de produtos de reacção.

Devido à baixa sensibilidade do método cromatográfico, considerou-se necessário aumentar a escala da reacção usando as seguintes condições: concentração de propanil $1,3x10^{-3}$ $molL^{-1}$ e uma percentagem de etanol de 29% v/v. O aumento do volume de etanol na composição da solução, teve como objectivo, garantir a dissolução completa do propanil. Verificou-se novamente por TLC, que decorrido um dia se observava unicamente a presença do reagente de partida, pelo que se pode concluir que nestas condições o propanil não sofre degradação química.

Contudo verificou-se que, em condições drásticas de temperatura (em refluxo), o propanil é hidrolisado, verificando-se por TLC a formação de um novo composto, que após purificação e identificação por NMR se concluiu tratar-se da 3,4-dicloroanilina.

6.3.2 Estudos de NMR de soluções de propanil e acetanilida a diferentes valores de pH

Na tentativa de explicar a variação do comportamento electroquímico do propanil com o pH, realizaram-se estudos de NMR deste herbicida e de um composto seu análogo, a acetanilida.

Na Tabela 6.1 estão representados os dados relativos aos espectros de ^{13}C NMR para o propanil em soluções ácidas, neutras e alcalinas. Verifica-se que os desvios químicos correspondentes aos sinais obtidos em soluções

ácidas e neutras, não apresentam diferenças significativas (máximo $\Delta\delta$ = +0,1) ppm). Estes resultados permitiram concluir que em meio ácido não ocorre a protonação do grupo amida o que levaria a uma desprotecção no C-1, C-2, C-4 e C-6 do anel aromático.

Em soluções básicas ,os dados obtidos permitem propor a formação de uma espécie aniónica de carga negativa localizada no átomo de azoto. Assim, verifica-se que a desprotonação da amida origina uma desprotecção de C-1 ($\Delta\delta$ = +1,4 ppm), C-2 ($\Delta\delta$ = +0,4 ppm),C-6 ($\Delta\delta$ = +0,5 ppm) e uma protecção no carbono C-4, o qual está em posição *para* do anel aromático ($\Delta\delta$ = -0,4 ppm) (Tabela 6.1). Estas variações de desvio químico, podem ser justificadas pelo efeito electrónico que a carga negativa no átomo de azoto exerce nos átomos de carbono do anel aromático [180, 181].

No sentido de verificar a estabilidade das espécies presentes em solução, efectuaram-se estudos de ^{13}C NMR das três soluções 3 horas após a sua preparação. Como não se verificou qualquer alteração dos dados espectroscópicos, confirma-se assim a natureza das espécies propostas.

Tabela 6.1 Resultados obtidos por ^{13}C NMR de soluções hidroalcoólicas deuteradas de propanil, em diferentes valores de pH.

Carbonos	Propanil (CH_3OD+D_2O)	Propanil (CH_3OD+D_2O+DCl)	$\Delta\delta$DCl	Propanil ($CH_3OD+D_2O+NaOD$)	$\Delta\delta$NaOD
C=O	176,4	176,5	+0,1	176,7	+0,3
C-1	139,1	139,0	-0,1	140,5	+1,4
C-3	132,9	132,9	0,0	132,8	-0,1
C-5	131,4	131,4	0,0	131,3	-0,1
C-4	127,7	127,7	0,0	127,3	-0,4
C-2	122,6	122,6	0,0	123,0	+0,4
C-6	120,7	120,8	0,0	121,2	+0,5
$\underline{C}H_2CH_3$	30,9	30,9	0,0	31,2	+0,3
$\underline{C}H_3$	10,1	10,1	0,0	10,4	+0,3

$\Delta\delta$DCl = (δ CH_3OD +D_2O+DCl) – (δ CH_3OD +D_2O)
$\Delta\delta$NaOD = (δ CH_3OD +D_2O+NaOD) – (δ CH_3OD +D_2O)

A partir dos resultados obtidos podemos concluir que em meio ácido e em meio neutro predomina a espécie (A) de propanil, enquanto que em meio alcalino predomina a espécie aniónica (B) (Fig. 6.17).

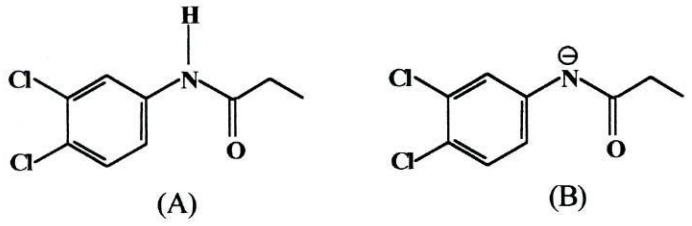


Fig. 6.17 (A) Espécie neutra do propanil, (B) Espécie aniónica do propanil.

Para elucidação do mecanismo de oxidação electroquímica deste herbicida, estudou-se também o comportamento electroquímico em soluções deuteradas, de um composto análogo, a acetanilida. Deste modo, tornou-se igualmente importante o estudo espectroscópico ^{13}C NMR deste composto.

Como se pode observar dos dados obtidos (Tabela 6.2), em condições neutras e ácidas, verificou-se um efeito de desprotecção no carbono do grupo carbonilo ($\Delta\delta$ = +0,3 ppm) e de protecção no carbono C-1 ($\Delta\delta$ = -0,3 ppm). É importante referir que já no propanil estes efeitos foram verificados, sendo no entanto no caso da acetanilida muito mais acentuados. Isto prova, que de facto em meio ácido deuterado existem duas espécies diferentes, facto este que é muito evidente na acetanilida mas pouco perceptível no propanil.

Em condições básicas, tal como no caso do propanil, os dados obtidos permitem propor a formação de uma espécie aniónica de carga negativa localizada no átomo de azoto. Após a desprotonação da amida, verificou-se uma desprotecção de C-1 ($\Delta\delta$ = +0,9 ppm) e uma protecção no carbono C-4, o qual está em posição *para* no anel aromático ($\Delta\delta$ = -0,2 ppm) (Tabela 6.2).

Tabela 6.2. Resultados obtidos por ^{13}C NMR de soluções hidroalcoólicas deuteradas de acetanilida, em diferentes valores de pH.

Carbonos	Acetanilida ($CD_3OD + D_2O$)	Acetanilida ($CD_3OD + D_2O + DCl$)	$\Delta\delta$DCl	Acetanilide ($CD_3OD + D_2O + NaOD$)	$\Delta\delta$NaOD
C=O	172,6	172,9	+0,3	172,8	+0,2
C-1	138,9	138,6	-0,3	139,8	+0,9
C-2	121,8	122,0	+0,2	122,1	+0,3
C-3	129,8	129,8	0,0	129,9	+0,1
C-4	125,7	125,8	+0,1	125,5	-0,2
$\underline{C}H_3$	23,8	23,7	-0,1	24,1	+0,3

$\Delta\delta DCl = (\delta\ CD_3OD + D_2O + DCl) - (\delta\ CD_3OD + D_2O)$
$\Delta\delta NaOD = (\delta\ CD_3OD + D_2O + NaOD) - (\delta\ CD_3OD + D_2O)$

6.4 ESTUDO ELECTROQUÍMICO DO PROPANIL EM SOLUÇÕES DEUTERADAS

Uma reacção química, quer ocorra em solução quer na superfície de um eléctrodo, envolve geralmente a quebra ou formação de ligações. O mecanismo pelo qual a reacção ocorre, isto é o tipo de ligações que são quebradas, a ordem pela qual o processo ocorre, o número de passos que estão envolvidos, etc, é muitas vezes difícil de estabelecer [92, 182]. Na literatura encontram-se descritos diversos métodos para determinar o mecanismo de uma reacção, sendo a avaliação de efeitos isotópicos um dos meios eleitos para a obtenção de dados [92, 182].

Se a ligação envolvida mecanisticamente é do tipo N-H, O-H, etc, pode comparar-se nas mesmas condições experimentais, o comportamento

electroquímico do composto com o do seu análogo modificado isotopicamente. Assim recorre-se à substituição do átomo de hidrogénio pelo átomo de deutério, sendo a ligação em questão do tipo N-D, O-D, etc. Estas ligações com o átomo de hidrogénio ou com o átomo de deutério têm a mesma natureza química, dado que estão envolvidos isótopos do mesmo elemento. No entanto as suas frequências de vibração e consequentemente as energias de dissociação são diferentes, pelo facto de estarem envolvidos átomos com diferentes massas [92, 182, 183].

No sentido de contribuir para o conhecimento do mecanismo do processo de eléctrodo do propanil, efectuaram-se estudos em soluções deuteradas. Assim, estudou-se por voltametria cíclica, voltametria de impulso diferencial e voltametria de onda quadrada, o comportamento electroquímico do propanil e da acetanilida em soluções deuteradas e para diferentes valores de pH. Este estudo foi efectuado usando um microeléctrodo de carbono vítreo, pois permite a medição em soluções contendo baixas concentrações ou mesmo sem electrólito suporte e além disso, pelas suas dimensões, necessita de um volume de solução muito pequeno. Estas determinações foram realizadas em soluções alcoólicas 62% v/v, para garantir a solubilidade do composto.

Os voltamogramas cíclicos relativos à oxidação do propanil em soluções deuteradas ácidas e básicas estão representadas na Fig. 6.18 e 6.19 respectivamente. Os resultados obtidos permitiram concluir que o processo de oxidação é dependente do pH, correspondendo a um processo irreversível. Observou-se também que a intensidade de corrente de pico observada para soluções deuteradas básicas de propanil, é muito superior à intensidade de corrente de pico observada para soluções deuteradas ácidas.

Os voltamogramas de onda quadrada apresentam um pico de oxidação em DCl a +1,15 V vs Ag/AgCl e em NaOD a + 0,79 V vs Ag/AgCl (Fig. 6.20).

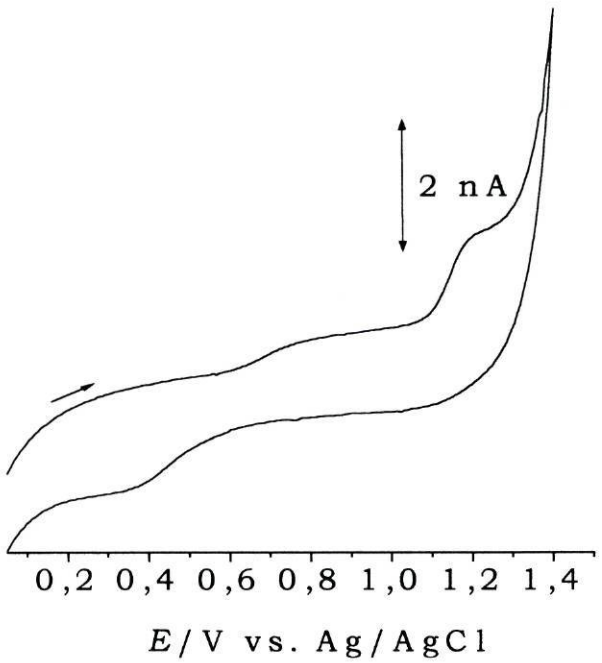


Fig. 6.18 Voltamograma cíclico de uma solução de propanil de concentração 7,6x10^{-2} molL^{-1} em DCl. Velocidade de varrimento 100 mVs^{-1}.

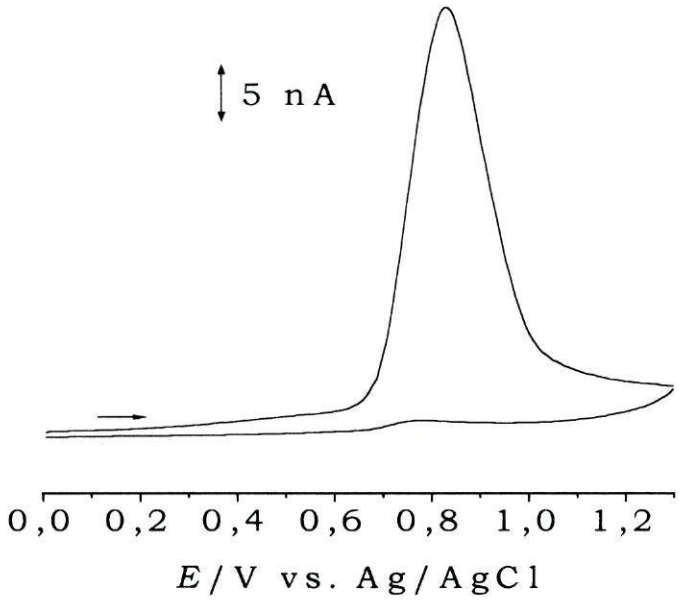


Fig. 6.19 Voltamograma cíclico de uma solução de propanil de concentração 7,6x10^{-2} molL^{-1} em NaOD. Velocidade de varrimento 100 mVs^{-1}.

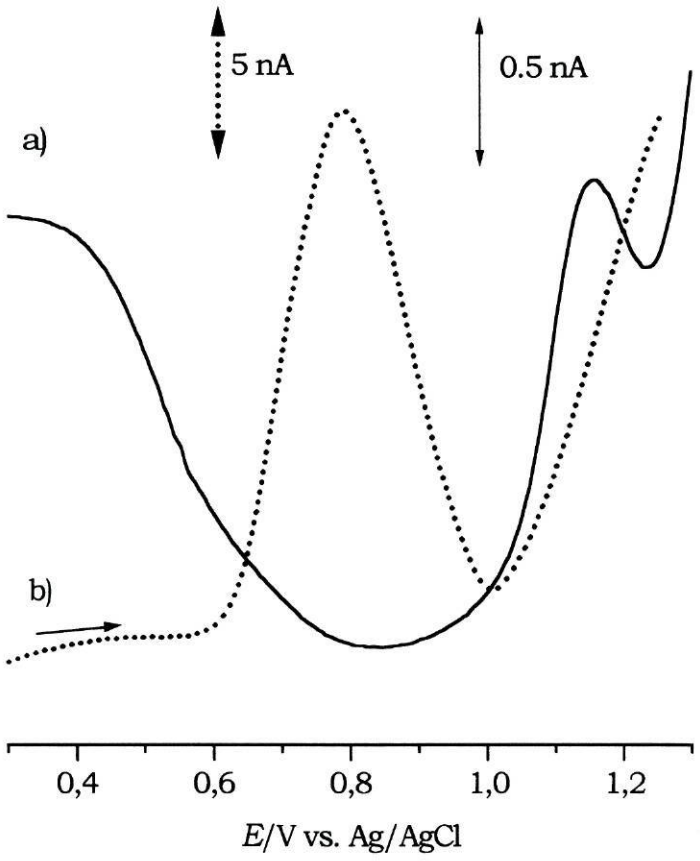


Fig. 6.20 Voltamogramas de onda quadrada em soluções deuteradas de propanil de concentração 7,6 x 10^{-2} $molL^{-1}$. a) DCl, b) NaOD. Frequência 10 Hz, incremento de potencial $5mVs^{-1}$.

Compararam-se os resultados obtidos para o propanil, por voltametria de impulso diferencial em soluções deuteradas (DCl e NaOD), com os obtidos em soluções tampão (pH = 2,0, pH = 7,0 e pH = 13,0) (Fig.6.21), tendo-se verificado um deslocamento dos potenciais de oxidação para valores menos positivos quando se usam soluções deuteradas.

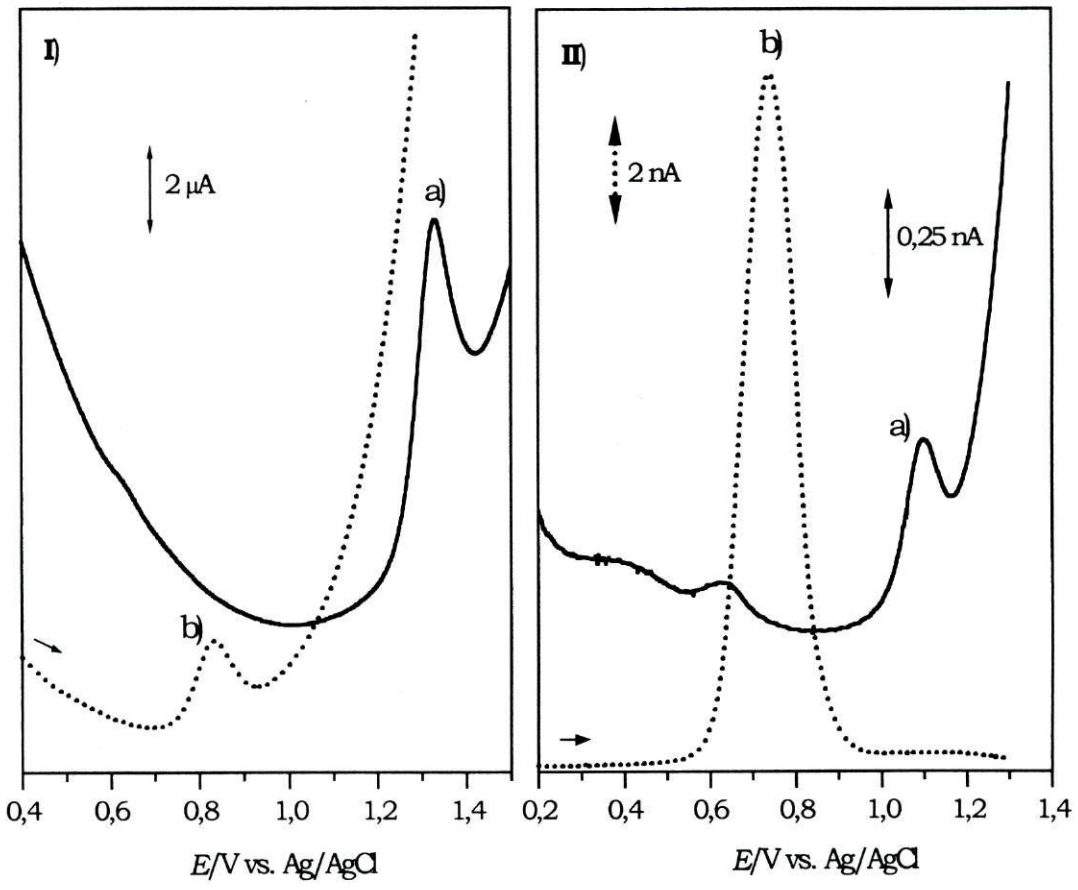


Fig.6.21 Voltamogramas de impulso diferencial de soluções de propanil: (I) soluções de propanil de concentração $2,4x10^{-4}$ $molL^{-1}$ em solução tampão de Britton-Robinson (——) com pH = 2,0 e (-----) com pH = 13,0 (II) soluções de propanil de concentração $7,6x10^{-2}$ $molL^{-1}$ (——) numa solução de DCL e (-----) numa solução de NaOD.

Em meio alcalino, este deslocamento pode ser explicado pelo facto de se usar na preparação das soluções um teor em álcool de cerca de 62 % v/v.

Porém, em meio ácido, o deslocamento com o aumento de pH causado pela adição de etanol, não parece ser por si só suficiente para a variação de potencial observada (cerca de 0,22 V).

Os resultados obtidos, podem ser interpretados tendo em consideração que ocorreu no processo a substituição do átomo de hidrogénio pelo átomo de deutério na ligação N-H. A presença do átomo de deutério pode levar a um aumento da densidade electrónica no átomo de azoto, facilitando a oxidação electroquímica, devido ao efeito indutivo doador de electrões (+I) do átomo de deutério em relação ao átomo de hidrogénio [92, 183). Assim, nas soluções deuteradas acídicas, o efeito isotópico de deutério e o aumento do pH em soluções deuteradas relativamente a soluções tampão, justifica a variação verificada dos potenciais de oxidação e portanto o deslocamento do sinal do pico para valores de potenciais menos positivos.

O aumento da intensidade de corrente para soluções deuteradas básicas de propanil, pode ser explicado pelo facto da espécie DO^- ser um nucleófilo mais forte em D_2O que HO^- em H_2O [92, 183], de tal modo que em meio básico teremos o equilíbrio de reacção mais deslocado para a formação da espécie aniónica do propanil (B) (Fig. 6.17), justificando-se assim o aumento da intensidade de sinal de pico para soluções deuteradas fortemente alcalinas.

Verificou-se também, que para soluções ácidas deuteradas surgia um outro pico a cerca de +0,61 V vs Ag/AgCl.

Com o objectivo de verificar se o sinal observado era somente devido à modificação da natureza das soluções, efectuou-se o estudo do comportamento electroquímico da acetanilida, em soluções ácidas deuteradas. Foi também observado um pico bem definido a +0,61 V (Fig. 6.22).

Nas soluções deuteradas ácidas pode ocorrer a formação de uma nova espécie química, a qual está proposta na Fig. 6.23, para o caso do propanil. Em soluções tampão ocorre predominantemente a oxidação no átomo de azoto da espécie (A), enquanto que em soluções deuteradas ocorre também a oxidação no átomo de oxigénio com formação da espécie (C) (Fig. 6.23), a qual pode ser responsável pela sinal detectado a + 0,61 V. A formação desta espécie é mais favorável no caso da acetanilida em relação ao propanil, devido à ausência dos grupos substituintes electroatractores no anel aromático, sendo neste caso o sinal de pico mais intenso. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por espectroscopia de ^{13}C NMR.

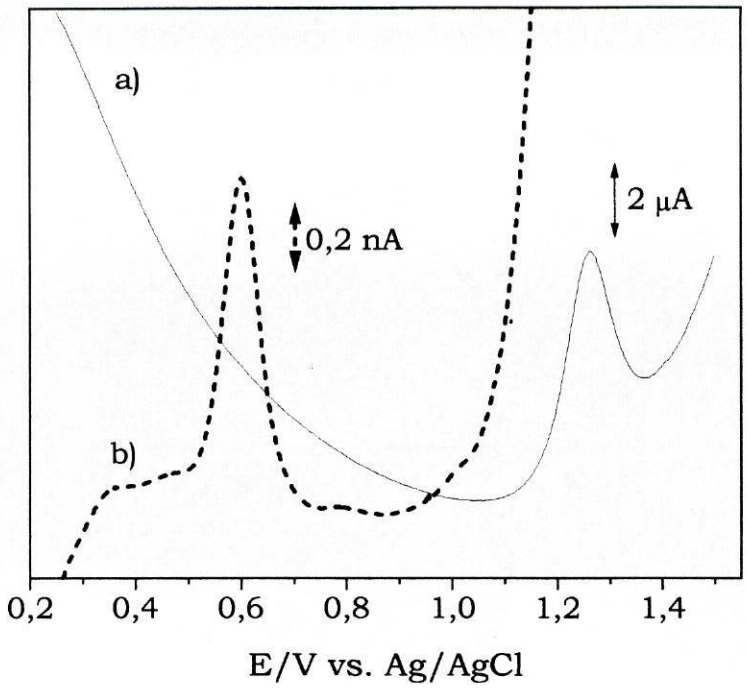
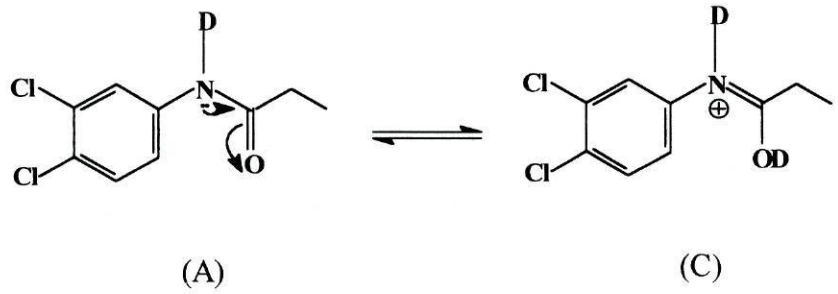


Fig. 6.22 Voltamogramas de impulso diferencial a) de soluções de acetanilida de concentração $2x10^{-4}$ $molL^{-1}$ em tampão de Britton-Robinson com pH = 2,0 e b) de uma solução de acetanilida de concentração $6,8x10^{-2}$ $molL^{-1}$ em DCl.



(A) (C)

Fig. 6.23 Protonação do propanil em solução ácida deuterada.

6.5 DETERMINAÇÃO ELECTROANANALÍTICA DO PROPANIL

6.5.1 Calibração

A Fig. 6.24, apresenta os voltamogramas obtidos nas condições experimentais optimizadas (frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial 1 mV e pH = 7,5) para soluções padrão de propanil, de concentrações compreendidas entre $2,4x10^{-4}$ e $6,1x10^{-4}$ $molL^{-1}$.

Obteve-se uma relação linear entre a intensidade de corrente de pico e a concentração com um declive de 0,028 ± 0,03 $Amol^{-1}L$ e uma ordenada na origem de $-2,8\times10^{-6}$ ± $1,5\times10^{-6}$ A (r=0,998, n=5), para um intervalo de confiança de 95%.

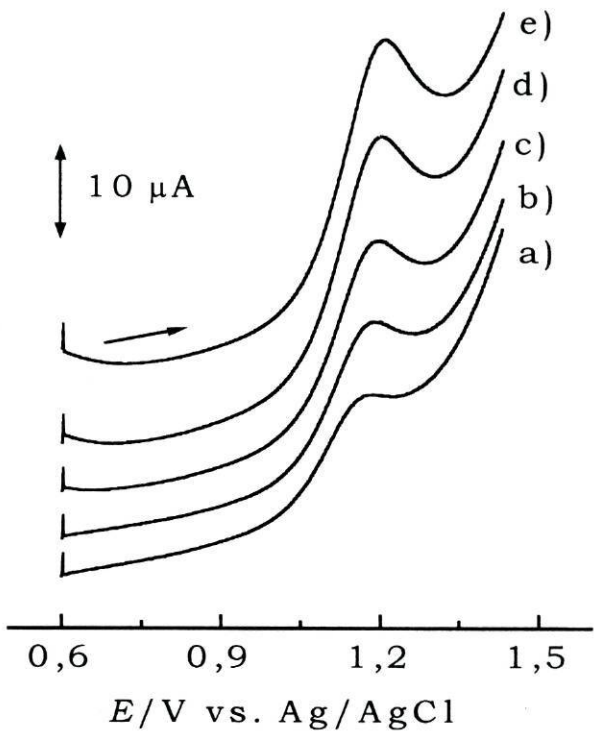


Fig. 6.24 Voltamogramas de onda quadrada de propanil em tampão de Britton-Robinson 0,3 $molL^{-1}$ com pH = 7,5 a) 2,43 x 10^{-4}, b) 3,38 x 10^{-4}, c) 4,31 x 10^{-4}, d) 5,22 x 10^{-4}, e) 6,13 x 10^{-4} $molL^{-1}$. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial 1 mV.

Nas condições experimentais referidas, o limite de detecção foi de 5,6 x 10^{-5} $molL^{-1}$.

A repetibilidade do sinal analítico, foi avaliada através de 6 medições de cada uma das soluções padrão, de concentração 2,4x10^{-4}, 4,3x10^{-4} e 6,1x10^{-4} $molL^{-1}$ respectivamente. Obtiveram-se coeficientes de variação de 3,9%, 2,7% e 5,5 % respectivamente.

6.5.2 Doseamento do propanil em produtos fitofarmacêuticos

A média dos resultados obtidos para 7 determinações independentes e respectivos índices de recuperação de duas amostras comercializadas em Portugal, estão apresentados na Tabela 6.3.

Tabela 6.3 Média dos resultados obtidos (% p/p) para 7 determinações independentes de cada amostra de produto comercial contendo propanil, razões de recuperação e correspondentes desvios padrão.

Produto fitofarmacêutico	***%p/p***	**% Recuperação**
STAM	31,7 ± 1,8	102,2 ± 3,2
PROPARIZ	29,0 ± 1,7	98,8 ± 4,2

A avaliação da exactidão do método foi efectuada através da determinação de índices de recuperação, observando-se para ambas as amostras valores próximos de 100%.

6.5.3 Estudo da interferência electroquímica da 3,4-dicloroanilina (DCA) para análise da (bio)degradação do propanil em amostras ambientais.

O objectivo desta parte do trabalho surge como um contributo para a análise deste herbicida em amostras ambientais, uma vez que a DCA surge como um produto do metabolismo do propanil em amostras de águas e solos. Assim, efectuou-se o estudo da oxidação electroquímica da DCA nas condições optimizadas para o doseamento do propanil (Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV, incremento de potencial 1 mV e pH=7,5) para verificar em que medida o propanil e a DCA são interferentes nas amostras referidas. Os resultados obtidos (Fig. 6.25), mostram que a oxidação deste composto ocorre a +0,66 V, enquanto que para o propanil ocorre a +1,24 V. Poder-se-á então concluir, que nestas condições e em amostras onde coexistam o propanil e a 3,4-dicloroanilina, estes compostos não são interferentes.

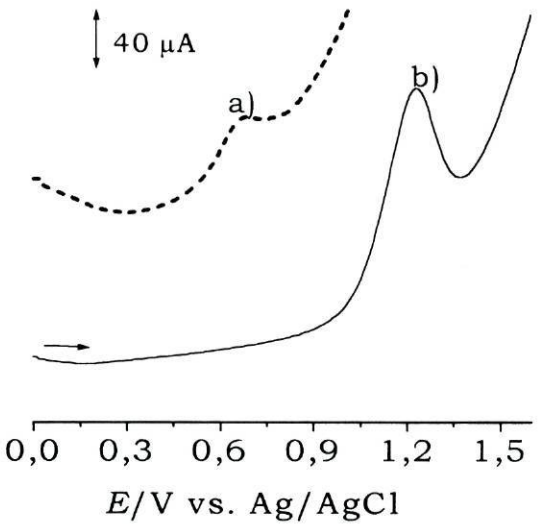
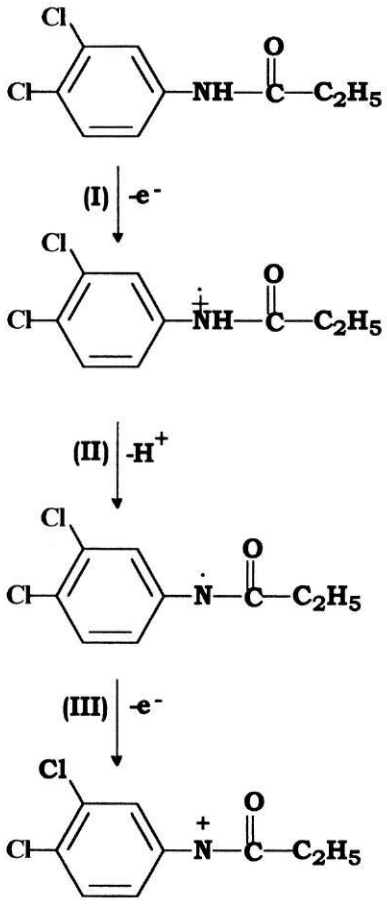


Fig. 6.25 Voltamogramas de onda quadrada em soluções tampão de Britton-Robinson com pH = 7,5. a) de uma solução de DCA de concentração $1{,}5\times10^{-3}$ molL^{-1}, b) de uma solução de propanil de concentração 1×10^{-3} molL^{-1}. Frequência 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de potencial 1 mV.

Sendo assim, pode-se usar o método voltamétrico desenvolvido para estudar a (bio)degradação deste herbicida em amostras ambientais.

6.6 CONCLUSÕES

Neste capítulo estudou-se o comportamento electroquímico do propanil e de algumas *N*-fenilamidas estruturalmente semelhantes, tendo como objectivo estabelecer o mecanismo da reacção do propanil em eléctrodos de carbono vítreo. Relativamente ao propanil, os resultados mostraram que em meio ácido predomina a espécie (A) (Fig. 6.17), ocorrendo a oxidação com libertação de 2 electrões para 1 protão, o que permite propor um mecanismo da reacção de eléctrodo (Esquema 6.1). O mesmo esquema poderá ser adaptado para a acetanilida.

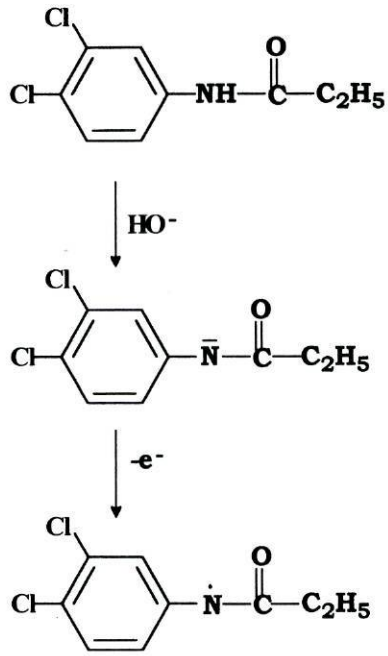


Esquema 6.1 Mecanismo de oxidação do propanil, em meio ácido.

Em meio neutro continua a verificar-se a predominância da espécie (A) (Fig.6.17), sendo neste caso o potencial independente do pH. Deste modo, no processo de eléctrodo só irá ocorrer o passo (I), sendo desfavorecida a desprotonação do radical catiónico.

Comparando o comportamento do propanil com o da acetanilida, verifica-se que esta apresenta um intervalo mais alargado de valores de pH em que o valor do potencial de pico não varia. Tal facto, pode ser devido à ausência de grupos atraídores de electrões no grupo aromático, sendo nesta situação mais fácil o ataque nucleófilo do HO^-.

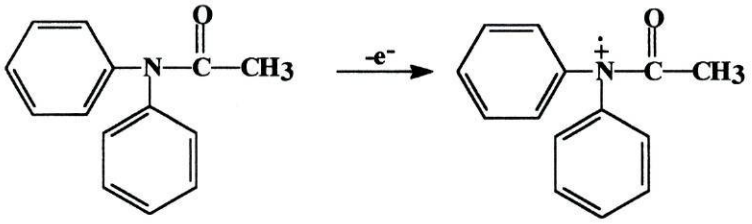
Para valores de pH > 10 predomina a espécie aniónica (B) (Fig.6.17), ocorrendo o processo de eléctrodo de acordo com o Esquema 6.2.



Esquema 6.2 Mecanismo de oxidação do propanil em meio básico.

A oxidação da fenacetina envolve 2 electrões e um 1 protão, sendo o processo de eléctrodo idêntico ao do propanil em meio ácido. Para este composto e no intervalo de pH estudado, prevê-se que o ataque nucleófilo de HO^- não seja favorecido, devido à presença do grupo $-OCH_2CH_3$ (+I e +M) no anel aromático.

No Esquema 6.3 apresenta-se o mecanismo de oxidação electroquímica correspondente ao processo de eléctrodo de *N,N*-difenilacetamida.



Esquema 6.3 Mecanismo de oxidação da *N,N*-difenilacetamida.

A oxidação electroquímica de *N*-fenilamidas é dependente da natureza e posição dos substituintes, verificando-se a seguinte ordem relativa de potenciais:

$$E_p(fenacetina) < E_p(acetanilida) < E_p(propanil) < E_p(N,N\text{-}difenilacetamide).$$

Por efeito isotópico (H→D), verificou-se que a oxidação electroquímica do propanil em meio ácido, é facilitada em soluções deuteradas, ocorrendo não só a oxidação no átomo de azoto, mas também, e devido à estabilização da espécie (C), a oxidação electroquímica no átomo de oxigénio.

O estudo efectuado, baseado na resposta electroquímica do propanil em eléctrodos de carbono vítreo, permitiu o desenvolvimento de um método de doseamento deste herbicida em produtos fitofarmacêuticos, obtendo-se índices de recuperação muito próximos de 100% e coeficientes de variação inferiores a 6,0 %.

Nas condições estudadas o propanil é quimicamente estável, sofrendo reacção de hidrólise somente sob condições drásticas de temperatura. A DCA, um dos metabolitos mais importantes da (bio)degradação do propanil, é electroactiva em eléctrodo de carbono vítreo, mas não interfere na resposta electroquímica do propanil. O método electroanalítico pode assim ser usado para controlar a (bio)degradação deste herbicida no meio ambiente.

CAPÍTULO 7

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES

Foi efectuado o estudo do mecanismo de oxidação electroquímica de um grupo de oito herbicidas: i) bentazona e MCPA, ii) molinato, tiobencarbe, mefenaceto e bensulfurão-metil, iii) propanil e iv) oxadiazão, usados nas culturas de arroz, e o desenvolvimento de metodologias electroanalíticas para o doseamento destes compostos em produtos fitofarmacêuticos comercializados em Portugal.

No que diz respeito às sulfonamidas, grupo a que pertence a bentazona, em meio ácido a oxidação electroquímica é dependente do pH, ocorrendo a formação de um catião radicalar, seguido da formação de um radical neutro e posterior dimerização. Em meio alcalino ocorre uma desprotonação da amida, obtendo-se uma espécie aniónica, facilmente oxidada em eléctrodos de carbono vítreo.

O estudo efectuado para o MCPA, composto pertencente ao grupo dos ácidos fenoxiacéticos, vem mais uma vez confirmar, que o processo de oxidação deste tipo de compostos, envolve a formação de um radical catiónico aromático, seguida de uma dimerização.

Relativamente ao grupo dos tiocarbamatos, a que pertence o molinato e o tiobencarbe, pode concluir-se que o seu processo de eléctrodo é independente do pH, correspondendo o primeiro passo à formação de um radical catiónico, seguido de uma dimerização.

Para outro tipo de amidas, as *N*-fenilamidas, verificou-se também a presença de diferentes espécies em solução, observando-se em meio ácido a espécie neutra e em meio alcalino a espécie aniónica, resultante do ataque nucleófilo do grupo HO- ao átomo de azoto. Neste caso, pode concluir-se que a oxidação electroquímica das amidas é dependente da natureza e posição dos substituintes existentes no átomo de azoto. A reacção de oxidação na superfície do eléctrodo de carbono é favorecida quando existem grupos dadores de electrões, os quais aumentam a densidade electrónica no átomo de azoto. As amidas dissubstituidas com grupos estéricamente volumosos, são dificilmente oxidados.

No que diz respeito aos processos de reacção de eléctrodo é de realçar a importância da avaliação do efeito isotópico na oxidação electroquímica do propanil. Assim, em meio ácido, por efeito isotópico (H→D), a oxidação electroquimica é facilitada, e em meio básico, o ataque de um nucleófilo OD^- mais forte que OH^-, faz deslocar o equilíbrio para a formação da espécie aniónica, aumentando assim a intensidade de corrente de pico.

No caso do oxadiazão, verificou-se que este não é electroactivo em eléctrodos de carbono vítreo, no entanto sofre hidrólise alcalina, originando dois produtos de reacção, designados por Oxa1 e Oxa2, ambos electroactivos. A caracterização química e electroquímica destes produtos, com base na associação de estudos voltamétricos com técnicas de análise cromatográfica (TLC e CC) e análise espectroscópica (NMR, MS e IR), possibilitou propor o respectivo mecanismo em solução. Com os resultados obtidos provou-se ainda que ao contrário do Oxa1, o Oxa2 é estável em soluções alcalinas, permitindo tal facto, o desenvolvimento de um método voltamétrico para doseamento do oxadiazão em produtos comerciais, baseado no comportamento redox de Oxa2.

A selectividade dos métodos voltamétricos desenvolvidos, torna possível a determinação simultânea de herbicidas e de alguns dos seus metabolitos, sem que para isso, seja necessário recorrer a técnicas cromatográficas, habitualmente muito morosas e dispendiosas. Para tal, contribui o facto destes compostos, apresentarem picos de oxidação bem definidos a potenciais diferentes. Nomeadamente, verificou-se que é possível detectar simultaneamente o propanil e um dos seus metabolitos, a 3,4-dicloroanilina (DCA). Do mesmo modo é possível determinar em conjunto o 1-trimetilacetil-2-(2,4-dicloro-5-isopropoxyfenil)-2-etoxicarbonil-hidrazina (oxa1) e o 1-trimetil-2-(2,4-dcloro-5-isopropoxyfenil)hidrazina (oxa2), metabolitos do oxadiazão. Assim, devido à selectividade dos métodos electroquímicos, é possível monitorizar processos de (bio)degradação destes pesticidas.

A determinação em produtos comerciais é de extrema importância, pelo facto de ser o primeiro passo para um controle efectivo de pesticidas. Desenvolveram-se metodologias capazes de dosear os herbicidas em produtos fitofarmacêuticos com precisão e exatidão. Quanto à exatidão, obtiveram-se valores de índices de recuperação muito próximos de 100% e sempre que

possível, por comparação com métodos de referência, obtiveram-se erros relativos inferiores a 2,5 %. No que diz respeito à precisão do método, obtiveram-se coeficientes de variação entre 1,7 e 8,6%. Os limites de detecção encontrados oscilam entre $9x10^{-6}$ e $1x10^{-4}$ $molL^{-1}$ dependendo dos compostos analisados. Os resultados obtidos permitem concluir, que os métodos electroquímicos desenvolvidos neste trabalho são, de facto, métodos alternativos aos existentes na literatura, baseados essencialmente em HPLC e GLC.

Apesar da complexidade da matriz dos produtos comerciais, a determinação dos pesticidas utilizando a metodologia electroanalítica desenvolvida, implica uma preparação da amostra relativamente simples. No caso de produtos granulados, o tratamento consiste unicamente numa extracção sólido-líquido, enquanto que para produtos na forma de emulsão, basta efectuar uma diluição apropriada, de modo à concentração dos pesticidas se apresentar dentro da zona de linearidade de resposta.

Os métodos electroanalíticos desenvolvidos, permitem além disso, fazer o doseamento simultâneo de herbicidas pertencentes a famílias químicas que apresentam propriedades acentuadamente diferentes. Assim, foi possível quantificar o molinato, um tiocarbamato, e o bensulfurão-metilo, uma sulfonilureia, em conjunto, sem ter de recorrer a diferentes técnicas analíticas, resultante do facto de um deles, o molinato, ser bastante volátil e o outro, o bensulfurão-metilo, ser instável térmicamente.

Um dos problemas com que se depara quando se utilizam eléctrodos de carbono vítreo para detecção de compostos orgânicos é o facto de estes em geral provocarem envenenamento da superfície do eléctrodo, devido à adsorção quer do composto, quer dos produtos de oxidação formados. Neste trabalho concluiu-se, que a adição de pequenas percentagens de tensioactivos a soluções de bentazona, permite diminuir o efeito de adsorção à superfície do eléctrodo de trabalho e eliminar interferências. O Triton X-100 foi o tensioactivo escolhido no doseamento da bentazona, verificando-se que no caso de misturas contendo bentazona e MCPA, o Triton X-100 inibe o sinal do MCPA, eliminando a interferência deste na resposta da bentazona.

Relativamente a perspectivas futuras é possível a aplicação de métodos electroanalíticas para detecção de outros pesticidas, além de que associadas a

sistemas de fluxo e técnicas de pré-concentração, podem provavelmente ser usadas para a determinação de pesticidas em águas e solos.

Por outro lado, a associação de métodos electroanalíticos sensiveis e selectivos, a métodos espectroscópicos de caracterização estrutural, abre um enorme campo de aplicação, uma vez que permite elucidar os processos acoplados que ocorrem em solução.

CAPÍTULO 8

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

[1] C.D.S. Tomlin, *The Pesticide Manual: A World Compendium*, 11ª edição, British Crops Protection Council, Londres, 1997.

[2] D.L.Colvin, Agronomy Department, Florida Cooperativa Extension Service, Institute of Food and Agricultura Sciences, University of Florida, http//hammock.ifas.ufl.edu.

[3] S.A.Briggs, R.C.Council, *Basic Guide to Pesticides Their Characteristics and Hazards*, Taylor & Francis, Washington, 1992.

[4] Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, *Vendas de Substâncias Activas de Produtos Fitofarmacêuticos em Portugal de 1991 a 1997*, Ministério da Agricultura do Desenvolvimento e das Pescas, Oeiras, 1999.

[5] C.Machado, *Herbicidas para a Cultura de Arroz*, Direcção-Geral de Protecção das Culturas, Ministério da Agricultura do Desenvolvimento e das Pescas, Oeiras, 1997.

[6] Bayer, *Protecção das Plantas, Manual de Utilização*, Carnaxide, 1995.

[7] S.A.Mabury, J.S.Cox e D.G.Crosby, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **147** (1996), 71

[8] J. Sherme, *Anal. Chem.*, **67** (1995), 1R.

[9] A.M.O.Brett e C.M.A.Brett, *Electroquímica, Principios, Métodos e Aplicações*, 1ª edição, Oxford University Press, Oxford, 1996.

[10] D.Pletcher, *A First Course in Electrode Processe*, 1ª edição, The Electrochemical Consultancy, Londres, 1991.

[11] M.L.S.S.Gonçalves, *Métodos Instrumentais para Análise de Soluções,* Análise *Quantitativa,* Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1983.

[12] G.C.Barker e I.C.Jenkins, *Analyst,* **77** (1952), 685.

[13] L.Ramaley e M.S. Knause Jr. , *Anal.Chem.*, **41** (1969), 1362.

[14] M.S.Knause Jr. e L.Ramaley, *Anal. Chem.*, **41** (1969), 1365.

[15] A.J.Bard, *Electroanalytical Chemistry,* **14**, Marcel Deker, Londres, 1986.

[16] A.J.Bard e L.R.Faulkner, *Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications*, Wiley, Nova Iorque, 1980.

[17] M. Gross e J. Jordan, *Pure Appl. Chem.*, **56** (1984), 1095.

[18] L.M.Ignjatovic, D.A.Markovic, D.S.Veselinovic e B.R.Besic, *Electroanalysis*, **5** (1993), 529.

[19] M. Pedrero, V. Calvo, F.J. Manuel de Vilena, J.M.Pingarron e L.M.Polo, *Analyst,* **118** (1993), 1405.

[20] M.Stastny, H.Benadikova, J.Nepozitek e R.Volf, *Vys.Sk.Chem-Techol. Praze, Anal. Chem.*, **H17** (1982), 69.

[21] J.H. Méndez, R.C.Martínez e E.R.Gonzalo, *J. Electroanal. Chem.*, **244** (1988), 221.

[22] R. Gálvez, M. Pedrero, F. J. Manuel de Villena, J.M. Pingarron e L.M.Polo, *Anal. Chim. Acta,* **273** (1993), 343.

[23] C.Olmedo, L.Deban, D.Vázquez, R.Pardo e S.Palmero, *Electroanalysis*, **6** (1994), 694.

[24] A.Meyer e G.Henze, *Spurenanlytik*, **11** (1995), 1051

[25] M. T.Lippolis e V. Concialini, *Talanta*, **35** (1988), 235.

[26] J. Skopalova e M.Kotoucek, *Fresenius J.Anal.Chem.*, **351** (1995), 650.

[27] C.L.Bourque, M.M.Duguay e Z.M.Gautreau, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **37** (1989), 187

[28] J.F.A.Valentin, R. B.Díez-Caballero e M.A.G.Altuna, *Analyst*, **113** (1988), 629.

[29] J.F.A.Valentin, A.G.Altura, R.J.B.Díez-Caballero e A. A.Garcia, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **333** (1989), 218.

[30] W.Szczepaniak, B.Czyzowicz e M.Ren, *Anal. Chim. Acta*, **305** (1995), 207.

[31] L.M.Southwick, G.H.Willis, P.K.Dasgupta e C.P.Keszthelyi, *Anal. Chim. Acta*, **82** (1976), 29.

[32] H.Benadikova, M.Popl e V.Jakubickova, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **48** (1983), 2637.

[33] C.V.Bowen e F.I.Eduards, *Anal.Chem.*, **22** (1950), 706.

[34] M.R. Smyth e J. G. Osteryoung, *Anal. Chim. Acta*, **96** (1978), 335

[35] F. Mendez, R.C. Martinez e J.S.Martin, *Anal. Chem.*, **58** (1986), 1969.

[36] M.Kokoucek e M. Opravilová, *Anal. Chim. Acta*, **329** (1996), 73.

[37] T.N.Reddy e S.J.Reddy, *Electroanalysis*, **1** (1989), 559.

[38] H. Benadikova e K. Kalvoda, *Anal. Lett.*, **17** (1984), 1519.

[39] M.Pedrero, F.J.M.Villena, J.M.Pingarron e L.M.Polo, *Electroanalysis*, **3** (1991), 419.

[40] M.Pedrero, V.Calvo, F.J.M.Villena e J.M.Pingarron, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **59** (1994), 1761.

[41] P.Mangniot, *Anal. Chim. Acta*, **31** (1964), 166.

[42] M.Subbalakskmamma e S.J. Reddy, *Electroanalysis*, **6** (1994), 521.

[43] N.Y.Sreedhar, P.R.K.Reddy, G.V.S.Reddy e S.J.Reddy, *Talanta*, **44** (1997), 1859.

[44] J. O. Bronstad e H.O.Friestad, *Analyst*, **101** (1976), 820.

[45] J. H. Méndez, R.C. Martínez, M.E.G. López e M.C. González, *Anal. Chim. Acta*, **176** (1985), 121.

[46] P. Carrai, L.Nucci e F.Pergala, *Anal. Lett.*, **25** (1992), 163.

[47] A.J.R. Garcia, A.R.Barrio, J.M.P.Carrazón e L.M.P.Díez, *Anal. Chim. Acta*, **246** (1991), 293.

[48] A.J. Reviejo, J.M.Pingarron e L.M.Polo, *Talanta*, **39** (1992), 899.

[49] A.J.Reviejo, A.González, J.M.Pingarrón e L.M.Polo, *Anal. Chim. Acta*, **264** (1992), 141.

[50] A.J.Reviejo, A.Samprón, J.M.Pingarron e L.M.Polo, *Electroanalysis*, **4** (1992), 111.

[51] A.J. Reviejo, F.J.Buyo, J.M.Pingarrón e J.L.Peral, *Electroanalysis*, **5** (1993), 303.

[52] C. Li, J. D. Bruce e R.J.Magee, *Electroanalysis*, **2** (1990), 63.

[53] M. Fayyad, M. Alawi e I. Issa, *Anal. Lett.*, **22** (1989), 1939.

[54] V. Concialini, M.T.Lippolis e G.C.Galletti, *Analyst*, **114** (1989), 1617.

[55] C.L.Bird e A.T.Kuhn, *Chem.Soc.*, **10** (1981), 49.

[56] R.M.Elofson e R.L.Edsberg, *Canadian J. Chem.*, **35** (1957), 647.

[57] L.Pospisil, J.Kuta e J.Volke, *Electroanal. Chem. Interf. Electrochem.*, **58** (1975), 217.

[58] A.Walcarius e L.Lamberts, *J. Electroanal. Chem.*, **406** (1996), 59.

[59] P.Yánez-Sedeno, J.M.Pingarrón e L.M.P.Díez, *Mikrochimica Acta*, **III** (1985), 279.

[60] G.Franke, W.Pietrulla e K.Preubner, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **298** (1979), 38.

[61] D.J.Halls, A.Townshend e P.Zumam, *Analyst*, **93** (1968), 219.

[62] W.R.Benson e R.J.Gajan, *J.Org. Chem.*, **31** (1966), 2498.

[63] J.A.Pérez-Lopez, A.Zapardiel, E.Bermejo, E. Arauzo e L.Hernández, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **350** (1994), 620.

[64] M.J.D.Brand e B.Fleet, *Analyst*, **95** (1970), 1023.

[65] G.E.Batley e B.K.Afgan, *J. Electroanal. Chem.*, **125** (1981), 437

[66] A.M.O.Brett e S.A.Adeyemi, *Portugaliæ Electrochimica Acta*, **5** (1987), 239

[67] A.Guiberteau, T.G. Díaz, F.Salinas e J.M.Ortiz, *Anal. Chim. Acta*, **305** (1995), 219

[68] W.J.Albery, B.Fleet e A.M.O.Brett, *J. Applied Electrochem.*, **14** (1983), 550

[69] M.Olek, F.Blanchard e G.Sudraud, *J. Chromatogr.*, **325** (1985), 239.

[70] M.Drevinek e V. Horak, *J.Electroanal.Chem.*, **423** (1997), 83.

[71] A.J.Bard, *J. Chem. Education*, **60** (1983), 302.

[72] P.Bianco e N. Aghroud, *Electroanalysis*, **9** (1997), 602.

[73]C.Fernández, A.J.Reviejo e J.M.Pingarrón, *Anal.Chim.Acta*, **305** (1995), 192.

[74]C.Fernández, A.J.Reviejo e J.M.Pingarrón, *Anal.Chim.Acta*, **314** (1995), 13.

[75] E.Alvarez, M.T.Sevilla, J.M.Pinilla e L.Hernandez, *Anal.Chim.Acta*, **260** (1992), 19.

[76] M.Pedrero, B.Casado, F.J.M.Villena e J.M.Pingarrón, *Fresenius J.Anal.Chem.*, **349** (1994), 546.

[77] P.M.Kramer, *J.AOAC.*, **79** (1996) , 1245.

[78] J.L. Marty, B. Leca e T. Noguer, *Analusis* , **26** (1998), M144.

[79] P.Skládal, *Anal. Chim. Acta*, **252** (1991), 11.

[80] P.Skládal, *Anal. Chim. Acta*, **269** (1992), 281.

[81] C. La Rosa, F.Pariente, L.Hernández e E.Lorenzo, *Anal. Chim. Acta*, **308** (1995), 129.

[82] D.Martorell, F.Céspedes, E.Martínez-Fábregas e S. Alegret, *Anal. Chim. Acta*, **290** (1994), 343.

[83] J.L.Marty, N.Mionetto, S.Lacorte e D.Barceló, *Anal. Chim. Acta*, **311** (1995), 265.

[84] A.M.O.Brett, M.M.M.Grazina, T.R.A.Macedo, C.Oliveira e D.Raimunda, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **11** (1993), 203.

[85] C.M. Fernández e V. C. Martin, *Talanta*, **24** (1977), 747.

[86] *AOAC Official Method*, 16ª edição, 1997, Capítulo **7**, 36.

[87] *AOAC Official Method*, 16ª edição, 1997, Capítulo **7**, 31.

[88] C.J. Reis, *Guia dos Produtos Fitofarmacêuticos*, Direcção-Geral de Protecção das Culturas, Ministério da Agricultura do Desenvolvimento e das Pescas, Oeiras, 1997.

[89] A. R. Katritzky, *Handbook of Heterocyclic Chemistry*, 1ª edição, Pergamon Press, Londres, 1985.

[90] J. March, *Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms, and Structure*, 3ª edição, John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1985.

[91] R. M. Silverstein, G. Clayton Basslen e T.C.Morrill, *Spectrometric Identification of Organic Compound*, 5ª edição, John Wiley & Sons, Inc, Singapura, 1991.

[92] A.C.Moffort, J.V.Jakson e M.S.Moss, *Clarke's Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Post-Mortem Material*, 2ª edição, the Pharamaceutical Press, Londres, 1986.

[93] A. Ault e M. R. Ault, *A Handly and Systematic Catalog of NMR Spectra*, University Science Books, Massachusetts, 1980.

[94] A. Ault, *Techniques and Experiments for Organic Chemistry*, 6ª edição, University Science Books, Massachusetts, 1998.

[95] S.Budavari, *The Merck Index an Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*, 11ª edição, Merck & Co., Inc, New Jersey, 1989.

[96] Etoxnet, Extension Toxicology NetworK, http://sulaco.oes.orst.edu70 //.../bentazon (1999).

[97] M. Vink e J.M.Vander Poll, *J. Chromatogr.A*, **733** (1996), 361.

[98] D. A. Rimmer, P. D. Johnson e R. H. Brown, *J. Chromatogr. A*, **755** (1996), 245.

[99] K.Kadokami, M.Morimoto, K.Haraguchi, M.Koga e R.Shinohara, *Anal.Sc.*, **7** (1991), 247.

[100] G.W.Bruns, S.Nelson e D.G.Erickson, *J. AOAC*, **74** (1991), 550.

[101] R.B.Geerdink, C.A.A.Van Balkom e H.J.Brower, *J.Chromatogr.*, **481** (1989), 275.

[102] T.Tsukioka, *J. Chromatogr.*, **469** (1989), 351.

[103] A.W.Ahmed, V.N.Mallet e M.J.Bertrand, *J. AOAC*, **72** (1989), 365.

[104] R.R.Scharfe e C.C.Mclenaghan, *J. AOAC*, **72** (1989), 508.

[105] D.F.Gurka, F.L.Shore, S.Pan e E.N.Amick, *J. AOAC*, **69** (1986), 970.

[106] A.J.Cessna, R.Grover, L.A.Kerr e M.L.Aldred, *J. Agric. Food Chem.*, **33** (1985), 504.

[107] S.M.Waliszewski e G.A. Szymczynski, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **322** (1985), 509.

[108] A.Cessna, *J. Agric. Food Chem.*, **33** (1985), 108.

[109] J. D. Gaynor e D.C.Mactavish, *J.Agric.Food Chem.*, **29** (1981), 626.

[110] W.Specht e M.Tilkes, Fresenius Z. *Anal. Chem.*, **307** (1981), 257.

[111] S.M.Waliszewki e K.N.Waliszewski, Fresenius Z. *Anal. Chem.*, **329** (1981), 489.

[112] M. A. Satlar e J. Paasivirta, *Anal. Chem.*, **51** (1979), 598.

[113] R.B. Geerdink, S.V.Tol-Wildenburg, W.M.A.Niessen e U.A.Th. Brinkman, *Analyst*, **122** (1997), 889.

[114] G.Durand, V.Bouvot e D. Barceló, *J. Chromatogr.*, **607** (1992), 319.

[115] E. A. Hogendorn e C. E. Goewie, *J. Chromatogr*, **475** (1989), 432.

[116] E. A. Hogendoorn e P. V. Zoonen, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **343** (1992), 73.

[117] N. Masqué, R. M. Marcé e F. Bornull, *J. Chromatogr. A*, **793** (1998), 257.

[118] A.Balinova, *J.Chromatogr.A*, **728** (1996), 319.

[119] S.Chiron, E.Martinez e D. Barceló, *J. Chromatogr.A*, **665** (1994), 283.

[120] A. Balinova, *J. Chromatogr.*, **643** (1993), 203.

[121] R. Schuster e A. Gratzfeld-Husgen, *Analusis*, **19** (1991), i45.

[122] E.R.Brouwer, I.Liska, R.B.Geendink, P.C.M.Frintrop, W.H.Mulder, H.Lingeman e U.A.T. Brinkman, *Chromatographia*, **32** (1991), 445.

[123] M. Akerblom, *J. Chromatogr.*, **319** (1985), 427.

[124] M. A. Saltar, *J. Chromatogr.*, **209** (1981), 329.

[125] M.A.Sattar e J.Paasivirta, *J.Chromatogr.*, **189** (1980), 73.

[126] E. F. Eastin, *J. Chromatogr.*, **76** (1973), 272.

[127] A. Cappiello, G. Famiglini e A. Berloni, *J. Chromatogr. A*, **768** (1997), 215.

[128] F. G. Sánchez, A. Novas, F. Alonso e J. Lovollo, *J. Agric Food Chem.*, **41** (1993), 2215.

[129] J. M. V. Emon e V. Lopez-Avila, *Anal. Chem.* **64** (1992), 79A.

[130] Q. X. Li., B. D. Hammock e J. N. Seiber, *J. Agric. Food Chem.* **39** (1991), 1537-1544.

[131] J. Fleeker, *J. AOAC*, **70** (1987), 874.

[132] A. Lechien, P. Valenta, H. W. Nurnberg e G. Y. Patriarche, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **306** (1981), 150.

[133] A. Lechien, P. Valenta, H. W. Nurnberg e G. Y. Patriarche, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **306** (1981), 156.

[134] W. Scussler, *Chromatographia*, **29** (1990), 24.

[135] T.M.Schitt, *J. AOAC.*,**76** (1993), 387.

[136] D.T.Sawyer, W.R.Heineman e J.M.Beebe, *Chemistry Experiments for Instrumental Methods*, John Wiley & Sons, Inc, Nova Iorque, 1984.

[137] M.Knoche e M.J.Bukovac, *J. Agric.Food Chem.* **42** (1994), 1013.

[138] J.C. Miller e J. N. Miller, *Statistics for Analytical Chemistry,* 2ª edição, Ellis Horwood, Londres, 1988.

[139] R.Blanc, A.González-Casado, A.Navalón e J.L.Vílchez, *Anal. Chim. Acta*, **403** (2000), 117.

[140] M.M.Baizer e H.Lund, *Organic Electrochemistry*, 2ª edição, Marcel Dekker, Inc., Nova Iorque, 1993.

[141] N.L.Olson, R.Carrel, R.Cummings, R.Rieck e S.Reimer, *J. AOAC*, **78** (1995), 1464.

[142] Etoxnet, ExtensionToxicology Network, http://sulaco.oes.orst.edu70 //...7molinate, (1999).

[143] C.Aguilar, F.Borrull e R.M.Marcé, *J. Chromatogr. A*, **771** (1997), 221.

[144] M.J.Ruiz, M.J.Redondo, R.Boluda e G.Font, *J. Chromatogr. A*, **776** (1997), 348.

[145] M.J.Redondo, M.J.Ruiz, R.Boluda e G.Font, *J. Chromatogr. A*, **719** (1996), 69.

[146] A.A. Boyd-Boland e J.B.Pawliszyn, *J. Chromatogr. A*, **704** (1995), 163.

[147] D.Puig e D.Barceló, *J. Chromatogr. A*, **673** (1994), 55.

[148] M.J.Redondo, M.J.Ruiz, R.Boluda e G.Font, *J. Chromatogr. A*, **678** (1994), 375.

[149] H.Kobayashi, K.Ohyama, N.Tomiyama, Y.Jimbo, O.Matano e S.Goto, *J. Chromatogr.*, **643** (1993), 197.

[150] W. Liao, T. Joe e W. G. CusicK, *J. AOAC*, **74** (1991), 554.

[151] D.G.Crosby e J.B.Bowers, *J.Agric. Food Chem.*, **16** (1968), 839.

[152] C.Miles e H.A.Moye, *Anal. Chem*, **60** (1988), 220.

[153] F.C. Ferradal, J.R. Procopio e L. H. Hernandez, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **343** (1992), 382.

[154] S.J.Gee, T.Miyamoto, M.H.Goodrow, D.Buster e B.D.Hammock, J.*Agric. Food Chem.*, **36** (1998), 863.

[155] S. Miyake, S. Ito, Y.Yamaguchi, Y.Beppu, S.Takewaki e Y.Yuasa, *Anal. Chim. Acta*, **376** (1998), 97.

[156] Q.X.Li, S.J.Gee, M.M.Mcchesney, B.D.Hammock e J.N.Seiber, *Anal. Chem.* **61** (1989), 819.

[157] S.Kodama, A.Yamamoto, Ysaito, N.Tokayanigi e A.Matsunaga, *Buseki-Kagaku*, **45** (1996), 259.

[158] F.Garcia e J.Henion, *J.Chromatogr.*, **606** (1992), 237.

[159] M.Zhou, F.Q.Bramble, T.J.Devire e G.I.Norwood, *J. AOAC*, **79** (1996), 791.

[160] S.Lacorte e D.Barceló, *Anal. Chim. Acta*, **296** (1994), 223.

[161] R.V.Slates, *J.Agric. Food Chem.*, **36** (1988), 1207.

[162] M.Sugawara, K.Mori e J.Yoshida, *Electrochimica Acta*, **42** (1997), 1995.

[163] D. Barceló, *Environmental Analysis, Techniques Applications and Quality Assurance*, Elsevier, Amesterdão, 1993.

[164] M. Ishibashi e M. Suzuki, *J. Chromatogr.*, **456** (1988) 382.

[165] D.A George, *J. AOAC*, **65** (1982) 28.

[166] G.C. Mattern, C.H. Liu, J.B Louis e J.D. Rosen, *J. Agric. Food Chem.*, **39** (1991), 700.

[167] H. Hirata e K. Ishizuka, *Agr. Biol. Chem.*, **39** (1975), 1447.

[168] K. Ishizuka, H. Hirata e K. Fukunaga, *Agr. Biol. Chem*, **39** (1975), 1431.

[169] D. Ambrosi, P.C. Kearney e J.A Macchia, *J. Agric. Food Chem.*, **25** (1977), 868.

[170] S.K. Chakraborty, A. Chowdhury, A. Bhattacharyya, S. Ghosh. S. Pan, R. Waters e N. Adityachaudhury, *J. Agric. Food Chem.*, **43** (1995), 2964.

[171] R.Bartha, *J. Agric. Food Chem.*, **16** (1968), 602.

[172] M.A.Alawi, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **312** (1982), 536.

[173] Etoxnet, ExtensionToxicology Network, http://ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/propanil, (1999).

[174] I. Ferrer e D. Barceló, *J. Cromatogr. A*, **737** (1996), 93.

[175] J.F.Lawrence, *J. Cromatogr.*, **121** (1976), 85

[176] K.W.Edgel, E.J.Erb, J.E.Longbottom e V.Lopez-Avila, *J. AOAC*, **75** (1992), 858.

[177] S.Khim-Heang e C.Corvi, *Analusis*, **26** (1998), M25.

[178] N.Priyanta e D.Weerabahu, *Anal.Chim.Acta*, **320** (1996), 263.

[179] S.Daniele, M.A.Baldo e C.Bragato, *Electrochemistry Communications*, **1** (1999), 37.

[180] M.Hesse, H.Meir e B.Zeeh, *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, M. (Versão Inglesa, traduzida por A.Linden, M.Murray), Thieme-Verlag Stuttgart, Nova Iorque, 1997.

[181] P. K.Agrawal e H.J.Schneider, *Tetrahedron Lett.*, **24** (1983), 177.

[182] P.Sykes, *A Guidebook to the Mechanism in Organic Chemistry*, 6ª edição, Addison Wesley Longman Limited, Singapura, 1986.

[183] R.S.Brown, A.J.Bennet e H.Sleboka-Tilk, *Accounts of Chemical Research*, **25** (1992), 481.