

## Artigo

**Desenvolvimento de Metodologia Eletroanalítica para a Determinação do Pesticida Glifosato em Amostras Ambientais****dos Santos, S. C.;\* Galli, A.; Felsner, M. L.; Justi, K. C.***Rev. Virtual Quim.*, 2014, 6 (4), 866-883. Data de publicação na Web: 12 de junho de 2014<http://www.uff.br/rvq>**Development of an Electroanalytical Methodology for Determination of Pesticide Glyphosate in Environmental Samples**

**Abstract:** This paper describes the development of an electroanalytical methodology using square wave voltammetry (SWV) and hanging mercury drop electrode (HMDE) for determining the pesticide glyphosate in samples of natural waters. The electroactivity of glyphosate on the mercury electrode was obtained by complexation with Cu(II) were evaluated in the study the voltammetric parameters and experimental involved in the electrochemical reduction, such as: concentration of Cu(II), an effect of supporting electrolytes at different pH values and parameters of SWV. The best results were obtained in solution of NaNO<sub>2</sub> the 0,10 mol L<sup>-1</sup>, pH 6,5, concentration of Cu(II) of 2,61 x 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup>, pre-concentration time of 120 sec, using the frequency of application of pulses of potential of 100 sec<sup>-1</sup>, amplitude of pulses of potential of 50 mV and increase of sweep of 6 mV. The complex Cu(II)-glyphosate showed only a reduction peak at - 0,1 V with quasi reversible process controlled by diffusion of the species on the electrode surface. Calibration curves were constructed and the detection limits (LD) and of quantification (LQ) obtained were (22,04 ± 0,42) µg L<sup>-1</sup> and (73,46 ± 1,41) µg L<sup>-1</sup>, respectively. The recovery tests showed values of (100,27 ± 1,96) % in pure water laboratory and (99,12 ± 2,14) % in real sample. Additionally, the methodology was applied for determination of glyphosate in water sample collected in the creek from the Santa Clara, in the municipality of Candói/PR, with a value of (311,02 ± 23,72) µg L<sup>-1</sup> glyphosate present in the sample. The percentage recovery in the investigated samples were above 99%, thus the glyphosate can be quantified in water samples by the proposed method.

**Keywords:** Mercury electrode; square wave voltammetry; the complex Cu(II)-glyphosate.

## Resumo

Este trabalho descreve o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica utilizando voltametria de onda quadrada (SWV) e eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE) para a determinação do pesticida glifosato em amostras de águas naturais. A eletroatividade do glifosato sobre o eletrodo de mercúrio foi obtida por meio da complexação com Cu(II), sendo avaliados no estudo os parâmetros voltamétricos e experimentais envolvidos na redução eletroquímica, tais como: concentração de Cu(II), efeito do eletrólito suporte em diferentes valores de pH e parâmetros da SWV. As melhores respostas foram obtidas em solução de NaNO<sub>2</sub> a 0,10 mol L<sup>-1</sup>, pH 6,5, concentração de Cu(II) de 2,61 x 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> e tempo de pré-concentração de 120 s, utilizando frequência de aplicação de pulsos de potencial de 100 s<sup>-1</sup>, amplitude de pulso de potencial de 50 mV e incremento de varredura de 6 mV. O complexo Cu(II)-glifosato apresentou apenas um pico de redução em -0,1 V com características quase reversíveis e processo controlado pela difusão das espécies na superfície do eletrodo. Foram construídas curvas analíticas e os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) obtidos foram de (22,04 ± 0,42) µg L<sup>-1</sup> e (73,46 ± 1,41) µg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os testes de recuperação apresentaram valores de (100,27 ± 1,96) % em água pura de laboratório e (99,12 ± 2,14) % em amostra de água natural. Adicionalmente, a metodologia desenvolvida foi aplicada para determinação de glifosato em amostras de água coletadas em riacho localizado próximo a uma área de cultivo no município de Candói/PR, apresentando o valor de (311,02 ± 23,72) µg L<sup>-1</sup> de glifosato. Os percentuais de recuperação nas amostras investigadas foram superiores a 99 %, sendo assim, o glifosato pode ser quantificado em amostras de água pelo método proposto.

**Palavras-chave:** Eletrodo de mercúrio, voltametria de onda quadrada, complexo Cu(II)-glifosato.

\* Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, Departamento de Química, Campus CEDETEG, Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03 Vila Carli, CEP 85040-080, Guarapuava-PR, Brasil.

✉ [simonecarlas@yahoo.com.br](mailto:simonecarlas@yahoo.com.br)

DOI: [10.5935/1984-6835.20140053](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20140053)

## Desenvolvimento de Metodologia Eletroanalítica para a Determinação do Pesticida Glifosato em Amostras Ambientais

Simone Carla dos Santos,\* Andressa Galli, Maria Lurdes Felsner, Karin Cristiane Justi

Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, Departamento de Química, Campus CEDETEG, Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03 Vila Carli, CEP 85040-080, Guarapuava-PR, Brasil.

\* [simonecarlas@yahoo.com.br](mailto:simonecarlas@yahoo.com.br)

*Recebido em 2 de junho de 2013. Aceito para publicação em 2 de junho de 2014*

### 1. Introdução

### 2. Experimental

#### 2.1. Equipamentos e Reagentes

#### 2.2. Amostras

#### 2.3. Otimização analítica

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Efeito do eletrólito de suporte

#### 3.2. Estudo da concentração de Cu(II)

#### 3.3. Estudo do comportamento do complexo Cu(II)-glifosato

#### 3.4. Avaliação do tempo de pré-concentração sobre o HMDE

#### 3.5. Otimização dos parâmetros voltamétricos

#### 3.6. Desempenho analítico

#### 3.7. Estudo de interferentes

#### 3.8. Aplicação da metodologia em amostra de águas naturais

### 4. Conclusões

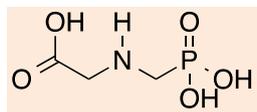
## 1. Introdução

Os pesticidas são utilizados para aumentar o rendimento de diferentes atividades agrícolas sendo responsáveis pelo controle de pragas e de doenças que afetam a produção, o armazenamento, o processamento e o transporte de diversos produtos.<sup>1</sup> Adicionalmente, estes compostos

são arrastados para as águas de rios, lagos e mananciais levando à contaminação de lençóis freáticos e, conseqüentemente, de todo o ecossistema ocasionando desequilíbrios biológicos e ecológicos.<sup>2</sup>

O glifosato, N-(fosfonometil) glicina ( $C_3H_8NO_5P$ ) (Figura 1), pertence ao grupo dos organofosforados,<sup>3</sup> trata-se de um herbicida sistêmico (absorção pela raiz), pós-

emergente (aplicado após a germinação) e não seletivo; muito utilizado para o controle de plantas de folhas largas, em culturas de ameixa, café, cacau, maçã, pera, soja, milho, pastagens, dentre outras.



**Figura 1.** Fórmula estrutural do glifosato

O glifosato atua na inibição da enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintetase (EPSPS), pertencente à rota do ácido chiquímico que está ligado ao metabolismo primário e secundário das plantas, e esta enzima sintetiza os aminoácidos aromáticos: fenilalanina, tirosina e triptofano, os quais são necessários para o crescimento das plantas. Sem essa enzima, as plantas são incapazes de produzir outras proteínas essenciais para o crescimento, ficando amareladas e morrendo após alguns dias ou semanas.<sup>4</sup>

As vias de exposição humana para a intoxicação com o uso do glifosato são: respiratória, digestiva, dérmica e mucosa. Os sintomas causados pela intoxicação em seres humanos são: irritações na pele e nos olhos, edema pulmonar, queda de pressão sanguínea, náuseas e tonturas, perda de líquido gastrointestinal, vômito, desmaios, dor abdominal, alergias, danos no sistema renal e redução dos glóbulos vermelhos no sangue.<sup>5</sup>

Portanto, devido à demanda de consumo deste herbicida, bem como sua toxicidade o desenvolvimento de metodologias analíticas viáveis e de baixo custo torna-se importante e necessária. Vários métodos têm sido utilizados para quantificar o pesticida glifosato, dentre elas pode-se citar a espectrofotometria, eletroforese, cromatografia em fase gasosa, cromatografia em fase líquida de alta eficiência, cromatografia em camada delgada, cromatografia de troca iônica e voltametria.<sup>6</sup> No entanto, a utilização de alguns métodos

citados, dentre eles, os métodos cromatográficos, requerem algumas etapas de preparação da amostra antes destas serem analisadas.

Garcia *et. al.*<sup>7</sup> desenvolveram um procedimento analítico para determinar glifosato em água de superfície utilizando a voltametria cíclica, com pulso diferencial e de redissolução anódica com pulso diferencial utilizando um eletrodo de cobre. Foram realizados estudos com o glifosato em estado normal e com o glifosato já derivatizado. Os limites de detecção e de quantificação obtidos para o glifosato foram de 59  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 196  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente e para o glifosato já derivatizado o limite de detecção foi de 41  $\mu\text{g L}^{-1}$  e o limite de quantificação foi de 136  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Teófilo *et. al.*<sup>3</sup> desenvolveram uma metodologia para determinar glifosato em água, solo e vegetais, utilizando voltametria de onda quadrada (SWV) e voltametria de pulso diferencial (DPV) e o limite de detecção encontrado para a SWV foi de 1,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  e o limite de quantificação foi de 60  $\mu\text{g L}^{-1}$ , já para a DPV os limites de detecção e quantificação foram de 22,0 e 53,8  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Coutinho e Mazo<sup>4</sup> estudaram a complexação, em solução aquosa, entre glifosato e o íon Cu(II) por meio de técnicas eletroanalítica e espectroscópicas. Foi desenvolvida também uma metodologia eletroanalítica de glifosato em amostras ambientais e/ou alimentos utilizando detecção coulométrica com (micro) eletrodo de cobre aliada a cromatografia líquida. Na aplicação de cromatografia de interação hidrofílica com detecção coulométrica para a determinação de glifosato em suco de frutas o limite de detecção encontrado foi de 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  e o limite de quantificação foi de 330  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Para a determinação de glifosato em água, utilizando cromatografia por troca aniônica aliada a detecção coulométrica com eletrodo de cobre o limite de detecção encontrado para o glifosato foi de 38  $\mu\text{g L}^{-1}$  e o limite de quantificação foi de 129  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A fim de melhorar este limite de detecção foi estudada uma pré-concentração de amostras de água, por meio de cartuchos de extração em fase sólida (SPE) contendo fase

estacionária em troca iônica forte (SAX) tendo como um novo limite de detecção o valor de  $1,9 \mu\text{g L}^{-1}$  e limite de quantificação de  $6,3 \mu\text{g L}^{-1}$ . Foi desenvolvido e validado também um método para analisar glifosato em amostras de soja utilizando cromatografia de interação hidrofílica aliada à detecção coulométrica com eletrodo de cobre encontrando um limite de detecção de  $53,4 \mu\text{g L}^{-1}$  e limite de quantificação de  $177 \mu\text{g L}^{-1}$ .

As técnicas eletroanalíticas que compreendem um conjunto de técnicas voltamétricas de análise surgem como alternativa para a detecção e quantificação de poluentes ambientais, justificando-se por algumas vantagens como menor custo e, processo mais rápido, sendo que a principal vantagem é a possibilidade de realizar uma análise direta da amostra, sem uma etapa preliminar de separação ou de pré-tratamento.<sup>8,9</sup>

Este fato serve de incentivo para o desenvolvimento de uma metodologia adequada para este fim. Contudo, o herbicida glifosato não apresenta resposta eletroquímica, ou seja, é inativo voltametricamente,<sup>10</sup> uma vez que não apresenta grupos químicos que possam ser reduzidos ou oxidados. Desta forma, uma alternativa é coordenar grupos funcionais do glifosato (amino, carboxilato e fosfonato) com íons metálicos, em especial com os de transição,<sup>10</sup> em pH próximo de neutro, onde ambos os grupos carboxilato e fosfonato estarão desprotonados. Sendo assim, ele pode ser detectado na forma de um complexo metálico, como por exemplo, o complexo Cu(II)-glifosato, onde ocorre a redução eletroquímica do metal.<sup>4</sup> Numerosos metais são solúveis em mercúrio,<sup>10</sup> portanto o uso do eletrodo de mercúrio possui algumas vantagens, pois sua superfície se renova a cada medida realizada, ou seja, a cada medida uma nova gota é formada não havendo acúmulo de matérias eletrodepositadas ou adsorvidas em sua superfície. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia eletroanalítica utilizando a voltametria de

onda quadrada (SWV) aliada ao eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE) para a determinação do pesticida glifosato em amostras de água naturais, através da complexação com o metal Cu(II).

## 2. Experimental

### 2.1. Equipamentos e reagentes

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato voltamétrico 757 VA Computrace operando com um eletrodo de mercúrio de gota pendente (do inglês *hanging mercury drop electrode* - HMDE) como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência Ag|AgCl em KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup> e como eletrodo auxiliar, um fio de platina. O mercúrio utilizado era de grande pureza e após as medidas serem realizadas ele era coletado e armazenado em um recipiente próprio para devido descarte. Utilizou-se uma célula de vidro com uma tampa em Teflon® contendo orifícios para o encaixe do eletrodo de trabalho, eletrodo de referência, eletrodo auxiliar, entrada de N<sub>2</sub> e agitador. Os reagentes utilizados para o desenvolvimento da metodologia foram: solução estoque de glifosato 99,2% (Sigma-Aldrich) a  $5,91 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , nitrito de sódio (Biotec) a  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , nitrato de sódio (Synth) a  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , tampão fosfato (Vetec) a  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , Cu(II) (Biotec) a  $7,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , ácido húmico (Sigma-Aldrich) a  $7,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Para o ajuste de pH foram utilizadas soluções de ácido nítrico (Synth) e hidróxido de sódio (Biotec) a  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  e pHmetro modelo pHs – 3B, Labmeter, equipado com eletrodo de vidro combinado com Ag|AgCl|KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>. Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultra pura, obtida em um sistema de purificação milli-Q, modelo *Human UP 900, Gen Pure*. Todos os reagentes químicos utilizados eram de grau analítico.

## 2.2. Amostras

As amostras de água naturais foram coletadas em áreas da margem de um lago situado no campus CEDETEG, da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, localizado na cidade de Guarapuava – PR e as margens do riacho Santa Clara, pertencente à Fazenda Santa Clara do município de Cândói – PR. As amostras foram coletadas em frascos de polietileno previamente descontaminados com solução de HNO<sub>3</sub> 10% v/v, enxaguados com água ultra pura, e então, ambientalizados com a amostra de água a ser analisada. Antes de proceder à análise, as amostras foram filtradas com membrana de celulose 0,45 µm, utilizando-se uma bomba de vácuo e as medidas eletroquímicas foram realizadas diretamente nas amostras coletadas e imediatamente após a coleta. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas e mantidas sob refrigeração, a uma temperatura de 4°C por um prazo máximo de dois dias para a realização dos experimentos. As medidas foram realizadas diretamente nas amostras sem a necessidade de diluição.

## 2.3. Otimização analítica

Os voltamogramas foram registrados em um intervalo de potencial 0,105 a -0,4 V em relação ao eletrodo de referência Ag|AgCl em KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup> e em todas as determinações as soluções foram purgadas com gás N<sub>2</sub> por 8 minutos, para que todo o oxigênio presente fosse eliminado. Utilizou-se a técnica de voltametria cíclica com velocidade de varredura no intervalo de 15 a 500 mV s<sup>-1</sup>, a fim de verificar a reversibilidade do sistema.

A técnica de voltametria de onda quadrada (do inglês *square wave voltametry* - SWV) foi utilizada para o desenvolvimento da metodologia e para quantificação do herbicida. Inicialmente foi realizado estudo para definir qual eletrólito suporte fornece melhor resposta eletroquímica para a

redução do pico do complexo Cu(II)-glifosato e, posteriormente, foi realizado um estudo da melhor concentração de Cu(II) a fim de promover a complexação com o glifosato. Escolhido o melhor eletrólito de suporte com seu respectivo pH e a melhor concentração de Cu(II) foi utilizada a técnica de voltametria cíclica, a fim de verificar e reversibilidade do sistema por meio do estudo de variação da velocidade de varredura. Após definidas as etapas anteriores foi realizado um estudo univariado para a otimização dos parâmetros voltamétricos da SWV com variação da frequência de aplicação dos pulsos de potencial ( $f$ ), do incremento de varredura ( $\Delta E_s$ ), da amplitude dos pulsos ( $a$ ) e do tempo de deposição ( $t_d$ ). Estabelecidas as melhores condições para a determinação eletroanalítica do glifosato, foram construídas curvas analíticas pelo método de adição de padrão e determinados os limites de detecção ( $LD = 3 \times S_B/B$ ) e quantificação ( $LQ = 10 \times S_B/B$ ), onde o valor de  $S_B$  foi determinado através de um estudo de dez medidas do branco. Também foi realizado em estudo de validação, onde foram analisados: linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), exatidão, repetitividade e precisão intermediária do método. Todos os estudos foram realizados em triplicada.

## 3. Resultados e Discussão

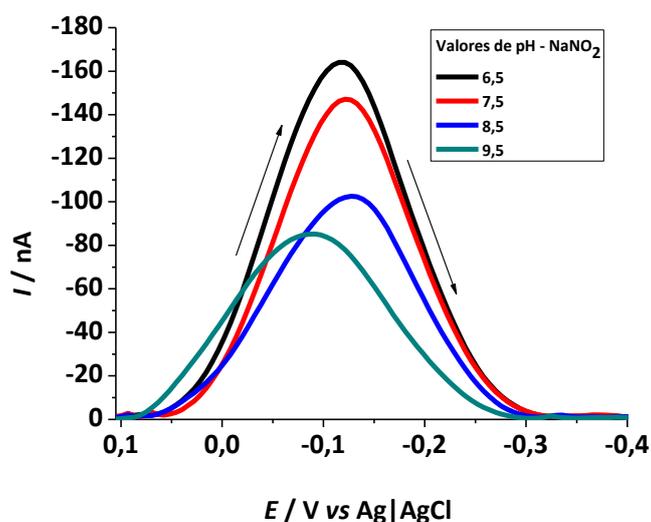
O glifosato foi complexado com o metal Cu(II) para obtenção de resposta eletroativa, sendo que a intensidade de corrente de pico para o Cu(II) ocorreu em potencial de 0,01 V e para o complexo Cu(II)-glifosato foi observada em potencial de -0,1 V.

### 3.1. Efeito do eletrólito de suporte

Inicialmente foi investigado o efeito de diferentes eletrólitos de suporte na formação do complexo Cu(II)-glifosato. Na presença do tampão fosfato 0,10 mol L<sup>-1</sup>, nos valores de

pH 6,0, 7,0 e 8,0 não houve resposta analítica para formação do complexo Cu(II)-glifosato nessas condições, devido a ausência de intensidade de sinal eletroquímico. Para o eletrólito  $\text{NaNO}_3$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , nos valores de pH 6,0, 7,0 e 8,0, houve a presença do complexo Cu(II)-glifosato, contudo, a resposta ficou comprometida, apresentando baixa resolução para a intensidade de corrente de pico do complexo formado. Já

para a investigação utilizando o eletrólito  $\text{NaNO}_2$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , nos valores de pH 6,5, 7,5, 8,5, 9,5, observou-se a formação do complexo Cu(II)-glifosato, apresentando resposta bem definida. Na Figura 2 observam-se os melhores resultados de intensidade de corrente de pico relacionado com os de valores de pH do eletrólito  $\text{NaNO}_2$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , onde se verifica que a melhor resposta eletroquímica foi obtida em pH 6,5.

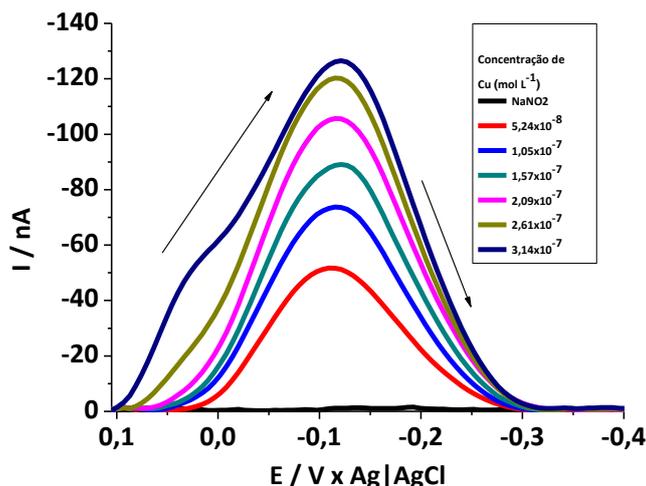


**Figura 2.** Voltamogramas obtidos por SWV em diferentes valores de pH em meio de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ),  $\text{Cu(II)}$  ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ) e glifosato ( $2,93 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ) onde, — pH 6,5, — pH 7,5, — pH 8,5, — pH 9,5, com  $t_d = 120\text{s}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$ ,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$  e  $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$

### 3.2. Estudo da concentração de Cu(II)

Adicionalmente, foi investigada a melhor concentração de Cu(II) na formação do complexo Cu(II)-glifosato em meio de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 6,5 e glifosato ( $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ). Observa-se que na Figura 3, a adição de Cu(II) na concentração de ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ) proporcionou uma intensidade de

corrente de pico maior, apresentando boa resolução na formação do complexo Cu(II)-glifosato. Em contrapartida, para concentrações maiores a resposta ficou comprometida, uma vez que houve excesso na concentração de Cu(II) ocasionando uma sobreposição dos picos (Cu(II) e complexo Cu(II)-glifosato). Assim, a concentração de Cu(II) escolhida para o desenvolvimento da metodologia foi de  $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ .

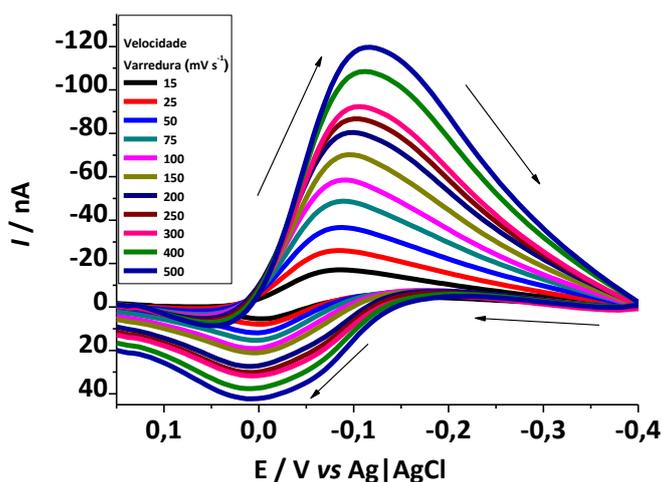


**Figura 3.** Voltamogramas obtidos por SWV para diferentes concentrações de Cu em meio de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 6,5 e glifosato ( $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ). Foram realizadas adições consecutivas de Cu(II) em concentrações: (a) — Cu ( $5,24 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu ( $1,05 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu ( $1,57 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu ( $2,09 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ) e — Cu ( $3,14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), com  $t_d = 120 \text{ s}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$ ,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$  e  $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$

### 3.3. Estudo do comportamento do complexo Cu(II)-glifosato

A voltametria cíclica foi utilizada no estudo do comportamento eletroquímico do complexo Cu(II)-glifosato, a fim de avaliar o

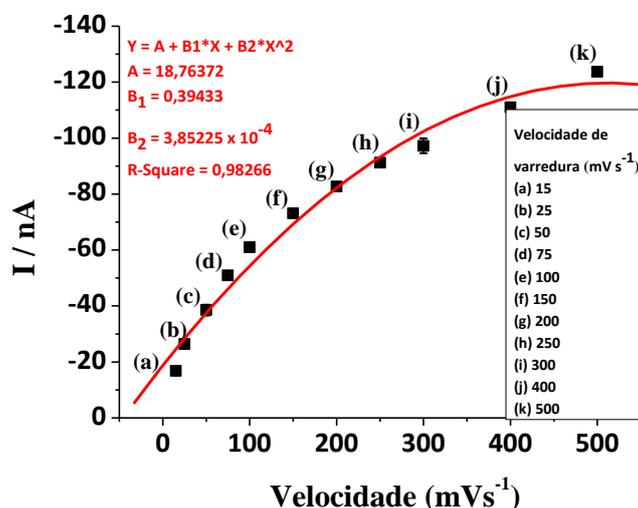
grau de reversibilidade da reação de redução do complexo. Os voltamogramas cíclicos do complexo Cu(II)-glifosato em função da velocidade de varredura são observados na Figura 4. O complexo apresentou um único pico de redução com características de processo quase-reversível.



**Figura 4.** Voltamogramas cíclicos do complexo Cu(II)-glifosato utilizando HMDE, em meio de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 6,5, Cu(II) ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ) e glifosato ( $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ), onde: —  $15 \text{ mV s}^{-1}$ , —  $25 \text{ mV s}^{-1}$ , —  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , —  $75 \text{ mV s}^{-1}$ , —  $100 \text{ mV s}^{-1}$ , —  $150 \text{ mV s}^{-1}$ , —  $200 \text{ mV s}^{-1}$ , —  $250 \text{ mV s}^{-1}$ , —  $300 \text{ mV s}^{-1}$ , —  $400 \text{ mV s}^{-1}$ , —  $500 \text{ mV s}^{-1}$

A intensidade de corrente de pico não varia linearmente com a velocidade de varredura (Figura 5), no intervalo de 15 a 500  $\text{mV s}^{-1}$ . Este comportamento é um indicativo

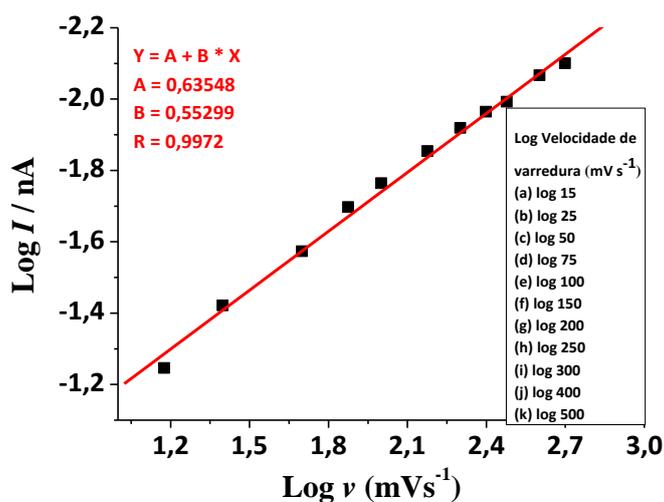
de que o processo é controlado pela difusão e não pela adsorção das espécies à superfície do eletrodo.<sup>1</sup>



**Figura 5.** Dependência da intensidade de corrente de pico em função velocidade de varredura (15, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400 e 500  $\text{mV s}^{-1}$ ) para o complexo Cu(II)-glifosato utilizando HMDE

Adicionalmente, o gráfico de logaritmo da intensidade de corrente em função do logaritmo da velocidade de varredura (Figura 6) apresentou comportamento linear com

inclinação de 0,55. Este valor está próximo do previsto pela literatura (0,5) para sistemas controlados pela difusão das espécies.<sup>11</sup>

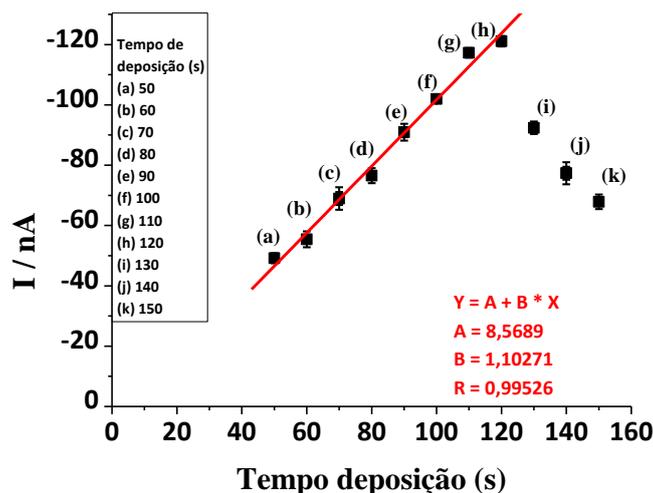


**Figura 6.** Dependência do logaritmo da intensidade da corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura para o complexo Cu(II)-glifosato

### 3.4. Avaliação do tempo de pré-concentração sobre o HMDE

O estudo de tempo de pré-concentração do complexo Cu(II)-glifosato na superfície do HMDE foi investigado em meio de NaNO<sub>2</sub> (0,10 mol L<sup>-1</sup>), pH 6,5, concentração de Cu(II) de 2,61 x 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> e de glifosato de 2,35 x

10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> e a curva linearizada está representada na Figura 7. Pode-se observar que para tempos acima de 120 s houve decréscimo nos valores de corrente de pico, indicando possivelmente a saturação da gota de mercúrio. Dessa forma, o tempo escolhido para o desenvolvimento da metodologia analítica foi o de 120 s.



**Figura 7.** Curva linearizada (em triplicata) apresentando os valores da intensidade de corrente de pico do complexo Cu(II)-glifosato obtido por SWV em HMDE em função do tempo de deposição com,  $\alpha = 50$  mV,  $f = 100$  s<sup>-1</sup>,  $\Delta E_s = 6$  mV e  $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9$  V

### 3.5. Otimização dos parâmetros voltamétricos

Todos os parâmetros voltamétricos foram otimizados a fim de se obter o melhor sinal analítico, em termos de potencial de corrente de pico ( $I_p$ ), bem como potencial de pico ( $E_p$ ). Os parâmetros da técnica de SWV,  $\alpha$ ,  $\Delta E_s$  e  $f$  foram estudados de modo univariado. O estudo da frequência de aplicação de pulsos de potencial foi avaliado no intervalo de 30 a 140 s<sup>-1</sup> e os resultados mostraram que o aumento da  $f$  foi acompanhado pelo aumento da  $I_p$  até 100 s<sup>-1</sup> (Figura 8a). Adicionalmente, uma relação linear entre a  $I_p$  e  $f^{1/2}$  foi observada (Figura 8b), indicando que o processo de redução do complexo sobre o HMDE é controlado por transporte de massa, envolvendo difusão da espécie eletroativa à superfície do eletrodo.<sup>1</sup> Este fato confirma o que foi observado nos estudos do processo

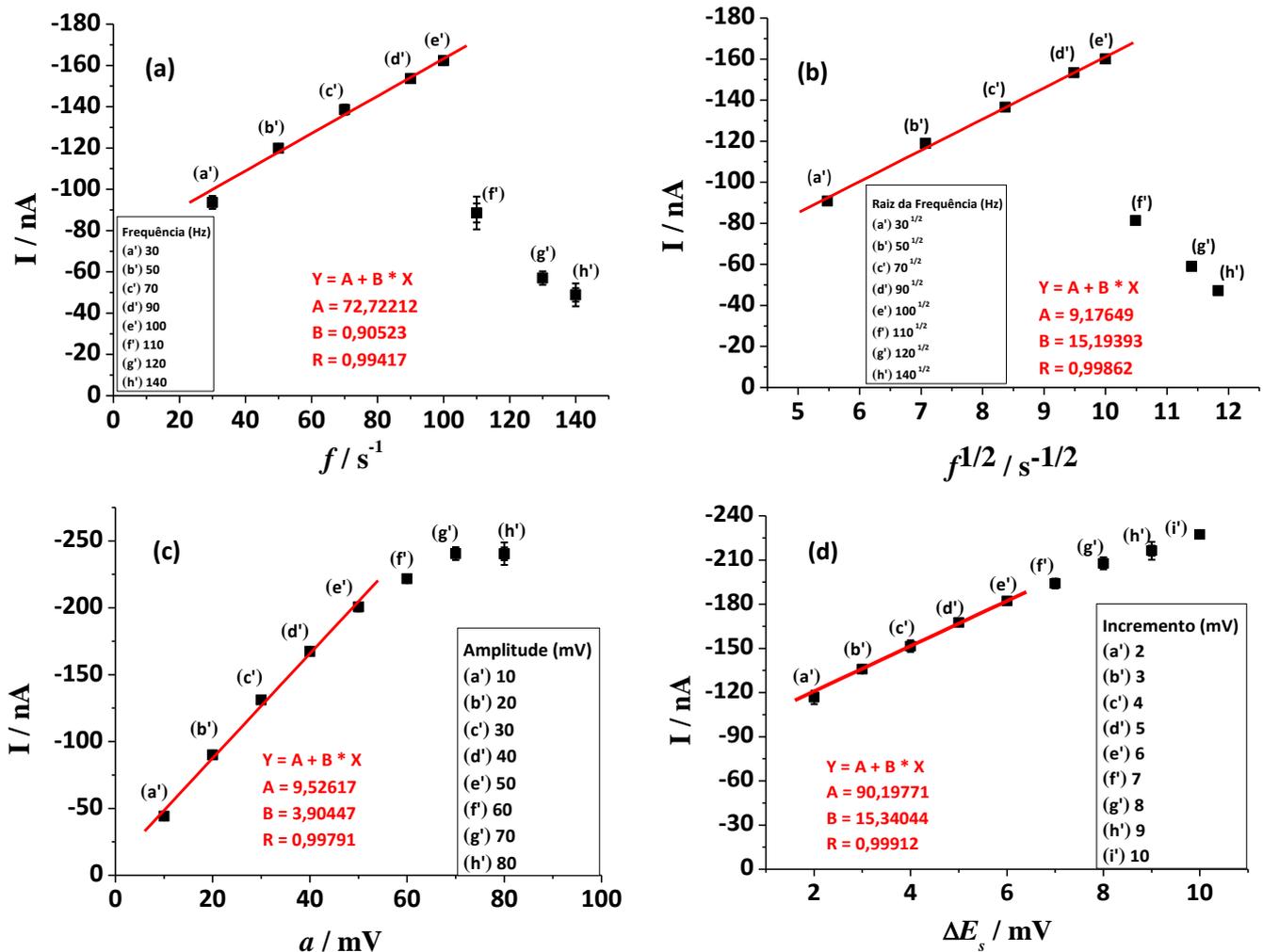
redox do complexo Cu(II)-glifosato, utilizando a voltametria cíclica.

A influência da  $\alpha$  na intensidade da  $I_p$  foi avaliada para o intervalo de 10 a 80 mV (Figura 8c). Observa-se que para valores de amplitude até 50 mV o aumento da intensidade de corrente é linear, contudo, amplitudes maiores parecem não atuar de modo significativo na sensibilidade do método. Em função disto optou-se em trabalhar com amplitude da onda quadrada de 50 mV. Em relação aos potenciais de pico, não houve mudanças significativas como é previsto para sistemas reversíveis e/ou quase-reversíveis.<sup>12</sup>

O incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ) foi investigado na faixa de 2 a 10 mV. Um incremento de varredura maior pode aumentar o sinal obtido melhorando a sensibilidade do método, entretanto, incrementos maiores podem causar

alargamentos nos picos comprometendo a resolução do voltamograma.<sup>1,13</sup> Observa-se na Figura 8d que com o aumento do incremento de varredura ocorre um aumento na intensidade de corrente. Nota-se que para incrementos maiores de 6 mV a intensidade de corrente não sofre aumento muito

significativo para propósitos analíticos pois a redução passa a ser rápida demais em comparação com a difusão, o que explica a queda do sinal. Desta forma, optou-se em trabalhar com incremento de varredura de 6 mV.



**Figura 8.** Em (a) dependência da corrente de pico com a frequência para o complexo Cu(II)-glifosato obtido por SWV, em (b) dependência da corrente de pico com a raiz quadrada da frequência para o complexo Cu(II)-glifosato sobre HMDE, em (c) voltamogramas do complexo Cu(II)-glifosato, obtido por SWV em HMDE com diferentes valores de amplitude de pulso de potencial e em (d) diferentes valores de incrementos de varredura

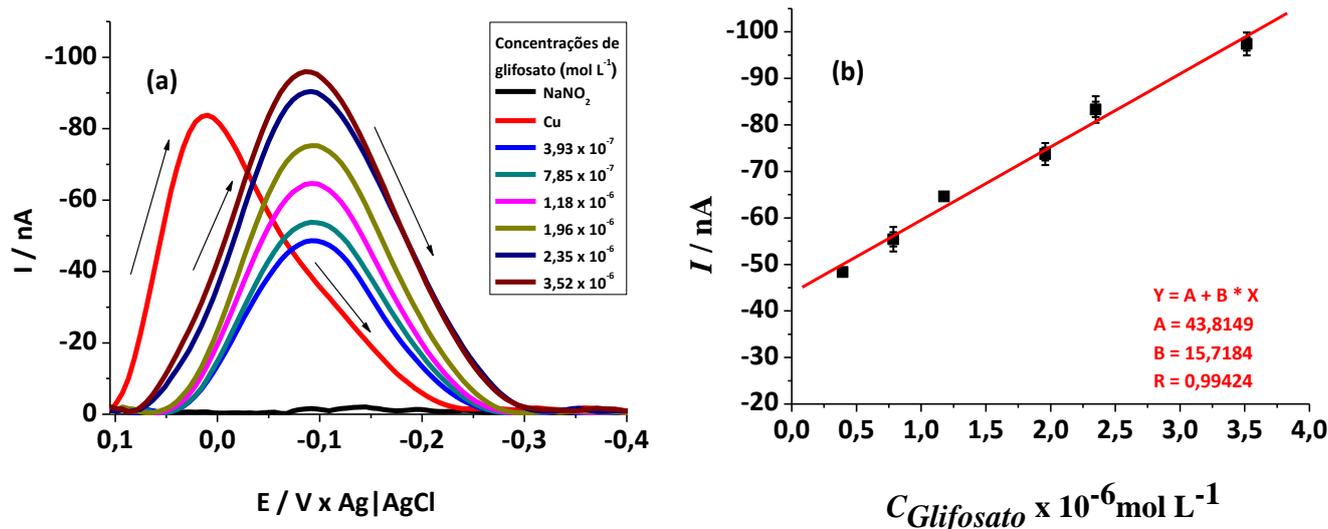
### 3.6 Desempenho analítico

Estabelecidas as melhores condições para a determinação do pico de redução do complexo Cu(II)-glifosato:

$f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ , foi construída a curva analítica de trabalho pelo método de adição padrão, utilizando a voltametria de onda quadrada.

A curva de trabalho foi construída pela adição de glifosato padrão ao eletrólito  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 6,5, solução de  $\text{Cu(II)}$  ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ) e, os voltamogramas de onda quadrada obtidos, para a faixa de concentração de glifosato de  $3,93 \times 10^{-7}$  a  $3,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , são apresentados na Figura 9a. Observa-se que a corrente de pico aumenta proporcionalmente com o aumento

da concentração e que não ocorre deslocamento de potencial de pico. Neste intervalo obteve-se uma sensibilidade de  $15,718 \text{ A / mol L}^{-1}$  e coeficiente de correlação de 0,994 para valores médios de intensidade de corrente obtidos (Figura 9b). Estes resultados indicam que existe linearidade na faixa de concentrações estudada.



**Figura 9.** Em (a) Voltamogramas de onda quadrada para o complexo  $\text{Cu(II)}$ -glifosato em diferentes concentrações em meio de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 6,5,  $\text{Cu(II)}$  ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ). Adições de concentrações de glifosato:  $3,93 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $7,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $1,18 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $2,35 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $3,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , com  $t_d = 120 \text{ s}$ ,  $\alpha = 50 \text{ mV}$ ,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$  e  $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$  e, em (b), dependência da corrente de pico com a concentração para o complexo  $\text{Cu(II)}$ -glifosato

A Tabela 1 mostra os limites de detecção ( $\text{LD} = 3.S_B/B$ ) e os limites de quantificação ( $\text{LQ} = 10.S_B/B$ ) obtidos com seus respectivos

valores de desvio-padrão. Foi realizado um estudo de dez medidas do branco onde foi obtido um desvio,  $S_B$ , de 0,68 nA.

**Tabela 1.** Limites de Detecção e Quantificação obtidos pelo método de adição padrão para determinação de glifosato.

|           | $\text{Mol L}^{-1}$          | $\mu\text{g L}^{-1}$ |
|-----------|------------------------------|----------------------|
| <b>LD</b> | $1,30 + 0,02 \times 10^{-7}$ | $22,04 \pm 0,42$     |
| <b>LQ</b> | $4,38 + 0,05 \times 10^{-7}$ | $73,46 \pm 1,41$     |

Estudos de repetitividade e da precisão intermediária foram realizados para avaliar a precisão da metodologia proposta através de seis medidas ( $n=6$ ) e do coeficiente de

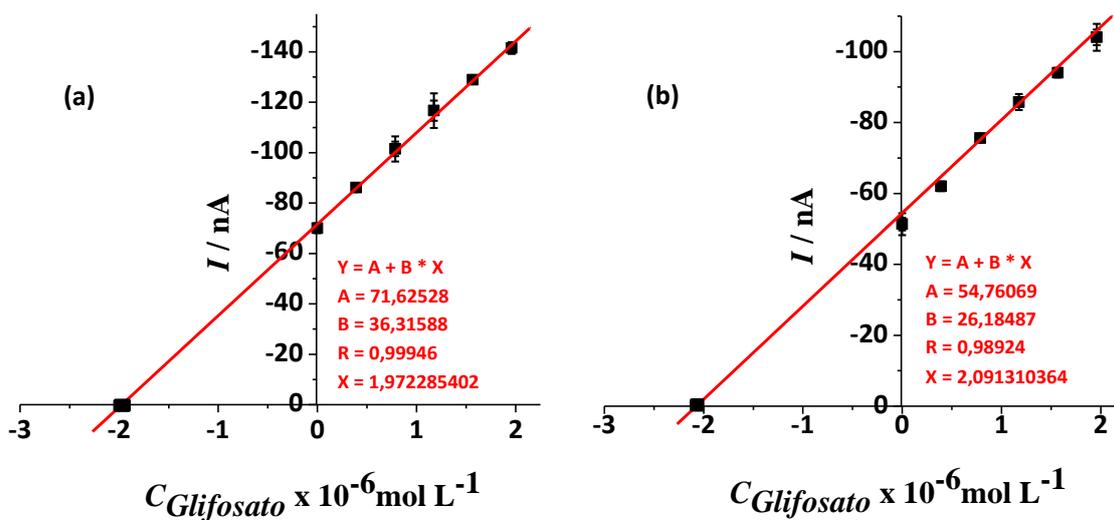
variação ou desvio padrão relativo:  $\text{RSD}(\%)$  ou  $\text{CV}(\%) = S/X \times 100$ .

Os estudos realizados para avaliar a precisão da metodologia foram realizados com concentrações de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 6,5,  $\text{Cu(II)}$  ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ) e glifosato ( $3,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ). A repetitividade foi determinada nas mesmas condições experimentais e no mesmo dia onde, o CV foi de 1,52 % para valores de corrente de pico ( $I_p$ ). Já as medidas de precisão intermediária foram realizadas em dias diferentes onde, o CV foi de 2,16 %. Estes resultados são considerados ótimos, pois, os coeficientes de variação em função do nível de concentração de pesticida presente nas amostras nesta concentração podem variar em até 16 %.<sup>14</sup>

Estudos de recuperação foram realizados para avaliar a exatidão do método proposto para quantificação de glifosato em amostras de água. Para as medidas de recuperação de

glifosato em água ultra pura foi utilizada uma solução de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) em pH 6,5 e fortificada com  $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de glifosato. A Figura 10a mostra a curva de recuperação da amostra de água contaminada artificialmente com adições de padrão de glifosato.

Também foi realizado ensaio de recuperação de glifosato em amostra de água natural, que foi coletada no lago da Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO, no campus CEDETEG, na cidade de Guarapuava – PR. A amostra foi utilizada no preparo do eletrólito  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) em pH 6,5 e fortificada com  $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de glifosato. A figura 10b mostra a curva de adição de analito glifosato em amostra de água contaminada artificialmente.



**Figura 10.** Em (a) Curva de adição do analito glifosato em água ultra pura e em (b) curva de adição do analito glifosato em água do lago ambas obtidas por SWV

Na Tabela 2 encontram-se os dados obtidos no estudo de recuperação de glifosato em água ultra pura e água de lago sobre SWV em HMDE. A porcentagem de recuperação obtida está dentro da faixa considerada ótima para aplicações analíticas (80 a 110 %).<sup>15</sup>

De acordo com os resultados obtidos, a metodologia desenvolvida possibilitou realizar testes de recuperação em amostras de águas naturais sem a necessidade de um tratamento ou separação da amostra, obtendo porcentagens de recuperação superiores a 99 %.

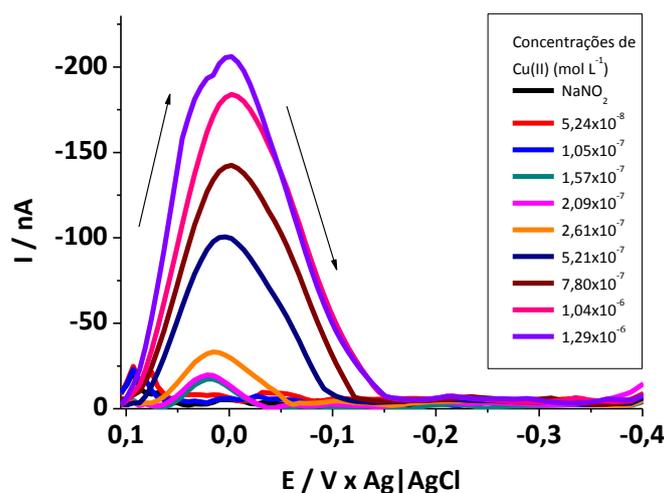
**Tabela 2.** Ensaio de recuperação do glifosato em água ultra pura e água de lago por SWV em HMDE

| Amostra         | $C_{\text{glifosato}} \text{ adicionado (mol L}^{-1}\text{)}$ | $C_{\text{glifosato}} \text{ recuperado (mol L}^{-1}\text{)}$ | % recuperada      |
|-----------------|---|---|-------------------|
| Água ultra pura | $1,96 \times 10^{-6}$   | $1,96 + 0,04 \times 10^{-6}$                                  | $100,27 \pm 1,96$ |
| Água de lago    | $1,96 \times 10^{-6}$   | $1,94 + 0,04 \times 10^{-6}$                                  | $99,12 \pm 2,14$  |

### 3.7. Estudo de interferente

Após a otimização analítica e ensaios de recuperação de glifosato em amostras de água, foram realizados estudos para avaliar uma possível interferência da matéria orgânica na análise, visto que pode ocorrer complexação do Cu(II). Inicialmente, preparou-se uma solução de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em pH 6,5) com a água do lago, sendo

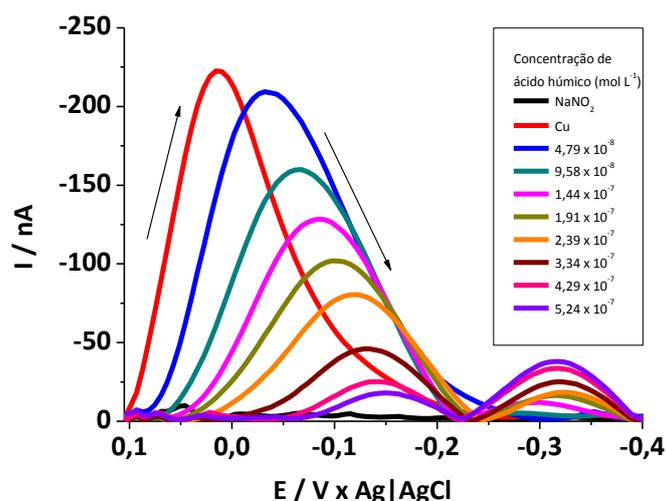
que foram adicionados 15 mL desta solução na cela eletroquímica e, posteriormente, alíquotas de Cu(II), de acordo com a Figura 11. Neste estudo pode ser observado que a intensidade de corrente de pico do Cu(II) surge a partir de uma concentração de  $1,57 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ . Assim, sugere-se que, a partir desta concentração toda a matéria orgânica foi consumida pelo Cu(II) e o metal fique em excesso na solução, podendo ser determinado por SWV.



**Figura 11.** Voltamogramas de onda quadrada para o complexo de Cu(II) com a matéria orgânica presente na água do lago em meio de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 6,5 e diferentes concentrações de Cu(II) onde: — Cu(II) ( $5,24 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu(II) ( $1,05 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu(II) ( $1,57 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu(II) ( $2,09 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu(II) ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu(II) ( $5,21 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu(II) ( $7,80 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), — Cu(II) ( $1,04 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ) e — Cu(II) ( $1,29 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ), com  $t_d = 120 \text{ s}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$ ,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$  e  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$

Para investigar a formação do complexo de Cu(II) com a matéria orgânica presente nas amostras de água, foi realizada a análise com ácido húmico (AH) para verificar a influência no sinal analítico tanto para o Cu(II) como para o complexo Cu(II)-glifosato.

A análise do interferente no sinal analítico do Cu(II) foi realizada com 15 mL de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com pH 6,5), 50  $\mu\text{L}$  de Cu(II) ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), variando-se a concentração AH como mostra a Figura 12.



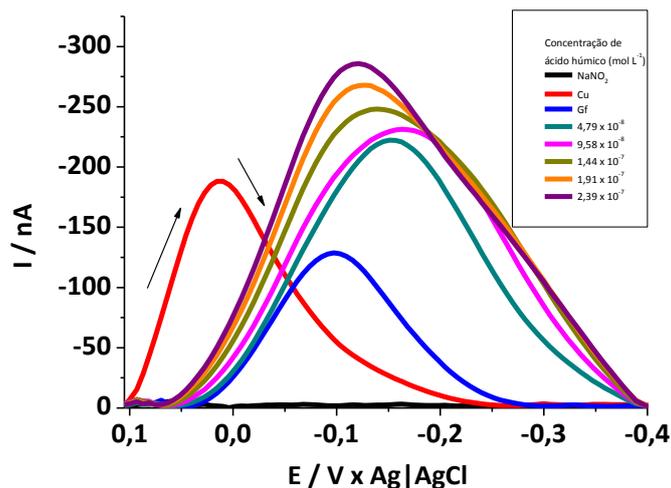
**Figura 12.** Voltamogramas de onda quadrada para o complexo de Cu(II) com o AH em meio de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 6,5,  $\text{Cu(II)}$  ( $5,21 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ), onde a concentração de AH variou de:  $4,79 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $9,58 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $1,44 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $1,91 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $2,39 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $3,34 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $4,29 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $5,24 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , com  $t_d = 120 \text{ s}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$ ,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$  e  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$

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

A influência do AH no sinal analítico do complexo Cu(II)-glifosato foi realizada com 15 mL de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 6,5, 50  $\mu\text{L}$  de

Cu(II) ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ) e uma adição de  $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de glifosato e variou-se a quantidade de AH de acordo com a Figura 13.

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

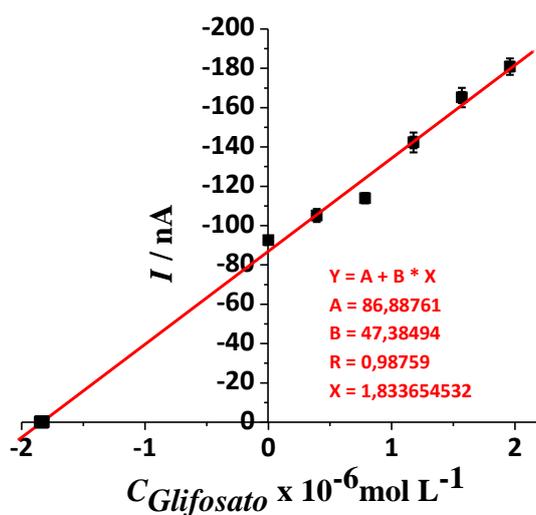


**Figura 13.** Voltamograma de onda quadrada para o complexo de Cu(II)-glifosato com adições de AH em meio de  $\text{NaNO}_2$  ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 6,5,  $\text{Cu(II)}$  ( $2,61 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $\text{glifosato}$  ( $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ). Concentração de AH:  $4,79 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $9,58 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $1,44 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $1,91 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $2,39 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , com  $t_d = 120 \text{ s}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$ ,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$  e  $E_{\text{pré-concentração}} = -0,9 \text{ V}$

### 3.8. Aplicação da metodologia em amostra de água natural.

A amostra de água para a realização das medidas de quantificação de glifosato foi coletada em um riacho próximo a uma área de cultivo no município de Candói – PR. A concentração de glifosato encontrada na amostra de água do riacho foi de  $1,84 \pm 0,14$

$\times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  (Figura 14), equivalente a  $(311,02 \pm 23,72) \mu\text{g L}^{-1}$ . O resultado está dentro do limite permitido pelo Ministério da Saúde por meio da Portaria 518 de 25 de Março de 2004,<sup>16</sup> onde regulamenta que o valor máximo permitido (VMP) de resíduo do herbicida glifosato em água é de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , visando estabelecer a qualidade da água para o consumo humano e o seu padrão de potabilidade.



**Figura 14.** Curva de recuperação aparente para a quantificação do glifosato na amostra de água do riacho

## 4. Conclusões

Como o glifosato não apresenta características eletroativas frente ao eletrodo de gota pendente de mercúrio, o potencial deste pesticida foi determinado por meio da complexação com o metal Cu(II), eliminando, assim, etapas de derivatização, as quais aumentam o tempo das análises. A metodologia desenvolvida para quantificação de glifosato em amostras de águas utilizando voltametria de onda quadrada mostrou-se eficiente, rápida e de baixo custo, particularmente em relação às técnicas cromatográficas. Os ensaios de recuperação apresentaram bons resultados para quantificação de glifosato em água pura de laboratório, bem como em amostras de água naturais, com percentuais superiores a 99 %. Assim, pode-se afirmar que a metodologia eletroanalítica proposta mostrou-se eficiente e acessível para a determinação do pesticida glifosato.

### Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> 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]
- <sup>2</sup> Souza, A. P.; Prates, H. T.; Ferreira, F. A.; Reis, E. L.; Jordão, C. P. Lixiviação do glyphosate e do imazapyr em solos com diferentes texturas e composição química. II. método analítico. *Planta Daninha* **1999**, *17*, 245. [CrossRef]
- <sup>3</sup> Teófilo, R. F.; Da Silva, G. A.; Reis, E. L.; Reis, C.; Paiva, J. F. S.; Kubota, L. T. Glyphosate Determination in Soil, Water and Vegetables Using DPV Optimized by Response Surface Methodology. *Portugaliae Electrochimica Acta* **2008**, *26*, 325. [CrossRef]
- <sup>4</sup> Coutinho, C. F. B. and Mazo, L. H.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2008. [Link]
- <sup>5</sup> Garcia, A. F.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual de Maringá, Brasil, 2006. [Link]
- <sup>6</sup> Queiroz, G. M. P.; Silva, M. R.; Bianco, R. J. F.; Pinheiro, A.; Kaufmann, V. Transporte de glifosato pelo escoamento superficial e por lixiviação em um solo agrícola. *Química Nova* **2011**, *34*, 190. [CrossRef]
- <sup>7</sup> Garcia, A. F. and Rollemberg, M. C. Determinação voltamétrica do herbicida glifosato em águas naturais utilizando eletrodo de cobre. *Química Nova* **2007**, *30*, 1592. [CrossRef]
- <sup>8</sup> Galli, A.; de Souza, D.; Garbellini, G. S.; Coutinho, C. F. B.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; Machado, S. A. S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. *Química Nova* **2006**, *29*, 105. [CrossRef]
- <sup>9</sup> Teófilo, R. F.; Reis, E. L.; Reis, C.; Silva G. A.; Kubota, L. T. Experimental design employed to square wave voltammetry response optimization for the glyphosate determination. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2004**, *15*, 865. [CrossRef]
- <sup>10</sup> Coutinho, C. F. B.; Mazo, L. H. Estudo Voltamétrico e Espectrofotométrico do Complexo Cu(II)-Glifosato. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente* **2007**, *17*, 123. [Link]
- <sup>11</sup> Gosser Jr, K. D.; *Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*, VCH: New York, 1993.
- <sup>12</sup> Pedrosa, V. A.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2005.
- <sup>13</sup> Galli, A.; De Souza, D.; Machado, S. A. S. Pendimethalin determination in natural water, baby food and river sediment samples using electroanalytical methods. *Microchemical Journal* **2011**, *98*, 135. [CrossRef]
- <sup>14</sup> Brito, N. M.; Junior, O. P. A.; Polese, L.; Ribeiro, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente* **2003**, *13*, 129. [Link]
- <sup>15</sup> Souza, D.; Machado, S. A. S. Estudo eletroanalítico do herbicida paraquat em soluções aquosas por voltametria de onda

quadra utilizando ultramicroeletrodos. *Química Nova* **2003**, 26, 644. [[CrossRef](#)]

<sup>16</sup> Portaria 518, *Ministério da Saúde* 2004. [[Link](#)]