

Artigo

Abordagens Eletroanalíticas para a Determinação de Agrotóxicos da Classe das Estrobilurinas**Almeida, J. M. S.; Dornellas, R. M.; da Silva, A. R.; Aucélio, R. Q.****Rev. Virtual Quim.*, 2015, 7 (5), 1709-1727. Data de publicação na Web: 13 de julho de 2015<http://www.uff.br/rvq>**Electroanalytical-based Approaches for the Determination of Pesticides from the Strobilurin Class**

Abstract: Pesticides of the strobilurin class have been recently introduced against fungi and have become widely used in various crops. Electroanalytical-based methods for these substances have been recently emerged to either detect them or previously separate them before detection. In the present study these approaches are critically revised in order to show the potential of voltammetry, amperometry and capillary electrophoresis to determine the strobilurin in various samples.

Keywords: Fungicides; strobilurins; voltammetry; amperometry; capillary electrophoresis.

Resumo

Os agrotóxicos da classe das estrobilurinas foram introduzidos recentemente para o tratamento de fungos em diversas lavouras. Métodos analíticos para a determinação dessas substâncias vêm surgindo com o intuito de detectá-las ou separá-las previamente à quantificação. Nesse contexto, o uso de métodos eletroanalíticos é revisado de modo a apresentar o potencial da voltametria, da amperometria e da separação eletroforética na determinação das estrobilurinas em amostras diversas.

Palavras-chave: Fungicidas; estrobilurinas; voltametria; amperometria; eletroforese capilar.

* Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, CEP 22451-900, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ aucelior@puc-rio.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20150097](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150097)

Abordagens Eletroanalíticas para a Determinação de Agrotóxicos da Classe das Estrobilurinas

Joseany M. S. Almeida,^a Rafael M. Dornellas,^b Andrea Rosane da Silva,^c
Ricardo Q. Aucélio^{a,*}

^a Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, CEP 22451-900, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

^b Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Química, CEP 38400-902, Uberlândia-MG, Brasil.

^c Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, CEP 27600-000, Valença-RJ, Brasil.

* aucelior@puc-rio.br

Recebido em 11 de maio de 2015. Aceito para publicação em 13 de julho de 2015

1. Agrotóxicos da classe das estrobilurinas
2. Breve contextualização do uso da cromatografia na determinação de estrobilurinas
3. Voltametria para a determinação de estrobilurinas
4. Comportamento eletroquímico de algumas estrobilurinas no eletrodo de BDD
5. Degradação fotoquímica e térmica de algumas estrobilurinas monitorada por voltametria
6. Determinação de dimoxistrobina e picoxistrobina por amperometria
7. Separação eletroforética de estrobilurinas
8. Considerações finais

1. Agrotóxicos da classe das estrobilurinas

Os agrotóxicos são todos os produtos e componentes de processos químico, físico e biológico utilizados para impedir, destruir, repelir ou mitigar as pragas que causam danos à produção agrícola.¹ Eles desempenham um papel fundamental na

agricultura, no entanto, o controle dos seus resíduos em alimentos e no meio ambiente são fundamentais para avaliar e prevenir potencial prejuízo à população.² Dentre os vários tipos de agrotóxicos, os pertencentes a classe dos fungicidas destroem ou inibem a ação de fungos. O uso de eficientes fungicidas sintéticos é muito comum na agricultura, mas pode representar um risco para os seres humanos,³ assim o monitoramento destes é extremamente

importante, requerendo para tal, o emprego de métodos analíticos adequados.

As estrobilurinas sintéticas são agrotóxicos derivados das estrobilurinas naturais A e B, cuja estrutura base é o metil(E)-3-metoxi-2-(5-fenilpenta-2,4-dienil) acrilato. As diferenças estruturais dessas

estrobilurinas advém dos substituintes do anel aromático nas posições 3 e 4 (Figura 1).⁴ Na produção das estrobilurinas sintéticas, a modificação ocorre no grupo (E)- β -metoxiacrilato com substituições α , ou pela substituição de parte desse grupo por um metoxiiminoacetato.⁵

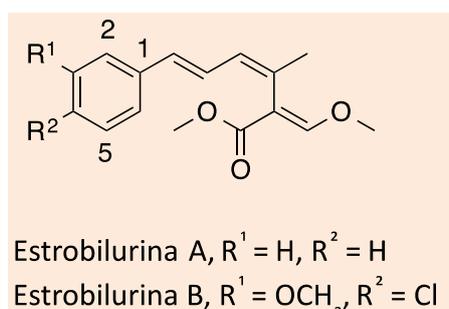


Figura 1. Estrutura básica das estrobilurinas naturais A e B

As estrobilurinas sintéticas foram introduzidas na década de 2000 e vêm se tornando os mais utilizados no controle de fungos, em função da baixa toxicidade relativa e rápida degradação.^{5,6} Contudo, poucos estudos foram realizados para averiguar o nível de exposição dos humanos a tais substâncias.⁷ Dentre as principais substâncias sintéticas da classe das estrobilurinas pode-se citar a azoxistrobina, o cresoxim-metílico, a dimoxistrobina, a fluoxastrobina, a metominostrobin, a picoxistrobina, a piraclostrobina e a trifloxistrobina, cujas estruturas estão indicadas na Tabela 1.

A aplicação desses fungicidas na maioria das lavouras é foliar, de modo que as moléculas são absorvidas pelas folhas de forma gradual e constante, possibilitando proteção mais prolongada e uniforme. Porém, a escolha da estrobilurina deve ser cuidadosa, pois o efeito fitotóxico já foi reportado para azoxistrobina e cresoxim-metílico em variedades de maçã e de cereja, para trifloxistrobina em plantações de banana e para piraclostrobina em videiras.^{8,9} As estrobilurinas sintéticas são utilizadas como fungicidas em lavouras de amendoim, aveia, arroz, batata, cevada, centeio, frutas cítricas, maçã, trigo, soja, uva entre

outras.^{4,5,9} Esses fungicidas são tóxicos para peixes e invertebrados aquáticos e seu uso deve ser evitado em regiões próximas a rios e lagoas.⁸

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, Brasil), que segue critérios adotados por outras agências internacionais, os valores de ingestão diária aceitáveis, para que as estrobilurinas não causem intoxicação nos seres humanos, são: 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para azoxistrobina;¹⁰ 500 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para cresoxim-metílico;¹¹ 43 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para picoxistrobina;¹² 2000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para piraclostrobina;¹³ e 30 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para trifloxistrobina.¹⁴ Para a dimoxistrobina, a agência reguladora do Reino Unido, fixou a quantidade de ingestão diária aceitável em 40 $\mu\text{g kg}^{-1}$.¹⁵ O *Codex Alimentarius* (CODEX, coletânea de códigos de conduta, orientações, recomendações, produção e segurança relacionada a alimentos) estabelece limites máximos de resíduos (LMR) para alguns agrotóxicos da classe das estrobilurinas em diversos tipos de alimentos e também valores para a ingestão diária aceitável (IDA), para a azoxistrobina (0,02 mg kg^{-1}) cresoxim-metílico (0,40 mg kg^{-1}), trifloxistrobina (0,04 mg kg^{-1}), piraclostrobina (0,03 mg kg^{-1}), não sendo estabelecidos ainda para as demais estrobilurinas.¹⁶

Tabela 1. Estrobilurinas sintéticas utilizadas como fungicidas na agricultura

Nome comercial	Nome IUPAC	Fórmula estrutural
Azoxistrobina	metil-(<i>E</i>)-2-{2-[6-(2-cianofenoxi)pirimidin-4-iloxi]fenil}-3-metoxiacrilato	
Cresoxim-metílico	metil-(<i>E</i>)-metoxiimino [a-(<i>o</i> -toliloxi)- <i>o</i> -tolil] acetato	
Dimoxistrobina	(<i>E</i>)-2-(metoxiimino)- <i>N</i> -metil-2-[a-(2,5-xilil-oxi)- <i>o</i> -tolil] acetamida	
Fluoxastrobina	(<i>E</i>)-{2-[6-(2-clorofenoxi)-5-fluoropirimidin-4-iloxi]fenil}(5,6-di-hidro-1,4,2-dioxazina-3-il)metanona- <i>O</i> -metiloxima	
Metominostrobin	(<i>E</i>)-2-metoxiimino- <i>N</i> -metil-2(2-fenoxifenil) acetamida	
Picoxistrobina	metil-(<i>E</i>)-3-metoxi-2-{2-[6-(trifluorometil)-2-piridiloximetil]fenil} acrilato	
Piraclostrobina	metil- <i>N</i> -2-[1-(4-clorofenil)-1 <i>H</i> -pirazol-3-yloximetil]fenil(<i>N</i> -metoxi)-carbamato	
Trifloxistrobina	metil-(<i>E</i>)-metoxiimino-{(<i>E</i>)-α-[1-(α, α,α-trifluoro- <i>m</i> -tolil)-etilidenoaminoxil]- <i>o</i> -tolil}acetato	

2. Breve contextualização do uso da cromatografia na determinação de estrobilurinas

A presente seção tem o objetivo de mostrar o panorama atual de métodos para a determinação de estrobilurinas que foram desenvolvidos desde a introdução desses fungicidas (a partir de 2002). As técnicas majoritariamente utilizadas são a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) com detecção fotométrica de absorção e a cromatografia a gás (GC do inglês *Gas Chromatography*) com detecção por espectrometria de massas (MS do inglês *Mass Spectrometry*), em alguns casos em *tandem*. A separação eficiente das espécies na coluna cromatográfica, a capacidade de se determinar um grande número de agrotóxicos de diversas classes em uma única corrida e a maturidade consolidada fazem dessas técnicas uma escolha óbvia. Porém, em geral, são necessários procedimentos mais apurados para a limpeza da amostra e/ou isolamento dos analitos presentes nas matrizes das amostras. A detecção por espectrometria de massa ou por fotometria de absorção (próximo a 220 nm) é pouco sensível para as estrobilurinas, o que exige a pré-concentração dos analitos. O custo da instrumentação e manutenção aliada à complexidade dos procedimentos, em especial para as abordagens em *tandem*, contribuem para que se busquem alternativas analíticas. Os trabalhos mais relevantes envolvendo o uso da cromatografia são descritos brevemente a seguir.

A técnica de HPLC com detecção por espectrometria de massas em *tandem* (MS/MS) foi empregada para determinar 24 agrotóxicos, dentre eles azoxistrobina, cresoxim-metílico e trifloxistrobina, em frutas, verduras e suco de frutas após uso de extração líquido-líquido (ELL). As recuperações obtidas variaram de 83 a 106 % dependendo da estrobilurina.¹⁷

Abreu *et al.*,¹⁸ em 2005, determinaram azoxistrobina, cresoxim-metílico e trifloxistrobina em amostras de uvas e vinhos por HPLC com detecção absorciométrica no UV. Os analitos foram extraídos das amostras por ELL, o material extraído das amostras foi seco e depois solubilizado em hexano. A limpeza e a pré-concentração dos analitos foram feitos em cartucho de sílica. Os valores de limite de detecção (LD) foram 0,15 mg kg⁻¹ para a azoxistrobina; 0,36 mg kg⁻¹ para a trifloxistrobina e 0,30 mg kg⁻¹ para a cresoxim-metílico. As recuperações foram de 53 a 164% para azoxistrobina, de 71 a 88 % para cresoxim-metílico e de 85 a 94 % para trifloxistrobina. Subsequentemente em 2006, Abreu *et al.*,¹⁹ desenvolveram um método por HPLC com detecção absorciométrica para determinar azoxistrobina, cresoxim-metílico, piraclostrobina, trifloxistrobina e outros tipos de fungicidas em amostras de vinhos e uvas. Os analitos foram extraídos das amostras e pré-concentrados por um procedimento de ELL. Os valores de LD foram 0,2 mg kg⁻¹ para todas as estrobilurinas estudadas e as recuperações variaram de 96 a 105 % dependendo da estrobilurina.

Recentemente, em 2013, o cresoxim-metílico e outros agrotóxicos foram determinados em açaí por HPLC com detecção absorciométrica (em 220 nm). Os analitos foram extraídos por dispersão da amostra, juntamente com um adsorvente sólido de alumina em uma mistura de ciclohexano/acetato de etila (1:1 %, v/v). O limite de quantificação (LQ) obtido foi de 0,10 mg kg⁻¹, com uma recuperação de 126 %.²⁰ Em 2014, 47 agrotóxicos (entre eles azoxistrobina e cresoxim-metílico) foram determinados em amostras de urina de 3421 mulheres grávidas de diferentes regiões da França. Através da cromatografia líquida de ultraeficiência (UPLC) com detecção MS/MS, Jamin *et al.* determinaram quantidades-traço de azoxistrobina, além de três seus metabólitos.²¹

Além destes, outros trabalhos foram desenvolvidos por HPLC para determinação de agrotóxicos em diversas matrizes, dentre eles tem-se os recentemente desenvolvidos

por Zhu *et al.* e por Liang *et al.* no ano de 2013.²²⁻²⁴ Em nenhum trabalho da literatura se descreve o emprego da cromatografia de alta eficiência ou de ultra eficiência (resolução rápida) em fase líquida com detecção eletroanalítica para as estrobilurinas.

A determinação de 450 agrotóxicos, dentre eles azoxistrobina e cresoxim-metílico, foi realizada por GC (acoplada à espectroscopia de massas) em amostras de vinhos branco e tinto, mel e em sucos de maçã e de pera. A extração em fase sólida dos analitos foi feita em cartucho de carbono grafitado e em cartucho de aminopropila. As recuperações obtidas variaram de 79 a 116 % para azoxistrobina e de 50 a 101 % para cresoxim-metílico. O valor de LQ foi de 0,001 mg kg⁻¹ para azoxistrobina e de 0,012 mg kg⁻¹ (12 µg L⁻¹) para cresoxim-metílico.²⁵

Bempelou e Liapis²⁶, em 2006, utilizaram GC com o tradicional detector de captura de elétrons para determinar 16 agrotóxicos, entre eles o cresoxim-metílico, em amostras de maçã. Após procedimento ELL com mistura de solventes orgânicos, o valor do LQ foi de 0,01 mg kg⁻¹. Em 2008, Bo *et al.*, usaram GC com detecção por MS para determinar azoxistrobina, cresoxim-metílico, dimoxistrobina, fluoxastrobina, metominostrobin, picoxistrobina, piraclostrobina e trifloxistrobina em frutas, legumes, bebidas, cereais, nozes, carnes, ovos e leite.²⁷ A extração dos analitos foi realizada por cromatografia de permeação em gel. Os valores de LQ variaram de 0,002 mg kg⁻¹ a 0,015 mg kg⁻¹ e as recuperações ficaram em torno de 60 a 120 %. Lagunas-Allué *et al.*,²⁸ em 2012, avaliaram quatro diferentes procedimentos de extração para oito agrotóxicos, entre eles piraclostrobina, em amostras de uva, com a determinação por GC-MS. Os procedimentos de extração assistido por micro-ondas (LQ de 5,8 µg kg⁻¹) e por adição da amostra com uma fase sólida dispersa com posterior extração dos agrotóxicos com solvente orgânico foram comparados. Para esta última abordagem, os pares adsorventes:sistema de solventes

avaliados para extrair os agrotóxicos foram: sílica, C18:diclorometano/acetato de etila (1:1 % v/v) (permitindo o LQ de 8,7 µg kg⁻¹); cloreto e sulfato de sódio:acetona (que permitiu LQ de 13,6 µg kg⁻¹) e mistura de sulfato de magnésio e cloreto de sódio:acetato de etila (com LQ obtido de 14,3 µg kg⁻¹). As recuperações variaram de 85 a 100 % para piraclostrobina nos quatro métodos de extração diferentes. Além desses, alguns outros trabalhos foram desenvolvidos para determinação de estrobilurinas por GC-MS como os de Viñas *et al.*,²⁹ Gonzales-Rodrigues *et al.*,³⁰ Filho *et al.*,^{31,32} e Campillo *et al.*³³

3. Voltametria para a determinação de estrobilurinas

A voltametria é uma técnica analítica que foi empregada para a determinação de diversos agrotóxicos tais como buprofezin, paration, fenitrotion, carbaril, carbofuran em matrizes como água de torneira e leguminosas.³⁴⁻³⁶ Nesses casos, as espécies químicas a serem determinadas devem sofrer redução e/ou oxidação mediada por um eletrodo de trabalho e sob condições experimentais específicas. Uma varredura de potencial (magnitude e direção definidas) é aplicada de modo a promover o processo redox na solução presente na interface com o eletrodo de trabalho. Em condições onde o transporte de massa de espécies de interesse para a interface eletrodo/solução é minimizado, a corrente faradaica medida é proporcional ao número de espécies que sofrem o processo redox, que por sua vez, guarda proporcionalidade com a concentração de analito na solução. A sensibilidade da técnica é decorrente da eficiência do processo redox e da garantia de minimização do ruído capacitivo (conseguido com técnicas de amostragem de sinal como o pulso diferencial e onda quadrada e com o uso de microeletrodos). A seletividade pode ser elevada se o processo redox para uma espécie química de interesse ocorrer numa

região de potencial diferente do das outras substâncias concomitantes na amostra. Muitas vezes é possível forçar a acumulação de espécies orgânicas no eletrodo de trabalho (em geral por adsorção), aplicando um potencial específico. Tal situação permite pré-concentrar o analito antes de dissolvê-lo em solução (por oxidação ou redução) produzindo uma corrente (sinal analítico) amplificada. Essa estratégia é conhecida por redissolução, que pode ser anódica ou catódica dependendo da direção da varredura aplicada para transferir o material acumulado na superfície do eletrodo para a solução.

Tradicionalmente, o eletrodo de trabalho de mercúrio (gota de mercúrio ou filme de mercúrio) foi o mais usado nessa técnica eletroanalítica, inclusive para determinação de agrotóxicos.^{34,37-39} Essa popularidade ocorreu devido à renovação reprodutiva da superfície ativa (reprodutibilidade de sinal e eliminação de efeito de memória) e fácil acumulação de analito no mercúrio, apesar de sua janela de operação ser relativamente limitada e quase que totalmente na região negativa de potencial. Entretanto, os motivos que condenaram a sua utilização foram toxicidade, dificuldade de descarte e a atual restrição de seu uso em atividades tecnológicas.⁴⁰

A literatura reporta apenas um trabalho do ano de 2010 que utilizou o eletrodo de trabalho de gota pendente de mercúrio na determinação de substâncias da classe das estrobilurinas por voltametria.⁴¹ Esse trabalho também foi o primeiro a empregar a detecção eletroanalítica de estrobilurinas e reportou a determinação simultânea de azoxistrobina e dimoxistrobina por voltametria adsortiva de redissolução em amostras de batata e uva. O eletrodo de trabalho utilizado foi de gota pendente de mercúrio, com o eletrodo de Ag/AgCl como referência, no qual se aplicou um potencial de deposição de -300 mV durante 30 s. As medições foram feitas com varredura de potencial de 300 mV a -1000 mV (varredura catódica) em HCl 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte. Antes de realizar a primeira análise

na célula eletroquímica foi necessária a purga da solução. Voltamogramas cíclicos apresentaram apenas um pico catódico tanto para azoxistrobina (potencial máximo em -1016 mV) quanto para dimoxistrobina (com potencial máximo em -680 mV). Os fungicidas foram extraídos das amostras por extração em fase sólida (SPE do inglês *Solid Phase Extraction*) com cartucho C18. Os valores dos LQ instrumental para azoxistrobina e dimoxistrobina foram de 36 e 27 µg L⁻¹ respectivamente e as recuperações variaram entre 72 e 102 %.

Eletrodos de carbono vítreo (em muitos casos modificados quimicamente), pasta de carbono, ouro, platina, prata, irídio, e várias outras ligas e amálgamas têm sido propostos para substituir a ampla utilização do mercúrio, porém nenhum deles tem as excelentes qualidades e versatilidade do mercúrio para as análises eletroanalíticas.⁴²⁻⁴⁴ Um substituto com características que mais se aproximam das do mercúrio é o eletrodo de filme de bismuto (BiFE). Introduzido no ano 2000, este apresenta boa capacidade para pré-concentração de analitos e janela de operação similar à do mercúrio.⁴⁵ Além disso, a toxicidade do Bi é bem menos significativa e, em muitos casos, a desoxigenação prévia das soluções não se faz necessária.⁴⁶⁻⁴⁸ Similarmente ao filme de mercúrio, o BiFE consiste de um filme fino de bismuto depositado (*in situ* ou *ex situ*) em um substrato, cuja função é fornecer sítios para a formação do filme. O carbono vítreo é preferido como substrato, pois possui alta condutividade elétrica, boa estabilidade mecânica, baixo custo, além da produção de baixa corrente de fundo que o tornam adequado.⁴⁷ Apesar da maioria das aplicações do BiFE serem na determinação de íons metálicos, recentemente ele também foi aplicado na determinação de moléculas orgânicas.^{49,50}

Em relação às estrobilurinas, no caso a picoxistrobina, apenas um trabalho com BiFE foi descrito na literatura.⁵¹ Ao contrário do eletrodo de mercúrio, nenhum sinal foi observado em potenciais negativos. A picoxistrobina foi determinada em amostras

de urina e de água a partir da voltametria de pulso diferencial com redissolução anódica e usando o eletrodo de referência de Ag/AgCl. As condições experimentais foram ajustadas para que o ciclo de medição começasse com a aplicação de um potencial de deposição em -700 mV vs Ag/AgCl, durante 60 s, para a formação *in situ* do filme de Bi sobre um substrato de carbono vítreo e a simultânea acumulação da picoxistrobina. Segundo os autores, nas condições empregadas, uma quantidade significativa de Bi permanece como uma película sobre a superfície do eletrodo apesar da redissolução do analito só ocorrer num potencial acima do de oxidação do Bi. A varredura anódica foi feita na faixa de potencial de + 790 mV a + 1050 mV com velocidade de 40 mV s⁻¹ e com eletrólito suporte constituído por HCl 1 mol L⁻¹. Os autores provaram que a presença de Bi é fundamental para a acumulação e oxidação de picoxistrobina durante a redissolução (pico máximo a + 954 mV). O problema de memória entre uma determinação e outra foi resolvido com a utilização de um procedimento de limpeza que consistiu na aplicação de um potencial fixo de limpeza em 400 mV durante 90 s para evitar passivação do eletrodo. Respostas analíticas lineares ($R^2 > 0,99$) e homocedásticas foram observadas, com um LQ de 100 µg L⁻¹. Um simples procedimento de SPE (em cartucho C18) permitiu a pré-concentração do analito e eliminou as interferências observadas nas amostras de urina. Recuperações entre 89 e 105% foram encontradas, contudo interferências de azoxistrobina, dimoxistrobina, fluxastrobina, cresoxim-metilico e piraclostrobina foram observadas para esse método.⁵¹

Um material avançado de carbono, o diamante dopado com boro nanocristalino (BDD do inglês *Boron Doped Diamond*) vem ganhando espaço como eletrodo de trabalho em voltametria e amperometria em função de sua estabilidade eletroquímica elevada e ampla janela de potencial. Em soluções aquosas, o BDD desloca a região de eletrólise da água e/ou oxigênio dissolvido para valores além de ± 2200 mV. Esta característica

possibilita a determinação de espécies que tenham o seu potencial redox característico acima de ± 1000 mV, o que não pode ser feito utilizando o eletrodo de carbono vítreo ou de pasta de carbono. O BDD é um material com elevada estabilidade química e física, tal propriedade habilita o desenvolvimento do trabalho em condições extremas, tais como meio quimicamente agressivo, por exemplo, fortemente ácido. Além disso, ele possui boa biocompatibilidade, resposta com baixa corrente capacitiva (ruído) e uma menor sensibilidade ao oxigênio dissolvido em solução, não necessitando, na maioria dos casos, de desoxigenação do eletrólito suporte.⁵² A maior sobretensão ao O₂ confere ao BDD alto poder de oxidação, que promove a degradação eletrolítica efetiva de substâncias orgânicas (as vezes referido como “combustão”) com a formação de CO₂ e H₂O, devido à produção de grandes quantidades de radical hidroxila (proveniente da água) na superfície BDD.^{53,54} Tais propriedades tornam o BDD adequado para análises com técnicas eletroanalíticas, sendo um dos materiais mais promissores para a construção de eletrodos de trabalho na atualidade. Porém, ao opera-lo em potencias mais extremos, muitas espécies químicas podem sofrer processos redox, aumentando o risco de interferências.^{52,55}

O eletrodo de BDD vem sendo aplicado em química analítica, principalmente em análises eletroanalíticas de amostras de interesse farmacológico^{56,57} e em análises ambientais.⁵⁵ No caso dos agrotóxicos, dois trabalhos relataram a determinação de estrobilurinas utilizando o eletrodo de BDD. Nos dois casos não foi possível realizar a abordagem de redissolução com a pré-concentração de analito no BDD. A determinação de cresoxim-metilico por voltametria de onda quadrada em amostras fortificadas de sucos de uva foi descrita por Dornellas *et al.* em 2013.⁵⁸ A oxidação irreversível do agrotóxico foi observada e as medições foram realizadas com a varredura anódica e com eletrodo de referência de Ag/AgCl (de + 1000 mV a + 1750 mV com máximo em + 1420 mV) em eletrólito suporte

constituído por solução tampão acetato (pH 4,0; 0,050 mol L⁻¹). O sinal obtido gerou uma resposta linear ($R^2 > 0,999$) que cobriu uma faixa de duas ordens de grandeza, iniciando em 270 $\mu\text{g L}^{-1}$. O uso de SPE para pré-concentração do analito e eliminação de possíveis interferências impostas por componentes da matriz do suco de uva foi usada. As recuperações encontradas variaram de 91,6 % a 105,3 %.

Em 2014, a determinação ultra-traço de piraclostrobina foi realizada usando o eletrodo de BDD, com eletrodo de referência de Ag/AgCl.⁵⁹ O processo de oxidação *quasi*-reversível foi identificado por voltametria cíclica com dois picos de oxidação bem definidos (em torno de + 1300 mV e em + 1650 mV). A determinação foi realizada por voltametria de onda quadrada com varredura anódica (a partir de + 1050 mV até + 1500 mV) com a corrente medida em + 1280 mV. O eletrólito suporte foi constituído por uma solução de tampão acetato (pH 4,0; 050 mol L⁻¹). A resposta foi linear ($R^2 > 0,99$) e cobriu duas ordens de magnitude, a partir do LQ (320 $\mu\text{g L}^{-1}$). Os valores de recuperação obtidos para o analito em amostras fortificadas de água e de suco de uva ficaram entre 94 e 102 %.

4. Comportamento eletroquímico de algumas estrobilurinas no eletrodo de BDD

O mecanismo de reação para o processo de oxidação irreversível do cresoxim-metilico foi proposto por Dornelas *et al.* em 2013.⁵⁸ Esta estrobilurina não apresenta grupos químicos que podem ser facilmente oxidados, por isso, a aplicação de um potencial elevado foi necessária para permitir que uma reação ocorresse. A proposta de um mecanismo (Figura 2) baseou-se na oxidação de um átomo de carbono ligado a um anel aromático presente na estrutura de cresoxim-metilico, em conformidade com os dados da literatura que descreve a oxidação de hidrocarbonetos aromáticos e alquil-aromáticos em meio aquoso.⁶⁰ Isso foi possível, pois a água, solvente da solução, favoreceu um ataque nucleofílico em um átomo de carbono deficiente em elétrons, levando à formação de dois produtos após a clivagem da molécula.

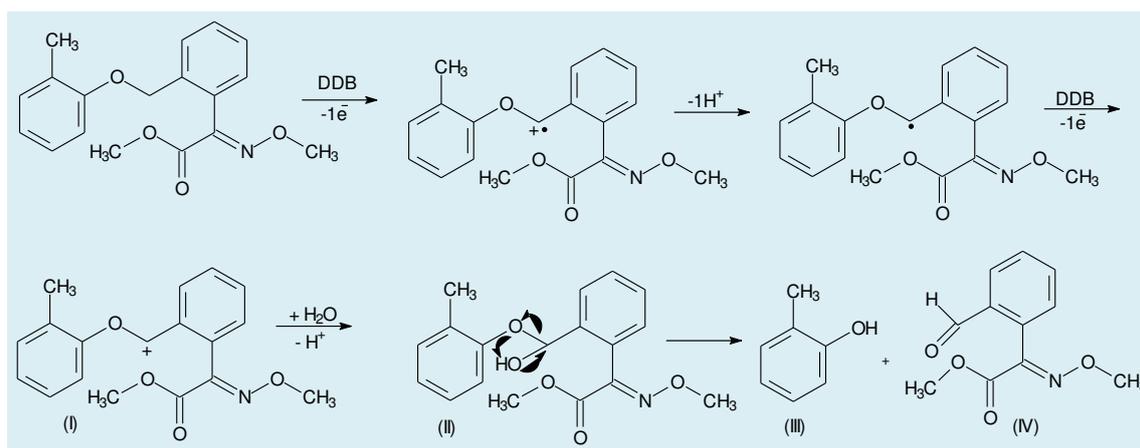


Figura 2. Mecanismo proposto para a oxidação de cresoxim-metilico

Segundo os autores, o processo se inicia com a perda de um elétron para formar um cátion radical (na Figura 2). Em seguida, a perda de um próton conduz à formação do

radical. Uma vez formado, este radical perde outro elétron promovendo a formação do carbocátion intermediário (estrutura I) que é estabilizado por ressonância devido a

deslocalização da carga positiva no anel aromático.⁶¹ Na presença de solventes polares, carbocátions são altamente susceptíveis ao ataque nucleofílico, por isso, é plausível que uma molécula de água participe no processo, gerando a espécie II. No entanto, é importante notar que a espécie (II) pode sofrer uma clivagem, como observado em sistemas que permitem a eliminação de moléculas neutras.⁶² Portanto, o mecanismo proposto justifica a oxidação irreversível, promovido pela perda de dois elétrons por molécula de cresoxim-metilico.

A resposta voltamétrica obtida para a oxidação do fungicida cresoxim-metilico revelou a presença de dois picos anódicos, um em + 1420 mV e outro em + 1700 mV, ambos medidos em relação ao eletrodo de Ag/AgCl. Estudos de diagnóstico realizados para o pico em + 1700 mV indicaram um mecanismo *quasi*-reversível com transferência de massa controlada por adsorção. Esta evidência vem da falta de linearidade da: (i) relação entre corrente de pico (I_p) e a raiz quadrada da velocidade de varredura (\sqrt{v}) obtida com a voltametria cíclica (a reação eletroquímica é controlada pela transferência eletrônica) e (ii) relação observada entre I_p e a frequência de aplicação dos pulsos (f) na voltametria de onda quadrada.⁵⁸

Estudos voltamétricos do processo oxidativo de outras estrobilurinas também foram reportados.⁶³ No caso da dimoxistrobina, observou-se dois picos de oxidação na voltametria de onda quadrada (um com máximo em + 1350 mV e outro em + 1750 mV, ambos medidos em relação ao eletrodo de Ag/AgCl). No estudo do mecanismo redox do primeiro pico de oxidação (em + 1350 mV), o gráfico que relaciona \sqrt{v} e I_p produziu resposta linear, indicando indica que a reação eletroquímica é controlada pelo transporte de massa das espécies eletroativas na superfície do eletrodo. Um perfil linear também foi observado no gráfico da f em função de I_p , confirmando tratar-se de um processo eletroquímico irreversível. Ao avaliar-se o

perfil do pico para esse analito e substituindo o valor de largura de pico na metade da sua altura ($\Delta E_{p/2}$) de 79 mV na equação $\Delta E_{p/2} = 127/n$, obtém-se um valor de n igual a 1,6, sugerindo a oxidação de 2 elétrons por molécula de dimoxistrobina. Considerando os resultados similares aos obtidos para o cresoxim-metilico e em virtude da semelhança nas estruturas da dimoxistrobina e cresoxim-metilico, um mecanismo reacional similar também pode ser atribuído para a dimoxistrobina.

O estudo feito com o segundo pico de oxidação da dimoxistrobina (com máximo em + 1750 mV) mostrou que, diferentemente do que foi descrito para o primeiro pico, ambos os gráficos, I_p em função de \sqrt{v} , e f em função de I_p , não apresentaram uma relação linear, indicando um mecanismo redox *quasi*-reversível com transferência de massa controlada por difusão.

Para a picoxistrobina, que possui dois picos de oxidação (um com máximo em + 1450 mV e outro em + 1950 mV, ambos medidos em relação ao eletrodo de Ag/AgCl), ambos irreversíveis e com reação eletroquímica controlada pelo transporte de massa das espécies eletroativas na superfície do eletrodo, pois os gráficos de I_p em função de \sqrt{v} e de I_p em função de f mostraram comportamento linear mediada pelo BDD.⁶³ Utilizando a equação $\Delta E_{p/2} = 127/n$, onde se substitui os valores para $\Delta E_{p/1}$ de 80 mV e de $\Delta E_{p/2}$ de 74 mV, obtém-se os valores de n respectivamente iguais a 1,6 e 1,7, sugerindo que a oxidação que ocorre nos potenciais envolve, cada um, dois elétrons por molécula de picoxistrobina.

Já para piraclastrobina, os estudos dos dois picos de oxidação (o primeiro com máximo em + 1280 mV e o segundo com máximo em + 1650 mV, ambos medidos em relação ao eletrodo de Ag/AgCl) indicaram que ambos os processos são *quasi*-reversíveis (reação eletroquímica é controlada pela transferência eletrônica). Os gráficos de I_p em função de \sqrt{v} e de I_p em função de f não foram lineares para os dois processos de oxidação de piraclastrobina em DDB.⁵⁹

5. Degradação fotoquímica e térmica de algumas estrobilurinas monitorada por voltametria

As estrobilurinas são facilmente degradadas quando expostas a radiação UV, sendo este um fator importante que pode influenciar na sua determinação eletroanalítica. A radiação UV é consideravelmente energética e pode romper muitas ligações químicas levando à degradação da molécula com formação de outros produtos.⁶⁴ Lagunas-Allué et al.⁶⁵, em 2012, realizaram um estudo para avaliar a degradação fotocatalítica de piraclostrobrina em solução aquosa e na presença de TiO₂ em suspensão. A fotodegradação de piraclostrobrina foi acompanhada por HPLC (detecção absorciométrica) e os intermediários da reação de fotodegradação foram concentrados em cartuchos de SPE (C18) e identificados por LC-MS/MS. A cinética de fotodegradação para piraclostrobrina foi de pseudo-primeira ordem, com a degradação completa após 60 min. de irradiação com a lâmpada ultravioleta (UV de 125 W de potência).

O estudo de degradação fotoquímica de três estrobilurinas (cresoxim-metílico, picoxistrobrina e piraclostrobrina) por exposição ao UV foi realizado por Dornellas,^{58,63} monitorando a intensidade do primeiro pico de oxidação de cada uma das estrobilurinas. Para o estudo, soluções dos analitos foram preparadas em acetonitrila, numa concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. As soluções, foram expostas a radiação UV num reator contendo duas lâmpadas germicidas de 6 W cada. Amostras foram retiradas no intervalo de tempo entre 5 e 90 min. Alíquotas de 100 μL destas soluções foram adicionadas à célula eletroquímica e analisadas por voltametria de onda quadrada com eletrodo de BDD.

Para o cresoxim-metílico, os resultados revelaram resistência da estrobilurina ao UV até 15 min de exposição. A degradação começa a ser mensurável após 15 min. e com

80 min. de irradiação, a degradação do analito foi completa. A cinética de degradação não foi proposta porque os resultados obtidos não se enquadraram em nenhum modelo cinético simples. No caso da picoxistrobrina, a diferença entre a concentração inicial do analito e as concentrações recuperadas nas alíquotas, recolhidas a cada 5 min. de exposição à radiação UV, indicou a rápida degradação do analito, se tornando completa com 30 min. O perfil indicou que a cinética de degradação se aproximou de um modelo de segunda ordem, com uma constante de velocidade (k) de $1,06 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ min}^{-1}$ e um tempo de meia vida ($t_{1/2}$) de 0,9 min. O modelo de segunda ordem para a degradação, $Y = (1,06 \times 10^3 \pm 1,2 \times 10^2) X + (252,09 \pm 14,80)$ com $R^2 = 0,9503$, indicou que em 20 min. apenas 4,6 % da picoxistrobrina permaneceu não degradada na solução.

Para piraclostrobrina, a diferença entre a concentração original do analito e as concentrações recuperadas nas alíquotas indicou uma cinética de degradação de segunda ordem, com uma constante de velocidade (k) de $1,02 \times 10^2 \text{ L mol}^{-1} \text{ min}^{-1}$ e um tempo de meia vida ($t_{1/2}$) de 9,8 min. O modelo de segunda ordem de degradação, $Y = (1,02 \times 10^2 \pm 3,98) X + (1132 \pm 195)$, $R^2 = 0,9836$, indicou que em 90 min. apenas 9,6 % da piraclostrobrina permaneceu na solução.

Nos estudos referente à variação de temperatura (até 60 °C) realizados com as soluções de cresoxim-metílico, picoxistrobrina e piraclostrobrina ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ preparadas em acetonitrila) mostraram que entre 10 e 120 min. não ocorreu degradação relevante.

6. Determinação de dimoxistrobrina e picoxistrobrina por amperometria

Na amperometria, a corrente produzida pelo analito que sofre processo redox é monitorada em uma diferença de potencial

fixa aplicada em função do tempo. Em geral, para se tirar vantagem do processo, esse tipo de determinação é feito em regime de fluxo associado às técnicas de cromatografia líquida e análise por alguma abordagem de injeção em fluxo como o FIA (do inglês *Flow Injection Analysis*). Mais recentemente, a abordagem de análise por injeção em batelada (BIA do inglês *Batch Injection Analysis*) foi usada para realizar análises com detecção amperométrica.⁶⁶⁻⁶⁹ Esta técnica possui características análogas ao FIA como a rapidez, simplicidade, uso de volumes pequenos de amostra (típicos de análises ultra-traço) e repetibilidade, porém, no BIA não se tem o processo automatizado já que não utilizam bombas, tubos de conexão e válvulas que mantêm a fase móvel constantemente fluindo no sistema de modo a carrear a zona de analito.^{70,71}

No ano de 2014 a dimoxistrobina foi determinada por BIA-amperometria utilizando uma célula, contendo no seu fundo, o eletrodo de BDD como sensor. Mergulhados na abertura do topo da célula foram colocados os eletrodos auxiliar de platina e o eletrodo de referência de Ag/AgCl.⁷¹ Nessa abordagem, alguns microlitros de solução de analito foram adicionados, por meio de uma micropipeta eletrônica, diretamente na superfície do eletrodo de BDD de tal forma que o analito contido na zona injetada sofresse oxidação gerando um pico transiente. Após atingir um máximo, o sinal diminui ao valor da linha base em função da dissipação do analito no volume de eletrólito suporte da cela, alcançando concentrações finais ínfimas e não detectáveis.

O monitoramento foi feito no potencial de + 1900 mV vs Ag/AgCl em eletrólito suporte de tampão Britton-Robinson (pH 2,0; 0,040 mol L⁻¹) para a determinação de dimoxistrobina em águas naturais. O método apresentou alta frequência de análise (180 injeções h⁻¹), boa precisão (RSD < 3 %, n = 10), e um limite de detecção de 124 µg L⁻¹. Os valores de recuperação obtidos em amostras de água fortificada com o analito ficaram

entre 80 e 105 %. Além disso, uma estratégia amperométrica de múltiplos pulsos foi proposta para detectar a presença de moléculas interferentes nas amostras de água. Para tal, um fator amperométrico foi usado, selecionando dois pulsos medidos em duas diferenças de potencial (coincidentes com as correntes de pico máximos do analito), de tal maneira que dois eventos eletroquímicos relacionados com a dimoxistrobina fossem monitorados sequencialmente.⁷¹ O cálculo na relação das correntes (I_{E2}/I_{E1}), onde I_{E2} é a corrente de pico gerada pelo pulso de potencial referente ao segundo pico de oxidação (o mais intenso) e I_{E1} é a corrente de pico gerada pelo pulso de potencial referente ao primeiro pico de oxidação (o menos intenso), resultou no valor do fator (sempre maior do que a unidade). Esse fator permanece constante se apenas a dimoxistrobina está presente na amostra como espécie eletroativa para o método. A presença de outras espécies eletroativas na mesma amostra deve alterar o valor do fator, mas não necessariamente mantendo-o constante, devido principalmente a duas causas: (i) adsorção da molécula interferente ou do produto de oxidação na superfície do eletrodo diminuindo a corrente final medida; (ii) oxidação destas espécies produzindo correntes que se somam a do analito aumentando o valor final medido.⁷²

Com base nos estudos realizados o valor obtido para o fator de dimoxistrobina na ausência de espécies químicas interferentes ($1,62 \pm 0,10$) era alterado quando outras espécies químicas eletroativas estivessem presentes na amostra.⁷¹

7. Separação eletroforética de estrobilurinas

As técnicas de separação feitas por meio do efeito da eletroforese em tubo capilar vêm evoluindo muito desde os anos 80 a ponto de se tornar uma abordagem robusta e atingir certa maturidade.⁷³⁻⁷⁵ O rápido avanço

da eletroforese capilar decorre, em parte, da simplicidade instrumental, mas principalmente da variedade dos modos de separação que podem ser efetuados em uma única coluna capilar^{74,76} e da diversidade de classes de compostos (de caráter mais polar, de caráter mais apolar e iônico) passíveis de serem separados e determinados.

A eletroforese capilar (CE do inglês *Capillary Electrophoresis*) já é utilizada em alguns trabalhos analíticos voltados para determinação de agrotóxicos em diferentes tipos de amostras aplicando seus vários modos de operação. Dois trabalhos se destacam por se concentrarem apenas nas estrobilurinas.

No primeiro deles, de Souza *et al.*,⁷⁷ em 2009 usaram uma abordagem da eletroforese capilar denominada cromatografia eletrocínética capilar micelar (MEKC do inglês *Micellar Electrokinetic Chromatography*) para determinar picoxistrobina e piraclostrobina em amostras de urina fortificadas com os analitos, usando azoxistrobina como padrão interno. Na MECK, um surfactante iônico é usado na concentração acima da micelar crítica de tal forma que o analito e as micelas formem um conjunto com características eletroforéticas úteis para se obter a migração diferenciada que resulta na separação dos analitos de interesse. O eletrólito de corrida foi constituído por tampão borato (pH 8,5; 40 mmol L⁻¹) contendo SDS (dodecil sulfato de sódio) como fase pseudo-estacionária e acetonitrila (15 % em volume) como modificador químico. A concentração dos analitos no capilar (*on-line*) pelo modo de empilhamento normal (*normal stacking*) foi empregada a partir da diferença de força iônica entre a solução de analito introduzida no sistema e o eletrólito de corrida. Essa estratégia foi usada para melhorar em uma ordem de magnitude o LD do método que usou detecção fotométrica (detecção em 200 nm). Uma cela do tipo Z que aumentou o caminho óptico da zona de detecção em três vezes também foi utilizada. A limpeza da amostra e a extração dos fungicidas foram feitas por SPE (cartucho C18). O valor de LQ

instrumental para a picoxistrobina foi 32 µg L⁻¹ enquanto o da piraclostrobina foi 21 µg L⁻¹. As recuperações obtidas em amostras de urina fortificadas com os agrotóxicos ficaram em torno de 109 % para picoxistrobina e de 75 % para piraclostrobina. A migração das duas espécies ocorreu em menos de 10 min.

Mais recentemente, no ano de 2014, Wang *et al.*,⁷⁸ desenvolveram um outro método baseado em MECK para determinar azoxistrobina, cresoxim-metílico e piraclostrobina em frutas e vegetais. As condições do eletrólito de corrida foram próximas das usadas por Souza *et al.*, porém a estratégia de concentração de analitos no capilar foi feita por varredura (*sweeping*) no qual os analitos contidos no volume de amostra introduzido migram com velocidade maior que a das micelas no eletrólito de corrida em frente do volume injetado. Quando as micelas que existem antes do plug de amostra ingressam no plug de analito (inicialmente sem surfactante) elas varrem os analitos contra as micelas na frente do plug de amostra concentrando-os numa zona e iniciando efetivamente a migração diferencial dos sistemas analito-micela. O tempo para separação eletroforética e detecção das estrobilurinas foi de um pouco mais de 9 min. A detecção absorciométrica em 220 nm permitiu limites de detecção de até 1 µg kg⁻¹ para o cresoxim-metílico e 2 µg kg⁻¹ para as outras duas estrobilurinas. As amostras foram fortificadas com os analitos e extraídas com diclorometano, filtradas, limpas por efeito *salting-out* e evaporadas antes de serem retomadas em solução adequada para a introdução no sistema. As recuperações ficaram entre 85 e 99 %.

8. Considerações finais

O uso das estrobilurinas na agricultura tem se tornado intensivo, assim, a demanda pelo controle destas substâncias nos alimentos e em amostras ambientais incentivou o desenvolvimento de métodos analíticos por HPLC e por GC já partir do

início dos anos 2000. A cromatografia permite a separação das estrobilurinas e a determinação destas, e de vários outros agrotóxicos, numa mesma corrida cromatográfica, o que é primordial para os órgãos sanitários e de controle de qualidade.

Os métodos eletroanalíticos disponíveis para a determinação das estrobilurinas foram desenvolvidos mais recentemente (entre 2009 e 2014). Estes métodos e algumas de suas características estão listados na Tabela 2. A voltametria com o uso do eletrodo de mercúrio parece prover resposta razoavelmente seletiva para a azoxistrobina e dimoxistrobina, com base nos dados reportados. No entanto, esse tipo de eletrodo vem sendo desestimulado por razões de segurança e de impacto no meio-ambiente. Já o eletrodo de filme de bismuto produziu resposta analítica sensível e aparentemente seletiva para a picoxistrobina, porém o potencial efeito de memória requer a limpeza recorrente do substrato de carbono vítreo, o que torna complicado o uso desse método em rotina. Um grande potencial pode ser vislumbrado para a detecção

eletroanalítica usando o eletrodo de BDD, que é eficiente para a oxidação das várias das estrobilurinas. Porém, como o potencial aplicado é suficientemente elevado, a oxidação de outras substâncias orgânicas é provável, o que diminui a seletividade de sua aplicação em análise direta de amostras na cela eletroquímica. O uso do fator amperométrico é apenas um indicador de que algum interferente se encontra presente na amostra e não resolve a questão da determinação seletiva. No entanto, essa capacidade de promover a oxidação das estrobilurinas, além da oxidação de diversas outras espécies químicas (por exemplo, a de agrotóxicos de outras classes) pode ser bastante útil no caso da associação da eletroforese capilar ou da cromatografia líquida de alta eficiência com a detecção amperométrica usando o eletrodo de BDD, já que isso uniria a capacidade seletiva propiciada pelo método de separação, a sensibilidade produzida pela resposta eletroquímica no BDD e a universalidade da resposta para a estrobilurinas e, potencialmente para outros agrotóxicos.

Tabela 2. Procedimentos eletroquímicos para determinação de estrobilurinas

Amostra	Analito	Técnica	Tipo de detecção	Eletrólito Suporte	pH	LD	Ref.
Batata/ Uva	Dimoxistrobina/A zoxistrobina	SW-ASV	Eletrodo de gota pendente de Hg	HCl 0,1 mol L ⁻¹	-	0,72 µg L ⁻¹ / 0,36 µg L ⁻¹	41
Urina/ Água	Picoxistrobina	DP-ASV	Eletrodo de filme de Bi	HCl 1,0 mol L ⁻¹	-	8,4 µg L ⁻¹	51
Suco de Uva	Cresoxim-metil	SWV	Eletrodo de DDB	Tampão acetato 0,050 mol L ⁻¹	4,0	90 µg L ⁻¹	58
Água/suco de uva	Piraclostrobina	SWV	Eletrodo de DDB	Tampão acetato 0,050 mol L ⁻¹	4,0	95 µg L ⁻¹	59
Água	Dimoxistrobina	BIA ^a	Eletrodo de DDB	Tampão BR ^b 0,040 mol L ⁻¹	10	124 µg L ⁻¹	71

Urina	Picoxistrobina/ Piraclostrobina	MEKC ^c	Fotometria de absorção (220 nm)	Tampão Borato 40 mmol L ⁻¹ , SDS ^d 30 mmol L ⁻¹ , ACN ^e 15% v/v	8,5	9,6 µg L ⁻¹ / 7,0 µg L ⁻¹	77
Frutas e Vegetais	Azoxistrobina/ Cresoxim-metil/ Piraclostrobina	MEKC ^c	Fotometria de absorção (220 nm)	Tampão Borato 40 mmol L ⁻¹ , SDS ^d 30 mmol L ⁻¹ , ACN ^e 15% v/v	8,4	0,002 µg g ⁻¹ / 0,001 µg g ⁻¹ / 0,002 µg g ⁻¹	78

^aBIA: BIA-Amperometria; ^bTampão BR: Tampão Britton Robinson; ^cMEKC: Cromatografia eletrocínica capilar micelar; ^dSDS: Dodecil sulfato de sódio; ^eACN: Acetonitrila.

Referências Bibliográficas

- Diário oficial da República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, No. 4074, Section 1, 4th January 2002.
- Frank, A. L.; McKnight, R.; Kirkhorn, S. R.; Gunderson, P. Issues of agricultural safety and health. *Annual Review of Public Health* **2004**, *25*, 225. [CrossRef] [PubMed]
- Ware, G. W. *Fundamentals of Pesticides: A Self Instruction Guide*, 3a. ed., Thomson Publications: Fresno, 1991.
- Anke, T.; Oberwinkler, F.; Steglich, W.; Schramm, G. The strobilurins-new antifungal antibiotics from the basidiomycete *Strobilurus tenacellus*. *The Journal of Antibiotics* **1977**, *30*, 806. [CrossRef] [PubMed]
- Bartlett, D. W.; Clough, J. M.; Godwin, J. R.; Hall, A. A.; Hamer, M.; Parr-Dobrzanski, B. The strobilurin fungicides. *Pest Management Science* **2002**, *58*, 649. [CrossRef] [PubMed]
- Balba, H. Review of strobilurin fungicide chemicals. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* **2007**, *42*, 441. [CrossRef] [PubMed]
- Zakharychev, V. V.; Kovalenko, L. V. Natural compounds of the strobilurin series and their synthetic analogues as cell respiration inhibitors. *Russian Chemical Reviews* **1998**, *67*, 535. [CrossRef]
- Tomlin, C. D. S.; *The pesticide manual: a world compendium*, 11a. ed., Farnham: British Crop Protection Council, 1997.
- Rodrigues, M. A. T.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2005. [Link]
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. D.O.U. 11 de Fevereiro de 2010, 55. [Link]
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. D.O.U. 10 de Agosto de 2009a, 128. [Link]
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. D.O.U. 21 de Janeiro de 2011, 63. [Link]
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. D.O.U. 16 de Outubro de 2012, 90. [Link]
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. D.O.U. 8 de Setembro de 2009b, 50. [Link]
- PSD - Pesticides Safety Directorate, PDS Databases. Disponível em: <http://www.pesticides.gov.uk/Resources/CRD/MigratedResources/Documents/ACP_Anrep_2003.pdf>. Acesso em: 28 fevereiro 2015.
- CODEX ALIMENTARIUS, *Pesticide Residues in Food and Feed*. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/details.html?id=229>>. <<http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/details.html?id=199>>. Acesso em: 28 fevereiro 2015. <<http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/details.html?id=210>>. <<http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/details.html?id=213>>. Acesso em: 20 fevereiro 2015.
- Sanino, A.; Bolzoni, L.; Bandini, M. Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables.

- Journal of Chromatography Part A* **2004**, *1036*, 161. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁸ Abreu, S. M.; Correia, M.; Herbert, P.; Santos, L.; Alves, A. Screening of graes and winw for azoxystrobin, kresoxim-methyl and trifloxystrobin fungicides by HPLC with diode array detection. *Food Additives and Contaminants* **2005**, *22*, 549. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁹ Abreu, S. M.; Caboni, P.; Cabras, P.; Garau, V. L.; Alves, A. Validation and global uncertainty of a liquid chromatographic with diode array detection method for the screening of azoxystrobin, kresoxim - methyl, trifloxystrobin, famocxadone, pyraclostrovin and fenamidone in grapes and wine. *Analytica Chimica Acta* **2006**, *573*, 291. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁰ Fróes, M. B. R.; Santos, L. F. S.; Navickiene, S. Multi-residue determination of pesticides in açai tropical fruit (*Euterpe oleracea*) by matrix solid-phase dispersion combined with liquid chromatography. *Food Analytical Methods* **2013**, *6*, 328. [CrossRef]
- ²¹ Jamin, E. L.; Bonvallot, N.; Tremblay-Franco, M.; Cravedi, J.P.; Chevrier, C.; Cordier, S.; Debrauwer, L. Untargeted profiling of pesticide metabolites by LC-HRMS: an exposomics tool for human exposure evaluation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2014**, *406*, 1149. [CrossRef] [PubMed]
- ²² Zhu, J.; Dai, X. J.; Fang, J. J.; Zhu, H. M. Simultaneous detection and degradation patterns of kresoxim-methyl and trifloxystrobin residues in citrus fruits by HPLC combined with QuEChERS. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* **2013**, *48*, 470. [CrossRef] [PubMed]
- ²³ Liang, P.; Wang, F.; Wan, Q. Ionic liquid-based ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of four fungicides in environmental water samples. *Talanta* **2013**, *105*, 57. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁴ Liang, P.; Liu, G.; Wang, F.; Wang, W. Ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction with solidification of floating organic droplet followed by high performance liquid chromatography for the determination of strobilurin fungicides in fruit juice samples. *Journal of Chromatography B* **2013**, *926*, 62. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁵ Pang, G. F.; Fan, C. L.; Liu, Y. M.; Cao, Y. Z.; Zhang, J. J.; Fu, B. L.; Li, X. M.; Li, Z. Y.; Wu, Y. P. Multi-residue method for the determination of 450 pesticide residues in honey, fruit juice and wine by double-cartridge solid-phase extraction/gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants* **2006**, *23*, 777. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁶ Bempelou, E. D.; Liapis, K. S. Validation of a multi-residue method for the determination of pesticide residues in apples by gas chromatography. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **2006**, *86*, 63. [CrossRef]
- ²⁷ Bo, H. B.; Wang, J. H.; Guo, C. H.; Qin, R.; Lu, X. Y. An Enzyme-linked Immunosorbent Assay for the Detection of Bifenthrin. *Chinese Journal Analytical Chemistry* **2008**, *36*, 1471. [CrossRef]
- ²⁸ Lagunas-Allué, L.; Sanz-Asensio, J.; Martínez-Soria, M.T. Comparison of four extraction methods for the determination of fungicide residues in grapes through gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2012**, *1270*, 62. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁹ Viñas, P.; Campillo, N.; Castillo, N. M.; Córdoba, M. H. Method Development and Validation for Strobilurin Fungicides in Baby Foods by Solid-Phase Microextraction Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2009**, *1216*, 140. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁰ Gonzalez-Rodriguez, R. M.; Cancho-Grande, B.; Simal-Gandara, J. Multiresidue determination of 11 new fungicides in grapes and wines by liquid-liquid extraction/clean-up and programmable temperature vaporization injection with analyte protectants/gas chromatography/ion trap mass spectrometry. *Journal of*

- Chromatography A* **2009**, *1216*, 6033. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³¹ Filho, A. M.; Santos, F. N.; Pereira, P. A. P. Development, validation and application of a methodology based on solid-phase micro extraction followed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (SPME/GC-MS) for the determination of pesticide residues in mangoes. *Talanta* **2010**, *81*, 346. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³² Filho, A. M.; Santos, F. N.; Pereira, P. A. P. Development, validation and application of a method based on DI-SPME and GC-MS for determination of pesticides of different chemical groups in surface and groundwater samples. *Microchemical Journal* **2010**, *96*, 139. [[CrossRef](#)]
- ³³ Campillo, N.; Viñas, P.; Aguinaga, N.; Férrez, G.; Córdoba, M. H. Stir bar sorptive extraction coupled to liquid chromatography for the analysis of strobilurin fungicides in fruit samples. *Journal of Chromatography A* **2010**, *1217*, 4529. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁴ Ni, Y.; Qiu, P.; Kokot, S. Simultaneous determination of three organophosphorus pesticides by differential pulse stripping voltammetry and chemometrics. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *516*, 7. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁵ Ni, Y. Qiu, P. Kokot, S. Simultaneous voltammetric determination of four carbamate pesticides with the use of chemometrics. *Analytica Chimica Acta* **2005**, *537*, 321. [[CrossRef](#)]
- ³⁶ Ibrahim, M. S.; Al-Magboul, K. M.; Kamal, M. M. Voltammetric determination of the insecticide buprofezin in soil and water. *Analytica Chimica Acta* **2001**, *432*, 21. [[CrossRef](#)]
- ³⁷ Pelit, F. O.; Ertas, H.; Ertas, F. N. Development of an adsorptive catalytic stripping voltammetric method for the determination of an endocrine disruptor pesticide chlorpyrifos and its application to the wine samples. *Journal of Applied Electrochemistry* **2011**, *41*, 279. [[CrossRef](#)]
- ³⁸ dos Santos, S. C.; Galli, A.; Felsner, M. L.; Justi, K. C. Desenvolvimento de Metodologia Eletroanalítica para a Determinação do Pesticida Glifosato em Amostras Ambientais. *Revista Virtual Química*. **2014**, *6*, 866. [[CrossRef](#)]
- ³⁹ Oliveira, R. T. S. Quantificação de pesticidas utilizando técnicas eletroanalíticas. *Revista Nucleus* **2004**, *2*, 85. [[Link](#)]
- ⁴⁰ Economou, A.; Fielden, P. R. Selective determination of Ni(II) and Co(II) by flow injection analysis and adsorptive cathodic stripping voltammetry on a wall jet mercury film electrode. *Talanta* **1998**, *46*, 1137. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴¹ Pacheco, W. F.; Doyle, A.; Duarte, D. R. A.; Ferraz, C. S.; Farias, P. A. M.; Aucélio, R. Q. Square-wave adsorptive stripping voltammetry for trace determination of dimoxystrobin and azoxystrobin in potatoes and grapes. *Food Analytical Methods* **2010**, *3*, 205. [[CrossRef](#)]
- ⁴² Fischer, J.; Barek, J.; Yosypchuk, B.; Navrátil, T. Voltammetric determination of trace amounts of 2-methyl-4,6-dinitrophenol at a silver solid amalgam electrode. *Electroanalysis* **2006**, *18*, 127. [[CrossRef](#)]
- ⁴³ Mikkelsen, O.; Schroder, K. H. An oscillating and renewing silver electrode for Cadmium and Lead detection in differential pulse stripping voltammetry. *Electroanalysis* **2001**, *13*, 687. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁴ Wang, J.; Hocevar, S. B.; Deo, R. P.; Ogorevc, B. Carbon-fiber microsensor for *in vivo* monitoring of trace zinc(II) based on electrochemical stripping analysis. *Electrochemistry Communications* **2001**, *3*, 352. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁵ Wang, J.; Lu, J. Bismuth film electrodes for adsorptive stripping voltammetry of trace nickel. *Electrochemistry Communications* **2000**, *2*, 390. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁶ Kadara, R. O.; Tohill, I. E. Stripping chronopotentiometric measurements of lead (II) and cadmium (II) in soils extracts and wastewaters using a bismuth film screen-printed electrode assembly. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2004**, *378*, 770. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁷ Demetriades, D.; Economou, A.; Voulgaropoulos, A. A study of pencil-lead bismuth-film electrodes for the determination of trace metals by anodic

- stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *519*, 167. [CrossRef]
- ⁴⁸ Siringkhwut, W.; Pencharee, S.; Grudpan, K.; Jakmune, J. Sequential injection monosegmented flow voltammetric determination of cadmium and lead using a bismuth film working electrode. *Talanta* **2009**, *79*, 1118. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁹ Nigović, B.; Simunić, B.; Hocevar, S. Voltammetric measurements of aminosalicilate drugs using bismuth film electrode. *Electrochimica Acta* **2009**, *54*, 5678. [CrossRef]
- ⁵⁰ Campestrini, I.; Braga, O. C.; Vieira, I. C.; Spinelli, A. Application of bismuth-film electrode for cathodic electroanalytical determination of sulfadiazine. *Electrochimica Acta* **2010**, *55*, 4970. [CrossRef]
- ⁵¹ Dornellas, R. M.; Franchini, R. A. A.; Aucélio, R. Q. Determination of the fungicide picoxystrobin using anodic stripping voltammetry on a metal film modified glassy carbon electrode. *Electrochimica Acta* **2013**, *97*, 202. [CrossRef]
- ⁵² Dragoe, D.; Spătaru, N.; Kawasaki, R.; Manivannan, A.; Spătaru, T.; Tryk, D. A.; Fujishima, A. Detection of trace levels of Pb²⁺ in tap water at boron-doped diamond electrodes with anodic stripping voltammetry. *Electrochimica Acta* **2006**, *51*, 2437. [CrossRef]
- ⁵³ Terashima, C.; Rao, T. N.; Sarada, B.V.; Kubota, Y.; Fujishima, A. Direct electrochemical oxidation of disulfides at anodically pretreated boron-doped diamond electrodes. *Analytical Chemistry* **2003**, *75*, 1564. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁴ Rabaaoui, N.; Allagui, M. S. Anodic oxidation of salicylic acid on BDD electrode: Variable effects and mechanisms of degradation. *Journal of Hazardous Materials* **2012**, *243*, 187. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁵ Pedrosa, V. A.; Codognoto, L.; Avaca, L. A. Determinação voltamétrica de 4-clorofenol sobre o eletrodo de diamante dopado com boro utilizando a voltametria de onda quadrada. *Química Nova* **2003**, *26*, 844. [CrossRef]
- ⁵⁶ Sartori, E. R.; Medeiros, R. A.; Rocha-Filho, R. C.; Fatibello-Filho, O. Square-wave voltammetric determination of propranolol and atenolol in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode. *Talanta* **2010**, *81*, 1418. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁷ Gumustas, M.; Ozkan, S.A. Electrochemical evaluation and determination of antiretroviral drug fosamprenavir using boron-doped diamond and glassy carbon electrodes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2010**, *397*, 189. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁸ Dornellas, R. M.; Franchini, R. A. A.; da Silva, A. R.; Matos, R. C.; Aucélio, R. Q. Determination of the fungicide kresoxim-methyl in grape juices using square-wave voltammetry and a boron-doped diamond electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2013**, *708*, 46. [CrossRef]
- ⁵⁹ Dornellas, R. M.; Nogueira, D. B.; Aucélio, R. Q. The boron-doped diamond electrode voltammetric method for ultra-trace determination of the fungicide pyraclostrobin and evaluation of its photodegradation and thermal degradation. *Analytical Methods* **2014**, *6*, 944. [CrossRef]
- ⁶⁰ Weinberg, N. L.; Weinberg, H. R. Electrochemical oxidation of organic compounds. *Chemical Reviews* **1968**, *68*, 449. [CrossRef]
- ⁶¹ Howell, J. O.; Gonçalves, J. M.; Amatore, C.; Klasinc, L.; Wightman, R. M.; Kochi, J. K. Electron transfer from aromatic hydrocarbons and their pi-complexes with metals. Comparison of the standard oxidation potentials and vertical ionization potentials. *Journal of the American Chemical Society* **1984**, *106*, 3968. [CrossRef]
- ⁶² Bussy, U.; Ferchaud-Roucher, F.; Tea, I.; Krempf, M.; Silvestre, V.; Boujtita, M. Electrochemical oxidation behavior of Acebutolol and identification of intermediate species by liquid chromatography and mass spectrometry. *Electrochimica Acta* **2012**, *69*, 351. [CrossRef]

- ⁶³ Dornellas, R. M.; *Tese de Doutorado*, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2014.
- ⁶⁴ Garcia, N. A.; Amat-Guerri, F. Photodegradation of hydroxylated *N*-heteroaromatic derivatives in natural-like aquatic environments: A review of kinetic data of pesticide model compounds. *Chemosphere* **2005**, *59*, 1067. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁵ Lagunas-Allué, L.; Martínez-Soria, M. T.; Sanz-Asensio, J.; Salvador, A.; Ferronato, C.; Chovelon, J. M. Degradation intermediates and reaction pathway of pyraclostrobin with TiO₂ photocatalysis. *Applied Catalysis B: Environmental* **2012**, *285*, 115. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁶ Tormin, T. F.; Gimenes, D. T.; Cunha, R. R.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A. Fast and direct determination of butylated hydroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection. *Talanta* **2011**, *85*, 1274. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁷ Tormin, T. F.; Cunha, R. R.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A. Fast simultaneous determination of BHA and TBHQ antioxidants in biodiesel by batch injection analysis using pulsed-amperometric detection. *Talanta* **2012**, *99*, 527. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁸ Pereira, P. F.; Marra, M. C.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M. Fast batch injection analysis system for on-site determination of ethanol in gasohol and fuel ethanol. *Talanta* **2012**, *90*, 99. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁹ da Silva, R. A. B.; Montes, R. H. O.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A. Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection. *Food Chemistry* **2012**, *133*, 200. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁰ Wang, J.; Taha, Z. Batch injection analysis. *Analytical Chemistry* **1991**, *63*, 1053. [[CrossRef](#)]
- ⁷¹ Dornellas, R. M.; Tormin, T. F.; Richter, E. M.; Aucélio, R. Q.; Muñoz, R. A. A. Electrochemical Oxidation of the Fungicide Dimoxystrobin and Its Amperometric Determination by Batch- Injection Analysis. *Analytical Letters* **2014**, *47*, 492. [[CrossRef](#)]
- ⁷² Lima, A. B.; Chaves, S. C.; da Silva, L. M.; Pereira, P. Richter, E. M.; dos Santos, W. T. P. Determinação de nimesulida por análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos. *Química Nova* **2013**, *36*, 1296. [[CrossRef](#)]
- ⁷³ Colombara, R.; Tavares, M. F. M.; Massaro, S. Determinação simultânea de ânions por eletroforese capilar: características e aplicações. *Química Nova* **1997**, *20*, 512. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁴ Tavares, M. F. M. Mecanismos de Separação em Eletroforese Capilar. *Química Nova* **1997**, *20*, 493. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁵ Altria, K. D.; *Capillary Electrophoresis Guidebook. Principles, instrumentation, operation, and applications* In *Methods in Molecular Biology*; Walker, J. M. ed.; Series 52, Humana Press, 1995.
- ⁷⁶ St. Claire, R. L. Capillary Electrophoresis. *Analytical Chemistry* **1996**, *68*, 569R. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁷ de Souza, C. F.; Cunha, A. L. M. C.; Aucélio, R. Q. Determination of picoxystrobin and pyraclostrobin by mekc with on-line analyte concentration. *Chromatographia* **2009**, *70*, 1461. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁸ Wang, K.; Chen, G.; Wu, X.; Shi, J.; Guo, D. Determination of strobilurin fungicide residues in fruits and vegetables by micellar electrokinetic capillary chromatography with sweeping. *Journal of Chromatographic Science* **2014**, *52*, 157. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]